

Memeli Çiftlik Hayvanlarında İmmünolojik Yöntemlerin Üreme Amaçlı Kullanımı

Prof .Dr. Fatin CEDDEN (Başkan): Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü

Üye: Prof Dr Gürsel DELLAL : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü

Üye: Araş. Gör. Kemal YAZGAN Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü

Özet

Hayvancılık pratiğinde vücudun savunma sisteminin uyarılması ile hastalıklara karşı direnç oluşturulması, geçmişte çok eskilere dayanan bir tekniktir. Aşılama adı verilen bu uygulamanın prensiplerinden yola çıkarak hayvanlarda kimi özelliklerin iyileştirilmesi, artırılması ve istenmeyen doğal özelliklerin ortadan kaldırılması mümkün olabilmektedir. Bu amaçla büyümenin hızlandırılması ve canlı ağırlığının artırılması, ergenlik çağının erkene alınarak döl veriminin artırılması, ovaryumlarda follül gelişimi ve ovulasyon yapan follikül sayısının artırılarak irkin kendine özgü batında yavru sayısının yükseltilmesi, erkek hayvanlarda kastrasyon gibi pek çok alanda immünolojik yöntemler geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu derlemede vücutta doğal olarak salgılanan steroid ve protein-peptid yapısındaki hormonlara karşı antikor üretiminin uyarılması ve elde edilen sonuçların hayvancılık pratiği açısından kazanımları tartışılmıştır.

Giriş

Hayvancılık pratiğinde immün sistemin, yani vücudun sahip olduğu savunma sisteminin güdümlenmesi çok eskilere dayanan bir prensiptir. Herkes tarafından bilinen, sadece hayvancılık pratiğinde değil, beşeri koruyucu hekimlikte oldukça büyük yeri olan hastalık etmenlerine karşı vücudun savunma sisteminin uyarılması ve bunun sonucunda hastalıklara karşı direncin oluşturularak yapılan mücadele yöntemleri mevcuttur. Pek çok hayvan hastalığına karşı geliştirilmiş olan aşuların; hayvancılık pratiğinde hayvan ölümü ile ortaya çıkan kaybın önlenmesi (şarbon, yanıkara, enterotoksemi vb), ekonomik kayıplara neden olan hastalıklarla mücadele (brucella, şap vb) ve hayvanlardan insanlara bulaşan hastalıkların önünün alınması (brucella) gibi son derece önemli rolleri vardır. Bu derlemede vücudun savunma sisteminin başka bir yönüyle ele alınarak hayvanların insanlar için önemli olan kimi özelliklerinin iyileştirilmesi, bazı durumlarda kimi doğal özelliklerinin ortadan kaldırılması için yapılan uygulamalardan söz edilecektir.

İmmünizasyon: Bağışıklık oluşturma

Canlı vücudunun herhangi bir hastalık etmeni veya yabancı bir maddeye karşı bağışıklık ya da direnç kazandırılması işlemi immünizasyon olarak adlandırılır. Bu işlem ile yabancı madde (bu bakteri veya virüs gibi bir hastalık etmeni

olabileceği gibi vücuda yabancı bir madde de olabilir) ile, yani bir antijen ile vücudun karşılaşması halinde savunma sistemi harekete geçerek antikor oluşturacaktır. Antikorum oluşması immünolojik yanıtın ortaya çıkması olarak ifade edilir. Normal şartlarda ortaya çıkan bu tepki genel olarak vücut tarafından üretilen ürünlere karşı meydana gelmez, yani antikor oluşturmaz. İmmünolojik yöntemin temel prensibi ise vücut tarafından salgılanan kimi hormonların yabancı madde gibi tanımlanmasını sağlayacak işlemlerin yapılması, yani antijenik hale getirilmesidir. Bu yolla teorik olarak hormonların faaliyetlerini önleyen faktörlerin etkisizleştirilmesi veya uyarıcı faktörlerin etkilerinin artırılması sayesinde anahtar yolların tümünde yüksek etki oluşturma gibi bir strateji geliştirmek mümkün olmaktadır.

Bu çerçevede, antikorlar hormonları taklit edebilen maddeler olarak kullanılabilirler. Primer antikor adı verilen kısım (paratop) antijene bağlanma noktasının (epitop) aynadan görüntüsü gibi hayal edilebilir. Anti-idiotipik adı verilen sekonder antikorlar paratop noktasına bağlandığında ise orijinal antijenin yapısal bir taklidi haline gelirler. Sonuçta bu meydana gelen yapı orijinal antijen gibi fonksiyon göstermeye başlar (Pell, 1997).

Çiftlik hayvanlarında et üretiminin artırılması ile ilgili arayışlarda immünolojik yöntemlerin kullanılabilirliğinin araştırılması 40 yıla yakın bir geçmişe dayanır. Örneğin büyüme hormonu GH'nın et dokusunun normal büyümesindeki rolü ve dışarıdan GH verilmesinin et dokusunu artırdığının saptanması, immünolojik olarak GH'nın kontrolünü önemli kılmıştır (Holder et al. 1985).

Antikor dizaynı ve immünizasyon stratejisi

Antikorlar aktif veya pasif diye adlandırılan yollarla hayvanlarda oluşturulurlar. Pasif immünizasyon, başka bir hayvanda üretilip alınan antikorların diğer hayvanlara verilmesi şeklindedir.

Aktif immünizasyon ise uygulama yapılan hayvana düşük miktarda antijen vermek ve hayvanın bizzat kendisinin antikor oluşturmasının sağlanması prensibine dayanır. Aktif immünizasyonda μg gibi çok düşük miktarlarda antijen verilmesi, büyük bir olasılıkla vücutta bağımsız fizyolojik bir yanıt oluşturmaz ve hızlı bir şekilde bertaraf edilir. Antijenler hastalık direncinin oluşturulması amacıyla kullanıldığında olduğu gibi aşı tekrarı ya da "rappel" gerektirir. İmmünizasyon, bu özelliği nedeniyle hormon kullanımı yerine daha kolay uygulanmaktadır. Çoğu protein tabiatındaki hormonlarla kıyaslandığında aktif immünizasyonun etkisi aylarla ifade edilen sürelerde korunabilmektedir (Pell, 1997).

Pasif immünizasyonda ise dışarıdan verilen antikorlar başka bir hayvanın vücudunda üretildiği için düzenli olarak birçok kez yapılmalıdır. Antikorların serbest bırakılmaları aynı hayvan türünde üretilmesi veya başka bir türde üretilmesi ile ilişkili olarak 3 saatle 3 hafta arasında bir sürede gerçekleşir. Orijinal antijene karşı üretilen antikor miktarı, yani antikor titrasyonu önemlidir. Yüksek düzeyde titre edilebilmesi istenen bir özellik olup başarılı bir

immünizasyonun gerçekleştiğinin göstergesidir. Çok sayıda ve farklı formdaki antikolar kullanarak protein fonksiyonları incelenmiştir. Belirlenen bir epitopa bağlanabilen monoklonal antikolar (MAb) kullanmak suretiyle en yüksek düzeyde hormon özelliği gösterenler ile ilgili veriler üretilebilmektedir. Örneğin, müren MAb hayvancılık pratiğinde az da olsa kullanılır.

Günümüzde en fazla kullanılan yöntem ise antijen üzerinde çok sayıda bölgeyi tanıyabilme potansiyeline sahip poliklonal antikor üretimi sağlayan bütün hormon kullanımıdır. Herhangi bir antiserum genel olarak önleyici bir rol oynar. Çünkü, antikoların affinitesinin yükseltilmesi reseptör interaksiyonunu önleyecektir. Hormon aktivitesinin antikolarla artırılması MAb ve poliklonal antikor kullanımı ile mümkün olmaktadır (Pell, 1997).

Büyüme hormonu ile ilgili yapılan çalışmalar

Büyüme hormonunun (GH) et dokusunun normal büyümesindeki rolü ve dışarıdan verilen GH'nın et dokusunda artış sağladığı ortaya çıktıktan sonra hormon aktivitesinin immünolojik olarak kontrolü GH aksı üzerinde yoğunlaşmıştır. GH'nın salgılanmasında rol oynayan GRF (büyüme hormonu saliverilme faktörü) ve somatostatin (GH salgılanmasını önler) dolaylı olarak bu aks üzerinde etkilidir.

Teorik olarak somatostatinin immünolojik olarak etkisiz hale gelmesi hipofizden salgılanan kandaki GH'nın düzeyini artırır. Daha önce yapılan çalışmalarda büyüme çağındaki kuzularda canlı ağırlığın artırılabilirdiği görülmüştür. Buna karşılık, farklı çalışmalarda elde edilen sonuçlar birbirinden farklı olmuştur. Westbrook et al (1993) gebe koyunların somatostatine karşı immünizasyonundan sonra doğum sonrası süt veriminin % 20-30 oranında arttığını, doğan kuzularda ise doğum ağırlığının ve canlı ağırlık kazanımının ise önemli ölçüde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Anti-somatostatin ile immünize edilen hayvanların meme ve uterus dokularına besin maddesi transferinin daha etkin gerçekleştiği öne sürülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise kuzularda iştahın artması ve besin maddesi kullanımının ise daha etkin olduğu iddia edilmiştir (Westbrook and McDowell 1995).

Buna karşılık pek çok anti-somatostatin uygulamasının sonuçları çok açık değildir. Bunun nedeni, somatostatinin etkisinin geniş bir aralıkta ve karmaşık feedback mekanizmalarında rol oynamasıdır. Bir diğer nokta da, her çalışmada elde edilen antikor titresi ve somatostatine olan affinite farklı olarak ortaya çıkabilmektedir. Yine de somatostatinin GH salgılanmasının önlenmesinden ziyade mide ve barsak faaliyetlerinde etkili olduğu, pek çok çalışmada yem değerlendirmenin yüksek değerlerde bulunması bu iddia ile örtüşmektedir (Elsaesser and Drath, 1995).

Hormonları taklit eden antikolar

Kemirgenlerde tespit edilen, orijinal antijen gibi fonksiyon gösteren anti-idiotiplerin (primer antikolarla karşı üretilen sekonder antikolar) proteinleri taklit

ettiği görülmüştür. Bu durum GH'nın kemirgenlerde primer antijen olarak kullanılabilmesi ile ortaya çıkartılmıştır. Hipofizi çıkarılan sıçanlarda pasif olarak GH immünizasyonu canlı ağırlığın artmasını sağlamıştır. Sıçanlarda anti-idiotipik antikorlara olan yanıt GH'nın bizzat kendisine olan yanıtta daha düşük seyrederek (Gardner et al 1990). Antikorlar anti-idiotip üretimi için kullanılabilmeyle beraber pratikte yüksek affiniteli anti-peptid antikorlarının üretilmesi kolay değildir.

Hormon aktivitesinin artırılması

Günümüze kadar çok sayıda çalışma yapılmış olmasına karşılık antikorların etkilerinin iyileştirilmelerine yönelik mekanizma tam olarak ortaya konmuş değildir. Peptid yapıdaki hormonların aktivitesinin artırılması pek çok olguyu kapsamaktadır. GH'nın albümine veya bizzat kendine çapraz formda bağlanması bile GH'nın aktivitesini artırıcı rol oynamaktadır. Bunun gibi hormonun gücünü artıran farklı yapılarla birleştirilmesi, farklı yapıda antikor kullanılması (MAb veya poliklonal) ve NH₂ ile çapraz bağlama gibi çok sayıda yöntem vardır.

Bir iddiaya göre; hormon + antikor kompleksi oluşturulduğunda, antikor ile uyarılmış yapısal değişme hormonun bağlanacağı reseptöre olan affinitesini artırır. Bir diğer iddia ise; ortamda antikorun olması hormonun diğer alt reseptörlere bağlanmasını engellemekte ve sadece kendine özel olan reseptörlere bağlanma olasılığını artırmaktadır. Üçüncü bir iddia ise "antikorlar doğrudan hormonun yıkılmasında engel oluşturmakta ve hormonun kanda bertaraf edilmesi yavaşlamaktadır" şeklinde özetlenebilir. Çoğu peptid yapıdaki hormonun kandaki biyolojik yarılanma süresi 10-20 dakika gibi oldukça kısadır (Wang et al 1992).

Diğer bir nokta da İmmünolojik yanıtın ortaya çıkabilmesi için antijen canlı vücutuna verilmiş şeklidir. Bir hormonun nanomer formda verilmesi halinde elde edilen yanıt, Peptid hormonların tek başlarına ya da dimer formda (iki alt ünitelerden oluşmuş molekül) verildiğinde elde edilen yanıtın bin katı kadardır. Taşıyıcı proteinler adı verilen moleküllere bağlanmış haldeki peptid hormonların yanıtı da daha yüksek olmaktadır. Antijenler hazırlanırken antijenik maddenin, yani protein-peptid yapısındaki hormonun etkisinin yükseltilmesinde uygun adjuvantların kullanılması gerekir. Bu sayede hem hormonun verildiği dokuda depolanması ve yavaş yavaş verilmesi sağlanır, hem de adjuvanın immün sistemi uyarıcı rolü yanıtın daha güçlü ortaya çıkmasını mümkün kılar (Stevensen 1993).

Steroid yapıdaki hormonlara karşı yapılan immünizasyon uygulamaları

Memeli çiftlik hayvanlarında ovulasyon yapan follikül sayısını artırmak amacıyla estradiol, estron, estriol, testosteron ve androstenedion gibi steroid yapıdaki bir veya birden fazla hormona karşı immünizasyon uygulamaları yapılmıştır.

Estrojenlere karşı immünizasyon

Bu tür çalışmalarda Estradiol-17 β 'nin en fazla üzerinde durulan östrojen olduğunu söyleyebiliriz. Dişilerde yapılan bazı araştırmalarda, estradiol-17 β ile yapılan immünizasyonun gonad uyarıcı hormon seviyelerinin kanda yükselmesine neden olduğu, ovulasyon miktarının da arttığı görölmüştür (Roberts and Reeves, 1991) (Kaneko et al, 1995). Özellikle koyun ve keçilerde doğumda yavru sayısının artırılmasının hedeflenmesi söz konusu olduğundan yavru sayısındaki artış olumlu bulunurken, kızgınlıkların görünmemesi yani anestrus vakaları ile karşılaşılmıştır. Estradiola karşı yapılan immünizasyonun Estradiol salgılanmasını engelleyerek bu hormonun aynı zamanda ovulasyon için gerekli pozitif feedback etkisinin önüne geçtiği düşünölmektedir (kaneko et al 1995).

Daha sonraki yıllarda embriyo üretimi amacıyla süperovulasyon uygulaması yapılacak koyunlarda estradiol immünizasyonu yapılmış, ovulasyon miktarı ve elde edilen embriyoların yaşama güçleri test edilmiş, ancak olumlu hiçbir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Lishman et al, 1997).

Estradiol immünizasyonunun koçlarda uygulanması halinde ise testis büyüklüğünün ve üretilen günlük ejakülat miktarının arttığı görölmüştür (Kuntz et al 1988).

Testosterona karşı immünizasyon

Bu yöndeki çalışmalar dişilerde ovulasyon miktarının ve dolayısıyla yavru sayısının artırılmasını hedeflerken, erkek hayvanlarda sperm üretiminin artırılması yönündedir. Tosunlarda yapılan testosteron immünizasyonu bir yandan testis boyutlarında artışa neden olurken diğer yandan ise üretilen sperm miktarını artırmaktadır (D'Occhio et al 1987). Erkek domuzda yapılan benzer bir uygulamanın ise bir etki oluşturmadığı görölmüştür (Thompson et al 1985).

Koyunlarda testosterona karşı yapılan immünizasyon uygulamalarının sonucunda ise ovulasyon oranını artırıcı etkiler saptanmıştır (Roberts and Reeves 1991; Scaramuzzy et al 1993)

Diğer taraftan birden fazla steroide karşı immünizasyon uygulamaları yapılmış ve sonuçları gözlemlenmiştir. Estradiol 17 β ve androjenlere karşı bir arada yapılan immünizasyon uygulamaları ile elde edilen sonuçlar beklendiği gibi olmamıştır. Bu yöntemle immünizasyon yapılan koyunlarda kuzulama oranının önemli düzeyde artmadığı saptanmıştır (Roberts and Reeves 1991).

Androstenedion ile yapılan immünizasyon çalışmaları

Androstenedion böbreküstü bezleri ve ovaryumlarda üretilen bir steroid hormondur. Hem testosteronun hem de östrojenin ön maddesi olarak bilinmektedir. Böbrek üstü bezlerinden en fazla düzeyde salgılanan androjenik

karakterde bir hormondur. Ancak androjenik karakteri testosterona oranla daha düşüktür. Koyunlarda androstenediona (A4) karşı yapılan immünizasyon sonucunda ovulasyon öncesi konuma ulaşmış folliküllerin küçülme eğilimleri azaltılmıştır (Scaramuzzi et al. 1984). Ancak, bu olguya neden olan mekanizma tam olarak anlaşılmış değildir. Diğer taraftan, ne gonad uyarıcı hormonların yükselen seviyeleri ne de ovaryumların gonad uyarıcı hormonlara karşı artan hassasiyeti folliküllerdeki bu durumla ilişkilidir. İmmünizasyonun folliküllerin geliştiği bölgede atreziyaya neden olan faktörleri bloke ettiği daha fazla destek gören bir görüştür (Campbell et al., 1991). Androstenedion aşısı ticari olarak Fecundin adı ile Yeni Zelanda, Avusturalya ve Britanya'da pazara sunulmuş ve yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bazı uygulamaların sonucunda, immünize edilmiş koyunlardan doğan kuzu sayısının normal seyrine oranla % 20 ye varan artışlar gösterdiği saptanmıştır (Boland and Crosby 1993). Sığırlarda Fecundin kullanımı, çoklu ovulasyon (süperovulasyon) uygulamalarında ovulasyon yapan follikül sayısını artırmak ve damızlık sığır sürülerinde döl verimini iyileştirmek amacıyla denenmiştir. Çoklu ovulasyon uygulamalarında hormonların etkilerini iyileştirdiği (Boland and Cosby 1993), sürülerde doğan buzağı sayısının % 25 düzeyinde yükselmesini sağladığı gözlemlenmiştir (Wise and Schanbacher, 1983).

GnRH ile yapılan immünizasyon çalışmaları

GnRh hipotalamustan salgılanan ve gonad uyarıcı hormonların hipofizden salgılanmasında kontrol edici rol üstlenen bir hormondur. GnRH'nin FSH (follikül uyarıcı hormon) ve LH (lüteinleştirici hormon) salgılanmasını uyaran etki göstermesi bilindiğinden, GnRH'ya karşı yapılan immünizasyon uygulamaları üreme aktivitesinin azaltılması veya tamamen ortadan kaldırılması, yani immünolojik kastrasyon amacıyla yapılmaktadır. Bu yöndeki uygulamalar hayvancılık pratiğinde geleneksel kastrasyon yöntemine göre çok daha zahmetsiz ve hayvana acı vermeyen bir yöntemdir. Hem dişi hem de erkek hayvanlarda kullanılabilir olması, özellikle ev hayvanlarında kullanımını ilginç kılmaktadır. Özellikle kedi ve köpek gibi türlerde operatif yöntemle yapılan kastrasyonun yerini alabilecek alternatif bir yol olarak görülmektedir.

GnRH immünizasyonu insanlarda doğum kontrolünün daha zahmetsiz olarak yapılması, kanserojen etkileri ortaya konmuş steroid yapıdaki hormonların uzun süreli kullanımının da bir alternatifidir. Ancak, kadınlarda kadın plasenta hormonu (HCG) ve LHRH (lüteinleştirici hormon salıverilme hormonu) gibi hormonlara karşı yapılan immünizasyon uygulamaları ön plana çıkmaktadır. Özellikle HCG'ye karşı yapılan immünizasyonun menstrual döngüyü sekteye uğratmaması da bir tercih nedeni olmaktadır. LHRH'ya karşı yapılan immünizasyon ise hem erkekte hem kadında uygulanabilmekte ve olumlu sonuçlar vermektedir (Talwar, 1997)

GnRH immünizasyonu pek çok memeli çiftlik hayvanında FSH ve LH'nin salgılanmasını azaltmaktadır. Yine, bu durumla ilişkili olarak dişilerde follikül gelişimi sekteye uğrarken, ovulasyon durmakta ve kızgınlık belirtileri kaybolmaktadır (Sosa et al 2000). Erkek hayvanlarda ise immünizasyon

sonucunda gonad uyarıcı hormonların seviyelerinin azalması, testis fonksiyonlarında ve boyutlarında azalma, sperma üretimi ve libidonun düşmesi gibi olgular gözlemlenmektedir (Thompson 2000). Bu yöndeki immünizasyon uygulamasının erkek hayvanlardan elde edilen karkasın kalitesinin iyileştirilmesinde de etkili olduğu ortaya konmuştur. Karkasta göz kası alanının artırılması, mozaik görüntüsü, randıman, sırtta ve böbrekte daha düşük yağ miktarı gibi özellikler kaliteli karkaslarda istenen özelliklerdir. Eteki koku, renk ve gevreklik kalitede diğer ölçütlerdir. Ergenlik çağına girmeden önce GnRH'ya karşı yapılan immünizasyon, tosunlardan elde edilen etin kalitesinin kastre edilenlerinkine eşdeğer olmasını sağlamıştır (Huxoll et al 1993). Yine erkek sığırlarda saldırgan davranışların azaltılması ile insanlar için tehlike arz etmelerinin önlenmesi, yaralanmaların önüne geçilmesi gibi avantajlar da ayrı bir avantaj olarak değerlendirilmelidir.

Yine de tosunlarda ergenlik çağına başında yapılan GnRH immünizasyonu uygulamalarının cinsel davranışları tam olarak önleyemediği, buna karşılık testosteron üretiminde düşüş ve testis boyutlarında gerileme sağlayabildiği görülmektedir. İmmünizasyon uygulanan hayvanların yarıya yakınında ise üreme aktivitesinin daha sonra yeniden kazanıldığı gözlemlenmiştir (Janett 2008).

Bu alanda Türkiye'de yapılan ilk çalışma Ülker vd (2001) ve Ülker vd (2002) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yerli ırktan 10 haftalık yaştaki kuzularda rekombinant LHRH ile yapılan immünizasyon uygulamasında karkas ağırlığı, canlı ağırlık, göz kası alanı gibi özelliklere olumsuz herhangi bir etki saptanmamış, buna karşılık testis boyutları önemli ölçüde küçülmüş ve hayvanlarda kastrasyon sağlanmıştır.

İnhibin immünizasyonu

İnhibin hormonu ovaryumlardan salgılanan ve FSH'nın salgılanmasını kontrol eden hormonlardan biridir. Ovaryumlar ve kısmen hipofizden salgılanan Aktivin, FSH'nın sentezi ve salgılanmasında teşvik edici rol üstlenirken, ovaryumlardan salgılanan inhibin FSH'nın salgılanmasını olumsuz geri bildirim (negatif feedback) etkisi göstermek suretiyle engeller. Yapı itibarıyla inhibin protein-peptid karakterde bir hormondur.

İnhibin'in FSH'yı önleyici etkisi memeli çiftlik hayvanlarında üreme aktivitesinin artırılmasına yönelik çalışmalarda yol gösterici olmuştur. İnhibin hormonunun yapısı 1930'lu yıllarda tanımlanmış olmasına rağmen, inhibin molekülünün izolasyonu güçlükler göstermiştir. Protein yapısında ve hidrofobik olması bu güçlüğü'nün nedenidir. İlk kez Robertson tarafından 1985 yılında domuz follikül sıvısından disülfid ve glikoprotein bağlanarak alt üniteler (α ve β subunit) oluşturulmuş, daha sonra ise farklı aminoasit zincirli NH_2 terminalleri eklenerek inhibin A ve inhibin B isimlendirmeleri yapılmıştır (Ling et al 1985). İnhibin hormonunun tüm ayrıntıları ise domuzdan elde edilen inhibin subunitlerinin gen kontrollü klonlama yöntemiyle üretimi sonrasında açığa

çıkıştır. İnhibinin immünizasyon amaçlı kullanımında ise en fazla domuz inhibininin sentetik 26 aminoasitli α subuniti kullanılmaktadır.

İnhibin immünizasyonunun pratikte kullanımı olanakları

Kuzularda 3 haftalık yaşlarda yapılan aktif immünizasyonun ergenlik çağıının başlamasının öne alınması ve daha sonra gerçekleşen ovulasyonların miktarının artmasını sağladığı saptanmıştır. Bu yönde progesteron ve PMSG ya da melatonin uygulamalarına alternatif olabilecek bir yöntem olabileceği öne sürülmektedir. Merinos kuzularında 3 haftalık yaşta rekombinant olarak üretilmiş inhibin α subunit ile aktif olarak yapılan immünizasyon sonucunda toplam canlı ağırlık ve günlük canlı ağırlık artışında herhangi bir artış olmamakla beraber ergenlik çağıının önemli ölçüde erken döneme kaydığı görülmüştür. Doğumlardan sonra 43. haftada inhibin immünizasyonu yapılan hayvanların % 40'ı ovulasyon yapabilmişken kontrol grubunda o yaşta ovulasyon yapan görülmemiştir. Follikül gelişimi bakımından ise 15 haftalık yaştan itibaren 3 mm ve üzeri çapa sahip follikül sayısı kontrol grubunun iki katı olmuştur. Kırküçüncü haftaya gelindiğinde ise bu değer 2 katın üzerindedir (O'Shea et al 1993).

Keçilerde de koyunlarda yapılan benzer uygulamalarda yine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Folliküler fazda daha yüksek estradiol, lüteal fazda daha yüksek progesteron, daha fazla sayıda ovulasyon yapan follikül ve ovaryumlarda daha fazla sayıda korpus luteum ortaya çıkmıştır.

İmmünizasyon uygulamalarında "rappel" ya da "booster" adı verilen tekrar uygulaması immünizasyonun etkisini artırmaktadır. Buna karşılık, antikor titrasyonu ile antijen bağlanma derecesinin ölçülmesi ve bu değerlerin ovulasyon miktarı ile ilişkilendirilmesi her zaman isabetli sonuç vermemektedir (O'Shea et al 1993).

Döl veriminin artırılmasına yönelik inhibin immünizasyonu Türkiye'de Cedden vd (2007) tarafından keçilerde yapılmıştır. Bir adjuvant ile konjuge formda rekombinant inhibin α subunit kullanarak yapılan uygulama neticesinde antijen titrasyonunun kontrol grubuna oranla on kat fazla bulunduğu, 3 kat daha fazla 3 mm den büyük follikül ve iki katı kadar daha fazla korpus luteum meydana geldiği saptanmıştır. Buna karşılık inhibin immünizasyonu yapılanlar arasında sadece bir keçi ikiz doğum yapmış, diğer doğumların tümü tekiz olarak sonuçlanmıştır.

Sığırlarda inhibin immünizasyonu

Sığırlarda embriyo üretimi amacıyla hormon uygulamaları yaparak çoklu ovulasyon oluşturmak yaygın olarak yapılan bir uygulamadır. Normalin üzerinde follikül gelişimini teşvik etmek, bu folliküllerin ovulasyon yapmasını ve ayrıca elde edilen yumurtaların döllenmesini sağlamak, in vivo embriyo üretiminde kabul görmüş bir uygulamadır. Bu amaçla, önceleri progesteron ve PMSG olarak bilinen gebe kısrak serumu kullanılmış, ancak kimi zaman nakledilebilir nitelikte yeterince embriyo üretilemediğinden PMSG yerine FSH'nın kullanımı

daha tercih edilir hale gelmiştir. FSH kullanımı kandaki biyolojik yarılanma süresinin kısa olması nedeniyle azalan dozlarda ve tekrarlı uygulamayı gerektirmektedir. FSH'nın uygulanmasında bir taraftan gerekli iş gücü, diğer taraftan ürün bedelinin yüksek olması nedeniyle, her uygulama sonrası elde edilen nakledilebilir nitelikte embriyonun mümkün olduğunca fazla olması istenir. Ancak, kimi zaman yapılan uygulamalarda beklenenin altında embriyo elde edilmesi, embriyo başına üretim maliyetini yükseltmektedir. İnhibin immünizasyonu bu sorunun çözülebilmesi amacıyla sığırlarda kullanılabilir. Yine, bazı yerli sığır ırklarında FSH uygulamasına olan yetersiz yanıt ve kalitesiz embriyo üretimi gibi olgularla karşılaşılmakta, inhibin immünizasyonu ise başvurulabilecek bir yol olarak değerlendirilmektedir (Hillard et al. 1995)

Aktif inhibin immünizasyonu günümüzde aynı zamanda in-vitro dölleme yoluyla embriyo embriyo üretimini teknolojinin gelişmesi ve yaygınlaşması karşısında da başvurulmuş bir yol olabilmektedir. Canlı inek ve düvelerin ovaryumlarından oositlerin aspirasyon tekniği ile toplanması ve daha sonra laboratuvar koşullarında döllendirmeleri, yine laboratuvar ortamında geliştirildikten sonra taşıyıcı hayvanlara nakledilmesi gibi aşamalarını içine alan in-vitro dölleme teknolojisi, günümüzde verici hayvandan daha fazla oosit elde edilmesi, gebe hayvanlardan bile embriyo toplayabilme gibi avantajlar sunmaktadır. Bu teknik sayesinde, aktif olarak inhibin ile immünize edilmiş ineklerden elde edilen oosit sayısını daha da artırmak mümkündür (Konishi et al 1999).

Erişkin yaştaki Japon kara sığırlarında yapılan aktif immünizasyon uygulaması ile % 50 civarında daha fazla ovulasyon ve korpus luteum; buna karşılık kontrol grubuna oranla iki kat fazla transfer edilebilir nitelikte embriyo elde edilebilmiştir (Takedomi et al 2005).

Sonuç

İmmünizasyon tekniklerinin hayvancılık pratiğinde kullanılması olanakları ile ilgili dünyada yapılan çalışmaların geçmişinin 70'li yıllara kadar uzandığı bilinmektedir. Özellikle 80'li yılların ortaları ve 90'larda dünyada bu konuyla ilgili pek çok çalışma yapılmış olmasına karşılık, bu çalışma alanı ve yaklaşımın hayvancılık pratiğinde uygulanması ve bilgi birikimi Türkiye için son derece sınırlıdır. Hayvancılık pratiğinde döl veriminin artırılması amacıyla kullanılan steroid yapıdaki hormon preparatlarında dış ülkelere olan bağımlılık protein peptid yapıdaki hormon antijenleri için de geçerlidir. Bu nedenle bu tür ürünlerin temini için yüksek bedeller ödenmektedir. Türkiye'de hâlihazırda yürütülmekte olan hayvansal üretimin sağladığı gelir bu tür ürünlerin yetiştirici temelinde yaygınlaşmasına izin verecek düzeyde değildir. Buna karşılık bu türden çalışmaların yapılması ve mevcut yerli ırklarımızın immünizasyon uygulamalarına olan yanıtlarının bilinmesi gerekir. Örneğin, gen kaynaklarının korunması amacıyla yerli ırklarımızda çoklu ovulasyon ve embriyo üretimi gibi uygulamaların başarısının iyileştirilmesinde inhibin immünizasyonu gibi yöntemler katkı sağlayıcı olabilir. Yine dünyada pek çok ülkede damızlık sığır üretiminde başvurulmuş en önemli teknolojilerden biri olan embriyo transferi ve

embriyo üretimi immünizasyon teknikleri ile daha başarılı ve verimli hale getirilebilir. Ancak, Türkiye’de bu alanda yetişmiş olan teknik personelin bilgi birikiminden ve mevcut kurumların olanaklarından akılcı ve verimli yararlanma yolları ve sistemleri geliştirildiği takdirde beklenen başarı sağlanacaktır. Kontrolsüz bir şekilde üreyen başıboş hayvanların zahmetsiz bir şekilde kısırlaştırılmasının yanında çiftlik hayvanlarından sağlanan et üretiminde kalitenin iyileştirilmesi için İmmünolojik kastrasyonun yapılması kolay tatbik edilen avantajlı bir yöntemdir. Bu amaçla kullanılacak aşuların ülke içinde düşük maliyetle üretilmesi ile bu tür yöntemlerin yaygınlaşması mümkün olabilir. Günümüzde üretilen ürünün miktarı ve kalitesi yanında güvenilirliği de büyük önem arz etmektedir. Steroid karakterdeki hormon preparatlarının kullanımı pek çok ülkede sıkı denetim altına alınmakta veya tamamıyla yasaklanabilmektedir. Buna karşılık immünizasyon uygulaması yapılan hayvanlardan elde edilen ürünlerin güvenilirliği ile ilgili henüz olumsuz bir görüş ortaya atılmamıştır. Diğer taraftan, immünizasyonun döl veriminin artırılması için kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar bilinen diğer uygulamalara karşılaştırıldığında hala alternatif olacak düzeye gelmiş değildir. Döl veriminin artırılmasında klasik yöntemler önemlerini korumaktadır. Döl veriminin artırılmasına yönelik immünizasyon ile ilgili farklı çalışmalarda çok değişik sonuçlar alınabilmektedir. Yüksek düzeyde antikör titresi her zaman yüksek düzeyde follükül gelişimi ile sonuçlanmadığı gibi, normalin üzerinde follükül gelişimi her zaman yüksek ikizlik oranı ile sonuçlanmamaktadır.

Literatür

Boland, M.P. and Crosby, T.F., 1993. Fecundin: An immunological approach to enhance fertility in sheep. Anim. Rep. Sci. 33, 143-158.

Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Evans G, Downing JA., 1991. Increased ovulation rate in androstenedioneimmune ewes is not due to elevated plasma concentrations of FSH. J Reprod Fertil;91:655–66.

Cedden, F., I.Daskiran, Y. Cetin, M. Bingol, Ö. Demir, A.Yilmaz, T. Aygun, 2007. Immunizing Norduz goats against inhibin. Biotechnology in Animal Husbandry 23 (5-6), p 133 – 140

D’Occhio, M.J., Gifford, D.R., Hoskinson, M., Weatherly, T., Flavey, P. F., Mattner, P. E., Setchel, B.P., 1987. Reproductive hormone secretion and testicular growth in bull calves actively immunized against testosterone and Oestradiol-17β. Jour. Reprod. Fert. 79, 315-322

Elsaesser, G. & Drath, S. (1995). The potential of immunoneutralization against somatostatin for improving pig performance. Livestock Production Science 42, 255-263.

Gardner, M. J., Morrison, C. J., Stevenson, L. Q. & Flint, D. J. (1990). Production of an anti-idiotypic antisera to rat GH antibodies capable of binding to GH

receptors and increasing body weight gain in hypophysectomised rats. *Journal of Endocrinology* 125, 55-59.

Hillard MA, Wilkins JF, Cummins LJ, Bindon BM, Tsonis CG, Findlay JK, O'Shea T., 1995. Immunological manipulation of ovulation rate for twinning in cattle *J Reprod Fertil.*;49:351-64

Holder, A. T., Aston, R., Preece, M. & Ivanyi, J. (1985). Monoclonal antibody mediated enhancement of growth hormone activity in vivo. *Journal of Endocrinology* 107, R9-R12.

Huxoll, C. C., Price, E. O., Adams, T. E., 1998. Testes function, carcass traits and aggressive behaviour of beef bulls actively immunized against gonadotropin releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 76, 1760-1766

Janett, F., 2008. Influence of immunization against GnRH on behaviour, scrotal circumference and testosterone secretion in peripubertal bulls. *Forschungsdatenbank der Universität Zürich.*

Kaneko, H., Nakanishi, Y., Akagi, K., Arai, K., Taya, G., Watanabe, G., Sasamoto, S., Hasegawa, Y., 1995. Immunoneutralization of inhibin and estradiol during the follicular phase of the estrous cycle in cows. *Biol. Reprod.* 53, 931-939.

Konishi, M., Y Aoyagi, T. Takedomi, H. Itakura, T. Itoh, S. Yazawa, H. Kishi, K. Taya, G. Watanabe and H. Kanagawa, 1999. Effect of active immunization of cattle against inhibin on ovarian follicular development and ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration *Theriogenology*, Volume 46, Issue 1, Pages 33-43

Kuntz, M.C., De Reviers, H. M.T., Pisselet, C., Ferreau, C., Fontaine, I., Schanbacher, B. D., 1988. Endocrin parameters, hormone receptors, and functions of the testicular interstitium and seminiferous epithelium in estradiol-immunized Ile de France rams. *Jour. Of Andrology*, 9, 278-283.

Ling N, Ying SY, Ueno H, Esch F, Denonary L, Guillemin R: Isolation and partial characterization of a Mw 32,000 protein with inhibin activity from porcine follicular fluid. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 7217-21,1985.

Lishman, A.W. , M.C. van Deventer and D.G. Shaw, 1997. Immunisation of ewes against oestradiol-17 β in an attempt to increase the yield of viable. *South African Journ. Of Anim. Sci.* 27, 3, 69.

Medan, M. S., G Watanabe, K Sasaki, Y Nagura, H Sakaime, M Fujita, S Sharawy and K Taya Ovarian and hormonal response of female goats to active immunization against inhibin. *Journal of Endocrinology* (2003) **177**, 287–294

- O'Shea T., Bindon, B. M., Forage, RG, Findlay J.K., Tsonis, C. G., 1993. Active immunization of merino ewe lambs with recombinant bovine α inhibin advances Puberty and increases ovulation rate. *Reprod. Fert.*, 5, 173-180.
- Pell, J. M., 1997. Immunological manipulation of growth. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56, 621-630.
- Robertson DM, Foulds LM, Leversha L, Morgan FJ, Hearn MTW, Burger HG, Wettenhall REH, de Kretser DM., 1985. Isolation of inhibin from bovine follicular fluid. *Biochem Biophys Res Commun* 126: 220-6.
- Roberts, A.J. and Reeves, J. J., 1991. Reproductive and endocrine changes in ewes actively immunized against estrogens and androgens. *Jour. Reprod. Immun.* 19, 179-195
- Scaramuzzi RJ, Hoskinson RM., 1984. Active immunization against steroid hormones for increasing fecundity. In: Crichton DB, editor. *Immunological aspects of reproduction in mammals*. London: Butterworths; p. 445–74.
- Scaramuzzi RJ, Hoskinson RM., Cognie, Y., 1993. The reproductive performance of Border Leichestre x Merino ewes immunized against testosterone and cortisol. *Anim. Reprod. Sci.*, 34, 55-68.
- Sosa, J.M., Zang, Y., De Avila, D.M., Bertrand, K.P., Reeves, J.J., 2000. Technical note: Recombinant LHRH fusion protein suppresses estrus in heifer. *Jor. Anim. Sci.*, 78, 1310-1312
- Stevensen, V., 1993. Vaccin delivery systems: Potential methods for use anti-fertility vaccines. *American Journ. Of Reprod. Immunology*. 29: 176-188
- Takedomi, T, Kishi, H., Medan, M. S., Aoyagi, Y., Konishi, M., Itoh, T., Yazawa, S., Watanabe, G., Taya, K., 2005. Active immunization against inhibin improves superovulatory response to exogenous FSH in Cattle. *Journ. of Reprod. And Devel.*, 51, 3, 341-346.
- Talwar, G. P., 1997. Fertility regulating and immunotherapeutic vaccines reaching human trials stage. *Human Reproduction Update* 1997, Vol. 3, No. 4 pp. 301–310
- Thompson, D. L., L. L. Southern, R. L. St. George, L. S. Jones, and F. Garza. 1985. Active immunization of prepubertal boars against testosterone: Testicular and endocrine responses at 14 months of age. *J. Anita. Sci.* 61:1498.
- Ülker, H.; Kanter, M; Gökdal, Ö.; De Avila, D.M. and Reeves, J.J. 2001. The effects of recombinant LHRH fusion proteins on testicular development and histology in ram lambs. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 108: 459-464.
- Ülker, H.; Gökdal, Ö.; Temur, C., Budağ, C., Oto, M., De Avila, D.M. and Reeves, J.J. 2002. The effects of immunization against LHRH on body growth

and carcass characteristics in Karakaş ram lambs. *Small Ruminant Research*. 45: 273-287.

Wang, B. S., Lumanglas, A. L., Szewczyk, E., McWilliams, W., Loullis, C. C. & Hart, I. C. (1992). A proposed mechanism of action of a growth hormone-specific monoclonal antibody in the enhancement of hormonal activity. *Molecular Immunology* 29, 313-317.

Westbrook, S. L., Chandler, K. D. & McDowell, G. H. (1993). Immunization of pregnant ewes against somatotropin release inhibiting factor increases growth in twin lambs. *Australian Journal of Agricultural Research* 44,229-238.

Westbrook, S . L. & McDowell, G. H. (1995). Passively acquired antibodies to somatostatin alter the secretion of gastric acid and enhance the growth of sucking piglets. *Proceedings of the Nutrition Society of Australia* 19, 183

Wise, T. And Schanbacher, B.D., 1983. Reproductive effects of immunization in heifers against androstenedione and oestradiol 17 β . *Jour. Rep. Frt.*,69,605-611