
VETERİNER HEKİMLİK

Editör: Prof.Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

VETERİNER HEKİMLİK

Editör

Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

yaz
yayınları

2024

VETERİNER HEKİMLİK

Editör: Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-6104-81-5

Ekim 2024 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Usage Areas of Artificial Intelligence Technologies (Deep Learning, Machine Learning, Fuzzy Logic) in Veterinary Medicine1

Semine DALGA, Evin KAÇMAZ

Kısıraklarda Reprodüktif Ultrasonografinin Kullanım Alanları.....17

Mehmet Fatih ÖZBEZEK

Current Status of Genetic Studies Employing Genetic Markers and Various Applications in Livestock.....36

Özden ÇOBANOĞLU

Fare ve Sıçanlarda Yaygın Olarak Kullanılan Deneysel Romatoid Artrit Modelleri56

Meryem ÇALIŞIR

Ruminant Craniumlarında Geometrik Morfometrik Çalışmalar65

Şevval ÖZDEMİR, Mehmet CAN

Welfare Standards in Sheep82

Ayşe UYSAL, Ekrem LAÇİN, Uğur ÖZENTÜRK

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

USAGE AREAS OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE TECHNOLOGIES (DEEP LEARNING, MACHINE LEARNING, FUZZY LOGIC) IN VETERINARY MEDICINE

Semine DALGA¹

Evin KAÇMAZ²

1. INTRODUCTION

Artificial intelligence is used in many areas such as animal health, animal welfare and herd health management. In many areas of herd breeding, it is also an assistive technology in issues such as performance management and body condition score of dairy cattle. Artificial intelligence, which has been widely used in recent years, is thought to provide benefits such as prevention of zoonotic diseases, accurate diagnosis and treatment, development of pharmacovigilance reporting processes, determination of new medical strategies, reduction of unnecessary drug (antibiotic) use through diagnosis and treatment protocols. Artificial intelligence-based decision support systems help veterinarians to create individualized treatment plans, taking into account factors such as animals' medical history, genetic makeup, and reactions to drugs (AlZubi, 2023).

AI-assisted decision support systems help physicians create personalized treatment plans, taking into account factors such as the animal's genetic makeup, medical history, reactions to

¹ Assoc. Prof., Kafkas University, Faculty of Veterinary, Anatomy, seminedalga@kafkas.edu.tr, ORCID: 0000-0001-7227-2513.

² Research Asist., Kafkas University, Faculty of Veterinary, Anatomy, evin.kacmaz@kafkas.edu.tr, ORCID: 0009-0009-0920-9066.

drugs and susceptibility to anaphylaxis. This development guides physicians in drug selection, dose calculations and evaluating the effectiveness of different treatment modalities. Using extensive data analysis and modeling, artificial intelligence systems provide veterinarians with evidence-based recommendations and treatment plans that comply with global standards. Artificial intelligence improves the accuracy of decision-making by suggesting personalized treatment options for each patient using information from scientific literature, similar cases and treatment outcomes (Akinsulie et al., 2024). Thanks to its ability to process large data sets, AI also plays an important role in analyses covering animal reproductive physiology, genetics and environmental factors. By combining and interpreting this information, AI algorithms improve decision processes that increase the success of artificial insemination procedures by helping to determine optimal mating times. Furthermore, artificial intelligence allows the creation of predictive models that take into account various parameters affecting reproductive success. These models guide farmers and veterinarians to predict fertility cycles, select strategic reproductive techniques and improve insemination protocols, which will contribute to improved reproductive outcomes. AI-supported image recognition technologies also play an important role in monitoring the reproductive health of animals (Akinsulie et al., 2024).

In a study, it was reported that artificial intelligence accurately determined the need for surgical intervention and the probability of survival of horses with acute colic (Fraiwan and Abutarbush, 2020; Korkmaz Akar and Yıldırım, 2022). Another study modified an existing communication system to allow patient owners to consult with a coded veterinary consultation program, and suggested that this program could provide accurate information about the health of their animals (Huang et al., 2021; Korkmaz Akar and Yıldırım, 2022). In a review, the benefits of

digital transformation were discussed. In this review, digital transformation in animal husbandry as well as related developments in animal health, disease detection, productivity increase and problem solving were examined (Fuentes et al., 2020; Korkmaz Akar and Yıldırım, 2022).

Thanks to sensor technologies that appear as wearable technological devices, real-time evaluation is possible. Thanks to these garments, reference values such as body temperature and heart rate can be monitored continuously. In addition to devices that contain sensors on the animal, environmental sensors can easily detect environmental changes that may affect the animal's welfare. It is also possible to observe and interpret videos recording animal behavior. This shows that artificial intelligence can easily analyze huge amounts of data and make predictions. The evaluation of subtle changes and stress, which can be considered as disease markers, is also possible with this technology (Neethirajan, 2024).

According to a systematic review of 131 research papers published in the last four decades, there is a high concentration of studies specifically focused on the detection and recognition of animal behavior. Most of these studies were concentrated on pigs (37.95%), cattle (37.44%) and poultry (16.92%) (Bao and Xie, 2022). In one article, research was conducted on PADI-web. PADI-web is a biosurveillance system for monitoring online news sources for the detection of animal infectious diseases. It features a fully automated process focused specifically on animal health and based on machine learning methods. This study addresses the new functionalities of PADI-web (Valentin et al., 2021).

There are also examples of the use of artificial intelligence for animal performance analysis in dairy farms. It helps to diagnose the disease at an early stage and start treatment

accurately and quickly, and makes assumptions about the animal's current milk yield as well as future milk yield by analyzing parameters. Thanks to artificial neural networks, the time of birth, estrus symptoms and periodic periods can be controlled. Thanks to deep learning and machine learning, the individual feed intake of animals can be evaluated, as well as their metabolism and fattening status (De Vries et al., 2023). In enterprises with artificial intelligence systems, cooling can be done with automatic water spraying systems for animals that will be affected by the change of environmental factors and air temperature. It has been observed that there are positive effects on milk yield with doors that open automatically at milking time in milking units. The use of sensor technologies in herd management technologies and automation systems is increasing day by day. This contributes to an easy and reliable production model (Kopuzlu, 2023). With machine learning modeling, it was tried to increase the milk yield of the animal by controlling environmental factors in dairy cattle farms. Here, according to the information received from a meteorological station, the environmental temperature of the animals was adjusted and measures were taken to prevent heat stress (Fuentes et al., 2020). New methods derived from the intersection between software engineering and artificial intelligence can increase transparency and reproducibility in mechanistic modeling (Ezanno et al., 2021).

Today, with the acceleration of technological developments called 'Agriculture 4.0', artificial intelligence and artificial intelligence-based technologies have started to be applied in the field of agriculture. Since agriculture and animal husbandry are considered as a whole, these developments have become widespread in the animal husbandry sector. Thanks to these technological methods, it provides a great advantage in many areas such as the correct use of available resources on the farm, yield increase, monitoring and protection of animal health,

monitoring and management of the production process. One of the most important impacts in the livestock sector is that artificial intelligence performs big data analytics and thus provides progress and convenience in data-driven areas. In addition to its production-based contributions, artificial intelligence also helps in breed selection, genetic efficiency and prevention of genetic diseases. About farm management, the 'FMS (Farm Monitoring and Management System)' project was established in 2017. It has basic nodes with descriptions such as animal registration, animal detail card, feeding, herd and breeding summary. These contents have a mobile application and laboratory application (Sevli, 2023).

2. MACHINE LEARNING (ML)

Machine learning (ML) is an important subfield of artificial intelligence. It is a learning-based algorithm that is trained to perform a specific task (Korkmaz Akar and Yıldırım, 2022). Any of the ML algorithms, including supervised, semi-supervised and unsupervised algorithms, can be used for a given task and associated data. Supervised ML algorithms are used when all data is labeled (or classified) and the task is to classify new input data into known output responses (also called structured prediction). Unsupervised ML algorithms are used to perform data inference, or to draw logical conclusions or potential hypotheses from the dataset. These algorithms are able to partition large datasets into meaningful and interpretable data groups (clustering) and subgroups. Semi-supervised ML is a branch of artificial intelligence that combines both supervised and unsupervised ML, useful when there is a combination of labeled and unlabeled datasets (Gevrekçi and Takma, 2022).

In Reinforcement learning, which tries to solve a problem with different approaches, it is rewarded (or punished) depending

on the actions taken (Basran and Appleby, 2022). Machine learning is the learning of machines created using certain algorithms that can make their own decisions and present the result to the user. Machine learning methods are applied to large data sets. This is defined as data mining. Support vector machines (SVM) is a machine learning method that provides the solution of classification problems in data when the patterns between variables are unknown (Gevrekçi & Takma, 2022).

Artificial intelligence can help in steps such as gathering data obtained from the field related to animal health, surveillance of epidemiological steps, data analysis and review. Artificial intelligence enables more dynamic and effective processing of the data collected, avoiding redundant and repetitive data. Methods such as phylogenetic reconstruction can be used in combination with these learning methods. This contributes to knowledge about pathogens that may play a role in new evolutionary scenarios and to predict transmission pathways. The resulting phylogenetic models offer an interesting perspective to identify environmental bacterial species with high infection potential or to predict the presence of possible host reservoirs, vectors (Ezanno et al., 2021). Artificial intelligence-supported Veterinary informatics applications are used in Biosurveillance in vivo and are used in situations such as detection of zoonotic diseases in animals consumed for nutrition, antimicrobial resistance in food animal populations, extended outbreak detection. This can also be used to diagnose environmental impacts and rare diseases that affect humans and domestic animals (Lustgarten et al., 2020).

In a study using machine learning for computer-aided diagnosis, machine learning methods were utilized for early disease diagnosis in lambs. As a result of the research, it was stated that the pure bayes method gave more successful results in the computer-aided diagnosis process compared to the other methods used in the study (Cihan et al., 2020). In another study,

the areas where various artificial intelligence applications are used were examined under headings and recent developments were closely examined. Artificial intelligence applications are mostly used in areas such as real-time monitoring and behavioral analysis, early detection of diseases, predictive analysis, treatment optimization and data-driven decision-making processes (Ali and Al-Zu'bi, 2023). Machine learning is used in livestock production in areas such as disease detection, behavior recognition, environmental management and growth assessment. Specifically, artificial intelligence is used to evaluate teats and lameness in dairy cows, to predict parturition based on behavior, and to assess meat quality in production animals (Hennessey et al., 2022). Artificial intelligence provides a wide range of uses from irregular clinical data entry to regular data generation (Korkmaz Akar and Yildirim, 2022). A machine learning based algorithm was developed for the diagnosis of chronic hypoadrenocorticism in dogs. Medical records of dogs between 2010-2017 were collected and initial cortisol levels were measured. Blood count and serum chemistry tests were performed. Cortisol levels were measured one week later. The sensitivity of the developed algorithm model was determined as 96.3%, specificity as 97.2% and ROC value as 0.994, showing superior performance compared to other screening methods such as logistic regression analysis (Reagan et al., 2020). Using machine learning and computer vision, a database of 1642 sheep images was created and sheep breeds were classified. This classification was found to work with 95.8% average accuracy and 1.7 standard deviation (Jwade et al., 2019).

In their study, Taneja et al. (2020) developed an IoT (Internet of Things) application using machine learning and data analytics techniques to detect lameness in cattle at an early stage. A herd of 150 cows were fitted with long-range pedometers and their movements were monitored. As a result of the study, it was

shown that lameness can be detected by the application with an overall accuracy of 87% 3 days before the farmer visually detects it (Taneja et al., 2020). Big data plays an important role in the use of advanced technologies in animal husbandry applications. Storing large amounts of data on a remote server provides a scalable solution. Advanced artificial intelligence and machine learning algorithms analyze this extensive data and notify farmers to detect anomalies and make predictions (Neethirajan, 2020).

3. DEEP LEARNING

Deep learning, a subset of supervised ML, is a field where training is performed in multiple layers in a neural network (Basran and Appleby, 2022). It is inspired by the structure of the human brain. It constantly analyzes the algorithms it has in a certain logical structure. Deep learning aims to reach the results that the human brain will reach. Therefore, it uses a multi-layered algorithm called artificial neural networks. The neural network design is similar to the structure of the human brain (Korkmaz Akar & Yıldırım, 2022). Deep learning, a sub-branch of machine learning, has been more successful than other methods in solving computer vision tasks. For this reason, it has been widely adopted in the field of medical image analysis, especially for pathology images. Deep learning models are artificial neural networks (ANNs) that aim to mimic the neuronal connections in the human brain (Zuraw and Aeffner, 2022). AI-based approaches (especially deep learning) have been shown to be more successful than other algorithmic methods in solving complex computer vision tasks such as object recognition in photographs. In pathology, AI-based approaches are used for complex problems and large data sets. Examples of AI-based image analysis include spermatogenic stage assessments in rats, DSS-induced colitis identification in mice, cardiomyopathy, retinal atrophy,

hepatocellular hypertrophy in rodents, bone marrow cellularity screening in non-human primates, and detection of mitotic figures (Zuraw and Aeffer, 2022).

A study evaluated the feasibility of deep learning based automatic segmentation of GTV (gross tumor volume) in dogs with HNC (spontaneous head and neck cancer). Manual GTV contours of 36 canine patients with HNC were used in the study. Automatic segmentations for canine patients were evaluated using Dice similarity coefficient (Dice), positive predictive value, true positive rate and surface distance metrics calculated in a four-fold cross-validation strategy. CNN models trained from scratch on canine data or trained using transfer learning achieved mean test set Dice scores of 0.55 and 0.52, respectively, indicating acceptable automatic segmentations (Groendahl et al., 2023). Recently, research with deep learning artificial intelligence techniques to detect left atrial enlargement from chest radiographs of dogs yielded results similar to those of physicians' diagnoses. These findings suggest that AI could be a potential tool for detecting left atrial enlargement (Li et al., 2020; Korkmaz Akar and Yıldırım, 2022). A deep learning based diagnostic model for knee joint diseases in dogs was developed and its accuracy was compared with the results obtained by veterinarians. The dataset was obtained using knee joint X-rays of 2382 dogs in total. Four radiographic findings observed in the knee joint, patella deviation, pull sign, osteophyte formation and joint effusion, were used to train a residual network (ResNet) classification model. All deep learning-based classification models achieved over 80% accuracy. These accuracies were proportionally slightly lower compared to the accuracies achieved by physicians (Shim et al., 2023).

A method based on a deep learning algorithm (YOLOv3) and a relative step size characteristic vector was developed to improve the welfare of cows. Lameness and non-lameness cows were

classified with a trained memory (LSTM) classification. A total of 210 videos were selected for validation using LSTM, Support Vector Machine (SVM), K-Nearest Neighbor (KNN) and Decision Tree Classifier (DTC) algorithms. The results showed that the accuracy of LSTM was higher than the other algorithms (Wu et al., 2020).

4. FUZZY LOGIC

Fuzzy logic is a theory developed by Lotfi A. Zaden in 1965. It is a mathematical discipline that we often encounter in daily life and allows us to interpret our behavior. Fuzzy logic is used in supervisory systems; first, it is decided what to do, then the fuzzy logic rule table is extracted and the system is controlled as a result of these rules (Tosun et al., 2019; Ayan & Şenol, 2016). It is seen that fuzzy logic, a sub-branch of artificial intelligence, is used in many different fields such as monitoring milk yield, determining the amount of feeding in relation to body weight and milk quantity, looking at the quality of raw milk, monitoring estrus in cows, and monitoring udder health (Isık et al., 2021). In a study, it was aimed to determine the correct determination of estrus by using fuzzy logic model based on the movement characteristics of cows and the time elapsed after the last estrus. In the study, 117 cows of black pied breed were used. A precise data entry was made according to whether the cows were moving or not and as a result of the study, it was seen that 98% of the cows in heat were detected (Memmedova and Keskin, 2011).

In a study, gender prediction was tried to be determined using fuzzy logic by looking at the sperm cells of cattle. The results of the study were compared with the numerical results obtained from the laboratory and it was seen that successful results were obtained for the gender data of the calf to be born (Saday, 2019).

5. CONCLUSION

Since artificial intelligence is a computer-based system, it plays a major role in the diagnosis, treatment and management of diseases and helps to facilitate this process. It facilitates data tracking by using it in enterprises. It increases success in the diagnosis and treatment methods of diseases in veterinary medicine. With this success, the decrease in the possible error rate also affects the widespread use of this technology. We think that the necessary trainings should be provided to the producers by expanding its use in agriculture and animal husbandry based enterprises.

REFERENCES

- Akinsulie OC, Idris I, Aliyu VA, Shahzad S, Banwo OG, Ogunleye SC, Olorunshola M, Okedoyin DO, Ugwu C, Oladapo IP, Gbadegoye JO, Akande QA, Babawale P, Rostami S, Soetan KO. The potential application of artificial intelligence in veterinary clinical practice and biomedical research. *Front Vet Sci.* 2024 Jan 31;11:1347550. doi: 10.3389/fvets.2024.1347550. PMID: 38356661; PMCID: PMC10864457.
- Ali, AA., & Al-Zu'bi, M. (2023). Application of artificial intelligence in monitoring of animal health and welfare. *Indian Journal of Animal Research*, 57(11), 1550-1555.
- AlZubi Ali Ahmad (2023). Artificial Intelligence and its Application in the Prediction and Diagnosis of Animal Diseases: A Review . *Indian Journal of Animal Research*. 57(10): 1265-1271. DOI: 10.18805/IJAR.BF-1684
- Ayan, M., & Şenol, R. (2016). Bulanık mantık tabanlı-uzaktan erişimli sera otomasyonu. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(2), 734-746.
- Bao, J., and Xie, Q. (2022). Artificial intelligence in animal farming: A systematic literature review. *Journal of Cleaner Production*, 331, 129956.
- Basran, P. S., & Appleby, R. B. (2022). The unmet potential of artificial intelligence in veterinary medicine. *American Journal of Veterinary Research*, 83(5), 385-392.
- Cihan, P., Kalıpsız, O., & Gökçe, E. (2020). Yenidoğan kuzularda bilgisayar destekli tanı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 26(2), 385-391.
- De Vries, A., Bliznyuk, N., & Pinedo, P. (2023). Invited Review: Examples and opportunities for artificial intelligence (AI)

- in dairy farms. *Applied Animal Science*, 39(1), 14-22.
- Kopuzlu, S. 2023. Herd management, automation and artificial intelligence applications in livestock farms. *International Journal of Food, Agriculture and Animal Sciences*, 3(2), 75-86.
- Ezanno, P., Picault, S., Beaunée, G., Bailly, X., Muñoz, F., Duboz, R., ... & Guégan, J. F. (2021). Research perspectives on animal health in the era of artificial intelligence. *Veterinary research*, 52, 1-15.
- Fraiwan MA, Abutarbush SM. Using Artificial Intelligence to Predict Survivability Likelihood and Need for Surgery in Horses Presented With Acute Abdomen (Colic). *J Equine Vet Sci*. 2020 Jul;90:102973. doi: 10.1016/j.jevs.2020.102973. Epub 2020 Mar 19. PMID: 32534764.
- Fuentes S, Gonzalez Viejo C, Cullen B, Tongson E, Chauhan SS, Dunshea FR. Artificial Intelligence Applied to a Robotic Dairy Farm to Model Milk Productivity and Quality based on Cow Data and Daily Environmental Parameters. *Sensors*. 2020; 20(10):2975. <https://doi.org/10.3390/s20102975>
- Gevrekçi, Y., & Takma, Ç. (2022). Roc Eğrilerinin Yapay Sinir Ağı (Ysa), Sınıflandırma-Regresyon Ağacı (Cart) ve Destek Vektör Makinesi (Dvm) Algoritma Doğruluklarının Karşılaştırılmasında Kullanılması. *Veri Madenciliği Ve Makine Öğrenmesi İle Farklı Alanlarda Uygulamalar*, 158.
- Groendahl, AR., Huynh, BN., Tomic, O., Søvik, Å., Dale, E., Malinen, E., & Futsaether, CM. (2023). Automatic gross tumor segmentation of canine head and neck cancer using deep learning and cross-species transfer learning. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1143986.

- Hennessey, E., DiFazio, M., Hennessey, R., & Cassel, N. (2022). Artificial intelligence in veterinary diagnostic imaging: A literature review. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 63, 851-870.
- Huang, Duen-Huang; Chueh, Hao-En (2021) : Chatbot usage intention analysis: Veterinary consultation, *Journal of Innovation & Knowledge (JIK)*, ISSN 2444-569X, Elsevier, Amsterdam, Vol. 6, Iss. 3, pp. 135-144, <https://doi.org/10.1016/j.jik.2020.09.002>
- Isık, A. H., Alakus, F., & Eskicioğlu, Ö. C. (2021). Hayvancılıkta robotik sistemler ve yapay zekâ uygulamaları. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(6), 370-382.
- Jwade, SA., Guzzomi, A., & Mian, A. (2019). On farm automatic sheep breed classification using deep learning. *Computers and Electronics in Agriculture*, 167, 105055.
- Korkmaz Akar, Ö. S., & Yıldırım, Y. (2022). Artificial Intelligence in Medicine and Veterinary Medicine. *Antakya Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1), 33-39.
- Li, S., Wang, Z., Visser, LC., Wisner, ER., & Cheng, H. (2020). Pilot study: application of artificial intelligence for detecting left atrial enlargement on canine thoracic radiographs. *Veterinary radiology & ultrasound*, 61(6), 611-618.
- Lustgarten, JL., Zehnder, A., Shipman, W., Ganchar, E., & Webb, TL. (2020). Veterinary informatics: forging the future between veterinary medicine, human medicine, and One Health initiatives—a joint paper by the Association for Veterinary Informatics (AVI) and the CTSA One Health Alliance (COHA). *JAMIA open*, 3(2), 306-317.

- Memmedova, N., & Keskin, İ. (2011). İneklerde bulanık mantık modeli ile hareketlilik ölçüsünden yararlanılarak kızgınlığın tespiti.
- Nasirahmadi, A., Sturm, B., Edwards, S., Jeppsson, KH., Olsson, AC., Müller, S., & Hensel, O. (2019). Deep learning and machine vision approaches for posture detection of individual pigs. *Sensors*, 19(17), 3738.
- Neethirajan, S. (2020). The role of sensors, big data and machine learning in modern animal farming. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 29, 100367.
- Neethirajan, S. (2024). Artificial intelligence and sensor innovations: enhancing livestock welfare with a human-centric approach. *Human-Centric Intelligent Systems*, 4(1), 77-92.
- Reagan, KL., Reagan, BA., & Gilor, C. (2020). Machine learning algorithm as a diagnostic tool for hypoadrenocorticism in dogs. *Domestic Animal Endocrinology*, 72, 106396.
- Saday, F. (2019). Sığırlarda bulanık mantık yaklaşımı ile cinsiyet belirleme yöntemi geliştirilmesi/Developing a gender determination method with fuzzy logic approach in cattle.
- Sevli, O. (2023). Tarım 4.0 Ölçeğinde Bir Dijital Tarım Uygulaması: Çiftlik İzleme Ve Yönetim Sistemi. *Uluslararası Sürdürülebilir Mühendislik ve Teknoloji Dergisi*, 7(2), 105-116.
- Shim, H., Lee, J., Choi, S., Kim, J., Jeong, J., Cho, C., & Eom, K. (2023). Deep learning-based diagnosis of stifle joint diseases in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 64(1), 113-122.
- Taneja, M., Byabazaire, J., Jalodia, N., Davy, A., Olariu, C., & Malone, P. (2020). Machine learning based fog computing assisted data-driven approach for early lameness detection

in dairy cattle. *Computers and Electronics in Agriculture*, 171, 105286.

Tosun, MF., Gençkal, AA., & Şenol, R. (2019). Modern kontrol yöntemleri ile bulanık mantık temelli oda sıcaklık kontrolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(3), 992-999.

Valentin, S., Arsevska, E., Rabatel, J., Falala, S., Mercier, A., Lancelot, R., & Roche, M. (2021). PADI-web 3.0: A new framework for extracting and disseminating fine-grained information from the news for animal disease surveillance. *One Health*, 13, 100357.

Wu, D., Wu, Q., Yin, X., Jiang, B., Wang, H., He, D., & Song, H. (2020). Lameness detection of dairy cows based on the YOLOv3 deep learning algorithm and a relative step size characteristic vector. *Biosystems Engineering*, 189, 150-163.

Zuraw, A., & Aeffner, F. (2022). Whole-slide imaging, tissue image analysis, and artificial intelligence in veterinary pathology: An updated introduction and review. *Veterinary Pathology*, 59(1), 6-25.

KISRAKLARDA REPRODÜKTİF ULTRASONOGRAFİ

Mehmet Fatih ÖZBEZEK¹

1. GİRİŞ

At endüstrisi gerek yarış atı yetiştiriciliği gerekse spor atı yetiştiriciliği açısından dünyada geniş bir alana yayılmıştır. Yetiştiricilerin yılda bir tay elde etme istekleri ekonomik açıdan bir sezonun boş geçirilmesinin önüne geçmeyi amaçlamaktadır. Dünyada at yetiştiriciliği ve ekonomisi hızla artmaktadır. Artan bu talebi karşılamaya yönelik damızlık kısıraklardaki reproduktif fizyolojileri ile patolojilerinin yanı sıra gebelikleri de at hekimliği içerisinde önem arz eden konular olmuştur. Bu sebeple damızlık kısırakların reproduktif olaylarını takip etmekte ultrasonografik muayeneler, temel diagnostik yöntem olarak görülmektedir.

Kısıraklar kısa süren bir üreme sezonuna sahiptirler. Mevsime bağlı olarak gelişen östrus olayları gün ışığı süresinin uzamasıyla faaliyete başlayarak birkaç hafta sonra ovaryumların gelişen aktivasyonunu sağlamaktadır. Mevsim sonlandığında veya üreme mevsimine geçişlerde östruslar sakin, belirsiz veya gerçekleşmeyen ovulasyonlar gözlenmektedir. Diğer yandan kısıraklarda, östrus ve ovulasyon zamanına bağlı olarak ırk, vücut kondüsyon skoru, var olan infertilite problemleri, kullanılan ilaçlar ve hormonlarla bireysel farklılıklar ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle ovaryumlarla ilgili değişikliklerin takip edilmesi, ovulasyon zamanının belirlenmesi ve gebelik elde edilmesi için ultrasonografik muayeneler bir ihtiyaç haline gelmiştir (1,2).

¹ Doktorant, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, fatihozbezek@hotmail.com, ORCID: 0009-0003-5375-8130.

Ovaryumların muayenesi ve ovulasyon zamanının belirlenmesi, rektal muayene ve ultrasonografik muayeneler aracılığıyla yapılmaktadır (3). Bu muayeneleri gerçekleştirmek amacıyla yaygın olarak B-mod real-time ultrasonografi kullanılmaktadır. Anöstrus döneminde ovaryumların rektal yolla yapılan muayenesinde ovaryumlar, sert, küçük ve içerdiği yapılar ayırt edilemez durumdadır. Yapılan ultrasonografik muayeneyle anöstrus döneminde, ovaryum üzerinde belirgin bir follikül saptanamamaktadır. Geçiş döneminde yapılan muayenedeyse ovaryumlar üzerinde 2-5 mm arasında değişen ölçülerde folliküller tespit edilmeye başlanır (3,4). Östrus dönemindeyse bu içi sıvı dolu yapıların şekli yuvarlak ve siyah renkte görüntü oluşturması sebebiyle kolaylıkla ovaryum üzerinde ayırt edilebilecek vaziyete gelmiştir. Ovulasyonun gerçekleşmesine kısa bir zaman kala bu folliküllerin büyüklükleri hızla artmaktadır. Ovulasyon zamanının belirlenmesinde art arda yapılan muayenelerde follikül çapındaki hızlı değişimin belirlenmesi önemlidir. Ovulasyondan 8 gün önce preovulatorik follikül, ortalama olarak 2.5-5.6 mm'lik bir çapa sahiptir. Bu büyüme döneminde follikül çapı günlük olarak 2-5 mm arasında büyüdüğü gözlenmiştir. Artık ovulasyona hazır hale gelen follikül son 12 saat içerisinde küçülebilmektedir (2,5,6,7,8,9). Çapı 30 mm' den küçük olan folliküllerdeyse ovulasyon nadiren oluşabilmektedir. Genelde ovule olan folliküller için standart ölçü ise 35 mm ve üzerinde olmaktadır (2,10).

Kısıraklarda reproduktif fizyolojinin takibinin yanında, temel infertilite problemlerinden olan endometritis gibi reproduktif patolojilerde de usg aktif olarak kullanılmaktadır. Ultrasonografi muayeneleri ile kısıraklardaki uterus ve ovaryum kaynaklı infertilite problemlerinin büyük bir bölümü teşhis edilebilmektedir. Gebeliğin erken dönem teşhisi, fizyolojik devamı ve gebelik patolojilerinin tespitinde de temel bir görüntüleme aracı olan usg muayenesi, erken müdahalelerle

tedavi edilebilecek gebelik patolojilerinin tedavi edilmesine imkan sağlarken, tedavi edilemeyen olgularda ise yapılan teşhis sonucunda gebeliğin sonlandırılması ile kısırağın üreme sezonu içerisinde tekrar gebe kalabilmesine olanak sağlar (11).

Bu alışma damızlık kısıraklarda reproduktif fizyoloji ve patolojilerin teşhisinde ultrasonografik muayenenin önemini kavramak için yapılmıştır.

2. FİZYOLOJİK DURUMLARDA USG MUAYENESİ

Yarış atı yetiştiriciliğinde resmi aşım ve resmi doğum sezonlarının tarihleri belirlenmiştir. Bu tarihler ölkelerin konumuna ve hangi yarım kürede olduğuna göre değişmektedir. Ölkemiz için kuzey yarımkürede yer aldığından dolayı resmi aşım sezonu 15 şubat-30 Haziran tarihleri arasındadır. Bu tarihler aralığında kısıraklar çiftleştirilerek gebe kalmaları sağlanmalıdır. Bu tarihlerin dışında çiftleştirilmesi yarış atları otorite birliği tarafından yasaklanmıştır (12).

Aşım tarihleri öncesinde gebe olmayan kısırakların veya maiden kısırakların reproduktif muayeneleri yapılır. Bu muayeneler ile tay alınması düşünölen damızlığa ayrılmış kısırakların reproduktif profilleri belirlenir. Ayrıntılı olarak yapılan rektal ultrasonografik muayene ile söz konusu kısırağın uterus, ovaryum, vagina gibi üreme organlarının fizyolojik veya patolojik durumları ortaya konulmuş olunur (12,13).

Kısıraklarda genital kanalın rektal muayenesi veya rektal ultrasonografik muayenesi yapılırken en önemli husus kısırağın zapturapttır. Kısırağın zapturapt altına alınması muayene yapan hekimin güvenliğini sağlamasının yanında, yapılan muayenenin süresini kısaltmakta ve muayenenin sağlıklı yapılmasını sağlar. Çiftlik koşullarında zapturapt için travay kullanılır(12,13).

Rektal ultrasonografi tekniği, rektal muayenede olduğu gibi dışkıyı uzaklaştırma ile başlar. Bu işleme başlamadan önce rektal muayene eldiveni ve rektal muayene önlüğü giyilir. Bol kayganlaştırılmış bir rektal muayene eldiveniyle, rektal muayeneye başlanılır. İneklerden farklı olarak kısıraklarda hassas davranılıp, yavaş ve yumuşak hareketlerle rektuma girilir. Rektal ultrasonografide iyi bir görüntü elde edebilmek adına rektumdaki dışkılar tamamen boşaltılmalıdır(12,13).

Akabinde ultrasonun probu avuç içindeyken, probun dorsal yüzeyi işaret parmağıyla kavranır, prob baş ve orta parmak ile yönlendirilecek biçimde kavranmış olunur(13).

Yavaş ve yumuşak hareketlerle rektuma girilir ve görüntülenmek istenilen organın üzerine doğru yavaşça yönlendirilir. Anüsü geçtikten sonra ilk görüntü idrar kesesinden gelir. İdrar kesesini geçip kraniale doğru uterus gözükeneye kadar prob ilerletilir. Uterusun bifurkasyo uterii noktasına kadar dokuların dorsalinde tutulan prob, ovaryumlar gözükeneye kadar cornu uterii boyunca lateral yönde ilerletilir. Ters yönde ilerletildiği takdirde diğer ovaryum gözlenir. Cornu uterii ve corpus uterii görüntüledikten sonra, prob cervix uterii hizasına kadar çekilerek görüntüleme işlemine devam edilir (13,14).

Kısıraklarda ultrasonografik muayene yapılırken 2-10 MHz'lik lineer proba sahip real-time B-mod ultrasonografi cihazları kullanılmaktadır. Ovaryumların muayenesi istendiğinde genellikle 7,5 MHz 'lik prob kullanılır. İleri gebeliklerin değerlendirilmesi istendiğinde 3,5 MHz'lik probun kullanılması daha uygundur. 5 MHz'lik prob ile uterusun genel muayenesi ve çevreleyen dokuların görüntülenmesi gerçekleştirilir. Transrektal B-mod (gri skala) ultrasonografi, atlarda üreme organlarının fizyolojik durumunu değerlendirmede, fizyolojik ve patolojik olarak reproduktif olaylarının teşhisinde ve takibinde kullanılmaktadır(14,15). Doppler ultrasonografi ise farklı hayvan

türlerinde organların işlevlerini ve hemodinamik yapılarını incelemek için kullanılan noninvaziv bir özelliktir. Renkli Doppler (RD), güç Doppler (GD) ve spektral Doppler ultrasonografik görüntüleme, üreme organlarının dolaşım sistemini değerlendirmek için bariz bir şekilde çeşitli yaklaşımlar sağlar (16). Kısıraklarda RD ultrasonografi ile preovulatör folikül çeperindeki damarlaşmanın erken gebelik tanısı ile ilişkisini ve endometritisli kısıraklarda preovulatör folikül duvarındaki vaskülarizasyonu değerlendiren çalışmalar mevcuttur (17, 18).

Farklı ultrason modülleri de atlarda üreme sisteminin değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Bunlar arasından B-modu ultrason, farklı organların anatomik özellikleri ve ekotekstürü hakkında bilgi sağlar ve yapıların ölçümüne olanak tanır (19). Doppler modülleri ise bu türde testis, uterus ve ovaryumların damar hemodinamiğinin incelenmesini sağlamış, bu organların hem fizyolojik hem de patolojik yönleri hakkında bilgi edinilmesine katkıda bulunmuştur(20). Bu modüller, geleneksel ultrasonun tanı potansiyelini artırarak organların perfüzyonuyla ilgili bazı patolojilerin erken teşhis edilmesine ve tıbbi veya cerrahi tedavilerin izlenmesine olanak tanımıştır(20, 21).

2.1.Ovaryumların Muayenesi

Kısıraklarda ovaryumların muayenesi seksüel siklus fazının belirlenmesine yardımcı olur. Yapılan muayenelerle kısırağın ovulasyon zamanının belirlenmesi ve aşım zamanı için önem arz etmektedir.

Kısırak ovaryumları 7,5 MHz'lik lineer prob kullanılarak rahatlıkla ultrasonografide görüntülenebilir. Ovaryan aktiviteleri yaz aylarında en üst seviyeye ulaşırken, kış aylarında yoktur veya çok azdır. Ayrıca ilkbahar ile sonbahar aylarında geçiş dönemi düzensizlikleri ile karakterizedir(12, 22).Birbirlerine bağlantılı olan çevre dokular ekojenik görüntü verirken, ovaryumlar üzerindeki içi sıvı dolu folliküller ise anekoik görüntü

vermektedir. Diöstrus döneminde corpus luteum'un görüntüsüye homojen bir şekilde dağılım gösteren yapıdan, yer yer ekojeniteye sahip heterojen bir yapıya varan değişkenlikler içeren hiperekoik bir görüntüye sahiptir. Korpus luteumun komşu yapılardan farklı kılan en önemli özelliği sınırlarının belirgin olmasıyla çevre dokulardan rahatlıkla ayrılmasıdır.

Ovaryumların periovulatör dönemdeki muayenelerinde folliküllerin sayısı, lokasyonu, hacmi ve şekli belirlenebildiği gibi rektal muayene esnasında fark edilemeyen ve aynı ovaryuma ait birden fazla şekillenen ovulasyonlarda gözlenebilmektedir (23).

Kısıraklarda preovulatör follikülün gelişimi daha önceki araştırmacılar tarafından bildirildiği üzere, transrektal B-mod ultrasonografi kullanılarak değerlendirilir(24). Preovulatuvar follikülün çapı genellikle 40 mm ile 50 mm arasında değişir ve ovulasyon öncesinde şekli küreselden konik hale gelir(12, 24). Önceki bulgularla tutarlı olarak, yapılan bir çalışmada gözlemlenen preovulatuvar folliklerin ortalama çapı 44 mm olarak belirlenmiştir (25). Bazı durumlarda ovulasyondan bir süre önce folliküler sıvı ekojenitesinde artış gözlenebilir. Ovulasyon anındaysa bu sıvının aniden veya aşama aşama azalmaya başladığı gözlenir (12, 24).

2.2.Uterus Muayenesi

Uterusun ultrasonografik muayenesi ile uterusun fizyolojik durumu ile olası patolojik durumunun görüntülenmesi sağlanmış olunur. Seksüel siklusun fazlarına göre değişkenlik gösteren uterus ovaryumları, gelişen foliküller ve korpus luteumun varlığına göre fizyolojik farklılıklar gösterir. Uterusta patolojik bir durum gözlenmemesinin yanında fizyolojik olarakda seksüel siklusun gerekliliklerini taşıması beklenir (12).

2.3.Gebelik Muayenesi

Kısıraklarda erken gebelik döneminde yapılan ultrasonografik muayenede, ovulasyondan 6 gün sonra morula veya erken şekillenen blastositin, uterusu doğru yönelmesine rağmen 4mm çapında, yuvarlak ve anekojenik olarak belirlenen konseptus 10.güne kadar ultrasonografiyle belirlenebilecek düzeyde değildir. Kısıraklarda gebeliğin kontrol muayeneleri başlıca üç aşamadan oluşur. Gebeliğin başlıca kontrol muayeneleri olan bu muayeneler, gebeliğin kontrol 1 (K1), kontrol 2(K2) ve kontrol 3 (K3) muayeneleri olarak adlandırılır. Bu muayenelerin birincisi ovulasyondan sonraki 14. günde yapılmaktadır. Böylelikle 14 günlük gebelik muayenesinde olası bir ikiz gebelik durumu varsa kontrol edilmiş olacaktır. K1 muayenesinden geçen kısıraklar gebeliğin ikinci kontrol muayenesi için programa alınır, gebeliğin 24-26 günleri arasında K2 muayenesi yapılır. Bu muayenede embriyonik kalp atımının varlığının saptanması amaçlanır. Bir diğer muayene olan K3 muayenesi embriyonik kaplar oluşmadan 35-38. günler arasında bakılır. Bu muayene ile gebeliğin devamlılığına, embriyonun gelişimi ile de kalp atımına bakılır(26, 27).

Konseptus 16.güne kadar uterus içerisinde bir uçtan bir uca hareket eder haldedir. Yapılan rektal ultrasonografik muayenede embriyo 21.günde vitellüs kesesinin ventralinde gözlemlenir. Ovulasyonun şekillenmesinden 40 gün geçtikten sonra vitellüs kesesi ultrasonografide görüntülenmez(28). Allantois kesesi 22.günde gelişir ve 25.günde fetüsün ilk kalp atımları ultrasonografiyle takip edilebilir. 40.gün embriyo, kornu uterusunun dorsal duvarına doğru göbek kordonu vasıtasıyla bağlanmıştır. Fetal hareketler ise ilk olarak 45.günden itibaren gözlenir.

Kalp atımlarının 25.günden sonra belirlenememesi erken embriyonik ölümü düşündürür. Erken embriyonik ölümlerin

ultrasonografik olarak belirlenmesi, anekojen olması gereken konseptusun ekojenitesinde artış ile mümkündür. Bunun sebebi embriyonik sıvılarda selüler içeriğin toplanmaya başlamasıdır(29). Fetal midenin görülmesiye 60. günlerde mümkün olmaktadır. İçi sıvı dolu bir yapı olduğu için anekoik gözlenir. 60.günden itibaren fetal orbitanın çap ölçümü, fetüsün kaç günlük olduğunun belirlenmesinde önemlidir(27).

Gebeliğin 55-90.günleri arasında yapılan ultrasonografik muayeneye, genital tüberkülün pozisyonuna göre erken dönemde fetal cinsiyet tayini yapılabilmektedir. Dişide klitoris, erkekte ise penise karşılık gelen bu yapı, fetüsün ventralinde pozisyon almakta ve göbek kordonuyla kuyruk arasında yer alan hiperekoik bir görüntüye sahiptir. 5 MHz'lik prob ile yapılan muayene en doğru neticeyi vermektedir(29).

Kısıraklarda ikiz gebelikler, toplam gebeliklerin ortalama %3,6'sını oluşturur ve erken gebelikte (30. günden önce) ikiz gebelik oranı %2,6 ile %2,8 arasında değişir. İkiz gebeliklerin %85'i, gebeliğin son trimesterinde abort ile sonuçlandığı bildirilmiştir(28, 29, 30). Tüm gebeliklerin %20'sinin, çift ovulasyon sonucunda ikiz gebelik olarak başladığı düşünülmektedir(30). Çoklu ovulasyonların görülme sıklığı, kısırağın cinsine, yaşına ve fertilité durumuna göre değişkenlik göstermektedir. Mezbaha örnekleri ve deneysel koşullarda yapılan ovaryum palpasyonlarından elde edilen veriler, çift ovulasyonların tek bir ovaryumu (tek taraflı çift ovulasyonlar) veya her iki ovaryumu (çift taraflı çift ovulasyonlar) eşit sıklıkta etkilediğini göstermektedir(31). Yaşlı kısıraklar (6-10 yaş arası), genç kısıraklardan (2-5 yaş arası) daha fazla çoklu ovulasyon gösterir. İkiz gebelikler distosiye (zor doğum) neden olabilir ve hatta annenin kaybedilmesine yol açabilir. İkiz gebeliklerin tekil gebeliklere döndürülmesiyle, abort ve distosi önlenabilir, ayrıca kısırakların üreme sezonunun boşa gitmesi de engellenmiş olur (32, 33).

İkiz gebeliğin kontrolünün yapılması amacıyla ilk muayene ovulasyon sonrası 14.günde yapılır. Bu dönemde konseptus oval yapıda olup, dorsal ve ventral kutupları anekoik görüntü vermektedir. İkiz gebeliklerde konseptuslar birbirine yapışık vaziyette ya da ayrı ayrı gözlenebilmektedirler. Fakat bu yapıların hareketli yapılar olması nedeniyle genital kanalın dikkatli muayenesi önemlidir. Var olan ikiz gebelik durumlarındaysa daha küçük çapta olan konseptus ezilerek gebelik sonlandırılabilir ancak 2-3 gün sonra kontrol muayenesi gereklidir. Gebeliğin 21. ve 22. günlerinde ikinci ultrasonografik muayenesi yapılan kısıraklarda gebelik tanısının konması, gebeliğin tek konseptustan oluştuğunun doğrulanması, konseptusun cornu uteriilerden birinin tabanına yerleştiğinin gözlenmesiyle rutin kontrol muayenesi tamamlanmış olur(31).

İleri gebelik döneminde yapılan ultrasonografik muayene ile fetüsün gelişimi ve sağlık durumu gözlenebilmektedir. Bu dönemde fetal iskelet yapısı, baş, omurga, kaburgalar anekoik görüntü vererek rahatlıkla belirlenebilmektedir. Gebeliğin 5.ayından itibaren fetüs abdomene doğru pozisyon alacağından dolayı, fetüsün tamamını etkili bir şekilde gözlemlemek mümkün değildir. Gebeliğin son trimesterinde ise amniyon sıvısında artış şekillenir ve ultrasonografide küçük, çok sayıda ekojenik parçacıklar gözlenir (31).

3. PATOLOJİK DURUMLARDA USG MUAYENESİ

3.1. Endometritiste USG Muayenesi

Kısıraklarda endometritis en önemli infertilite nedenlerinden biridir. Ultrasonografi kullanılmadan önce, endometritisi saptamak için çeşitli yöntemler uygulanmaktaydı. Bunlar; spekulum ile cervixin muayenesi, servikal veya vaginal muayene, uterusun kültür ve sitolojik muayeneleri, sitolojik ve

bakteriyolojik muayene, uterus biyopsisi gibi. Fakat gelişen teknolojiyle uterusu var olan bir endometrit olgusu, kısıraklarda belirli dönemlerde yapılan rutin ultrason muayeneleriyle veya endometrit şüpheli olan kısıraklarda daha erken ve pratik bir teşhis metodu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlandı. Endometritisli kısıraklarda uterusu gözlenen sıvının en önemli özelliği, sıvının ekojenitesindeki artıştır. Uterus lümeninde biriken şeffaf sıvılar çoğunlukla anekojenik görüntü vermektedir. Yapılan ultrasonografik muayenede tamamen anekoik (siyah) bir görüntü verir(34). Çiftleşmeyi takiben uterus lümeninde sıvı birikmesi, çiftleşme sonrası şekillenen endometritis veya endometritise duyarlı kısıraklarda, çiftleşme sonrası 6. ve 12. saatte ultrasonografik muayene gerekmektedir. 12 saat geçtiği durumlarda hala uterus lümeninde sıvı gözleniyorsa artık kronik endometritis düşünülmelidir(35). Kısırakta kronik endometritis olgusu, uterus lümeninde anormal sıvı birikimi ile karakterize bir durumdur. Prognoza göre biriken sıvı miktarı kısıraktan kısırağa farklılık gösterir. Bu durum hangi sıklık aşamada olduğuna bağlıdır. Örnek verecek olursak östrus döneminde biriken sıvı fizyolojik kabul edilirken, diöstrus döneminde sıvı birikimi patolojik olarak kabul edilir(36). Östrus döneminde uterusu sıvı birikmesi ile gebelik oranındaki azalma dikkate değer bir şekilde ilişkilidir (37). Östrus sırasında, çiftleşmeden 6-36 saat sonra uterus içi sıvı hacminin 2cm³ veya daha büyük olması, kısırağın çiftleşmeye bağlı endometritise duyarlı olduğunun iyi bir göstergesidir(38).

Bununla birlikte, östrus sırasında biriken uterus içi sıvı her zaman bakteriyel endometrit ile ilişkili değildir. Bakteriyel organizmalar (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, veya patojen olmadığı düşünülen bakterilerin (*micro-coccus*, *alpha streptococcus* veya *bacillus*) izole edildiği safkan kısırakların <%40 'ında intrauterin sıvı, yapılan çalışmalarda gözlenmiştir(37, 38).

3.2. Uterus Kistlerinin Teşhisinde USG Muayenesi

Kısıraklarda endometriyal glandular veya lenfatik kistlerle karşılaşma olasılığı yüksektir. Ultrasonografi muayenesinde içi sıvı dolu olan bu yapılar anekoik gözlenirler. Kistlerin çapları birkaç mm den birkaç cm e kadar değişmektedir. Luminal olanlar erken gebelik teşhisinde gözlenen ve ovaryumların üzerinde bulunan foliküllere benzediği için karıştırılabilir. Bu durumu önlemek için, daha önce yapılan ultrasonografik muayenelerde, uterus kisti tespit edilen kısıraklar kistin büyüklüğü, şekli ve pozisyonu yönünden kaydedilmelidir. Kistlerin ultrasonografik muayene esnasında görüntülenen fiziksel özellikleri şunlardır; Çeperleri düzensizdir, genellikle lobludurlar, pozisyonları değişmez ki bu muayene esnasında en çok faydalanılan özellikleridir.

Klinik olarak üç morfolojik kist türü tanınmaktadır. Bunlardan birincisi tek veya çoklu, genellikle saplı ve sınırları belirgin uterus kistleri (endoskopi ve otopsi incelemelerinde görülür), ikincisi uterus duvarında ultrasonla görülebilen, genellikle küçük (3 ila 7 mm çapında) transmural kistler üçüncüsü ise genellikle lenfatik olarak sınıflandırılan, çoklu, yassı ve bölümlere ayrılmış kistik yapılar (37,39).

Uterus kistlerindeki genişlemelerin lenfatik tıkanmaya bağlı olduğu belirlenmiştir. Kistik uterin yapılar, boyut ve şekil açısından kendi aralarında farklılıklar gösterirler. Östrus döneminde belirgin endometrial kıvrımlar mevcutsa kistik yapılar genellikle gözlenemez(40). Ultrason kullanılarak ovaryum folikülleri ile periovaryan kistleri ayırt etmek bazen zor olabilir. Rektal palpasyon yapının ovaryumun bir parçası olup olmadığını daha doğru bir şekilde belirleyebilir. Hidrosalpinks, kısıraklarda nadiren rapor edilir, ancak içi sıvı dolu bir yapı olduğundan ultrason ile kolaylıkla tespit edilebilir (41). Ayrıca son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarla uterus kistlerinin

oluşturduğu hemodinamik değişimler de ortaya konulmuştur (42).

3.3. Ovaryan Neoplazmların Teşhisinde USG Muayenesi

Ovaryan neoplazmlar 3 başlık altında incelenmektedir. Bunlar sırasıyla bahsedecek olursak; Yüzey epitelyal tümörler, germ hücre tümörleri ve seks kord gonadal stromal tümörlerdir(43, 44).

Kısıraklarda gözlenen ovaryum tümörlerinin, diğer evcil hayvan türlerine kıyasla oldukça yaygın olduğu görülmüştür. Görülen tüm neoplazmların %5.6'sında görüldüğü bildirilmiştir. En yaygın iki tümör, granüloza-teka hücre tümörü ve teratomdur. Granuloza hücre tümörü, kısıraklarda en sık karşılaşılan seks kord stromal tümördür(43). Kısıraklardaki tüm tümör vakalarının %2,5'ini, genital kanal tümörlerinin %85'ini GHT oluşturmaktadır (45, 46). Granüloza teka hücre tümörleri genellikle büyük, iyi huylu ve steroid üreten tümörlerdir genellikle davranış değişiklikleri ve düşük üreme performansı ile ilişkilidir. GHT olgularında etkilenen ovaryum, her zamanki boyutlarından çok daha büyük ve multilobuler bir yapıda olup, periferel veya fokal kistik alanlara sahiptir(44, 46).

GHT ile ilgili yapılan bir çalışmada rektal palpasyonla genital organların muayenesi ve jinekolojik ultrasonografik muayene neticesinde; uterusun simetrik ve normal boyutlarda olduğu, sol ovaryumun atrofik ve inaktif olduğu, sağ ovaryumun ise 11 cm çapında ve solid yapıda kitleye sahip olduğu saptanmış ve ultrasonografik muayenede, sağ ovaryumdaki kitlenin sınırlarının belirgin ve multikistik bir yapıda olduğu görülmüştür (44).

Ovaryum teratomları iyi huylu ve sekresyon göstermeyen tümörlerdir. Bu tümörler, germ hücrelerinden köken alır ve genellikle epitel dokusu içerir. Kıkırdak, deri, kemik, sinir ve yağ

materyali içerebilir. Katı veya kistik olabilirler. Genellikle doğurganlığı etkilemezler ve rutin rektal muayene esnasında karşılaşılr. Ultrason muayenesi, anovulator hemorajik foliküller, geçiş döneminde baskın olmayan folikül gibi diğer büyük neoplastik olmayan yapıları ayırt etmeye yardımcı olabilir. Ancak, kesin teşhis genellikle etkilenen ovaryumun histolojik veya patolojik muayenesine dayanır(43, 44, 45).

4. SONUÇ

Sonuç olarak kısıraklarda transrektal yolla uygulanan ultrasonografik muayeneler, üreme sistemindeki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin değerlendirilmesi, var olan follikül, kist ve tümoral yapıların teşhisi, ikiz gebeliklerin erken teşhisi ve sonlandırılmasına yönelik girişimlerin kolaylaşması, damızlık olarak kullanılacak verimli kısırakların değerlendirilmesi, erken gebelik teşhisi gibi klinik muayenelerde rutin olarak kullanılır (47,48). Aynı zamanda damızlık kısıraklarda gebelik döneminde gözlemlenebilecek yavru kayıplarının laboratuvar testleri ile tespitine de ultrasonografik muayeneler ışık tutmaktadır (49,50). Ultrasonun diğer spesifik kullanım alanlarına örnek verecek olursak; tek ve çift preovulatuvar foliküllerin ve ovulasyonların tespiti, bir kısrağın ovulasyon periyodunda olup olmadığını değerlendirme, kalıcı korpus luteum, anovulator follikül veya anöstrus durumlarından ayırt etme, östrus döngüsünde hangi evrede olduğunu tahmin etme, postpartum uterus involusyonunu değerlendirme, pyometra ve uterus kistleri gibi bazı patolojik durumların teşhisi, embriyo ölümünün tespiti sayılabilir (51).

KAYNAKÇA

1. Leidl, W. (1993): Atlarda döl verimi sorunları. 29-30. Nisan-Mayıs Türk-Alman günleri.s.52, Tebliğ.
2. Yurdaydın, N. (1991): Kısıraklarda gebelik saptama yöntemleri. TİGEM. 6 (36): 24-26.
3. Ekici, H. (1983): Ultrasonik anatomi. Kısıraklarda Ultrasonografi ile Erken Gebelik Teşhisi. Doktora tezi
4. Torbeck, R.L. (1986)· Ultrasound in Equine Reproduction. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice. 2(1). 227-252
5. Carnevale, E.M., Mc Kinnon, A.D., Squires, E.L. , Voxx, J.L. (1988): Ullrasonographic characteristics of preovulatory follicle preceding and during ovulation in mares. Equine Veterinary Sci.(6):428-431.
6. Dean, P.N., Irwin, K.M., Hilmann, RB. (1983): Ovulation. Equine Reproduction.s.15. Hofmann-La Roche inc.Nutley, New Jersey.
7. Ginther, OJ. (1986): Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, USA.
8. Ozkoca, A. (1993): Ovulasyon. Atlarda Reprodüksiyon ve İnfertilite. s.12-13.T.J.K, İstanbul.
9. Will. K. (1988): Ultraschalluntersuchung zur Ovulationsdiagnose für die Künstliche Besamung der Stute. Vet.Med.Diss. Munchen.
10. Laing, JA., Brinley Morgan, W.J , Wagner, W.L. (1988): Cytical changes of ovaries. Fertility and infertility in Veterinary Practice.s.18-22. Baillere-Tindall.

11. Kurban, İ., Uçmak Z.G. (2023): Diöstrustaki Kısıraklarda Luteal Vasküleritenin Renkli Doppler ve Güç Doppler Ultrasonografi ile Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi: Metodolojik Çalışma. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences, 14(2).
12. Kaşıkçı G, Ay S.S. (2015): Üremenin Denetlenmesi. 83-92. In: M Kaymaz, M Fındık, A Rışvanlı, A Köker (Eds), Kısıraklarda Doğum ve Jinekoloji. Medipres, Malatya.
13. Kılıçarslan MR, Uçar M Kaşıkçı G, Ay S.S. (2015): Genital Organların Muayenesi. 45-78. In: M Kaymaz, M Fındık, A Rışvanlı, A Köker (Eds), Kısıraklarda Doğum ve Jinekoloji. Medipres, Malatya.
14. Kılıçarslan MR, Tek Ç, Sabuncu A, Uçar M. (2018): Gynecological transrektal ultrasonography for equine breeding. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics, 4(1), 16-20.
15. Pinto CRF, Frazer GS. (2010): Genital disease, fertility and pregnancy. In: Taylor FGR, Brazil TJ, Hillyer MH. (Editors) Diagnostic techniques in equine medicine. Second edition, USA Elsevier. 118-143.
16. Ginther OJ. (1995): Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction. 1st ed. Cross plains (WI): Equi Services publishing.
17. Erdoğan G. (1998): Veteriner jinekolojide Doppler ultrasonografi kullanım alanları [using of Doppler ultrasonography in veterinary gynecology]. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics;4(1):43-9.
18. Uçmak Z.G, Kurban İ, Uçmak M. (2020): The vascularity of preovulatory follicle: The colour-Doppler assessment and

- its predictive value in the early pregnancy outcome in Arabian Mares. *Vet Hek Dern Derg* ;91(2):104-9.
19. Uçmak Z.G, Kurban I, Uçmak M. (2020): Evaluation of vascularization in the walls of preovulatory follicles in mares with endometritis. *Theriogenology*;157:79-84.
 20. Ginther, O. J., & Utt, M. D. (2004): Doppler ultrasound in equine reproduction: Principles, techniques, and potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, 24(12), 516–526. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2004.11.005>.
 21. Bollwein, H., Weber, F., Woschée, I., & Stolla, R. (2004): Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. *Theriogenology*, 61(2-3), 499-509.
 22. Gracia-Calvo, L. A., Martín-Cuervo, M., Jiménez, J., Vieitez, V., Argüelles, D., Durán, M. E., & Ezquerro, J. (2015): Development of a technique for standing hand-assisted laparoscopic splenectomy in five horses. *Australian veterinary journal*, 93(6), 183-188.
 23. Nagy P, Guillaume D, Daels P. (2000): Seasonality in Mares. *Animal Reproduction Science*;60-61:245-6.
 24. Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J, Love CC, Brinsko SP, Rigby SL. (2003): *Manuel of Equine Reproduction*. Second Edition, MosbyInc, USA.
 25. Kılıçarslan MR, Tek Ç, Sabuncu A, Uçar M. (2018): Gynecological transrektal ultrasonography for equine breeding. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 4(1), 16-20.
 26. Şenünver A, Gültiken N. (2015): Gebelik ve Fizyolojisi. 97-112. In: M Kaymaz, M Fındık, A Rışvanlı, A Köker (Eds), *Kısıraklarda Doğum ve Jinekoloji*. Medipres, Malatya.

27. McCue PM, Scoggin CF, Lindholm ARG, Estrus. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD. (Editors). (2011): Equine Reproduction second edition New Delhi Wiley-Blackwell:1721-1726
28. Hafez, E.S.E. (1993): Horse. Reproduction in Farm Animals, 1993, Lea-Febiger, Philadelphia, 361-384.
29. Sertich PL. Pregnancy evaloation in the mare. IN: Youngquist RS, Threlfall WR. (Editors)(2007).: Current therapy in large animal theriogenology. Second edition. Saunders Missouri: 99-106.
30. Merkt, H., Jungnickel, S., Klug, E. (1982): Reduction of early twin pregnancy to single pregnancy in the mare by dietetic means. J. Reprod. Fert., Suppl., 32, 451-452.
31. McKinnon AO, Diagnosis of pregnancy. In: McKinnon AO, Voss JL. (Editors)(1993).: Equine reproduction. USA Lea and Febiger: 501-516.
32. Ginther, O. J., & Utt, M. D. (2004): Doppler ultrasound in equine reproduction: Principles, techniques, and potential. Journal of Equine Veterinary Science, 24(12), 516–526. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2004.11.005>.
33. Woods, G.L., Hallowell, A.,L. (1993): Management of Twin Embryos and Twin Fetuses in the Mare, Equine Reproduction. Lea-Febiger, Philadelphia. 532-535.
34. Seyrek-İntaş K, Ülgen M, Mısırlıoğlu D. (1997): Bursa yöresinde kısıraklarda klinik, bakteriyolojik ve sitolojik muayeneler ile genital enfeksiyonların belirlenmesi. AÜ Vet Fak Derg, 44 (1):31-38.
35. Troedsson MHT. (1997): Therapeutic considerations for matinginduced endometritis. Pferdeheilkunde, 5: 516-520.

36. Kiihn W. (1994): Ultrasonography in mare. In, Veterinary Reproductive Ultrasonography. Times Mirror International Publishers Limited. London, England. 11-80.
37. Maischberger E, Irwin J, Carrington S, Duggan V. (2008): Equine post-breeding endometritis: A review. *Ir Vet J.* Mar 1;61(3):163-8. doi: 10.1186/2046-0481-61-3-163. PMID: 21851709; PMCID: PMC3113865.
38. Bucca S, Carli A, Buckley T, Dolci G, Fogarty U. (2008): The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology.* Oct 15;70(7):1093-100. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.06.029. Epub 2008 Jul 22. PMID: 18649933.
39. Parker WA. (1971): Sequential changes of the ovulating follicle in the estrous mare as determined by rectal palpation. *Proc Ann Conn Vet, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO.*
40. Pierson RA, Ginther OJ. (1985): Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare. *Theriogenology* 23:795-806.
41. Ginther OJ. (1986): Ultrasonic Imaging and Reproductive Events in the Mare. *Equi services, Cross Plains, WI.*
42. Uçmak Z.G, Kurban, İ., Ozbezek F.(2024): Hemodynamic Changes of The Uterine Artery in Mares with Different Uterine Pathologies. *Slovenian Veterinary Research.* (61):1-8.
43. Nielsen SW, Moulton JE. (1990): Tumors of the ovary. In: Moulton JE, ed. *tumors in domestic animals.* 3rd ed. Berkeley, CA: University of California Press. p.504-7.

44. Kurban İ., Uçmak Z.G, Gündüz M. C., Baykal A., Sönmez K., Gürel A. (2019): A Case of Granulosa Cell Tumor in an Arabian Mare. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi, cilt.10, sa.1, ss.31-36.
45. McCue PM. (1998):Neoplasia of the female reproductive tract. Vet Clin North Am Equine Pract.;14(3):505-15.
46. Sundberg JP, Burnstein T, Page EH, Kirkham WW, Robinson FR. (1977):Neoplasms of equidae. J Am Vet Med Assoc.;170(2):150-2.
47. Chevalier, F. and E. Palmer. (1982): Ultrasonic echography in the mare. J. Reprod. Fert. Suppl. 32:423-430.
48. Palmer, E. and M.A. Driancourt. (1980):Use of ultrasound echography in quine gynecology. Theriogenology 13:203-216.
49. Kurban, İ., Fatma, T. S., Karabulut, T., Kılıçarslan, M. R., Uçmak, Z. G., & Namli, E. (2022): Aspartate aminotransferase and gamma glutamyl transferase levels in mares with miscarriage and healthy pregnancies. Acta Scientiae Veterinariae.
50. Kurban, İ., Karabulut, T. S. F. T., & Kiliçarslan, M. R. (2023): Equine Alpha-fetoprotein Levels in Thoroughbred Mares with Normal and Pathological Pregnancies. Acta Scientiae Veterinariae.
51. Simpson, D.J., R.E.S. Greenwood, S.W. Ricketts, P.D. Rosedale, M. Sanderson and W. R. Allen. (1982): Use of ultrasound echography for early diagnosis of single and twin pregnancy in the mare. J. Reprod. Fert. Suppl. 32:431-439.

CURRENT STATUS OF GENETIC STUDIES EMPLOYING GENETIC MARKERS AND VARIOUS APPLICATIONS IN LIVESTOCK

Ozden COBANOGU¹

1. INTRODUCTION

Dairy cattle play an essential role among farm animals. In researching the productivity level of livestock, it is crucial to select genetically superior animals as breeding stock and use them as dams and sires. For this purpose, in classical selection methods, the best breeding animals are selected and used depending on the breeding values calculated according to the animals' external appearance and productivity levels. In this process, the offspring obtained is expected to be superior to the previous generation in terms of productivity traits. However, achieving this genetic progress with classical selection methods, which are based solely on the observed productivity levels and the estimation of genetic variability, is a complex and costly process that requires a long time due to the generation interval of the animals.

Genetic markers are short DNA sequences, specific DNA regions in the animal genome that show the variation between individuals, and these regions are DNA sequences that are associated in a way that will have a positive or negative effect on specific characteristics of the animals. Different DNA fragments or genetic variants in animals are called allelic genes, and each individual inherits two alleles, one from the mother and the other from the father. If the two allele genes in question are identical to each other, the

¹ Prof. Dr. Bursa Uludağ University, ocobanoglu@uludag.edu.tr, ORCID: 0000-0001-9633-634X

individual is homozygous; if they are different from each other, the individual is heterozygous.

DNA marker testing or genotyping studies determine which gene allele an animal carries for a DNA marker. Therefore, it is possible to reveal the genotypic structure of an animal for a specific trait by applying a marker allele test. Since specific alleles of genes are called marker alleles that control a trait, the physical or morphological characteristics called the phenotypic structure of the animal are directly related to the alleles of this gene. For example, there have been different commercial tests on the market for a long time that allow us to test such characteristics of animals, the resistance to genetic diseases such as BLAD (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency), and DUMPS (Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase), animal skin color, and horniness. However, the most economically important traits in animal husbandry are complex in structure and controlled by the many different genes with additive effects and environmental factors. Such complex traits include the animal's growth, carcass characteristics, and reproductive performance. Any DNA marker is associated with only one of the many genes that affect these complex traits (Avanus and Altinel, 2017; Turkmen et al., 2023).

The principle of animal breeding involves selecting animals with high yield capacity and transferring these traits across generations, which, when combined with molecular selection methods, leads to more accurate predictions of genetic potential and accelerates the identification of genetically superior animals. With the developments in DNA technology, marker-based selection methods have become faster and more effective and play an essential role in increasing the genetic capacity of animals regarding their economic efficiency. The continuous progress in molecular genetics and biotechnology expands the scope of genetic markers, making them indispensable for improving livestock breeding, health, and conservation efforts.

By applying DNA markers in the breeding selection process, animal genetic diversity can be determined more accurately in a shorter time. Therefore, the success in selecting genetically superior animals is higher with marker-based selection methods. This chapter provides information about different marker systems and discusses the various possibilities of using these systems in livestock animals.

2. GENETIC MARKERS

Genetic markers have become essential tools in livestock studies, offering valuable insights into the genetic architecture of traits and improving breeding programs by facilitating the identification of genes associated with economically important traits like growth performance, reproduction rates, disease resistance, and milk production. Various genetic marker types, such as morphological, chromosomal, biochemical, and molecular markers, have recently been used to increase animal production. Among these, chromosomal marker types such as morphological, structural, or numerical variations such as skin color pigmentation and other features are types with low polymorphism levels. In addition, biochemical marker types such as isoenzymes and blood polymorphisms, although widely used in studies, are not recommended type markers due to gender-limited features, age-related conditions, and significant effects of the environment. In such cases, sometimes various genetic classes cannot be distinguished at the phenotypic level due to the effect of the dominant allele. In addition, such markers represent a region of less than 10% of the genome, which does not fully reflect the diversity observed in DNA sequences coding for genetic attributes (Montaldo and Meza-Herrera, 1998).

However, the molecular markers are far from such limitations, are more polymorphic than other markers, and are of a

type that can accurately determine genetic variation at the DNA level. In addition, these markers are frequently encountered throughout the entire animal genome and allow us to analyze the genome regarding genetic diversity. Genetic markers are multi-allelic structures that follow typical Mendelian inheritance, are expressed as codominant, and have a heterozygosity rate of more than 70% (Geldermann, 1975). These markers are of a type that is not affected by environmental factors and pleiotropic effects. Depending on the developments in DNA technology in recent years, such markers reveal many types of genetic polymorphism at the DNA level and clarify the genetic basis of the phenotypic diversity observed in the population. Therefore, these markers used to determine genetic polymorphism at the DNA level are essential in animal genetics studies. These markers, including RFLPs, microsatellites, and SNPs are essential to parentage verification, population genetics, and marker-assisted selection (MAS), which enhances productivity and genetic diversity management. The commonly used molecular markers are given in Table 1, and the technical requirements and properties of developing molecular markers are given in Table 2.

2.1.RFLP as Co-dominant Marker

PCR- Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) is a molecular technique that can be used as a PCR-based co-dominant marker for detecting genetic variation. In RFLP analysis, specific DNA sequences are amplified using PCR and then digested by restriction enzymes that cut at specific nucleotide sequences. The resulting fragments are separated by gel electrophoresis, allowing for the identification of polymorphisms based on the size of the fragments (Botstein et al., 1980). These differences in fragment length are indicative of variations in the DNA sequence, such as mutations or allelic differences. RFLP markers are widely used in genetic mapping, plant and animal breeding, and forensic studies due to their high

reproducibility and ability to detect co-dominant alleles (Brown, 1996; Weising et al., 2005).

2.2.Bi-Allelic Dominant Markers

RAPD, The Randomly Amplified Polymorphic DNA method is a molecular marking method that allows variant analysis of the target chromosome region after PCR is used to amplify the DNA segment (Williams et al., 1990). This method started in the 1990s and is based on amplifying random chromosome regions throughout the genome with specific small DNA segments called primers, usually 8-10 base pairs long. Since the primers are short sequences, there is a possibility of binding to many different loci in the genome. In this method, the number of products amplified by PCR is directly proportional to the number of genomic DNA fragments combined with the primer oligonucleotide sequence. The most significant advantage of this method is that there is no need for prior DNA sequence information when designing primers (Vignal et al., 2002). The RAPD system is simple, fast, and relatively cheap. It is widely used in marker-based selection studies, such as determining the desired trait, creating genetic maps, and population diversity. However, its most significant disadvantage is that the dominant RAPD marker cannot determine the difference between homozygous and heterozygous individuals for the gene allele in question (Mburu and Hanotte, 2005).

AFLP, Amplified Fragment Length Polymorphism, is a combination of PCR technique and RFLP and is based on the principle of cutting genomic DNA with the help of restriction enzyme and amplifying the relevant region with PCR (Vos et al., 1995). In this technique, developed in 1995, after the genomic DNA is cut with appropriate enzymes, small DNA fragments called artificial fragments or adapters are added to the ends of the cut DNA fragments that emerge throughout the genome and are amplified with the help of primers developed by the

nucleotide sequence of these adapters. The fragments obtained are then separated in a gel medium that can distinguish even the most minor base differences between individuals and are displayed autoradiographically. In this technique, polymorphism occurs in the DNA sequence differences in the restriction regions or the nucleotides determined with the help of primers or in the 50-100 PCR fragments amplified simultaneously. As in the RAPD system, AFLP is a dominant marker type and does not require prior knowledge of the DNA sequence order. However, unlike the RAPD system, the most significant feature of AFLP is that it is peculiar and reproducible due to the use of specific adapter nucleotide sequences and certain DNA-cutting enzymes (Mburu and Hanotte, 2005).

2.3.STR/Microsatellites

In the genome of eukaryotic organisms such as farm animals, in addition to regions called exons, which play a role in protein synthesis, multiple repeated sequences called introns do not code for genes or encode genes. These repeated chromosome sections contain satellite or satellite DNA sequences, which appear as thousands of consecutive nucleotide repeats. These regions are called minisatellites and microsatellites, depending on the number of nucleotide repeats (Turner et al., 2007). As multi-allelic codominant markers, minisatellites are usually 10-100 base pairs long and are highly repeated regions. Although minisatellite and microsatellite markers are frequently seen throughout the genome in all eukaryotic organisms, minisatellite repeats are generally located in the telomeric region of chromosomes or regions with high recombination frequencies. VNTR; Variable Number of Tandem Repeats, SSR; Simple Sequence Repeat, or STR; Microsatellites, also known as Short Tandem Sequence Repeats, are in the form of 2-6 nucleotide repeats such as TGTGTG, and the length of microsatellite markers varies between 100-300 base pairs (Tautz, 1989). With

PCR amplification, specific primers designed with a length of 20-25 base pairs are attached to both ends of the microsatellite region and ensure the amplification of the target genomic DNA. The PCR amplification product is then separated according to their lengths in agarose gel and analyzed with an automatic method (Morgante and Olivieri, 1993). These markers are codominant markers detected in individuals and populations, respectively, as binary or multiple alleles. In addition, since microsatellites are highly polymorphic and reliable markers, they are type markers with a wide range of applications, from population studies of very different species to paternity tests, from genotyping and genetic mapping studies of individuals to systematic taxonomy studies. In addition, the long time it takes to study microsatellite markers and the fact that it is an expensive method that requires labor can be considered as the main disadvantages of this method (Mburu and Hanotte, 2005). However, due to the development of automation systems and the increase in the field of use, these disadvantages have decreased and continued to decrease over time.

2.4.Modern Type of Molecular Marker

One of the best examples of DNA chip and sequence-based DNA marker systems, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) involves the substitution of one nucleotide with another on the chromosome or the addition or deletion of one or more nucleotides (IN-DEL) (Vignal et al., 2002). SNP markers are biallelic systems, and only two alternative nucleotide possibilities exist for a position in the genome. Although a single nucleotide change in SNP markers reveals polymorphism between individuals for that chromosomal region, the level of polymorphism observed in SNP markers is low compared to microsatellite markers with multiple alleles. For example, five SNP markers can only provide information at the level provided by a microsatellite marker. Therefore, approximately 2000 SNP

markers are needed to cover an area equal to a ten cM (centi Morgan) long microsatellite map on chromosomes (Beuzen et al., 2000). However, RFLP type marker emerge due to SNPs obtained in the DNA sequence recognition region of the restriction-cutting enzyme. This is an indication of the importance of SNP markers.

There are four main reasons for the increasing interest in using SNP markers in genetic analysis studies. First, SNP markers appear to be more potential markers than markers such as microsatellites in or near the chromosomal region of interest. For example, an SNP marker can be detected approximately every 1000 bases in the human genome (Landegegn et al., 1998). Second, some SNP markers are located in the coding sequence of genes and directly affect the function of the synthesized protein. Such SNPs may be directly responsible for the variation observed between individuals regarding essential animal characteristics. The third situation is that SNP markers can be transferred to subsequent generations in a more balanced manner than microsatellites. Therefore, SNP markers are more suitable for long-term selection programs. Finally, SNP markers are a class of DNA markers more suitable for high-level genetic analysis studies using automated systems such as DNA microarray technology (Lipshutz et al., 1999).

Many different molecular methods are used to determine SNP markers. These are standard molecular techniques such as sequencing, PCR, enzyme digestion, and various gel electrophoresis systems applied in traditional gel-based studies. SNP markers are genotyped using allelic gene hybridization, primer extension, and oligonucleotide ligation methods. In addition, SNP markers are preferred marker types in applications such as genome mapping, marker-based breeding, and map-based cloning because they are seen in large numbers and frequently throughout the genome. The comparison of the primary markers

frequently used in genetics and biotechnology studies regarding both usage and cost is provided in Table 3. Apart from the primary DNA markers mentioned above, many new types that emerged as new-generation DNA markers have begun to be widely used in human, animal, and plant genetics studies (Maheswaran, 2004).

3. GENOME MAPPING STUDIES

Genome mapping studies such as genome-wide association studies (GWAS), quantitative trait loci (QTL), and marker-assisted selection (MAS) have significantly advanced the genetic improvement of livestock species, especially for economically important traits, providing new insights into traits related to productivity, health, and adaptability. Genome mapping involves identifying the physical locations of genes on a species' genome. This foundational work provides the blueprint necessary for identifying regions of the genome associated with economically important traits, such as milk yield in dairy cattle, growth rate in pigs, or disease resistance in chickens. Advances in sequencing technologies have accelerated genome mapping efforts, enabling the construction of high-resolution maps for many livestock species, including cattle, sheep, and poultry (Zhu et al., 2016).

Although the idea of creating the first genetic map among farm animal species was started in the 1936s in the poultry genome, in 1990, different poultry reference populations were determined. Different research groups conducted many mapping studies, which were later brought together to produce the first poultry genome map (Bumstead and Palyga, 1992). In addition, genetic mapping studies continue intensively, especially in cattle, pigs, sheep, horses, and goats, and have even reached the completion stage for some species. (Van Marle-Koster and Nel,

2003). According to the latest data assemblies, the vast majority of farm animal genome maps reach the point given in Table 4. Although animal genome mapping studies are complicated and require a long time, after the maps are completed, identifying functional genes and QTL regions related to economic yield characteristics and resistance to genetic diseases will be much easier.

3.1.Quantitative Trait Loci (QTL) Analysis

QTL studies have similarly contributed to understanding the genetic architecture of traits that are controlled by multiple genes. QTL mapping links phenotypic data with genetic markers, helping to identify regions of the genome that affect traits of interest. These studies have been particularly important for traits that are difficult to measure directly, such as disease resistance or meat tenderness (Andersson & Georges, 2004). For example, QTLs associated with fat deposition and lean meat yield have been identified in pigs, guiding selective breeding strategies.

Many genetic traits of economic importance in farm animals are quantitative. Therefore, to detect the QTL region related to a specific trait, many markers on different chromosomes covering the entire genome must be genotyped in many animals according to their relatedness. In addition, phenotypic yield records are needed for the relevant trait in this process. With the help of statistical analyses, genotypic data related to marker alleles and phenotypic data related to yield traits are brought together and analyzed to determine the region or location range on the chromosome region most likely to affect a particular trait (Bovenhuis et al., 1997). However, instead of whole genome scanning in such studies, approaches aimed at determining candidate loci or candidate genes are often followed and are a valid path in QTL studies (Cobanoğlu et al., 2005). Although the studies on determining and verifying QTL regions are a complex, time-consuming, and quite costly process, it will be possible to achieve

genetic progress in a short time as a result, and thus increase the economic yield levels of animals, which will directly affect the breeder's commercial income positively.

3.2.Genome-Wide Association Studies (GWAS)

GWAS play a pivotal role in identifying the genetic basis of complex traits by scanning the entire genome for statistical associations between genetic variants, usually single nucleotide polymorphisms (SNPs), and phenotypic traits. In livestock, GWAS has been instrumental in discovering genomic regions associated with production traits, such as carcass quality, feed efficiency, and reproductive performance (Hayes et al., 2013). For instance, GWAS identified several loci associated with fertility and disease resistance in cattle and sheep, helping breeders target genetic improvements more efficiently (VanRaden et al., 2011). The comparisons of the GWAS method with other genetic analysis methodologies in terms of its potential to improve animal productivity traits are given in Table 5.

3.3.Marker-Assisted Selection (MAS) Analysis

Marker-Assisted Selection (MAS) utilizes information from QTL and GWAS to improve breeding decisions by selecting animals based on the presence of specific genetic markers associated with desirable traits. This approach accelerates genetic progress by allowing for the early selection of breeding candidates before phenotypic traits are expressed. In cattle, MAS has been successfully applied to improve milk production and disease resistance, contributing to more sustainable livestock management (Dekkers, 2004).

Marker Based Selection (MAS) program in farm animals is generally based on the principle of finding the QTL region for a specific trait, testing this region in the target population, and determining the genotypes of the animals in the herd and statistically estimating the genetic quality of the animal.⁹ As a

result of MAS studies, genetic gains for productivity traits in farm animals have increased by 15-30% compared to classical methods (Kashi et al., 1990). Therefore, the success of selection in the herd can be increased by using the genotypic data of the animals regarding the markers in the selection indexes prepared for the herds. In studies conducted using genetic markers, many gene regions have been identified for both milk and fattening in cattle and structural characteristics of the animal (Khatkar et al., 2004; Ibeagha-Awemu et al., 2008). Among these, genes such as DGAT1 and ABCG2, which affect milk yield and components such as milk protein and fat in dairy cows, and genes such as myostatin (GDF8) and IGF2, which affect muscle mass density in sheep and pigs, respectively, and myostatin, which affects growth and carcass structure in cattle, can be counted. There are commercial diagnostic tests such as geneSTAR* and DC Nicol & Genetic Solutions to determine significant effective genes responsible for characteristics such as the marbled appearance of intermuscular fat and tenderness of meat in beef cattle (Casas et al., 2000). The numbers of current QTL and MAS studies conducted in various animal species in terms of the essential health, production and reproduction traits searched are summarized in Table 6. These advanced genomic tools and methodologies have transformed livestock breeding, enhancing the precision and efficiency of selection processes, ultimately leading to healthier, more productive animals.

4. CONCLUSION

Determining genetic variation among animals accurately and achieving genetic progress in subsequent generations requires a long time in classical breeding and selection practices. However, especially in recent years, molecular genetic markers or markers have been widely used in many areas, from the selection of superior

quality animals in animal breeding to the improvement of economic yield traits in animal populations, in many areas such as QTL, related MAS studies, determination tests of individuals and parents, detection of some genetic diseases and determination and protection of genetic resources, in research and commercial diagnostic tests sold in the market. As a result, these markers constitute an essential part of breeding and genetic studies in farm animals, and more practical marker types with a wide range of uses and faster results with less cost are also being developed.

REFERENCES

- Andersson, L., & Georges, M. (2004). Domestic-animal genomics: Deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 5(3), 202-212.
- Avanus, K., & Altinel, A. (2017). Inherited diseases of Holstein cattle: Story so far in Turkey. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, 1(2), 40-46.
- Beuzen, N. D., Stear, M. J., & Chang, K. C. (2000). Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*, 160(1), 42-52.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314.
- Bovenhuis, H., Van Arendonk, J. A. M., Davis, G., Elsen, J. M., Haley, C. S., Hill, W. G., ... & Nicholas, F. W. (1997). Detection and mapping of quantitative trait loci in farm animals. *Livestock Production Science*, 52(2), 135-144.
- Brown, S. M. (1996). Plant Genome Mapping by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). *Methods in Molecular Biology*, Vol 55.
- Bumstead, N., & Palyga, J. (1992). A preliminary linkage map of the chicken genome. *Genomics*, 13(3), 690-697.
- Casas, E., Shackelford, S. D., Keele, J. W., Stone, R. T., Kappes, S. M., & Koohmaraie, M. (2000). Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *Journal of Animal Science*, 78(3), 560-569.
- Cobanoglu, O., Berger, P. J. & Kirkpatrick, B. W. (2005). Genome screen for twinning rate QTL in four North

- American Holstein families. *Animal Genetics*, 36: 303–308.
- Dekkers, J. C. M. (2004). Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82(13), E313-E328.
- Geldermann, H. (1975). Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers I. Methods. *Theoretical and Applied Genetics*, 46(7), 319-330.
- Hayes, B. J., Lewin, H. A., & Goddard, M. E. (2013). The future of livestock breeding: Genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptability. *Trends in Genetics*, 29(4), 206-214.
- Ibeagha-Awemu, E. M., Kgwatalala, P., & Zhao, X. (2008). A critical analysis of production-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *Mammalian Genome*, 19, 591-617.
- Kashi, Y., Hallerman, E., & Soller, M. (1990). Marker-assisted selection of candidate bulls for progeny testing programmes. *Animal Science*, 51(1), 63-74.
- Khatkar, M. S., Thomson, P. C., Tammen, I., & Raadsma, H. W. (2004). Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genetics Selection Evolution*, 36(2), 163-190.
- Landegren, U., Nilsson, M., & Kwok, P. Y. (1998). Reading bits of genetic information: methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research*, 8(8), 769-776.
- Lipshutz, R. J., Fodor, S., Gingeras, T. R., & Lockhart, D. J. (1999). High density synthetic oligonucleotide arrays. *Nature Genetics*, 21(1), 20-24.

- Maheswaran, M. (2004). Molecular markers: history, features and applications. *Advanced Biotech*, 51, 373-378.
- Mburu, D., & Hanotte, O. (2005). A practical approach to microsatellite genotyping with special reference to livestock population genetics. ILRI, Nairobi, Kenya.
- Montaldo, H. H., & Meza-Herrera, C. A. (1998). Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1(2), 15-16.
- Morgante, M., & Olivieri, A. M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The plant journal*, 3(1), 175-182.
- Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17(16), 6463-6471.
- Turkmen, D., Demir, E., Bilginer, U., & Karsli, T. (2023). Investigation of Some Autosomal Recessive Inherited Diseases (BLAD, DUMPS, CVM, and FXID) in Holstein Cattle. *Livestock Studies*, 63(2), 87-91.
- Turner, P., McLennan, A., Bates, A., & White, M. (2007). *Bios instant notes in molecular biology*. Taylor & Francis.
- Van Marle-Koster, E., & Nel, L. H. (2003). Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa: A review. *South African Journal of Animal Science*, 33(1), 1-10.
- VanRaden, P. M., Van Tassell, C. P., Wiggans, G. R., & Sonstegard, T. S. (2011). Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 1802-1811.

- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3), 275-305.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., ... & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21), 4407-4414.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., & Meyer, W. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications* (2nd ed.). CRC Press.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531-6535.
- Zhu, B., Niu, Z., Chen, Y., & Shen, Y. (2016). Genome mapping in domestic animals. *Animal Genetics*, 47(2), 160-170.

Table 1. Molecular Markers; including variation type and information content

Molecular Markers	Variation Type			Information Content		
	SNP	Indel	VNTR	Dominant alleles	Codominant alleles	Multiple Codominant alleles
PCR-RFLP	+	+	+	-	+	-
RAPD	+	+	+	+	-	-
AFLP	+	+	+	+	+	-
SSR/Microsatellite	-	+	+	-	-	+
SNP	+	+	-	-	+	-

Table 2. Technical requirements and properties for the development of molecular markers

Marker Type	Cutting Enzyme	PCR Conditions	Specific Primer	Gel Electrophoresis	Repeatability	Accuracy
PCR-RFLP	Yes	Standard PCR conditions	Specific primers	Agarose gel	High	High
AFLP	Yes	Optimized PCR conditions	No	Polyacrylamide or agarose gel	Moderate	Moderate to High
RAPD	None	Standard PCR conditions	Arbitrary primers	Agarose gel	Moderate	Moderate
SSR/Microsatellite	None	Standard PCR conditions	Specific primers	Agarose or polyacrylamide gel	High	High
SNP	Yes	Optimized PCR conditions	Specific primers	Various (SNP array or gel)	High	High

Table 3. Comparisons of molecular markers with each other

Molecular Marker	Polymorphism Degree	Resolution	Required DNA Amount	Cost Status	Applications
PCR-RFLP	Low-to-medium	Medium	High (5-10 µg)	High	Genetic mapping, linkage analysis, animal breeding
AFLP	High	High	Medium (50-500 ng)	Moderate	Genotyping, biodiversity, genetic mapping, population genetics
RAPD	Low-to-medium	Low-Medium	Low (5-50 ng)	Low	Quick screening, genetic diversity, fingerprinting
SSR/Microsatellite	High	High	Low (10-100 ng)	Moderate	Population genetics, phylogenetics, genome mapping
SNP	Low (per locus) but abundant	Very High	Low (10-50 ng)	Low-High (varies)	Association studies, personalized medicine, trait mapping

Table 4. Current status of genome maps for the latest assemblies of the main livestock species.

Species	Genome Size (Gb)	Total Genes Annotated	Total Transcripts	Sequence Variation Features	Reference Year
Cattle	3.0	~22,000	~30,000	SNPs, Indels, Structural Variants	2021
Sheep	2.8	~20,000	~25,000	SNPs, Indels	2020
Goat	2.5	~20,000	~24,000	SNPs, Indels	2021
Pig	2.5	~23,000	~30,000	SNPs, Indels, CNVs	2022
Chicken	1.2	~22,000	~30,000	SNPs, Indels, Structural Variants	2022

Table 5. Comparison of GWAS with Other Genetic Analysis Techniques for Selective Breeding

Characteristic	GWAS	MAS	QTL Mapping
Scope	Genome-wide (all SNPs)	Direct selection based on identified markers	Specific traits, often in controlled populations
Population Size	Large (thousands)	Typically smaller than GWAS (hundreds to thousands)	Variable, but often moderate
Data Type	SNPs and other variants	Genotypic data from identified markers	SNPs and phenotypic data
Statistical Power	High, due to large sample sizes	High, as it focuses on known associations	Moderate to high, depends on population size
Complexity of Traits	Suitable for complex, polygenic traits	Effective for complex traits, can also target specific traits	Suitable for quantitative traits
Outcome	Identifies loci associated with traits	Improves efficiency of breeding decisions	Identifies QTL affecting traits
Validation of Results	Replication in different populations may be required	Validation through breeding outcomes	Requires independent validation of identified QTLs

Table 6. QTL and MAS studies across various livestock species.

Species	Total QTL Studies	Total MAS Studies	Key Traits Studied
Beef Cattle (Bos taurus)	2000+	150+	Growth rate, feed efficiency, carcass quality, marbling, disease resistance
Dairy Cattle (Bos taurus)	1500+	200+	Milk yield, milk fat and protein content, fertility, disease resistance (mastitis)
Sheep (Ovis aries)	500+	50+	Wool quality, growth rate, reproductive traits, disease resistance (scrapie, footrot)
Goats (Capra aegagrus hircus)	200+	30+	Milk yield, growth rate, reproductive traits, disease resistance
Pigs (Sus scrofa)	1800+	200+	Growth rate, meat quality, feed efficiency, reproductive traits
Poultry (Gallus gallus domesticus and Meleagris gallopavo)	1300+	150+	Egg production, feed conversion ratio, meat yield, disease resistance

Key Aspects:

QTL Studies: Studies mapping genes associated with important economic traits.

MAS Studies: Studies applying genetic markers to improve breeding efficiency.

Key Traits Studied: Traits that are prioritized for productivity, quality, and health improvements.

FARE VE SIÇANLARDA YAYGIN OLARAK KULLANILAN DENEYSEL ROMATOİD ARTRİT MODELLERİ

Meryem ÇALIŞIR¹

1. GİRİŞ

Romatoid artrit(RA), ilerleyici eklem hasarı ve eklem dışı bulgularla karakterize, kalıcı sakatlığa yol açabilen ve genel popülasyona göre daha yüksek ölüm oranına sahip kronik romatizmal bir hastalıktır. Aynı zamanda romatizmal inflamatuvar kas-iskelet sistemi hastalıkları arasında en sık görülen sistemik otoimmün bir hastalıktır. RA tedavisi zor olan ve genellikle ömür boyu tedavi gerektiren bir hastalık olup, yeni tedavilerin geliştirilmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. Fakat hem ilaçların yan etkileri hem de yüksek maliyetten dolayı tedavilerin uygulanma yöntemleri dünya çapında hastalığın heterojen yönetilmesine ve sonuçların değişkenliğine neden olmaktadır(Bendele, t.y.; Finckh vd., 2022; Kannan vd., 2005). Onlarca yıllık araştırmalardan sonra bile hastalığın ortaya çıkışı ve patogenezi ve altta yatan mekanizmalar hakkında hala yeterli bilgi elde edilememiştir. Genetik faktörler, yaşam stili ve cinsiyet hormonlarının hastalığın gelişmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. RA'nın etiyolojisi ve ilk tetikleyici olayların meydana geldiği durumlar klinik öncesi aşamada yani henüz hastalığın nüks etmediği aşamada gerçekleşmektedir. Dolayısıyla bu aşamada araştırma yapmak zordur ve bu kısımlar spekülatif

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Van yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi ABD, meryemcalisir@yyu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-9890-8943.

kalmaktadır(Kannan vd., 2005). RA hastalığının spesifik yönlerini gösterecek ve altta yatan patolojinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacak, yeni ilaçların denenmesi için deneysel bir hayvan modeline ihtiyaç duyulmaktadır(Tuncel vd., 2016). RA için kullanılan deneysel kemirgen hayvan modellerinden, özellikle hastalığın erken, ara dönem ve geç dönemlerinde altında yatan mekanizmaların anlaşılmasında çok değerli bir araç olarak faydalanılmaktadır. Biyomedikal bilimlerdeki gelişmelerle birlikte, RA ve diğer inflamatuvar hastalıklar için yeni tedaviler geliştirme olasılığı daha da artmıştır. İnsan artrit modellerinin birbirine benzemediği düşünüldüğünde, özellikle kontrollü şartlarda yapılan deneysel artrit modellerinin bile birbirine benzemediği göz önüne alındığında RA ile ilgili deneysel klinik bulgular ve gözlemler oldukça önem taşımaktadır.

Dünyada farelerle ilgili deneysel çalışmalar çok olsa da, ülkemizde mevcut test prosedürlerinin hala eski olması ve analizlerde daha fazla serum ve dokuya ihtiyaç duyulmasından ötürü çoğunlukla sıçan kullanılmaktadır. Bu derlemede, RA'nın patogenezisini ve patofizyolojisini anlamak ve ilaç endüstrisine yeni ilaçların keşfinde kullanılan, deneysel fare ve sıçan modeli oluşturmada sıklıkla uygulanan protokollerden bahsedilecektir.

2. ROMATOİD ARTRİT MODELLERİ

Romatoid artrit gibi kompleks bir hastalığın patolojik süreçlerini iyi anlayabilmek için koşulları taklit edebilen ve hastalık durumuna benzerlik gösterebilen çeşitli hayvan modellerinden faydalanılmaktadır. Bu hastalık süreçlerinin anlaşılmasında çoğunlukla kemirgenler yardımcı ve temel araçlar olarak kullanılmaktadır. Kemirgenler kullanılmasının en önemli avantajları; genetik standardizasyona sahip olmaları, maliyetin düşük olması, fazla sayıda genetik modifiye soyların

olmasıdır(Bendele, t.y.; Choudhary vd., 2018). Bir modelin seçilmesindeki önemli kriterler şunlardır:

- 1) Ajanların insanlarda etkinliğini tahmin etme kapasitesi
- 2) Modelin gerçekleştirebilmenin kolaylığı, verilerin tekrarlanabilirliği ve test süresinin makul olması
- 3) İnsan hastalığına benzer patoloji veya patogeneze oluşturabilmesi

Romatoid artrit hayvan modelleri ayrıca mevcut ve yeni ilaçların potansiyelleri, etkinlikleri ve güvenliklerinin test edilmesi için de önemlidir. Yeni ilaçların geliştirilebilmesi için RA'nın patojenik süreçlerinin iyi anlaşılması ve farklı tedavi yaklaşımlarının ortaya konulması gerekmektedir. Dolayısıyla bu süreçte deneysel hayvan modellerinin kullanımı kritik öneme sahiptir. RA deneysel hayvan modellerinin indüklenmesi genellikle kolaydır, verilerin tekrarlanabilirliği yüksektir ve genellikle kısa sürelidir. Modellerin çoğu insan RA'sına benzer yönlere sahip olup önemli bazı farklılıklar şunlardır: 1) RA hayvan modelleri, insan hastalığından çok daha hızlı ilerler ve bu nedenle öncelikle akut inflamatuvar yanıtlarla karakterizedir, 2) kemirgenlerin, eklem iltihabına yanıt olarak belirgin kemik rezorpsiyonuna ve kemik oluşumuna yönelme eğilimleri vardır. RA'nın anlaşılmasında hayvan modellerinin kullanımı bu tür iltihaplanma, kırık yıkımı ve kemik erimesi gibi süreçler hakkında genel bilgilere erişmemize katkıda bulunmuş ve tedavi yaklaşımlarında da önemli ilerlemeler sağlamıştır(Bendele, t.y.; Kannan vd., 2005).

Deneysel RA modelleri genellikle dışardan indükleyici bir ajanın kullanılmasıyla oluşturulmaktadır. Hastalığın spontan olduğu modellerde ise, immünolojik olarak duyarlı olan hayvanlara belirli genlerin eklenmesi ya da yok edilmesiyle elde edildiğinden yine bir indüklenme durumu vardır. Genellikle

çoğu model hem sıçanda hem de farede kullanılmaktadır sadece bazı modeller sıçanlarda bazı modellerde farelerde daha iyi sonuçlanmaktadır.

Romatoid artrit modellerinde, adjuvan ile indüklenmiş artrit (Adjuvant Induced Arthritis-AIA-AA), kollajen ile indüklenmiş artrit(Collagen Induced Arthritis-CIA), pristan ile indüklenmiş artrit(Pristane Induced Arthritis-PIA) modellerine değinilecektir. Kollajen tip-II ile indüklenen artrit(CIA) hem fare hem de sıçanlarda kullanışlı iken, AA çoğunlukla sıçanlarda kullanılmaktadır(Bendele, t.y.; Tuncel vd., 2016).

2.1.Adjuvan ile İndüklenmiş Artrit (AİA-AA)

Adjuvan artrit (AA), klinik ve klinik öncesi dönemde anti-artritlik ajanları ve halih azırda hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçları test etmede kullanılan ve yaygın olarak oluşturulan deneysel hayvan modelidir. Modelin avantajı güvenilir bir başlangıç ve poliartiküler inflamasyon, belirgin kemik rezorpsiyonu gibi kolayca ölçülebilir bir progresyona sahip olmasıdır. Kullanılacak adjuvan türü: ısı ile öldürülmüş Mikobakteri içeren Freud komple adjuvan(Complete Freund's adjuvant-CFA), eksik Freud adjuvan(Incomplete Freund's Adjuvant-IFA) veya sentetik adjuvan olan Avridin(N, Ndioctyldeceyl-N', N-bis(2-hydroxy-ethyl) propanediamine) kullanılmaktadır(Joe & Wilder, 1999; McNamee vd., 2015). Freud adjuvanı yağ içinde su emülsiyonu bulunduran ve uzun süreli antijen salınımı yapan adjuvanlardır. Peptit temelli aşılarda formülasyonlarında da kullanılmaktadır. CFA ve IFA olmak üzere iki çeşittir. Her iki türü de yağ fazı olarak mineral yağ (Marcol 52) ve sürfaktan olarak da disnhidromannitol monooleat (Arlacel A) içermektedir. İkisi arasındaki fark CFA'nın ek olarak inaktive edilmiş *Mycobacterium tuberculosis* içermektedir(Aydın vd., 2022). Hayvanlara kuyruk tabanına veya ayak tabanlarında birine intradermal olarak adjuvan enjekte

edilir. Hastalık başlangıcı deneysel çalışmada kullanılan etken madde ve yönteme göre değişmekle birlikte 9-15 gün arasında olabilmektedir. Bu model için DA(Dark Agouti) ve Lewis sıçanlarının kullanılması ideal olsa da diğer sıçan soyları da kullanılmaktadır. Hastalık hem dişilerde hem de erkeklerde gelişmektedir fakat başlangıç zamanı ve hastalığın şiddeti cinsiyete göre değişkenlik gösterebilmektedir.

2.2.Kollajen ile İndüklenmiş Artrit (CIA)

Kollajen kaynağı olarak genellikle sığır, insan, domuz ve civciv kaynaklı tip II kollajen kullanılmaktadır. Kollajen Tip II, 150 µl, 0,1 M Asetik asitte çözündürülür, Eksik Freud Adjuvanı(IFA) ile birlikte eşit oranda emülsifiye edilmektedir. Hayvanların, arka pençesine, kuyruk tabanına ya da sırt bölgesine 3 farklı noktada olacak şekilde (100-150 µl) intradermal/subkutan olarak enjekte edilmektedir. İlk uygulamadan 7 gün sonra booster denilen bir ek doz enjeksiyon yapılmaktadır. Kollajen ile oluşturulan RA modelinde çeşitli sıçan soyları kullanılırken, farelerde genellikle hastalığa duyarlı genetik modifiye soylar kullanılmaktadır(Choudhary vd., 2018).

2.3.Pristan ile İndüklenmiş Artrit (PIA)

Pristane (2,6,10,14-Tetramethylpentadecane) artrit oluşturmada kullanılan diğer bir sentetik immünolojik adjuvandır. Kuyruk tabanının dorsal kısmına intradermal ya da subkutan olarak 100-150  l olacak şekilde uygulanabilmektedir. Hastalık başlangıcı genellikle 2-3 haftada ortaya çıkmaktadır. P A'nın diğer artrit modellerine göre avantajı, modeli oluşturmak için tekrarlı dozlara ihtiyaç olmaması ve uygulama kolaylığıdır. Tek bir doz ile RA semptomları elde edilmektedir(Leichsenring vd., 2016).

2.4.Deneyisel Modelin Oluşturulmasında Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Hayvanlar çalışmaya alınmadan önce (tercihen birkaç gün önce) gruplara ayrılmalı ve etiketlenmelidir, böylece çalışmaya ve araştırmacıya uyum sağlamalarına zen gösterilmelidir. RA modeli oluştururken hayvanlar anestezi altında olmalı ve enjeksiyon işleminin eksiksiz ve düzgün yapıldığından emin olunmalıdır. Modelin oluşturulmasında hem erkek hem de dişi hayvanlar kullanılabilir. Özellikle çalışmada kullanılacak hayvan cinsiyeti ve soyu için literatüre bakmak ve model ile uyumuna dikkat etmek gerekmektedir. Hayvanların ağırlıkları yaklaşık 200 g civarında olması ve her deneyisel grupta tercihen 7-8 hayvan olması idealdir. Bu sayıların deneyisel çalışmanın türüne göre değişebileceği unutulmamalıdır.

3. DENEYSEL MODELİN TAKİBİ VE LABORATUVAR ANALİZLERİ

3.1.Artritin Skorlanması

Hastalık modeli oluşturulduktan sonra, hangi yöntemin kullanıldığına bağlı olarak, genellikle haftada iki ya da  kez hayvanların pençeleri kontrol edilmeli ve skorlanmalıdır. Deney süresince hayvanların penelerindeki artrit gelişimi haftada  kez kontrol edilecek ve makroskopik skorum sistemi kullanılarak řu şekilde yapılmaktadır: 1-bir eklemdede şişme ve kızarıklık; 2- iki eklemdede şişme ve kızarıklık; 3-ikiden fazla eklemdede şişme kızarıklık; 4-penenin tamamında şiddetli artrit gelişmesi. Genellikle hayvanlar 1 artrit skoruna ulaştığında hastalığın oluştuğu varsayılmaktadır(Kannan vd., 2005; Leichsenring vd., 2016). Skorum aynı günlerde ve aynı saatlerde yapılmalıdır. Akut artrit başlangıcında ve hemen sonrasında daha sık inceleme ve gözlem gerekebilir.

Gözlemsel olarak skor yapabilmek için deneyimli olmak gerekmektedir. Çünkü hastalığın ilk günlerinde pençelerdeki parmak eklemlerinde inflamasyonu ayırt edebilmek kolay değildir. Bununla birlikte pençe genişliğinin/inflamatuvarın ölçülmesinde kumpas veya pletismometre de kullanılabilir.

3.2.Hastalık Parametreleri

Deneyisel modelde, hayvanlardan alınan kandan elde edilen serumda sıklıkla TNF- α (Tümör Nekroz Faktörü), IL-1 β (İnterlökin), IL-6 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra CRP(C-reaktif protein) ve kortikosteroid de bakılmaktadır(McInnes & Schett, 2007). Ayrıca histopatolojik parametre olarak, özellikle arka pençe ve gerekli görülürse çeşitli dokulardan boyama yapılarak tedaviye yanıtlar incelenebilmektedir. Laboratuvar parametreleri, çalışılan hayvan modeline ve çalışmanın bütçesine göre azaltılıp artırılabilir.

4. SONUÇ

Bu derlemede hem akademik hem de endüstriyel alanda hayvan deneylerinde yaygın olarak kullanılan RA hayvan modellerine değinilmiştir. Özellikle son yıllarda sıklıkla çalışılmasına rağmen RA, hala tam olarak bilinmeyen etiyoloji ve spesifik bir tedavi yöntemi olmayan kompleks bir hastalık olarak kalmaktadır. Derlemedeki amaç, araştırmacılara RA ile ilgili çalışmalarında, güvenilir ve yeniden tekrarlanabilir sonuçlar verecek deneysel koşulları oluşturmada yardımcı olabilmektir.

KAYNAKÇA

- Aydın, S., Varan, G., & Ünal, S. (2022). Peptide Based Vaccine Strategies. *Flora the Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*, 27(2), 189-195.
<https://doi.org/10.5578/flora.20229801>
- Bendele, A. M. (t.y.). *Animal models of rheumatoid arthritis*.
- Choudhary, N., Bhatt, L. K., & Prabhavalkar, K. S. (2018). Experimental animal models for rheumatoid arthritis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 40(3), 193-200.
<https://doi.org/10.1080/08923973.2018.1434793>
- Finckh, A., Gilbert, B., Hodgkinson, B., Bae, S.-C., Thomas, R., Deane, K. D., Alpizar-Rodriguez, D., & Lauper, K. (2022). Global epidemiology of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*.
<https://doi.org/10.1038/s41584-022-00827-y>
- Joe, B., & Wilder, R. L. (1999). Animal models of rheumatoid arthritis. *MOLECULAR MEDICINE TODAY*, 5.
- Kannan, K., Ortmann, R. A., & Kimpel, D. (2005). Animal models of rheumatoid arthritis and their relevance to human disease. *Pathophysiology*, 12(3), 167-181.
<https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2005.07.011>
- Leichsenring, A., Bäcker, I., Furtmüller, P. G., Obinger, C., Lange, F., & Flemmig, J. (2016). Long-Term Effects of (-)-Epigallocatechin Gallate (EGCG) on Pristane-Induced Arthritis (PIA) in Female Dark Agouti Rats. *PLOS ONE*, 11(3), e0152518.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152518>
- McInnes, I. B., & Schett, G. (2007). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews*

Immunology, 7(6), 429-442.

<https://doi.org/10.1038/nri2094>

McNamee, K., Williams, R., & Seed, M. (2015). Animal models of rheumatoid arthritis: How informative are they?

European Journal of Pharmacology, 759, 278-286.

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.047>

Tuncel, J., Haag, S., Hoffmann, M. H., Yau, A. C. Y., Hultqvist, M., Olofsson, P., Bäcklund, J., Nandakumar, K. S.,

Weidner, D., Fischer, A., Leichsenring, A., Lange, F.,

Haase, C., Lu, S., Gulko, P. S., Steiner, G., & Holmdahl,

R. (2016). Animal Models of Rheumatoid Arthritis (I):

Pristane-Induced Arthritis in the Rat. *PLOS ONE*, 11(5),

e0155936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155936>

RUMİNANT CRANIUMLARINDA GEOMETRİK MORFOMETRİK ÇALIŞMALAR

Şevval ÖZDEMİR¹

Mehmet CAN²

1. GİRİŞ

Fenotipik olarak birbirlerine benzer hayvanlar, iskelet sistemlerinde ayırt edici özelliklere sahiptirler. Blackith (1965), hayvanların şekillerini karşılaştırmaya yönelik kaydedilen en eski girişimlerin, M.Ö. 5. yüzyıl gibi erken bir tarihte Pisagor okulu tarafından yapıldığına dikkat çekmiştir (Reyment, 2010). Sahip oldukları farklılıklar hayvan türleri arasındaki ayrımın yapılmasının yanı sıra, adli ve arkeolojik delillerin değerlendirilmesi açısından da önemlidir (Tecirlioğlu, 1983). Taksonomistler, popülasyonu oluşturan türlerin hangi farklılıklar ile ayırt edildiklerini morfometri kullanarak ortaya çıkarmaktadırlar. Morfometrik analiz yalnızca taksonomik açıdan değil aynı zamanda zooarkeolojik çalışmalarda ve osteolojik değerlendirmelerde şekil farklılıklarının ortaya konmasında tercih edilen bir yöntemdir (Ketani ve Sağsöz, 2009; Çakır ve ark., 2012). Günümüzde diğer pek çok bilim dalı da morfometrik analizleri kullanmaya başlamıştır (sağlık bilimleri, biyoloji, jeomorfoloji, antropoloji ve sanat). Bunun yanı sıra morfometri, adli bilimlerde oldukça geniş yer edinmiştir, ayak izi veya

¹ Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Anatomisi Anabilim Dalı, sevalozdemir889@gmail.com, ORCID: 0000-0002-0518-1272

² Prof. Dr., Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, mehmetcan@balikesir.edu.tr, ORCID: 0000-0001-9409-026X

ayakkabı izinin şekli gibi pek çok verinin analizinde de kullanılmaktadır (Reyment, 2010).

Morfometrik inceleme yöntemleri son yıllarda ilerleme kaydederek gelişmiş ve artık geometrik morfometri olarak adlandırılan bir yöntem haline gelmiştir. Gelişen morfometri bir nesnenin şeklini bir bütün olarak uygun istatistiksel yöntemlerle hem niteliksel hem de niceliksel olarak tanımlamayı sağlar (Claude, 2008). Geometrik morfometri, şekil özellikleri hakkında bilgi edinmek için etkili bir yoldur. Bu yöntemle materyaller şekil bütünlükleri korunarak analiz edilir (Pares-Casanova ve ark., 2020). Geometrik morfometri ile yapılan incelemeler, materyal üzerinde doğrudan olmayan yöntemlerle gerçekleştirilir. İncelemeler için materyallerden elde edilecek görüntüleme metodlarından fotoğraflama, röntgen ve tarama ile iki boyutlu veya üç boyutlu lazer tarayıcı ve bilgisayarlı tomografi ile üç boyutlu çalışmalar yapmak mümkündür (Özdemir ve Can, 2023). Morfometrik yöntemlerdeki en önemli gelişmelerden biri de 3 boyutlu incelemelerin yapılabilir olmasıdır (Reyment, 2010).

Bir organizmadaki karmaşık şekilli yapılar yalnızca doğrusal ölçümler ile açıklanamaz. Daha kapsamlı analizler için kafatası gibi karmaşık yapıların geometrik morfometri yöntemiyle incelenmesi kaçınılmazdır. Bu gibi biçimsiz yapıların incelemesinde geometrik morfometrik yöntem kapsamında semi-landmark olarak adlandırılan noktalama metodu ile kıvrımlı alanlardan veri elde edilmektedir (Pares- Casanova ve ark., 2020).

İskelet sistemi üzerine yapılan morfometrik çalışmalarda olduğu gibi geometrik morfometrik çalışmalarda da en çok inceleme cranium üzerine yapılmıştır (Slice, 2007). Craniumun boyut ve şekli, evcil hayvan popülasyonlarını ve ırklarını incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Pares-Casanova ve ark., 2020). Kranial bölge anatomisi, yaşamsal organları bulundurması sebebiyle önemlidir (Bayram, 2022). Yaşamsal

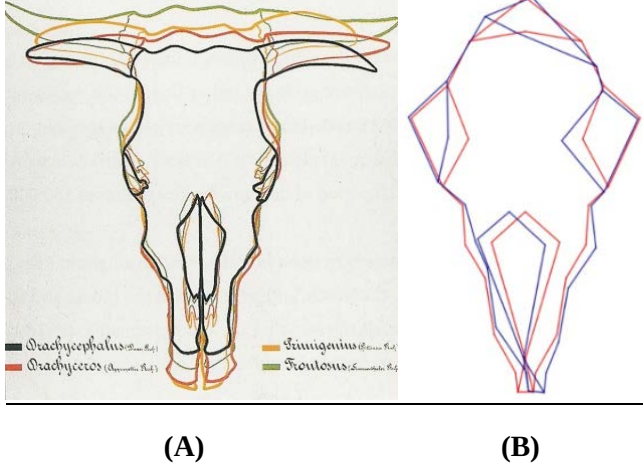
organın korunmasının yanı sıra kafatasındaki sinir delikleri topografik açıdan anestezi uygulamalarında öneme sahiptir (Hall ve ark., 2000). Kafatasının canlılar için hayati öneminin keşfedilmesi sonucu bu yapının incelenmesi oldukça eskiye dayanır. İbni Sina, El-Kanun Fi't- Tıbb kitabında kafatasını konu edindiği bölümde anatomik ve fonksiyonel öneminin yanı sıra sahip olduğu şeklin incelenmesi ve şekil farklılığına göre sınıflandırma yapmaktadır (Özden ve ark., 2024).

Cranium üzerindeki geometrik morfometrik çalışmalar kendi içlerinde çeşitlilik gösterir. Bunlar craniumun belli bir yönden (lateralden veya dorsalden gibi) görünüşü üzerine olabileceği gibi craniumu oluşturan kemikler veya bu kemiklerin birleşim yerleri üzerine veya craniumun yalnızca belirli bir bölümünü kapsayan incelemeler de olabilmektedir (orbita, foramen magnum).

2. RUMİNANTLARDA CRANIUM ÇALIŞMALARI

Ruminantların kafatası ölçüm çalışmaları, bu hayvanların kökenini belirlemek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (Bartosiewicz, 1980). Rüttimeyer'in (1867) yapmış olduğu çalışmalar özellikle sığırların kökeni ve tür tayini amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda kafatası özelliklerine odaklanan incelemelerin başlangıcı kabul edilir (Feliş ve ark., 2011). Bu çalışmaları takiben kafatası ölçümlerinden yararlanarak yapılan ilk sınıflandırma Wilckens (1876) tarafından gerçekleştirilmiştir. Ruminantlarda gerçekleştirilen bu çalışmada kafatasının şekli, boynuz uzunlukları ve eğriliği gibi özellikler kullanılmıştır. Tür ayrımının yanı sıra cranium boyutlarının cinsiyet ayrımını tespit etmede etkisi olduğu bildirilmiştir (Özkan ve ark., 2019). Tüm bu çalışmalar gelişen yeni inceleme metodları kullanılarak yapılmaya devam etmektedir.

Şekil 1. Wilkens'in (1876) sığırları sınıflandırma çalışmaları (A), Manuta ve ark. (2024) İvesi ve Sharri ırkı koyunları şekil analizi (B).

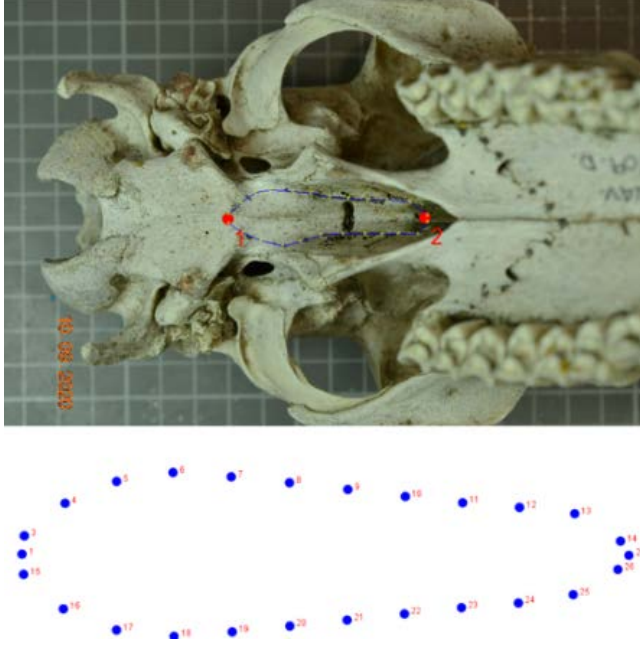


Craniumun farklı yönden incelendiği çalışmaların en güncel örneklerinden biri Simental ve Holstein ırkı sığırların craniumu (Çakar ve ark., 2024) üzerine yapılan ve craniumun dorsal, lateral, caudal ve ventral yönden incelenen çalışmadır. Çalışmadaki lineer ölçümler sonucu, Holstein ırkının daha uzun craniuma sahip olduğu ve geometrik morfometrik incelemeler sonucu iki tür arasında orbital ve occipital bölgelerde farklılık oranı ön plana çıkmıştır. Buna göre Holstein'lar daha oval bir orbitaya sahipken Simental ırkı daha geniş orbital yapıya sahiptirler. Bununla birlikte Simental ırkı sığırların daha geniş bir oksipital bölgeye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu farkın sebebinin muhtemelen daha fazla vücut ağırlığına sahip olan ve kas bağlantısı için daha geniş bir yüzey alanı sağlayan Simental kafatasının daha büyük yanal görünümünden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Aynı çalışmada belirlenen farkların ırk ayrımının yanı sıra bu farklılığın sahip olunan işlevsel farklılıklardan kaynaklı adaptasyonu da ortaya koyacağı belirtilmektedir. Gündemir ve arkadaşları (2023) beş farklı ülkenin koyun ırkları (Bardhoka, Dubska, İvesi, Lara e Polisit,

Ruda ve Sharri) arasında yaptığı çalışma ile craniumların dorsal yönden incelemesi sonucunda ırklar arası şekil farklılıklarını tespit etmek amacıyla kullanışlı bir araç olduğuna ve taksonomik açıdan başarılı sonuç sağlayacağına değinir. İncelenen ırklar arasında en belirgin farklılıklar Bardhoka koyunları üzerinde tespit edilmiştir. En belirgin özellik olarak fossa temporalis'in daha kaudalde bulunduğu ve daha gelişmiş olduğu belirtilmiştir. Bunun yanı sıra Bardhoka koyununda cranium genişliğinin incelenen diğer koyun ırklarına göre daha dardır. Dorsal yönden inceleme yapılan bir başka çalışmada farklı koyun ırklarının craniumlarında asimetrik değişimleri ortaya koymuştur (Manuta ve ark., 2024). Buna göre craniumun dorsal yönden incelemeleri sonucu ırklar arası asimetri oranları farklı bulunurken bu hayvanlarda cinsiyet ayrımının tespitinde herhangi bir fark olmadığını ortaya koymuştur.

Bu çalışmaların yanı sıra craniumun oluşumuna katılan bir kemik bölümü kapsayan incelemeler de mevcuttur. Pares-Casanova ve Domènech-Domènech (2021) yapmış olduğu çalışmada koyun ve keçi craniumları arasında sphenoid kemiklerin boyut ve şeklinin iki hayvan türü arasında farklı olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada koyunlardaki sphenoid kemiğin daha büyük, daha uzun ve geniş olduğunu ve bu farklılıktan ırk ayrımında yararlanılabileceğini bildirmiştir.

Şekil 2. Sphenoid kemiğin incelemek için elde edilen landmark görüntüleri

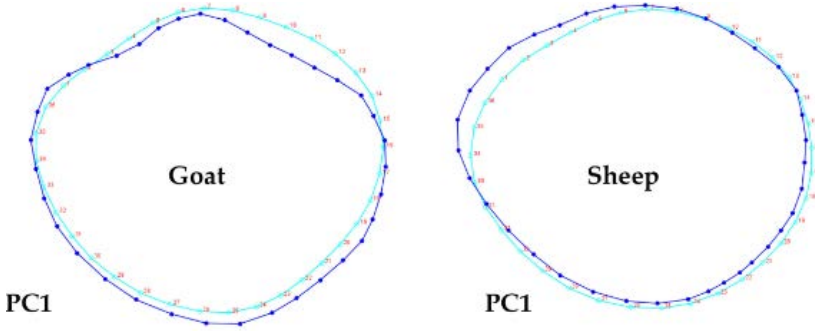


Kaynak: (Pares-Casanova ve Domènech-Domènech, 2021).

Cranium üzerindeki bir yapının incelenerek hayvan türü ayrımı yapılabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Demircioğlu ve arkadaşları (2023) koyun ve keçilerin foramen magnum ve condylus occipitalisi üzerine incelemelerde bulunmuşlardır. Bu incelemeler sonucunda condylus occipitalisin şekil değişiminin koyun ve keçiler arasında ayırt ediciliğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada bu farklılığın nedeninin iki türün otlama alışkanlıklarının çeşitlilik göstermesinden kaynaklanabileceğine değinilir. Bir başka yapı olan orbita ırk ve cinsiyet ayrımı açısından koyun ve keçilerde incelenmiştir (Aksünger Karaavcı ve ark., 2023). Bu çalışma ile keçi ırkları arası şekil ayrımının koyunlara göre daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Orbitada yapılan incelemeler sonucunda %70'ten daha fazla doğruluk oranında cinsiyet ayrımının

yapılabilir olduğu bildirilmiştir. Koyun ve keçilerde yapılan orbital inceleme ile ilgili bir başka çalışmada orbitanın geometrik morfolometrik yöntemle tür ayrımı yapmak amacıyla kullanılabileceği desteklenmektedir (Gürbüz ve arkadaşları, 2024). Yapılan çalışmada keçilerde orbitanın dorsal ve lateral açısında, koyunlarda ise orbita'nın dorsomedial açısında daha yüksek oranda varyasyon gözlenmiştir. Bu şekil farklılığının çiğneme kaslarının bağlandıkları kemik üzerindeki baskılarından kaynaklanabileceğini belirtilmiştir (Şekil 3).

Şekil 3. Koyun ve keçi orbita şekilleri



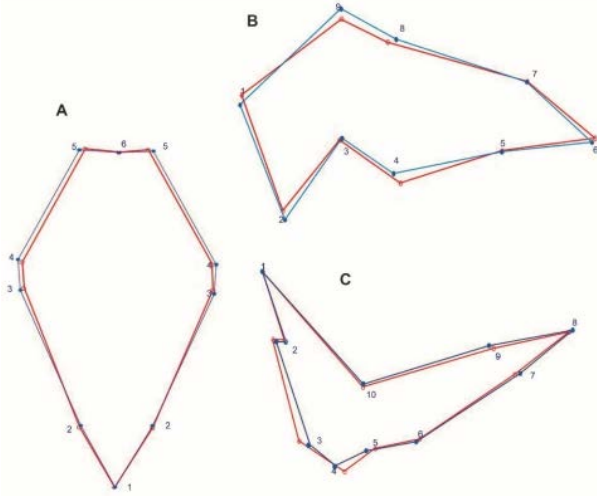
Kaynak: (Gürbüz ve ark., 2024).

Cranium üzerindeki yapılardan biri olan dişler üzerine de incelemeler yapılmıştır. Clauss ve arkadaşlarının (2022) yaptığı çalışmada at ve sığırların dişleri üzerindeki incelemelerle diş sırası uzunluğunun vücut boyutu ve kafatası uzunluğuyla ilişkisini ortaya koymak amaçlanmıştır. Yapılan çalışma sonucu hem atlarda hem de sığırlarda daha küçük kafatasına sahip hayvanların nispeten daha uzun bir diş sırasına sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Bunun yanı sıra kranial bölgenin daha kapsamlı incelendiği cranium ile mandibulanın da dahil olduğu çalışmalar bulunmaktadır. İvesi koyunlarında (Demircioğlu ve arkadaşları, 2021) yapılan incelemeler sonucunda cranium üzerinden cinsiyet ayrımı yapılabileceği fakat mandibulanın bu ayrımı yapmayı

sağlamadığını ortaya konmuştur. Abbasabadi ve arkadaşları (2020) yapmış oldukları çalışmada hem geleneksel hem de geometrik morfometrik yöntemlerden yararlanarak veri toplamışlardır. Bu çalışmada alageyikler üzerinde hem craniumun tüm özellikleri hem de mandibula üzerinde incelemelerle dişi ve erkek hayvanlar kıyaslamıştır. Bu incelemeler sonucunda alageyiklerin cranium ve mandibulalarında cinsiyet ayrımı için geometrik morfometrik verilerde anlamlı bir fark bulunmadığı ancak geleneksel morfometrik verilerde cinsiyet ayrımını sağlayan farklılıkların olduğu bildirilmiştir.

Şekil 4. Alageyiklerin craniumlarının (A) dorsalden, (B) lateralinden ve (C) mandibulalarının şekil değişimleri. (Kırmızı çizgi: dişi, Mavi çizgi: erkek)



Kaynak: (Abbasabadi ve ark., 2020).

İki boyutlu görüntüler üzerinden yapılan çalışmalarda en çok tercih edilen yöntem fotoğraflama olsa da radyografik görüntüleme ile yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. Alizadeh ve arkadaşları (2024) Saanen keçilerinde yapmış oldukları çalışmada kuru kemik materyallerin radyografilerini çekerek incelemişlerdir. Yapılan çalışmanın Saanen keçilerine ait

morfometrik özelliklerinin ortaya konulması ile farklı türlerde yapılacak olan çalışmalarla kıyaslanabileceği ifade edilmiştir. Literatürle kıyaslanan çalışma sonucunda Saanen keçilerinin daha kısa cranium uzunluğuna, zigomatik genişliğe ve orbital açığa sahip olduğu bildirilirken bir diğer ayırt edici özelliğin ise sert damak üzerinde foramina bulunmasıdır.

Şekil 5. Saanen keçilerinin iki boyutlu incelemelerinde fotoğraflama ve radyografi yöntemi



Kaynak: (Alizadeh ve ark., 2024).

Geometrik morfometrik incelemeler iki veya üç boyutlu olabilmektedir. Bu yöntemle hem iki hem de üç boyutlu görüntüler canlı hayvanlardan veya ölü hayvanlarda maserasyon işlemlerine gerek kalmadan inceleme imkanı sunmaktadır. Cranium üzerinde yapılan incelemeler de iki ve üç boyutlu olarak çeşitlilik gösterir. Koyun, keçi ve ceylanların craniumu üzerinde bilgisayarlı tomografi aracılığıyla elde edilen görüntülerle orbital hacim hesabı yapılmıştır (Koçyiğit ve ark., 2024). Bu çalışma ile aynı tür hayvanların sağ ve sol orbital hacimlerinde bir farklılık bulunmadığının yanı sıra özellikle koyun ve ceylanların orbital hacim farklılığının ayırt edici bir özellik olduğu vurgulanmıştır.

Bunun yanı sıra kuru kemik üzerinden yapılmayan dokularıyla birlikte görüntülenerek incelenen çalışmalarda mevcuttur. Akkaraman ve Kangal Akkkaraman koyunları (Baş Ekici, 2023) üzerinde yapılan bir tez çalışmasında koyun kafaları bilgisayarlı tomografi yöntemiyle görüntülenmiş ve bu görüntülerden yararlanarak 3 boyutlu modelleme yapılmıştır. Bu modelleme işlemi sonrası elde edilen görüntüler üzerinde

geometrik morfometrik yöntemle çeşitli ölçümler gerçekleştirmiştir. Dorsal yönden yapılan incelemeler sonucu tespit edilen en belirgin değişimler arasında suturaların birleşim yeri ve fissura nasomaxillaris bulunmuştur. Bu oluşumlar burun boşluğunun dorso-lateral duvarını oluşturduğundan iki tür arası bu farklılığın nedenin hayvanların yaşadığı bölgenin rakım ve iklim farkından dolayı gelişen solunum adaptasyonu ile burun boşluğunun genişlemesinden kaynaklanabileceği ifade edilmektedir. Tüm incelemeler sonucunda elde edilen verilerin tür ayrımı yapmak için kullanılabileceği ortaya konulurken uygulanan yöntemle incelenen materyallerde herhangi bir tahribat yaşanmadan anlamlı sonuçlar elde edilebilir olması yöntemin avantajlarından biridir.

Şekil 6. Cranium'un kuru kemik (A) ve dokulu (B) halinin 3 boyutlu modelleri



(A)



(B)

Kaynak: (Baş Ekici, 2023).

Morfolojik verilerin elde edilmesinde geometrik morfometrinin kullanılmasının sebepleri arasında lineer ölçümler gibi sadece genişlik ve uzunluk ölçümlerini sağlamak yerine materyalin şekli ve boyutunun doğru şekilde ortaya konması en önemli etkindir (Lemic ve ark., 2014). Bunun yanı sıra yalnızca doğru verilerin elde edilmesini değil aynı zamanda şekil değişikliklerinin görselleştirilmesini de sağlamaktadır. Ayrıca geometrik morfometri kullanımı kolay, düşük maliyetli ve hızlı olma avantajından dolayı da tercih sebebi olmaktadır. Tüm bu özelliklerinden dolayı geometrik morfometri geleneksel morfometriye göre tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir (Pares- Casanova ve ark., 2020).

Cranium üzerine inceleme yapılırken farklı yöntemlerden yararlanılmış olsa da geometrik morfometri ve lineer ölçüm sonuçlarını kıyaslayan çalışmaların sayısı azdır. Araukanya atlarına ait craniumlar üzerinde hem lineer hem de geometrik morfometrik incelemeler yapılarak elde edilen sonuçlarla iki yöntem kıyaslanmıştır (Pares- Casanova ve ark., 2020). Yapılan çalışmada erişkin ve yaşlı atların ayrımının her iki yöntemle yapılabileceğini ancak geometrik morfometrik yöntemlerin %97,5 oranında daha doğru sonuç vermesinin yanı sıra şekil hakkında daha fazla bilgi edilebildiğinden daha iyi ve kullanılabilir olduğuna değinmiştir. Literatürde ruminant caniumu üzerine geleneksel ve geometrik morfometri yöntemlerin kıyaslandığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Cranium, beyin, duyu organları, solunum ve sindirim sistemlerinin başlangıç kısımlarını içermesinden dolayı oldukça önemli bir yapıdır. Bu yapının özelliklerinin bilinmesi incelenen hayvanın özellikleri, tür ayrımı ve tür içinde cinsiyet farklılıklarının tespitini sağlar. Kafatası yapısındaki farklılıklar, türler arası veya aynı tür içinde cinsiyet farkından kaynaklanabileceği gibi bu farklılıklar yapı, yaş, çevresel etkiler ve beslenme durumu gibi pek çok farklılıktan kaynaklanabilir.

Kafatası ölçümleri, canlıların anatomik özelliklerinin tanınmasında, klinik açıdan tanı ve teşhisin yanı sıra operatif müdahaleler için önemlidir.

KAYNAKLAR

- Abbasabadi, B.M., Ghoghghi, F., Rahmati, S. ve Hajian, O. (2020). Dama dama mesopotamica. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 15(02), 221-233. doi:10.22059/ijvm.2020.299875.1005075.
- Aksünger Karaavci, F., Demiraslan, Y., Demircioğlu, İ., Gürbüz, İ. and Özgel, Ö. (2024). Orbital shape in sheep and goats with sex and breed factors. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 53(1), e12971.
- Alizadeh, S., Kamfar, P. and Hosseini, M. (2024) Evaluation of radiological and anatomical features of skull bones in adult Saanen goat. *Vet Med Sci.* 10, e1435. <https://doi.org/10.1002/vms3.1435>
- Bartosiewicz, L. (1980) Relationships between the cranial measurements of cattle. *OSSA*, 7, 3-17.
- Baş Ekici, H. (2023) Akkaraman ve Kangal Akkaraman Koyunlarının Kafatasının Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri Kullanılarak Üç Boyutlu Modellenmesi ve Morfometrik Özelliklerinin İncelenmesi. [Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi] Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi (Tez no: 826367)
- Bayram, R. (2022) Morkaraman Koyunu ve Norduz Koyununda Ossa Cranii'nin Komparativ, Morfometrik ve Makroanatomik Olarak İncelenmesi [Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi] Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi (Tez no: 734298)
- Blackith, R.E. (1965) *Morphometrics*. In Waterman TH, Horowitz HJ (Eds.) Theoretical and Mathematical Biology, Chapter 9, Blaisdell Publishing Company: Newyork

- Claude, J. (2008). Morphometrics with R. New York: Springer Science+Business Media. doi:10.1007/978-0-387-77790-0
- Clauss, M., Heck, L., Veitschegger, K. and Geiger, M. (2022). Teeth out of proportion: Smaller horse and cattle breeds have comparatively larger teeth. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 338(8), 561-574.
- Çakar, B., Tandir, F., Güzel, B.C., Bakıcı, C., Ünal, B., Duro, S., Szara, T., Spataru, C., Spataru, M.C. and Gündemir, O. (2024). Comparison of Skull Morphometric Characteristics of Simmental and Holstein Cattle Breeds. *Animals*, 14(14), 2085.
- Çakır, A., Gökçe, İ., and Yıldırım, E.O. (2012). Craniometric measurements and some anatomical characteristics of the cranium in Mediterranean Monk Seal (*Monachus monachus*, Hermann 1779). *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(3), 155-162.
- Demircioğlu, İ., Demiraslan, Y., Aksunger Karaavcı, F., Gürbüz, İ. ve Özgel, Ö. (2023) Geometric Morphometric Analysis of the Condylus Occipitalis and Foramen Magnum in Sheep and Goat. *Eurasian J Vet Sci*, 39(3); 132-138.
- Demircioğlu, İ., Demiraslan, Y., Gürbüz, İ. ve Dayan, M. (2021). Geometric morphometric analysis of skull and mandible in Awassi ewe and ram İvesi koyunu ve koçunda kafatası ve mandibulanin geometrik morfometrik analizi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(1): 43-49.
- Felius, M., Koolmees, P.A. and Theunissen, B. (2011) European Cattle Genetic Diversity Consortium, Lenstra JA. On the breeds of cattle- historic and current classifications. *Diversity* 3(4), 660-692. doi: 10.3390/d3040660

- Gündemir, O., Duro, S., Szara, T., Koungoulos, L., Jashari, T., Demircioğlu, İ., Hadžiomerović, N., Ilieski, V., Melnyk, O.P. and Melnyk, O.O. (2023). Skull variation in different breeds sheep from Balkan countries. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 249, 152083.
- Gürbüz, İ., Demiraslan, Y., Demircioğlu, İ., Karaavci, F. A., & Özgel, Ö. (2024). Orbital shape in goat and sheep: Symmetric analysis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 53(3), e13033.
- Hall, B. D., Zanchet, D., & Ugarte, D. (2000). Estimating nanoparticle size from diffraction measurements. *Journal of applied crystallography*, 33(6), 1335-1341.
- Ketani, M. A., ve Sağsöz, H. (2009). Sıçanlarda mandibular kondilin histolojik yapısı üzerine cinsiyetin etkilerinin histomorfometrik olarak incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 4(1), 31-38.
- Koçyiğit, A., Demircioğlu, İ., Demiraslan, Y., Karaavci, F. A., and Dayan, M. O. (2024). Determining orbital volumes of sheep, goats and gazelles via computed tomography. *Veterinary Medicine and Science*, 10(5), e1579.
- Lemic, D.; Benítez, H.A. and Bažok, R. (2014) Intercontinental effect on sexual shape dimorphism and allometric relationships in the beetle pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Zool. Anz.*, 253, 203-206.
- Manuta, N., Duro, S., Szara, T., Jashari, T., Demircioğlu, İ., Avanus, K. and Büyükünel, S. K. (2024). Skull asymmetry in various sheep breeds: Directional asymmetry and fluctuating asymmetry. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 53(3), e13047.

- Özdemir, Ş. ve Can, M. (2023) Morfometrik ve Geometrik Morfometrik Yöntemlerinin Veterinerlik Anatomisi Alanında Kullanımı. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 13(2), 226- 235. <https://doi.org/10.53518/mjavl.1334252>
- Özden, H., Ortadeveci, A., Akbas, Y. (2024) Ossa Cranii (Cranial Bones) in Ibn Sīnā's Work the Canon of Medicine, *Osmangazi Journal of Medicine*, 46(2):305-316 Doi: 10.20515/otd.138176
- Özkan, E., Sıddıq, A.B., Kahvecioğlu, K.O., Öztürk, M. and Onar, V. (2019) Morphometric analysis of the skulls of domestic cattle (*Bos taurus* L.) and water buffalo (*Bubalus bubalis* L.) in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 43, 532-539. doi:10.3906/vet-1903-66
- Pares-Casanova, P. M. and Domènech-Domènech, X. (2021). A comparative analysis of sphenoid bone between domestic sheep (*ovis aries*) and goat (*capra hircus*) using geometric morphometrics. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 50(3); 556-561.
- Pares-Casanova, P.M., Salamanca-Carreño, A., Crosby Granados, R.A. and Bentez-Molano, J. (2020). A comparison of traditional and geometric morphometric techniques for the study of basicranial morphology in horses: a case study of the Araucanian Horse from Colombia. *Animals*, 10(1), 118. doi: 10.3390/ani10010118.
- Reyment, R.A. (2010) *Morphometrics: An Historical Essay*. In Elewa, A.M.T. (Ed.) *Morphometrics for Nonmorphometricians*, Lecture Notes in Earth Sciences 124, Springer: Berlin. DOI: 10.1007/978-3-540-95853-6_2

- Rütimeyer, L. (1867). *Versuch einer natürlichen Geschichte des Rindes, in seinen Beziehungen zu den Wiederkauern im Allgemeinen* (Vol. 22). Druck von Zürcher und Furrer.
- Slice, D. E. (2007). Geometric morphometrics. *Annu. Rev. Anthropol.*, 36(1), 261-281.
- Tecirlioğlu, S. (1983). Sirtlan ve Köpeğin İskelet Kemikleri Üzerinde Makro-Anatomik Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30(01).
- Wilckens, M. (1876) *Die Rinderrassen Mittel-Europas*; Wilhelm Braumüller: Wien, Austria.

WELFARE STANDARDS IN SHEEP

Ayşe UYSAL¹

Ekrem LAÇIN²

Uğur ÖZENTÜRK³

1. INTRODUCTION

Sheep are a widely used species due to their high twinning rate, short parturition period and good utilization of roughage (Uysal et al., 2024). Sheep are highly adaptable to various climatic conditions and terrains, making them suitable for different geographical regions. This good adaptability reduces the need for infrastructure and provides the opportunity to utilize unproductive lands (Çelik and Tüfekçi 2023). Economically, it increases the financial sustainability of farming by providing multiple income opportunities through sheep, meat, milk and wool yields. Sheep wool is a valuable product that contributes to sustainable agricultural practices in the textile industry (Öztürk and Odabaşoğlu 2011). Additionally, sheep have a relatively lower feed requirement compared to larger livestock, meaning lower maintenance costs (Alçiçek and Yurtman 2009).

Sheep are often exaggerated in terms of being a species resistant to unfavorable environmental conditions and inadequate care and management. In addition, the fact that sheep breeding is

¹ Arş. Gör. Dr. Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ataturk University, mrsvetayse@gmail.com, 0000-0003-2803-2410.

² Prof. Dr. Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ataturk University, ekremlacin@hotmail.com, 0000-0002-8417-6710.

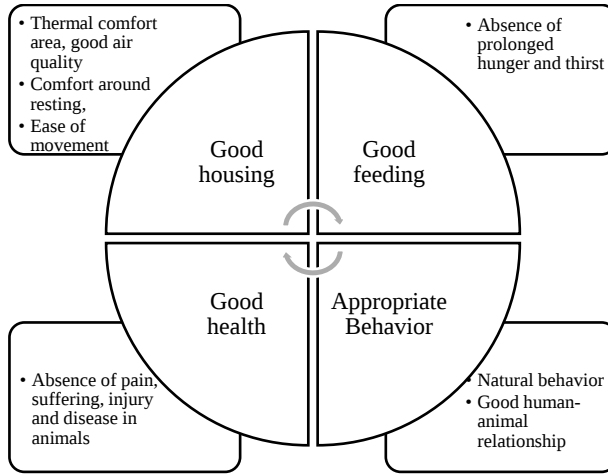
³ Dr. Öğr. Üyesi. Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ataturk University, uozenturk@gmail.com, 0000-0002-2037-9340.

more widespread than other farm animals has created the perception that welfare assessment is unnecessary in this species (Sevi et al., 2009). However, this perception has started to change slowly in recent years (Sevi et al., 2009). In recent years, consumers pay attention to whether the food they consume is produced within welfare standards. This brings the issue of animal welfare to the agenda (Dodd et al., 2012; Kılıç and Bozkurt 2013). In addition, the importance given to welfare has increased in farms in an effort to comply with the quality standards demanded by national and European regulations in terms of welfare (Sevi et al., 2009).

The term welfare is a broad concept covering physical and mental health and natural life (Sheep Welfare 2024; Genç and Özentürk 2024). Although there are many definitions of farm animal welfare, it is a complex term that includes concepts such as health, disease, behavior and care and management (Fitzpatrick et al., 2006). Established in 1965, the Brambell Committee defined animal welfare as the physical and sensory well-being of animals (Uysal and Sabuncuoğlu 2021).

The Farm Animal Welfare Council (FAWC) expanded on the Brambell Committee's report and identified 5 basic freedoms for animals. These 5 basic freedoms; It is the state of animals not being hungry or thirsty, being provided with a comfortable resting area, being free from pain, injury and disease, exhibiting their natural behavior and being free from fear and stress (Fitzpatrick et al., 2006). The five basic freedoms cover both the physical and mental conditions of animals. This freedom does not mean that animals are never stressed; It means preventing suffering in animals. Because if an animal cannot cope with stress, it will be doomed to suffer (Webster 2001). In assessing the physical and mental health of animals in general, Fig. 1 the information in is used (Uysal and Sabuncuoğlu 2021).

Fig.1. Principles and Criteria Used to Measure Animal Welfare



Source: (Anonymous 2)

The first animal-based welfare assessment protocols were conducted on dairy/beef cattle, poultry, and pigs. Later, small ruminant evaluation protocols were published within the scope of the Animal Welfare Indicators (AWIN) Project (Silva et al., 2022). The AWIN protocol was developed for breeds raised in different breeding systems such as extensive, intensive, dairy and meat sheep enterprises. While this protocol has been tested for ewes over 1-year-old; Not tested for male sheep (AWIN 2015)).

Understanding sheep welfare requires a comprehensive approach that integrates animal behavior, physiology and health. However, there are some shortcomings in welfare assessment in sheep farming. The aim of this review study is to emphasize the importance of sheep welfare. It also indicates the environmental factors affecting the welfare of sheep and the importance of welfare determination procedures.

2. FACTORS AFFECTING THE WELFARE OF SHEEP

2.1. Disease (Health)

Disease is a critical factor that can have a long-term negative impact on animal's welfare (Fitzpatrick et al., 2006; Keskin 2021). Although sheep are generally considered resilient to environmental conditions, they remain susceptible to a variety of diseases. For example, clostridial diseases and pregnancy toxaemia, to chronic debilitating conditions, such as footrot or maedi-visna are highly susceptible to diseases. In intensive farming systems, pneumonia poses a major threat, while parasitic diseases are prevalent in extensive breeding systems (Fitzpatrick et al. 2006). External parasites notably reduce growth, development and production performance in sheep (Sheep 2022). In addition, mastitis and foot-leg problems are important diseases that affect animal welfare, especially in a dairy farm (Keskin 2021). Veterinarians play a crucial role in the management or control of these diseases and thereby significantly contributing to animal welfare (Fitzpatrick et al., 2006).

2.2. Practical Practices

Tail docking and castration are practical practices that negatively affect the welfare of lambs. (Fitzpatrick et al., 2006; Sheep Welfare 2024). In general, castration is performed with or without anesthesia (applying a tight ring, clamp) to increase the fattening properties of male lambs and reduce reproduction. Tail docking in lambs is done to keep the tail area cleaner and to prevent lesions or infections that may occur from flies (Sheep Welfare 2024).

In Türkiye, tail docking can be done to obtain lean-tailed sheep from fat-tailed sheep, to increase carcass quality and to facilitate mating (Sinmez et al., 2016). However, tail docking is still a matter of debate because it causes pain and suffering in

animals and the inability to fight flies (Sinmez et al., 2016; Sheep Welfare 2024). Tail-docking is carried out with a knife, hot iron or tight ring around the tail (Sheep Welfare, 2024) Such practices reduce the quality of welfare of lambs by causing inflammation and pain on their skin (Fitzpatrick et al., 2006; Sheep Welfare 2024). Moreover, lambs often injure themselves while engaging in natural behaviors, making additional painful procedures particularly detrimental. The Farm Animal Welfare Council (FAWC) advises against unnecessary castration and tail docking, emphasizing the need to avoid causing extra pain to these animals (Sheep Welfare 2024).

2.3. Transport

Transport is generally one of the most stressful moments in the lives of animals (Ekiz et al., 2013). Sheep and lambs may be exposed to long journeys at least once in their lives (Ekiz et al., 2013; Sheep Welfare 2024). This journey is especially common in animals raised for fattening (Sheep Welfare 2024). Since sheep are generally transported in a very cramped environment, the basic needs of the animals such as resting, feeding and drinking water are often ignored during transportation (Yanar 2020; Sheep Welfare 2024). In such a case, sheep become stressed due to poor quality air, fatigue, thirst and hunger (Sheep Welfare, 2024). The blood cortisol and catecholamine levels of stressed animals increase, the immune system is suppressed, and their welfare quality decreases (Çelik 2013; Yanar 2020).

In New Zealand, it has been recorded that many lambs died due to heat stress, especially during transportation in hot weather (Fisher et al. 2005). Because the temperature inside the vehicle is higher than the outside environment due to the metabolic heat produced by the sheep (Çelik 2013) Heat stress occurs as a result of the mixture of hot air and high humidity. High

humidity prevents the body cooling mechanism from working in animals or all living things (Fisher et al., 2005). Therefore, to prevent heat stress in living things, environmental conditions should be kept under control and temperature and humidity values should be compared (Autukaite et al., 2020).

In general, the transportation time for sheep is a maximum of 12 hours (according to the SCAHAW Report). However, it has been reported that the maximum transportation time for lambs younger than 6 months and weighing less than 20 kg should not exceed 8 hours (Çelik 2013).

2.4. Shelter Conditions

The use of on-farm welfare assessment protocols has been made mandatory to assess the welfare of all farm animals, including sheep (Marcone et al., 2022).

Sheep farming is a branch of production that is both intensive and extensive (Kılıç and Bozkurt 2013). However, as the demand for high profitability increased, intensive farming increased more. The welfare of animals in open environments is considered to be of higher quality than in closed environments, as they can exhibit their natural behaviors and are away from ambient gases (Fitzpatrick et al., 2006; Kılıç and Bozkurt 2013; Herlin et al., 2021). However, in extensive breeding, sheep grazing on poor quality pastures face various diseases due to malnutrition and their welfare quality is negatively affected. In addition, neonatal deaths are frequently observed due to insufficient care given to the lamb during lambing. In addition, harsh climatic conditions in the field also cause stress in sheep (Silva et al., 2022).

2.4.1.Placement frequency

Intensive sheep farming is a system characterized by dense settlement density and long-term accumulation of dung.

Therefore, in sheep shelters, settlement density, litter management and environmental climatic condition are the most important factor affecting welfare (Sevi et al., 2009). While an average settlement area of 0.7 m²/head is recommended for straw bedding for sheep whose weight does not exceed 60 kg; For sheep weighing between 60 and 90 kg, it is recommended to increase the area by 30% (Sevi et al., 2009). Additionally, on average, the height of a pen should be 2.13 ± 0.8 m. It has been stated that the resting area for each animal should generally be between 1 m² and 1.4 m² on average. For pregnant and lactating sheep, this area varies between 2.25 and 2.50 m² (Koyuncu et al., 2006; Karaman et al., 2012). According to AWIN protocol, 1.5 m² area for each lambless sheep; For sheep with lambs, an area of 2 m² is deemed appropriate (AWIN 2015).

2.4.2. Litter

The quality of the litter used in intensive breeding is an important element that affects both animal welfare and animal productivity. Poor quality litter can cause a decrease in milk yield, mastitis and lameness in animals. In addition, it has been stated that harmful gases formed in the environment cause respiratory problems (Altınçekiç 2014; Uysal et al., 2023).

In general, the litter used in pens should be dry, and precautions should be taken to prevent animals from slipping on the concrete floor. 88.2% soil litter and 11.7% concrete litter are commonly used in sheepfolds (Koyuncu et al., 2006; Keskin, 2021). Although the cleaning of the pens is mostly affected by the litter, it is stated that the cleaning of the pens is generally done in December and March (Dalgıç and Demircan 2018).

2.4.3. Ventilation

In-pen ventilation is an important parameter that affects both the performance and productivity of sheep (Sevi et al., 2009). Ventilation varies according to seasons (Yılmaz 2008;

Sevi et al., 2009). A ventilation rate below 40 m³/hour per sheep in the summer months causes behavioral disorders, milk yield and immune system decline in sheep. In addition, inadequate ventilation inside the shelter increases the percentage of bacteria in milk (Sevi et al., 2009). Ventilation in pens is generally adjusted so that the temperature inside the pen does not exceed the outdoor temperature by more than 1-3 °C. Ideal ventilation ensures that harmful gases are removed from the pen (Kocaman and Günel 2007; Yılmaz 2008; Kılıç and Bozkurt 2013). Ambient gases in the sheepfold must be at levels NH₃: <10 ppm, CO₂: <2500 ppm, H₂S: <2.5 ppm (Sevi et al., 2009).

2.4.4. Temperature, Humidity, Lighting

Ventilation is an important factor in adjusting the indoor temperature. The ideal ambient temperature desired in sheepfolds is over 7 °C; It has been stated that it is appropriate to be between 10-13 °C (Ekmekyapar 2010). Yılmaz (2008) reported that the ideal environmental temperature for sheep should be between 10-20 °C. In general, the maximum temperature inside the pen is 25 °C; It has been argued that the minimum should be 5 °C (Sevi et al., 2009). In addition, the desired relative humidity level inside the sheepfold is desired to be between 55-60% (Yılmaz 2008; Ekmekyapar 2010). Another important environmental condition inside the sheepfold is lighting. In general, in pens where natural lighting is used, the window area should be 3-5% of the floor area. For artificial lighting, it has been stated that a 100 W lamp is sufficient for every 37-46 m² of the sheepfold floor area (Ekmekyapar 2010).

2.5. Feeding Conditions

Sheep are more prone to stress due to nutrient deficiencies as they are commonly reared extensively. Malnutrition poses significant risks, especially for pregnant sheep. Pregnancy toxemia, caused by inadequate nutrition during the last six

weeks of pregnancy, leads to a decrease in milk yield and increased neonatal deaths (Sevi et al., 2009). The neonatal period, which comprises the first 28 days after birth, is crucial for profitable sheep breeding. During this period, a high rate of death occurs in lambs exposed to starvation and hypothermia (Aydogdu 2016). Currently, neonatal lamb deaths are seen as a welfare problem (Uysal and Yörük 2024).

Additionally, adequate water consumption is essential for the welfare and health of sheep. To assess the welfare and quality of pens, drinkers are scored based on cleanliness levels: dirty, slightly dirty, and clean (Kılıç and Bozkurt 2013; AWIN 2015).

2.6. Personnel

Regular health checks carried out by veterinarians, vitamins and minerals administered to animals under the supervision of veterinarians, fatigue and pain and suffering of animals are welfare evaluation parameters. (Kılıç and Bozkurt 2013). Besides this operating personnel are other environmental factors that can cause stress on the animal. The caregiver's education level, behavior and attitude towards the animal directly affect the welfare and efficiency of the animals (Keskin 2021). Other studies have also reported that human-animal interactions have a significant impact on the behavior, physiology, productivity and welfare of farm animals (Kılıç and Bozkurt, 2013; Stafford, 2014). To evaluate the interaction between humans and animals, an observer slowly approaches the sheep and the human-sheep distance where the sheep moves is recorded. Besides, it remains quiet for about 5 minutes near observer. If the sheep approaches the human and smells it, the observer records this as 1; otherwise, it records it as 0 (Hernandez et al., 2020). In general, both normal behavior and stereotypical behavior are determined by observing for 20 minutes (AWIN 2015).

3. MEASUREMENT OF WELFARE

3.1. Subjective Measures

Normal (lying, walking, standing, eating, drinking, defecation, urination) and abnormal (licking or biting walls, aggression, etc.) behaviors are commonly examined to subjectively determine the welfare quality of sheep (Ekiz et al., 2013). The simple descriptive scale (SDS), the numerical rating scale (NRS) and the visual analog scale (VAS) are used in the behavioral rating of sheep (Fitzpatrick et al., 2006). Additionally, Precision Livestock Farming (PLF) provides information about the behavior, health, welfare and production of animals (Herlin et al., 2021; Silva et al., 2022). It can be determined whether animals are happy or unhappy by looking at their behavior. In addition, temperament is an important tool used to understand the behavior of animals. Temperament is the response of the neuro-endocrine system to stress. It has been determined that temperament has a significant effect on the growth and development of sheep (better feed utilization and live weight gain in calm sheep), maternal ability and fleece production. Therefore, temperament is one of the indirect selection methods used in the selection of sheep with high survival rate and good meat quality (Dodd et al., 2012).

The welfare quality of the sheep, plasma cortisol level, thinness (body condition score; BCS), fleece condition, fleece cleanliness, lameness, mastitis, wound, somatic cell count (EFSA, 2014) and pollution score rating are important parameters in determining welfare (Fitzpatrick et al., 2006). In addition, parameters such as respiratory rate, nasal discharge, mucosal color (Figure 2), ocular discharge, body, leg and head lesions, and mastitis are also used to determine the quality of welfare (Hernandez et al., 2020; EFSA 2014).

BCS is performed to obtain information about the fatness status in an animal's body (AWIN 2015). A score is given by

palpating the muscle and fat status in the waist area (Koyuncu et al., 2018). Those with values ≤ 1 and <2 on palpation are considered weak; Those with >2 and <4 values are good; Those with a value >4 are considered obese. For the dirtiness score (fleece), values between 0 and 1 are generally considered clean; Values 2, 3 and 4 are used for progressive dirtiness. Laminitis is performed to evaluate the presence of infection in the nails of animals and is generally done by giving points to the gait (AWIN 2015)

Glucocorticoids (cortisol) are a hormone secreted from the adrenal glands and measured in determining stress (Ralph and Tilbrook 2016). In the study, it was determined that serum cortisol levels were higher in ewes against stressor factors (Dodd et al., 2012). Additionally, catecholamines (epinephrine and norepinephrine) are other parameters used in stress measurement. In addition, non-invasive monitoring of glucocorticoid metabolites from feces is also used to measure stress (Dodd et al., 2012). This method is a method that is used to determine the glucocorticoids in the bloodstream of stressed living things without interfering with the living thing and has become increasingly popular in recent years (Balcı and Coban 2024). In addition, plasma cortisol, creatine kinase (CK), Lactate Dehydrogenase (LDH), glucose and neutrophil: lymphocyte ratio and concentrations are important elements in determining stress (Ekiz et al., 2013).

3.2. Objective Measures

Sheep, which are farm animals, may not reflect pain and suffering because they are resistant to diseases and the environment. The method that provides an indirect measurement of pain, used and tested in humans and animals, is hyperalgesia. Hyperalgesia is applied when the animal moves and the pressure is increased until the animal responds; In addition, it is a method

measured with a gas-powered device (Fitzpatrick et al., 2006). In a study, inflammatory agents were administered to the hind legs of mice for pain testing, and this device was attached to the mouse and gradual pressure was applied (Ren and Dubner 1999). It has also been used to determine hyperalgesia and lameness (laminitis) in sheep and cows (Whay et al., 2005).

4. CONCLUSION

Welfare assessment is more commonly performed in intensive sheep farming due to the inherent challenges in managing animals in extensive systems. However, because sheep are generally resistant to diseases and can adapt to various climatic conditions, welfare assessment criteria have often been overlooked. The multi-productive nature of sheep and their successful breeding in both large and small holdings have contributed to a perception that sheep can yield under all conditions, leading to a neglect of welfare quality. Despite this perception, welfare quality is critically important for sheep, as it is for other species. To achieve higher yields from sheep, it is essential to raise them under proper welfare standards. The literature indicates a significant need for more research on the welfare standards of sheep pens. Key areas requiring further investigation include the quality and structure of bedding, udder and hoof health, and the control of harmful gases in the environment. Ensuring these aspects are properly managed is crucial for improving the overall welfare and productivity of sheep.

REFERENCES

- Alçıçek, A., & Yurtman, Y. (2009). Entansif koyunculukta besleme. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2), 1-13.
- Altınçekiç, Ş. Ö. (2014). Bursa ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve refah ölçütleri açısından değerlendirilmesi. Bursa, Turkey, Thesis of PhD.
- Autukaite, J., Poskiene, I., Juozaitiene, V., Antanaitis, R., & Zilinskas, H. (2020). The impact of temperature-humidity index on blood morphology and β -hydroxybutyrate in different sheep breeds. *Acta Veterinaria Brno*, 89(3), 247-254. <https://doi.org/10.2754/avb202089030247>
- AWIN. (2015). <https://neiker.eus/wp-content/uploads/2020/02/AWIN-Sheep.pdf>. (01.06.2024).
- Çelik, B. (2013). Koyunlarda nakil süresi ve yükleme yoğunluğunun refaha etkisi ile nakilde görevli personelin hayvan refahına ilişkin algı ve tutumu. afyonkarahisar, Turkey, Thesis of PhD.
- Çelik, ÖÜHT., & Tüfekci, ÖÜH. Zooteknide yeni yaklaşımlar, 2023.
- Dalgıç, A., & Demircan, V. (2018). Koyunculuk üretim faaliyetinde cinsiyete göre aile işgücü kullanımı: Isparta ili örneği. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1-9.
- Dodd, C. L., Pitchford, W. S., Edwards, J. E. H., & Hazel, S. J. (2012). Measures of behavioural reactivity and their relationships with production traits in sheep: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 140(1-2), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2012.03.018>

- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). (2014). Scientific opinion on the welfare risks related to the farming of sheep for wool, meat and milk production. *EFSA Journal*, 12(12), 3933.
- Ekiz, B., Ekiz, E. E., Yalçın, H., Yılmaz, A., Koçak, Ö., & Güneş, H. (2013). Morkaraman ve imroz koyun ırklarında koç-koyun karışık transportun bazı refah parametreleri üzerine etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 39(2), 155-167.
- Ekmekyapar, T. (2010). Koyun ağıllarında uygun çevre koşulları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1-2).
- Fisher, A. D., Stewart, M., Duganzich, D. M., Tacon, J., & Matthews, L. R. (2005). The effects of stationary periods and external temperature and humidity on thermal stress conditions within sheep transport vehicles. *New Zealand Veterinary Journal*, 53(1), 6-9. <https://doi.org/10.1080/00480169.2005.36461>
- Fitzpatrick, J., Scott, M., & Nolan, A. (2006). Assessment of pain and welfare in sheep. *Small Ruminant Research*, 62(1-2), 55-61.
- Genc, M., & Ozenturk, U. (2024). The effect of worker clothing color on stress in laying hens. *Archives Animal Breeding*, 67(2), 145-151. <https://doi.org/10.5194/aab-67-145-2024>.
- Herlin, A., Brunberg, E., Hultgren, J., Högberg, N., Rydberg, A., & Skarin, A. (2021). Animal welfare implications of digital tools for monitoring and management of cattle and sheep on pasture. *Animals*, 11(3), 829. <https://doi.org/10.3390/ani11030829>
- Hernandez, R. O., Sánchez, J. A., & Romero, M. H. (2020). Iceberg indicators for animal welfare in rural sheep farms

using the five domains model approach. *Animals*, 10(12), 2273. <https://doi.org/10.3390/ani10122273>

Karaman, S., Ulutaş, Z., Şirin, E., & Aksoy, Y. (2012). Tokat yöresindeki ağılların yapısal ve çevre koşulları yönünden durumu ve geliştirme olanakları üzerine bir araştırma. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University (JAFAG)* 2012(2), 29-41.

Keskin, H. (2021). Konya ilindeki süt sığırı işletmelerinde hayvan refahının ani 35 1/2000 yöntemi ile değerlendirilmesi. Konya, Turkey, Thesis of PhD.

Kılıç, İ., & Bozkurt, Z. (2013). The relationship between farmers' perceptions and animal welfare standards in sheep farms. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 26(9), 1329. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13124>

Kocaman, İ., & Günel, R. (2007). Tekirdağ ili merkez ilçeye bağlı köylerde bulunan koyun ağıllarının yapısal özelliklerinin belirlenmesi ve geliştirilebilirlik olanaklarının araştırılması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(3).

Koyuncu, E., Pala, A., Savaş, T., Konyalı, A., Ataşoğlu, C., Daş, G., & Yurt, H. H. (2006). Çanakkale koyun ve keçi yetiştiricileri birliği üyesi keçicilik işletmelerinde teknik sorunların belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Hayvansal Üretim*, 47(1).

Koyuncu, M., Altınçekiç, Ş. Ö., Serdar, D. U. R. U., Duymaz, Y., & Karaca, M. (2018). Kuzuların gelişimi üzerine koyunların doğum dönemindeki vücut kondisyonu ve canlı ağırlığın etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(6), 916-925.

Marcone, G., Carnovale, F., Arney, D., De Rosa, G., & Napolitano, F. (2022). A simple method for on-farm evaluation of sheep welfare using animal-based

- indicators. *Small Ruminant Research*, 208, 106636.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106636>
- Öztürk, Y., & Odabaşıoğlu, F. (2011). Van ve yöresinde Hamdani koyunlarının verimleri ve morfolojik özelliklerinin araştırılması; i. koyunların çeşitli verim özellikleri. *Yüziüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(2), 75-80.
- Ralph, C. R., & Tilbrook, A. J. (2016). Invited review: The usefulness of measuring glucocorticoids for assessing animal welfare. *Journal of animal science*, 94(2), 457-470. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9645>
- Ren, K., & Dubner, R. (1999). Inflammatory models of pain and hyperalgesia. *ILAR journal*, 40(3), 111-118.
<https://doi.org/10.1093/ilar.40.3.111>
- Serim Balcı, E., & Sabuncuoğlu Çoban, N. (2024). Measuring stress in animals by noninvasive methods. *Veterinary Sciences and Practices*, 19(1), 52-58.
<https://doi.org/10.17094/vetsci.1471401>
- Sevi, A., Casamassima, D., Pulina, G., & Pazzona, A. (2009). Factors of welfare reduction in dairy sheep and goats. *Italian Journal of Animal Science*, 8(1), 81-101.
<https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s1.81>
- Sheep Welfare. (2024). <https://www.ciwf.org.uk/farm-animals/sheep/sheep-welfare/> (20.05.2024).
- Sheep, W. I. (2022). Koyun ve keçi yetiştiriciliğinde dış parazitlerin verim ve refah üzerine etkileri. 9. *International gap summit scientific research congress*, Adıyaman, 2022.
- Silva, S. R., Sacarrao-Birrento, L., Almeida, M., Ribeiro, D. M., Guedes, C., Gonzalez Montana, J. R., & De Almeida, A. M. (2022). Extensive sheep and goat production: The role

- of novel technologies towards sustainability and animal welfare. *Animals*, 12(7), 885.
<https://doi.org/10.3390/ani12070885>
- Sinmez, Ç. Ç., Yiğit, A., Ülger, İ., & Yaşar, A. (2016). Ruminantlarda kulak ve kuyruk kesme: hayvan refahı (gönenci) bakımından Dünyada ve Türkiye'deki durumun karşılaştırılması. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(1), 58-69.
- Stafford, K. (2014). Sheep veterinarians and the welfare of sheep: No simple matter. *Small Ruminant Research*, 118(1-3), 106-109.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.12.008>
- Uysal, A. and Sabuncuoğlu, N. (2021). https://www.researchgate.net/publication/365114104_What_should_welfare_standards_be_in_dairy_barns (10.06.2024).
- Uysal, A., Laçın, E., Top, Ş., Yılmaz, E., & Uysal, S. (2023). Is it important to use mattress in sheep?. 5. *International food, agriculture and veterinary sciences congress*, Kars, 2023.
- Uysal, S., & Yoruk, M. A. (2024). Boric acid in milk replacer as a health enhancer and growth promoter for lambs in the suckling period. *Biological Trace Element Research* 1-11.
<https://doi.org/10.1007/s12011-024-04214-4>
- Uysal, S., Uysal, A., Öz, C., Yörük, M. A., & Ölmez, M. (2024). Evaluation of sheep colostrums according to time after lambing by brix refractometer method and colour scoring. *Research and Practice in Veterinary and Animal Science (REPVAS)*, 1(1), 27-35.

- Webster, A. J. (2001). Farm animal welfare: the five freedoms and the free market. *The veterinary journal*, 161(3), 229-237. <https://doi.org/10.1053/tvj.2000.0563>
- Whay, H. R., Webster, A. J. F. & Waterman-Pearson, A. E. (2005). Role of ketoprofen in the modulation of hyperalgesia associated with lameness in dairy cattle. *Veterinary Record*, 157(23), 729-733. <https://doi.org/10.1136/vr.157.23.729>
- Yanar, K. E. (2020). Morkaraman ırkı koyunlarda uzun süreli transportta oluşan stresin neden olduğu immun supresyon üzerine parapoxvirus ovis, corynobacterium cutis lizati ve c vitaminin etkisinin araştırılması. Erzurum, Turkey, Thesis of PhD.
- Yılmaz, F. (2008). Bolu yöresinde küçükbaş hayvan barınaklarının durumu ve geliştirme olanakları. Tekirdağ, Turkey, Thesis of PhD.

VETERİNER HEKİMLİK

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com