

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HOLŞTAYN IRKI DÜVELERDE UYGULANAN
OVULASYON SENKRONİZASYONUNDA İKİ FARKLI
GnRH ANALOĞU VE β -KAROTEN + E VİTAMİNİNİN
ETKİNLİĞİ**

**Tezi Hazırlayan
Murat ABAY**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK**

**Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Temmuz 2010
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HOLŞTAYN IRKI DÜVELERDE UYGULANAN OVULASYON
SENKRONİZASYONUNDA İKİ FARKLI GnRH ANALOĞU
VE β -KAROTEN+E VİTAMİNİNİN ETKİNLİĞİ**

**Tezi Hazırlayan
Murat ABAY**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK**

**Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından TSD-08-322 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2010
KAYSERİ**

Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK danışmanlığında Murat ABAY tarafından hazırlanan “Holştayn Irkı Düvelerde Uygulanan Ovulasyon Senkronizasyonunda İki Farklı GnRH Analogu ve β -Karoten+E Vitamininin Etkinliği” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

06/07/2010

JÜRİ:

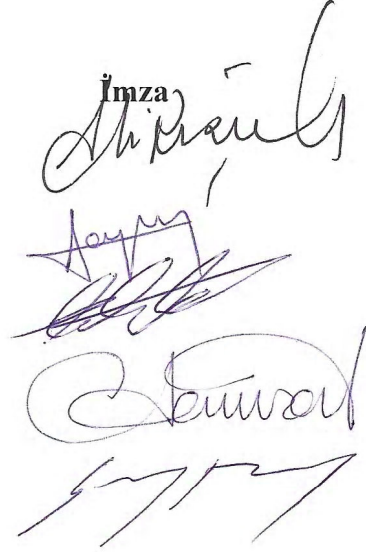
Başkan: Prof. Dr. Ali RİŞVANLI

Üye : Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK (Danışman)

Üye : Doç. Dr. Kutlay GÜRBULAK

Üye : Doç. Dr. Ömer Orkun DEMİRAL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Esra CANOOĞLU

İmza


ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../2010

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

III

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bilimsel tecrübesinden, bilgisinden ve önerilerinden yararlandığım, eğitimim boyunca her konuda bana yol gösteren, her türlü sorunumu hoşgörü ve anlayış içerisinde; bilgi birikimi, tecrübesi ve insan ilişkileri sayesinde çözen ve bölümümü seçmemdeki en önemli etkenlerden biri olan Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanı ve danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK'e saygı ve şükranlarımı arz eder, teşekkür ederim. Ayrıca Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı ile Dölerme, Suni Tohumlama ve Androloji Anabilim Dalındaki saygıdeğer hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı yürütmem için gerekli hayvan materyalini sağlayan GÜNTA Tarım ve Hayvancılık San. Tic. Ltd. Şti. sahipleri Sayın Ömer DENGİZ ve Selim TEMTEK'e, çalışma boyunca yardımlarından dolayı tüm işletme çalışanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin biyokimyasal ölçümlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Miyase ÇINAR'a ve progesteron değerlerinin ölçülmesindeki yardımlarından dolayı On Dokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet KAYA'ya teşekkür ederim.

Tezimi TSD-08-322 nolu proje ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, her zaman için hoşgörü ve anlayışını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına teşekkür ederim.

Her zaman için benim manevi desteklerim olan aileme, eşim Öğr. Gör. Dr. Seçil ABAY ve biricik kızım Ayşe Ceren'e sonsuz sevgilerimi iletiyor ve onları en içten duygularıyla öpüyorum.

**HOLŞTAYN IRKI DÜVELERDE UYGULANAN OVULASYON
SENKRONİZASYONUNDA İKİ FARKLI GnRH ANALOĞU VE β-KAROTEN+E
VİTAMİNİNİN ETKİNLİĞİ**

ÖZET

Bu çalışmada, düvelerin ilk östrus gözlenme süresinin uzaması ve suböstrus gibi problemlerin çözümüne katkı sağlamak, düvelerde iki farklı GnRH analogu ve β-karoten+E vitamini uygulanarak yapılan Ovsynch protokolünün ovulasyon zamanı ve gebelik oranı üzerine etkisini araştırmak amaçlandı.

Araştırmada yaşları en az 15 aylık, 350 kg ağırlığında olan toplam 80 adet Holştayn ırkı düve kullanıldı. Çalışmaya alınan düveler dört gruba ayrıldı (Grup 1, 2, 3 ve 4, n=20) ve tüm hayvanlara Ovsynch prosedürü uygulandı. Uygulanan Ovsynch protokolünde GnRH analogu olarak Grup 1 ve 2’te Receptal® (Buserelin asetat), Grup 3 ve 4’te Dalmarelin® (Lesirelin asetat) kullanıldı. Grup 1 ve 3’de yer alan düvelere sadece Ovsynch protokolü uygulanırken, Grup 2 ve 4’te yer alan düvelere Ovsynch başlangıcından yedi gün önce Dalmavital® (β-Karoten + E vitamini) enjeksiyonu yapıldı. Tüm hayvanlar son GnRH uygulamasını takiben 20 saat sonra tohumlandı. Çalışma boyunca hayvanlara Dalmavital, birinci ve ikinci GnRH uygulamasında, PGF2α enjeksiyonu aşamasında, ikinci GnRH enjeksiyonundan 20, 36 ve 48 saat sonra ve tohumlamadan 30 ve 60 sonra transrektal ultrasonografik muayene yapıldı. Progesteron, β-Karoten ve E vitamini seviyelerinin değerlendirilmesi için çalışma boyunca kan örnekleri alındı.

Çalışma sonunda en yüksek gebelik oranı Dalmavital ve Dalmarelin preparatlarının kullanıldığı Grup 4’te (% 60) elde edilirken, Grup 1, 2 ve 3’te gebelik oranları sırasıyla % 40, % 50 ve % 50 olarak saptandı (P>0,05). Tüm gruplarda gebe kalan ve kalmayan düvelerde β-karoten ve E vitamini düzeyleri arasındaki fark önemli bulunurken (P<0,05), progesteron düzeyleri arasında fark saptanmadı (P>0,05). Ovulasyon oranları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistikî fark ise önemli bulundu (P<0,05).

Sonuç olarak, düvelerde uzun etkili GnRH analogları ve β-karoten + E Vitamini kombinasyonu ile yapılan Ovsynch protokolünün gebelik oranlarını artırdığı belirlendi. Bununla birlikte, bu kombinasyonun özellikle çiftleşme olgunluğuna ulaşan düvelerin kısa sürede gebe kalmasında ucuz ve etkin bir metot olarak kullanılabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Düve, Ovulasyon senkronizasyonu, GnRH, β-karoten, E Vitamini

**THE EFFECTIVENESS OF TWO DIFFERENT GnRH ANALOGUES WITH OR
WITHOUT β -CAROTENE + VITAMIN E USED IN OVULATION
SYNCHRONIZATION IN HOLSTEIN HEIFERS**

ABSTRACT

The objectives of the current study were to solve prolonged onset of first oestrus and suboestrus problems in heifers, and determine the effects of Ovsynch protocol using two different GnRH analogues with or without β -carotene+Vitamin E on pregnancy rates and ovulation time.

In this research, 80 Holstein breed heifers aged at least 15 months and 350 kg weight were used. All heifers in the study, were divided to into four groups (Group 1, 2, 3 and 4, n=20) and all animals received same Ovsynch® procedure. In Group 1 and 2 Dalmarelin® (Lesireline acetate) and in Group 3 and 4 Receptal® (Busereline acetate) were used as GnRH agent for Ovsynch protocol. In Group 2 and 4 all animals were given a single injection of Dalmavital® (β -carotene+Vitamin E) 7 days before the initiation of Ovsynch, and the animals in Group 1 and 3 were only given Ovsynch protocol. All heifers were inseminated 20 hours after the last GnRH administration. Throughout the study, the transrectal ultrasonographic examinations were performed on the Dalmavital® administration day (Groups 2 and 4), first - second GnRH and PGF₂ α applications, 20, 36 and 48 h after the second GnRH application, 35 and 60 days after the insemination. Blood samples were collected during the process to evaluate the progesterone, β -carotene and vitamin E levels.

At the end of the study, highest pregnancy rate was detected in Group 4 (60%) which received the Dalmavital and Dalmarelin preparations, pregnancy rates in Group 1, 2 and 3 were obtained 40%, 50% and 50% respectively ($P > 0.05$). While β -carotene and vitamin E levels were found significant ($P < 0.05$) in between non-pregnant and pregnant heifers in all groups, no significant changes in serum progesterone levels were observed ($P > 0.05$). However, the difference between all groups was statistically significant when ovulation rates were evaluated ($P < 0.05$).

In conclusion, it was detected that the long-action GnRH analogues and combination of β -carotene and Vitamin E were used in Ovsynch protocol increased the pregnancy rates in heifers. The combinations are thought to be use especially an effective and inexpensive method for getting pregnancy in a short time after puberty in heifers.

Key words: Heifer, Synchronization of ovulation, GnRH, β -carotene, Vitamin E

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	VIII
TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ	IX
 1. GİRİŞ VE AMAÇ	 1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PUBERTAS	3
2.2. SEKSÜEL SIKLUSUN HORMONAL MEKANİZMASI	4
2.3. SEKSÜEL SIKLUS	5
2.3.1. Proöstrus	5
2.3.2. Östrus	6
2.3.3. Metaöstrus	7
2.3.4. Diöstrus	7
2.4. FOLİKÜLER GELİŞİM	9
2.4.1. Dolaşımdaki LH Konsantrasyonu ve LH Salınımının Düzenlenmesi	9
2.4.2. Dolaşımdaki FSH Konsantrasyonu ve FSH Salınımının Düzenlenmesi	11
2.4.3. Dolaşımdaki Progesteron Konsantrasyonu	12
2.4.4. Dolaşımdaki Östradiol 17 β Konsantrasyonu	12
2.4.5. İneklerde Foliküler Dinamikler	13
2.5. ÖSTRUS SENKRONİZASYONU	15
2.5.1. Progesteron Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyon Yöntemleri	16
2.5.2. Prostaglandin Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyon Yöntemleri	18
2.6. OVULASYON SENKRONİZASYONU	19
2.6.1. Ovsynch	21
2.6.2. Cosynch	25
2.6.3. Heatsynch	26
2.6.4. Selectsynch	27
2.6.5. Presynch	29
2.6.5.1. Ovsynch Protokolü ile Uygulanması (Presynch-Ovsynch Kombinasyonu)	30
2.6.5.2. Cosynch Protokolü ile Uygulanması (Presynch-Cosynch Kombinasyonu)	30

VII

Sayfa No

2.6.6. Hedef Çiftleştirme Protokolü (Targeted Breeding).....	31
2.6.6.1. Modifiye Hedef Çiftleştirme Protokolü (Modify Targeted Breeding)	31
2.6.7. Progesteron Kullanılan Ovulasyon Senkronizasyon Programları	32
2.6.8. Re-senkronizasyon.....	33
2.7. ANTİOKSİDANLARIN ÜREMEDEKİ ROLÜ	33
2.7.1. β -Karoten	33
2.7.1.1. β -Karoten'in Emilimi, Taşınması ve Atılımı	34
2.7.1.2. β -Karoten'in Fizyolojik Fonksiyonları	35
2.7.1.3. β -Karoten ve A Vitamini'nin Kandaki Düzeylerine Etki Eden Faktörler.....	36
2.7.1.4. β -Karoten ve A Vitamini'nin Döl Verimi Üzerine Etkisi	37
2.7.2. E Vitamini	39
2.7.2.1. Özellikleri ve Yapısı	39
2.7.2.2. Bulunduğu Yerler	40
2.7.2.3. Absorbsiyonu, Taşınması ve Depolanması.....	41
2.7.2.4. Mobilizasyonu ve Atılımı.....	42
2.7.2.5. E Vitamininin Fizyolojik Fonksiyonları.....	42
2.7.2.6. Yetersizliği	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. GEREÇ	46
3.1.1. Hayvanların Seçimi.....	46
3.2. YÖNTEM	46
3.2.1. Senkronizasyon Prosedürü	46
3.2.2. Ultrasonografi Düzeni.....	48
3.2.3. Kan Alma Düzeni	49
3.2.4. Serum β -Karoten Düzeyinin Belirlenmesi.....	49
3.2.5. Serum E Vitamini Düzeyinin Belirlenmesi	50
3.2.6. Progesteron Analizleri.....	51
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	51
4. BULGULAR.....	53
4.1. ULTRASONOGRAFİ BULGULARI	53
4.2. β -KAROTEN DÜZEYLERİ	57
4.3. E VİTAMİNİ DÜZEYLERİ	61
4.4. PROGESTERON DÜZEYLERİ	65
4.5. GEBELİK ORANLARI.....	68
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	69
6. KAYNAKLAR	78

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

VIII

KISALTMALAR

BHT	: Butil hidroksi toluen
CL	: Korpus luteum
CIDR	: Controlled internal drug release
DF	: Dominant follikül
ECP	: Estradiol cypionate
FSH	: Follikül stimüle edici hormon
GnRH	: Gonadotropin releasing hormon
im	: İntramuskuler
HDL	: High density lipoprotein
LDL	: Low density lipoprotein
LH	: Lüteinleştirici hormon
MGA	: Melengestrol asetat
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MTB	: Modify targeted breeding
PRID	: Progestosterone releasing intravaginal device
P ₄	: Progesteron
PG	: Postaglandin
pp	: Postpartum
Se	: Selenyum
TPTZ	: 2,4,6 Tripridil-S-Triazin
VLDL	: Very low density lipoprotein

TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1.	Çalışmanın -7, 0, 7 ve 9. günlerinde yapılan ultrasonografi kontrollerinde CL bulunan ve bulunmayan hayvanların sayıları	54
Tablo 4.2.	Çalışmanın 9. günü, tohumlama anında ve ikinci GnRH enjeksiyonundan 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde follikül bulunan ve bulunmayan hayvanların sayıları	55
Tablo 4.3.	Çalışma grupları arasında ikinci GnRH enjeksiyonundan 20, 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde belirlenen ovulasyon sayıları.....	56
Tablo 4.4.	Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların β -karoten değerleri ($\mu\text{g/dl}$) (Mean $\pm$ SD)	57
Tablo 4.5.	Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların β -karoten değerleri ($\mu\text{g/dl}$) (Mean $\pm$ SD)	58
Tablo 4.6.	Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanların β -karoten değerlerinin kendi içinde karşılaştırılması ($\mu\text{g/dl}$) (Mean $\pm$ SD).....	59
Tablo 4.7.	Grup 1, 2, 3 ve 4'te gebe kalan ve kalmayan hayvanların β -karoten değerlerinin günler arasındaki karşılaştırması ($\mu\text{g/dl}$)	60
Tablo 4.8.	Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların E vitamini değerleri (mg/dl) (Mean $\pm$ SD)	61
Tablo 4.9.	Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların E vitamini değerleri (mg/dl) (Mean $\pm$ SD)	62
Tablo 4.10.	Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanların E vitamini değerlerinin kendi içinde karşılaştırılması (mg/dl) (Mean $\pm$ SD)	63
Tablo 4.11.	Grup 1, 2, 3 ve 4'te gebe kalan ve kalmayan E vitamini değerlerinin günler arasındaki karşılaştırması (mg/dl)	64
Tablo 4.12.	Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların P_4 değerleri (ng/ml) (Median(%25-75))	65
Tablo 4.13.	Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların P_4 düzeyleri (ng/ml) (Median (%25-75)).....	66
Tablo 4.14.	Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanların P_4 değerlerinin kendi içinde karşılaştırılması (ng/ml) (Median (%25-75)).....	67

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	MGA synch programı.....17
Şekil 2.2.	Ovsynch protokolü 22
Şekil 2.3.	Cosynch protokolü 25
Şekil 2.4.	Heatsynch protokolü 26
Şekil 2.5.	Selectsynch protokolü 28
Şekil 2.6.	Presynch protokolü.....29
Şekil 3.1.	Grup 2 ve 4'te yer alan düvelere uygulanan senkronizasyon programı 48
Şekil 3.2.	Grup 1 ve 3'te yer alan düvelere uygulanan senkronizasyon programı 48
Şekil 4.1.	Çalışma grupları arasında ikinci GnRH enjeksiyonundan sonra 20, 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde belirlenen ovulasyon sayıları 56
Şekil 4.2.	Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların β -karoten değerleri 57
Şekil 4.3.	Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların β -karoten değerleri.....58
Şekil 4.4.	Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların E vitamini düzeyleri 61
Şekil 4.5.	Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların E vitamini düzeyleri.....62
Şekil 4.6.	Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların P_4 düzeyleri.....65
Şekil 4.7.	Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların P_4 düzeyleri 66
Şekil 4.8.	Çalışma gruplarında elde edilen gebelik oranları ($P>0,05$).....68
Resim 3.1.	Çalışmada kullanılan vitamin ve hormon preparatları.....47
Resim 3.2.	Çalışmada kullanılan ultrasonografi cihazı (Honda HS-1500 V) 49
Resim 4.1.	Ovaryumda CL görüntüsü 54
Resim 4.2.	Ovaryumda follikül görüntüsü 55
Resim 4.3.	Çalışmanın 35. ve 60. günlerinde alınan gebelik görüntüleri.....68

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Süt inekçiliğinde, hayvanlardan senede bir yavru elde edilmesi, çiftleşme olgunluğuna ulaşan düvelerin en kısa sürede gebe kalması istenilen bir durumdur. Holştayn düveler 15-16 aylık yaşa ve en az 350 kg canlı ağırlığa ulaşınca çiftleşme olgunluğuna gelirler. Ancak bu süre suböstrus başta olmak üzere birçok nedenden dolayı uzamaktadır. Süt sığırcılığında önemli problemlerden biri çiftleşme olgunluğuna gelen düvelerin zamanında gebe bırakılamamasıdır. Düvelerde geç zamanda yapılan tohumlamalar ekonomik zararlara neden olmaktadır. Bir hayvanın gebe kalmama maliyeti günde yaklaşık 10 TL kadardır. Bu nedenle düvelerin zamanında tohumlanması ekonomik açıdan oldukça önemlidir. Bu amaçla son yıllarda bir çok östrus senkronizasyon protokolü geliştirilmiştir. Ancak düvelerde uygulanan bu protokollerde elde edilen gebeliklerde başarı oranları % 25-37 arasında değişmektedir. Gebelik oranlarının yükseltilmesi zaman kaybını önleyeceği gibi işletmeye oldukça yüksek ekonomik kazanç sağlayacaktır.

Düvelerde gebelik oranını yükseltmek amacıyla östrusun yanında ovulasyonun da senkronize edilmesi önemlidir. Son yıllarda dölveriminin artırılmasında değişik ovulasyon senkronizasyonu yöntemleri yoğun olarak kullanılmaktadır. Düvelerde zamanında tohumlama yapmak, suböstrus gibi problemleri ortadan kaldırmak amacıyla uygulanan senkronizasyon yöntemlerinden genel olarak arzu edilen başarılar elde

edilememektedir. Bu yöntemler ineklerde daha başarılı sonuçlar vermektedir. İşletmelerde düvelerin vaktinde tohumlanması, verim ve ekonomi açısından oldukça önemlidir.

Çalışmanın hedefi, düvelerde etkin ve ucuz bir ovulasyon senkronizasyon metodu geliştirerek, ülkemizde oldukça büyük sıkıntısı çekilen damızlık gebe düve ihtiyacını hızla karşılamak amacıyla tasarlanmıştır.

Son yıllarda sahada sıkça kullanılan, ancak başarı oranı düvelerde arzu edilen düzeyde olmayan Ovsynch protokolünün başarısını arttırmak, bu projenin öncelikli amacıdır. Sunulan çalışmada, düvelerde ilk östrus gözlenme süresinin uzaması, suböstrus ve bunun gibi problemlerin çözülmesine katkı sağlamak amacıyla, düvelerde iki farklı GnRH analogu ve β -karoten+E vitamini uygulanarak yapılan Ovsynch protokolünün ovulasyon zamanı ve gebelik oranı üzerine etkisi araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PUBERTAS

Evcil hayvanlarda ovaryumun siklik faaliyetleri ancak türe ait belli bir yaşa gelince başlar ve değişik sürelerde düzene girer. Cinsel olgunluğa erişmeye ergenlik veya pubertas ismi verilir. Hayvanlarda oogenesis embriyonal hayatta başlar, doğumdan sonra pubertasa kadar dinlenme dönemine girer. Pubertasla birlikte primer folliküller gelişerek ovulasyon şekillenir, böylece oogenezinin yarım kaldığı yerden devam eder (1, 2).

Dişilerde pubertas, ilk östrusun görülmesi ile karakterize olup, hipotalamus, hipofiz ve ovaryum tarafından salgılanan hormonlar tarafından kontrol edilir. Geçiş dönemindeki bu olaylar çok iyi bilinmemektedir. Pubertas ve sonrası dönemde salınan birçok hormon pubertas öncesi de salınmakta, ovaryumlarda birtakım foliküler gelişmeler olmaktadır. Ancak bunlar graaf follikül haline gelemmez. Çünkü follikül stimüle edici hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormon (LH) salınımı düşük düzeydedir. Hayvan pubertasa erişince hipotalamustan salınan gonadotropin releasing hormon (GnRH) ile hipofiz bezi uyarılır. Bu etkiyle adenohipofizden FSH salgılanır ve ovaryumlar uyarılarak foliküler gelişme başlatılır. Böylece ilk östrus ve ovulasyon gerçekleşmiş olur. Ancak düvelerde ilk östrus sakın geçer ve dışarıdan fark edilmeyebilir (1, 2).

Dişilerin pubertasa erişmelerini ırk, kalıtım, iklim, yaş, doğum mevsimi ve beslenme gibi faktörler önemli düzeyde etkiler. İneklerde pubertasa erişme yaşı ortalama 7-18 ay olarak bildirilmektedir (1, 2).

2.2. SEKSÜEL SIKLUSUN HORMONAL MEKANİZMASI

İneklerde seksüel siklus hipotalamus, hipofiz ve ovaryumlar tarafından salınan hormonlarca kontrol edilir. Ayrıca endokrin bezlerin de etkisi bilinmektedir (1).

Hayvanlar pubertasa ulaştıktan sonra hipotalamustan salınan GnRH, adenohipofizi daha etkin uyarır. Bu etkiyle adenohipofizden FSH ve LH salınarak kana verilir. Özellikle FSH ovaryumlara gelerek foliküler gelişmeyi başlatır. Çok sayıda primer follikül gelişerek daha az sayıda sekonder, tersiyer ve daha sonra da graaf follikülü haline dönüşür. Çoğunlukla sadece bir tanesi graaf follikül halini alır. Folliküller bir taraftan gelişmeye devam ederken, diğer yandan da folliküllerin granuloza hücrelerinden östrojen salgılanır. Östrojen sentezi için hem FSH hem de LH esansiyeldir. Östrojenler kana verildikten sonra taşıyıcı proteinlerle birleşerek hedef organlara girer. Hedef organlarda bu özel taşıyıcı proteinlerden ayrılarak hücre sitoplazmasında bulunan özel reseptörlere bağlanarak etkinliğini gösterir. Kanda belirli bir seviyeye ulaşan östrojen aynı zamanda follikül üzerinde LH reseptörlerinin sayısını artırır. Östrojen miktarının kanda yükselmesi ile birlikte birtakım fiziksel ve psişik değişikliklere neden olur. Östrojen en üst düzeye ulaştığında inhibin aracılığı ile adenohipofizi negatif feedback ile uyarır ve FSH salınımını durdurur. Diğer taraftan pozitif feedback ile LH'nın salınmasına neden olur. Böylece LH'nın etkisiyle oositin son olgunlaşması ve ovulasyon şekillenir. Ovulasyon sonrası kanda östrojen miktarı düşer. Ovulasyon yerindeki granuloza ve teka hücreleri LH'nın etkisi ile luteinize olarak korpus luteum (CL)'un çatısını oluşturur. Korpus luteum ineklerde 14-18 gün aktif olarak progesteron (P₄) salgılar. Fonksiyonu uterustan kontrol edilir. Progesteron da etkisini östrojen gibi hücrelerin çekirdeğine girerek gerçekleştirir. Progesteron negatif feedback ile hipotalamus ve hipofizi baskı altında tutarak GnRH, FSH ve LH'nın salınmasını engeller ve böylece ovaryumda folliküllerin gelişmesi önlenir. Ayrıca P₄'ün etkisiyle uterus bezleri salgı yaparak gebeliğe hazır hale gelir (1).

Eğer gebelik şekillenmemişse siklusun 16-18. günlerinde, uterustan salgılanan prostaglandin (PG) F₂ α ovaryum arterlerine ve oradan da ovaryumlara gelerek CL'nin hızlı regresyonuna sebep olur. Anatomik olarak uterus venaları ve ovaryum arterleri

birlikte seyreder. Uterustan salınan $\text{PGF}_2\alpha$ evcil hayvanların bir çoğunda luteolizin olarak kabul edilir (1).

Son yıllarda $\text{PGF}_2\alpha$ salgılanmasında, ovaryum kökenli oksitosinin rol oynadığı bildirilmektedir. Luteal regresyon sonucu P_4 sekresyonunda ani düşme, hipotalamus ve hipofiz üzerindeki negatif feedback etkiyi kaldırır ve GnRH tekrar salınmaya başlar. Gonadotropin releasing hormon, FSH ve/veya LH salgısını uyararak, foliküler gelişme tekrar başlatılır. Eğer kornu uteride canlı bir embriyo varsa, lokal luteotrofik etkiyle aynı taraftaki CL'yi kontrol eder (1).

2.3. SEKSÜEL SIKLUS

İnekler, poliöstrik hayvanlar olup, gebe kalmadıkları sürece yıl boyunca östrus gösterirler. Düveler yetişkin ağırlıklarının %40-45'ine ulaştığında seksüel aktivite başlar ve düzenli aralıklarla devam eder (2). Seksüel siklus ineklerde 21 ± 4 gün iken düvelerde 20 ± 3 gündür. Siklus süresini, hayvanın ırkı, beslenme durumu, ortamda boğanın olup olmaması ve bakım şartları etkiler. İneklerde seksüel siklus proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus olmak üzere dört evreden oluşur (1).

2.3.1. Proöstrus

Östrustan önceki dönem olup, iki veya üç gün sürer. Ovaryum aktivitesindeki belirgin bir artışla karakterizedir. Bu dönem hipofizden salgılanan FSH etkisiyle hızlı bir foliküler gelişmenin olduğu ve önceki siklustan kalan CL'nin regrese olduğu dönemdir. Korpus luteumun regrese olması nedeniyle P_4 'ün hipotalamus üzerine yaptığı negatif feedback etkisi ortadan kalkar ve GnRH'nın yeniden salgılanması uyarılır. GnRH'nın etkisi ile hipofiz ön lobundan FSH ve LH salgılanır (3, 4). Seksüel siklusun bu döneminde artan FSH ve LH'nın etkisi ile hızlı bir follikülogenezis görülür, FSH etkisi altındaki bir follikül preovulatorik graaf follikülüne dönüşür ve bu zaman içerisinde LH salınımları sıklaşır. Gelişen folliküllerden salgılanan östrojenlerin etkisiyle hayvanda bir takım davranış değişiklikleri olur. Proöstrustaki inekler diğerlerinin üzerine atlama eğilimi gösterirler. Uterus büyümüş, konjesyone ve ödemlidir. Serviksin porsio vaginalis'i gevşemiş ve hiperemiktir. Ovaryumlar üzerindeki foliküler gelişim rektal palpasyon ve ultrasonografi ile belirlenebilir (1, 2).

Foliküler büyüme yalnızca FSH ile stimüle edilebilmesine rağmen, in vitro olarak östradiolun maksimum biyosentezinin FSH ve LH kombinasyonu ile elde edildiği gösterilmiştir (5). Lüteinleştirici hormon teka hücrelerine bağlanarak testosteron ve diğer steroidal androjenlerin üretimini stimüle eder. Follikül stimüle edici hormon ise granuloza hücrelerine bağlanarak teka hücrelerinde üretilen androjenlerin östradiole dönüşümünü stimüle eder (6). Follikülün östradiol üretme yeteneği, kendi geleceğini belirler ve bu yüzden LH follikülün olgunlaşmasında, ovulasyonunda veya atreziye olmasında kritik bir rol oynar (7). Östrus öncesi dönemde follikülün hacmi ve içerisindeki sıvı miktarı artar. Olgun bir graaf follikülünün sıvısı ortalama 2-3 mililitre (ml)'dir ve her 1 ml follikül sıvısı yaklaşık 0.5-0.9 µg östradiol içermektedir. Follikülün büyümesi ile paralel olarak, 2-7 pg/ml olan östradiolun plazma seviyeleri artarak östrustan 2-3 gün önce hafif bir dalgalanma yapar. Kanda P₄ oranlarının düşük olduğu foliküler dönemde, östradiolun artan fizyolojik konsantrasyonları, gonadotropin sekresyonu ve özellikle de LH üzerinde pozitif etki yaparak LH'nın preovulator yükselişini indükler (6, 8, 9). Lyimo ve ark. (9), belirli bir östradiol eşiğine ulaşıldıktan sonra, ovulasyonla sonuçlanabilen bir LH pikinin meydana geldiğini bildirmişlerdir.

2.3.2. Östrus

Östrus, çiftleşmenin kabul edildiği dönemdir. İneklerdeki süresi ortalama 12-18 saattir. Bu süre düvelerde ineklerden biraz daha kısadır. Östrusun başlama zamanını önceden belirlemek mümkün değildir. Bunun için en büyük belirti, hayvanın çiftleşmeyi kabul etmesidir. Proöstrusta olan belirtiler çok daha belirginleşir. Hayvan sık sık bağırır, vulva dudakları ödemli, yumuşak ve hafif hiperemiktir. Vulvadan östrusa spesifik servikal kökenli bir akıntı (çara) gelir. Çara renksiz, ipliksi bir karakterdedir. Östrustaki inekler diğer hayvanların üzerine sıçrar, kendi üzerine bir başka inek atladığında hareketsiz durur. Bu karakteristik bir durumdur (1, 2). Östrus davranışlarının süresi ve şiddeti ırka, ortamda erkeğin veya östrusta olan dişilerin varlığına, barındırma koşullarına, mevsime ve süt verimine göre değişebilmektedir. Östrus davranışlarının ve atlama aktivitelerinin büyük bir bölümü öğleden sonra 18:00 ile sabah 06:00 saatleri arasında günün karanlık saatlerinde meydana gelmektedir (10, 11). Sütçü ineklerde östrus davranışları, süt üretimi arttıkça olumsuz yönde etkilenmektedir. Modern sütçü işletmelerde östrus belirleme etkinliği genellikle düşüktür (12).

Ovaryumların muayenesinde, regrese olmuş CL ve olgunlaşan graaf follikül belirlenir. Uterus konjesyone, şişmiş, ödemli ve tonositesi artmıştır. Ancak ovaryumların bir kez muayenesi ile siklusun evresine karar vermek güçtür. Vagina mukozası ödemli, hiperemik ve ıslaktır (1, 2).

2.3.3. Metaöstrus

Metaöstrusun kesin sınırları tam belli olmamakla beraber östrusun bitimiyle ya da uterusu kontraksiyonların sona ermesi, vagina ve vulvadaki hipereminin kaybolması ve servikal kanalın kapanması gibi belirtiler ile birlikte başlar (13). Metaöstrus, ineklerde ovulasyonun olduğu ve CL'nin olduğu dönemdir. Hayvanın çiftleşme isteğinin bitmesi ile bu dönem başlar. Ovulasyon bu dönemde, LH pik salgısından 24-30 saat, östrus bitiminden 8-12 saat sonra şekillenir. Normalde sığırlarda her östrusta bir adet follikül ovule olmaktadır (14, 15), fakat bazen (%9-10 oranında) iki, nadiren de üç adet follikülün ovule olabileceği bildirilmektedir (14, 16). Ovulasyondan sonra östrojen miktarının aniden düşmesi uterusu peteşiyal kanamalara sebep olur. Bu metaöstrus kanamasıdır, genellikle östrus bittikten 2-3 gün sonra ve daha çok düvelerde görülür. Suböstrustaki hayvanların seksüel aktivitelerinin dışarıdan tanınabilen nadir semptomlarından biridir (13).

Ovulasyonun meydana gelmesinde en fazla etkinin LH tarafından oluşturulduğu ve olgun bir graaf follikülünde ovulasyonun görülebilmesi için hipofiz ön lobu tarafından LH salınımının gerekli olduğu yaygın olarak kabul görmektedir. Ovulasyondan sonra yine LH etkisiyle ovulasyon yerindeki luteal hücreler CL'yi geliştirir. Korpus luteum giderek artan miktarlarda P_4 salgılar ve ovulasyondan sonraki 3-4. günlerde yaklaşık 1 ng/ml P_4 üretir (13). Bu dönemde enjekte edilecek $PGF_{2\alpha}$ etkisizdir. Bunun sebebi olarak ya $PGF_{2\alpha}$ reseptörlerinin LH tarafından işgal edildiği ya da $PGF_{2\alpha}$ 'nın genç luteal hücrelere etki etmemesinin olduğu düşünülmektedir. Bu dönemde östrojen ve P_4 miktarı düşüktür. Korpus luteum gelişir, P_4 sentezlemeye başlar ve metaöstrus sona erer. İneklerde bu dönem 3-4 gün sürer (1).

2.3.4. Diöstrus

Korpus luteumun aktif olarak P_4 sentezlediği, siklusun en uzun dönemidir. Diöstrus süresince P_4 düzeyi yüksektir ve foliküler gelişme baskılanır. Ayrıca P_4 'ün etkisiyle endometrium bezleri hipertrofiye olarak uterus sütü adı verilen bir salgı üretirler. Uterus sütü implantasyon öncesi embriyonun yaşama ve beslenmesi için önemlidir.

Diöstrus metaöstrusla birlikte luteal fazı oluşturur. İneklerde 12-16 gün sürer. Korpus luteum siklusun 16-18. günlerinde maksimum büyüklüğe ulaşır (1, 13).

Korpus luteum tarafından salgılanan P_4 , GnRH üzerine negatif feedback etki yaparak LH sekresyonunu baskılar (13) ve bunun sonucunda LH salınım frekansı foliküler fazda her saatte bir iken luteal fazda 2-4 saatte bire düşer. Dişi sığırlarda bir siklus boyunca 2 veya 3 kez meydana gelen FSH salınımları ile eş zamanlı olarak dalga benzeri foliküler gelişim düzenleri görülür ve 2 veya 3 dominant follikül (DF) şekillenir (7). Diöstrus döneminde dominant follikül içerisindeki östradiol miktarının artması bazen dişilerin açık östrus semptomları göstermesine neden olmakta ve bu durum parasiklik östrus veya yalancı östrus olarak isimlendirilmektedir (13). Dominant follikül östrus semptomları oluşturacak düzeyde östradiol üretecek kadar büyüebilmesine rağmen luteal faz esnasındaki düşük LH salınım sıklığı nedeniyle ovule olamamakta ve atreziye olmaktadır. Dominant follikül baskın halde iken FSH salınımını sınırlamakta ve ikincil folliküllerin gelişimini ve yeni bir foliküler dalganın ortaya çıkışını önlemektedir (7, 14, 17, 18). Dominant follikülün FSH üzerindeki baskılayıcı etkisinin ortadan kalkmasının ardından FSH seviyesinde bir artış görülmekte, bu da yeni bir foliküler dalganın gelişimini başlatmaktadır. Bu nedenle CL'nin yaşam süresi, östrus siklusunun süresini ve bir sonraki ovulasyon zamanını belirlemede anahtar role sahiptir (17).

Eğer inekte gebelik şekillenmemişse, siklusun 16-18. günlerinde uterustan salınan $PGF_{2\alpha}$ etkisiyle CL regrese olur, P_4 düzeyi azalarak hipotalamus ve hipofiz üzerindeki negatif feedback etki ortadan kalkar ve siklus yeniden başlar (1).

Diöstrusun sonuna doğru, büyümekte olan follikülden salgılanan östradiol 17β endometrium hücrelerindeki kendine has reseptörlere bağlanarak oksitosin reseptörlerinin oluşumunu uyarır. Meydana gelen oksitosin $PGF_{2\alpha}$ salınımını stimüle eder (16, 19). Uterus endometriumundan pulsatil bir tarzda salgılanan $PGF_{2\alpha}$ 'nın en önemli görevi, CL'nin yaşam süresini kontrol ederek, dişi hayvanlardaki reproduktif siklus uzunluğunu düzenlemektir. Prostaglandin $F_{2\alpha}$, CL damarlarında kontraksiyon oluşturarak lutein hücrelerin kansız kalmasına ve dejenere olmalarına sebep olurken aynı zamanda luteotropik etkinin kesilmesini teşvik ederek regresyonu gerçekleştirmektedir (1, 13). Prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın ovulasyonda görev almasının yanı sıra uterus kontraksiyonlarını da stimüle ettiği bilinmektedir (13). Fertilizasyondan sonraki 11. günde embriyo, trophoblastin (tau interferon) salgılayarak varlığını anneye

bildirmekte, böylece uterusun $\text{PGF}_{2\alpha}$ salgılaması önlenerek siklik CL'nin fonksiyonunu sürdürmesi ve gebelik sona erene kadar aktif olacak olan gebelik CL'sine dönüşmesi sağlanmaktadır (1, 13).

2.4. FOLİKÜLER GELİŞİM

Östrus siklusu luteal ve foliküler olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. Siklusun bu iki fazı boyunca, gonadotropinler ovaryumdaki gametogenezis, follikülogenezis, ovulasyon, CL fonksiyonları ve steroidogenezisi etkiler. Gonadotropin salınımının regülasyonu, folliküllerin ve CL'nin gelişim ve regresyonu ile sonuçlanan hipotalamus, hipofiz ve gonadal eksenindeki kompleks hormonal etkileşimlerin arasındaki dengeyi gerektirir (20).

Endokrin ve neuroendokrin mekanizmalar adenohipofizden salınan gonadotropinlerin (FSH ve LH) sekresyonunu düzenler. Adenohipofizden LH'nın salınımı hipotalamustan sentezlenen GnRH'a cevap olarak meydana gelir. İnek ve koyunlarda LH dalgaları hipotalamus neuronlarındaki GnRH dalgaları ile senkronize şekilde gerçekleşir. Ovaryan steroidler tarafından gerçekleştirilen feedback mekanizmaları, östrus siklusu boyunca ovaryum fonksiyonlarını düzenleyen hipofizin endokrin ve hipotalamusun neuroendokrin fonksiyonu ile ilişkilidir (20).

2.4.1. Dolaşımdaki LH Konsantrasyonu ve LH Salınımının Düzenlenmesi

İneklerde östrus siklusu boyunca LH konsantrasyonundaki değişiklikler ortaya konulmuştur. Luteal fazın orta ve geç döneminde P_4 artışıyla birlikte LH dalgalarının frekansı azalmış ancak salınım konsantrasyonu yükselmiştir. Follikülden salgılanan 17β -östradiol konsantrasyonunun arttığı foliküler ve erken luteal fazda dalgaların frekansı artarken salınım konsantrasyonu düşük bulunmuştur (20).

Luteal fazın ortasında P_4 dalgaları LH dalgalarından daha sıktır. Bu faz boyunca, LH dalgaları FSH dalgalarının yardımıyla salınır. Ancak bazı bildirilerde ineklerde LH'nın pulsatil salınımı ve P_4 konsantrasyonu arasında görünür bir ilişki yoktur (21). Peters ve ark. (22), siklusun 2-12. günlerinde CL'den P_4 'ün üretimi için LH dalgalarının uyarımının gerektiğini, siklusun 12-17. günlerinde ise gerekli olmadığını bildirmektedirler. Bundan başka LH dalgaları, LH pikinden 48 saat öncesi ile siklusun 7. günü arasında P_4 üretimi ve CL gelişimi için gereklidir (20).

Siklusun luteal fazında LH dalgalarının frekansı, büyüklüğü ve ortalama konsantrasyonu değişir. Luteinleştirici hormonun ortalama konsantrasyonu ovulasyondan sonra luteal fazın ortasına kadar (0-10 gün) yeterli ve sabit düzeydedir. LH dalgalarının büyüklüğündeki artış siklusun 8-11. günlerinde incelenmiştir. Sonradan LH'nın dalga büyüklüğü ve ortalama konsantrasyonu siklusun 18-19. günlerinde luteolizise kadar değişir (23).

Siklusun foliküler fazında LH'nın konsantrasyonu dalga frekansındaki artışla birlikte doğrusal oranda artar. LH dalga frekansındaki artış foliküler maturasyonu uyarır, follikülden östradiol 17β salınımına neden olur. Östradiol 17β konsantrasyonu arttıkça LH dalgalarının büyüklüğü artar. İneklerde preovulatör LH dalgası östrusun başlangıcında veya hemen öncesinde 7-10 saat gibi bir sürede meydana gelir. Ovulasyon preovulatör LH dalgasının başlamasından 25-35 saat sonra meydana gelir. Gonadotropinlerin preovulatör dalgaları oositin ilk mayotik bölünmesinin tamamlanması, follikülün olgunlaşması ve bir sonraki ovulasyon için gereklidir (20).

İneklerde follikülden östradiol 17β salınması, LH dalgalarının frekansı ve dolaşımdaki P_4 konsantrasyonu arasında karışık bir ilişki vardır. Ovariyektomize ineklerde LH frekansında ve dolaşımdaki LH konsantrasyonunda bir artış görülür. Luteal fazın ortası ve sonunda CL'den salınan P_4 miktarı arttığında, erken luteal döneme göre LH dalgalarının sıklığı, östrus siklusunun diğer dönemlerine göre östradiol 17β konsantrasyonu da göreceli olarak düşer (23). Ovariyektomize ineklere P_4 uygulandığında LH salınımı baskılanır. Luteal fazda P_4 konsantrasyonundaki değişimler LH frekansında değişiklere neden olur. Progesteronun LH sekresyonu üzerindeki bu inhibitör etkisinin bir sonucu olarak luteal faz boyunca ovulatör follikülün olgunlaşmasının son aşaması baskılanır. Progesteronun yokluğunda östradiol 17β 'nın fizyolojik konsantrasyonun uygulanması LH konsantrasyonunu ve dalga büyüklüğünü artırır. Östradiol 17β 'nın yüksek dozda uygulanmasının bifazik etkisi vardır ve başlangıçta LH salınımını birkaç saat için inhibe eder. Progesteron ve östradiol 17β 'nın kombinasyonları LH salınımının inhibasyonunda bu iki hormonun tek başına uygulanmalarından daha etkilidir. Progesteron ve östradiol 17β ineklerde östrus siklusu boyunca LH salınımının düzenlenmesinde birlikte veya bağımsız olarak görev alırlar (20).

2.4.2. Dolaşımdaki FSH Konsantrasyonu ve FSH Salınımının Düzenlenmesi

Folikül stimüle edici hormonun dolaşımdaki konsantrasyonu ve ovaryumdaki foliküler gelişme ve büyüme arasında zamansal ilişki tam olarak anlaşılamamasına rağmen, FSH ineklerde foliküler büyüme ve gelişiminde önemli bir role sahiptir (20).

Luteolizisi takiben LH dalga frekansı ve konsantrasyonunun artması, azalan FSH konsantrasyonu tarafından dengelenir. Foliküler fazda dolaşımdaki FSH konsantrasyonu luteal faz ile FSH piki arasındaki dönemden daha azdır. Gonadotropinlerin piki öncesinde ve sırasında LH dalgaları daima FSH dalgaları beraberinde salınır. FSH'nin bazal konsantrasyonları ve dalga büyüklüklerinin preovulatör pikten 4-12 saat sonra artması ayrı ikinci bir FSH piki ile sonuçlanır. Halbuki LH dalgaları preovulatör pikten 4-12 saat sonra belirlenemez (20).

İneklerde FSH salınımının en güçlü inhibitörünün östradiol 17β olduğu düşünülmektedir. Ovariyektomize edilmiş düvelere fizyolojik konsantrasyondan fazla östradiol 17β uygulandığında FSH salınımı azalmıştır. Ovariyektomize düvelere P_4 ve östradiol 17β 'nin luteal faz konsantrasyonları kombine olarak uygulandığında FSH konsantrasyonları luteal faz ile benzer bulunmuştur. Östradiol ve FSH konsantrasyonları arasındaki negatif korelasyon foliküler fazda da incelenmiştir (24).

Ovariyektomize veya hiç çiftleşmemiş düvelerde foliküler sıvının uygulanması da FSH konsantrasyonunu baskılar. Bu etkiler muhtemelen adenohipofizden FSH salınım ve sentezini özellikle inhibe eden ve folikülün granuloza hücrelerinden salınan bir gonadal glikoprotein olan inhibin'e dayandırılabilir (25). Beard ve ark. (25), saf inhibin'in ovariyektomize düvelerde FSH salınımını baskılayabildiğini göstermiştir. Düvelerin, sığır α -inhibin'in sentetik peptidlerine ve koyun rekombinant α -inhibin'e karşı aktif immunizasyonun ovulasyonların sayısını arttırdığı bulunmuştur (26, 27). Bu çalışmalar inhibinin çiftleşmemiş düvelerde FSH salınımının düzenlenmesiyle ilgili olduğunu göstermiştir.

Inhibin ve östradiol 17β 'nin FSH salınımının kontrolüyle ilgili olduğu bilinmesine rağmen, FSH sekresyonu üzerinde inhibin'in kısa vadeli etkilerini değerlendirmek için inhibin'in pasif immunonötralizasyonu üzerine son yıllarda yapılan çalışmalara kadar bunun önemi çok açık değildi. İneklerde luteal fazın ortasında inhibin'in pasif immunonötralizasyonu FSH konsantrasyonunda belirgin bir artışa neden olur ki, bu da inhibin'in östradiol 17β sekresyonu düşük olduğunda FSH salınımının düzenlenmesinde

önemli bir role sahip olduğunu gösterir. Erken luteal fazda aynı prosedür FSH sekresyonunu artırır ve foliküler büyüme ve östradiol 17 β sekresyonunu uyarır. Folliküler fazda inhibin'in pasif immunonötralizasyonu FSH konsantrasyonunda şiddetli bir artış ile birlikte antral folliküllerin sayısında tutarlı bir artış ile sonuçlanır ki, bu da bu dönemde inhibin'in FSH salınımı için önemli bir regülatör olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar P₄ ve östradiol 17 β 'nin varlığında bile inhibin'in FSH sekresyonunda güçlü bir regülatör olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak inhibin siklusun her aşamasında FSH salınımının düzenlenmesinde fizyolojik bir öneme sahiptir (28, 29).

Son yıllarda, birkaç faktör de FSH sekresyonunda seçici regülatör olarak değerlendirilmektedir. Aktivin, inhibin'in tersi bir fonksiyona sahip olup, FSH sekresyonunu artırır. Follistatin, aktivin ve inhibin'i bağlayıcı bir protein olup, aktivin'i nötralize ederken inhibin'in aksiyonunu etkilemez. Çalışmalar, aktivin, inhibin ve follistatin'in sadece gonadlarda değil, hipofizden de üretildiğini göstermiştir. Evcil hayvanlarda FSH sekresyonunu düzenleyen negatif feedback mekanizmaları oldukça kompleks ve hassas mekanizmalardır ve tam olarak anlaşılamamıştır (30).

2.4.3. Dolaşımdaki Progesteron Konsantrasyonu

Dolaşımdaki P₄ konsantrasyonu ovulasyondan erken luteal faza kadar düşüktür (0-3. gün), bundan sonra CL'nin ağırlığı ile orantılı bir şekilde artmaya başlar. P₄'ün luteal konsantrasyonu siklusun 7-12. günleri arasında maksimum seviyededir ve luteal fazın geri kalanında luteolize kadar bu seviye korunur (östrüsten 2-3 gün öncesi). Luteolizis ile birlikte dolaşımdaki P₄ konsantrasyonu hızla düşer ve foliküler faz boyunca düşük kalır (20).

2.4.4. Dolaşımdaki Östradiol 17 β Konsantrasyonu

Ovaryumdaki östradiol 17 β dalgalarının frekansı ve büyüklüğünün artmasına bağlı olarak yükselen serum östradiol 17 β konsantrasyonu siklusun erken luteal döneminde incelenmiş ve aynı periyottaki LH dalgalarının frekansı ile uyumludur. Genel olarak, östradiol 17 β 'nin sekresyonu LH dalgalarının frekansı ile ilişkilidir (21, 31). Erken luteal fazda dolaşımdaki östradiol 17 β konsantrasyonunun artması ovaryumda aktif follikülün görünümüyle beraberdir.

Siklusun erken ve orta luteal fazı boyunca tüm LH ve FSH dalgaları, ayrı östradiol 17 β dalgalarını takiben oluşur. Ancak LH dalgalarından bağımsız FSH dalgaları östradiol 17 β sekresyonu ile ilgili değildir. Östradiol 17 β dalgalarının büyüklüğü luteal fazın ortasından sonra azalır. Rhodes ve ark. 1995 (21), her LH dalgasından sonra östradiol 17 β konsantrasyonunda belirgin bir artış olduğunu ve LH pikinden 15-30 dakika sonra maksimum seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir.

Luteal fazın ortasından itibaren östradiol 17 β konsantrasyonu düşük olsa da luteal faz boyunca dalgalanma gösterir. Östradiol 17 β konsantrasyonundaki bu dalgalanmaların ovaryumdaki foliküler büyümelerden kaynaklandığı bildirilmektedir (21, 32).

Östradiol 17 β 'nin maksimum konsantrasyonu luteolizisi takiben ve gonadotropinlerin preovulatör piki öncesi ve sırasında belirlenmiştir. Östradiol 17 β konsantrasyonunun ani düşüşü zigotun reproduktif kanalda taşınması açısından önemli olabilir. Ayrıca LH pikinden sonraki bu hızlı düşüş, uterus ve vaginadaki kan akımı ve termal değişiklikler gibi fizyolojik değişikliklerle ilgili olabilir. Tohumlama anında uterus ısısı ve fertilité arasında ilişki östrus günü endojen östradiol 17 β sekresyonundaki değişikliklerle bağlantılı olabilir (33).

2.4.5. İneklerde Foliküler Dinamikler

Normal ovaryum fonksiyonu her siklus boyunca ovule olacak follikülün varlığından emin olmak için folliküllerin sürekli büyüme ve gelişmesine dayanır. Yapılan ilk histolojik çalışmalarda, ineklerde her siklusta foliküler gelişmenin en az iki dalgadan oluştuğu bildirilmiştir. Bir follikül, östrusla birlikte büyümeye başlar ve ≥ 10 mm büyüklüğe ulaştığında, atreziye uğrar (siklusun 6-12. günü). İkinci foliküler dalga, siklusun 12-14. günlerinde başlar. Dominant follikül luteolizisi takiben foliküler faz boyunca ovulatör büyüklüğe ulaşır (18-0. gün) ve bir gün sonra ovule olur (20).

Real-time ultrasonografi, ovaryumlarda follikül gelişiminde veri toplamak ve farklı çalışma gruplarında çapı 2 mm'den büyük folliküllerin gelişimlerini incelemek amacıyla kullanılmıştır (34).

Preovulatör follikül gelişimi ile sonuçlanan antral folliküllerin devam eden gelişim ve regresyon işleyişi "foliküler dinamikler" olarak adlandırılır. Sığırlarda tek bir östrus siklusu süresince "dalga modeli" tarzında, iki veya üç adet foliküler büyüme ve gelişim

dalgası gözlenir ve preovulator follikül, en son follikül dalgasından meydana gelir (34, 35).

Bir follikül dalgası içerisinde follikül gelişimi açısından üç temel aşama bulunmaktadır:

1. Ön seçim aşaması: Follikül havuzundaki bir grup follikülün (cohort folliküller) hızla büyümeye başlayarak, yeterli hipofizer gonadotropik stimülasyon ortamında ovulasyona kadar devam eden bir olgunlaşma süreci başlangıcını ifade eder.
2. Seleksiyon: Sonuçta DF veya DF'leri oluşturacak şekilde gelişmeye devam eden folliküllerin, ön seçimi yapılmış folliküller arasından seçilme işlemidir. Seleksiyon, ovule olabilecek potansiyele sahip genellikle tek bir follikülün seçildiği ve bu follikülün atreziden korunduğu işlem olarak tanımlanır.
3. Dominant hale gelme: Seçilmiş bir follikülün yeni cohort folliküllerin ön seçiminin önlenmesi sırasında dominant hale geldiği bir süreçtir. Yani DF'ler kendilerinden daha küçük follikülleri (subordinate folliküller) bir mekanizma ile baskılayarak, kendileri büyümelerine devam ederler (36).

Sığırlarda östrus davranışlarının başlamasından 12-60 saat önce bovine foliküler sıvısı uygulandığında birinci foliküler dalganın ortaya çıkmasının gecikmesi ile sonuçlanan ikinci FSH dalgasının son bölümü iptal edilir. Buna dayanarak, Turzillo ve Fortune (37), ikinci FSH pikinin ineklerde foliküler gelişmenin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Adams ve ark (38), FSH dalgaları ile foliküler dalganın ortaya çıkması arasında zamansal bir ilişki olduğunu, yeni foliküler dalganın ortaya çıkışından 1-2 gün önce FSH piki belirlendiğini ve bunun foliküler gelişim için gerekli olabileceğini bildirmişlerdir. Sunderland ve ark. (24) ayrıca foliküler gelişmenin seleksiyon bölümünün birinci dalgada 1-3. günde, ikinci dalgada 10-12. günde olduğunu ve bunun FSH konsantrasyonundaki geçici bir artışla ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

Cupp ve ark. (23) siklusun luteal fazında FSH konsantrasyonunda dalgalanmanın az olduğunu belirlemişlerdir. FSH konsantrasyonu luteal fazda yeni bir foliküler dalganın ortaya çıkışı sırasında veya gelişen folliküllerin seçiminde değişmektedir (21, 24). Yapılan bu çalışmalar ineklerde foliküler gelişimin FSH konsantrasyonundaki artışla başladığını gösterse de foliküler dalganın ortaya çıkışı ve foliküler gelişim sırasında FSH sekresyonunun tam fonksiyonunu açıklamak için yeni çalışmalar gerekmektedir.

Dominant follikülün ovulasyonu, yeteri kadar endojen veya ekzojen LH konsantrasyonuna maruz kalmasına bağlıdır. Preovulatör LH pikinin yokluğu DF'nin atrezisi ve foliküler ön seçimin tekrar başlaması ile sonuçlanır. İneklerde foliküler dinamiğin görüntülenmesinde ultrasonografinin kullanılması üzerine yapılan çalışmalar her siklusta 2-4 foliküler dalganın meydana geldiğini, hayvanların çoğunun iki veya üç dalga gösterdiğini ortaya koymuştur. İneklerde iki dalgalı siklusta birinci dalga 3-4. gün, ikinci dalga 12-14. günde başlar. Üç dalgalı siklusta foliküler dalgalar yedi gün aralıklarla gözlenir (sırasıyla iki, dokuz ve 16. gün). Böyle sikluslarda follikül östrusa kadar en büyük boyuta ulaşamaz. Sütçü ve besi ineklerinde üç dalgalı sikluslar 20-23 gün, iki dalgaya sahip sikluslar 18-20 gün sürmektedir (34).

Üç dalgalı sikluslarda üçüncü dalgadaki foliküler gelişim oranı ile birinci dalgadaki follikül gelişim oranı arasında fark bildirilmemesine rağmen, ikinci dalgadaki gelişim oranının daha yavaş olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeninin luteal fazın ortasında yüksek P₄ konsantrasyonuna bağlı olarak dominant follikülün LH dalgasına cevabındaki değişiklik olabileceği bildirilmektedir (34).

2.5. ÖSTRUS SENKRONİZASYONU

Günümüzde östrus senkronizasyonu süt ineği endüstrisinde reproduktif yönetim aracı olarak gerekli hale gelmiştir. Yıllar geçtikçe modern işletme sayısı (100-5000 baş) hızlı bir şekilde artmıştır. Bu büyüklükteki işletmelerde östrusun belirlenmesi ve kontrolü ekonomik olarak uygun değildir. Östrus ve ovulasyon senkronizasyonu büyük sürülerin yönetiminde gerekli unsurlardan biri olmuştur (39).

Östrus senkronizasyonun avantajları (40);

1. Östrusları kısa bir süre içinde toplamak,
2. Tohumlama ve aşırımları planlanan zaman içinde yapmak,
3. Suni tohumlama ve embriyo nakli uygulamalarını kolaylaştırmak,
4. İlk tohumlamada gebe kalmayan hayvanların izleme sorununu gidermek,
5. Gebe hayvanlarda grup halinde yem değişiklikleri, aşılama ve antiparaziter ilaçlamaları kolaylaştırmak,
6. Doğumları belli bir zaman diliminde yaptırıp, denetleyebilmek ve yavru kayıplarını azaltmak,

7. Pazara bir örnek yavrular verebilmek,
8. Sürüde bir örnek gençleşmeyi sağlayabilmek,
9. Barınak, iş gücü ve malzemeleri daha verimli bir şekilde kullanmaktır.

Günümüzde bir çok östrus senkronizasyon protokolü geliştirilmiş ve halen kullanılmaktadır. Bu protokoller östrusun tespiti ve belirlenen östrusta tohumlamayı gerektirir. Hayvanlar kısa süre içinde östrusa gelirler (1-7 gün). Bu protokoller inek ve düvelerde iyi sonuçlar verir. Ancak hala östrus tespiti ve tohumlama için aşırı zaman ve iş gücü gerekmektedir (39).

Östrus senkronizasyonu metotlarında progesteron (günlük enjeksiyonu, oral ve intravaginal yolla, implant ve Syncro-mateB) ve prostaglandin (PG) preparatları kullanılır.

2.5.1. Progesteron Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyon Yöntemleri

Progesteron; follikül, CL ve plasentadan üretilen bir steroid hormondur. Bu hormon GnRH salınımını ve reproduktif davranışları inhibe eder ve gebeliğin korunmasına yardım eder. Progesteronun 12-14 gün boyunca günlük enjeksiyonları östrusun uyarılmasında kullanılsa da fertilité oranı düşüktür (41).

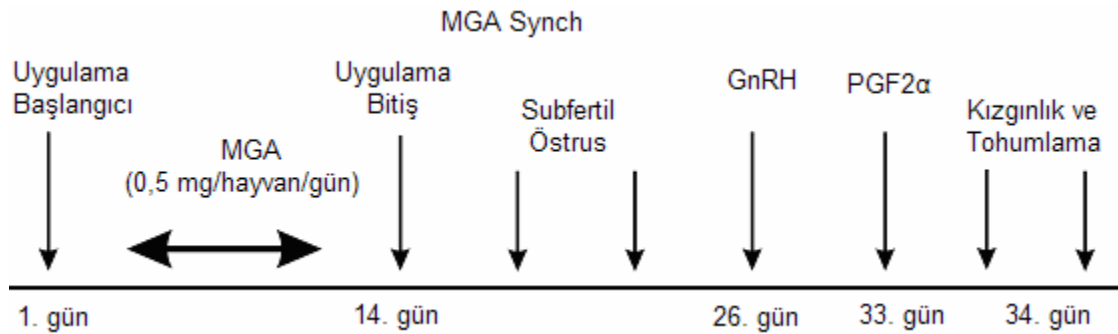
İntravaginal yolla PRID (progesterone releasing intravaginal device; 1.55 g progesteron ve 10 mg östradiol benzoat) ve CIDR (controlled internal drug release; 1.9 g progesteron) kullanılmaktadır.

Progesterone releasing intravaginal device uygulamalarında PRID'in çıkarılmasından 48 saat sonra GnRH ya da 24 saat sonra östradiol benzoat ve bunlara ek olarak PGF₂ α uygulanmaktadır. Ovulasyon senkronizasyonunun başarısı, uygulama sonunda CL'nin olmaması ve seçilmiş yeni dominant follikülün varlığına bağlanmaktadır. Progestagen tedavisinin süresi, yeni DF gelişimi için belirlenmiş zaman aralığına ve kullanılan hormona bağlıdır. Uygulamanın başlangıcı için seçilen hormon eğer GnRH ise PRID'in uygulama süresi 5-7 gün, ancak; seçilen hormon östradiol benzoat ise, PRID'in uygulama süresi 7-12 gün olarak belirlenmiştir (42).

Östrus senkronizasyonlarında CIDR kullanımının yanında senkronizasyon oranını artırmak için ek uygulamalar yapılmaktadır. Örnek olarak; yapılan bir çalışmada, 2,077 düve 4 gruba ayrılmış, 1. gruptaki düvelere (n=517) 7 gün boyunca CIDR uygulanmış

ve CIDR'ın çıkarıldığı gün 25 mg PGF₂ α enjekte edilmiştir. Bunu takiben düveler 84 saat boyunca kontrol altında östrus tespitleri yapıp tohumlanmışlardır. Seksendört saat boyunca östrus göstermeyen düvelere ise 100 μ g GnRH uygulaması yapılarak tohumlanmışlardır. İkinci gruptaki düvelere de (n=504), 1. gruptakilere uygulanan işlemler yapılmış fakat tek fark olarak CIDR uygulamasının başladığı gün 100 μ g GnRH uygulaması yapılmıştır. Üçüncü gruptaki düvelere (n=531) CIDR uygulandığı gün GnRH, çıkartıldığı gün ise PGF₂ α ve bunu takiben 60. saatte 2. GnRH uygulaması yapıp östrus belirtilerine bakmadan suni tohumlama yapılmıştır. Dördüncü gruptaki düvelere (n=525) ise CIDR'ın çıkarıldığı gün PGF₂ α ve bunu takiben 60. saatte GnRH uygulanıp östrus belirtilerine bakılmadan suni tohumlama yapılmıştır. Gebelik teşhisleri suni tohumlamadan 30-35 gün sonra transrektal olarak ultrasonografi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak; gebelik oranlarında östrus belirlenip tohumlanan birinci grup (%54.5) ve ikinci grup (%57.3) arasında fark bulunamamış ancak östrus belirlemesi yapılmadan tohumlananlara göre daha yüksek bir gebelik oranı elde edilmiştir (43).

Melengestrol asetat (MGA) östrusu baskılayan sentetik bir progesterondur. Melengestrol asetat oral yolla günlük 0,5 mg dozda genellikle yemle birlikte verilir. Melengestrol asetat 14 gün verildikten sonra hayvanlar östrus göstermeye başlar. Fakat bu östruslar subfertildir ve hayvanlar bu dönemde çiftleştirilmez. Melengestrol asetat kullanımı bittikten 12 gün sonra GnRH uygulaması yapılır ve bunu takiben 7 gün sonra PGF₂ α uygulanır (Şekil 2.1). Bunu takiben 24-72 saat içinde östruslar saptanıp tohumlamalar yapılır. Bu programa MGA synch adı verilir ve bu protokol daha çok düvelerde kullanılmaktadır (44).



Şekil 2.1. MGA synch programı

İçeriğinde 6 mg norgestomet içeren hidrofilik polimer kulak implantı, Wiltbank ve Gonzales-Padilla (45) tarafından geliştirilen progesteron ve östrojen kombinasyonudur. Bu protokolda norgestomet içeren implantlar kulak derisi altına 0. gün yerleştirilir ve eş zamanlı olarak norgestomet ve östrodiol valerate içeren çözelti intramusküler (im) olarak enjekte edilir. Dokuz gün sonra implant çıkartılıp sonraki 48-54. saatlerde östrus tespiti yapılarak ve sabit zamanlı olarak tohumlama yapılır. Bu protokol laktasyondaki sütçü inekler için onaylanmamıştır, sıklıkla düvelerde kullanılabilir. Bu metotta sığırlarda yüksek bir senkronizasyon oranı tespit edilmiştir (%77-100), ancak fertilité değişkendir ve ilk konsepsiyon oranı %33-68 arasındadır. Kulak implantında fertilité uygulandığı zamana bağlıdır. Östrus siklusunun erken döneminde (1-8 günler arasında) uygulandığında sonuç iyi değildir (41).

2.5.2. Prostaglandin Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyon Yöntemleri

Östrus senkronizasyonu PG'nin bir veya iki enjeksiyonu kullanılarak yapılabilir. Programa başlanırken hayvanların siklik durumları göz önünde bulundurulmaz. Tek enjeksiyon kullanılan protokollerde 1-5 gün içinde (1. gün enjeksiyonun yapıldığı gün) östrus tespit edilen hayvanların tohumlanması gerekir. 6. gün de östrus göstermeyen ineklere tekrar PG enjeksiyonu yapılır ve 6-11. gün arasında östrus gösterenler tohumlanır. Protokole alınan hayvanlar başlangıç gününden 27-33 gün sonra östrus takibine alınır ve östrus belirlenen inekler tohumlanır. İki PG enjeksiyonu yapılan protokollerde 1. gün ilk PG enjeksiyonu yapılır, 2-6. günler arasında östrus gösterenler tohumlanır. Tohumlanmayan hayvanlara 12. günde ikinci PG enjeksiyonu yapılarak 13-17. günler arasında östrus belirlenenler tohumlanır. Protokole alınan hayvanlar ilk PG enjeksiyonun gününden 32-38 gün sonra östrus takibine alınır ve östrus gösteren hayvanlar tohumlanır. Bu metot ineklerde başarılı sonuçlar vermiştir (41, 46).

Prostaglandin ile yapılan senkronizasyonlarda sabit zamanlı tohumlama kullanılabilir ancak, düvelerde konsepsiyon oranı düşme eğilimi göstermektedir. Sabit zamanlı tohumlama sınırlayıcı bir faktör gibi görünmektedir. Yapılan çalışmalarda düvelerde PG enjeksiyonlarından sonra östrusların belirlenme saatlerinin farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca PG'nin enjekte edildiği siklus döneminin önemli olduğu bildirilmiştir (39).

Prostaglandinler değişik protokollerde östrus siklusu kontrolü için kullanılmaktadır. Örneğin, postpartum (pp) dönemde aktif CL bulunan ineklerde kullanılmaktadır. Östrus 48-72 saat sonra görölmektedir. Bu uygulama ile open period adı verilen dönemin süresi azaltılmaktadır. Fakat bu sistem östrus senkronizasyonunun avantajlarını azaltmaktadır. Çünkü bu işlem için her hayvana rektal palpasyon yapmak gerekmektedir. Diğer bir yöntem de düvelerde 11-14 gün ara ile iki PGF₂ α enjeksiyonu yapmaktır. Postpartum 40-50. günlerde 7 gün ara ile uygulanan PGF₂ α ile tüm inekler östrus gösterir ve tohumlanabilirler. Bu sistem östrus belirleme oranını artırır ve gebe olmayan gün sayısını azaltmakla birlikte pahalı bir programdır (44).

Prostaglandin F₂ α kullanılacak düvelerin en azından yetişkin ağırlığının %60'ına ulaşması ve 15 aylık olması gerekmektedir. Jersey düveleri 225 kg ağırlığın üstüne çıkınca, Ayrshire ve Guernsey düveleri ise 300 kg üstüne çıktıklarında, Swiss ve Holstein düveleri ise 350 kg üstüne çıkınca programa katılmalıdır. Prostaglandin programları östrus saptanması gerektirir. Östrus belirlemesi rutin ve eksiksiz yapılmalıdır. Çoğu sürüde düşük gebe kalma oranının sebebi, östrusun kaçırılmasıdır. Östrusu saptamak için günde 3 kez ve 15-20 dakika süreyle hayvanlar gözlenmelidir. Güncel sütçü yetiştirme sistemlerinde haftalık veya 2 haftalık PGF₂ α programları ekonomik olarak kullanılmaktadır. En popüler program Pazartesi sabahı (Monday Morning) programıdır. Pazartesi sabahı sütçü üreticiler pp 50. günde veya daha ileri dönemdeki ineklere PGF₂ α enjeksiyonu yapmaktadır ve geriye kalan günlerde östrusu kontrol etmektedir. Hafta içinde östrus gösteren inekler tohumlanırlar. Östrus göstermeyenler ise izleyen pazartesi tekrar aynı prosedürden geçirilir. Üç hafta boyunca tohumlanamayan ineklere jinekolojik muayene önerilir. Bu programın faydası ineklerin östruslarının önceden tayin edilmesidir. Bu programların tamamında günlük olarak östrusların kontrol edilmesi gerekmektedir (44).

2.6. OVULASYON SENKRONİZASYONU

Ovaryum fonksiyon bozukluklarının tedavisinde kullanılan GnRH hormonu, son yıllarda ineklerde östrus ve ovulasyonun senkronizasyonu, özellikle de foliküler dalgaların kontrolü amacıyla yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Hatta, senkronizasyon çalışmalarının çoğu belirlenen zamanda tohumlamalar ile daha fazla gebelik oranı elde etme üzerine yoğunlaşmıştır. Böylece reproduktif fizyologlar tarafından uzun zamandır araştırılan, östrus gözlemeyi sınırlandıran ve bununla ilişkili

problemlere çözüm getiren bir yöntem keşfedilmiştir (47). Burada gözetilen amaç, ardışık hormon uygulamaları ile belirlenen zamanda fertil bir ovulasyonu sağlamak için gerekli olayları uygun şekilde kurgulayarak, ineklerde reproduktif siklusu maksimum düzeyde kontrol altına almaktır (47).

Gonadotropin releasing hormonunun yanı sıra, senkronizasyon amacıyla daha önceden kullanılan östrojen, progesteron hormonlarından ve $\text{PGF}_{2\alpha}$ analoglarından da yararlanılarak, her bir bileşiğin yalnız başına uygulamasında karşılaşılan komplikasyonlar ve elde edilen dölverimi düşüklüklerinin giderilmesi yönünde farklı kombinasyonlar oluşturularak değişik senkronizasyon programları uygulamaya konulmuştur (49).

Söz konusu gelişmeler sonucunda ineklerde östrus siklusunun kontrol altına alınması işlemleri, foliküler gelişimin senkronizasyonu (GnRH, Östradiol, P_4), CL'nin kontrolü/regresyonu ($\text{PGF}_{2\alpha}$) ve ovulasyonun uyarılması (GnRH, Östradiol, hCG ve LH) şeklinde özetlenebilir (49).

Protokollerin çoğunda östrusların gözlenmesine gerek duyulmamaktadır. Dolayısıyla iş gücü ve zaman kazancı sağlanmaktadır. Ayrıca östrus tespitindeki yanlışlıkların ve ovulasyon mekanizmasında oluşan bozuklukların (suböstrus, anöstrus, kistik ovaryum) önüne geçilmekte, infertiliteye neden olan repeat breeder ve metritis gibi problemler daha kolay çözülebilmektedir (50-52).

Gonadotropin releasing hormon, decapeptit yapıda olup ilk olarak tarafından 1971 yılında bulunmuştur (53, 54, 55). Gonadotropin releasing hormon aminoasitlerinin önemli fonksiyonlarında görev alanlar 1, 2, 3, 6 ve 10 pozisyonunda olanlardır. Pozisyon 6'daki aminoasitler enzimatik klivajda, pozisyon 2 ve 3'tekiler gonadotropin salınımında, pozisyon 1, 6 ve 10'da olanlar ise üç boyutlu yapının korunmasında görev alırlar. İki-dört dakika kadar kısa bir yarılanma ömrüne sahiptirler ve bu özellikleri 5-6, 6-7 ile 9-10 numaralı aminoasitler arasındaki bağların çabuk yıkılmasına bağlıdır (56). Altı numaralı glisin aminoasitin D-aminoasitle yer değiştirmesi veya karboksi terminaline glisin-amid yerleştirilmesi uzun yarılanma ömrüne sahip GnRH agonistlerinin üretilmesini sağlamaktadır (53, 54).

Veteriner hekimlikte en sık kullanılan GnRH agonistleri; gonadorelin, buserelin, deslorelin, fertirelin, goserelin, leuprolide, lesirelin, nafarelin ve triptorelindir (56, 57). Histrelin, en güçlü GnRH agonistidir. Ancak ticari preparatı bulunmamaktadır (58).

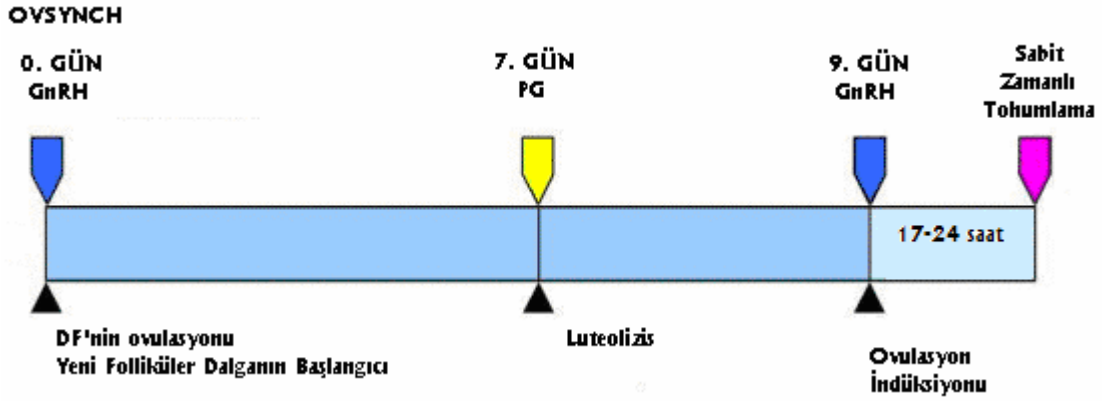
Sunulan çalışmada GnRH analogu olarak kullanılan buserelin asetat sentetik olup, lesirelin asetat ise doğal GnRH analoglarından farklı olarak, nanopeptid yapıda olup, altıncı halkada D-tert lösin, 10. halkada etilamid ile glisin bulunan bir GnRH'tır. Lesirelin asetat bu yapısal farklılıkları nedeniyle spesifik hipofiz reseptörlerine daha kolay ve güçlü bir şekilde bağlanarak daha uzun bir etki oluşturduğu bildirilmektedir (59).

Lesirelin yapı olarak deka peptit değil de nonapeptit olması ve yapısının 10. pozisyonunda glisin yerine etilamino grubunun yer alması sebebiyle hipofizeal reseptörlerinin seçiciliğini artırarak LH ve FSH seviyelerinin yükselmesini ve doğal hormon ile 90 dakika olan sürenin 240 dakikaya kadar uzamasını sağladığı ileri sürülmüştür (59).

2.6.1. Ovsynch

Ovsynch, GnRH ve PG kullanılarak ovulasyonun senkronizasyonu veya kontrol altına alınması demektir. Ovsynch uygulaması, östrusten ziyade ovulasyonu senkronize etmektedir. Östrus gözlenerek yapılan tohumlama ile benzer sonuçların alınabildiği ilk belirlenen zamanda tohumlama yapılabilen senkronizasyon protokolüdür (60). İlk kez Wisconsin Üniversitesinde geliştirilmiştir (61). Laktasyondaki süt inekleri için en popüler senkronizasyon protokolüdür. Diğer tüm senkronizasyon protokolleri, Ovsynch protokolünün varyasyonu denebilir (62, 63).

Ovsynch ile östrus gözlenmeden aşım ya da tohumlama zamanı belirlenir. Ovsynch protokolü, aşım veya tohumlama yapılmadan önce GnRH, PG ve GnRH'ın ardışık olarak uygulanmasıdır (Şekil 2.2). Gonadotropin releasing hormon hipofizden LH salınımına neden olur. GnRH enjeksiyonundan yedi saat sonra LH hormonu pik seviyeye ulaşır ve bir pikin süresi 100 dakika sürer (63). Gonadotropin releasing hormon, siklusun dönemine veya ovaryumlardaki foliküler gelişmenin evresine göre (foliküler dalgalar), genç folliküllerin gelişmesini hızlandırır, östrojenin dominant olduğu follikülerde ovulasyon oluşturur (antral folliküller) ve büyük veya yaşlı follikülleri luteinize eder. Kısaca folliküllerin gelişimini senkronize eder. Prostaglandin ise luteal regresyonu senkronize eder. Gonadotropin releasing hormon'un PG'den 6-7 gün önce uygulanması, PG ile senkronizasyona cevabı artırmaktadır.



Şekil 2.2. Ovsynch protokolü

İlk GnRH enjeksiyonu sonrası bir DF varsa ovulasyon şekillenir. Takiben yeni veya aksesör CL oluşur ve yeni bir foliküler dalga gelişmeye başlar. Yeni foliküler dalganın sırasıyla gelişen (aday), selektif ve DF evrelerine ulaşması için genelde bir hafta gerekir. Bu sebeple PG ejeksiyonu ilk GnRH uygulamasından yedi gün sonra yapılmaktadır. Prostaglandin orijinal CL'yi ve ilk GnRH enjeksiyonunu takiben oluşabilen aksesör CL'yi veya luteal yapıyı regrese eder. Progesteron seviyesi düşer. Dominant follikül olgunlaşmaya (maturasyon) devam eder. PG enjeksiyonundan iki gün sonra yapılan ikinci GnRH, LH pikini başlatır. Lüteinleştirici hormon, follikül ve ovumun olgunlaşmasına sebep olarak 24-32 saat sonra ovulasyonu gerçekleştirir (47, 60). Lüteinleştirici hormon piki oluşunca, östrojen sentezleyen foliküler hücreler P_4 sentezleyen hücrelere dönüşerek östrus belirtileri baskılanıp provoke ovulasyon şekillenir (65).

Ovsynch protokolünde östrusun oluşması, ovulasyonun senkronizasyonu, elde edilen gebelik oranı ve embriyonik kayıplar karşılaştırıldığında, uygulama başlangıcında siklusun döneminin çok önemli olduğunu ileri süren farklı görüşler oluşmuştur (60, 66). Siklusun 5-10. veya 5-14. günleri arasında uygulandığında fertilitenin arttığı ve gebelik oranının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (60). En iyi cevap 10 mm çapında dominant bir follikülün bulunduğu evrede alınmaktadır (67). Dolayısıyla siklusun 5-14. günleri arası herhangi bir gün uygulamaya başlanması halinde, DF yakalama şansı daha yüksek olmaktadır. Bu sebeple Ovsynch protokolü öncesinde hayvanlara 14 gün arayla iki kez PG uygulanması (Presynch), Ovsynch'in söz konusu günlerde başlatılmasını sağlamaktadır. Siklusun erken döneminde (1-4 gün) başlatıldığında, ikinci GnRH

enjeksiyonunda yaşı bir DF ile karşılaşılır. Bu follikül 5 gün ve daha fazla süre dominant kaldığından, ovulasyon şekillenmeyebilir veya şekillense de fertilitesi düşüktür. İleri döneminde (15. günden sonra) başlatıldığında ise PG enjeksiyonu esnasında hayvan muhtemelen östrus evresindedir, follikül çok küçüktür ve yeni CL gelişmez (68).

Ovsynch protokolünde ilk GnRH enjeksiyonunun siklusun herhangi bir gününde, rastgele yapılması halinde hayvanların ortalama % 65'inde ovulasyon şekillenir. Uygulama günü bu noktada da önem kazanmaktadır. Siklusun 1-4. günlerinde uygulamaya başlandığında, ilk GnRH enjeksiyonu sonrası ovulasyon oranı çok düşüktür (% 23). Ancak 5-10. günler arası uygulamada, hayvan iki veya üç adet foliküler dalgaya sahip olsa dahi, ovulasyon oluşma oranı çok yüksektir (% 90'dan fazla). Bu uygulama sonrası hayvanların % 100'ünde yeni bir foliküler dalga gelişir (47, 60).

İkinci GnRH uygulamasına oluşan cevabın ilkiyle ilişkisi bulunmamaktadır. Hatta ilk uygulama sonrası ovulasyonların düşük olması halinde, ikincisine cevap daha yüksek olmaktadır. İkinci GnRH uygulamasına cevabın oluşmaması, ya ilk uygulama sonrası gerçekleşen ovulasyonu takiben dominant follikülün hızla gelişerek ikinci GnRH uygulaması esnasında dominant özelliğini kaybetmesi yada CL'nin doğal regresyonu sonucu, ikinci GnRH enjeksiyonundan önce DF'den ovulasyon sebebiyledir (47, 60, 66).

İlk GnRH enjeksiyonu sonrasında PG uygulamasından hemen önce veya sonra hayvanlar östrus gösterebilir (% 8-16). Bu durumda daha sonraki uygulamalara geçilmeden ve maksimum gebelik oranı elde etmek için tohumlama yapılabilir (12, 69, 70).

Ovsynch protokolünde en güç evre ikinci GnRH enjeksiyonundan sonra tohumlamanın ne zaman yapılacağıdır. İster Ovsynch ister Cosynch protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonu ovulasyonu hızlandırarak östrüsün dış belirtilerinin oluşmasına fırsat vermemektedir. Ovulasyon ikinci GnRH enjeksiyonundan 24-32 saat sonra şekillenmektedir (60). Farklı saatlerde yapılan suni tohumlama uygulamalarından sonra elde edilen gebelik oranlarında da farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin ikinci GnRH enjeksiyonunu takiben 24. saatten sona yapılan tohumlamalarda gebelik oranı düşmektedir (62). Bu sebeple tohumlamaların ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası daha erken dönemde (en ideal 16. saat) yapılması başarıyı artırmaktadır. (51, 71). Modifiye

senkronizasyon programlarının uygulandığı bir çalışmada ise (72), ikinci PG enjeksiyonu sonrası 72. saatte GnRH+tohumlama yapılması ile daha yüksek oranda gebelik elde edildiği bildirilmektedir.

Ovsynch protokolü yoğun olarak laktasyondaki ineklerde denenmiş ve sonuç alınmış bir senkronizasyon yöntemidir. Özellikle yüksek süt verimine sahip ineklerde reproduktif performansı artırmakta ve ekonomik katkı sağlamaktadır (60). Düveler için yapılan benzer uygulamalar için aynı şeyleri söylemek mümkün değildir. Hatta bu yöntemin düvelerde uygulanmaması tavsiye edilmektedir (71). Düvelerdeki foliküler dalgaların çok farklılık arz etmesi, oluşan yanıtı da büyük oranda etkilemektedir. Örneğin, düveler ilk GnRH enjeksiyonuna daha az duyarlıdır ve premature östruslar oluşabilmektedir. Bu sebeple düvelerde daha çok P₄ destekli protokoller kullanılmaktadır. Aynı amaçla Ovsynch protokolü modifiye edilerek (PG 6. gün, ikinci GnRH 8. gün verilip sabit zamanlı tohumlama veya ilk GnRH ile birlikte P₄ desteği yapılması) sabit zamanlı tohumlamalarla da düvelerde tatmin edici gebelik oranlarına ulaşılabilmektedir (73-76).

Gonadotropin releasing hormon ile ovulasyonun senkronizasyonunu etkileyen faktörler, uygulamaya başlandığında östrus siklusunun dönemi, yaş (hayvanın inek veya düve olması), laktasyonun dönemi, sıcaklık stresi ve ovaryum fonksiyon bozukluklarıdır (anöstrus, kistik ovaryum dejenereasyonu). Siklusun dönemine ilişkin en iyi cevap 10 mm çapında dominant bir follikülün bulunduğu evrede alınır (67). Laktasyonun dönemi de etkilidir. En erken pp 70-75. günde başlanılmalıdır. Erken uygulama, pp anöstrusta oluşacak cevabı ve gebelik oranını düşürür. Kondisyon skorunun da kötü olması (2.5 ve aşağı) başarıyı düşürür (77). Sıcaklık stresi ise preovulatör folliküllerden östrojen salınımını azaltır ve östrus belirtileri daha hafif oluşur. Bu yüzden Ovsynch protokolünde belirlenen zamanda tohumlama tavsiye edilir. Ovsynch protokolü, rutin uygulamalarla östrus tespiti yapılamayan sürüler ve birden fazla PG uygulaması yapılan ve östrus göstermeyen inekler için yararlı olabilmektedir. Hormon uygulamalarının akşam sağımından önce (saat 16-18) yapılması, belirlenen zamanda tohumlamanın iş başı saatine (sabah 08.00-10.00) rastlatılması sebebiyle kolaylık sağlar.

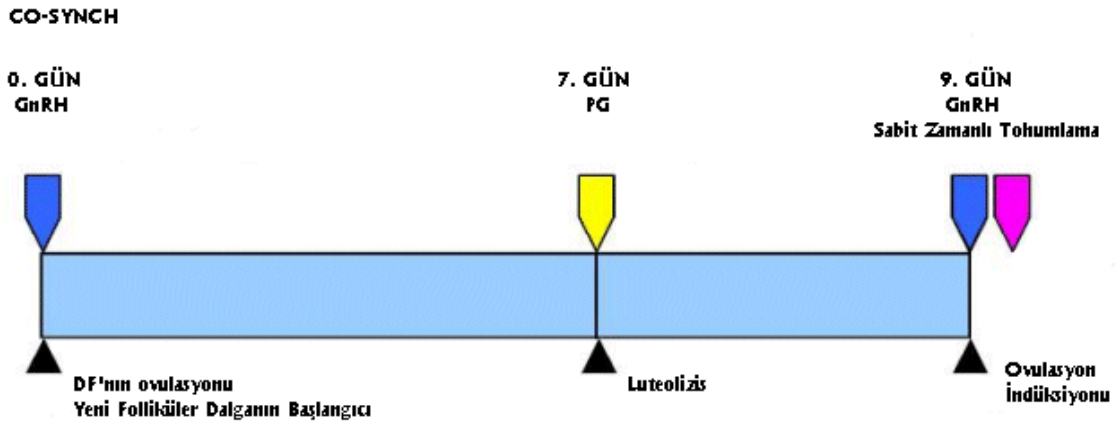
Ovsynch protokolü uygulandıktan sonra hayvan gebe kalmamış ise, 21 gün sonra östrus gösterir. Bu dönemde hayvanın dikkatli gözlenmesi ile östrus tespit edilebilir. Eğer hayvan gebe kalmadığı halde östrus göstermiyor ve bu durum ultrasonografik muayene ile belirlenmiş ise, 35. gün PG enjeksiyonu yapılabilir. Bunu takiben 2-5 gün içerisinde

oluşacak östrusta hayvan tohumlanır. Böylece sonraki östrus oluşma süreci kısaltılır veya re-senkronizasyon yöntemlerinden biri uygulanabilir (78).

Ovsynch protokolünde kullanılan GnRH'nin dozu 100 µg, PG'in ise luteolitik dozu yeterlidir. Ancak GnRH Ovsynch, Cosynch ve Selectsynch protokollerinde yarı dozda (50 µg) kullanılarak da aynı sonuçlar alınabilmektedir (78-80). Buna karşılık post partum 75. günden önce yapılan uygulamalarda ilk GnRH dozunu 200 µg çıkararak gebelik oranını artırdığını savunan araştırmacılar da vardır.

2.6.2. Cosynch

Ovsynch protokolünün benzeri veya özel bir şeklidir. Besi hayvanları üzerinde çalışan araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir. Cosynch protokolünde sadece Ovsynch protokolündeki ikinci GnRH uygulaması aşım veya tohumlama ile birlikte yapılmaktadır. İlk GnRH uygulamasından yedi gün sonra PG enjeksiyonu yapıp, bundan iki gün sonra GnRH ile birlikte tohumlama yapılır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Cosynch protokolü

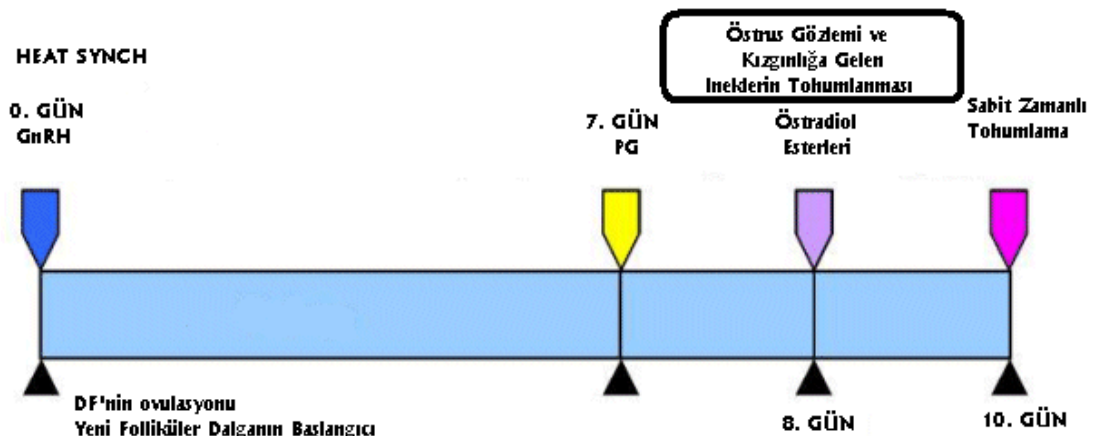
Ovsynch protokolünde olduğu gibi östrus gözlemeyi gerektirmeyen bir programdır. Ancak Ovsynch ile karşılaştırıldığında inekler için daha az zaman ve iş gücü gerektirmesi avantaj olarak nitelenebilir. Ziyaret sayısı ile birlikte çalışma etkinlikleri de 1/3 oranında azalır. Çünkü Cosynch protokolünde tohumlamalar ikinci GnRH enjeksiyonu ile birlikte yapılmaktadır. Ama Cosynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranları, Ovsynch protokolünde 12-18 saat sonra yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları kadar olamayabilir (47).

Cosynch ile Presynch programının birlikte kullanılması ile daha iyi gebelik oranı elde edilebilir. Ancak yöntem maliyet artışıyla birlikte daha fazla enjeksiyon gerektirmektedir (47).

2.6.3. Heatsynch

Östrojen eskiden beri ovulasyonu sağlamaya yardımcı olmak amacıyla fizyolojik ve patolojik olgularda kullanılmıştır. Östrojenin başlıca etkisi östrusun belirtilerini daha çarpıcı olarak oluşturmak ve hipotalamus'tan pik seviyeye ulaşacak dalgalar şeklinde GnRH salınımını sağlamaktır (81, 82).

Heatsynch, Ovsynch protokolünün benzeridir. Farklılıklar, ikinci GnRH yerine estradiol cypionate (ECP) enjeksiyonu yapılması ve tohumlamaların hem östrus gözlenerek hem de sabit zamanlı gerçekleştirilebilmesidir (Şekil 2.4). Ayrıca östrojenin ucuz olması sebebiyle Heatsynch'in maliyeti daha düşüktür. Heatsynch'de ikinci GnRH yerine, PG enjeksiyonundan bir gün sonra bir mg ECP uygulanır. Tohumlamalar ise östrus gözlenerek veya PG enjeksiyonundan sonraki 72. saatte veya ECP enjeksiyonundan sonraki 48. saatte sabit zamanlı olarak da yapılabilir. Östrojenin etkisi ile, östrus belirtilerinin daha çarpıcı oluşmasının yanı sıra, tedavinin sonunda GnRH'ın pulsatil salınımıyla senkronize foliküler dalgaların oluşmasına neden olarak, sağlıklı, östrojen-aktif bir DF'nin bulunmasını sağlamasıdır. Heatsynch östrus tespitini %100'e ulaştırmayı amaçlayan bir yöntemdir (81, 82).



Şekil 2.4. Heatsynch protokolü

Heatsynch, Ovsynch/Presynch protokolünün alternatifi olarak sunulmaktadır. Çünkü ECP'nin, PG'den sonra uygulanan ikinci GnRH'dan daha iyi kızgınlık belirtileri oluşturduğu ileri sürülmektedir (49).

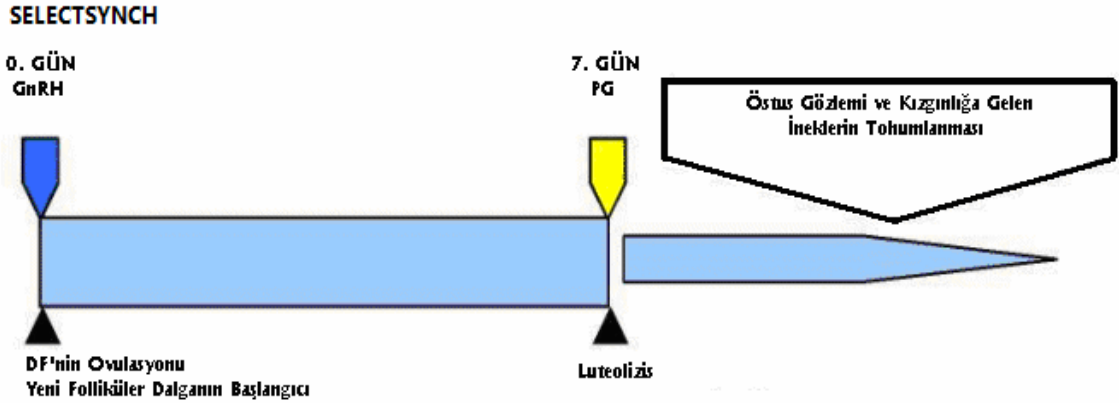
Ovsynch ve Heatsynch arasındaki diğer önemli farklılıklar; Ovsynch'de ikinci GnRH uygulaması sonrası çok kısa sürede (bir saat veya sonrası) LH piki oluşmakta, bunu takiben hızla ovulasyon şekillenmekte ve hatta östrus belirtilerinin oluşmasına fırsat dahi kalmamaktadır. Heatsynch'de, östrojen uygulaması sonrası LH piki 41. saate kadar uzamakta ve östrus belirtileri çok çarpıcı olarak oluşmaktadır (83). Östruslar ECP uygulamasından 29.0 ± 1.8 saatten sonra başlamakta, ovulasyonların % 75'i ise 48-72. saatler arasında (ortalama 55.0 ± 2.7 saat) şekillenmektedir. Bu sebeple, ECP enjeksiyonundan sonraki 48. saatte hayvanların tohumlanmış olması tavsiye edilmektedir (82). Heatsynch protokolünde östrusu tespit etmek daha kolaydır. Belirlenen zamanda tohumlama yapılırken dahi östrusa ilişkin değişimler (uterus tonusu gibi) kolaylıkla izlenebilir (60).

Ovsynch ve Presynch protokolleri, kistik ovaryumlu ineklerde daha etkili olmasına karşılık, Heatsynch normal siklus gösteren ineklerde daha iyi sonuç vermektedir (83). Anovulator hayvanlarda, siklusu Presynch-Ovsynch kombinasyonu kadar uyaramamaktadır (60) Heatsynch protokolü, ahır ve gezinti alanları, zemini uygun olmayan işletmelerde uygulanmamalıdır. Yoğun östrus davranışları sonucu bazı kazalar oluşabilir (65).

2.6.4. Selectsynch

Modifiye Ovsynch yöntemidir. Selectsynch senkronizasyon protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonu yapılmamakta, östrus tespiti ve tohumlama birleştirilerek, yalnızca östrus gösteren inekler tohumlanmaktadır. Bu bakımdan ovulasyondan ziyade bir östrus senkronizasyon protokolüdür. İkinci enjeksiyon için ilaç maliyetini ortadan kaldırmakta, ancak östrusların gözlenmesi için zaman harcamayı gerektirmektedir (70).

Protokole GnRH enjeksiyonu ile başlanır. Yedi gün sonra PG enjeksiyonu yapılır. Östruslar ilk GnRH enjeksiyonundan sonraki 6. günde gözlenmeye başlanarak 12. güne kadar sürdürülür. Tohumlamalar östrus gözlenerek gerçekleştirilir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Selectsynch protokolü

Siklik ineklerin büyük bir bölümü PG enjeksiyonundan 36-71 saat sonra östrus gösterir (85). Nonsiklik ineklerde östrus daha erken oluşabilir. Bu yüzden östrus tespit gözlemlerine PG enjeksiyonundan bir gün önce başlanılmaktadır. Eğer östruslar PG enjeksiyonundan önce oluşursa, hayvan 12 saat sonra tohumlanır ve PG enjeksiyonu yapılmaz (51).

Basit ve kısa süre içerisinde östrus oluşumuna sebep olan bir yöntemdir. Nonsiklik ineklerde Selectsynch ve Cosynch protokolü ile aynı oranda (% 50) gebelik elde edilirken, siklik ineklerde Selectsynch protokolü ile daha yüksek oranda (% 70) gebelik elde edilmiştir (51). Selectsynch protokolüne başlamadan yedi gün önce ilave GnRH verilip protokolün sürdürülmesi anöstrustaki ineklerde siklusu uyarabildiği gibi, siklik ve nonsiklik hayvanlarda foliküler gelişimi daha iyi senkronize etmektedir (51).

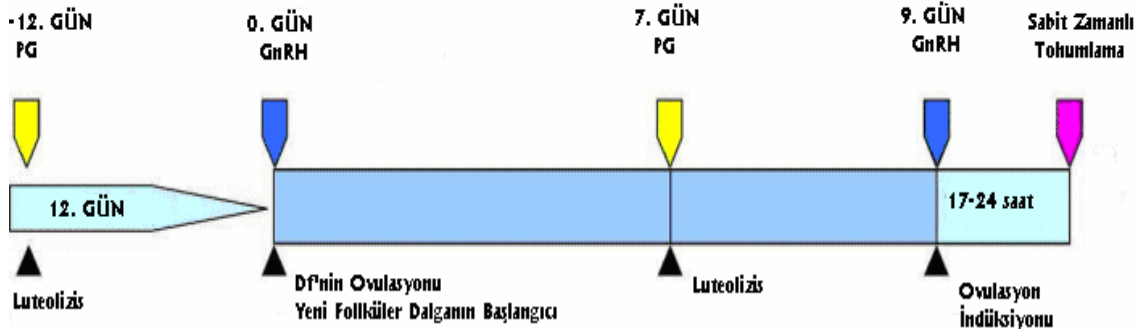
Modifiye Selectsynch Protokolü; nonsiklik ineklerde gebelik oranını artırmak için, Selectsynch protokolündeki uygulamalara progestin ilave edilerek yapılan yöntem, Stevenson (86) tarafından geliştirmiştir. Gonadotropin releasing hormon ile birlikte aynı gün P₄ uygulaması başlatılır. Yedi gün sonra P₄ uygulamasına son verilip aynı anda PG enjekte edilir. Östrus gözlenerek tohumlama yapılır. Progesteron, nonsiklik ineklerde ovaryum üzerine sıçrama diyebileceğimiz ilave uyarımlar başlatmaktadır. Erken östrus oluşumunu engellemektedir ve PG uygulaması sonrası 36-48 saat sonra östrus aktivitelerinin yoğunlaşmasına sebep olmaktadır (51).

2.6.5. Presynch

Presynch, gerçek anlamda ovulasyon senkronizasyon yöntemlerinin (Ovsynch, Cosynch, Heatsynch) uygulanmasına başlamadan önce hayvanların siklusun uygun döneminde, daha doğru bir ifadeyle foliküler gelişimin uygun döneminde bulunmasını sağlayan protokoldür. Çünkü sözü edilen programlar, DF'nin bulunduğu siklusun 5-9. günleri arasında başlatıldığında, gebe kalma oranlarında artışlar sağlanabilmektedir (36, 73, 87).

Presynch, bu yöntemler uygulanmaya başlamadan önce 14 gün arayla iki kez PG uygulamasıdır (Şekil 2.6). Ancak orijinal Presynch protokolünde, senkronizasyon ikinci PG uygulamasından 12 gün sonra başlatılmaktadır. Oysa 14 gün sonra başlatılması halinde ilk dört enjeksiyon haftanın aynı gününe isabet edeceğinden, programlama daha kolay olmakta ve orijinal presynch uygulaması ile aynı döl verimi sonuçları alınabilmektedir (47, 60).

PRESYNCH



Şekil 2.6. Presynch protokolü

Presynch protokolünde iki kez PG uygulamanın uterus ortamını ve uterus savunma sistemini olumlu etkilediği gözlenmiştir (47). Presynchin bir diğer gerekçesi de hayvanların gönüllü bekleme süresinin sonunda, mümkün olan en kısa sürede tohumlanmasını sağlamaktır. Çünkü çoğu sağlıklı inekte pp 30. günden evvel östrus başlar ve gönüllü bekleme süresinin sonunda en azından iki kez östrus göstermiş olur. Bu sebeple genelde pp 28 ± 3 günde protokol uygulanmaya başlanır. Hayvan ilk PG enjeksiyonuna cevap verirse ki arzu edilen budur, 14 gün sonra yapılan ikinci PG enjeksiyonu esnasında luteal evrededir ve buna da cevap verecektir. Şayet ilkinde cevap vermez ise 14 günlük süre içinde luteal evreye girecek ve ikincisine kesin cevap

verecektir. İkinci PG enjeksiyonundan 14 gün sonra başlanacak orijinal protokol esnasında hayvan siklusun beş-14 günleri arasında bulanacaktır. Örneğin ikinci PG enjeksiyonundan iki-beş gün sonra östrus oluşursa (ortalama üç gün), iki-üç gün de proöstrus, östrus ve ovulasyon için eklendiğinde $14-5=9$. güne tekabül eder. Presynch, siklik ineklerde Ovsynch ve Heatsynch uygulamasında gebelik oranını artıran etkili bir yöntemdir. İlk PG uygulanması esnasında, özellikle pp dönemde, hayvanın siklik olması gebelik oranını artırmaktadır. Presynch iyi bir resenkronizasyon yöntemi değildir ve bu amaçla kullanılmamalıdır (60).

2.6.5.1. Ovsynch Protokolü ile Uygulanması (Presynch-Ovsynch Kombinasyonu)

Ovsynch programına ilave PG uygulamasıyla gerçekleştirilen modifiye Ovsynch protokolü olarak tanımlanabilir. Ovsynch programının aynısı uygulanmadan önce, yani Ovsynch protokolündeki ilk GnRH enjeksiyonundan 14 ve 28 gün önce iki kez PG uygulaması yapıp Ovsynch programı ile tamamlanır. Özetle, iki kez PG ve Ovsynch programının kombinasyonudur. Ovsynch protokolünün östrus siklusunun beş-14. gününde başlatılması halinde dölverimi artmaktadır. Bu da ancak presynch protokolü uygulanarak gerçekleştirilebilir (80).

Yapılan bir araştırmada (88), presynch protokolünde, ikinci GnRH enjeksiyonu ve tohumlamaların PG enjeksiyonundan 72 saat sonra birlikte yapılması ile daha iyi gebelik oranı elde edildiği bildirilmektedir

Postpartum dönemde uygulanan ve sabit zamanlı tohumlama yapılan hayvanlarda, ilk tohumlamada gebelik oranı, Ovsynch protokolüne nazaran daha yüksektir (60). Bu sebeple, genellikle pp dönemde başvuru bir yöntemdir. Hatta erken pp dönemde uygulanmaya başlanması uterus enfeksiyonu bulunan hayvanlarda önemli yararlar sağlamaktadır. Uygulama başlangıcında hayvanların siklik olmaları gebelik oranını artırmaktadır. Anovulatör hayvanlarda % 75'e varan oranda siklusu uyarmaktadır (70).

2.6.5.2. Cosynch Protokolü ile Uygulanması (Presynch-Cosynch Kombinasyonu)

Presynch'in diğer protokollerle birlikte uygulanması, Ovsynch protokolünde olduğu gibi asıl protokole başlamadan evvel 14 gün arayla iki kez PG uygulaması ve 28. günde asıl protokolün başlatılması şeklindedir. Cosynch ile kombinasyon sonrası gebelik oranında düşüşler elde edildiği bildirilmiştir (89).

2.6.6. Hedef Çiftleştirme Protokolü (Targeted Breeding)

Pharmacia Animal Health tarafından geliştirilen ve senkronize östruslarda kızgınlık tespitini kolaylaştıran, agresif ve aktif bir protokoldür. Östrus tespiti gerektiren bir yöntemdir. Daha önce bilinen klasik PG ile senkronizasyon protokolündeki gibi birbiri ardı sıra iki kez PG enjeksiyonu şeklinde tanımlanabilir. Ancak hedef çiftleştirme protokolünde PG uygulama aralığı 14 gündür. Böylece ikinci PG uygulamasında foliküler gelişim dalgası ve CL daha uygun dönemde yakalanarak maksimum cevap alınması amaçlanmaktadır. Düveler için uygun bir protokoldür (46).

Protokol, PG enjeksiyonu ile başlatılır. 14 gün sonra ikinci PG enjeksiyonu yapılır. Hayvanlar östrus gözlenerek tohumlanır. Östruslar genelde PG enjeksiyonundan sonraki 2-5 gün içerisinde oluşur (en fazla 6. gün). Östrus göstermeyenlere 14 gün sonra üçüncü enjeksiyon yapılır. Östrus tespitinde hedef, enjeksiyon yapılan ineklerin en az % 70' ini kapsamalıdır. Protokol, hayvanların gönüllü bekleme süresinin sonunda tohumlanabilmesini sağlayacak şekilde pp 30-40. günler arası başlatılmalıdır. Daha doğrusu gönüllü bekleme süresinin bitiminden 14 gün önce ilk enjeksiyon yapılırsa, süre bitiminden hemen sonra ilk tohumlama gerçekleştirilebilir. Bu sebeple ilk enjeksiyon sonrası tohumlama yapılmaz. Üçüncü enjeksiyon sonrası östrus gözlemeden 80. saatte (72-96 saatler arası) tohumlama yapılabilir (69).

2.6.6.1. Modifiye Hedef Çiftleştirme Protokolü (Modify Targeted Breeding)

Modifiye hedef çiftleştirme protokolü, Pharmacia Animal Health tarafından geliştirilen ve östrus tespiti ve belirlenen zamanda tohumlamanın kullanıldığı hibrit protokoldür (45). Gonadotropin releasing hormon kullanılması sebebiyle, hedef çiftleştirme protokolünün verimliliğini artıran bir protokoldür. Ovsynch protokolünün aksine ovulasyonların yanı sıra östrusları da senkronize edebilen bir yöntemdir. Bu sebeple tohumlamalar için östrusları gözlemeyi gerektirmesinin yanı sıra, östrus belirtileri göstermeyenlerin de belirlenen zamanda tohumlanabilmesine imkan veren bir protokoldür (70). Belirgin dönemlerde östrusu gözlenemeyen veya tespit edilemeyen inekler için yarar sağlar. Gönüllü bekleme dönemini takiben ilk siklusta hayvanların % 100'ünde östrus oluşumuna imkan verebilir (46).

Modifiye hedef çiftleştirme protokolünde, önce PG enjeksiyonu yapılır. On dört gün sonra GnRH verilir. Yedi gün sonra tekrar PG enjeksiyonu yapılır. Hayvanlar östrus gözlenerek tohumlanır. İlk PG enjeksiyonu esnasında hayvan luteal evrede ise östrus

gösterecektir. Bu dönemde hayvan tohumlanmaz. Ancak bu östrusun fertiliteye olumlu etkisi vardır. Ondört gün sonra uygulanan GnRH, DF varsa ovulasyonu şekillendirir. Yeni bir CL oluşumu veya aksesör CL oluşumuyla sonuçlanarak yeni bir foliküler dalga gelişmesini başlatır. Yeni dalgada aday, selektif ve DF evrelerine geçiş için genelde yedi gün gereklidir. Bu dönemde (GnRH'dan yedi gün sonra) uygulanan ikinci PG orijinal CL'yi ve aksesör CL'yi regrese eder ve DF'den kısa süre içerisinde ovulasyonun şekillenmesine sebep olur. İkinci PG enjeksiyonundan sonra östruslar iki veya üç gün içerisinde oluşur (genelde 24-36 saatlerde başlar). Dominant follikülde yüksek miktarda östrojen bulunur ve östrus belirtileri de çok bariz olarak oluşur. Şayet östrus belirtileri tespit edilemez ise inekler ikinci PG enjeksiyonundan sonraki 72-80. saatler arasında tohumlanabilir. Bu uygulama ile hayvan gebe kalmamış ise 21 gün sonra östrus gösterecektir ve bu östrusta hayvan tekrar tohumlanabilir. Gebelik muayenesinde boş olduğu tespit edilen ineklere uygun zamanda GnRH yapılarak tekrar modifiye hedef çiftleştirme protokolüne dahil edilip yedi gün sonra ikinci PG enjeksiyonu yapılarak zamandan kazanç sağlanabilir (71).

2.6.7. Progesteron Kullanılan Ovulasyon Senkronizasyon Programları

Progesteron içeren protokoller veya CIDR birçok farklı şekilde uygulanmaktadır. Örneğin fast-back breeding (hızlı geri dönüş) protokolünde yalnız başına kullanıldığı gibi, PG ile birlikte, Ovsynch ve Cosynch protokolü içerisinde, embriyo transferi çalışmalarında alıcıların hazırlanmasında, anöstrusta, kistik ovaryumların tedavisinde de kullanılabilir (90).

Controlled Internal Drug Release ile hedef çiftleştirme ve modifiye hedef çiftleştirme protokolleri ile ovulasyon ve toplam gebelik oranında iyileştirme sağlanabilmektedir.

Ayrıca P₄ ve östrojen uygulamaları ile Ovsynch protokolünün kombine edilmesiyle östrusun oluşmasını güçlendirmekte, dış (davranışsal) belirtilerini artırmakta ve östrus tespitini kolaylaştırmaktadır. Bu yöntem en sık pp anöstrus gösteren ineklerde uygulanır. Anöstruslu hayvanlarda P₄, hipotalamus-hipofiz bağdaşımını sağlar, östrojen ise DF'nin olgunlaşması ve ovulasyonun şekillenmesi için gonadotropinlerin salınımını uyarır (90).

2.6.8. Resenkronizasyon

Yukarıda uygulanan senkronizasyon protokolleri sonrasında gebe kalmayan hayvanlarda uygun gebelik oranına ulaşmak için, hayvanların mümkün olan en kısa sürede tekrar östrus göstermeleri sağlanarak yeniden tohumlanabilmeleri için tekrar senkronizasyon programına başvurulabilmektedir (70).

Bu yöntemler, Fast back breeding (74, 91-93), Ovsynch ile resenkronizasyon (71), Ovsynch-Heatsynch ile resenkronizasyon (Jumpstart Resynch) (94, 95). PG ile resenkronizasyon veya hızlı resenkronizasyon (Rapid Resynch/RR)'den oluşmaktadır (71).

2.7. ANTİOKSİDANLARIN ÜREMEDEKİ ROLÜ

Vitaminler, insan ve hayvanlarda fizyolojik fonksiyonların işleyişini sağlamak için yeterli düzeyde alınmaları gereken besin maddeleridir. Çoğu organizmada sentezlenemeyen özellikle yağda eriyen vitaminler (A, D, E, K), dışarıdan besinlerle alınması zorunlu olan biyokatalizör maddelerdir (96).

Vitamin ve mineraller reproduktif fonksiyonları etkiler. A vitamini eksikliğinin inekler de reproduktif aktiviteyi etkilediği uzun süreden beri bilinmektedir. Son yıllarda, reproduktif etkinlikte A vitamininin ön maddesi olan β -karoten'in rol oynadığı ortaya konulmuştur. E vitamini ve selenyum içeren diyetlerle besleme retensio sekundarum insidensini azaltabilir, ancak bu besinler reproduktif fonksiyonları farklı yollarla etkileyebilirler (96).

Genel kanı olarak, tüm vitaminler ve zorunlu mineraller metabolizmadaki hücresel rollerinden dolayı reproduktif dokular ve reproduksiyon için gerekli olup, spesifik rollere sahiptirler. Reproduktif doku ve hücre tiplerinde bu besinlerin gereksinimleri veya rolleri, gebelik ve siklus boyunca dokuların fizyolojik durumuna göre değişir. Ancak modern çiftliklerde optimal reproduksiyon için siklus boyunca gerekli spesifik vitamin ve mineral gereksinimleri tam olarak tanımlanamamıştır (96).

2.7.1. β -Karoten

Karotenoitler, karotin ya da bunların okside olmuş derivasyonu olup, ksantofiller tarafından oluşturulur. Karotenoitlerin orjinleri bitkisel olmakla birlikte, bazı mikroorganizmalar tarafından da üretilirler. Hayvanlar karotenoitleri besinlerle alarak A vitaminine dönüştürürler. Karotenoitler, sarıdan kırmızıya kadar değişen renklerdeki

bitkisel ve hayvansal kaynaklarda, yaygın olarak bulunur. Kurutulmuş yemler β -karoten içermez. En önemlileri α , β , γ ve δ karotenoitlerdir. Karbon iskeletleri sekiz izopren molekülünün simetrik olarak dizilmesiyle oluşmuştur ve çok sayıda konjuge çift bağ içerir. Uzun karbon iskeletinden dolayı yağlarda çözünürler. Karotenoitlerden özellikle (β -karoten, memeli hayvanlar için provitamin A'yı oluşturur. Doğada mevcut olan 600'den fazla karotenoidin % 10'dan daha azı provitamin A aktivitesine sahiptir. β -karoten biyolojik olarak en aktif provitamin A'dır (96).

2.7.1.1. β -Karoten'in Emilimi, Taşınması ve Atılımı

Memelilerin çoğu karotenoitleri A vitamini olarak değerlendirir. Karotenoitlerin ince bağırsakta A vitaminine dönüşebilme yeteneği, hayvan türü ve alınan provitamin çeşidine göre farklılıklar gösterir. Birçok hayvan türü karotenoitler bakımından zengin yemlerle beslenmelerine rağmen vücut yağları renksizdir. Bu türler arasında koyun, keçi, domuz, bufalo, köpek, kedi, rat, kobay ve tavşan bulunur. Besinlerinde fazla miktarda karotenoit bulunduğunda kan plazması ve vücut yağları sarı renkli olan türler arasında ise insan, at, sığır ve sazan gibi canlılar yer alır. Bununla birlikte, sığırlarda karotenin emilimi ırklar arasında büyük farklılıklar gösterir (97).

Jersey ve Guernsey ırkları besinlerdeki karotenin tamamını geri emdiklerinden vücut yağları ve sütleri oldukça sarı renkliken, Holştayn sığırlar ise sadece ihtiyaçları için gereksinim duyulan miktarda karoteni geri emdiklerinden vücut yağları ve sütleri beyazdır (97). Diğer taraftan provitamin A aktivitesine sahip hidrokarbon-karotenoitler civcivlerin bağırsağında A vitaminine dönüştürülerek emilir. Tür, uygun protein reseptörlerinin varlığı ve bağırsak lümeninde uygun misel sıvıların oluşumu karotenoitlerin A vitaminine dönüşümünü etkileyen faktörlerdir. Karotenoitlerin cis-trans izomerizmi bunların absorpsiyonunu belirlemede önemlidir. Özellikle trans formu daha iyi emilir. Rasyonda bulunan yağ miktarı da emilimi etkiler. Ayrıca rasyondaki antioksidanlar (E vitamini gibi) karotenoitlerin emilimini etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Ancak bu antioksidanların emilimi direkt mi yoksa A vitamini ve karotenin oksidasyonunu önleyerek mi sağladığı kesin olarak bilinmemektedir. Rasyondaki protein yetersizliği de karotenin bağırsaklardan emilimini azaltır (98, 99).

Koyun, keçi ve domuzlarda karotenin bağırsak epitelinde A vitaminine kolay dönüştüğü, buna karşın sığır ve atlarda kolay dönüşmediğinden plazma karotenoit miktarının daha fazla olduğu, karotenoitlerin A vitaminine çevrilmesinde meme bezleri,

CL, pankreas ve yağ dokusunun değişik oranlarda rol oynadıkları belirtilmektedir (100). Ayrıca, sarı ve beyaz yağ dokunun, hayvanlardaki spesifik intestinal taşıyıcı proteinlerin varlığının türler arasındaki karotenoitleri absorpsiyon yeteneğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Koyunlarda özel taşıyıcı proteinler olmadığından oral olarak verildiğinde β -karoten'in dolaşıma geçmediği bildirilmektedir (101, 102).

β -karoten'in bir bölümü bağırsaklarda A vitaminine dönüşür, diğer bir bölümü şilomikronlara bağlı olarak duktus torasikus yoluyla karaciğere geçer. Karotenoitler kanda karaciğerde sentezlenen LDL (low density lipoprotein), VLDL (very low density lipoprotein) ve HDL'ye (high density lipoprotein) bağlanarak taşınır. Bunlar yaklaşık 22 Å kalınlığındaki fosfolipit tabakaya, esterleşmemiş kolesterol ve bir apolipoproteinin sarılmasından oluşmuştur (103).

Lipoprotein fraksiyonlarının taşıdıkları β -karoten miktarı türlere göre değişiklik gösterir. Yapılan bir araştırmada süt sığırları ve boğaların serumlarındaki total β -karoten'in yaklaşık % 82'sinin HDL, % 12'sinin LDL ve % 0,3'ünün ise VLDL tarafından taşındığı saptanmıştır (103). Hayvanın gelişimi ile β -karoten'in lipoproteinlere bağlanma oranı arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir.

2.7.1.2. β -Karoten'in Fizyolojik Fonksiyonları

Karotenoitler yıllardır biyolojik sistemlerdeki etkileri nedeni ile sürekli olarak araştırılmaktadır (104-106). Epidemiyolojik veriler rasyondaki β -karoten'in bazı tip kanserler ile arteroskleroz, katarakt ve multiple skleroz gibi hastalıkları önlediğini göstermiştir. β -karoten bu etkisini, ya provitamin A aktivitesi ya da antioksidan özelliği aracılığı ile gerçekleştirmektedir (107). Karotenoitler antioksidan etkilerini; singlet oksijeni bastırarak, süperoksit radikalini temizleyerek ve peroksit radikallerini parçalayarak hücre ve organizmaları oksidasyona karşı korumak suretiyle gösterirler (108).

Karotenoitler ovaryum ve uterusun steroidojenik hücrelerini de oksidatif hasara karşı korurlar. Bununla birlikte, β -karoten kolesterol yan zincirini ayıran enzimi sitokrom P450'yi (CP450), serbest oksijen radikalinin etkisinden koruyarak steroidogenezi artırmak suretiyle reproduksiyonu da düzenler. Bu nedenle, β -karoten'in P₄ sekresyonunu arttırıcı etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (106, 109).

Karotenoitler ince bağırsakta emilim sırasında A vitaminine dönüşür. Hayvanların çoğu ince bağırsak duvarının iç astarında β -karoten'i A vitaminine çevirebilir. Fakat türler arasında β -karoten'in A vitaminine çevrilme miktarı değişmektedir. Ayrıca büyük türlerde β -karoten'i absorbe etme kabiliyetlerinde farklılıklar oluşur. Genel olarak sığırların 5-8 mg karoteni 1 mg retinole çevirdiği tahmin edilir. Karotenoitler normalde domuzların periferik sirkülasyonunda oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunurken veya belirlenemezlerken, β -karoten, α -karoten, likopen, lutein ve kriptoksantin gibi diğer karotenoitleri absorbe edebilen sığır ve insanların periferik dolaşımında bunların düzeyleri belirlenebilmektedir (110).

β -karoten'in parenteral kullanımı sonucu kandaki A vitamini konsantrasyonu yükselmese de A vitamini eksikliği sonucu ortaya çıkan semptomlar ortadan kaldırılmıştır, β -karoten'in kolostrumla alınımı ile buzağılarda diyarenin azalması, enfeksiyöz ve paraziter hastalıklara karşı pozitif bir direnç olduğu da bildirilmiştir (111).

Yapılan birçok araştırmada (102, 112, 113), rasyonda yeterli A vitamini olmasına rağmen β -karoten'in eksikliğinde; suböstrus, ovulasyonda gecikme, düşük gebelik oranı, gelişmesi gecikmiş ve küçük boyutlu CL, siklus sırasında ve gebeliğin ilk döneminde P_4 sentezinde azalma, foliküler ve luteal kistlerde artma, ilk üç ayda fötüs ölümü, yeni doğan yavrularda yüksek diyare oluşumu nedeniyle hastalanma, ölüm oranında artış ve sütün yağ oranında düşme gözlemlendiği bildirilmiştir.

2.7.1.3. β -Karoten ve A Vitamininin Kandaki Düzeylerine Etki Eden Faktörler

Vücudun mineral ve vitamin dengesi, bu maddelerin alım, depolama, metabolizma ve atılımına bağlıdır. Kandaki A vitamini ve β -karoten düzeylerinin mevsime ve beslenme şekline göre büyük farklılık gösterdiği bildirilmiştir (114). Bu vitaminlerin kandaki düzeylerine gebeliğin etkisi ise doğuma yakın dönemlerde ortaya çıkmaktadır. Sığırların plazma A vitamini ve β -karoten seviyelerinin doğuma 2-3 hafta kala azalma eğilimi göstererek doğum ve doğumu takip eden ilk bir kaç gün içerisinde en düşük seviyelere indiği, doğumdan birkaç hafta sonra ise tekrar yükselerek normal değerlere ulaştığı bildirilmiştir (115). Doğum ve doğumu takip eden süre içinde plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerinde meydana gelen bu düşüşün nedeni ise bu vitaminlerin kolostruma geçişine bağlanmıştır. Seksüel hormon uygulamaları ve hipertroidizm de plazma β -karoten ve A vitamini düzeyi üzerine etkili olan faktörlerdir (116).

Yapılan bir araştırma (117), nitrat ve nitritlerin ruminantlarda karotenlerin A vitaminine çevrilmesini inhibe ettiğini, bu vitaminin karaciğerde birikmesini önlediğini ve depolanmış A vitaminini mobilize ederek hızla tükenmesine yol açtığını bildirmektedir. β -karoten, besinlerin işlenmesi ve depolanması sırasında kolayca yok olduğundan, çiftlik hayvanlarının beslenmesinde A vitamininin ilave olarak verilmesinin son derece önemli olduğu açıktır.

2.7.1.4. β -Karoten ve A Vitamininin Döl Verimi Üzerine Etkisi

Hayvanların beslenmeleri reproduktif performansları üzerinde önemli bir role sahiptir. Özellikle A vitamininin memelilerin üreme fonksiyonları üzerindeki önemi oldukça iyi şekilde ortaya konmuştur. Ayrıca bu özel rolün, epitel yapımı ve farklılaşması, RNA sentezi, glikoprotein sentezi, enfeksiyonlara karşı direnç kazanılması gibi çeşitli sistemik olaylara aracılık ettiği belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, β -karoten'in antioksidan etkisinin de yardımıyla, ovaryumlardaki steroid yapımını etkileyerek ve/veya uterusun iç ortamını değiştirerek, döl verimini geliştirdiği bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (106, 118).

A vitamininin, folliküllerin toplanmasını, seçilmesini, DF'lerin gelişmesini ve büyümesini kontrol eden faktörlerden biri olduğu ve büyük folliküllerin gelişmesi için baskılayıcı bir ortam oluşturduğu bildirilmektedir (112).

Follikülün olgunlaşması sırasında, β -karoten follikül içinde sabit değerlerde bulunduğu halde, A vitamini konsantrasyonlarında bir artış tespit edilmiştir. β -karoten'e bağlı olarak follikül içinde A vitamini konsantrasyonunun artışı ile birlikte follikül kalitesinin, büyüklüğünün, intrafoliküler östradiol 17β konsantrasyonunun değiştiği belirlenmiştir. Bu ilişkinin β -karoten'in ovulasyon ve fertilité üzerindeki rolünü göstermektedir (112).

β -karoten konsantrasyonu ve kolesterol düzeyleri arasında da pozitif bir ilişki olduğu (119) ve β -karoten eksikliğinde ovaryumdaki steroid hormon üretiminde önemli ölçüde bozukluklar meydana geldiği bildirilmiştir (113).

A vitamininin seksüel siklus üzerindeki etkisinin yanı sıra uterus iç ortamını, embriyo ve fötüs gelişimini ve ovaryumlardan P_4 salgılanmasını sağladığı da bilinmektedir. Bu vitaminlerin düzeylerine bağlı olarak, uterustan salgılanan P_4 sentezi esnasında gebeliğin devamı ve fötüsün gelişimi için önemli olan çok miktarda değişik protein

salgılandığı, yine bu vitaminlerin eksikliğinde plasental glikozaminoglikan'da yapısal ve kompozisyonel değişikliklere bağlı olarak embriyonik ölümlerin gözlemlendiği bildirilmiştir. Sonuçta, bu embriyonik ölümlerin uterus sekresyonlarındaki ve P₄ üretimindeki değişikliklerden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (101).

Çeşitli araştırmacılar (120, 121) A vitamini ve β -karoten'in döl verimine direkt etkili olduğunu, kanda β -karoten düzeyinin 200 μ g/dl'nin altına düştüğünde ineklerde foliküler ve luteal kist sayısında artma, suböstrus, LH piki ile ovulasyon aralığında uzama, gebe kalma oranında azalma, bireysel davranış değişiklikleri, embriyonik ölümler ve abort olaylarının görülebileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, β -karoten eksikliğinde ovulasyonun oluşması için gerekli bir enzim olan kollegenazın yetersizliğinin görülebileceği de bildirilmektedir (122). Buna karşılık bir çalışmada ise, β -karoten'in döl verimine direkt etkili olmadığını, esas etkisinin ovaryumda β -karoten'in A vitaminine dönüşmesi sonucunda oluştuğunu bildirmişlerdir (113).

Hayvanların β -karoten katkılı besinlerle en iyi şekilde beslenmesinin, klinik ve endokrinolojik açıdan östrus siklusunu ve gebeliği olumlu yönde etkilediği, karoten eksikliğinin P₄ sentezinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (106, 109). Buradan yola çıkarak β -karoten'in P₄ sentezine iki yoldan etki ettiği gösterilmiştir. Steroid sentezinin temel taşı olan kolesterolün perifer kandan CL'ye β -karoten'in taşınma mekanizmasına bağlı olarak gerçekleşmesi ve β -karoten'in bir antioksidan olarak P₄ sentezi esnasında oluşan serbest radikalleri tutarak P₄ sentezini arttırması şeklinde açıklanmıştır.

β -karoten'in P₄ sentezini arttırarak üreme fonksiyonunu etkilediği belirtilmektedir. Beta karoten sığır CL'sinde karaciğer ve yağ dokudan daha yüksek oranda bulunur ve CL'nin karakteristik parlak sarı rengini verir. β -karoten'in yetersiz olduğu durumlarda CL hücrelerinde β -karoten ve P₄ düzeyinin azaldığı ve CL'lerin daha küçük olduğu bildirilmiştir (109). Bununla birlikte, rasyonda yeterli β -karoten olduğunda, luteal hücrelerin daha büyük olduğu ve daha fazla P₄ salgıladığı belirtilmektedir (109, 121, 122). β -karoten ve A vitamini antagonist etki gösteren iki madde olup bunların ovaryumda doğru oranda bulunması ovaryumun optimal fonksiyonu için gereklidir. Ovaryumda bağımsız olarak işlev gören karotinaz, serum karoten düzeylerinin değiştiği durumlarda bile ovaryumdaki β -karoten ve A vitamini dengesini sağlayan bir enzimdir (102).

Araştırmacılar, β -karoten ilavesinin CL hücrelerinden P_4 salınımını olumlu etkilediğini (109, 121) ve ilk kızgınlık, uterus involusyonu, doğum ve yeniden gebe kalma süresini kısalttığını bildirmektedirler (123).

Yapılan çalışmalar bir süt ineğinin yaşama payı için günlük 80-100 mg ve her kg süt verimi için de ayrıca 10-20 mg β -karotene ihtiyacı olduğunu saptamıştır. Sığırlara kuru dönem ve laktasyon periyodu boyunca kapsül içinde farklı dozlarda (100, 200, 300 mg) β -karoten verilmesinin, plazma β -karoten ve P_4 düzeyi ile süt verimini arttırdığı, hastalık insidensini % 50-70 oranında düşürdüğü, gebelik için tohumlama sayısını azalttığı ve doğum ile ilk östrus arasındaki zamanı kısalttığı bildirilmiştir (123). Gebeliğin son ayı ve doğumdan sonraki ilk 7 gün süresince 20 000 IU A vitamini enjekte edilen ve 600 mg β -karoten verilen sığırlarda, ilk tohumlamada gebe kalma oranının % 60-69 olduğu ve bu sığırların buzağılarının özellikle sindirim sistemi hastalıklarına karşı daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Özpınar ve ark. (124), tarafından yapılan bir çalışmada da, ovaryumlarında kist tespit edilen sığırların plazma β -karoten ve E vitamini konsantrasyonlarının oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak, rasyonlarına günlük olarak 625 mg β -karoten ilave edilen 3-4 aylık gebe sığırların pp reproduktif performansının etkilenmediği bildirilmiştir.

2.7.2. E Vitamini

Bütün hayvanlar için esansiyel bir madde olarak kabul edilen, bitkisel orjinli olan E vitamini tokoferoller ve tokotrienoller (Tokoller) olarak bilinen, yağda eriyen bileşiklerin genel adıdır (125-127).

Günümüzde, doğada E vitamininin sekiz adet formu olduğu, bunların dördünün tokoferol (α , β , γ , ve δ), diğer dördünün de tokotrienoller (α , β , γ , ve δ) olmak üzere iki gruba ayrıldıkları belirlenmiş bulunmaktadır (125, 126).

2.7.2.1. Özellikleri ve Yapısı

Tokoferoller, oda sıcaklığında açık kahverengi veya sarı renkte yapışkan kıvamda, ancak yüksek saflıkta renksiz ve kokusuz olan yağlardır. Suda çözünmezler, alkol, hekzan, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünürler. Alkali, ısı (200°C ve daha yüksek) ve ışığa (özellikle ultraviyole) karşı dayanıksızdırlar. Buna karşın asitlere karşı dayanıklıdırlar. Vitaminlerden A, B6, B12, C ve K ile ayrıca folik asit, östradiol,

testesteron, çinko, somatotropik hormon ve oksidantlar ile de antagonisttirler (125, 128).

Mükemmel bir doğal antioksidan olan bu vitamin vücutta ve gıdalarda karoten ve diğer okside olabilen maddeleri oksidasyona karşı korur (125). Serbest hidroksil gurubu içerdiklerinden eter ve esterler yapabilirler (129). Oksijen mevcudiyetinde ısı, ışık, nem, yağların acılaşması, alkaliler, demir ve bakır gibi bazı metaller, E vitamininin oksidasyonunu hızlandırır ancak oksijen mevcut değilse ısı, ışık ve alkalilere karşı kısmen stabilitesi artar (130).

Bilinen en önemlileri ve en aktif antioksidan etki gösterenleri sırası ile α , β , γ , ve δ tokoferollerdir. Tokoferoller kroman (2 metil-6 kroman) türevleridirler (129).

Kroman bir benzen ile bir piran halkasından oluşmuştur (129). Tokoferol gruplar kendi aralarında halkalarda taşıdıkları metil gruplarına göre farklılık gösterirler. Tokoferol ile tokotrienoller arasındaki fark, sondaki yan zincirlerin doymamış olmalarına bağlıdır. Tokoferoller doymuş, tokotrienoller ise doymamış yan zincirlere sahiptirler (125, 131).

2.7.2.2. Bulunduğu Yerler

E vitamini, bitkisel ve hayvansal organizmada bulunmasına rağmen (129), bu kaynaklardaki miktarları oldukça değişiklikler gösterir. Vejetasyon döneminin başındakilerde daha fazla olmak üzere, bütün yeşil yemlerde bol miktarda bulunur. Gıda maddeleri içinde en çok ve daha aktif formu α -tokoferoldür. Bitkiler tarafından tokoferol ve tokotrienoller büyük oranda sentez edilmekte olup, bunlar başlıca yeşil yapraklar ve tohumların lipit içeren fraksiyonlarından, serbest alkollerden meydana gelirler (126).

E vitamini bitkilerin herhangi bir bölümünde bulunabilir. Fakat en fazla meyveler ve tohumlarda bulunur. Bitkilerin yaprağı gövdenin 20-30 katı fazla E vitamini ihtiva eder. Buğdaygil ve baklagillerdeki tokoferol miktarları farklılıklar göstermesine rağmen genellikle hayvansal ürünlerden daha fazla E vitamini içerirler. Ayrıca yemlerin içerdikleri tokoferol miktarı bitkilerin olgunlaşması, hasat edilmesi, yemlerin hazırlanma metodları ve depolanma sürelerine göre de değişiklikler gösterir. Yemlerin, yapay kurutma veya silaj suretiyle konserve edilmelerinde E vitamini kaybı çok düşük olduğu halde, güneşte kurutulan otlarda bu kayıp % 90'a kadar çıkmaktadır (131).

2.7.2.3. Absorbsiyonu, Taşınması ve Depolanması

E vitamininin absorpsiyonu yağların sindirimi ile ilişkilidir (125). Yağlar ve yağda eriyen diğer vitaminler (A, D, K) ile aynı tarzda ince barsaklardan ve özellikle duodenum ve jejunumun proksimal kısmından absorbe olmakta ve absorpsiyonun ince barsak membranında pasif difüzyonla gerçekleştiği sanılmaktadır (129, 130, 132-134).

Yağlar ve safra tuzları, E vitamininin absorpsiyonunu kolaylaştırır (125, 129). Safra tuzları bu etkilerini deterjan özelliği yardımı ile gerçekleştirirler. Esterifiye tokoferoller barsaklardan safra tuzları ve pankreatik enzimler (muhtemelen pankreatik lipaz) ile hidrolize edilirler. Sonuçta meydana gelen ürün, serbest tokoferoldür (125, 130, 134). E vitamini, kolesterol ya da A vitamininin tersine emilim süresince yeniden esterleştirilmez. Gerek serbest ve gerekse ester şeklinde alınsın, E vitamini serbest alkol formuyla emilir ve intestinal kanalda bulunan lenf damarlarına geçer ve buradan lenf yoluyla genel dolaşıma katılır (126, 132, 135, 136).

Tokoferoller şilomikronla ve spesifik olmayan çok düşük dansiteli lipoproteinlere (LDL, VLDL, trigliserit) bağlı olarak lenf dolaşımı yolu ile kan dolaşımına girerler. Genel dolaşıma sadece serbest formda giren tokoferoller plazma proteinlerine muhtemelen p-lipoproteinlere ve globulinlere bağlanarak öncelikle karaciğere, sonra da diğer ekstrahepatik dokulara kalp, böbrek, genital organlar, hipofiz bezi ve yağ dokularına taşınır. Özellikle bu organlar ve dokularda birikirler (126, 132, 134). E vitamini hemen hemen tüm dokularda depo edilmesine rağmen, yüksek konsantrasyonları karaciğer, plazma ve yağ dokularda bulunur (126). Kan dolaşımı ile vücudun tüm doku ve organlarına taşınan E vitamini, hücrelerin özellikle mitokondri, mikrozom, nükleus ve plazma membranı gibi hücrenin membran ihtiva eden yapılarında yoğunlaşırlar (132). Eritrosit membranında bulunan E vitamini ile plazma proteinlerine bağlı E vitamini arasında hızlı bir yer değişimi vardır (135, 137).

Barsaktan en hızlı α -tokoferoller sonra sırasıyla β , γ , ve δ formları emilir ve depo edilir (126). Tokoferollerin absorpsiyonu önce yavaş başlar, ancak ilk bir kaç saat içinde maksimum düzeye ulaşır. Ağız yoluyla alındıktan sonra 6. saatte hem plazma hem de karaciğer konsantrasyonları maksimum değerlerine ulaşarak uzun bir süre bu düzeylerini korur (131, 133). Ayrıca fagositik hücre olan nötrofillerde, E vitamini miktarının trombositlerden 10, alyuvarlardan 35 misli daha fazla olduğu ifade edilmiştir (130).

Fizyolojik durumlarda besinlerle alınan tokoferollerin % 20-30 kadarı absorbe edilmekte ancak fazla miktarlarda E vitamini alındığı zaman bunun sadece % 1-5 kadarı değerlendirilmektedir. Şayet organizmada E vitamini yetersizliği bulunuyorsa, alınan E vitamininin % 50-75 arasında değişen oranlarda değerlendirildiği kaydedilmektedir (130).

E vitamini depolanma miktarı yaş ve cinsiyet ile ilgili olarak değişir. Hayvanların yaşı ilerledikçe depolanma kapasiteleri artar. Genellikle dişi hayvanların çoğu organları daha fazla miktarlarda E vitamini içerirler (132).

2.7.2.4. Mobilizasyonu ve Atılımı

E vitamini tüketilme oranının dokular arasında farklılık gösterdiği, en fazla plazma olmak üzere bunu karaciğer, kalp, iskelet kasları ve yağ dokunun izlediği belirtilmiştir. Araştırmacılar altı hafta süreyle ratlardaki α -tokoferol tüketimini şöyle belirlemişlerdir; genç ve erişkin ratlarda plazma, karaciğer ve kalp α -tokoferol konsantrasyonları bir-iki hafta içinde başlangıç değerlerinin yarısına yada daha aşağısına düşer ve sonraları daha yavaş bir düşüş meydana gelir. α -tokoferolün vücut depoları normal değerinin yarısına yada daha aşağısına düştüğü zaman plazma, normal konsantrasyonunu muhafaza edemez (132).

Karaciğer ve kalpte depolanan tokoferol, iki hafta içinde başlangıç değerinin yarısına düşer ve diğer yarısı ise uzun bir zaman periyodunda yavaş yavaş azalır. Karaciğer α -tokoferolü; 1-Labil, 2-Nonlabil olmak üzere iki bölümden oluşur. E vitamini karaciğerde, α -tokoferilquinon'a dönüştükten sonra bir kısmının glukronik asitle konjuge olduğu ve daha sonra safra vasıtası ile dışkıyla atıldığı, α -tokoferilquinon'un diğer kısmının ise böbreklerde p-oksidasyon ile α -tokofenonik aside dönüştüğü ve idrarla atıldığı bildirilmiştir (129). Ayrıca E vitamininin atılımının en büyük yolu safra ve dolayısıyla dışkı olduğu, insanlarda % 65-80 dışkıyla atıldığı bildirilmektedir (125).

2.7.2.5. E Vitamininin Fizyolojik Fonksiyonları

E vitamininin tüm fonksiyonları bilinmemesine rağmen, yetersizliği durumunda labarotuvarda ve çiftlik hayvanlarında başta iskelet ve kalp kasları olmak üzere karaciğer, sinir sistemi, genital organlar ve kan hücrelerini de içine alan değişik organ ve dokularda yetersizlik derecesine göre çeşitli bozuklukların görülmesi, çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahip olması gerektiğini düşündürmektedir (127, 131).

E vitamininin bilinen en önemli fonksiyonlarından biri antioksidan veya serbest radikal giderici olmasıdır. Bundan dolayı biyolojik sistemlerde özellikle hücre membranında, fosfolipitler içinde oluşan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemektedir (125-127, 131, 136, 137). Bu özelliğinden dolayıdır ki; E vitamininin özellikle fagositik ve diğer hücre membranlarının korunması için önem arz edebileceği ifade edilmiştir (126, 136). Oksidasyon sırasında oluşan, süperoksit, diğer radikaller ve peroksitler membran enzimleri tarafından kısmen katalizlenir ve hidroksil serbest radikaller oluşur. Bu serbest radikaller daha sonra peroksidasyon ile mitokondrial, mikrozomal ve hücre membranlarındaki fosfolipidlerden olan doymamış yağ asitlerini okside eder (126). Sonuçta bu membranların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hidroperoksitler oluşur. E vitamininin fenol halkası üzerindeki hidroksil grubu, bir proton vermek suretiyle peroksit ve hidroperoksitleri doyurur ve böylece peroksit radikallerinin aktivitelerini azaltır. Böylece biyolojik otooksidasyon için başlatıcı olan bu reaksiyon, bahsedilen indirgeme ile hemen inhibe edilir ve peroksit oluşumu engellenmiş olur (126, 127). Bazı hayvanlarda görülen muskuler distrofi semptomları muhtemelen E vitamini yetersizliği sonucu hücre membranının tahrip olmasındandır (126).

Eritrositlerdeki tokoferolün tümü bu hücrelerin membranında lokalize olmuştur. Bu lokalizasyonu hücrelerin hemolize karşı korunmasında önemli bir fonksiyon üstlenmekte, E vitamini yetersizliği durumunda eritrositlerin hemolizi artmaktadır. Buna karşılık in vivo ve in vitro E vitamini ilavesi eritrositlerin hemolizini azaltmaktadır (127, 130, 131).

Tokoferollerin arişidonik asit, lökotrienler, PG'ler ve prostosiklinlerin metabolizmasında rol oynadığı, aynı zamanda DNA sentezinde de rolü olduğu ileri sürülmüştür (131).

E vitamininin sterilite üzerindeki etkisi sadece deney hayvanlarında gözlenebilmiştir. Ruminantlardaki etkisi kesin olarak aydınlatılamamıştır. Ancak E vitamininin karaciğerden sonra özellikle hipofiz bezi, böbrek üstü bezi, gonadlar ve uterusu depolanması, bu organların üremedeki fizyolojik fonksiyonları açısından önemlidir (131).

Ayrıca α - tokoferol, fibroblast fosfolipitlerinde linoleik asitten araşidonik asit oluşumunu stimüle etmekte ve araşidonik asitten PGE sentezlenmesinde belirgin uyarıcı bir etkisi olduğu bildirilmektedir (125, 136).

E vitamininin diğer fonksiyonları şunlardır; E vitamini trombosit agregasyonunun bir inhibitörüdür. Trombosit agregasyonunda gerekli olan PG'lerin sentezlenmesi için ihtiyaç duyulan araşidonik asidin peroksidasyonunu inhibe etmesiyle önemli bir rol oynayabilir. Trombosit agregasyonu da PGE tarafından inhibe edilir (136).

E vitamininin bu fonksiyonlarına ilaveten; normal fosforilasyon reaksiyonlarında, özellikle kreatin fosfat ve adenizin fosfat gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinde, askorbik asidin sentezinde, ubiquinone sentezinde, sülfüramino asit metabolizmasında ve B12 vitamini metabolizmasında rol aldığı bildirilmiştir (125).

2.7.2.6. Yetersizliği

Çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda E vitamini eksikliğine bağlı bozukluklar çok farklıdır. Laboratuvar hayvanlarındaki E vitamini eksikliği, üreme sistemlerinde bozukluklar oluşturur. Erkeklerde testis atrofisi, testikuler dejenerasyon ve sterilit (seminifer tubullerin dejenerasyonu ve spermatogenezis yetersizliği) dişilerde ise; ovaryum fonksiyonunun normal kalmasına rağmen uterus fizyolojisinin bozulması sonucu fetal rezorbsiyon yada ölü yavru doğumları meydana gelir (126, 129, 130). Ayrıca karaciğer nekrozu, gelişmede yavaşlama, kas distrofi, böbreklerde tubuler dejenerasyon ve embriyoda vasküler dejenerasyonlar şekillenmektedir (126, 127, 131).

Yetersiz E vitamini alan ratların lizozomlarının, fragilitelerindeki artış nedeniyle bunlardan serbestlenen hidrolitik enzimlerin dokularda ayrı ayrı substratları etkileyerek nükleik asit, protein, karbonhidrat, mukopolisakkarit ve öteki hücre komponentlerinin genel bir yıkımına neden olduğu, bunun sonucunda da tipik bir kas distrofisine, özellikle vücudun savunma sisteminde rol oynayan fagositik hücrelerin tahribinden dolayı fagositik aktivitede bozukluklar ve buna bağlı olarak immun cevapta yetersizlikler görüldüğü bildirilmiştir (135, 136).

Yetersiz E vitamini alan koyun ve ineklerin sık sık zayıf kuzu ve buzağı doğurdukları, bunların nutrisyonel kas distrofiye eğilimli oldukları, bu nedenle özellikle genç hayvanlarda zayıflık ve anormal duruş şekli görüldüğü, kalp ve diyaframın harabiyeti sonucu solunumun sıklaştığı, kalp fonksiyonlarında bozulma nedeniyle elektrokardiyografide değişikliklerin belirlendiği, hipofiz bezi hormonlarının (tirotropik

ve gonadotropik) azaldığı, gammaglobulin düzeyinin düştüğü, dolayısıyla organizmanın immun direncinin azaldığı bildirilmiştir (133).

İnsan ve hayvanların E vitamininin yüksek dozlarını iyi tolere ettiği bildirilmiştir. A ve D vitamini ile karşılaştırıldığında, E vitamininin nispeten toksik olmadığı görülmüştür (126, 127). Fakat istenilmeyen etkileri de yok değildir. Ratlarda, tavuklarda ve insanlarda hipervitaminozis E ile ilgili yapılan bir çalışmada, rasyona 1000-2000 IU/kg ilave edilmesinin maksimum tolere edilme seviyesi olarak bildirilmiştir (125). Yüksek dozlarda alınan E vitamini, civcivlerde (2200 IU/kg tokoferol) hematokrit değer ve hücre solunum aktivitelerinde azalma, protrombin zamanında uzama ayrıca kan tablosunda belirgin bir retikülozis eğilimi görülmektedir (138).

Küçük hayvanlar ve insanlarda E vitamini ihtiyacı iyi bilinmemektedir. Bununla beraber E vitamini gereksinimi rasyonda bulunan doymamış yağ asitleri, antioksidanlar, sülfür, aminoasit ve Selenyum (Se) düzeylerine göre değişir. Rasyonda doymamış yağ asitleri, okside edici ajanlar, A vitamini, karotenoitler ve iz elementler seviyelerinin artması ile E vitamini gereksinimi artar. Buna karşın yağda çözünen antioksidanlar, sülfür, aminoasit ve selenyum seviyelerinin artması E vitamini gereksinimini azaltır (125, 126).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Hayvanların Seçimi

Çalışma Kayseri İli Güneşli Beldesinde bulunan bir çiftlikte yapıldı. Materyal olarak yaşları 16-24 ay arasında olan kayıtlara göre reproduktif açıdan herhangi bir problemi bulunmayan 80 adet Holştayn ırkı düve kullanıldı. Düveler serbest dolaşımli padoklarda barındırıldı. Hayvanların su ihtiyaçları otomatik suluklarla sağlandı. Düveler günde iki kez yonca ve mısır silajından oluşan rasyonla otomatik karıştırıcı ve dağıtıcı ile hazırlanan yemle beslendi. Ayrıca çalışmaya alınan tüm hayvanların Infectious Bovine Rhinotracheitis-Infectious Pustuler Vulvovaginitis, Bovine Virus Diarrhea-Mucosal Disease, Brucellosis, Tuberculosis ve Leptospirosis gibi hastalıklar açısından tüm kontrolleri yapıldı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Senkronizasyon Prosedürü

Çalışmada β -Karoten ve E vitamini içeren preparat olarak Dalmavital (15 mg β -Karoten ve 20 mg dl- α -Tokoferol asetat/ml, Vetaş, Türkiye), GnRH analogu olarak Dalmarelin (25 μ g Lesirelin asetat/ml, Vetaş, Türkiye) ve Receptal (0,004 mg Buserelin asetat/ml,

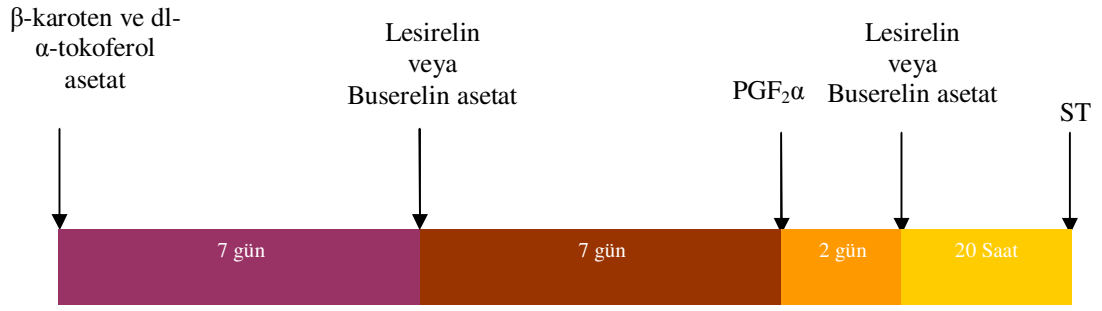
İntervet, Türkiye) ve $\text{PGF}_{2\alpha}$ olarak Dalmazin (0,075 mg D-kloprostenol/ml, Vetaş Türkiye) kullanıldı (Resim 3.1).



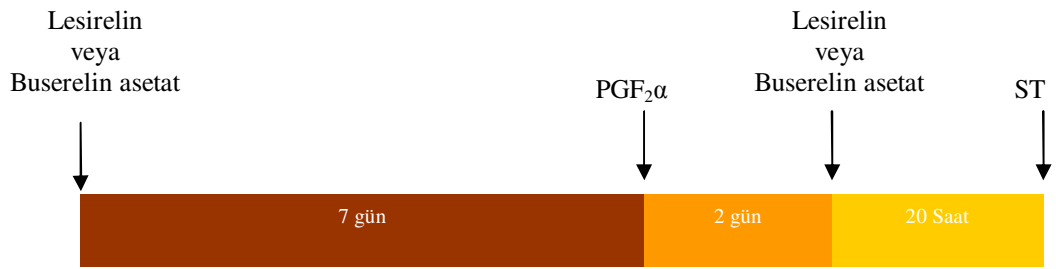
Resim 3.1. Çalışmada kullanılan vitamin ve hormon preparatları

Çalışmaya alınan 80 adet düve dört gruba ayrıldı ve tüm hayvanlara Ovsynch senkronizasyon protokolü uygulandı (Grup 1, 2, 3 ve 4).

Deneme gruplarından Grup 2 ve Grup 4'te yer alan düvelere -7. gün 15 ml β -karoten + dl- α - tokoferol asetat (225 mg β -karoten ve 300 mg dl- α - tokoferol asetat/ml) im olarak uygulandı. Grup 3 ve 4'deki düvelere 0. gün 2,5 ml Lesirelin asetat (62,5 mg) ve Grup 1 ve 2'deki düvelere 2,5 ml buserelin asetat (0,0105 mg) im olarak uygulandı. Tüm gruplarda yer alan hayvanlara birinci GnRH uygulamasından yedi gün sonra 2 ml $\text{PGF}_{2\alpha}$ (0,150 mg D-kloprostenol) im olarak uyguladı. Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 48 saat sonra, tekrar Grup 3 ve 4'deki düvelere 0.gün 2,5 ml Lesirelin asetat (62,5 mg) ve Grup 1 ve 2'deki düvelere 2,5 ml buserelin asetat (0,0105 mg) im olarak uygulandı. Gruplardaki tüm hayvanlar son GnRH uygulamasından 20 saat sonra bir kez rektovaginal yolla tohumlandı (Şekil 3.1 ve 3.2). Tohumlamalarda dondurulmuş ithal sperma kullanıldı. Spermalar 35°C'deki su banyosunda 45 saniye tutularak çözdürüldü.



Şekil 3.1. Grup 2 ve 4'te yer alan düvelere uygulanan senkronizasyon programı



Şekil 3.2. Grup 1 ve 3'te yer alan düvelere uygulanan senkronizasyon programı

3.2.2. Ultrasonografi Düzeni

Çalışma boyunca, tüm düvelere β -karoten ve E vitamini, birinci ve ikinci GnRH uygulamasında, $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu aşamasında, ikinci GnRH enjeksiyonundan 20, 36 ve 48 saat sonra ovaryum yapılarının, follikül dinamiğinin, ovulasyon zamanlarının belirlenmesi amacıyla, gebelik ve embriyonik ölümlerin tespit edilmesi için tohumlamadan sonraki 35 ve 60. günde transrektal ultrasonografik muayene yapıldı (Resim 3.2).



Resim 3.2. Çalışmada kullanılan ultasonografi cihazı (Honda HS-1500 V)

3.2.3. Kan Alma Düzeni

Hayvanların çalışma boyunca uygulanan manipülasyonlara verdikleri hormonal ve biyokimyasal cevabın belirlenmesi ve karşılaştırılması amacıyla; β -karoten ve E vitamini uygulamasında, birinci ve ikinci GnRH uygulamasında, $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu aşamasında, ikinci GnRH enjeksiyondan 48 saat sonrasına kadar 24 saat aralıklarla tüm hayvanlardan serum elde edilmesi için vena jugularis yoluyla kan alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

3.2.4. Serum β -Karoten Düzeyinin Belirlenmesi

Serum β -karoten ve E vitamini düzeyleri Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında bulunan spektrofotometre ile belirlendi. Serum β -karoten düzeylerinin belirlenmesi Suzuki ve Katoh'un (139) kullandıkları yöntemle yapıldı.

Kullanılan Çözeltiler

Absolut etanol (% 99,5) kullanılarak distile su ile % 95'lik etil alkol hazırlandı ve her ml'sinde 20 μg olacak şekilde butil hidroksi toluen (BHT) ilave edildi. Ayrıca n-hekzan kullanıldı.

Teknik

Işık geçirmeyen (alüminyum folyo ile kaplanmış) bir santrifüj tüpüne çözölmüş serum örneklerinden 1 ml konuldu. Serum üzerine 1 ml BHT etanol ve daha sonra 3 ml hekzan ilave edildi. Karışım 10 dakika elle çalkalandı ve daha sonra 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üst fazdaki hekzan ekstratından 3 ml bir kuarz küvete alınarak β -karoten için 453 nm’de absorbanlar okundu. Serum ve standartlar ölçüm öncesinde oksitlenmenin önlenmesi için karanlık ortamda tutuldu.

Hesaplama

$$\beta\text{-Karoten } (\mu\text{g/dl}) = A_{453} / 0,00258$$

3.2.5. Serum E Vitamini Düzeyinin Belirlenmesi

Serum E vitamini düzeylerinin belirlenmesi Martinek (140)’in tarif ettiğı yönteme göre yapıldı.

Kullanılan Çözeltiler

2,4,6 Tripridil-S-Triazin (TPTZ) çözeltisi: 60 mg TPTZ alınıp n-propanol ile 50 ml’ye tamamlandı.

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi: 60 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ alınıp absolüt etanol ile 50 ml’ye tamamlandı.

Stok: 100 mg α -tokoferol alınıp absolüt etanol ile 50 ml’ye tamamlandı.

Çalışma standardı: 0,25 ml stok solüsyon alınıp absolüt etanol ile 50 ml’ye tamamlandı.

Teknik

Demir 3 iyonları serbest α -tokoferol etkisiyle redüklenerek demir 2 iyonlarına dönüşürler. Bunların TPTZ ile oluşturdukları mavi-menekşe renkli kompleksin yoğunluğu spektrofotometrede 600 nm’de ölçüldü.

Bu amaçla blank, standart ve numune tüpleri hazırlanarak, numune ve blank tüplerine 1’er ml absolüt etanol kondu. Blank tüpüne 1 ml distile su, numune tüplerine ise 1’er ml serum ilavesi yapıldı. Standart tüpüne ise 1 ml çalışma standardı, üzerine de 1 ml distile su kondu. Bütün tüplere (standart, kör ve numune) 1’er ml xylene eklenerek vorteks ile karıştırıldı. 2500 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Tüplerin üstünde toplanan filtrattan 0.5 ml alınıp başka tüplere aktararak 0,5 ml TPTZ eklendi ve 4 dakika içinde

spektrofotometrede 460 nm’de absorbansları ölçüldü. Daha sonra 0,1 ml FeCl₃ eklenerek çok hızlı bir şekilde 600 nm’de absorbansları belirlendi.

Hesaplama

$$\text{Vit E } (\mu\text{g/dl}) = \frac{\text{Numunenin absorbansı(600)} - (0.40 \times \text{Numunenin absorbansı(460)})}{\text{Standardın absorbansı (600 nm)}}$$

3.2.6. Progesteron Analizleri

Elde edilen sığır serumlarındaki P₄ analizleri, mikrotitrasyon plak enzim immunoassay yöntemi kullanılarak, Prakash ve ark. (141) bildirdiği metoda göre serumda direk olarak çift antikorlu Enzim immunoassay yöntemi ile yapıldı. Analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. Progesteron analizinde numuneler çift olarak çalışıldı. Ölçümlerin duyarlılığının kontrol edilebilmesi için analizler sırasında kontrol serumları kullanıldı.

Mikrotitrasyon plakların ikinci test antikoruna ile kaplanmasında Güven ve ark. (142) bildirdiği metot kullanıldı. Serum P₄ düzeylerinin saptanmasında kullanılan mikrotitrasyon plaklar, tavşan IgG'sine karşı keçilerde üretilmiş olan antiserumdan saflaştırılmış anti-tavşan-keçi-IgG'si ile kaplandı. Plazma P₄ miktarlarının saptanması için ölçümlerde kullanılan standart serisi; 0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0, 16,0 ve 32,0 ng/ml olarak hazırlandı. Standartların hazırlanmasında 1:10 oranında deney tamponu ile dilüe edilmiş progesteron içermeyen sığır serumu kullanıldı.

Testte P₄ antikoruna olarak, 7 α -Hydroxyprogesterone’a karşı tavşanlarda üretilmiş olan antikor kullanıldı. Ölçümler sırasında enzim konjugatı olarak ise, 6 β -Hydroxyprogesterone - Hemisuccinate - HRP kullanıldı. Testlerin değerlendirilmesi aşamasında, plaklarda oluşan renk yoğunluğu sekiz kanallı spektrofotometrede ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, standart eğriye göre kantitatif olarak hesaplandı.

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonunda elde edilen gebelik oranları, CL ve follikül bulguları ile ovulasyon oranlarının değerlendirilmesi ki kare yöntemine göre yapıldı. β -karoten ve E vitamini düzeylerinin gruplar arasında ve kendi içinde karşılaştırılmasında varyans analizi (ANOVA) ve t-test yöntemleri kullanıldı. Progesteron düzeylerinin gruplar arasında

karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi, kendi içinde değerlendirilmesinde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Anılan testler SPSS 15.0 istatistik programı ile yapıldı. β -karoten, E vitamini ve progesteron değerlerinin günler arasındaki değerlendirilmesinde SigmaStat programında Friedman iki yönlü varyans analizi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışma gruplarına alınan düvelerin (n=80) yaşları ortalama $17,45 \pm 2,49$ ay ve canlı ağırlıkları $400,97 \pm 60,28$ kg olarak tespit edildi.

Çalışma gruplarından Grup 2’de bulunan hayvanların yedi tanesinde β -karoten ve E vitamini preparatı enjeksiyonundan sonraki 10-20 dakika içerisinde alerjik reaksiyonlar (salivasyon, taşikardi, hızlı solunum, sancı, ıkınma, mukozalarda kızarıklık, vulvada ödem) gözlemlendi. Bu hayvanlara antihistaminik enjeksiyonları yapıldıktan sonra görülen bu alerjik belirtiler ortadan kalktı. Alerjik reaksiyon görülen yedi düveden üçünün gebe kaldığı belirlendi.

Çalışmanın 60. gününde yapılan ultrasonografi ile Grup 1 ve 2’de birer adet hayvanda iki adet embriyonik ölüm saptandı.

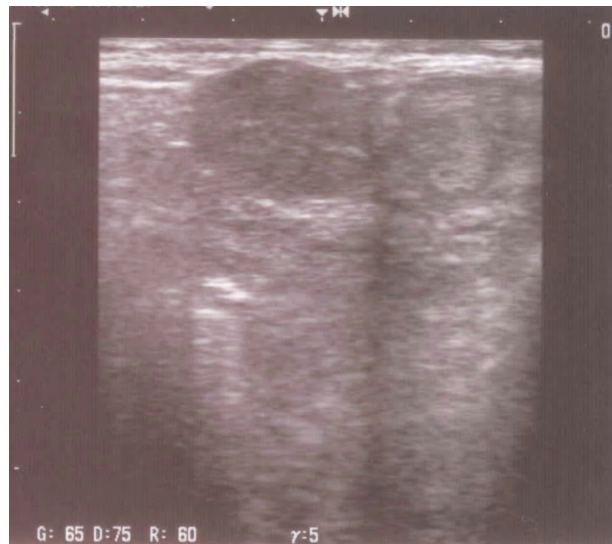
4.1. ULTRASONOGRAFİ BULGULARI

Çalışmanın -7, 0, 7 ve 9. günlerinde yapılan ultrasonografi kontrollerinde CL bulunan ve bulunmayan hayvan sayıları (Tablo 4.1) ve çalışmanın 9. günü, tohumlama anında ve ikinci GnRH enjeksiyonundan 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde follikül bulunan ve bulunmayan hayvan sayıları (Tablo 4.2), gruplar arasında değerlendirildiğinde istatistiki farka rastlanılmadı ($P > 0,05$).

Tablo 4.1. Çalışma sonunda gebe kalan ve kalmayan düvelerde -7, 0, 7 ve 9. günlerde yapılan ultrasonografi kontrollerinde CL bulunan ve bulunmayan hayvan sayılarının gruplar arasında karşılaştırılması

	-7. gün				0. gün				7. gün				9. gün			
	Gebe CL		Boş CL		Gebe CL		Boş CL		Gebe CL		Boş CL		Gebe CL		Boş CL	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Grup 1 (Buserelin)	5	3	10	2	5	3	10	2	8	0	9	3	0	8	1	11
Grup 2 (β K-Evit, Buserelin)	5	5	8	2	8	2	6	4	9	1	8	2	1	9	0	10
Grup 3 (Lesirelin)	8	2	5	5	8	2	5	5	9	1	6	4	0	10	0	10
Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin)	5	7	6	2	10	2	6	2	8	4	4	4	0	12	0	8
P	P>0,05															

CL: Korpus luteum

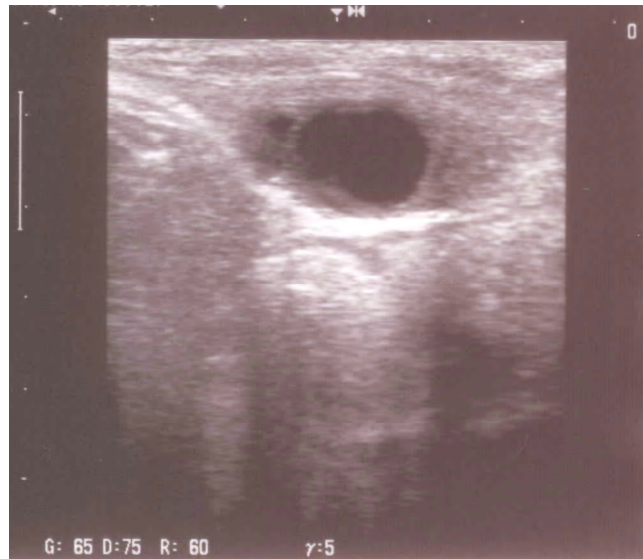


Resim 4.1. Ovaryumda CL görüntüsü

Tablo 4.2. Çalışma sonunda gebe kalan ve kalmayan düvelerde çalışmanın 9. günü, tohumlama anında ve ikinci GnRH enjeksiyonundan 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde follikül bulunan ve bulunmayan hayvan sayılarının gruplar arasında karşılaştırılması

	9. gün				Tohumlama zamanı				36. saat				48. saat			
	Gebe F		Boş F		Gebe F		Boş F		Gebe F		Boş F		Gebe F		Boş F	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Grup 1 (Buserelin)	9	1	6	4	8	2	6	4	6	4	6	4	0	10	2	8
Grup 2 (β K-Evit, Buserelin)	10	0	10	0	8	2	10	0	6	4	10	0	0	10	4	6
Grup 3 (Lesirelin)	9	1	7	3	7	3	6	4	6	4	5	5	0	10	2	8
Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin)	10	2	4	4	10	2	1	7	0	12	1	7	0	12	0	8
P	P>0,05															

F: Follikül



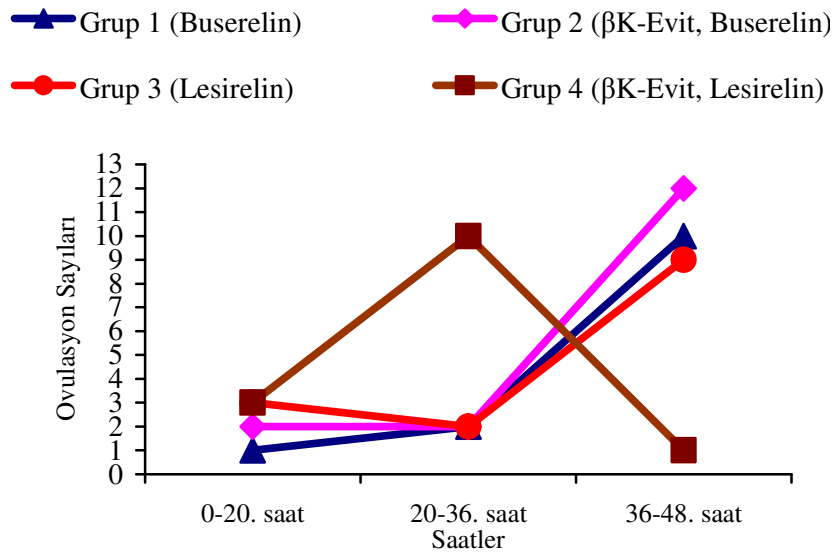
Resim 4.2. Ovaryumda follikül görüntüsü

Çalışma grupları arasında ikinci GnRH enjeksiyonundan 20, 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde belirlenen ovulasyon sayıları (Tablo 4.3) karşılaştırıldığında gruplar arasında fark istatistiki açıdan önemli bulundu ($P<0,05$). Belirlenen bu farkın Grup 1 ve 2 ile Grup 4'teki 0-20 ve 20-36. saatlerdeki ovulasyon sayıları ile 36-48. saatlerdeki ovulasyon sayıları ve Grup 3 ile 4'teki 20-36 ve 36-48. saatlerdeki ovulasyon sayıları arasındaki ilişkiden kaynaklandığı saptandı.

Ayrıca en yüksek gebelik oranının elde edildiği Grup 4'te ovulasyonların büyük kısmının 20-36. saatler arasında gerçekleştiği gözlenirken, diğer gruplarda ovulasyonların 36-48. saatler arasında olduğu saptandı (Şekil 4.1).

Tablo 4.3. Çalışma grupları arasında ikinci GnRH enjeksiyonundan (0. saat) 20, 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde belirlenen ovulasyon sayıları

	0-20. saat (%)	20-36. saat (%)	36-48. saat (%)	Toplam
Grup 1 (Buserelin)	1/15 (6,67)	2/15 (13,34)	10/15 (66,67)	13/15 (86,67)
Grup 2 (β K-Evit, Buserelin)	2/20 (10)	2/20 (10)	12/20 (60)	16/20 (80)
Grup 3 (Lesirelin)	3/16 (18,75)	2/16 (12,50)	9/16 (56,25)	14/16 (87,50)
Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin)	3/14 (21,43)	10/14 (71,43)	1/14 (7,14)	14/14 (100)
P	$P<0,05$			



Şekil 4.1. Çalışma grupları arasında ikinci GnRH enjeksiyonundan sonra 20, 36 ve 48 saat sonra yapılan ultrasonografi kontrollerinde belirlenen ovulasyon sayıları

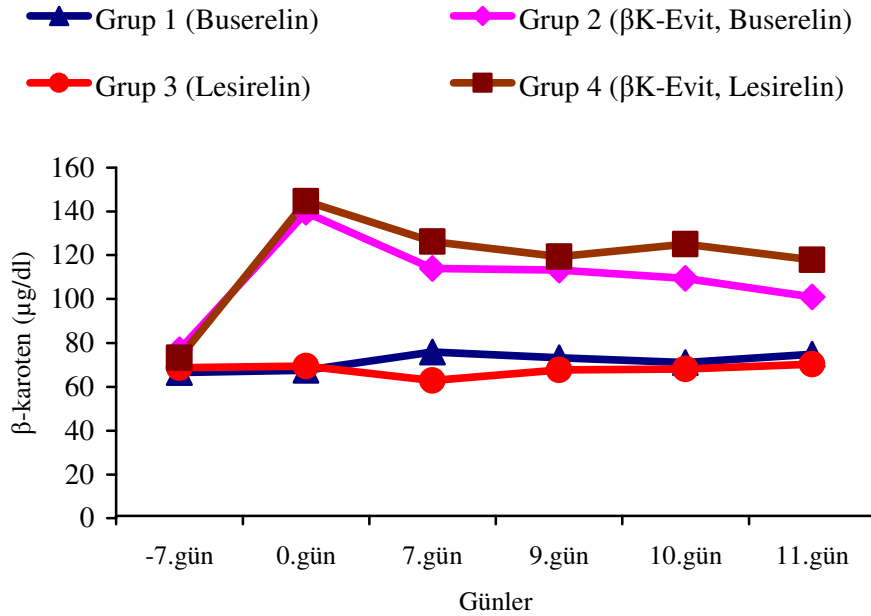
4.2. β -KAROTEN DÜZEYLERİ

Çalışma sonunda gebe kalan (Tablo 4.4, Şekil 4.2) ve kalmayan (Tablo 4.5, Şekil 4.3) düvelerde -7. günde alınan serum örneklerindeki β -karoten düzeyi arasında herhangi bir istatistiki farka rastlanılmamış olup, 0, 7, 9, 10, ve 11. günlerdeki β -karoten düzeyleri arasındaki fark önemli bulunmuştur.

Tablo 4.4. Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların β -karoten değerleri ($\mu\text{g/dl}$) (Mean $\pm$ SD)

	Grup 1 (Buserelin)	Grup 2 (β K-Evit, Buserelin)	Grup 3 (Lesirelin)	Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin)	P
-7. gün	66,57 $\pm$ 11,53 ^a	76,82 $\pm$ 26,99 ^a	68,64 $\pm$ 17,21 ^a	73,29 $\pm$ 11,64 ^a	P>0,05
0. gün	67,49 $\pm$ 12,35 ^b	139,53 $\pm$ 29,45 ^a	69,42 $\pm$ 21,24 ^b	144,70 $\pm$ 25,64 ^a	P<0,001
7. gün	75,87 $\pm$ 19,97 ^b	113,95 $\pm$ 22,88 ^a	62,83 $\pm$ 9,74 ^b	126,23 $\pm$ 17,46 ^a	P<0,001
9. gün	73,26 $\pm$ 18,53 ^b	113,18 $\pm$ 16,10 ^a	67,71 $\pm$ 10,80 ^b	119,25 $\pm$ 18,22 ^a	P<0,01
10. gün	71,08 $\pm$ 13,27 ^b	109,46 $\pm$ 18,75 ^a	68,18 $\pm$ 11,66 ^b	124,94 $\pm$ 15,58 ^a	P<0,01
11. gün	74,81 $\pm$ 18,17 ^b	100,97 $\pm$ 27,70 ^a	70,27 $\pm$ 10,95 ^b	117,86 $\pm$ 17,70 ^a	P<0,01

^{a,b} aynı satırda farklı harfler arasında istatistiki fark önemli

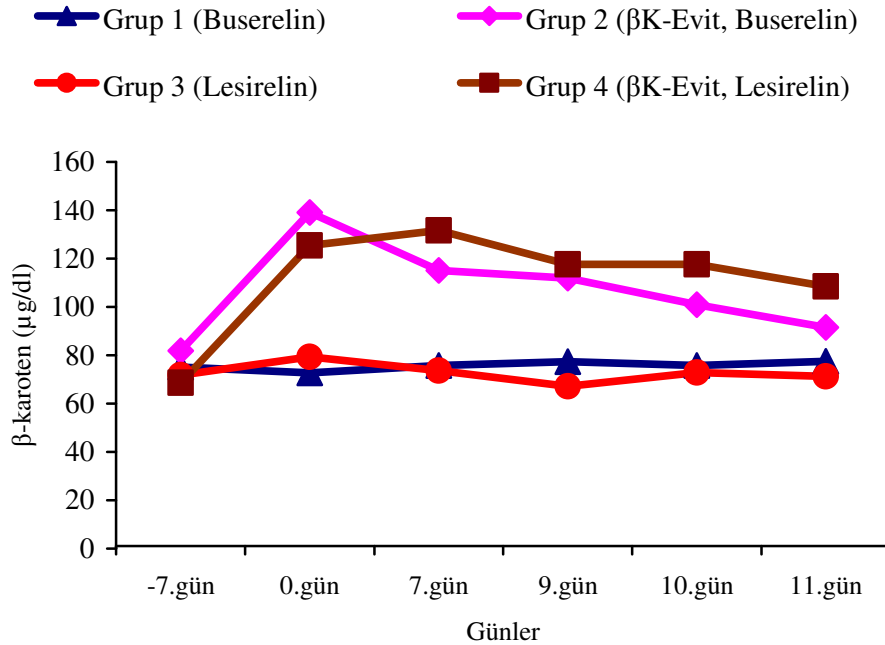


Şekil 4.2. Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların β -karoten değerleri

Tablo 4.5. Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların β -karoten değerleri ($\mu\text{g/dl}$) (Mean $\pm$ SD)

	Grup 1 (Buserelin)	Grup 2 (β K-Evit, Buserelin)	Grup 3 (Lesirelin)	Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin)	P
-7. gün	75,13 $\pm$ 16,55 ^a	81,92 $\pm$ 15,10 ^a	71,78 $\pm$ 17,57 ^a	68,60 $\pm$ 10,60 ^a	P>0,05
0. gün	72,67 $\pm$ 20,72 ^b	139,03 $\pm$ 21,11 ^a	79,30 $\pm$ 25,98 ^b	125,44 $\pm$ 14,45 ^a	P<0,001
7. gün	75,75 $\pm$ 14,78 ^b	115,08 $\pm$ 17,86 ^a	73,64 $\pm$ 26,03 ^b	131,59 $\pm$ 20,18 ^a	P<0,001
9. gün	77,39 $\pm$ 24,38 ^b	111,98 $\pm$ 10,89 ^a	67,10 $\pm$ 18,50 ^b	117,68 $\pm$ 17,77 ^a	P<0,001
10. gün	75,71 $\pm$ 18,69 ^b	100,93 $\pm$ 16,01 ^a	72,87 $\pm$ 22,42 ^b	117,59 $\pm$ 16,06 ^a	P<0,001
11. gün	77,42 $\pm$ 17,30 ^{bc}	91,47 $\pm$ 14,92 ^b	71,20 $\pm$ 11,90 ^c	108,50 $\pm$ 13,51 ^a	P<0,001

^{a,b,c} aynı satırda farklı harfler arasında istatistiki fark önemli

**Şekil 4.3.** Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların β -karoten değerleri

Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan düvelerin -7, 0, 7, 9, 10 ve 11. günlerdeki β -karoten düzeyleri kendi arasında karşılaştırıldığında Grup 1 ve 2’de bir fark olmadığı belirlendi (P>0,05). Grup 3 ve 4’te sırasıyla yedi ve 0. gündeki β -karoten düzeyleri arasında istatistiki bir fark olduğu saptandı (P<0,05) (Tablo 4.6).

Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanlarda -7, 0, 7, 9, 10 ve 11. günlerdeki β -karoten düzeyleri karşılaştırıldığında Grup 1 ve 3’te bir fark olmadığı (P>0,05), Grup 2 ve 4’teki β -karoten düzeyleri arasındaki farkın önemli olduğu belirlendi (P>0,001) (Tablo 4.7).

Tablo 4.6. Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanların β -karoten değerlerinin kendi içinde karşılaştırılması ($\mu\text{g/dl}$) (Mean $\pm$ SD)

	Grup 1 (Buserelin)		P	Grup 2 (β K-Evit, Buserelin)		P	Grup 3 (Lesirelin)		P	Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin)		P
	Gebe	Boş		Gebe	Boş		Gebe	Boş		Gebe	Boş	
-7. gün	66,26 $\pm$ 11,53	75,13 $\pm$ 16,55	—	76,82 $\pm$ 26,99	81,92 $\pm$ 15,10	—	68,64 $\pm$ 17,21	71,78 $\pm$ 17,57	—	73,29 $\pm$ 11,64	68,60 $\pm$ 10,60	—
0. gün	67,49 $\pm$ 12,35	72,67 $\pm$ 20,72	—	139,53 $\pm$ 29,45	139,03 $\pm$ 21,11	—	69,42 $\pm$ 21,24	79,30 $\pm$ 25,98	—	144,70 $\pm$ 25,64	125,44 $\pm$ 14,45	*
7. gün	75,87 $\pm$ 19,97	75,75 $\pm$ 14,78	—	113,95 $\pm$ 22,88	115,08 $\pm$ 17,86	—	62,83 $\pm$ 9,74	73,64 $\pm$ 26,03	*	126,23 $\pm$ 17,46	131,59 $\pm$ 20,18	—
9. gün	73,26 $\pm$ 18,53	77,39 $\pm$ 24,38	—	113,18 $\pm$ 16,10	111,98 $\pm$ 10,89	—	67,71 $\pm$ 10,80	67,10 $\pm$ 18,50	—	119,25 $\pm$ 18,22	117,68 $\pm$ 17,77	—
10. gün	71,08 $\pm$ 13,27	75,71 $\pm$ 18,69	—	109,46 $\pm$ 18,75	100,93 $\pm$ 16,01	—	68,18 $\pm$ 11,66	72,87 $\pm$ 22,42	—	124,94 $\pm$ 15,58	117,59 $\pm$ 16,06	—
11. gün	74,81 $\pm$ 18,17	77,42 $\pm$ 17,30	—	100,97 $\pm$ 27,70	91,47 $\pm$ 14,92	—	70,27 $\pm$ 10,95	71,20 $\pm$ 11,90	—	117,86 $\pm$ 17,70	108,50 $\pm$ 13,51	—

— Gruplar arasında fark yok ($P>0,05$), * Gruplar arasında fark var ($P<0,05$)

Tablo 4.7. Grup 1, 2, 3 ve 4'te gebe kalan ve kalmayan hayvanların β -karoten değerlerinin günler arasındaki karşılaştırması ($\mu\text{g/dl}$)

		-7. gün	0. gün	7. gün	9. gün	10. gün	11. gün	P
Grup 1 (Buserelin) Median (%25-75)	Gebe	63,96 (57,37-72,48) ^a	65,90 (57,36-73,84) ^a	69,97 (64,35-87,99) ^a	75,78 (61,24-77,91) ^a	71,32 (65,89-75,00) ^a	72,10 (62,02-87,99) ^a	—
	Boş	75,78 (62,02-87,21) ^a	74,23 (56,01-87,02) ^a	74,81 (62,80-86,44) ^a	79,46 (62,02-86,44) ^a	73,07 (58,53-89,54) ^a	76,36 (67,05-89,73) ^a	
Grup 2 (β K-Evit, Buserelin) Median (%25-75)	Gebe	75,82 (26,99-8,54) ^a	139,53 (29,45-9,31) ^b	113,95 (22,88-7,24) ^c	113,18 (16,10-5,09) ^c	109,46 (18,75-5,93) ^c	100,97 (27,70-8,76) ^c	*
	Boş	79,27 (68,22-88,76) ^a	138,37 (124,81-156,59) ^b	117,83 (103,88-129,84) ^a	113,57 (105,04-121,71) ^a	102,72 (95,74-108,53) ^{cd}	94,96 (75,19-104,65) ^c	
Grup 3 (Lesirelin) Median (%25-75)	Gebe	68,64 (17,22-5,44) ^a	69,42 (21,25-6,72) ^a	62,83 (9,74-3,08) ^a	67,72 (10,80-3,42) ^a	68,18 (11,67-3,69) ^a	70,27 (10,95-3,46) ^a	—
	Boş	68,10 (56,20-75,58) ^a	74,42 (62,02-89,92) ^a	63,18 (57,36-81,01) ^a	60,85 (54,65-72,09) ^a	64,73 (58,53-81,01) ^a	67,06 (62,40-77,13) ^a	
Grup 4 (β K-Evit, Lesirelin) Median (%25-75)	Gebe (Mean $\pm$ SD)	73,29 $\pm$ 11,64 ^a	144,70 $\pm$ 25,65 ^b	126,23 $\pm$ 17,46 ^c	119,25 $\pm$ 18,23 ^c	124,94 $\pm$ 15,58 ^c	117,86 $\pm$ 17,70 ^c	*
	Boş Median (%25-75)	68,60 (10,60-3,75) ^a	125,44 (14,45-5,11) ^{bc}	131,59 (20,18-7,14) ^b	117,68 (17,77-6,28) ^{bc}	117,59 (16,06-5,68) ^{bc}	109,50 (13,51-4,78) ^c	

^{a,b,c,d} aynı satırda farklı harfler arasında istatistikî fark önemli, — Gruplar arasında fark yok (P>0,05), * Gruplar arasında fark var (P<0,001)

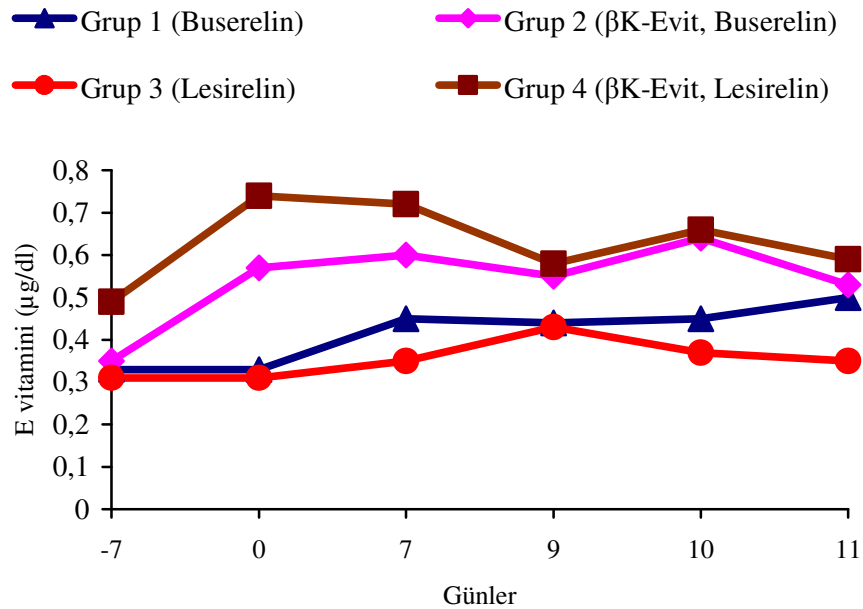
4.3. E VİTAMİNİ DÜZEYLERİ

Çalışma sonunda tüm gruplarda gebe kalan (Tablo 4.8, Şekil 4.4) ve kalmayan (Tablo 4.9, Şekil 4.5) düvelerde, alınan serum örneklerindeki E vitamini düzeyleri karşılaştırıldığında -7, 0, 7, 9, 10, ve 11. günlerde gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur.

Tablo 4.8. Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların E vitamini değerleri (µg/dl) (Mean±SD)

	Grup 1 (Buserelin)	Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)	Grup 3 (Lesirelin)	Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)	P
-7. gün	0,33±0,09 ^b	0,35±0,07 ^b	0,31±0,08 ^b	0,49±0,11 ^a	P<0,001
0. gün	0,33±0,09 ^c	0,57±0,11 ^b	0,31±0,08 ^c	0,74±0,10 ^a	P<0,001
7. gün	0,45±0,16 ^{bc}	0,60±0,11 ^{ab}	0,35±0,12 ^c	0,72±0,15 ^a	P<0,001
9. gün	0,44±0,09 ^a	0,55±0,18 ^a	0,43±0,12 ^a	0,58±0,08 ^a	P<0,05
10. gün	0,45±0,16 ^b	0,64±0,11 ^a	0,37±0,06 ^b	0,66±0,10 ^a	P<0,001
11. gün	0,50±0,13 ^a	0,53±0,07 ^a	0,35±0,06 ^b	0,59±0,12 ^a	P<0,001

^{a,b,c} aynı satırda farklı harfler arasında istatistiki fark önemli

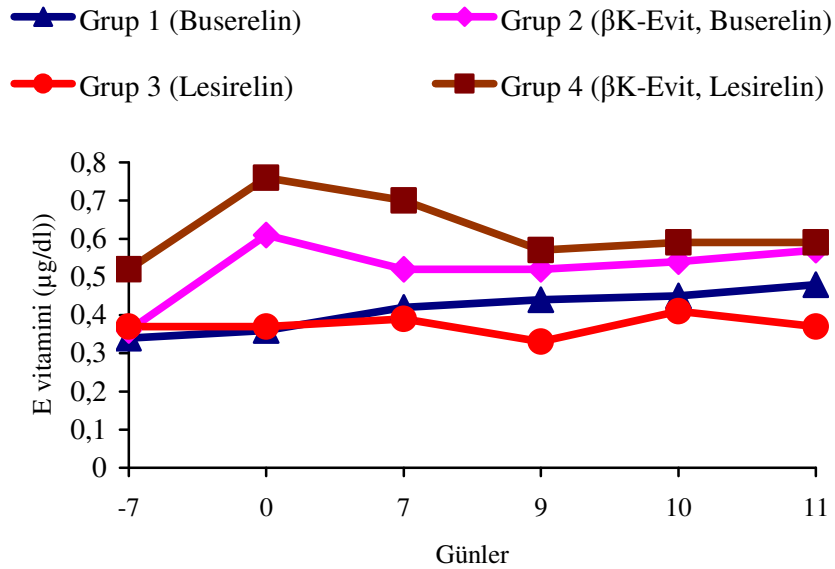


Şekil 4.4. Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların E vitamini düzeyleri

Tablo 4.9. Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların E vitamini değerleri (µg/dl) (Mean±SD)

	Grup 1 (Buserelin)	Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)	Grup 3 (Lesirelin)	Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)	P
-7. gün	0,34±0,076 ^b	0,36±0,14 ^{ab}	0,37±0,18 ^{ab}	0,52±0,12 ^a	P<0,05
0. gün	0,36±0,10 ^b	0,61±0,13 ^a	0,37±0,19 ^b	0,76±0,15 ^a	P<0,001
7. gün	0,42±0,10 ^b	0,52±0,09 ^b	0,39±0,11 ^b	0,70±0,15 ^a	P<0,001
9. gün	0,44±0,11 ^b	0,52±0,07 ^{ab}	0,33±0,09 ^c	0,57±0,09 ^a	P<0,001
10. gün	0,45±0,15 ^{ab}	0,54±0,11 ^{ab}	0,41±0,18 ^b	0,59±0,12 ^a	P<0,05
11. gün	0,48±0,14 ^{ab}	0,57±0,07 ^a	0,37±0,12 ^b	0,59±0,10 ^a	P<0,01

^{a,b,c} aynı satırda farklı harfler arasında istatistiki fark önemli

**Şekil 4.5.** Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların E vitamini düzeyleri

Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan düvelerin -7, 0, 7, 9, 10 ve 11. günlerdeki E vitamini düzeyleri kendi arasında karşılaştırıldığında Grup 1 ve 4'te bir fark olmadığı belirlendi ($P>0,05$). Grup 2'de -7 ve 9. gün, Grup 3'te 9 ve 11. günlerde E vitamini düzeyleri arasında istatistiki bir fark olduğu saptandı ($P<0,05$) (Tablo 4.10).

Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanlarda -7, 0, 7, 9, 10 ve 11. günlerdeki E vitamini düzeyleri karşılaştırıldığında Grup 2 ve 4'te istatistiki bir fark olduğu ($P<0,05$), Grup 1 ve 3'te ise sırasıyla boş ve gebe düvelerin belirtilen günlerdeki E vitamini düzeyleri arasında istatistiki farkın önemli olduğu belirlendi ($P<0,05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.10. Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanların E vitamini değerlerinin kendi içinde karşılaştırılması (mg/dl) (Mean±SD)

	Grup 1 (Buserelin)		P	Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)		P	Grup 3 (Lesirelin)		P	Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)		P
	Gebe	Boş		Gebe	Boş		Gebe	Boş		Gebe	Boş	
-7. gün	0,33±0,09	0,34±0,076	—	0,35±0,07	0,36±0,14	*	0,31±0,08	0,37±0,18	—	0,49±0,11	0,52±0,12	—
0. gün	0,33±0,09	0,36±0,10	—	0,57±0,11	0,61±0,13	—	0,31±0,08	0,37±0,19	—	0,74±0,10	0,76±0,15	—
7. gün	0,45±0,16	0,42±0,10	—	0,60±0,11	0,52±0,09	—	0,35±0,12	0,39±0,11	—	0,72±0,15	0,70±0,15	—
9. gün	0,44±0,09	0,44±0,11	—	0,55±0,18	0,52±0,07	*	0,43±0,12	0,33±0,09	*	0,58±0,08	0,57±0,09	—
10. gün	0,45±0,16	0,45±0,15	—	0,64±0,11	0,54±0,11	—	0,37±0,06	0,41±0,18	—	0,66±0,10	0,59±0,12	—
11. gün	0,50±0,13	0,48±0,14	—	0,53±0,07	0,57±0,07	—	0,35±0,06	0,37±0,12	*	0,59±0,12	0,59±0,10	—

— Gruplar arasında fark yok (P>0,05), * Gruplar arasında fark var (P<0,001)

Tablo 4.11. Grup 1, 2, 3 ve 4'te gebe kalan ve kalmayan E Vitamini değerlerinin günler arasındaki karşılaştırması (mg/dl)

		-7. gün	0. gün	7. gün	9. gün	10. gün	11. gün	P
Grup 1 (Buserelin) Median (%25-75)	Gebe	0,32 (0,26-0,41) ^a	0,33 (0,25-0,40) ^a	0,41 (0,34-0,59) ^a	0,47 (0,38-0,51) ^a	0,40 (0,35-0,57) ^a	0,44 (0,42-0,61) ^a	—
	Boş	0,33 (0,28-0,41) ^{ac}	0,35 (0,27-0,41) ^a	0,41 (0,34-0,49) ^{ac}	0,46 (0,42-0,50) ^{bc}	0,42 (0,37-0,51) ^{ac}	0,44 (0,39-0,54) ^{bc}	*
Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)	Gebe (Mean±SD)	0,35±0,07 ^a	0,57±0,11 ^b	0,60±0,12 ^b	0,55±0,18 ^b	0,64±0,11 ^b	0,53±0,07 ^b	
	Boş Median (%25-75)	0,36 (0,14-0,04) ^a	0,61 (0,13-0,04) ^b	0,52 (0,09-0,03) ^b	0,52 (0,07-0,02) ^b	0,54 (0,12-0,04) ^b	0,57 (0,08-0,02) ^b	**
Grup 3 (Lesirelin) Median (%25-75)	Gebe	0,28 (0,27-0,33) ^{ab}	0,28 (0,25-0,34) ^a	0,35 (0,24-0,40) ^{ab}	0,38 (0,36-0,50) ^b	0,37 (0,36-0,42) ^{ab}	0,37 (0,32-0,38) ^{ab}	*
	Boş	0,29 (0,25-0,34) ^a	0,28 (0,24-0,35) ^a	0,34 (0,33-0,53) ^a	0,34 (0,28-0,37) ^a	0,35 (0,29-0,47) ^a	0,34 (0,28-0,44) ^a	—
Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)	Gebe (Mean±SD)	0,49±0,11 ^a	0,74±0,10 ^b	0,72±0,15 ^{bc}	0,58±0,08 ^{ad}	0,66±0,10 ^{bde}	0,59±0,13 ^{ace}	**
	Boş Median (%25-75)	0,51 (0,46-0,60) ^a	0,73 (0,67-0,81) ^b	0,68 (0,60-0,82) ^b	0,55 (0,51-0,66) ^b	0,61 (0,50-0,63) ^b	0,57 (0,52-0,64) ^b	*

a,b,c,d,e aynı satırda farklı harfler arasında istatistiksel fark önemli, — Gruplar arasında fark yok (P>0,05),

* Gruplar arasında fark var (P<0,05), ** Gruplar arasında fark var (P<0,001)

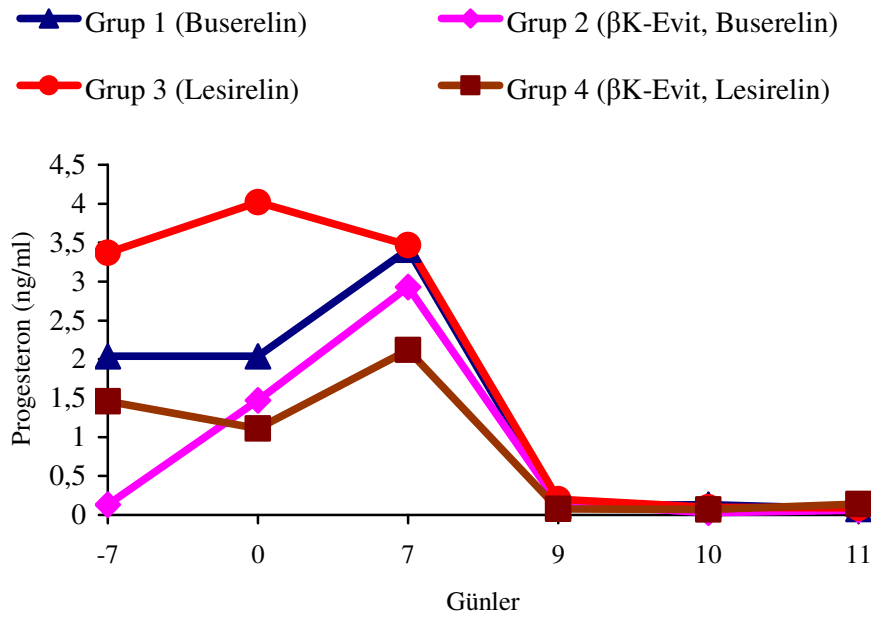
4.4. PROGESTERON DÜZEYLERİ

Çalışma sonunda tüm gruplarda gebe kalan (Tablo 4.12, Şekil 4.6) ve kalmayan (Tablo 4.13, Şekil 4.7) düvelerde, alınan serum örneklerindeki P₄ düzeyleri karşılaştırıldığında -7, 0, 7, 9, 10, ve 11. günlerde gruplar arasında istatistiki bir farka rastlanılmamıştır (P>0,05).

Tablo 4.12. Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların P₄ değerleri (ng/ml) (Median(%25-75))

	Grup 1 (Buserelin)	Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)	Grup 3 (Lesirelin)	Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)	P
-7.gün	2,04 (0,40-3,40) ^{ab}	0,13 (0,04-0,48) ^b	3,37 (2,49-4,01) ^a	1,46 (0,11-3,57) ^{ab}	P<0,05
0.gün	2,04 (0,32-3,86) ^{ab}	1,47 (0,14-2,90) ^{ab}	4,02 (1,49-5,06) ^a	1,11 (0,20-1,66) ^b	P>0,05
7.gün	3,41 (0,30-4,01) ^a	2,93 (1,99-4,27) ^a	3,47 (1,46-8,01) ^a	2,12 (0,46-5,12) ^a	P>0,05
9.gün	0,12 (0,08-0,18) ^a	0,15 (0,07-0,26) ^a	0,20 (0,08-0,35) ^a	0,08 (0,05-0,15) ^a	P>0,05
10.gün	0,13 (0,09-0,18) ^a	0,03 (0,02-0,15) ^a	0,10 (0,04-0,21) ^a	0,07 (0,04-0,13) ^a	P>0,05
11.gün	0,08 (0,05-0,14) ^a	0,06 (0,03-0,13) ^a	0,09 (0,03-0,20) ^a	0,14 (0,06-0,18) ^a	P>0,05

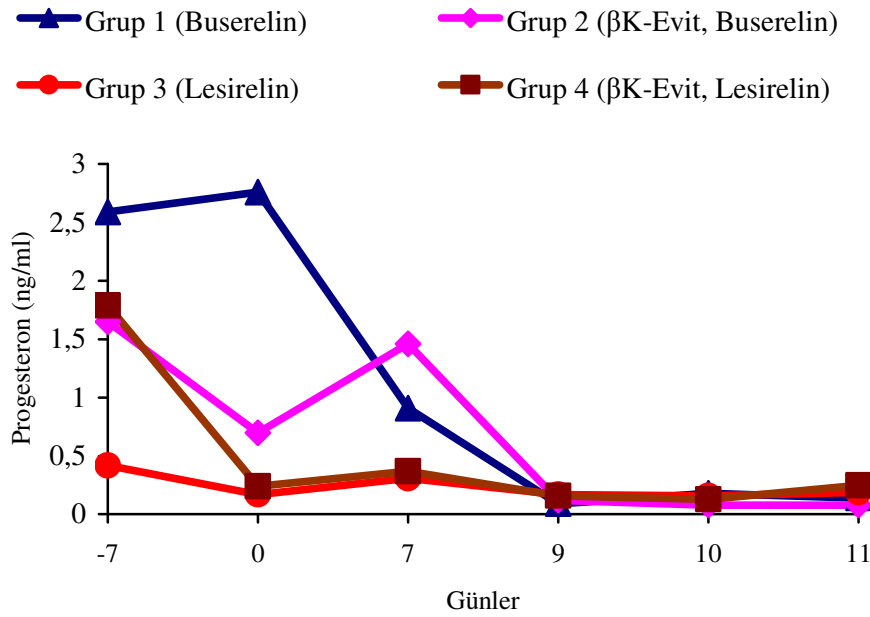
^{a,b} aynı satırda farklı harfler arasında istatistiki fark önemli



Şekil 4.6. Çalışma gruplarında gebe kalan hayvanların P₄ düzeyleri

Tablo 4.13. Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların P₄ düzeyleri (ng/ml) (Median (%25-75))

	Grup 1 (Buserelin)	Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)	Grup 3 (Lesirelin)	Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)	P
-7. gün	2,59 (1,23-4,01) ^a	1,65 (0,10-4,47) ^a	0,42 (0,08-3,10) ^a	1,79 (0,62-2,73) ^a	P>0,05
0. gün	2,76 (1,23-4,61) ^a	0,70 (0,05-1,75) ^a	0,17 (0,07-3,15) ^a	0,24 (0,15-1,27) ^a	
7. gün	0,91 (0,23-3,43) ^a	1,46 (0,19-3,60) ^a	0,31 (0,17-0,71) ^a	0,37 (0,06-1,89) ^a	
9. gün	0,09 (0,05-0,36) ^a	0,12 (0,09-0,16) ^a	0,17 (0,12-0,29) ^a	0,16 (0,08-0,21) ^a	
10. gün	0,18 (0,08-0,23) ^a	0,08 (0,05-0,20) ^a	0,16 (0,10-0,43) ^a	0,13 (0,04-0,26) ^a	
11. gün	0,14 (0,11-0,24) ^a	0,08 (0,05-0,17) ^a	0,19 (0,09-0,91) ^a	0,25 (0,06-0,49) ^a	

**Şekil 4.7.** Çalışma gruplarında gebe kalmayan hayvanların P₄ düzeyleri

Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanlarda -7, 0, 7, 9, 10 ve 11. günlerdeki P₄ düzeyleri kendi arasında karşılaştırıldığında Grup 1 ve 4'te istatistiki bir fark olmadığı (P>0,05), Grup 2 ve 3'te ise sırasıyla -7 ve 7. günlerde P₄ düzeyleri arasında istatistiki farkın önemli olduğu belirlendi (P<0,05) (Tablo 4.14).

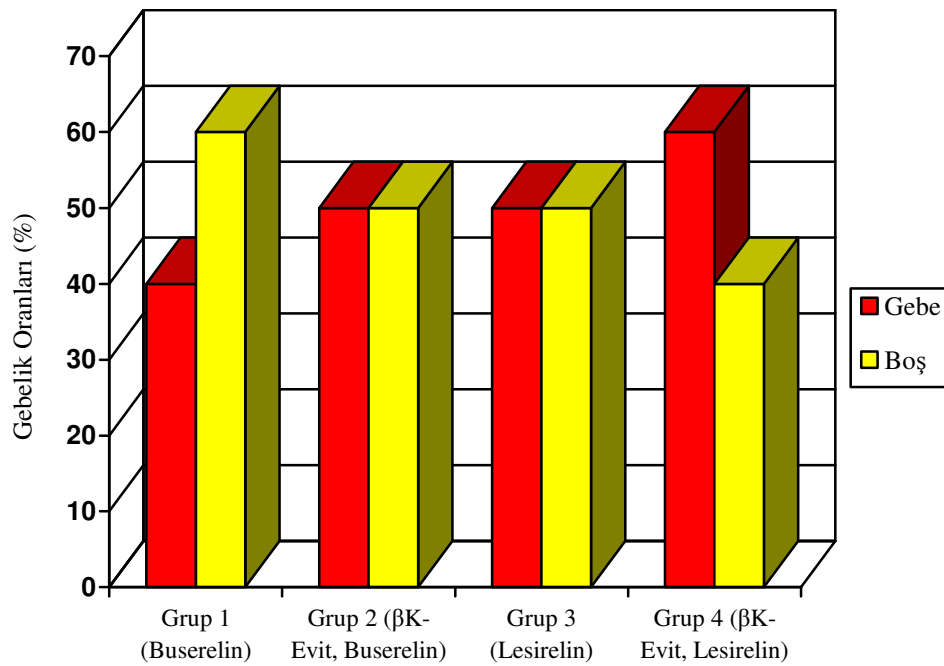
Tablo 4.14. Çalışma gruplarında gebe kalan ve kalmayan hayvanların P₄ değerlerinin kendi içinde karşılaştırılması (ng/ml) (Median (%25-75))

	Grup 1 (Buserelin)		P	Grup 2 (βK-Evit, Buserelin)		P	Grup 3 (Lesirelin)		P	Grup 4 (βK-Evit, Lesirelin)		P
	Gebe	Boş		Gebe	Boş		Gebe	Boş		Gebe	Boş	
-7. gün	2,04 (0,40-3,40)	2,59 (1,23-4,01)	—	0,13 (0,04-0,48)	1,65 (0,10-4,47)	*	3,37 (2,49-4,01)	0,42 (0,08-3,10)	—	1,46 (0,11-3,57)	1,79 (0,62-2,73)	—
0. gün	2,04 (0,32-3,86)	2,76 (1,23-4,61)	—	1,47 (0,14-2,90)	0,70 (0,05-1,75)	—	4,02 (1,49-5,06)	0,17 (0,07-3,15)	—	1,11 (0,20-1,66)	0,24 (0,15-1,27)	—
7. gün	3,41 (0,30-4,01)	0,91 (0,23-3,43)	—	2,93 (1,99-4,27)	1,46 (0,19-3,60)	—	3,47 (1,46-8,01)	0,31 (0,17-0,71)	*	2,12 (0,46-5,12)	0,37 (0,06-1,89)	—
9. gün	0,12 (0,08-0,18)	0,09 (0,05-0,36)	—	0,15 (0,07-0,26)	0,12 (0,09-0,16)	—	0,20 (0,08-0,35)	0,17 (0,12-0,29)	—	0,08 (0,05-0,15)	0,16 (0,08-0,21)	—
10. gün	0,13 (0,09-0,18)	0,18 (0,08-0,23)	—	0,03 (0,02-0,15)	0,08 (0,05-0,20)	—	0,10 (0,04-0,21)	0,16 (0,10-0,43)	—	0,07 (0,04-0,13)	0,13 (0,04-0,26)	—
11. gün	0,08 (0,05-0,14)	0,14 (0,11-0,24)	—	0,06 (0,03-0,13)	0,08 (0,05-0,17)	—	0,09 (0,03-0,20)	0,19 (0,09-0,91)	—	0,14 (0,06-0,18)	0,25 (0,06-0,49)	—

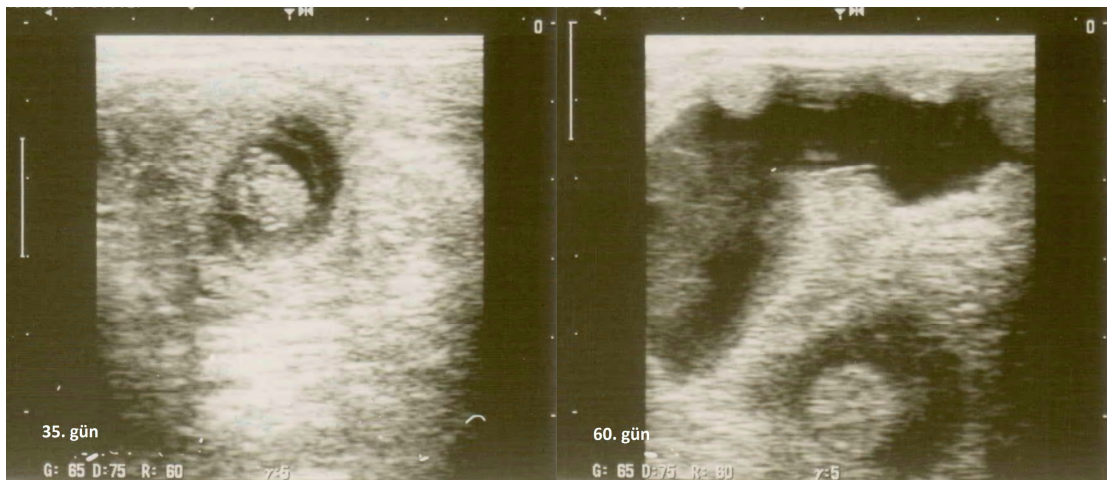
— Gruplar arasında fark yok (P>0,05), * Gruplar arasında fark var (P<0,05), ** Gruplar arasında fark var (P<0,001)

4.5. GEBELİK ORANLARI

Çalışma gruplarında, (Grup 1, 2, 3 ve 4) elde edilen gebelik oranları sırasıyla % 40 (8/20), % 50 (10/20), % 50 (10/20) ve % 60 (12/20) olarak belirlendi (Tablo 4.15, Şekil 4.8). Elde edilen gebelik oranlarının istatistiki yönden değerlendirmesinde, gruplar arasında sayısal bir artış gözlense de, bu sayısal artışın istatistiki bir önem taşımadığı tespit edildi ($P>0,05$).



Şekil 4.8. Çalışma gruplarında elde edilen gebelik oranları ($P>0,05$)



Resim 4.3. Çalışmanın 35 ve 60. günlerinde alınan gebelik görüntüleri

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Östrus siklusunu kontrol etmeye yönelik olarak yapılan tedavilerin amacı, iyi bir östrus ve ovulasyon senkronizasyonu sonrasında optimal gebelik oranları sağlamaktır (143). Prostaglandinlerin veya progestagenlerin tek başlarına kullanıldığı klasik östrus senkronizasyon programları yeterli östrus yanıtı oluşturabilmelerine rağmen, sabit zamanlı tohumlamaya olanak sağlayacak ölçüde bir ovulasyon senkronizasyonu sağlayamamaktadır (144-149). Ovaryumların senkronizasyon programlarına değişken cevaplar vermesi, sığırlarda yeni ve etkili reproduktif teknolojilerin uygulanmasında en sınırlayıcı faktördür (17). Östrus siklusunun denetlenmesi; luteal fazın uzatılması ya da kısaltılmasından, foliküler dalga düzeninin değiştirilmesine (GnRH'nın veya östradiolun kullanımı) kadar geniş uygulamaları kapsamaktadır. Östrus senkronizasyonunda başarı proöstrus süresindeki değişkenliğin denetlenmesine bağlıdır. Bu değişkenlik büyük oranda senkronizasyon periyodunun bitiminde DF'lerin farklı gelişimsel aşamalarda olmalarından kaynaklanmaktadır (147). Bu nedenle senkronizasyon programlarının sonunda büyüme fazında olan sağlıklı bir DF'nin varlığına, dolayısıyla foliküler dalga gelişiminin kontrol altına alınmasına ihtiyaç duyulmaktadır (150).

Pursley ve ark. (148), GnRH ve PGF₂ α kullanarak ovulasyon zamanını etkili bir biçimde senkronize eden bir protokol geliştirmişlerdir. Daha sonra “Ovsynch” olarak isimlendirilen bu protokolün foliküler gelişim, luteal regresyon ve ovulasyon zamanını senkronize ederek, sabit zamanlı tohumlamaya olanak sağladığı bildirilmektedir (151).

Bu çalışmada, düvelerde kullanımı tavsiye edilmeyen Ovsynch protokolünde uzun etkili GnRH kullanımı ve β -karoten + E vitamini enjeksiyonlarının ovulasyon ve gebelik oranları üzerine etkisi araştırıldı.

Sunulan çalışmada β -karoten + E vitamini kombinasyonu ile birlikte uzun etkili GnRH analogunun kullanıldığı grupta (Grup 4) en yüksek gebelik oranı (% 60) elde edilmesine rağmen gruplar arasında istatistiki bir farkın olmadığı görüldü. Ancak elde edilen gebelik oranlarındaki sayısal artışın uygulanan Ovsynch protokolünde, uzun etkili GnRH analogu ve β -karoten + E vitamini kombinasyonunun kullanılmasıyla ilişkili olduğu düşünüldü. Ayrıca aynı grupta yer alan hayvanlarda ovulasyonların büyük kısmının ikinci GnRH enjeksiyonundan sonraki 20-36. saatler arasında gerçekleştiği, diğer gruplarda ise 36-48. saatlerde meydana geldiği tespit edildi. Grup 4’te β -karoten + E vitamini kombinasyonu ile birlikte uzun etkili lesirelin asetatin kullanımının, ovulasyon mekanizması üzerinde istenilen etkiyi oluşturduğu kanaatine varıldı.

Çalışmada β -karoten + E vitamini kombinasyonunun uygulandığı gruplarda (Grup 2 ve 4) vitamin düzeylerinde Grup 1 ve 3’e göre artış görüldü. Ortaya çıkan bu artış normal olarak değerlendirildi. Ancak gruplarda yer alan hayvanların P₄ düzeyleri arasında farklılık belirlenmedi. Bu durumun kan örneklerinin alındığı zamanlarda hayvanların siklik olarak aynı dönemlerde olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Çalışma başlangıcında β -karoten + E vitamini kombinasyonunun uygulandığı hayvanların yedisinde görülen alerjik reaksiyonların, ilacın taşıt maddesi ile ilgili olabileceği kanısına varıldı. Ayrıca, alerjik reaksiyonların görüldüğü düvelerin üçünün gebe kalması sebebiyle, bu reaksiyonların çalışmada uygulanan protokol açısından risk oluşturmadığı düşünüldü.

Normal şartlar altında herhangi bir günde işletmede bulunan gebe olmayan ineklerin % 66’sının siklusun diöstrus döneminde olacağı belirtilmektedir (152). Cirit (153), çalışma gruplarında yer alan ineklerin ilk hormon uygulaması yapıldığı gün, ortalama % 41,70’inin luteal dönemde olduğunu bildirmektedir. Sunulan çalışmada, çalışma öncesi 7. günde grup 1, 2, 3 ve 4’te sırasıyla 15 (% 75), 13 (% 65), 13 (% 65) ve 11 (% 55)

adet, birinci GnRH enjeksiyonunun yapıldığı gün (0. gün) ise sırasıyla 15 (% 75), 14 (% 70), 13 (% 65), 16 (% 80) adet düvede CL saptandı. Elde edilen bulguların diğer çalışmalarla paralellik gösterdiği belirlendi.

Birçok araştırmacı (85, 148, 154), GnRH-PGF₂ α esasına dayanan protokollerde uygulanan ilk GnRH'ın, ovulasyona veya luteinizasyona neden olarak PGF₂ α enjeksiyonu anında aktif bir CL bulunma oranını artırdığını bildirmektedir. Pursley ve ark. (155), ovulasyon senkronizasyonunda PGF₂ α enjeksiyonunda CL varlığının başarıyı etkilediğini belirtmektedirler. Benzer şekilde Demiral ve ark. (156) yaptıkları çalışmada bu görüşü desteklemektedir. Yapılan çalışmada PGF₂ α enjeksiyonunun yapıldığı gün (7. gün), ilk GnRH uygulamasının yapıldığı güne göre Grup 1, 2, 3'te CL bulunan düvelerin sayısında bir artış gözlenirken, Grup 4'te azalma tespit edildi. Ortaya çıkan bu durumun elde edilen verilerle bir nedene bağlanması güçtür.

Ovsynch protokolünün kullanıldığı bir çok çalışmada (65, 78, 158), ovulasyon senkronizasyonunun başarısı, GnRH enjeksiyonundan sonraki 24-48. saatler arasında ovulasyon gösterenlerin oranı dikkate alınarak belirlenmiştir. Cirit (153), son PGF₂ α enjeksiyonundan sonraki 48-96. saatler arasında ovulasyon gösterme oranlarının % 73,7-% 87 arasında değiştiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada son GnRH enjeksiyonundan sonra 48. saate kadar grup 1, 2, 3 ve 4'te belirlenen ovulasyon oranları sırasıyla 13 (% 86,67), 16 (% 80), 14 (% 87,50) ve 14 (% 100) olarak belirlendi. Bildirilen bu verilerle sunulan çalışmada tespit edilen veriler uyum içerisindedir. Pursley ve ark. (147), laktasyondaki sütçü ineklerin % 100'ünde son GnRH enjeksiyonu sonrası 24-32. saatlerde ovulasyonların gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada Grup 1 (% 66,67), 2 (% 60), ve 3 (% 56,25)'te en yüksek ovulasyon oranı ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası 36-48. saatler arasında tespit edilirken, Grup 4 (% 71,43)'te 20-36. saatler arasında belirlendi. Bu durumun sunulan çalışmanın düveler üzerinde uygulanmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Demiral ve ark. (156) yaptıkları çalışmada Cosynch protokolü uyguladıkları düvelerde son GnRH enjeksiyonundan sonra 6 saat aralıklarla yaptıkları muayenelerde ovulasyonların (% 99,7) 42. saate kadar dağılım gösterdiğini, ancak en yüksek ovulasyon oranının (% 35) 24-30. saatler arasında meydana geldiğini bildirmektedir. Bu sonuçlarla çalışmamızda belirlenen sonuçlar arasındaki farkın çalışmada kullanılan

düvelerin bakım beslenme, yaş ve kullanılan preparatların uygulama dozlarındaki farklılıktan kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Yapılan çalışmalarda (158, 159), β -karoten'in, evcil hayvanlarda ovaryum kistlerinin görülme oranı, GnRH ve LH ile tedavi süreleri, doğumdan uterus involusyonuna kadar geçen süre, ovulasyon, ilk östrus, ilk tohumlamada gebe kalma oranı, tohumlama sayısı ile serum LH, insulin ve glukojen seviyeleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Skopets (159), ineklerde rasyona ekstra katılan β -karoten'in östrus görülme ve gebelik oranını artırıp, foliküler kist görülme oranını azalttığını, doğum sonrası puerperal hastalıkların görülme oranının azaldığını ileri sürerken, diğer araştırmacılar (160, 161), β -karotenin ineklerde reproduktif performans üzerine herhangi bir etkisi olmadığını ifade etmektedirler. Jackson ve ark. (162), plazma β -karoten konsantrasyonu düşük olan ineklerde siklus düzensizlikleri ve düşük steroid hormon seviyeleri saptadıklarını, β -karotenin CL oluşumunda etkili olduğu ve CL'de belirli oranda A vitaminine dönüşerek folliküllerin büyüklüğü arttıkça içerdiği A vitamini konsantrasyonunda artış görüldüğü bildirilmektedir. Korpus luteum'un P_4 hormonu salgıladığı ve bu hormonun da zigotun uterusu implante olmasını, gebeliğin devamını sağladığı bilinmektedir (163, 164). β -karoten ve A vitamininin erken embriyo ölümleri ile yavru atma olaylarını önleyici bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (163, 164). β -karotenin P_4 sentezi üzerinde pozitif bir etkisi olduğu ve bu pozitif etkinin β -karotenin A vitaminine lokal dönüşümü ile de açıklanabileceği ileri sürülmektedir. Bu dönüşüm için gerekli enzim olan karotinaz CL'de yer almaktadır. β -karoten'in ovaryum follikülleri için önemi, β -karoten eksikliği sırasında ovulasyonun gecikmesi ile ortaya konulmuştur. Follikül sıvısında β -karoten saptanmıştır (163, 164). Karotinaz aktivitesi preovulatorik folliküllerde küçük folliküllerdekinden 23 kat daha yüksektir. Ovaryum kisti saptanan hayvanların kanındaki β -karoten değerleri düşüktür (163, 164). β -karoten ve kolesterol düzeyleri arasında da pozitif bir ilişki olduğu ve eksikliğinde cinsiyet hormonlarının sentezinde önemli ölçüde bozukluklar meydana geldiği gözlenmiştir. β -karoten eksikliği, P_4 sentezinin azalmasına ve ovulasyonun oluşması için gerekli bir enzim olan kollegenazın yetersizliğine sebep olmakta, kandaki β -karoten düzeyi düştüğünde ovaryum kistleri, sakin kızgınlık, ovulasyonda gecikme ve abort olayları görüldüğü ileri sürülmektedir (164).

Farklı dozlarda (50, 100, 200 ve 600 mg) uygulanan β -karoten'in plazma β -karoten düzeyini artırdığı bildirilmiştir (115, 165, 166). Yapılan bir çalışmada, β -karoten yönünden yeterli rasyonla beslenen hayvanların ovulasyon, östrus ve CL'nin normal seyrinde şekillendiği, β -karoten yönünden yetersiz rasyonla beslenen hayvanlarda ise fertilite problemleri olduğu gözlenmiştir (117). Ayrıca farklı dozlarda β -karoten uygulamalarının ilk tohumlamadaki gebelik oranını artırdığı belirtilmektedir (165, 167). Sunulan çalışmada β -karoten uygulanan Grup 2 ve 4'te yer alan düvelerde serum β -karoten düzeylerinin bir hafta sonra çok önemli düzeyde ($P<0,001$) arttığı belirlendi. Ayrıca bu gruplarda elde edilen gebelik oranları β -karoten uygulanmayan Grup 1 ve 3'te elde edilen gebelik oranlarından nispeten yüksek ($P>0,05$) olduğu tespit edildi.

Wang (115), düvelerde yaptığı çalışmada günlük olarak 300 mg ve 600 mg β -karoten'i yeme karıştırmıştır. Çalışma sonunda serum β -karoten düzeyinde belirgin bir artış olduğunu bildirmesine rağmen, β -karoten düzeyinin P_4 düzeyini, östrus aktivitesini ve konsepsiyon oranlarını etkilemediğini belirtmiştir. Wang (115), β -karoten uyguladığı Grup 1, 2 ve 3'te gebelik oranlarını sırasıyla % 67, % 67 ve % 44, kontrol gruplarında sırasıyla % 56, % 22 ve % 44 olarak bildirmiştir. Sunulan çalışmada β -karoten uygulanan Grup 2 ve 4'te gebelik oranı sırasıyla % 50 ve % 60, β -karoten uygulanmayan Grup 1 ve 3'te ise sırasıyla % 40 ve % 50 olarak belirlendi. Bildirilen sonuçlarla sunulan çalışmada belirlenen verilerin benzer olduğu kanısına varıldı.

Arechiga Flores (168), ineklerde 800 mg β -karoten'i üç gün aralıkla üç kez im uygulayarak yaptığı çalışmada β -karoten düzeyinde bir artış olduğunu, ancak bu durumun fertilite parametrelerini etkilemediğini bildirmiştir. Sunulan çalışmada β -karoten uygulanan gruplarda β -karoten düzeyinde belirgin bir artış olduğu ve gebelik oranlarında nispeten bir artışa neden olduğu belirlendi. Sunulan çalışma ile bildirilen çalışma arasındaki bu farkın kullanılan preparatların farklı olması, çalışma deneklerinin, bulundukları coğrafi ortam ve bakım-besleme koşullarının farklılığından kaynaklanabileceği kanaatine varıldı.

Arechiga Flores (168), ineklerde pp 30. günde yaptığı çalışmada tek doz 500 mg E vitamini ve 109.5 mg sodyum seleniti im olarak uygulamıştır. Çalışma sonunda vitamin E ve Se enjeksiyonu yapılan ineklerde, buzağılama-ilk tohumlama ve ilk tohumlamada gebelik oranları üzerine bir etkisi olmadığını, ancak ikinci tohumlamalarda gebelik oranının yükseldiğini bildirmiştir. Ortaya konan bu sonucun sürpriz olmadığını, E

vitamini ve Se'nin tek doz enjeksiyonunun, moleküllerin uzun etkilerinden dolayı uygulamadan birkaç hafta sonra reproduktif fonksiyonlar üzerinde pozitif bir etki oluşturacağını belirtmiştir. Charmley ve ark. (169), E vitamini enjeksiyonundan sonra vitamin düzeyin yükselmesinin en erken 28. günde belirlendiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada E vitamini uygulanan gruplarda (Grup 2 ve 4), uygulanmayan gruplara oranla nispeten yüksek bir gebelik elde edildi. Ancak çalışma gruplarında yer alan düvelerden alınan serum örneklerinde yapılan E vitamini ölçümlerinde, gebe kalan ve kalmayanlar açısından gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde istatistiki bir fark olmadığı sonucuna varıldı. Bu durumunun bildirilen çalışmalarda belirtilen sebeplerden kaynaklanabileceği düşünüldü.

Harrison ve ark. (170), ineklerde doğum öncesi yeme ortalama 0,32 g E vitamini ve 5 mg/ml Se'i yeme katarak uyguladıkları çalışmada, bu iki maddenin erken pp dönemde uterus ve ovaryum fonksiyonları üzerine olumlu etkileri olduğunu bildirmektedirler. Benzer şekilde Sattar ve ark. (171), 50 mg/ml E vitamini ve 5 mg Sodyum selenit içeren preparatı bir hafta aralıklarla im olarak ineklere uyguladıkları çalışmada, ilk enjeksiyonu beklenen doğum zamanından 40-60 gün önce yapmışlardır. Sonuç olarak doğum öncesinde yapılan vitamin E ve Se enjeksiyonlarının pp reproduktif parametreler üzerinde pozitif bir etkisi olduğunu belirtmektedirler. Bourne ve ark. (172) ise ineklerde yaptıkları çalışmada doğum öncesi ve sonrası olmak üzere iki kez im olarak E vitamini ve Se içeren preparattan 15 ml uygulamışlardır. Çalışma sonunda E vitamini ve Se uygulamalarının buzağılama-ilk tohumlama ve buzağılama-konsepsiyon aralığı üzerinde istatistiki bir fark oluşturmadığını, ancak retensio sekundinarum üzerine yararlı etkisi olduğunu bildirmektedirler. Sunulan çalışmada tüm gruplar kendi içinde gebe olan ve olmayan düvelerin vitamin E düzeyleri karşılaştırıldığında önemli düzeyde farklılık belirlenmedi. Ancak tüm gruplar vitamin E düzeyleri açısından karşılaştırıldığında önemli farklılıklar belirlendi. Sunulan çalışmadan elde edilen veriler Harrison ve ark. (170), Sattar ve ark (171) bildirdiği sonuçlarla uyum içerisinde iken Bourne ve ark. (172)'nin sonuçları ile uyuşmamaktadır. Bu durumun çalışmanın yapıldığı coğrafi bölge, hayvanların bakım beslenme koşulları ile çalışmada kullanılan deneklerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Chawla ve Kaur (173), yaptıkları çalışmada bir gruba 1000 IU E vitamini ve 300 mg β -karoten, bir gruba sadece 1000 IU E vitaminini oral olarak doğum öncesi 30. günden,

doğum sonrası ikinci haftaya kadar uygulamışlardır. Çalışma sonunda β -karoten ve E vitamininin birlikte uygulandığı grupta diğer gruplara oranla her iki vitamin düzeyinin yüksek olduğunu, tüm gruplara vitamin düzeylerinin doğuma doğru azaldığını ve doğum sonrasında artış gösterdiğini bildirmektedirler. Doğum öncesi ve sonrasında yaşanan bu durumun kolostrum ile ilgili olabileceğine dikkat çekmektedirler. Sunulan çalışmada β -karoten ve E vitamini uygulanan gruplarda uygulanmayan gruplara göre her iki vitamin düzeyinde belirgin bir artış belirlendi. Çalışma sonunda vitamin düzeylerinde düşüş görülse de, Chawla ve Kaur (173)'un bildiği sonuçlarla farklı olduğu değerlendirildi. Bu durumun vitaminlerin uygulanma yolu ve örnekleme zamanlarının farklı olmasından kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Yıldız ve ark. (174), çiftleşme sonrası gebe kalan ve kalmayan ineklerde yaptıkları çalışmada çiftleşme sonrası 24. güne kadar dört günde bir aldıkları kan örneklerinde serum P_4 , vitamin A, E C ve β -karoten düzeylerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda gebe kalan ve gebe kalmayan ineklerde ortalama E vitamini ve β -karoten düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmektedirler. Sonuç olarak gebe kalan ineklerde tohumlama sonrası serum vitamin A, E ve β -karoten düzeylerinin sıklık ineklere oranla yüksek olduğunu, bu durumun CL'dan P_4 sentezinde etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada tüm gruplarda gebe kalan ve kalmayan düvelerin çalışma günleri arasında vitamin E ve β -karoten düzeylerinin karşılaştırılmasında E vitamini ve β -karoten uygulanan gruplarda istatistiki fark önemli bulundu. Ancak tohumlama sonrası gebe kalan ve kalmayan düvelerde E vitamini ve β -karoten düzeyleri açısından bir farklılık tespit edilmedi.

Parmigiani ve ark. (175) çalışmamızda kullanılan β -karoten ve vitamin E içeren preparatı kullandıkları çalışmada, ineklerde buzağılama-ilk östrus, buzağılama-konsepsiyon aralığının kısaldığını, gebelik oranlarını artırdığını bildirmektedirler. Sunulan çalışmada da elde edilen gebelik oranları bu sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Graves Hoagland ve ark. (121), yaptıkları çalışmada β -karoten ve P_4 düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Schweigert ve Zucker (113), yaptıkları çalışmada E vitamini ve β -karoten düzeyleri ile P_4 düzeyleri arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Naziroglu ve ark. (176) yaptıkları çalışmada ineklerde E vitamini ile P_4 düzeyi arasında negatif bir korelasyon olduğunu bildirmektedir. Yıldız

ve ark. (174), gebe ineklerde E vitamini ve β - karoten düzeyi ile P₄ düzeyi arasında negatif bir ilişki olduğunu, gebe olmayan ineklerde herhangi bir ilişki olmadığını bildirmektedirler. Sunulan çalışmada da tüm gruplarda E vitamini ve β -karoten düzeyleri ile P₄ düzeyleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. Ayrıca elde edilen verilerle çalışmalarda bildirilen veriler arasında farklılık gözlemlendi. Bu durumun araştırmalarda uygulanan metot farklılığından ve deneklerin bakım beslenme durumlarından kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Pursley ve ark. (60) Ovsynch uyguladıkları ineklerde gebelik oranını %55 olarak bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada Grup 1, 2, 3 ve 4'te elde edilen gebelik oranları sırasıyla % 40, % 50, % 50 ve % 60 olarak belirlendi. Grup 2, 3 ve 4'te elde edilen sonuçların bildirilen çalışma ile paralel olduğu, Grup 1'de elde edilen gebelik oranının düşük olmasının ise sunulan çalışmanın düvelerde yapılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Burke ve ark. (177) ineklerde yaptıkları Ovsynch protokolünde elde edilen gebelik oranını % 29 olarak bildirirken, Stevenson ve ark. (172) ise elde ettikleri gebelik oranını % 35,3 olarak bildirmektedir. Portaluppi ve Stevenson (88) ise, gerçekleştirdikleri çalışmada Cosynch (% 22,8) ve Ovsynch (% 23,5) programları arasında gebelik oranları açısından bir fark olmadığını bildirmektedirler. Vasconcelos ve ark. (59), Ovsynch ile yaptıkları çalışmada, 0. gün ovaryumlarında ovule olabilecek büyük folliküllerin izlendiği ineklerde gebelik oranının (% 32), küçük folliküllere sahip ineklerle (% 42) kıyaslandığında belirgin olarak daha düşük olduğunu belirtmektedirler. Sunulan çalışmada Grup 1 (% 40)'de elde edilen gebelik oranı ile benzer bulunurken Grup 2 (% 50), 3(%50), ve 4 (% 60)'te elde edilen gebelik oranları bildirilen çalışmalardan yüksek bulundu. Bunun nedeninin çalışmalarda kullanılan GnRH preparatlarının farklı olması ve çalışmamızda Ovsynch protokolünün β -karoten ve E vitamini uygulamaları ile kombine edilmesinden ileri gelebileceği kanaatine varıldı.

Schmitt ve ark. (179), düvelerde ikinci GnRH enjeksiyonu yerine hCG kullandıkları grupta % 53, GnRH kullanılan Ovsynch grubunda % 45,5 gebelik oranı bildirmektedirler. Çalışmamızda Grup 1, 2 ve 3'te elde edilen gebelik oranları bildirilen çalışma bulguları ile uyum içerisinde bulunurken iken, Ovsynch grubunda Grup 4'te elde edilen gebelik oranından düşük bulundu. Bu durumun nedeninin sunulan çalışmada

Grup 4'te β -karoten ve E vitamini kombine edilen Ovsynch protokolünde uzun etkili olduğu belirtilen lesirelin asetat kullanılması olabileceği kanaatine varıldı.

Demiral ve ark. (156)'nın, gerçekleştirdiği çalışmada ise Cosynch programı ile inek ve düvelerde elde edilen gebelik oranları % 41 ve % 51 olarak bildirilmektedir. Rose (39), düvelerde uyguladığı Ovsynch protokolünde % 50 gebelik oranı elde ettiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada Ovsynch protokolünün uygulandığı Grup 1 ve 3'te yer alan düvelerde gebelik oranı sırasıyla % 40 ve % 50, β -karoten ve E vitamini kombinasyonu ile birlikte Ovsynch protokolünün uygulandığı Grup 2 ve 4'te yer alan düvelerde gebelik oranı sırasıyla % 50 ve % 60 olarak belirlendi. Sunulan çalışmada elde edilen verilerle Demiral ve ark. (156) ile Rose (39)'un bildirdiği gebelik oranları benzer bulundu.

Kırbaş ve ark. (180) GnRH analogu olarak lesirelin asetat kullandıkları Ovsynch protokolünün başlangıcında havyanları luteal döneme göre ayırarak yaptıkları çalışmada luteal dönemde olan ve olmayan düvelerde gebelik oranlarını sırasıyla % 41,9 ve % 39,1 olarak bildirmektedirler. Öztürk (181) pp dönemde ineklerde Ovsynch protokolünde lesirelin asetat kullanarak yaptığı çalışmada elde edilen gebelik oranlarını siklik ve asiklik ineklerde sırasıyla % 32,8 ve % 23,1 olarak bildirmektedir. Sunulan çalışmada lesirelin asetatın kullanıldığı Grup 3 ve 4'te gebelik oranları sırasıyla % 50 ve % 60 olarak belirlendi. Elde edilen oranlardaki bu farklılığın kullanılan preparat dozu, hayvanların bulunduğu coğrafi bölge, bakım ve beslenme koşulları, yaş ve canlı ağırlık ile ilgili olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak, bu çalışmada düvelerde uzun etkili GnRH analogları ve β -karoten + E vitamini kombinasyonu ile yapılan Ovsynch protokolünün gebelik oranlarını artırdığı belirlendi. Ayrıca bu kombinasyonun özellikle çiftleşme olgunluğuna ulaşan düvelerin kısa sürede gebe kalmasında ucuz ve etkin bir metot olarak kullanılabileceği düşünüldü.

6. KAYNAKLAR

1. Kalkan C, Horoz H. Pubertas ve Seksüel Sikluslar. Kitap: Alaçam E. (Editör), Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan, Ankara 1999; ss:25-42.
2. Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, Arthur GH. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics (8th ed), WB Saunders, Philadelphia 2001; 3-53.
3. Fike KE, Bergfeld EG, Cupp AS, Kojima FN, Mariscal F, Sanchez T, Wehrman ME, Grotjan HE, Hamernik DL, Kittok RJ, Kinder JE. Gonadotropin secretion and development of ovarian follicles during oestrous cycles in heifers treated with luteinizing hormone releasing hormone antagonist. Anim Reprod Sci 1997; 49: 83-100.
4. Prevediville DJ, Enright WJ, Crove MA, Finnerty M, Roche JF. Normal or induced secretory patterns of luteinising hormone and follicle-stimulating hormone in anoestrous gonadotrophin-releasing hormone-immunised and cyclic control heifers. Anim Reprod Sci 1996; 45: 177-190.
5. Carruthers TD. Principles of Hormone Therapy in Theriogenology. In: Morrow DA (ed), Current Therapy in Theriogenology (2nd ed), W.B. Saunders, Philadelphia 1986; pp 3-13.
6. Gore-Langton RE, Armstrong DT. Follicular Steroidogenesis and Its Control. In: Knobil E, Neill JD (eds). The Physiology of Reproduction Volume 1. (2nd ed), Raven Press Ltd, New York 1994; pp 571-627.

7. O'Rourke, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Anim Reprod Sci* 2000; 59: 1-12.
8. Bo GA, Bergfeit DR, Brogliatti GM, et al. Local versus systemic effect of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progesterone implants. *Anim Reprod Sci* 2000; 59: 141-157.
9. Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TAM, van Eerdenburg FJCM. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrus behavior in dairy cattle. *Theriogenology* 2000; 53: 1783-1795.
10. McDonald LE, Pineda MH. *Veterinary Endocrinology and Reproduction* (4th ed) Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1989.
11. Peters AR, Ball PJH. *Reproduction in Cattle* (2nd ed) Blackwell Science Ltd, Cambridge, 1995.
12. Momcilovic D, Archibald LF, Walters A, et al. Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and/or prostaglandin F2 α (PgF2 α) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology* 1998; 50: 1131-1139.
13. İleri İK, Ak K, Pabuçcuoğlu S, Birler S. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını. Ders Notu No: 84, İstanbul, 1998.
14. Webb R, Armstrong DG. Control of Ovarian Function; Effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: A Review. *Livestock Production Science* 1998; 53: 95-112.
15. Wiltbank MC, Fricke PM, Sangsritavong, Sartori R, Ginther OJ. mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2000; 83: 2998-3007.
16. Rathbone MJ, Macmillan KL, Inskeep K, Burggraaf S, Bunt CR. Fertility regulation in cattle. *Journal of Controlled Release*. 1998; 54: 117-148.
17. Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 1995; 43: 31-40.
18. Yaakub H, Duffy P, O'Callaghan D, Boland MP. Effect of Timing of oestradiol benzoate injection relative to gonadotropin treatment on superovulatory response, and on embryo yield and quality in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 1998; 52: 191-204.

19. Yılmaz B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi (1st ed), Feryal Matbaacılık, Ankara, 1999.
20. Kojima FN. The estrus cycle in cattle; Physiology, endocrinology and follicular waves. *The Professional Animal Scientist* 2003; 19: 83-85.
21. Rhodes FM, Fitzpatrick LA, Entwistle KW, Kinder JE. Hormone concentrations in the caudal vena cava during the first ovarian follicular wave of the oestrus cycle in heifers. *J Reprod Fertil* 1995; 104: 33-39.
22. Peters KE, Bergfeld EG, Cupp AS, et al. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea but not required to maintain CL function in heifers. *Biol Reprod* 1994; 51(6): 1248-1254.
23. Cupp AS, Stumpf TT, Kojima FN, et al. Secretion of gonadotropins change during the luteal phase of the bovine oestrus cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17 β oestradiol. *Anim Reprod Sci* 1995; 37: 109-119.
24. Sunderland SJ, Crowe MA, Boland MP, Roche JF, Ireland JJ. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil* 1994; 101: 547-555.
25. Beard AJ, Castillo RJ, McLeod BJ, Glencross RG, Knight PG. Comparison of the effects of crude and highly purified bovine inhibin (Mr 32,000) on plasma concentrations of FSH and LH in chronically ovariectomized prepubertal heifers. *J Endocrinol*. 1990; 125: 21-30
26. Glencross RG, Bleach ECL, Wood SC, Knight PG. Active immunization of heifers against inhibin: Effects on plasma concentrations of gonadotrophins, steroids and ovarian follicular dynamics during prostaglandin-synchronized cycle. *J Reprod Fertil*. 1994; 100: 599-605.
27. O'Shea T, Hillard MA, Anderson ST, et al. Inhibin immunization for increasing ovulation rate and superovulation. *Theriogenology* 1994; 41: 3-17.
28. Kaneko H, Nakanishi Y, Taya K, et al. Evidence that inhibin is an important factor in the regulation of FSH secretion during the mid-luteal phase in cows. *J Endocrinol* 1993; 136:35-41
29. Kaneko H, Taya K, Watanabe G, et al. Inhibin is involved in the suppression of FSH secretion in the growth phase of the dominant follicle during the early luteal phase in cows. *Domest Anim Endocrinol* 1997; 14: 263-271.
30. Padmanabhan V, McNeilly AS. Is there FSH-releasing factor? *Reproduction* 2001; 121: 21-30.

31. Kojima FN, Chenault JR, Wehrman ME, et al. Melengestrol acetate at greater doses than typically used for estrous synchrony in bovine females does not mimic endogenous progesterone in regulation of secretion of luteinizing hormone and 17 β - estradiol. *Biol Reprod* 1995; 52: 455-463.
32. Kaneko H, Terada T, Taya K, et al. Ovarian follicular dynamics and concentrations of oestradiol-17 β , progesterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrouscycle in the cow. *Reprod Fertil Dev* 1991; 3: 529-535.
33. Kojima FN, Bergfeld EGM, Wehrman ME, et al. Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim Reprod Sci* 2003; 77(3): 187-211.
34. Sirois J, Fortune JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 1988; 39: 308-317.
35. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70: 3615-3626.
36. Sirois J, Fortune JE. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 1990; 127: 916-925.
37. Turzillo AM, Fortune JE. Suppression of the secondary FSH surge with bovine follicular fluid is associated with delayed ovarian follicular development in heifers. *J Reprod Fertil* 1990; 89: 643-653.
38. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, Ginther OJ. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil* 1992; 94: 177-188.
39. Rose CM. Novel approaches to synchronize ovulation and improve conception rates to timed-AI in dairy heifers, Master thesis, Mississippi State University Animal and Dairy Science Mississippi, 2002; pp 8-17.
40. Alaçam E. Evcil Hayvanlarda Üremenin Denetlenmesi. Kitap: Alaçam E (Editör) Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Suni Tohumlama Obstetrik ve İnfertilite. Nurol Matbaacılık, Ankara 1990; ss 71-75.
41. Odde KG. A review of snchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci* 1990; 68: 817-830.

42. Alaçam E. Üremenin Kontrolü. Kitap: Alaçam E (Editör) Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan Yayınevi, Ankara. ss 71-80.
43. Mihm M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cows. *Reprod Dom Anim* 1999; 34: 277-284.
44. Graves WM, Lauren EM. (2009). Dairy herd synchronization programs. Erişim: [<http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/B1227.htm>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009.
45. Wiltbank JN, Gonzalez-Padilla E. Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 1975; 15: 255-262.
46. Rensis FD. (2001). The control of reproduction in dairy cow. Erişim: [http://www.veterinaribrescia.it/conv/2001/16/De_Rensis.pdf] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
47. Fricke PM. (2004). The implementation and evolution of timed artificial insemination protocols for reproductive management of lactating dairy cows. Erişim [http://www.wisc.edu/dysci/uwex/rep_phys/pubs/ImplementationAndEvolutionofTAIProtocols.pdf] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
48. Whittier JC, Geary TW. Frequently asked questions about synchronizing estrus and ovulation in beef cattle with GnRH. Prepared for Iowa Cooperative Extension CHIPS Beef Breeding Management Seminar, Ames, January 29, 2000.
49. Thatcher WW, Moreira F, Pancarci SM, Bartolome JA, Santos JE. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domest Anim Endocrinol* 2002; 23 (1-2): 243-254.
50. Bartolome JA, Archbald LF, Morreseey P, et al. Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. *Theriogenology* 2000; 53 (3): 815-825.
51. Grant E. (2005). Estrous synchronization programs that help rebreed anestrous cows. Erişim: [<http://www.naab-css.org/education/timing.html>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
52. Yaniz JL, Murugavel K, Lopez-Gatius F. Recent developments in oestrous synchronization of postpartum dairy cows with and without ovarian disorders. *Reprod Dom Anim* 2004; 39 (2): 86-93.
53. Demirel A, Bozdağ G, Gürkan T. GnRH agonistleri ve antagonistleri: güncel yönleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2006; 13 (2): 135-140.

54. Millar RP. GnRHs and GnRH receptors. *Anim Reprod Sci* 2005; 88 (1-2): 5-28.
55. Schneider F, Tomek W, Gründker C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology* 2006; 66 (4): 691-709.
56. Padula AM. GnRH analogues—agonists and antagonists. *Anim Reprod Sci* 2005; 88 (1-2): 115-126.
57. Peters AR. Veterinary clinical application of GnRH-questions of efficacy. *Anim Reprod Sci* 2005; 88 (1-2):155-167.
58. Herbert CA, Trigg TE. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim Reprod Sci* 2005; 88 (1-2): 141-153.
59. Martin R, Schmauber M, Seidl S, Schmauder S, Mansfeld R. Use of lecorelin in dairy cows to improve the conception rate at first insemination. *Der Praktische Tierarzt*. 2005; 86 (12): 914-918.
60. Fricke PM. (2004) Ovsynch, Presynch and the Kitchen-Synch: What's up with Synchronization Protocols? Erişim: [<http://www.wisc.edu/dysci/uwex/brochures/brochures/fricke.pdf>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
61. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology* 1995; 52: 1067-1078.
62. Pursley JR, KosorokMR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci* 1997; 80: 301-306.
63. Rabiee AR, Lean IJ, Stevenson MA. Efficacy of ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: A Meta-Analysis. *J Dairy Sci* 2005; 88: 2754-2770.
64. Palasz A, Garcia A, Gonzales A, Mapletoft RJ. Luteinizing hormone release in the cow: The effect of dose of two commercial gn timer preparations. *Theriogenology* 1989; 31 (1, abst): 237.
65. Kesler DJ and Steckler TL (2002) Synchronization of Estrus with Heatsynch. [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=375>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009.
66. Vasconcelos JLM, Silcox RM, Rosa GC, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999; 52(6): 1067-1078.

67. Moreira F, de la Sota RL, Diaz T, Thatcher WW. Effect of the day of estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J Anim Sci* 2000; 78: 1568-1576.
68. Thatcher WW, Moreira F and Risco CA (2005) New strategies to increase pregnancy rates. Erişim: [<http://www.naab-css.org/education/Thatcher.html>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
69. Stevenson JS. Synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *Advances in Dairy Technology* 2001; 13: 379-392,
70. Thatcher WW, Bartolome JA, Sozzi A, Silvestre F, Santos JEP. Manipulation of ovarian function for the reproductive management of dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 2004; 28: 111-119.
71. O'Connor ML. (2002) Estrus synchronization programs for the dairy herd. Erişim: [<http://www.das.psu.edu/teamdairy>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
72. Stevenson JS, Phatak AP. Inseminations at estrus induced by presynchronization before application of synchronized estrus and ovulation. *J Dairy Sci* 2004; 88: 399-405.
73. Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, Aali M, Dinn N. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology* 2005; 64(7): 1457-1474.
74. Kesler DJ. (2002) Synchronization of Estrus in Heifers with MGA and PGF2 α . Erişim: [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=341>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
75. Kesler DJ (2002) A New Procedure to Synchronize Estrus in Dairy Heifers: Progesterone Inserts and PGF2 α . Erişim: [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=342>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009.
76. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. Use of intravaginal progesterone releasing inserts in a synchronization protocol before timed AI and for synchronizing return to estrus in holstein heifers. *J Dairy Sci* 2005; 88: 957-968.
77. Moreira F, Risco C, Pires MFA, et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology* 2000; 53: 1305-1319.
78. Foster H, Whittier JC, Burns PD, et al. Half dose GnRH does not affect pregnancy rates with the Cosynch synchronization protocol. *J Anim Sci* 2001; 79(Suppl 2): 132.

79. Fricke PM, Guenther JN, Wiltbank MC. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 1998; 50(8): 1275-1284.
80. Navanukraw C, Redmer DA, Reynolds RP, Kirsch JD, Grazul-Bilska AT, Fricke PM. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 1551-1557.
81. Lopez FL, Arnold DR, Williamns J, et al. Use of estradiol cypionate for timed insemination. *J Dairy Sci* 2000; 78(Suppl 1): 216.
82. Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, et al. Use of estradiol cypionate in a Presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002; 85: 122-131.
83. Stevenson JS, Tiffany SM, Lucy MC. Incidence and timing of estrus, LH surge, and ovulation in cows treated with the Ovsynch protocol with estradiol cypionate (ECP) Substituting for GnRH. *J Dairy Sci* 2000; 85(Suppl 1): 99.
84. Bartolome JA, Silvestre FT, Artech ACM, et al. The use of Ovsynch and Heatsynch for resynchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography. *J Dairy Sci* 2002; 85(Suppl 1): 99.
85. Lemaster JW, Yelich JV, Kempfer JR, et al. Effectiveness of GnRH plus prostaglandin F2 α for estrus synchronization in cattle of *Bos indicus* breeding. *J Anim Sci* 2001; 79(2). 309-316.
86. StevensonJS, ThompsonKE, ForbesWL, et al. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2 α with or without timed insemination. *J Anim Sci* 2000; 78: 1747-1758.
87. Keith BR, Leslie KE, Johnson WH, Walton JS. Effect of presynchronization using prostaglandin F2 α and a milk-ejection test on pregnancy rate after the timed artificial insemination protocol, Ovsynch. *Theriogenology* 2005; 63(3): 722-738.
88. Portaluppi MA, Stevenson JS. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variations of the ovsynch protocol. *J Dairy Sci* 2005; 88: 914-921.
89. DeJarnette M, Marshall CE. Effects of Presynchronization using combinations PGF(2 α) and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 2003; 77(1-2): 51-60.

90. Kesler DJ. (2004) Estrus Synchronization with CIDRs. Erişim [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=6571>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009
91. Patterson DJ, Kojima FN, Smith MF. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *J Anim Sci* 2003; 81: 166-177.
92. Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA, Wood-Follis SL. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2039-2049.
93. Stevenson JS, Johnson SK, Medina-Britos MA, Richardson-Adams AM, Lamb GC. Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. *J Anim Sci* 2003; 81: 1681-1692.
94. Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, et al. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows using the ovsynch and heatsynch protocols initiated 7 days before pregnancy diagnosis on day 30 by ultrasonography. *Reproduction, Fertility and Development* 2004; 16(2): 126–127.
95. Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, et al. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows III. Administration of GnRH 23 days post AI and ultrasonography for nonpregnancy diagnosis on day 30. *Theriogenology* 2005; 63(6): 1643-1658.
96. Champe PC, Harvey RA. Biyokimya. Leppincott's Illustrated Reviews Serisi (2.Baskı), Nobel Kitabevleri, Istanbul, 1997.
97. Folman Y, Rosenberg M, Ascarelli M, Kaim M, Herz Z. The effect of dietary and climatic factors on fertility and on plasma progesterone and oestradiol-17 β levels in dairy cows. *J Steroid Biochem* 1983; 19: 863-868.
98. Gaines J. The relationship between nutrition and fertility in herds. *Food Anim Prac* 1998; 997-1002.
99. Randel RD. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J Anim Sci* 1990; 68: 853-862.
100. McDowell P. Vitamins in animal nutrition: vitamin A. Academic Press. Inc. San Diego. California, 1998; pp 10-54.
101. Chew BP. Effect of supplemental β -carotene and vitamin A on reproduction in swine. *J Anim Sci* 1993; 71: 247-252.

102. Peltier MM, Peltier MR, Sharp DC, Ott EA. Effect of β -carotene administration on reproductive function of horse and pony mares. *Theriogenolgy* 1997; 48: 893-906.
103. Schweigert FJ, Rambeck WA, Zucker H. Transport of β -carotene by the serum lipoproteins in cattle. *J Anim Physiol Anim Nutr* 1987; 57: 162-167.
104. Crabtree DV, Adler AJ. Is β -carotene an antioxidant. *Med Hypoth* 1997; 48(2): 183-187.
105. Siems WG, Sommerburg O, van Kuijk FJGM. Lycopene and β -carotene decompose more rapidly than lutein and zeaxanthin upon exposure to various pro-oxidants in vitro. *Biofact* 1999; 10: 105-113.
106. Young FM, Luderer WB, Rodgers RJ. The antioxidant β -carotene prevents covalent cross-linking between cholesterol side chain cleavage cytochrome P450 and its electron donor adrenodoxin in bovine luteal cells. *Mol Cell Endocrinol* 199; 109: 113-118.
107. Edge R, Truscott TG. Prooxidant and antioxidant reaction mechanisms of carotene and radical interactions with vitamins E and C. *Nutr* 1997; 13(11-12): 992-994.
108. Edge R, McGarvey DJ, Truscott TG. The carotenoids as anti-oxidants-A Review. *J Photochem Photobiol B Biol* 1997; 41(39): 187-200.
109. Arikan S, Rodway RG. Effect of high density lipoprotein containing high or low β -carotene concentrations on progesterone production and β -carotene uptake and depletion by bovine luteal cells. *Anim Reprod Sci* 2000; 62: 253-263.
110. Hiramatsu M, Parker L. Antioxidant activity of retinoids. *Methods Enzymol* 1990; 190: 273-280.
111. Swanson KS, Merchen NR, Erdman JW, et al. Influence of dietary vitamin A content on serum and liver vitamin A concentrations and health in preruminant holstein calves fed milk replacer. *J Dairy Sci* 2000; 83: 2027-2036.
112. Pusateri AE, Diekman MA. Failure of vitamin A to increase litter size in sows receiving injections at various stages of gestation. *J Anim Sci* 1999; 77: 1532-1535.
113. Schweigert FJ, Zucker H. Concentrations of vitamin A, β -carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *J Reprod Fertil* 1988; 82: 575-579.
114. Tekpetey FR, Palmer WM, Ingallas JR. Seasonal variation in serum β -carotene and vitamin A and their association with post partum reproductive performance of holstein cows. *Can J Anim Sci* 1988; 67: 491-500.

115. Wang JY, Hafi CB, Larson LL. Effect of β -carotene supplementation on periparturent health and reproduction of holstein cows. *Anim Rep Sci* 1987; 15: 133-144.
116. Hemken RW, Bremel DH. Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle. *J. Dairy Sci* 1982; 65(7): 1069-1073.
117. Şanlı Y, İmren HY, Kaya S, Koç B, Kahraman M. Isparta yöresinde doğmuş buzağılarda görülen amorazis olguları ile gebe ineklerde karşılaşılan kronik nitrat zehirlenmeleri arasındaki ilişkinin incelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1983; 30(4): 657-673.
118. Takahashi M, Keicho K, Takahashi H, et al. Effect of oxidative streses on development and DNA damage in invitro cultured bovine embryos by comet assay. *Theriogenology* 2000; 54: 37-145.
119. Knight TW, Death AF. Vitamin A and plasma carotenoid and cholesterol concentrations in cattle. *Anim Sci* 1999; 69: 607-612.
120. Can R, Yılmaz K, Gül Y. İnfertil ineklerde plazma A vitamini ve β -karoten üzerine bir araştırma. *Turk J Vet Anim Sci* 1982; 10: 18-23.
121. Graves-Hoagland RL, Hoagland TA, Woody CO. Relationship of plasma β -carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle. *J Dairy Sci* 1989; 72(7): 1854-1858.
122. Talavera F, Chew BP. Comparative role of retinol, retinoic acid and β -carotene on progesterone secretion by pig corpus luteum in vitro. *J Reprod Fert* 1988; 82: 611-615.
123. Bonomi A, Guarantelli A, Sabbioni A, Superchi P. Inclusion of protected β -carotene in diets for dairy cows. *Rivista Soci Ital* 1993; 23 (2): 233-249.
124. Özpınar H, Şenel HS, Özpınar A, Çekgöl E. İneklerde döl verimi ile serumdaki β -karoten, A ve E vitamin düzeyleri arasındaki ilişkiler. *Doğa Türk Vet Hay Der* 1998; 13(3): 273-282.
125. McDowell LR. *Vitamins in Animal Nutrition Comparative Aspects to Human Nutrition*. Academic Press Inc, California 1989; pp 93-131.
126. Nevberne PM, Corner MW. The Vitamins. Koneko JJ (Ed). In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (4th ed), Acedemic Press Inc, New York 1989; pp 796-834.
127. Rice D, Kendy S. Vitamin E: Function and Effects of Deficiency. *Br Vet J* 1988; 144: 482-496.

128. Kutsky RJ. Handbook of Vitamins, Minerals and Hormones (2nd ed), VNR, New York 1981; pp 157-207.
129. Aras K, Ersen G, Karahan S. Vitaminler. Tibbi Biyokimya. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara 1976; ss 161-169.
130. Chowq CK. Vitamin E and Blood. Wld Rev Nutr Diet 1985; 45:133-166.
131. Putnam ME, Comben N. Vitamin E. The Veterinary Record 1987; 12:541-545.
132. Gallo-Teres HE. Absorption. Lawrence JM (Ed), In: Vitamin E: A Comprehensive Treatise. Marchel Dukker Inc, New York 1980; pp 170-267.
133. Turner RJ, Finch JM. Selenium and the Immune Response. Proceed Nutr Soc 1991; 50: 275-285.
134. Wiss O, Bunnell RH, Gloor U. Absorption and Distribution of vitamin E in the tissues. Vitam horm, 1965; 20: 441-445.
135. Roels OA. Present Knowledge of Vitamin E. Nutr Rev 1967; 25: 33-39.
136. Ulrey DE. Vitamin E for Swine. J Anim Sci 1981; 53(4): 1039-1055.
137. Siddons RC, Mills CF. Glutathione Peroxidase Activity and Erythrocyte Stability in Calves Differing in Selenium and Vitamin E Status? Brit J Nutr, 1981; 46: 345-355.
138. Drapper HH. Nutrient Interrelationship. Lawrence JM (Ed), In: Vitamin E: A Comprehensive Treatise. Marcher Dukker Inc, New York 1980; pp 272-287.
139. Suzuki J, Katoh N. A simple and cheap methods for measuring serum Vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. Jpn J Vet Sci 1990; 52(6): 1281-1283.
140. Martinek RG. Method for determination of vitamin E (total tocopherols) in serum. Clin Chem 1964; 10(12): 1078-1086.
141. Prakash BS, Meyer HHD, Schallenberger E, Van De Wiel DFM. Development of sensitive Enzymimmunoassay (EIA) for progesterone determination in unextracted bovine plasma using the second antibody technique. J Steroid Biochem 1987; 28: 623-627.
142. Güven B, Özsar S, Saban E, Özdemir S. Progesteron için enzimimmunoassay (EIA) tekniğinin geliştirilmesi. Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 1997; 3(1): 13-18.
143. Cavalieri J, Kinder JE, De'ath G, Fitzpatrick LA. Effect of 48 h Treatment with 17 beta oestradiol or progesterone on follicular wave emergence and synchrony of ovulation in

- bos indicus cows when administered at the end of a period of progesterone treatment. *Anim Reprod Sci* 1997; 46: 187-201.
144. Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 1995; 43: 31-40.
 145. Burke CR, Day ML, Bunt CR, Macmillan KL. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J Anim Sci* 2000; 78 (1): 145-151.
 146. DeJarnette JM, Wallace RW, House RB, Salverson RR, Marshall CE. Attenuation of premature estrous behavior in postpartum beef cows synchronized to estrus using GnRH and PGF₂ α . *Theriogenology* 2001; 56: 493-501.
 147. Macmillan KL, Burke CR. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci* 1996; 42: 307-320.
 148. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44: 915-923.
 149. Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin F₂ α . *J Anim Sci* 1999; 82 (3): 506-515.
 150. Rivera GM, Gohi CG, Chaves MA, Ferrero SB, Bo GA. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. *Theriogenology* 1998; 49: 1365-1375.
 151. Ryan DP, Galvin JA, O'Farrel KJ. Comparison of oestrus synshronization regimens for lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 1999; 56: 153-168.
 152. Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J Dairy Sci* 2001; 84(5): 1051-1059.
 153. Cirit Ü. Siyah alaca ineklerde PGF₂ α ve GnRH'nın farklı kombinasyonları ile östrus senkronizasyonu çalışmaları, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2002; ss 90.
 154. Peters AR, Mawhinney I, Drew SB, et al. Development of a Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin Regimen for Planned Breeding of Dairy Cows. *Veterinary Record* 1999; 145: 516-521.

155. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci* 1997; 80: 295-300.
156. Demiral O, Ün M, Abay M, Bekyürek T, Öztürk A. The effectiveness of cosynch protocol in dairy heifers and multiparous cows. *Turk J Vet Anim Sci* 2006; 30: 213-217.
157. Cordoba MC, Fricke PM. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J Dairy Sci* 2001; 84: 2700-2708.
158. Besenfelder U, Solti L, Seregi J, Müller M, Brem G. Different roles for β -carotene and vitamin A in the reproduction of rabbits. *Theriogenology* 1996; 45: 1583-1591.
159. Skopets BG. Effect of vitamin A and beta-carotene on immunoreactivity and success in calving. *Zhivotnovodstvo* 1986;1: 49-50.
160. Akondor EBY, Stone JB, Walton JS, Leslie KE, Buchanan-Smith SG. Reproductive performance of lactating Holstein cows fed supplemental β -carotene. *J Dairy Sci* 1986; 69: 2173-2178.
161. Bindas EM, Aiello RJ, Aalseth DL, et al. Effect of β -carotene supplementation on reproductive and metabolic parameters in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1982; 65 (Suppl.1): 212, abstr.
162. Jackson PS, Furr BJA, Johnson CT. Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low beta-carotene diet during on oestrus synchronisation regime. *Res Vet Sci* 1981; 31(3): 377-383.
163. Özpınar H, Özpınar A, İleri K, Kahraman R, Akin G. Influence of different feeding during the dry period on some blood parameters and reproductive performance of dairy cattle. *Wien Tieraeztl Mschr* 1994; 81: 1-5.
164. Hafez ESE, Dyer IA. *Animal Growth and Nutrition. Animal Reproduction*, Lea and Febiger, Philadelphia 1969.
165. Bindas EM, Gwazdauskas FC, Aiello RJ, et al. Reproductive and metabolic characteristics of dairy cattle supplemented with β -carotene. *J Dairy Sci* 1984; 67: 1249-1255.
166. Coffey MT, Britt JH. Enhancement of sow reproductive performance by beta-carotene or vitamin A. *J Dairy Sci* 1993; 71: 1198-1202.

167. Akondor EBY, Stone JB, Walton JS, Buchanan-Smith SG. The role of β -carotene in the fertility of dairy cattle maintained in a confined environment. *J Dairy Sci* 1984; 67 (Suppl. 1): 148 (abstr.).
168. Arechiga Flores CF. Strategies for improving reproduction and milk yield of dairy cows through use of antioxidants and timed artificial insemination. Doctora thesis, University of Florida, Florida, 1997, pp 166.
169. Charmley E, Hidirolou N, Ochoa L, McDowell LR, Hidirolou M. Plasma and hepatic α -tocopherol in cattle following oral or intramuscular supplementation. *J Dairy Sci* 1992; 75: 804-810.
170. Harrison JH, Hancock DD, Conrad HR. Vitamin E and Selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci* 1984; 67: 123-132.
171. Sattar A, Mirza RH, Hussain MI. Effect of prepartum treatment of vitamin e-selenium on postpartum reproductive and protective performance of exotic cows and their calves under subtropical conditions. *Pakistan Vet J* 2007; 27(3): 105-108.
172. Bourne N, Wathes DC, Lawrence KE, McGowan M, Laven RA. The effect of parenteral upplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. *The Veterinary Journal* 2008; 177: 381-387.
173. Chawla R, Kaur H. Plasma antioxidant vitamin status of periparturient cows supplemented with α -tocopherol and β -carotene. *Animal Feed Science and Technology* 2004; 114: 279-285.
174. Yildiz H, Kaygusuzoğlu E, Kizil Ö. Serum progesterone, Vitamin A, E, C and β -carotene levels in pregnant and nonpregnant cows post-mating. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2005; 4(3): 381-384.
175. Parmigiani E, Di la Ianni F, Bigliardi E, et al. Correlazione fra fertilita'e somministrazione di vitamina E, β -carotene * e cobamamide nella bovina da latte. Pubblicato negli Atti della "Società Italiana di Buiatria" vol. XXXV - 15-16 XXXV - 15-16-17 Maggio 2003.
176. Naziroglu M, Çay M, Aksakal M, et al. Effects of administration of HCG and GnRH at the time of insemination on serum vitamin E and progesterone levels in prostaglandin F2 alpha-synchronised cows. *Turk J Vet Anim Sci* 1997; 21: 393-398.
177. Burke JM, sal Sota RL, de la Risco CA, et al. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dariy cows. *J Dairy Sci* 1996; 79: 1385-1393.

178. Stevenson JS, Kobayashi Y, Shipka MP, Rauchholz KC. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F2 alpha. J Dairy Sci 1996; 79: 402-410.
179. Schmitt EJP, Diaz T, Drost M, Thatchet WW. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist for timed insemination in cattle. J Anim Sci 1996; 74: 1084-1091.
180. Kırbaş M, Çoyan K, Bülbül B, Ataman MB, Köse M, Akman O, Dursun Ş. İnek ve düvelerde luteal aktivitenin ovsynch protokolüne etkisi. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi, 25-28 Ekim 2007, Antalya, Türkiye, ss 142-143.
181. Öztürk A. Postpartum dönemdeki siyah alaca ineklerde ovsynch protokolünden iki gün önce PGF2 alfa ilavesinin östrus siklusu ve fertiliteye etkisi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2007, ss 81.

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 13.02.2008

Toplantı Sayısı: 02

Karar No: 08/12

Etik kurul toplantısı

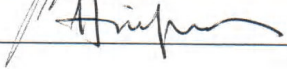
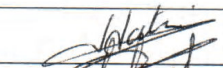
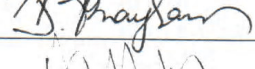
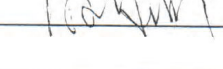
13.02.2008

tarihinde Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik

Kurul Başkanlığı'nda

Prof.Dr. Zübeyde Gündüz

başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Can Küçük	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç.Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Tancan Uysal	Doç.Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt.Gör.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Halit Erkiletlioğlu	Diş Hekimi		
Halil Tekiner	Eczacı		

Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof.Dr. Tayfur Bekyürek'in "Holştayn ırkı düvelerde uygulanan ovulasyon senkronizasyonunda iki farklı GnRH analoğu ve β -karoten+E vitaminin etkinliği." adlı araştırması incelenerek, çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

Dosyada sunulan dökümanlar;

Tarih : 13.02.2008

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr. Zübeyde Gündüz

Etik Kurul Başkanı İmzası



ÖZGEÇMİŞ

Murat ABAY

1979 yılında Balıkesir İli Bandırma İlçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Göbel İlköğretim Okulunda, lise öğrenimini Kırklareli Lüleburgaz İlçesinde bulunan Kepirtepe Anadolu Öğretmen Lisesinde tamamladı. 1996 yılında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne başladı ve 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2002 yılında Sağlık Bilimleri Enstitü'sünde Araştırma görevlisi kadrosuna atandı. 2004 yılında Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK danışmanlığında "Laktasyondaki Süt İneklerinde Staphylococcus aureus'un Neden Olduğu Subklinik Mastitislerin Tedavisinde Sefkuinom ve Amoksisilin+Klavulonik Asitin Etkinliklerinin Araştırılması" isimli yüksek lisans tezini tamamladı. Aynı yıl Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. 2008 yılı Şubat ayında Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi kadrosuna atandı ve halen bu görevine devam etmektedir. Yabancı dili İngilizcedir. Evli ve bir kız babasıdır.