

ENDOKRİNOLOJİ VE HAYVANSAL ÜRETİM

12. Hafta

Prof.Dr. Gürsel DELLAL

12.HAFTA:BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE HAYVANSAL ÜRETİM

- Büyüme faktörleri, sitokin ailesi içinde yer alan, pek çok doku ve vücut sıvısında doğal olarak bulunan, mitojenik etkili maddelerdir. Sitokin ailesi, hücreler üzerinde düzenleyici etkileri bulunan protein grubudur. Özel hücreler tarafından çeşitli uyarılara cevap olarak salgılanırlar ve hedef hücreler üzerinde etkide bulunurlar. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokal olabilmekte otokrin, parakrin ve endokrin yolla taşınabilmektedir. Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez, bağışıklık sisteminin regulasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücre metabolizmasının değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır. En önemli etkileri hücre bölünmesi ve farklılaşması üzerinedir (Günes 1999).
- Günes, H. 1999. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. Derleme makale. Tr. J. Of Biology 23:283–292 s. İzmir.

12.HAFTA

- Sitokinler temel olarak aşağıdaki gruplara ayrılabilirler;
- 1. Büyüme faktörleri (EGF, IGF, NGF, FGF, HGF v.b.),
- 2. Transforme edici büyüme faktörleri (TGF- β , TGF- α),
- 3. Koloni stimüle eden faktörler (GM-CSF, EPO, LIF),
- 4. Tümör nekroz faktörleri (TNF- α , TNF- β),
- 5. İnterlökinler (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 v.b.),
- 6. İnterferonlar (IFN- α , IFN- β , IFN- γ) (Günes 1999).

12.HAFTA

- Büyüme faktörleri, hücresel fonksiyonlarını endokrin, parakrin, otokrin veya intakrin mekanizmalarla sağlarlar. Endokrin yolla etkileyen faktörler hedef hücreye kan yoluyla gider ve uzaktaki hücreleri de etkilerler. Parakrin yolla etki eden faktörler salgılandıkları bölgede etkilidirler. Otokrin faktörler, salgılandığı hücrelerinin fonksiyonlarını etkilerler. Bazı transforne fibroblastlar, hiç salgılanmamış faktörlere hücrenin kendi içinde, intakrin mekanizma ile yanıt verirler (Ciger 1996).
- Ciger, S. 1996. Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri. Web sitesi.[Http://www.dermaneturk.com/yara_online/buyume_faktor.doc](http://www.dermaneturk.com/yara_online/buyume_faktor.doc). ErisimTarihi: 28.08.2013.

12.HAFTA

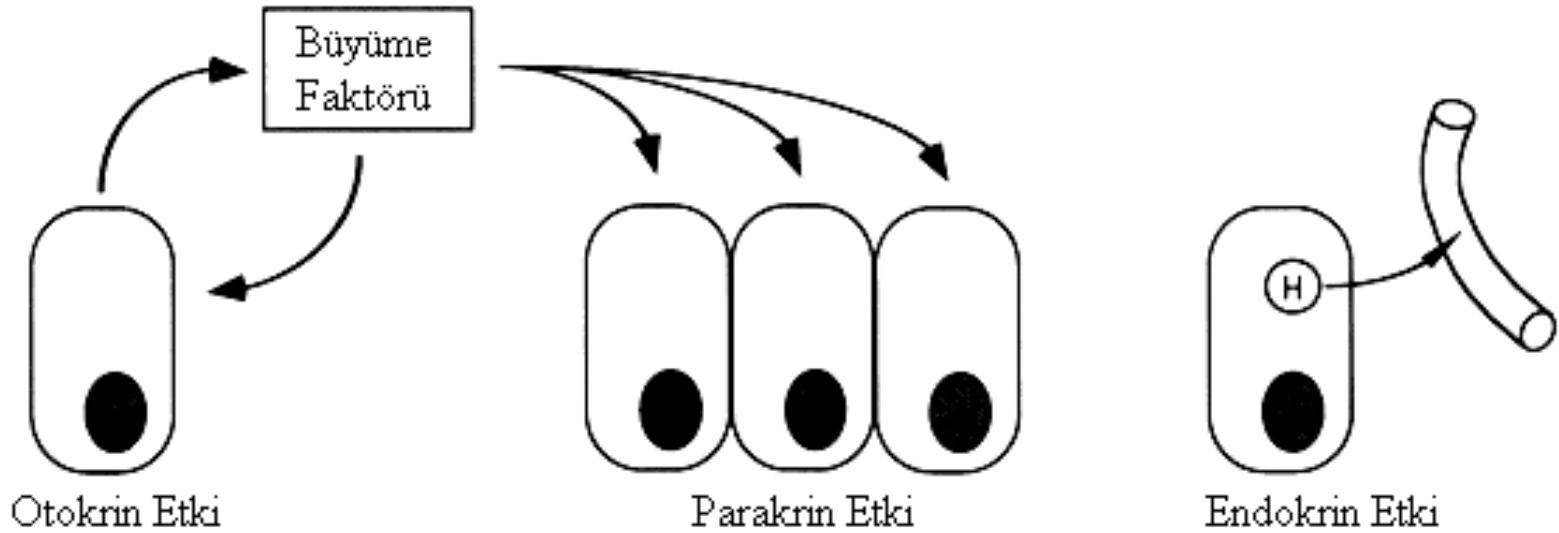
Büyüme faktörü reseptörleri membran içi bölge, sitoplazmik bölge ve hücre membranı dışında bulunan bir amino ucuna sahiptir. Hücre dışındaki bölüm, ikisi ligand bağlayan, ikisi yön tayin eden toplam dört kısımdan oluşur. Membran içi bölge reseptörlerin birbirleriyle temasından ve dimerlesmesinden sorumludur. Sitoplazmik bölge; ligand bağlama özelliklerini deşistiren fosforilasyon bölgesi, ikinci haberci sistemi ile etkileserek bu sistemi harekete geçiren fosforilasyon bölgesi ve tirozin kinaz bölgesi olmak üzere üç kısımdan oluşur (Günes 1999). Büyüme faktörleri, antagonistlere, inhibitörlere, protein bağlanmasına, proteolitik bozunmaya, reseptör çözünmesine, reseptörlerini artıracak veya azaltacak şekilde regulasyonuna ve sekresyonlarını etkileyen mutasyonlara duyarlıdırlar. Yapılarında proteolitik aktivasyon gerektiren kısmen aktif veya inaktif halde prekursorlerden oluşabilirler (McKay ve Leigh 1993).

-Günes, H. 1999. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. Derleme makale. Tr. J. Of Biology 23:283–292 s. İzmir.

-McKay, I. A., Leigh, I. M. 1993. Growth factors: A practical approach. IRL Press at Oxford University Press. pp. 251. England.

Sekil.12.1. Büyüme faktörlerinin etki yolları (Erickson 1994)

Erickson, G.F. 1994. Nongonadotropic regulation of ovarian function: Growth hormone and IGFs. In *Ovulation induction: Basic science and clinical advances*, pp 73–84. Amsterdam.



Çizelge 1:Büyüme faktörleri, üretim kaynakları ve fonksiyonları

Ciger, S. 1996. Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri. Web sitesi.http://www.dermane.turk.com/yara_online/buyume_faktor.doc.
ErisimTarihi: 28.08.2013.

McKay, I. A., Leigh, I. M. 1993. Growth factors: A practical approach. IRL Press at Oxford University Press. pp. 251. England.

Çizelge 1.1 Büyüme faktörleri, üretim kaynakları ve fonksiyonları

Büyüme Faktörü	Üretim Kaynağı	Fonksiyonları
Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	Submaksiller bez, brunners bezi, fibroblastlar, makrofajlar, monositler.	Mezanşimal, gliyal keratinosit ve fibroblast hücrelerinde mitojenik özelliğe sahiptir. Keratinositlerin epitel hücrelerine göç etmelerini sağlar. Hücrede iyon alınımını, glikolizi, DNA ve RNA sentezini arttırıcı özelliği vardır.
İnstülin Benzeri Büyüme Faktörü-I (IGF-I)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar, pridontal dokular.	Çoğu hücre tipinde mitojen ve morfojen roller üstlenir. Sülfat proteoglikanlar ile kollajen sentezini ve fibroblast proliferasyonunu uyarır. Prenatal ve postnatal gelişme üzerinde etki gösterirler. Hücreleri apoptozise karşı koruyucu etkileri vardır. Lif folükülü büyümesinde etkilidir.
İnstülin Benzeri Büyüme Faktörü-II (IGF-II)	Karaciğer.	Doğum öncesi dönemde fetusun büyümesinde çok önemli bir role sahiptir. Fetus üzerindeki etkilerinin IGF-I'den daha fazla olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 12. 1.Devam

Çizelge 1.1 Büyüme faktörleri, üretim kaynakları ve fonksiyonları (devam)

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)	Pitüiter bez, monositler, keratinositler, fibroblast, makrofaj ve endotel hücreleri.	Fibroblastlar, osteoblastlar, düz kas hücreleri, endotel hücreler, kondrositler ve melanositler gibi çeşitli mezoderm ve nöroektodermden türeyen hücreler için kuvvetli mitojenik aktiviteye ve nörotropik özelliğe sahiptir.
Dönüştürücü Büyüme Faktörü (TGF)	Trombositler, kemik TH1 hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler.	Mezenşimal, epitel, endotel hücre büyümesini ve endotel hücre kemotaksisini uyarır. Kolajen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinir ve kolajenazı aktive eden diğer faktörlerin uyarıcı etkisini azaltır. Yara iyileşmesinde anti-inflamator etki ile makrofaj ve lenfosit çoğalmasını inhibe eder.
Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	Böbrek, vasküler endotel hücreler.	En kuvvetli fizyolojik ve patolojik anjiogenez uyarıcısıdır. Damar oluşumunda kritik rol oynar. Endotel hücrelerinin yaptığı birçok fonksiyonda görev alır.
Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	Trombositler, endotel hücreleri ve plasenta.	Makrofajlar ve polimorf nüveli lökositlerin kemotaksisini, fibroblast ve düz kas hücrelerinin hem kemotaksisini hem mitogenezini uyarır. Kolajen, hyalüran ve fibronektin sentezi üzerinde etkilidir ve kolajenaz aktivitesini artırır.
Sinir Büyüme Faktörü (NGF)	Submaksiller bez.	Nöronların sağ kalımları ve ölüm olaylarını düzenleyerek akibetlerini belirler. Birçok organda inflamasyonun başlatılıp devam ettirilmesinde anahtar role sahiptir. Ovulasyonun sağlanmasına yardımcı olur.
Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)	Karaciğer.	Hepatositler, epitelyal hücreler, melanositler, endotelial ve hematopoietik hücreler gibi çeşitli hücre tiplerinde proliferasyon, migrasyon ve morfolojik değişiklikleri uyarır.
Keratinosit Büyüme Faktörü (KGF)	Hipotalamus ve fibroblastlar.	Embriyonik dönemde salınımı embriyonik gelişmenin regülasyonu, erişkinlerde salınımı hücre migrasyonu, proliferasyonu, diferasyonu ve sitoproteksiyon ile homeostazın regülasyonunda önem taşır.

Çizelge 12. 1 devam

Çizelge 1.1 Büyüme faktörleri, üretim kaynakları ve fonksiyonları (devam)

Plasental Büyüme Faktörü (PIGF)	Gebelikte plasenta.	Aterosklerotik lezyonlar ile ilişkili plak iltihabı ve neovasküler büyüme üzerinde etkilidir.
Endotelial Hücre Büyüme Faktörü (ECGF)	Göz ve nöroglial hücreleri.	Endotel hücrelerini hücre bölünmesi için uyarır. Faaliyetleri vasküler hücreler, düz kas lifleri ve fibroblastların areolar bağ dokusu üzerindedir.
Hepatoma Kaynaklı Büyüme Faktörü (HDGF)	Karaciğer.	Mitojenik ve DNA bağlanma aktivitesi olan etkiye sahiptir. Hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında rol oynar.
Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF)	Nöronlar.	Beyninin gelişim döneminde immatür nöronların büyümesini ve farklılaşmasını sağlar. Nöronların yaşamlarını sürdürmelerinde rol oynar.
Gözden Üretilmiş Büyüme Faktörü (EDGF)	Gözün aköz humör salgısında.	Hentz tam olarak bilinmiyor.
Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör (GM-CSF)	Makrofajlar, endotel hücreleri, fibroblast.	Endotel hücreleri ve nötrofillerin büyümesini teşvik eder. Endotelial hücreler, enflamatuar hücreler, keratinositler ve nötrofil çoğalması ile kemotaksisi uyarır.
Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (G-CSF)	Endotel makrofajlar ve diğer bağışıklık hücreleri.	Granülositleri üretmek için kemik iliğini uyarır.
İnterlökin - 1 (IL-1)	Endotel hücreler, dendritik hücreler, keratinositler, fibroblastlar, nötrofiller.	Fibroblastların çoğalmasını sağlayarak kollajen üretimini artırır. T ve B lenfositler ile doğal öldürücü (NK) hücre etkinliğini artırır.
İnterlökin - 2 (IL-2)	TH 1 hücreleri ve NK hücreleri, CD4 ve CD8 T lenfositler.	T ve B lenfositler ile timositlerin çoğalmasını artırır. NK ve LAK hücrelerinin sitotoksitesini sağlar. Büyüme hormonu ve prolaktin salgılamasına yol açar.
Eritropoetin (EPO)	Böbrek.	Eritrositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik eder. Kırmızı kan hücrelerinin olgun hale dönüşmeleri için uyarım yapar.
Trombopoetin (TPO)	Kemik iliği.	Trombosit üretimini düzenleyerek, trombosit ve megakaryositlerin farklılaşmalarını sağlar.

12.Hafta: IGF'lerinin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- IGF-I ve IGF-II hücre metabolizması, proliferasyon ve farklılaşmadaki rollerinin haricinde en önemli etkilerini üreme süreçlerinde gösterirler. Özellikle fetal ve postnatal gelişimde çok önemli görevlerde yer alırlar. Güçlü granuloza hücre mitojenidirler ve FSH ile LH'in reseptörlerine bağlanma kapasitelerini arttıırırlar. Ayrıca bulgular IGF'lerin FSH regülasyonunu sağlayarak granuloza hücrelerinin indüklenmesinde sinerjistik etkisi olduğunu da göstermektedir (**Akyıldırım ve Memisogulları 2011**).
- -Akyıldırım, H., Memisogulları, R. 2011. Polikistik Over Sendromu'nda gözlenen biyokimyasal bozukluklar. Derleme. Konuralp Tıp Dergisi 2011;3(1):42-48 s. Düzce.

12.Hafta: IGF'lerinin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- Sığırlarda yapılan araştırmalar IGF-I ve insülin hormonunun progesteron üretimini arttırıcı etkileri olduğunu östermistir. Yine sığırlar üzerinde yapılan birkaç çalışmadaterminal büyüme sırasında lokal ovaryum kökenli IGF sistemi ile foliküler hücre proliferasyonu ve degisiminden sorumlu gonadotropinler arasında etkilesim olduğundan bahsetmektedir. Aynı zamanda IGF'lerin tekaintestinal hücrelerde LH ve androjenüretimini uyaran hCG (insan koryonik gonadotropin) hormonunu arttırdığı da bilinmektedir (**Spicer vd. 1993**).
- - Spicer, L. J., Alpizar, E., Echterkamp, S. E. 1993. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor I production in vitro. J. Anim. Sci. 1993. 71:1232-1241. USA.

12.Hafta:IGF'lerin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- **Oosit olgunlaşmasında IGF-I'in rolü**
- IGF-I birçok türde oosit olgunlaşmasını stimüle eden ve daha sonra embriyo gelişimini sağlayan bir faktördür. Mandalarda yapılan bir çalışmada IGF-I'in granuloza hücrelerinin proliferasyonu ve oositlerin olgunlaşmasında etkili olduğunu gösterilmiştir, ayrıca IGF-I'in varlığında olgunlaşmış oositlerin bölünme oranlarında ve blastosit aşamasına geçişlerinde önemli bir artışa neden olduğu görülmüştür
- Pawshe vd. 1998. Pawshe, C. H., Rao, K. B. C., Totey, S. M. 1998. Effect of insulin-like growth factor I and its interaction with gonadotropins on in vitro maturation and embryonic development, cell proliferation, and biosynthetic activity of cumulus-oocyte complexes and granulosa cells in buffalo. *Molecular Reproduction and Development*. Vol: 49, Iss: 3, pp. 277–285. USA.

12.Hafta:IGF'lerin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- **Gebelikte fetal dokularda IGF'lerin rolü**
- İnsanlarda gebelik döneminde, 9. haftadan itibaren birçok fetal dokuda IGF-I saptanmıştır. Fetal IGF düzeyleri gebelik boyunca artar ve termde erken gebelik düzeylerinin 2 katına çıkar. Erken gebelikte IGF konsantrasyonları ekstraembriyonik boşlukta ve amniotik sıvıda maternal serumdan belirgin ölçüde yüksektir. Bu fetal membranlarında IGF-I'i sentez ederek fetal büyümeyi etkiledikleri iddiasını ortaya çıkartmıştır (Saltan 2008). Ayrıca küçük bir grup kısırakta yapılan araştırmada IGF-I konsantrasyonunun gebelik oranıyla pozitif korelasyona sahip olduğu tespit edilmiştir (Macpherson vd. 1999).
- Macpherson, M. L., Simmen, R. C. M., Simmen, F. A., Sheerin, B. R., Miller, C. D., Loomis, P. 1999. Insulin-like growth factor I and associated binding proteins in seminal plasma of stallions. University of Florida, Departments of Large Animal Clinical Sciences and Animal Science. USA.

12.Hafta:IGF'lerin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- IGF-I oluşumu fetusta başlar ve bir ömür boyu devam eder. IGF-II ise doğum öncesi dönemde fetusun büyümesinde çok önemli bir role sahiptir. Eriskinlerde ise IGF-II geni yalnızca koroid plaksusta ve beyin zarında görülür. IGF-II'nin sitotrofoblast,ekstravillus trafoblast, fötal endotelyal hücreler ve villideki fötal mezensimal hücreler tarafından bol miktarda sentezlendiği bildirilmektedir (**Saltan 2008**).

- Saltan, S. 2008. Termdeki insan plasentalarında insülin benzeri büyüme faktör-1 reseptörü (IGF-1R)'nün immunohistokimyasal lokalizasyonu. Yüksek lisans tezi. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalı. 65 s. Kars.

12.Hafta:IGF'lerin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- **Negatif enerji dengesinin üreme üzerindeki IGF-I kaynaklı etkileri**

Sığırlar üzerinde yapılan araştırmalar beslemenin IGF-I düzeyi ve bununla bağlantılı olarak üreme üzerinde etkileri olduğunu göstermiştir. Pozitif enerji dengesindeki neklere büyüme hormonu reseptörleri ile karaciğerde üretilen IGF-I uyumlu olduğunda hipofizden büyüme hormonu salınımı yavaşlatılmakta ve dokuların insüline duyarlılığı artmaktadır (Görgülü vd. 2011). Negatif enerji dengesindeki ineklerde keton maddelerin ve büyüme hormonunun düzeyi artmakta, insulin, IGF-I ve leptin düzeyleri düşmektedir. Negatif enerji dengesinde düşen plazma glukoz, insulin ve IGF-I yumurtalıklarda folikül gelişimini olumsuz etkilemekte, östrojen üretim kapasitesini düşürmektedir. Doğum sonrası normal ovulasyon sergileyen ineklerde, ovulasyon göstermeyen ineklere oranla plazma IGF düzeyi %40-50 daha yüksek bulunmuştur (Görgülü vd. 2011).

- Görgülü, M., Göncü, S., Serbest, U., Kıyma, Z. 2011. Süt sığırlarının üremesinde beslemenin rolü. 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi. 43 s. Adana.

12.Hafta:IGF'lerin Üreme Süreçlerindeki Fonksiyonları

- **IGF-I'in erkek bireylerin üreme özelliklerine etkileri**
- IGF-I erkek bireylerde tüm testis dokusunda tanımlanmış ve kendisinin sertoli hücrelerinde, reseptörlerinin ise leyding, sertoli ve germinal hücrelerde üretildiği tespit edilmiştir. IGF-I'in leyding hücre steroidogenezini ve sertoli hücre transferin üretimini arttırıcı etkisi bulunmaktadır. Ayrıca spermatogeneziste görev alan peptit hormonlar, androjen ve gonadotropinler ile etkileşimdedir. Araştırmalarda bogalarda IGF-I uygulamasının fertilitiyi ve fekunditeyi arttırdığı görülmüştür (Bulgurcuoglu vd. 2003).
- Atlar üzerinde yapılan bir çalışmada IGF-I ve IGFBP-2 seminal plazmada tespit edilmiş ve seminal plazmada sperm hareketliliği ve IGF-I konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Domuz spermleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise IGF-I'in dondurulmuş spermler üzerindeki etkileri incelenmiş ve IGF-I ilavesinin fruktoz kullanımını azaltarak spermlerin saklanma süresini uzattığı bulunmuş, saklanan spermlerin motilite ve kalitesinde artış olduğu belirlenmiştir (Silva vd. 2011).
- Silva, D. M., Zangeronimo, M. G., Murgas, L. D. S., Rocha, L. G. P., Chaves, B. R., Pereira, B. A., Cunha, E. C. P. 2011. Addition of IGF-I to storage-cooled boar semen and its effect on sperm quality. Growth Hormone and IGF Research. Volume 21, Issue 6 , Pp. 325-330. Canada.

12.Hafta:IGF'lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

- **IGF'lerin Meme Bezi Gelisimi ve Laktasyondaki Fonksiyonları**
- IGF'ler süt üretimi üzerinde çok önemli etkilere neden olurlar, öyle ki IGF-I düzeyi ne kadar yüksek olursa, üretilen süt miktarındaki artısta o derecede yüksek olur. Sığırlarda IGF-I düzeyini arttıran maddelerin başında sığır somatotropini (bST) gelir. Ayrıca uzun gün ışığı (uzun fotoperiod) da IGF-I üretimini arttırıcı etkide bulunur. bST ve uzun fotoperiod IGF-I seviyesini birbirlerinden bağımsız olarak etkilerler. Dolayısıyla bağımsız olarak veya her ikisinin birlikte kullanımı mümkündür (**Görgülü vd. 2011**).

- Görgülü, M., Göncü, S., Serbestler, U., Kıyma, Z. 2011. Süt sığırlarının üremesinde beslemenin rolü. 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi. 43 s. Adana.

12.Hafta:IGF'lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

- **Süt veriminin arttırılmasında IGF'lerin kullanım olanakları**
Kırk inekle, 84 gün yapılan bir denemede, yirmi inek 13 saatin altında normal ışıklanma süresinde tutulurken, diğer 20 ineye günde 18 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde ek aydınlatma sağlanmıştır. Aydınlatılanlar, günde inek başına % 4 yaga göre düzeltilmiş (FCM), 1,8 kg fazla süt vermişlerdir Isık sağlanmayan ineklerden günde ortalama 36 kg, ek ısı sağlanan ineklerden günde ortalama 37,8 kg süt elde edilmiştir. IGF-I seviyesi aydınlatma ile 52,6 ng/ml'den 60 ng/ml'ye yükselmiştir. Sütteki kuru madde ve yağ konsantrasyonlarında ise değişme olmamıştır (Göncü 2013).
- Göncü, S. 2013. Süt sığırcılığında barınak çeşitleri. Web sitesi. [Http://traglor.cu.edu.tr/objects/objectFile/O3j54I7Y-2032013-35.pdf](http://traglor.cu.edu.tr/objects/objectFile/O3j54I7Y-2032013-35.pdf). ErisimTarihi: 23.09.2013.

12.Hafta:IGF'lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

- Altı siyah alaca inek üzerinde yapılan bir çalışmada bST ve laktasyon döneminin insülin, IGF-I ve IGF-II konsantrasyonlarına etkileri incelenmiştir. bST, insülin konsantrasyonunu arttırarak kuru dönemde 255 pmol/l, geç laktasyonda 149 pmol/l ve erken laktasyonda 14 pmol/l seviyesine getirmiştir. bST etkisiyle IGF-I düzeyleri erken laktasyonda 74,1 mikrogram/l, geç laktasyonda 123,6 mikrogram/l ve kuru dönemde 146,0 mikrogram/l olmuştur. IGF-II incelendiğinde ise erken laktasyonda 479,5 mikrogram/l, kuru dönemde 289,2 mikrogram/l seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler süt üretiminin düzenlenmesinde insülin ve IGF'lerin ne kadar önemli bir role sahip olduklarını göstermektedir (Vicini vd. 1991).
- Vicini, J. L., Buonomo, F. C., Veenhuizen, J. J., Miller, M. A., Clemmons, D. R., Collier, R. J. 1991. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. J. Nutr. 121(10). p.p. 1656-64. USA.

12.Hafta:IGF'lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

Laktasyon boyunca IGF-I, IGF-II ve IGFBP konsantrasyonlarının değişimi

- Otuz siyah alaca inek üzerinde yapılan bir çalışmada serum ve meme bezi salgılarındaki IGF-I, IGF-II ve IGFBP konsantrasyonları kuru dönem ve erken laktasyonda incelenmiştir. Kuru dönemde doğumdan bir hafta önce IGF-I konsantrasyonu 24 ile 81 ng/ml, IGF-II konsantrasyonu ise 150 ile 173 ng/ml aralığında bulunmuştur (Vega vd. 1991). Laktasyonun başladığı sonraki hafta yapılan ölçümlerde serum IGF-I düzeyinin 100 ile 157 ng/ml aralığına çıkarak yaklaşık %57 oranında arttığını, IGF-II konsantrasyonunun 126 ile 150 ng/ml oranında bulunarak önemli ölçüde değişmediğini göstermiştir. Meme bezi salgılarındaki IGF-I, IGF-II ve IGFBP konsantrasyonları ise doğumdan iki hafta önce artmaya başlayarak doğum öncesi dönemde en yüksek seviyesine (sırasıyla 2.95, 1.83 ve 7.27 mikrogram/ml) ulaşmıştır ve bu maddeler kolostrumda oldukça yüksek düzeyde bulunmuştur (Vega vd. 1991). Bulunan veriler IGF-I'in meme bezi epiteli ile taşınabilir olduğu hipotezini desteklemekte ve IGF-I, IGF-II ve IGFBP salgı mekanizmalarının birbirleriyle ilişkili olabileceğini göstermektedir (Vega vd. 1991).
- Vega, J. R., Gibson, C. A., Skaar, T. C., Hadsell, D. L., Baumrucker, C. R. 1991.
- Insulin-like growth factor (IGF)-I and -II and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. J. Anim. Sci. Vol. 69, No. 6, p.p. 2538-2547. USA.

12.Hafta:IGF' lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

- Primipar ve multipar inekler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise sığır sütündekiimmünoreaktif IGF-I seviyeleri ölçülmüş multipar ineklerde daha yüksek (40 $\mu\text{mol/l}$),primipar ineklerde daha düşük (19,2 $\mu\text{mol/l}$) olduğu tespit edilmiştir. Laktasyonun 2.gününde IGF-I konsantrasyonları, başlangıçtaki multipar ve primipar inekler içinsırasıyla %30 ve %50'si kadar olmuştur. Laktasyonun 56. gününde kombine paritegruplarında IGF-I konsantrasyonu 4,5 $\mu\text{mol/l}$ 'ye düşmüştür. Ayrıca yeni doğum yapmışmultipar ineklerin kanlarındaki IGF-I düzeyinin 183 $\mu\text{mol/l}$ olduğu görülmüştür (Campbell ve Baumrucker 1989).

-Campbell, P. G., Baumrucker, C. R. 1989. Insulin-like growth factor-I and its association with binding proteins in bovine milk. Journal of Endocrinology 120, 21–29 s. United Kingdom.

12.Hafta:IGF'lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

- **İnvolusyon döneminde etkili büyüme faktörleri**
- Laktasyon döneminin sonunda emme ve sagım uyarımının bitiminin ardından involusyon dönemi başlamaktadır. Bu dönem memeli çiftlik hayvanlarında servisperiody dönemi içerisinde incelenmektedir. nvolusyon döneminde salgı yapıcı epitel doku seklini degistirmekte ve yaklaşık olarak gebelik öncesi dönemdeki sekline dönmektedir. nvolusyon döneminde görevli uyarımlar esas olarak lokaldir. Gerçekte birçok büyüme faktörünün meme bezi büyümesinin düzenlenmesinde lokal olarak rol oynadığı ve bu faktörlerin eksojen hormonlara tepki gösterme bakımından önemlidüzeyde fonksiyon yaptıkları bildirilmektedir. Bu büyüme faktörlerinden özellikle IGF-I, TGF-, hepatosit büyüme faktörü ve amphiregulinin önemli rol oynamaktadır (**Svennersten ve Olsson 2005**).
- **Svennersten-Sjaunja, K., Olsson, K. 2005. Endocrinology of milk production. Domestic Animal Endocrinology, 29; 241-258. Hungary.**

12.Hafta:IGF'lerin Süt üretimi üzerindeki etkileri

- **Kolostrum ve sütün mitojenik aktivitesi**
- Yapılan bir araştırmada farklılaşmamış sığır meme epitelyal hücrelerinin primer kültüründe sütün mitojenik aktivitesi incelenmiştir. Kolostrumun mitojenik aktivitesinin normal süttten 3-4 kat fazla olduğu, mitojenik aktivitenin buzağılamadan sonra hızla azaldığı, orta ve geç laktasyonda uyarıcı etkisinin yok olduğu görülmüştür. Kolostrum ve normal süt arasındaki mitojenik farkın sebebinin büyük ölçüde IGF-I içeriğindeki değişimden kaynaklandığı düşünülmüş ve sütteki IGFBP'lerinde IGF-I gibi orta ve geç laktasyonda düşüğe geçtiği tespit edilmiştir (Sejrsen vd. 2001).
- Sejrsen, K., Pedersen, L. O., Vestergaard, M., Purup, S. 2001. Biological activity of bovine milk: Contribution of IGF-I and IGF binding proteins. *Livestock Production Science*. Volume 70, Issues 1–2, Pages 79–85. Denmark.

12.Hafta: GH'nın meme bezi üzerindeki etkileri ve rBGH kullanımı

- **GH'nın meme bezi üzerindeki etkileri ve rBGH kullanımı**
- GH'nın süt verimini artırma etkisinin, meme bezine olan besin akısında ortaya çıkardığı değişiklikler nedeniyle dolaylı mı, yoksa luminal epitel bölge üzerinde göstermiş olduğu doğrudan bir etkiden mi kaynaklandığı açık değildir. Bununla birlikte, yapılan
- çalışmalarda ratlarda laktasyon süresince GH salgılanmasının engellendiği durumlarda süt veriminde azalma saptanmış ve bu bulguya dayanarak, GH'nın meme epitel bölgesi üzerine direk olarak etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Husvéth 2011).
- GH, karacigerde ve muhtemelen de meme bezi stromasında IGF-I üretimini artırmakta ve sağlamış olduğu bu parakrin efektör (IGF-I) aracılığı ile hücre yaşama gücüne aracılık etmekte ve sonuçta süt üretimini dolaylı olarak artırmaktadır. Buna karşın son yıllarda ortaya konulan bulgular ile GH'nın rolü daha da karmaşık hale gelmiştir. Çünkü;
- elde edilen son verilere göre; farelerde meme gelişimi boyunca, meme bezi stroma ve epitel dokusunun her ikisinde de GHR bulunmakta, meme bezinin kendisi GH üretebilmekte ve koyunlarda GHR ve PRLR'ye ait heterodimerler fonksiyon yapabilmektedirler (Husvéth 2011).

-Husvéth, F. 2011. Physiological and reproductional aspects of animal production. 105 s. Hungary

12.Hafta: IGF'lerin Lif Folikülü ve Lif Oluşumundaki Fonksiyonları

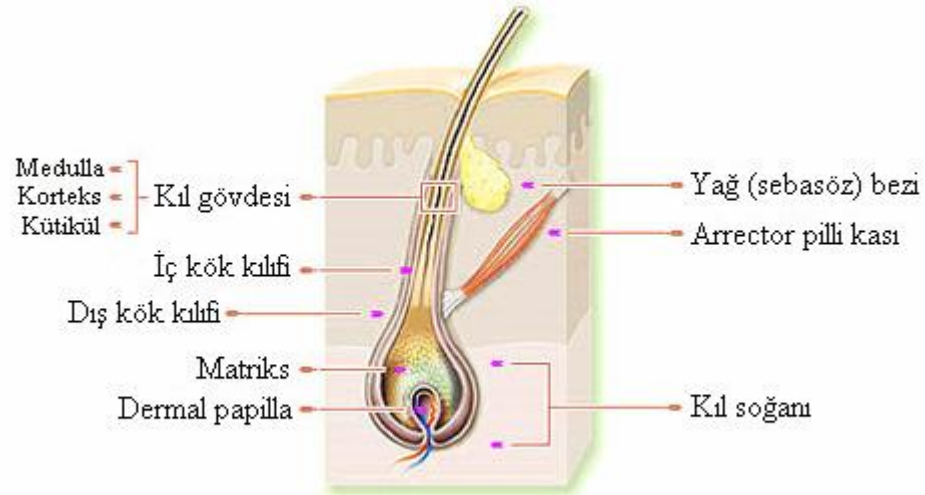
- **IGF'lerin Lif Folikülü ve Lif Oluşumundaki Fonksiyonları:**IGF'ler diğer birçok biyolojik sistemde olduğu gibi folikül ve lifler üzerinde de önemli fonksiyonlara sahiptirler. Kıl foliküllerinin gelişimi ve çoğalmasında oynadığı rollerüzerindeki çalışmalar devam etmektedir. IGF'ler, hem in vivo hem de in vitro keratinosit çoğalmasını uyarıcı ve lif folüküllerinin büyüme fazlarını uzatıcı etkide bulunurlar. Sekil 12.2'de görülen kıl folikülünün temel bileşenlerinden olan dermalpapilla ve germinatif matriks hücreleri IGF ve IGF reseptörlerinin temel hücresele orijinlerindedir (**Turan 2010**).

- **Turan, B. 2010. Memeli çiftlik hayvanlarında büyüme faktörleri ve lif üretimi biyolojisi. Yüksek Lisans Semineri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı. 31 s. Ankara.**

Sekil 12.2 Kıl folikülünün yapısı ve temel bileşenleri (Anonymous

2013e) Anonymous. 2013e. Web Sitesi. [Http://www.surviving-hairloss.com/hair_follicle.html](http://www.surviving-hairloss.com/hair_follicle.html).

Erisim Tarihi: 07.12.2013.



12.Hafta:IGF'lerin Büyüme ve Gelişme Üzerindeki Fonksiyonları

- **IGF'lerin Büyüme ve Gelişme Üzerindeki Fonksiyonları**
- IGF'ler lineer büyüme, glikoz metabolizması, organ homeostazisi, bağışıklık ve nörolojik sistemler üzerinde etkileri olan pleiotropik faktörlerdir. IGF-I embriyonik dönemde IGF-II'ye kıyasla daha az eksprese edildiği ve seviyesi doğumdan sonrakidönemde yükseldiği için, IGF-II'nin doğum öncesi dönemde, IGF-I'in doğum sonrası dönemde daha fazla etkili olduğu düşünülmektedir. Ancak yapılan son araştırmalar IGF-I'in embriyonik gelişim içinde oldukça gerekli olduğunu, yetersizliğinde kas, kemikve organ kütlelerinde azalma gerçekleştiğini göstermektedir (**Powell-Braxton vd. 1993**).
- **Powell-Braxton, L., Hollingshead, P., Warburton, C., Dowd, M., Pitts-Meek, S., Dalton, D., Gillett, N., Stewart, T. A. 1993. IGF-I is required for normal embryonic growth in mice. Genes. Dev. 7(12B):2609-17 s. USA.**

12.Hafta:IGF'lerin Büyüme ve Gelişme Üzerindeki Fonksiyonları

- In vitro çalışmalarda IGFBP-2'nin, IGF-I'e bağlı hücre çoğalmasını inhibe ettiği belirlenmiştir. Farelerde yapılan araştırmalarda IGFBP-2'nin yüksek düzeyde ekspresyonu sonucunda vücut ağırlığında düşüş gerçekleştiği görülmüştür. Ve bu vücut ağırlığındaki düşüş, organ ağırlıklarından (dalak hariç) değil düşük karkas ağırlığından kaynaklanmıştır. Elde edilen bu veriler, IGF-I'in biyolojik etkilerini azaltan IGFBP-2'nin, postnatal büyümenin negatif regülatörü olduğunu kanıtlamıştır(**Hoeflich vd. 1999**).
- Hoeflich, A., Wu, M., Mohan, S., Föll, J., Wanke, R., Froehlich, T., Arnold, G. J., Lahm, H., Kolb, H. J., Wolf, E. 1999. Overexpression of insulin-like growth factor-binding protein-2 in transgenic mice reduces postnatal body weight gain. *Endocrinology*. 140(12):5488-96. Germany.

12.Hafta:IGF'lerin Büyüme ve Gelisme Üzerindeki Fonksiyonları

- **Hayvan ıslahında IGF-I konsantrasyonunun bir kriter olarak kullanımı**
- Farelerde vücut ağırlığı ile serum IGF-I konsantrasyonu arasında pozitif genetik korelasyon bulunması nedeniyle çiftlik hayvanlarının ıslahında, serum IGF-I konsantrasyonunun et üretimi ve et kalitesi açısından fizyolojik bir belirleyici olarak kullanımı konusunda çalışmalar devam etmektedir.
Domuzlardaki araştırmalarda
- IGF-I'in güvenilir bir kriter olmadığı belirlenmiştir (Suzuki vd. 2004).
- Et sığırlarında ise IGF-I konsantrasyonu ile karkas özellikleri arasında negatif genetik korelasyon olduğu görülmüştür. Ancak tüm bunlara rağmen serum IGF-I konsantrasyonunun hayvan ıslahında kullanımı konusunda henüz çok az şey bilinmektedir (Davis ve Simmen 2000).
- -Suzuki, K., Nakagawa, M., Katoh, K., Kadowaki, H., Shibata, T., Uchida, H., Obara, Y., Nishida, A. 2004. Genetic correlation between serum insulin-like growth factor-1 concentration and performance and meat quality traits in Durocpigs. J. Anim. Sci. 2004. 82:994-999. USA.
- -Davis, M. E., Simmen, R. C. 2000. Genetic parameter estimates for serum insulin-like growth factor-I concentration and carcass traits in Angus beef cattle. J. Anim. Sci. 78(9):2305-13. USA.

12.Hafta:Epidermal büyüme faktörünün (EGF) üreme süreçlerindeki fonksiyonları

- **EGF'nin üreme süreçleri üzerindeki fonksiyonları**
- Üreme sistemlerinde gerçekleşen büyüme ve gelişim üretilen çeşitli büyüme faktörlerinin etkisi altında şekillenir. EGF, erkek ve dişi canlılar üzerinde hem doğum öncesi hem de doğum sonrası dönemlerde önemli biyolojik etkilere sahiptir. Disilerde uterusda büyümeyi teşvik edici ve trofoblastlarda çoğalma, farklılaşma gibi fonksiyonları varken, erkeklerde boşaltım kanallarının gelişimi, cinsel olarak olgunlaşma, testis gelişimi ve spermatogenezde görev almaktadır. Testislerde yer alan EGF'nin başlıca kaynağı Leydig hücreleridir (Yan vd. 1998).
- Yapılan immunohistokimyasal çalışmalar EGF ve reseptörünün sıgırlarda ovarium, oviduct ve uterusda bulunduğunu göstermiş ve en çok EGF miktarına ise ovariumdaki antral folikülün teka eksterna hücrelerinde rastlanmıştır. Ayrıca granuloza hücrelerindeki EGF reseptörü miktarının estrus ve proestrusun son dönemlerinde, diestrus dönemine oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (Yan vd. 1998).
- Yan, Y. C., Sun, Y. P., Zhang, M. L., Koide, S. S. 1998. Identification and expression of epidermal growth factor gene in mouse testis. Shanghai Institute of Cell Biology, Chinese Academy of Sciences. Cell Res. 7(1):51-9. China.

12.Hafta: EGF'nün üreme süreçleri üzerindeki fonksiyonları

- **EGF'nin üreme hormonlarıyla etkileşimleri**
- EGF çeşitli üreme hormonları üzerinde de bir takım etkilere sahiptir. EGF, disilerde oosit olgunlaşması, ovulasyon ve luteinleşmeyi sağlayan hormon olan LH'in sinyalini yayılabilmesi için parakrin aracılık görevini üstlenebilmekte ve LH'in etkilerini taklitederek benzer etkilere neden olabilmektedir. EGF'nin ayrıca genel olarak FSH ile düzenlenen preantral foliküllerdeki granuloza hücrelerinin steroidogenezi ve farklılaşması üzerinde negatif etkiye sahip olduğu kabul edilmektedir (Park vd. 2004).
- **-Park, J. Y., Su, Y.Q., Ariga, M., Law, E., Jin, S. L., Conti, M. 2004. EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. Division of Reproductive Biology and Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics and Gynecology, Stanford University School of Medicine. Science. 303(5658):682-4. USA.**

12.Hafta: EGF'nün üreme süreçleri üzerindeki fonksiyonları

- **Oosit olgunlaşmasında EGF'nin rolü**
- Sığır oositlerinin olgunlaşması üzerine yapılan araştırmalar, EGF'nin oosit olgunlaşması sırasında sentezlenen proteinlerin oluşumunu sitümüle ettiğini göstermiştir. EGF'nin sığır oositlerinin olgunlaşması, fertilizasyonu, polar cisimcik oluşumu ve gelişim yeteneği üzerine arttırıcı etkileri olduğu bulunmuştur. Ayrıca EGF'nin oositlerde mayozun yeniden başlamasını tetikleyen faktörlerden birisi olduğu düşünülmektedir (Sakaguchi vd. 2000).
- Sakaguchi, M., Dominko, T., Leibfried-Rutledge, M. L., Nagai, T., First, N. L. 2000. A combination of EGF and IGF-I accelerates the progression of meiosis in bovine follicular oocytes and fetal calf serum neutralizes the acceleration effect. Theriogenology. 54:1327–1342. Japan.

12.Hafta: EGF'nün üreme süreçleri üzerindeki fonksiyonları

- **Embriyo ile hücre sel iletişimde EGF'nin rolü**
- EGF, plasenta yoluyla embriyo ve uterus arasındaki hücre sel iletişimde önemli bir rol oynamaktadır. Çünkü granuloza ve kümülüs hücrelerince salınan EGF oosit gelişimi için gerekli olan sinyali sağlamaktadır. Bununla birlikte EGF oositte foliküler gelişimi sağlarken, embriyoda da blastosist basına düşen hücre sayısını arttırarak mitojenik ve farklılaştırıcı etkisini göstermektedir. Bu nedenle EGF'nin gebeliğin sürdürülmesinde de oldukça kritik bir büyüme faktörü olduğu kabul edilmektedir (Lonergan vd. 1996).
- Lonergan, P., Carolan, C., Van Langendonck, A., Donnay, I., Khatir, H., Mermillod, P. 1996. Role of epidermal growth factor in bovine oocyte maturation and preimplantation embryo development in vitro. Biol Reprod. 54(6):1420-9. France

12.Hafta: EGF'nün üreme süreçleri üzerindeki fonksiyonları

Akrozom reaksiyonunda EGF'nin rolü

- EGF'nin üreme üzerindeki diğer bir etkisi ise akrozom reaksiyonu üzerinedir. Akrozom spermatozoanın plazma membranında bulunan bir yapıdır. Spermin baş kısmının yaklaşık 2/3'lük kısmını oluşturur, akrozin ve hyaluronidaz enzimlerini içerir. Spermin kapasitasyon yetenegini kazandıktan sonra yumurtanın zona pellucida katına bağlanabilmesi için akrozom reaksiyonu olarak adlandırılan bu ekzositotik islemin gerçekleşmesi gereklidir. Spermatozoonun füzyon yoluyla yumurtaya geçisi için zorunlu olan bu olay döllenmenin gerçekleşebilmesi için gereklidir (Daniel vd. 2010).
- Sperm kapasitasyonu sırasında spermde EGFR'nin kısmi aktivasyonu gerçekleşmektedir. Ancak akrozom reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için EGFR'nin tam aktivasyonu gereklidir, bunu da EGFR'ye bağlanan EGF sağlamaktadır (Breitbart ve Etkovitz 2010).

- Daniel, L., Etkovitz, N., Weiss, S. R., Rubinstein, S., Ickowicz, D., Breitbart, H. 2010. Regulation of the sperm EGF receptor by ouabain leads to initiation of the acrosome reaction. *Developmental Biology*. Vol 344, Iss 2. pp. 650–657. Israel.

- Breitbart, H., Etkovitz, H. 2010. Role and regulation of EGFR in actin remodeling in sperm capacitation and the acrosome reaction. *Asian Journal of Andrology* 13. pp. 106–110. Israel.

12.Hafta: EGF'nün üreme süreçleri üzerindeki fonksiyonları

Cinsiyetin farklılaşmasında EGF'nin rolü

- EGF, cinsiyetin farklılaşması üzerinde de önemli etkilere neden olur. Erkek farelerde yapılan araştırmalarda biyoeril farklılaşma döneminde anti-EGF serumu kullanılarak EGF yoksunluğu yaratıldığında wolf kanal sisteminin yapısında bozulma olduğu tespit edilmiş, dışarıdan EGF verilerek anti-EGF'nin etkisi giderildiğinde ise bu bozulmanın normale döndüğü görülmüştür (Gupta vd. 1991).
- Gupta, C., Siegel, S., Ellis, D. 1991. The role of EGF in testosterone-induced reproductive tract differentiation. Department of Pediatric Nephrology, Children's Hospital of Pittsburgh. Dev Biol. 146(1):106-16. Pennsylvania.

12.Hafta: EGF 'nün süt üretimi üzerindeki fonksiyonları

EGF'nin Meme Bezi Gelisimi ve Laktasyondaki Fonksiyonları

- EGF, meme bezi gelişiminde görev alan ve sütün bileşiminde bulunan büyüme faktörlerindedir. Östrojen ve progesteron hormonlarının üretimini teşvik edici şekilde uyararak meme büyümesine katkıda bulunurlar. EGF'ler ve prolaktin sinerjik etki göstererek alveol loblarının gelişimine etki ederler ve sentezlenen sütteki proteinlerin yapısını düzenlerler. Ayrıca EGF meme dokusundaki epitel hücreler üzerinde de proliferasyonu uyarıcı etkide bulunur (Plaut 1993).
- Plaut, K. 1993. Role of epidermal growth factor and transforming growth factors in mammary development and lactation. J. Dairy Sci. 76(6):1526-38. Burlington.

12.Hafta: EGF 'nün süt üretimi üzerindeki fonksiyonu

- **EGF'nin laktasyonda hormon salgılayan çeşitli hücre grupları ile ilişkileri**
- Memelilerde ön hipofiz hücreleri tarafından sentezlenip salgılanan EGF'nin, GH ve prolaktin hormonlarının salgılanmasını uyarıcı etkisi de bulunur. Ancak etkimekanizması henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Hemolitik plak yöntemi (HPA) kullanılarak laktasyondaki sıçanlar üzerinde yapılan bir araştırmada EGF salgılanan hücre grupları ile altı önemli adenohipofizyal hormonu (GH, LH, FSH, TSH,ACTH ve prolaktin) salgılayan hücre grupları bir araya getirilerek incelenmiş ve hipofizindeki hücrelerin yaklaşık %20'sinden EGF salgılandığı bildirilmiştir. Hormon salgılayan hücre grupları incelendiğinde prolaktinin %27, GH'in %20, LH'in %18,
- FSH'in %14, TSH'in %14 ve ACTH'in %5 oranında EGF ile aynı hücre gruplarından salgılandığı tespit edilmiştir (**Mouihate vd. 1996**).
- **Mouihate, A., Verrier, D., Lestage, J. 1996. Identification of epidermal growth factorsecreting cells in the anterior pituitary of lactating female rats. J. Endocrinol. 148(2):319-24. France.**

12.Hafta: EGF 'nün lif folikülü ve lif oluşumu üzerindeki fonksiyonu

- **EGF 'nün lif folikülü ve lif oluşumu üzerindeki fonksiyonu**
- EGF, folikül ve lif oluşumu üzerinde etki gösteren ana büyüme faktörlerindedir. Farelerde yapılan çalışmalar EGF'nin folikül oluşumu için proliferasyon gösteren hücrelerin sayısını azalttığını, folikül gelişim hızını düşürdüğünü ve böylece lif büyümesini gerilettiğini göstermiştir. Ayrıca EGF uygulamasından sonra farelerde üretilen liflerin daha kısa, ince ve dalgalı yapıda olduğu tespit edilmiştir (Turan 2010). Yeni doğan farelerde EGF'nin kıl foliküllü gelişimine etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada doğumdan sonraki bir hafta boyunca her gün yapılan enjeksiyonun kıl folikülü popülasyonu morfogenezinde önemli değişikliklere neden olduğu saptanmıştır. EGF enjekte edilen hayvanların derilerinde hiperkeratinizasyon görülmüş ve kıl folikülü gelişiminde gecikme gerçekleşmiştir (Cros 1993).
- Cros D. L. 1993. Fibroblast growth factor and epidermal growth factor in hair development. *Journal of Investigative Dermatology* 101, 106–113 s. USA.

12.Hafta: IGF 'nün lif Folikülü ve Lif oluşumu üzerindeki fonksiyonu

- EGF'nin kıl döngüsü üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada folikül gelişiminde anajen fazda görülen kıl soğanı hücrelerinin sayısındaki artışın EGF tarafından inhibe edildiği görülmüştür. Dermal papilla boyutu ve dermal papilla hücrelerinin sayısında ise önemli ölçüde değişim görülmemiştir (Moore vd. 1983). Şekil 12.3.'te folikül morfogenezisi ve kıl döngüsünde EGF'nin rolü tasvir edilmiştir.
- Moore, G. P. M., Panaretto, B. A., Robertson, D. 1983. Epidermal growth factor delays the development of the epidermis and hair follicles of mice during growth of the first coat. The Anatomical Record. Volume 205, Issue 1, pages 47–55.USA.

Sekil12.3. Folikül morfogenezisinde EGF'nin rolü (Kingston ve Chan 2003)

Kingston, K. L., Chan, S. Y. 2003. Epidermal growth factor as a biologic switch in hair growth cycle. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 278, No. 28, Issue of July 11, pp. 26120–26126. USA.

