

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI**

**FARKLI SENKRONİZASYON UYGULAMALARI
İLE SENKRONİZE EDİLEN İNEKLERDE ÜREME
PERFORMANSI ÜZERİNE VİTAMİN E’NİN ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

**Emrah Hıcazi AKSU
ELAZIĞ-2010**

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Tanzer BOZKURT başta olmak üzere Anabilim Dalı öğretim üyelerine şükranlarımı sunarım.

Doktora tezimdeki hayvanların bulunmasında ve seçiminde katkı sağlayan serbest veteriner hekim Abdurrahman SEMERCİ'ye, A.K.Ü. Veteriner Fakültesi Dekan Yardımcısı Doç. Dr. Fatih Mehmet BİRDANE'ye, A.K.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji A.B.D. öğretim üyesi Doç. Dr. Hacı Ahmet ÇELİK'e, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji A.B.D. öğretim üyesi Doç. Dr. Abdurrauf YÜCE'ye, KOREL Çiftliği çalışanlarına ve bu günlere gelmemde her zaman bana destek olan aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1.	ÖZET	1
2.	ABSTRACT	3
3.	GİRİŞ	5
3.1.	Kızgınlık senkronizasyonunda kullanılan temel hormonlar	8
3.1.1.	Prostaglandin F _{2α} (PGF _{2α})	8
3.1.2.	Progesteron	10
3.1.3.	Gonadotropin releasing hormon (GnRH)	11
3.2.	İneklerde kullanılan başlıca senkronizasyon yöntemleri	11
3.2.1.	PGF _{2α} hormonu ile senkronizasyon	12
3.2.2.	Ovulasyonun senkronizasyonu (Ovsynch protokolü)	14
3.2.3.	Progesteron hormonu ile senkronizasyon	18
3.3.	Fertilite açısından Reaktif oksijen türleri (ROS) ve lipid peroksidasyonun önemi	20
3.4.	Fertilite açısından antioksidan savunma sistemlerinin önemi	23
4.	GEREÇ VE YÖNTEM	26
4.1.	Gereç	26
4.1.1.	Hayvan Materyali	26
4.2.	Yöntem	26
4.2.1.	Hayvanların Gruplandırılması	26
4.2.2.	Gruplara uygulanan senkronizasyon yöntemleri	27
4.2.2.1.	PGF _{2α} ile östrus senkronizasyonu.....	27
4.2.2.2.	Ovsynch protokolü ile senkronizasyon	27
4.2.2.3.	CIDR ile östrus senkronizasyonu	27
4.2.3	Östrus yoğunluklarının belirlenmesi	28

4.2.4.	Suni tohumlama yöntemi	28
4.2.5.	Gebeliklerin tespiti	29
4.2.6.	Kan ve serum elde edilmesi	29
4.2.7.	Vitamin E uygulaması	30
4.2.8.	Serum MDA düzeyinin belirlenmesi	30
4.2.9	Serum vitamin E düzeyinin belirlenmesi	31
4.2.10.	İstatistikî analiz	31
5.	BULGULAR	33
5.1.	Östrus yoğunlukları	33
5.2.	Gebelik oranları	34
5.3.	Vitamin E düzeyleri	35
5.4.	MDA düzeyleri	36
5.5.	Korelasyon bulguları	38
6.	TARTIŞMA	40
7.	KAYNAKLAR	50
8.	ÖZGEÇMİŞ	61

TABLO LİSTESİ

1. Östrus yoğunluğunun belirlenmesinde kullanılan kriterler	28
2. Farklı senkronizasyon yöntemleriyle senkronize edilmiş kontrol ve uygulama grubu ineklerdeki gebelik oranları	34
3. Farklı senkronizasyon yöntemleriyle senkronize edilmiş kontrol ve uygulama grubu ineklerde 1. ve 2. kan örneklerine ait vitamin E düzeyleri ...	36
4. Farklı senkronizasyon yöntemleriyle senkronize edilmiş kontrol ve uygulama grubu ineklerde 1. ve 2. kan örneklerindeki MDA düzeyleri	37
5. MDA, vitamin E, gebelik oranı, östrus görülme oranı ve östrus yoğunluğu parametrelerine ait korelasyon katsayıları	39

ŞEKİL LİSTESİ

1. Farklı senkronizasyon uygulamalarından sonra ineklerde gözlenen östrus yoğunlukları 33

1.ÖZET

Bu çalışma; farklı senkronizasyon yöntemleri kullanılarak senkronize edilen ineklerin üreme performansı üzerine vitamin E uygulamasının etkisini araştırmak amacıyla yapıldı. Çalışmada hayvan materyali olarak Afyonkarahisar il sınırları içerisinde yetiştirilen ve benzer bakım-besleme şartları uygulanan 84 adet Holştayn ırkı inek kullanıldı. İnekler 3-7 yaşları arasında olan, en az bir kez doğum yapmış, reproduktif açıdan herhangi bir problemi bulunmayan ve en az postpartum 45-60. günler arasında bulunan sağlıklı hayvanlar arasından seçildi.

İnekler üç farklı senkronizasyon yöntemi kullanılarak senkronize edildi ve suni tohumlama yoluyla tohumlandı. Çift doz prostaglandin $F_{2\alpha}$ (11 gün arayla $PGF_{2\alpha}$), Ovsynch yöntemi ve Kontrollü intravaginal ilaç salımı (CIDR) yöntemi ile üç farklı şekilde senkronize edildi. İnekler her senkronizasyon grubu içerisinde kontrol ve vitamin E uygulanan grup olarak iki gruba ayrıldı. $PGF_{2\alpha}$ uygulanan gruplarda 2. doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan sonra, ovsynch yöntemi uygulanan gruplarda $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan sonra ve CIDR kullanılan gruplarda ise CIDR'in çıkarılmasından hemen sonra 10 ml kan alınarak kontrol gruplarına 4 ml i.m. serum fizyolojik, uygulama gruplarına da 4 ml vitamin E (300 mg/ 2 ml) enjeksiyonu yapıldı. Tüm gruplardaki hayvanlar rekto-vaginal yöntemle tohumlandıktan hemen sonra kontrol gruplarına serum fizyolojik, uygulama alt gruplarına da vitamin E enjeksiyonu yapıldıktan sonraki 3. günde ikinci kan örneği alındı. Tohumlama zamanında klinik muayene ile tespit edilen östrus yoğunlukları skorlandı. Alınan kan örneklerinde vitamin E ve MDA düzeyleri tespit edildi. Bütün gruplardaki hayvanlar tohumlamadan 60 gün sonra gebelik açısından muayene edildi.

Östrus yoğunlukları ve vitamin E değerleri açısından hem senkronizasyon grupları arasında hem de aynı senkronizasyon grubu içerisindeki kontrol ve uygulama alt grupları arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi. Ovsynch protokolü uygulanan ve çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile senkronize edilen ineklerde kontrol ve uygulama gruplarının 1. ve 2. kan örneklerinin malondialdehit (MDA) düzeyleri açısından hem senkronizasyon grupları arasında hem de aynı senkronizasyon grubu içerisindeki kontrol ve uygulama grupları arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi. CIDR uygulanan ineklerde kontrol ($p<0.01$) ve uygulama ($p<0.001$) alt gruplarından alınan 1. ve 2. kan örneklerinin MDA değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlemlendi. Çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile senkronize edilen kontrol ve uygulama grubu ineklerde ortalama gebelik oranı sırasıyla %40 ve %53,3, ovsynch protokolü uygulanan kontrol ve uygulama grubu ineklerde sırasıyla %23,1 ve %46,7 ve CIDR uygulanarak senkronize edilen kontrol ve uygulama grubu ineklerde ise sırasıyla %46,2 ve %53,8 olarak belirlendi. Gebelik oranları açısından her bir senkronizasyon grubu içerisindeki kontrol ve uygulama alt grupları ile senkronizasyon grupları arasında istatistikî olarak önemli bir farklılık tespit edilmedi. Tüm gruplarda gebelik oranı ile MDA düzeyi arasında önemli derecede pozitif bir korelasyon ($r= 0,853$, $p<0.05$) tespit edildi.

Sonuç olarak farklı senkronizasyon grupları ile senkronize edilen ineklere vitamin E uygulanması gebelik oranlarında hafif bir artış sağlamasına rağmen CIDR'ın neden olduğu lipid peroksidasyonu önemli derecede önlemektedir.

Anahtar Kelimeler: $\text{PGF}_{2\alpha}$, ovsynch, CIDR, vitamin E, inek.

2.ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of vitamin E treatment on reproductive performance of cows synchronized with different synchronization methods. Eighty-four holstein cows, which are raised at similar management-feeding conditions in Afyonkarahisar city, were used as material. The cows were selected from healthy animals between 3-7 years old, at least once giving birth, on post partum 45-60 days, and not having any reproductive problem.

The cows were synchronized with 3 different synchronization methods and inseminated by artificial insemination. The cows that were synchronized by double PGF_{2α} injections 11 days apart, ovsynch and CIDR insertion were divided into two sub-groups as control and treatment (vitamin E) within each synchronization group. Ten ml blood samples were taken immediately after second PGF_{2α} injections in PGF_{2α} group, immediately after PGF_{2α} injections in ovsynch group, and immediately after CIDR removal in CIDR group, and then 4 ml physiological saline was injected to all control subgroups while 4 ml vitamin E (300 mg/ 2 ml) injected to all treatment subgroups. Second injections of physiological saline vitamin E and were administered to all control and treatment subgroups, respectively immediately after the animals were artificially inseminated by recto-vaginal method. Then second blood samples were also taken on day 3 after the insemination. Estrous intensities, which were detected by clinical examination at the time of insemination, were scored. Vitamin E and MDA levels were determined in all blood samples. All the animals were examined for pregnancy on day 60 after insemination.

No statistically significant difference was determined between different synchronization groups, and between control and treatment subgroups within same synchronization group with respect to oestrus intensity and vitamin E levels. No statistically significant difference was determined between synchronization groups, and between control and treatment subgroups within same synchronization group of cows that were synchronized with PGF_{2α} and ovsynch protocol in terms of MDA levels in first and second blood samples. There was a statistically significant difference between MDA levels of first and second blood samples in both control ($p<0.01$) and treatment ($p<0.001$) subgroup cows which were synchronized with CIDR synchronization method. Pregnancy rates for control and treatment subgroups of PGF_{2α} synchronization method were 40% and 53.3%, respectively, for control and treatment subgroups of ovsynch protocol were 23.1% and 46.7%, respectively, and for control and treatment subgroups of CIDR synchronization method were 46.2% and 53.8%, respectively. No statistically significant difference was determined between different synchronization groups, and between control and treatment subgroups within same synchronization group with respect to pregnancy rates. A significant positive correlation was found between pregnancy rates and MDA levels in all groups ($r= 0,853$, $p<0.05$).

In conclusion, although administration of vitamin E to cows which were synchronized with different synchronization methods provides a slight increase in pregnancy rates, it significantly prevents the CIDR induced-lipid peroxidation.

Key Words; PGF_{2α}, ovsynch, CIDR, vitamin E, cow.

3.GİRİŞ

Fertilite inek yetiştiriciliğinde en önemli ekonomik verim özelliğidir. Fertilite yetersizlikleri üretim düşüklüğüne, tekrarlanan tohumlamalara, yüksek veteriner maliyetlerine ve sürü yenileme masraflarına neden olmaktadır (28). İki ya da üç inekten oluşan aile tipi küçük işletmelerden, çok büyük kapasiteli süt ve et işletmelerine kadar üreme performansını etkileyen en önemli faktör, kızgınlığın tespiti ve buna bağlı olarak uygun tohumlama zamanının belirlenmesidir (42).

Östrus memeli dişi hayvanların belli fizyolojik ve psikolojik belirtiler göstererek erkeği kabul ettiği dönemdir. Bu dönem ineklerde ortalama 18-19 saat sürmektedir (30). Bir östrusun başlangıcından onu takip eden diğer östrusun başlangıcına kadar geçen süre östrus siklusu diye tanımlanır ve sığırlarda ortalama olarak 21(19-22) gündür. Östrus siklusu süreleri türlere göre farklı olduğu gibi ırklar arasında hatta aynı ırkın fertleri arasında da farklılık gösterebilmektedir.

İneklerde östrus siklusu sırasında folliküler gelişim dalgalar halindedir. Her bir ovaryumda eş zamanlı olarak 5-10 adet follikül büyür. Bu folliküllerden birinin dominant hale geçmesiyle folliküler dalga sonlanır (43, 60, 77, 96). Östrus siklusu boyunca 1-4 defa folliküler dalga görülür (genellikle 2-3) (77, 114). Preovülatör follikül son dalgadan köken alır (44, 60, 77,). Her siklustaki dalga sayısı siklus uzunluğu ile ilişkilidir. İki ve üç dalgalı sikluslarda dominant follikülün günlük ortalama çap profili ile ikinci dalganın ortaya çıkış zamanı arasında önemli bir farklılık yoktur. Bununla birlikte ovulasyona uğrayacak dominant follikülün ortaya çıkma zamanı, onun ovulasyonuna kadar geçen süre ve ovulasyondan bir gün önceki çapı arasında önemli farklılıklar vardır (44). Ovaryumlarda 4. günden ovulasyona kadar en az büyük bir follikül (12 mm)

bulunur (43, 60). Sistemik progesteron yoğunluğu düşene kadar folliküler dalga devam eder. Böylece luteolizis anında yaşama gücüne sahip follikülün ovulasyonunu garantiye alır (60). Bu açıklamalar bir işletmede kızgınlıkların ortalama %50'si tespit edilemediğinin nedenleridir. Kızgınlık siklusu ve kızgınlık süresindeki farklılıklar ve bunu etkileyen faktörler nedeniyle büyük bir oranda inekler doğru zamanda tohumlanamamaktadır (47). Yani sığırlarda, kızgınlığın zamanında teşhis edilememesi ve zamanında suni tohumlama uygulamalarının yapılamaması olumsuz bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır (30). Bu nedenle, son zamanlarda yapılan çalışmalarla bu olumsuz etkeni ortadan kaldırmak, hayvanlarda önceden planlanan zamanlarda kızgınlığı oluşturmak ve kızgınlık teşhisine gerek kalmadan hayvanları tohumlamak imkânı sağlanmıştır (30, 45). Bu tip olumsuzlukları ortadan kaldırmak için önceden belirlenen zamanda tohumlamaya olanak veren özel senkronizasyon metotları geliştirilmiştir (153).

Özellikle sütçü ineklerde artan süt verimi buzağılamalar arasındaki süreyi uzatarak üreme performansı üzerine olumsuz etki yapar (19). Doğumdan ilk kızgınlık gözlenene kadar geçen sürenin uzaması, zayıf kızgınlık belirtileri, hatalı suni tohumlama zamanı gibi pek çok faktör buzağılamalar arasındaki sürenin uzamasına neden olmakta ve böylelikle sütçü işletmelerin kârlılığını olumsuz etkilemektedir (39, 102, 118, 128, 149). Kızgınlık senkronizasyonu veya ovulasyonu uyarmayı amaçlayan protokoller laktasyondaki sütçü ırk ineklerde kızgınlık tespitine gerek kalmaksızın etkili bir suni tohumlama yapılmasına olanak sağlar. Çoğu senkronizasyon yöntemi temel olarak luteolitik etkili maddeler olan prostaglandinlerin veya bunların sentetik türevlerinin kullanımına dayanır (92).

Sağlıklı ve dengeli beslenen sütçü ineklerde postpartum 90. günden önce gebeliğin şekillenebilmesi için, 45-60. günlerde senkronize tohumlamalara başvurulabilmektedir. Postpartum 45-60. günlerde tohumlanan sağlıklı sütçü ineklerin ilk tohumlamada normal gebe kalma oranları ortalama %60-66 olarak bildirilmekte; %50-60 hafif sorunlu, %45-50 orta derecede sorunlu, %45'den daha azı ise infertiliteye işaret edecek derecede önemli sorunlu olarak kabul edilmektedir (66, 98).

Ülkemizde yapılan araştırmalar sonucunda, östrusların belirlenme güçlüğüne çözüm olarak önerilen hormon kontrollü tohumlamanın sürü fertilitesi üzerine olumlu etkileri olduğu ileri sürülmektedir (34).

Bu metotların faydalarını şu şekilde sıralayabiliriz;

1- Tohumlanacak hayvanların, önceden planlanan bir listeye göre tohumlanmasını sağlar.

2- Kızgınlığı teşhis etmek için zaman harcamadan, planlanan ve en uygun zamanda tohumlamaların yapılmasına imkân verir.

3- Çiftleşme mevsiminin kısaltılmasını sağlar. Arzu edilen doğum gruplarına göre tohumlama yapılmasına, doğumların denetlenmesine, özellikle ilk defa doğum yapacak düvelere daha fazla özen gösterilmesine, dolayısıyla ana ve yavru ölümlerinin önüne geçilmesine neden olur.

4- Aynı özellikleri gösteren gebelik, ileri gebelik, doğum, ilk doğum, buzağı emzirme, sağım ve pazarlama gruplarının bakımını, beslenmesini, özellikle rasyonlarının duruma göre değiştirilmesini kolaylaştırır.

5- Donör (verici) ve resipient (alıcı)'lerin belirlenmesi ve hazırlanması ile embriyo transferinin uygulanmasına zemin hazırlar.

6- Denenmiş veya projeni teste tabi tutulmuş boğa spermalarıyla daha çok sayıda hayvanın tohumlanması sağlar.

7- Yetiştiriciye veya çiftliklere gidiş-gelişler azalacağından ulaşım, haberleşme masrafları ve zamandan tasarruf etmeye neden olur.

8- Laktasyondaki ineklerde ovaryum aktivitesinin başlamasını sağlar (28, 30, 45).

3.1. Kızgınlık senkronizasyonunda kullanılan temel hormonlar

3.1.1. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)

Prostaglandin ve türevleri 20 karbonlu pentagonal halka, iki yan zincir ve bir karboksil grubu içerir. Bu pentagonal halka üzerindeki yapısal değişiklikler sonucunda prostaglandin türevleri ortaya çıkmaktadır. Prostaglandinler yan zincirinde bir, iki veya üç çift bağ içermesine göre 1, 2 ya da 3 serisine dahil olurlar. Temel olarak halka yapısına bağlı olarak da A, B, E ve F olmak üzere 4 gruba ayrılırlar (20).

Prostaglandinler çabuk metabolize olurlar ve klasik hormon olarak salgılandıkları bölgeye veya yakınındaki dokulara etkili olurlar. Reprodüksiyon sahasında en önemli grup F serisidir ($PGF_{2\alpha}$). Doğal olarak uterusu salgılanıp korpus luteumun regresyonuna sebep olmaktadır (20). Gebe olmayan uterusu lokal olarak üretilen $PGF_{2\alpha}$ sistemik dolaşıma katılmadan uterus veni ve ovaryum arterleri arasında değişimle korpus luteuma ulaşmaktadır (109, 151).

Korpus luteum, östrus siklusu ve gebelik boyunca luteotropik destek oluşturan ve siklus sonunda luteolizisi sağlayan hormonlar tarafından kontrol edilmektedir (20). İneklerde korpus luteumun regresyonu olarak adlandırılan

östrusun son evresini, başka bir deyişle luteolizisi gebe olmayan uterus başlatmaktadır (109). $\text{PGF}_{2\alpha}$ evcil ruminantlarda genel olarak uterus luteolizini olarak kabul edilmektedir (20, 86). Cloprostenol, Dinoprost, Fenprostalen, Luprostiol, Fluprostenol ve Tiaprost sentetik $\text{PGF}_{2\alpha}$ analogları arasında yer almaktadır. Evcil ruminantlarda intrauterin, intravenöz, intramusküler ve intravulvo- submukozal olarak uygulanabilmektedir (86).

Korpus luteumun $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın luteolitik etkisine cevap verdiği luteal evre, türler arasında farklılık göstermektedir. Genel olarak inek korpus luteumu, siklusun dördüncü gününden sonra $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın luteolitik etkisine gittikçe artan oranda cevap vermektedir. Seksüel siklusun 5-17. günlerinde doğal ve sentetik $\text{PGF}_{2\alpha}$ inek ve düvelere uygulandığında, ovaryumda yer alan korpus luteum hızla regrese olmaktadır. Buna bağlı olarak periferik kandaki progesteron düzeyi 12 saat içinde düşerken, östradiol düzeyi 48-72 saate kadar yükselmekte ve ortalama olarak 72-84. saatlerde östrus şekillenmektedir (20). Bununla birlikte luteal evrenin değişik aşamalarında yapılan $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarından farklı sonuçlar alınmaktadır. Genel olarak $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasından sonraki 2-5.günler arasında östruslar gözlenebilir (88). Bununla birlikte kimi araştırmacılar (20, 81, 104) uygulamadan östrusa kadar geçen sürenin 7 veya 10 güne kadar uzayabileceğini bildirmektedirler.

Bir siklus boyunca birden fazla dalga olması ve folliküllerin dejenerasyona uğraması nedeniyle, $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarından sonra alınacak cevap oranı ve östrusun başlamasına kadar geçen süre, folliküler gelişim ve korpus luteum arasındaki senkronizasyona bağlıdır. $\text{PGF}_{2\alpha}$ luteolizise neden olunca, yaşama gücüne sahip bir dominant follikül ovulatör follikül haline geçmektedir (20, 115).

3.1.2. Progesteron

Progesteron 21 karbon atomu içeren 10. ve 13. karbon atomlarında bir çift metil grubu bulunan bir steroid hormon olup başlıca korpus luteumdan üretilmektedir. Aynı zamanda progesteron, böbrek üstü bezi kabuk kısmındaki hormonların, testosteronun ve dolaylı olarak östradiolün oluşumlarında bir ara üründür. Bundan dolayı progesteron az miktarda adrenal kabuk, testis ve yumurtalıklardaki foliküllerde de oluşur. Steroit hormonların oluşumda oynadığı bu ara rolden dolayı organizmanın önemli hormonlarından sayılmaktadır. Progesteron ve onun gibi etki yapan maddeler ve ilaçlara progestinler ya da progestagenler denir. Progesteron, uterus bezlerinin gelişmesine, salgı salgılamalarına ve döllenmiş yumurtanın endometriuma tutunmasına neden olduğundan gebelik hormonu olarak da adlandırılmaktadır.

Progesteronun fazla salınımı ya da dışarıdan yüksek dozlarda alınması hipotalamustan gonadotropin releasing hormon (GnRH)'un salınımını kısıtlamaktadır. Bilindiği gibi folliküllerin olgunlaşmasında FSH, ovulasyonun meydana gelmesinde ise LH başrolü oynamaktadır. Progesteron, hipotalamustan GnRH salınımını kısıtlayarak ön hipofizden FSH ve LH salınımını azaltmaktadır. Bu etki dişilerde kızgınlığın geciktirilmesi ya da ertelenmesinin esasını oluşturur (155). Senkronizasyonu sağlamak maksadıyla korpus luteumun gerilemesine imkân vermek için hormon uygulanma süresi yeteri kadar uzun olmalıdır. Dış kaynaklı progestinler GnRH'ın salgılanmasını önleyerek fonksiyonunu yerine getirir. Progesteron salgılanmasına bağlı olarak GnRH ve dolayısıyla gonadotropinlerin salgılanması azalmakta, progesteron kandan çekilinceye kadar da östrus ve ovulasyon engellenmiş olmaktadır. Progesteronun ortamdan çekilerek

kan seviyesindeki azalması, ritmik atım gösteren GnRH salgılanmalarına müsaade etmekte ve salgılanan GnRH ise gonadotropinlerin (FSH, LH, LTH) salgılanmasına neden olmaktadır. Bundan 2-6 gün sonra ise östrus meydana gelmektedir (30).

3.1.3. Gonadotropin releasing hormon (GnRH)

Kimyasal olarak decapeptid yapısında olan GnRH hipotalamustan pulsatil bir şekilde salınmakta ve buna paralel olarak yine ön hipofizden pulsatil olarak hem FSH hem de LH salınımını arttırmaktadır (155). FSH etkisiyle ovaryumların herhangi birisinde birinde yeni bir ovum, folikül adı verilen bir kesecik içinde olgunlaşmaya başlamaktadır. Bu olgunlaşma süreci tamamlandığında, olgun folikül içinde üretilen yüksek miktarlarda östrojen hormonu etkisiyle bir yandan uterus endometriyumu gelişmeye başlar, öte yandan hipofiz bezinden LH adı verilen başka bir hormon salgılanır. LH hormonu ovumu barındıran folikülü çatlatır ve onu serbest bırakır. Çeşitli GnRH analogları (buserelin, gonadorelin, fertirelin vb.) sığırlarda ovulasyonu teşvik etmek için kullanılmaktadır (11).

3.2. İneklerde kullanılan başlıca senkronizasyon yöntemleri

Östrus senkronizasyonu amacıyla ineklerde birkaç yöntem rutin olarak kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi $PGF_{2\alpha}$ yardımıyla ovaryumda bulunan aktif korpus luteumun erkenden geriletilmesi ile yeni bir siklusun başlatılması, ikincisi $PGF_{2\alpha}$ ve GnRH analoglarının seri halde kullanımı ile korpus luteumun geriletilmesi ve senkronize follikül gelişiminin sağlanması, üçüncüsü ise progesteronların kullanımı ile suni bir korpus luteum etkisi oluşturulmasıdır (104).

3.2.1. PGF_{2α} hormonu ile senkronizasyon

İneklerde kullanılan senkronizasyon yöntemlerinden biri kontrollü ya da kontrolsüz (11 veya 14 gün ara ile çift doz) PGF_{2α} uygulamasıdır. PGF_{2α} enjeksiyonları ile korpus luteumun regresyonu sağlanarak senkronizasyon elde edilmektedir. Aktif korpus luteuma sahip ineklere yapılan ilk enjeksiyondan sonraki 2-5 gün içerisinde östrus gösteren inekler tohumlanırlar (Kontrollü senkronizasyon). Diğer bir ifade ile seksüel siklusun 6.-17. günleri arasında bulunan ineklerde tek PGF_{2α} enjeksiyonu ile korpus luteumun regresyonu %90 oranında gerçekleşebilmektedir. Uygulama bitiminden 3-4 gün sonra ise hayvanların %75'inde östrus semptomları gözlenmektedir. Ancak aktif korpus luteuma sahip olmayan inekler birinci PGF_{2α} enjeksiyonuna yanıt vermeyeceğinden 11. Gün veya 14. gün ikinci enjeksiyon yapılır (Kontrolsüz senkronizasyon) ve 2-5 gün içinde kızgınlıklar tekrar aranarak suni tohumlamalar yapılmaktadır (28, 30, 32). Seksüel siklusun senkronizasyonu amacıyla PGF_{2α} enjeksiyonlarının 11 veya 14 gün aralıklarla uygulanması ile elde edilen başarı oranı östrus semptomlarının gözlenmesine bağlıdır (47, 81, 108). Sürekli enjeksiyonlar, sık ve gün içine yayılmış kızgınlık takipleri ve suni tohumlama nedeniyle uygulama güçlükleri olan bir programdır (24).

Çoyan ve ark. (26), östrus senkronizasyonu için GnRH - PGF_{2α} ve hCG-PGF_{2α} kombinasyonu ile çift doz PGF_{2α} uygulamalarının etkinliklerini karşılaştırmışlardır. Elde edilen gebelik oranlarını %60, %60 ve %30 olarak tespit etmiş ve Brown Swiss ırkı ineklerde PGF_{2α} ile östrus senkronizasyonundan 7 gün önce bir GnRH ya da hCG analogu uygulamanın çift doz PGF_{2α} uygulamalarına göre daha iyi sonuçlar verdiğini ileri sürmektedirler.

Kristula ve Bartholomew (67) postpartum dönemde $\text{PGF}_{2\alpha}$ analoglarının kullanılmasının gebelik oranlarında %20'ye varan artışlar sağladığını bildirmektedir.

Kristula ve ark. (66) 7 gün arayla yapılan çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasının daha erken sürede suni tohumlama yapılmasına olanak sağladığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte pek çok araştırmacı(36, 38, 126) 11 veya 14 gün arayla çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasının daha verimli olduğunu ileri sürmektedirler.

Lucy ve ark. (77) rastgele seçilen siklik ineklerde 14 gün arayla $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasının ilk gününde en azından %67'sinin siklusun 7-20. günleri arasında olduğunu ve bu ineklerin 14 gün sonra ikinci $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulandığında kızgınlık sikluslarının 9-14. günleri arasında olduğunu bildirerek ilk uygulamaya cevap vermeyen (% 33) inekler (sikluslarının 0-6. günleri arasındaki dönemde) ikinci $\text{PGF}_{2\alpha}$ verilmesi sırasında 14-20. günleri arasında olacaklarını ileri sürmektedirler.

Karaca ve ark. (59) çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ metodu ile senkronize edilen sığırlarda 2. $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonunu takiben 48-96. saatler arasında östrusların gözlenmesi ile yapılan suni tohumlama uygulamalarından % 62,5, 72-80. saatler arasında bir kez yapılan suni tohumlama uygulamalarından % 45,53 ve 72. ve 96. saatlerde iki kez yaptıkları suni tohumlama uygulamalarından ise % 55,17 oranında gebelik tespit ettiklerini ve gruplar arasında istatistikî anlamda bir farklılık bulunmadığını bildirmektedirler.

Xu ve ark. (154) yapmış oldukları çalışmada 13 gün arayla yapılan çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulaması ile ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranı ile senkronize edilmeden tohumlanan ineklerin gebelik oranlarını sırasıyla % 61,1 ve % 70,5

olarak bulmuşlar ve bu sonuçlar arasında istatistiksel ($p<0.01$) bir fark olduğunu tespit etmişlerdir.

PGF_{2α} uygulaması ile kızgınlık ve ovulasyon gözlenmesi arasındaki süre farklılıkları üzerine yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır (55, 141). Bu süre PGF_{2α} uygulandığı zamandaki kızgınlık siklusu dönemine bağlı (52, 62, 80, 106, 125, 132, 142) olup genellikle siklusun 5-8. günleri arasındaki dönemlerde kızgınlık ortalama 48-72. saatte (132, 145), siklusun orta dönemi olan 8-11. günlerde 70. ve geç luteal faz olan 12-15. günlerde ise 62. saatte gözlenmektedir (62, 125). PGF_{2α} uygulaması sırasındaki yüksek progesteron yoğunluğunun östrusun başlamasını geciktirdiği de bildirilmektedir (73).

Puersley ve ark. (104) postpartum 36-280. günler arasındaki ineklerde i.m. PGF_{2α} uygulandığında 48-72. saatlerde östrusların meydana geldiğini ve bunu takiben yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranlarının PGF_{2α} + GnRH grubunda GnRH uygulanmayan kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğunu ileri sürmektedirler.

3.2.2. Ovulasyonun senkronizasyonu (Ovsynch protokolü)

Ovsynch protokolü postpartum dönemdeki sütçü ineklerde üreme yönetimi üzerine etkinliği kanıtlanmış ve sabit zamanlı tohumlamaya imkân veren bir yöntemdir. GnRH ve PGF_{2α}'nın kombine kullanımı ile ovulasyonların senkronize edildiği ve östrüs tespiti gerektirmeyen sabit zamanlı bir tohumlama protokolüdür (100, 104, 136). Kısa sürede (9 gün) tamamlanan ve tek tohumlamanın yeterli olduğu bir protokoldür (26). PGF_{2α} ile östrüs senkronizasyonundan sonraki fertilitite oranı, tohumlama anında ovulasyonun senkronizasyonu ile ilişkilidir.

PGF_{2α} ile senkronizasyon uygulamaları sırasında ovulasyonun senkronize edilememesi araştırmacıları yeni arayışlara itmiştir. Ovsynch olarak adlandırılan yöntemde PGF_{2α} ile birlikte GnRH agonistleri de kullanılarak östruslarla birlikte, ovulasyonun da senkronize edilmesi amaçlanmıştır (86, 114).

Sütçü ineklerde ovsynch protokolüne başlamak için en uygun zaman dominant folikülün 10 mm çapına ulaştığı siklusun 7-10. günleri (92) olup bu yöntemde siklusun herhangi bir gününde yapılan GnRH enjeksiyonundan (0. gün) 7 gün sonra PGF_{2α} uygulanmaktadır. PGF_{2α} uygulamasından iki gün sonra yapılan ikinci bir GnRH (9. gün) enjeksiyonuyla protokol tamamlanmaktadır. Bu uygulamayla korpus luteumun regresyonu sonucu foliküler gelişim senkronize edilmektedir. Böylece kızgınlık gözlenmeden belirli bir zamanda yapılacak suni tohumlama uygulaması sırasında ovulasyon da garantilenmektedir (20, 86, 114). Genel olarak yöntemin başarısı %85'in üzerinde olmasına rağmen, uygulamanın başladığı güne bağlı olarak alınan cevaplarda farklılık gözlenebilmektedir (116).

PGF_{2α} uygulamasını takiben yapılan GnRH enjeksiyonu ovulasyon zamanındaki değişkenliği azaltır (135). Tek bir GnRH enjeksiyonu 5 saat boyunca sürekli olarak LH salınımını indüklemektedir. Oluşan LH pulzasyonu, follikülün ovule olmasını ve aktif korpus luteum oluşumunu stimüle etmektedir. GnRH agonistleri korpus luteumun yaşam süresini uzatmakta ve kısmen korpus luteumu spontan luteolizise karşı korumaktadır (23). Bu nedenle bazı araştırmacılar (29, 40, 94, 119) GnRH ve hCG'nin östrus senkronizasyonunda kullanılabileceğini, ovulasyonu indüklediğini ve fonksiyonel korpus luteum formasyonunda etkileri olduğunu, senkronize edilen hayvanlarda ovulasyon ve gebelik şansının yükseltilmesinde kullanılabildiğini bildirmektedir.

Pursley ve ark. (104) GnRH ve PGF_{2α} kombinasyonları ile senkronize ovulasyon sağlayarak sabit-zamanlı suni tohumlama programını geliştirmiş olup ilk defa yaptıkları bir uygulamada ovulasyonun senkronizasyonu sonrası sabit zamanlı tohumlama programı ile östrus semptomlarının gözlenmesi sorununu ortadan kaldırmış ve bu protokol ile senkronize edilen ineklerde, ovaryumlarda kistik hipoplazi, suböstrus, kornulardaki tonus zayıflığı ve Graaf follikülünün belirlenememesi gibi durumların uygulanacak suni tohumlanmada bir engel oluşturmadığını bildirmektedirler.

İnek ve düvelerde ovsynch östrus tespitine ihtiyaç duyulmadan suni tohumlama yapabilmek amacıyla geliştirilmiştir. Bu protokol ile siklusun herhangi bir döneminde uygulanan GnRH enjeksiyonu büyük folliküllerin ovulasyonuna, küçük foliküllerin de luteinizasyonuna neden olmakta ve bu da yeni bir folliküler dalganın başlamasını uyarmaktadır. İlk GnRH enjeksiyonunu izleyen 7. günde uygulanan PGF_{2α} korpus luteumun regresyonunu uyarmakta ve senkronize olmuş dominant follikülün son olgunlaşmasına olanak sağlamaktadır. PGF_{2α} uygulamasından sonra yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu ise 24 saat içerisinde dominant follikülün ovulasyonunu senkronize etmektedir. Ovulasyonun böyle dar bir zaman süreci içerisinde senkronizasyonu yaklaşık 16 saat içerisinde önceden belirlenmiş bir zamanda tohumlamaya olanak vermektedir (87). Bu yöntem ineklerin %100'ünde yeni bir foliküler gelişime, %65'inde ise ovulasyona neden olur. İkinci bir GnRH uygulaması, ilk GnRH ile başlatılan folliküler dalgada gelişen dominant foliküllerin ovulasyonlarını senkronize eder. İkinci GnRH enjeksiyonundan sonraki 16. saatte yapılan planlı suni tohumlama uygulamaları sonrasında 25-35. günlerde ultrasonla kontrol edilen ineklerde, diğer

saatlerde yapılan tohumlamalara göre daha iyi gebelik oranları elde edilmiştir (28). İkinci GnRH uygulamasından sonraki 24-32. saatler içinde ovulasyonlar meydana gelmektedir. Bu yöntemde ikinci GnRH enjeksiyonundan sonra tohumlama saatlerinde çok az inekte östrus belirtileri gözlenmektedir. Bu duruma GnRH enjeksiyonunun LH hormonunu uyararak östrojenin erken baskılanması neden olmaktadır (28). Son GnRH enjeksiyonunun PGF_{2α} enjeksiyonundan 48 saat sonra yapıldığı ovsynch yönteminin kullanılması ve östrüs gösterenlerin tohumlanması ile %48.0, östrüs takibi yapmadan ikinci GnRH'dan 15 saat sonra yapılan tohumlama ile %45.5 oranında ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir (116).

Schmitt ve ark. (116) ovsynch protokolü uygulanan düvelerde, PGF_{2α} enjeksiyonunun yapıldığı gün dâhil ikinci GnRH enjeksiyonuna kadar %27 oranında östrüslerin şekillendiği vurgulamaktadırlar.

Siklusun rastgele bir döneminde başlatılan ovsynch uygulamalarında ovulasyon oranı %53 iken erken diöstrüs döneminde (5–12. günler) başlatıldığında %70 olmaktadır (33). Bu nedenle ovsynch uygulamasına siklusun 5–12. günleri (erken diöstrüs) arasında başlanıldığında ilk ovulasyonların dolayısıyla senkronizasyon oranının artması sonucu gebelik oranı artmaktadır (65, 89).

Lopez-Gaitus ve Lopez-Bejar (76) ovaryum kistli laktasyondaki ineklerde GnRH ve cloprostenolle kombine edilerek yaptıkları senkronizasyon ve suni tohumlama ile başarılı sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir.

Pursley ve ark. (105) ovsynch protokolü sırasında GnRH ve PGF_{2α} arasında CIDR uygulanan ineklerde CIDR uygulanmayan anovulatör ineklere göre daha yüksek oranda gebelik sonucu (%55,2 ve %34,7) elde etmişlerdir.

Diğer yandan Lopez-Gatius ve ark. (75) kalıcı foliküllü sütçü inekleri progesteron- GnRH- PGF_{2α} kullanarak başarılı bir şekilde senkronize etmiş ve sabit zamanlı tohumlama ile iyi oranda gebelik elde etmişlerdir.

3.2.3. Progesteron hormonu ile senkronizasyon

Senkronizasyonun progesteron ve progestagenler ile uyarılması ineklerde yaygın olarak kullanılan diğer bir metottur. Bu amaç için progesteron salan vaginal sünger (Progesterone Releasing Intravaginal Device, PRID), kontrollü progesteron salan vaginal alet (Controlled Internal Drug Releasing, CIDR) ve kulak derisi altı implantlar kullanılmaktadır. Egzojen progesteron veya sentetik progestagen uygulaması ile sürekli bir progesteron salınımı meydana gelmekte ve progesteronun negatif feedback etkisi ile hayvan foliküler faza geçememektedir. Ancak doğal süreçten farklı olarak LH seviyesi üzerinde yeterli geri tepki oluşamamaktadır. Bu durum luteal faza göre daha yüksek LH konsantrasyonuna yol açmaktadır. PRID veya CIDR uygulamalarında genellikle daha etkili bir senkronizasyon sağlamak amacıyla PGF_{2α} ve PMSG ile birleştirilmesi tavsiye edilmektedir (1,12,17,21, 30, 91,95,133).

PRID veya CIDR'in uzaklaştırılmasından 1-2 gün önce veya tam uzaklaştırılma anında PGF_{2α} uygulanması sonucu endojen progesteron seviyesi 24 saat içerisinde, egzojen progesteron seviyesi ise 4 saat içerisinde basal seviyelerine düşmektedir. Bu düşüşün sonucu olarak progesteronun FSH ve LH

üzerindeki negatif feedback etkisi kalkmakta, dominant follikül gelişmekte ve preovulatör follikül halini almakta, ürettiği östrojenin pozitif feedback'i sayesinde preovulatör LH piki şekillenmekte ve ovulasyon oluşmaktadır (110, 150).

Cleef ve ark. (24) CIDR + PGF_{2α} uygulaması sonucu %89,9 oranında östrüs belirlediklerini ve bu östrüslerin %85'nin ikinci günde şekillendiği bildirmektedirler. Siklik ineklerde PRID + PGF_{2α} + PMSG kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada %44 buzağılama oranına ulaşmışlardır (45).

Lammogilla ve ark. (70) ise bu yöntemi kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında %8 gibi oldukça düşük bir gebelik oranı elde etmişlerdir.

Walsh ve ark. (144) PRID + PGF_{2α} kullanarak yapmış oldukları çalışmada intravaginal aparatın çıkarılmasından sonra ineklerin %28' inde orta derecede, %6'sında bol miktarda akıntı ile gözlenen vaginitlerin şekillendiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar progesteron içeren ve progesteron içermeyen vaginal aparatlar kullanılarak yapmış oldukları senkronizasyonlar ile sabit zamanlı suni tohumlama ile sırasıyla %43,8 ve %34,9 oranında gebelik oranı elde etmişlerdir.

Xu ve Burton (153) Jersey ve Frisean ırkı düvelerde CIDR protokolü kullanarak ilk tohumlamada elde edilen gebelik sonuçlarını (%53.2) senkronizasyon yapılmayan kontrol grubuna (%63.7) oranla daha düşük ($p<0.001$) olduğunu bildirmişlerdir.

Mialot ve ark. (84) etçi sığırlar üzerinde yapmış oldukları karşılaştırmalı senkronizasyon sonuçlarına göre GnRH + PGF_{2α} + GnRH ve PRID + PGF_{2α} + eCG yöntemlerinde ovulasyon gerçekleşme oranı sırasıyla %77,1 ve %90,8 olarak tespit edilmiştir. Fakat gebelik sonuçları 24. günde %54,8 ve %62,1 olarak 35-45.

günlerde ise %53.8 ve %46.3 olarak tespit edilmiş olup bu sonuçlar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark olmadığı ancak GnRH + PGF_{2α} + GnRH kombinasyonu olan ovsynch protokolünün PRID + PGF_{2α} uygulanan gruptan daha az düzeyde ovulasyon oranına sahip olduğu bildirilmiştir.

3.3. Fertilite açısından Reaktif oksijen türleri (ROS) ve lipid peroksidasyonun önemi

Serbest radikaller olarak da bilinen ROS [tek moleküler oksijen (¹O₂), süperoksit anyonu (O₂⁻), hidroksil radikali (OH), hidrojen peroksit (H₂O₂)] normal hücre yaşamı için gerekli olan reaktif maddelerdir. Organizmada metabolize edilen oksijenin %1-2'si ROS'ne dönüştürülmektedir. ROS organizmalar tarafından hücre içinde mitokondriyal solunum zincirinde ya da hücre dışında özellikle fagositler tarafından oluşturulur (5, 22,). ROS üretimi fizyolojik bir olay olup vücutta ROS ile antioksidanlar arasında hassas bir denge bulunmaktadır. ROS organizmada fizyolojik düzeylerde bulunduğu zaman oosit olgunlaşması, ovulasyon, implantasyon, blastosist şekillenmesi, lüteolizis steroidogenezis, akrozom reaksiyonu, fertilizasyon ve gebelikte luteal devamlılık gibi pek çok reproduktif olaylarda düzenleyici bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte ROS düzeylerinde artış, antioksidanlarda azalmayla meydana gelecek oksidan-antioksidan dengesindeki bozulmalar oksidatif stres denilen olayla sonuçlanmakta olup organizmadaki pek çok sistemde hasarlara yol açabilmektedir. Son zamanlarda kanser başta olmak üzere reproduktif sistemi de içerisine alan pek çok sistemdeki hasar ve hastalıkların kaynağı olarak oksidatif stres gösterilmektedir (1, 68). Gebelik, doğum öncesi sancı dönemi ve normal

doğum zamanlarında oksidatif stres meydana geldiği bildirilmektedir (35, 93, 143).

Artan ROS düzeylerinin çeşitli fizyolojik fonksiyonlar üzerindeki olumsuz etkilerinin genellikle hücre membranındaki fosfolipidlerin yapısının ve fonksiyonlarının bozulmasıyla açığa çıktığı pek çok araştırma ile gösterilmektedir (51, 56, 129, 130, 139). ROS'nin indüklenmesiyle ortaya çıkan oksidatif stresin en önemli göstergelerinden birisi lipid peroksidasyondur. Lipid peroksidasyon ürünleri olarak açığa çıkan lipid peroksitler ve hidroperoksitler membran yapısına doğrudan, diğer hücre bileşenlerine ise aldehit üreterek dolaylı olarak zarar vermektedir. Bu da pek çok hastalığın ve doku hasarının oluşmasına neden olmaktadır. Membran yapısının bozulması sonucu malondialdehit (MDA) adı verilen bir yan ürün oluşmaktadır. MDA lipid peroksidasyon göstergesi olup üretilen MDA miktarı lipid peroksidasyon indeksi olarak kullanılmaktadır (68).

ROS'nin erkeklerin üreme sistemi üzerine etkisi konusunda dünya çapında pek çok araştırma bulunmasına karşılık dişi üreme sistemi üzerine olan etkisi konusunda erkeklerde olduğu kadar fazla çalışma bulunmamaktadır (3).

Senkronizasyon yöntemleri ile oluşturulacak kızgınlıklar ROS düzeyinin artışına neden olarak fertilizasyonu dolayısıyla gebeliği etkileyebilmektedir (12). Fertilizasyon ve ROS seviyesi arasında negatif bir korelasyon bulunmaktadır (123). Jowzik ve ark. (56) ROS'nin ovulasyondan önce folliküler sıvıda lokalize olduğunu, preovulator follikülün antioksidan koruma potansiyeli bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca foliküler sıvıdaki ROS düzeyinin kandaki düzeylerden daha az seviyede olduğunu ve kandaki seviyesinin artmasının preovulator folikül sıvısındaki seviyesinin artmasına da neden olduğunu ileri sürerek foliküler

sıvıdaki ROS düzeyinin oositin kalitesi, fertilizasyon oranı ve embriyo kalitesini etkilediğini de bildirmektedirler.

Agarwal ve ark. (2) oosit kalitesinin başarılı bir fertilizasyon için çok önemli bir etken olduğunu, oksidatif stresin embriyo kalitesini ve fertilizasyon oranını etkilediğini dolayısıyla zayıf kalitedeki oositlerin foliküler sıvıdaki ROS düzeylerinin artışı ile ilişkili olabileceğini ileri sürmektedir. Das ve ark. (27) foliküler sıvıdaki yüksek ROS düzeylerinin embriyo şekillenmesi veya fertilizasyonu engelleyebileceğini bildirmektedirler. Benzer şekilde Seino ve ark. (117) foliküler sıvıda ROS türlerinin artışının embriyo kalitesindeki düşüklüğe bağlı olarak fertilizasyon oranının düştüğünü belirtmektedirler.

PRID veya CIDR'ın vaginada kaldığı süre boyunca kötü kokulu bir akıntıya sebep olabilmektedir (90). Buna ilave olarak uzun süreli kullanımda vaginal mukozada yapışmalar oluşturabilen yangı ve enfeksiyonlara da sebep olduğu bildirilmektedir (72). Yangının ilerlemesi ile ROS düzeylerinin artması arasında bir ilişki mevcut olup senkronizasyon amacıyla kullanılacak intravaginal uygulamalar oksidatif strese de yol açabilmektedir (46, 120). Nitekim Sönmez ve ark. (123) Saanen keçileri üzerinde yapmış oldukları çalışmada senkronizasyon amacıyla kullanılan vaginal sünger uygulamasının başlangıcından sonraki 1-4 gün içerisinde kandaki MDA seviyesinin artmaya başladığını, süngerin çıkarıldığı günde MDA seviyesinin en yüksek düzeye ulaştığını tespit ederek artan MDA seviyesinin vaginal sünger uygulamasına bağlı olarak gelişen yangıdan olabileceğini bildirmişlerdir.

3.4. Fertilité açısından antioksidan savunma sistemlerinin önemi

ROS organizmada çok hassas bir dengeyle kontrol edilmektedir. Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır (1, 103, 138). Direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidan adı verilmektedir. Enzimatik (glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) ve non-enzimatik (glutasyon, vitamin A, E, C) yapıda olan bu antioksidanlar etkilerini başlıca dört farklı şekilde göstermektedir. Bunlar; 1-toplayıcı, 2-bastırıcı, 3-zincir kırıcı, 4-onarıcı etkilerdir (68).

Antioksidanlar bazı dişi üreme hastalıklarının korunmasında gerekli olan maddelerdir (41). Zincir kıran bir antioksidan olan vitamin E antioksidan sistemin en öncelikli bileşenlerinden biridir.

Güçlü bir antioksidan olan vitamin E (tokoferol)'nin organizmada biyolojik membranların korunmasında önemli görevleri bulunmaktadır. Vitamin E bu membran koruyucu etkisini ROS oluşumunu azaltarak ve dolayısıyla membran lipitlerine olabilecek oksidatif zararları önleyerek göstermektedir (1, 10). Vitamin E sığırlarda üreme performansı üzerine vital bir rol oynamakta olup aynı zamanda preovülör sıvıda da bulunmaktadır(137). Plazma vitamin E konsantrasyonu foliküldeki konsantrasyonunu da etkilemektedir ve foliküler sıvıda plazmadaki seviyesinden önemli derecede fazla bulunduğu bildirilmektedir (123). Vitamin E konsantrasyonunun artması foliküler sıvıdaki ROS seviyesini azaltabilmektedir (2). Doğrudan üreme ile ilgili olarak vitamin E oosit olgunlaşması ve kalitesinde, fertilizasyonun oluşmasında ve erken embriyonik gelişmede önemli fonksiyonlara sahiptir (56, 134). Vitamin E eksikliğinde sığırlarda, enzootik muskuler distrofi, ovaryum faaliyetlerinde aksaklıklar, erken embriyonik ölümler, retensiyon

sekundinarum, infertilite, abort, zayıf ve prematüre doğumlar, ovaryum kistleri, metritis, mastitis, gebe kalmada gecikme, kızgınlık süresinde düzensizlik veya gizli östrus, düşük fertilizasyon gibi hasarların şekillendiği bildirilmektedir (4, 17, 140).

Sales ve ark. (111) süperovülize edilen holştayn ırkı ineklerde β -karoten + tokoferol enjeksiyonunun embriyo kalitesini arttırdığını bildirmektedirler. Sönmez ve ark. (123) Saanen keçileri üzerinde yapmış oldukları çalışmada progesteron emdirilmiş süngerle senkronize ettikleri keçilere vitamin E uygulamasının süngerin çıkarılmasıyla kızgınlığın başlaması arasındaki süreyi etkilemediğini, östrus görülme oranını ve çoklu doğum sayısını arttırdığını bunun da oosit kalitesinin korunmasıyla sağlanmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Tao ve ark. (134) vitamin E'nin oosit kalitesini koruduğunu bildirirken Bourne ve ark. (18) ise üreme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını ileri sürmektedirler.

Arèchiga ve ark. (12) yapmış oldukları çalışmada post partum 30. günde verilen vitamin E (500 mg) ve selenyum (50 mg) uygulamasının buzağılamadan ilk tohumlamaya kadar geçen aralığı ve ilk tohumlamada gebelik oranını etkilemediğini, fakat ikinci tohumlamada kontrol grubuna kıyasla daha yüksek oranda (%69,8 ve %52,1) gebelik başarısı sağladığını, gebelik başına düşen tohumlama sayısını (1,7 ve 2,0) ve buzağılama ile gebelik arası süreyi (84.6 ve 98.1) azalttığını tespit ederek vitamin E-selenyum uygulamasının sığırlarda fertilitiyi arttırdığını ancak ilk tohumlamadaki gebelik oranını etkilemediğini bildirmektedir.

Ar chiga ve ark. (13) 198 adet sığır üzerinde yaptıkları çalışmada beklenen doğumdan 3 hafta önce yapılan 10 mg Vitamin E-selenyum enjeksiyonunun kontrol grubuyla kıyaslandığında yavru zarlarının atılmasını kolaylaştırdığını ve ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranını artırdığını (%41,2 ve %25,3) bildirmişlerdir.

Kaçar ve ark. (57)  -karoten + vitamin E + ovsynch ve  -karoten + vitamin E + cosynch protokolleri ile senkronize ettikleri ineklerin tohumlanmasından sonra elde edilen gebelik oranlarını sırasıyla %25,8 ve %34,1 olarak tespit etmişlerdir.

Bu  alışma farklı senkronizasyon yöntemleri kullanılarak senkronize edilen Holştayn ineklerin senkronizasyon sonrası tohumlama zamanındaki östrus yoğunlukları, ilk tohumlamada gebelik oranları ve lipid peroksidasyon düzeyleri üzerine egzojen uygulanan vitamin E'nin etkisini araştırmak amacıyla yapıldı.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Hayvan materyali

Bu çalışmada hayvan materyali olarak Afyonkarahisar il sınırları içerisinde yetiştirilen ve benzer bakım-besleme şartları uygulanan 84 adet holştayn ırkı inek kullanıldı. İnekler 3-7 yaşları arasında olan, en az bir kez doğum yapmış, reproduktif açıdan herhangi bir problemi bulunmayan ve postpartum 45-60. günler arasında bulunan sağlıklı hayvanlar arasından seçildi.

4.2. Yöntem

4.2.1. Hayvanların Gruplandırılması

Hayvan materyali olarak seçilen 84 baş holştayn inek rastgele gruplara ayrıldı. Çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile senkronize edilen grubu 30 baş holştayn inek oluşturdu. Bu grupta bulunan hayvanlardan 15 baş inek kontrol ve 15 baş inek uygulama grubu olarak rastgele ayrıldı.

Ovysch protokolü uygulanan grup ise 28 baş inekten oluştu ve bu ineklerden 13 baş kontrol grubu olarak belirlenirken, 15 baş inek uygulama grubu olarak rastgele ayrıldı.

CIDR uygulanan grubun hayvan materyal sayısı 26 inekten oluştu ve bu ineklerden 13 tanesi kontrol grubu olarak seçilirken diğer 13 baş inek uygulama grubu olarak rastgele ayrıldı.

Sonuç olarak $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile senkronize edilen hayvanlardan $n=15$ kontrol ve $n=15$ uygulama grubu, ovsynch protokolü uygulanarak senkronize edilen hayvanlardan $n=13$ kontrol ve $n=15$ uygulama grubu, CIDR kullanılarak

senkronize edilen hayvanlardan n=13 kontrol ve n=13 uygulama grubu oluşturuldu.

4.2.2.Gruplara uygulanan senkronizasyon yöntemleri

4.2.2.1. PGF_{2α} ile östrus senkronizasyonu

Bu grupta bulunan (n=30) hayvanlara siklusun herhangi bir gününde (0. gün) 5 ml i.m. PGF_{2α} (Dinoprost trometamin, 25 mg, Dinolytic, Eczacıbaşı), yapıldı. İlk PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben 11. günde yine 5 ml i.m. PGF_{2α} enjekte edilerek bu gruptaki hayvanların östrusları senkronize edildi.

4.2.2.2.Ovsynch protokolü ile senkronizasyon

Bu gruptaki hayvanlara (n=28) siklusun herhangi bir gününde (0. gün) 2 ml i.m. GnRH (10 mg Buserelin acetate, Ovarelin, CEVA DİF) enjekte edilirken 7. günde 5 ml i.m. PGF_{2α} ve ilk GnRH enjeksiyonunu takip eden 9. günde 2 ml i.m. GnRH'ın ikinci enjeksiyonu yapıldı. Bu uygulama ile ovulasyonlar senkronize edildi.

4.2.2.3.CIDR ile östrus senkronizasyonu

Bu gruptaki hayvanlara (n=26) siklusun herhangi bir gününde kontrollü progesteron salan vaginal alet (Controlled Intravaginal Drug Releasing, CIDR, PFIZER) yerleştirildikten sonra 10. günde 5 ml i.m. PGF_{2α} enjeksiyonu yapıp 11. günde CIDR çıkarıldı. Bu yöntemle bu grupta bulunan hayvanların östrusları senkronize edildi.

4.2.3.Östrus yoğunluklarının belirlenmesi

Senkronizasyon sonrası tohumlama zamanındaki bütün gruplardaki hayvanların östruslarının yoğunluğunun tespiti için huzursuzluk, nemli, hiperemik ve şişkin vulva, bol, şeffaf ve yapışkan çara akıntısı, Serviks tonusunda artış, Uterus tonusunda artış, Ovaryumda Graff folikülü gibi belirtilere bakıldı. Östrus yoğunluğu tesbitinde Tablo 1’de sunulan kriterler göz önünde bulundurularak skorlandı.

Tablo 1: Östrus yoğunluğunun belirlenmesinde kullanılan kriterler

Östrus skoru	Östrus Belirtileri
5 (Mükemmel)	Huzursuzluk, nemli, hiperemik ve şişkin vulva, bol, şeffaf ve yapışkan çara akıntısı, serviks tonusunda artış, uterus tonusunda artış, ovaryumda Graff folikülü
4 (İyi)	Huzursuzluk, hafif nemli, hiperemik ve şişkin vulva, bol, şeffaf ve yapışkan çara akıntısı, serviks tonusunda artış, uterus tonusunda artış, ovaryumda Graff folikülü
3 (Normal)	Hafif huzursuzluk, hafif nemli, hiperemik ve şişkin vulva, az, şeffaf ve yapışkan çara akıntısı, serviks tonusunda artış, uterus tonusunda artış, ovaryumda Graff folikülü
2 (Zayıf)	Hafif huzursuzluk, hafif nemli, hiperemik ve şişkin vulva, çara akıntısı yok, serviks normal kıvamda, uterus tonusunda hafif artış, belirgin olmayan Graff folikülü
1 (Kötü)	Sakin, sadece hafif nemli vulva, çara akıntısı yok, serviks normal kıvamda, uterus tonusunda hafif artış, Graff folikülü yok
0 (Yok)	Sakin, kuru, solgun ve şişkin olmayan vulva, çara akıntısı yok, serviks ve uterus normal kıvamda, Graff folikülü yok

4.2.4. Suni tohumlama yöntemi

PGF_{2α} ile östrusları senkronize edilen kontrol ve uygulama grupları 11. günde yapılan 2. PGF_{2α} uygulamasını takip eden 80. saatte sabit zamanlı rekto-vaginal yöntemle tohumlandı.

Ovsynch protokolü ile ovulasyonları senkronize edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki inekler ikinci GnRH uygulamasından sonra 16. saatte sabit zamanlı olarak rekto-vaginal yöntemle tohumlandı.

CIDR ile östrusları senkronize edilen kontrol ve uygulama grubundaki inekler ise CIDR çıkarıldıktan sonraki 56. saatte sabit zamanlı olarak rekto-vaginal yöntemle tohumlandı.

4.2.5. Gebeliklerinin tespiti

Bütün gruplarda tohumlamayı takip eden 19-23. günlerde inekler takip edilerek kızgınlık göstermeyen inekler gebe olarak kabul edildi ve tohumlama sonrası 60. günde rektal muayene yapılarak gebelikleri teyit edilip sonuçlar kaydedildi.

4.2.6. Kan ve serum elde edilmesi

$\text{PGF}_{2\alpha}$ ile östrusları senkronize edilen ineklerden 2.doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasından hemen sonra ve suni tohumlamadan sonraki 3. günde steril tüplere vena jugularisten 10 ml kan alındı.

Ovsynch protokolü ile ovulasyonları senkronize edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki ineklerden $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonundan hemen sonra ve tohumlamadan sonraki 3. günde steril tüplere 10 ml kan vena jugularisten alındı.

CIDR ile östrusları senkronize edilen kontrol ve uygulama grubundaki ineklerden CIDR çıkarıldıktan hemen sonra ve tohumlamadan sonraki 3. günde steril tüplere 10 ml kan alındı.

Tüm gruplardan alınan kanlar 3000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldıktan sonra analiz yapılana kadar -20 °C'deki derin dondurucuda saklandı.

4.2.7. Vitamin E uygulaması

PGF_{2α} ile östrusları senkronize edilen kontrol grubu hayvanlara 2. doz PGF_{2α} uygulamasından hemen sonra i.m. 4 ml serum fizyolojik, uygulama grubundakilere ise 600 mg (4 ml i.m.) vitamin E (Evigen ampul, 300 mg/2ml, Aksu Farma) enjekte edildi. Ayrıca suni tohumlamadan hemen sonra kontrol grubundakilere aynı dozlarda serum fizyolojik, uygulama grubundakilere ise vitamin E enjekte edildi.

Ovsynch protokolü ile senkronize edilen kontrol grubu ineklere PGF_{2α} enjeksiyonundan ve suni tohumlamadan hemen sonra 4 ml i.m. serum fizyolojik, uygulama grubundakilere ise aynı dönemlerde 600 mg (4 ml i.m.) vitamin E enjekte edildi.

CIDR ile östrusları senkronize edilen kontrol grubu hayvanlara CIDR'ın çıkarılmasından ve suni tohumlamadan hemen sonra 4 ml i.m. serum fizyolojik, uygulama grubundakilere ise aynı dönemlerde 600 mg (4 ml i.m.) vitamin E enjekte edildi.

4.2.8. Serum MDA düzeyinin belirlenmesi

Serum MDA düzeyi TBARs (thiobarbituric acid reactive substances) konsantrasyonuna göre spektrofotometrik olarak tespit edildi. Kısaca, bir kısım test örneği ve iki kısım *stock reagent* (0.25 N HCl içerisinde %15'lik

trichloroacetic asit ve 0.25 N HCl içerisinde %0.375'lik tiobarbutiric asit) santrifüj tüpünde karıştırıldı. Solüsyon kaynar suda 15 dakika kadar ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 2500 g'de 10 dakika santrifüj işlemini takiben çökelti uzaklaştırıldı ve süzütünün absorbansı, test örneği hariç bütün ajanları içeren belirteçle kalibre edilen spektrofotometreyle 532 nm'de (Shimadzu 2R/UV-visible, Tokyo, Japonya) ölçüldü. MDA düzeyi nmol/ml olarak ifade edildi (99).

4.2.9 Serum vitamin E düzeyinin belirlenmesi

Serum örneklerindeki vitamin E düzeyi Desai (31)'nin modifiye metoduna göre spektrofotometrik olarak tespit edildi. Kısaca, asit ve alkolün yarışması için 0,3 ml % 60'lık KOH ve 2 ml %1'lik askorbik asit ilavesini takiben 70 °C'de 30 dakika ısıtıldı. Örnekler kuru buz üzerinde soğutulduktan sonra 2 ml distile su ve 1 ml n-hexane ilave edildi ve örnekler karıştırıldı. Daha sonra ayrışmasına izin vermek maksadıyla 10 dakika dinlenmeye bırakıldı. Kalibrasyon işlemi metanol içindeki α -tocopherol standart solüsyonu kullanılarak yapıldı. Süzüntü (supernatant) test örneği hariç bütün ajanları içeren belirteçle 330 nm'de spektrofotometreyle (Shimadzu 2R/UV-visible, Tokyo, Japonya) ölçüldü ve vitamin E düzeyi mg/dl olarak ifade edildi.

4.2.10. İstatistikî analiz

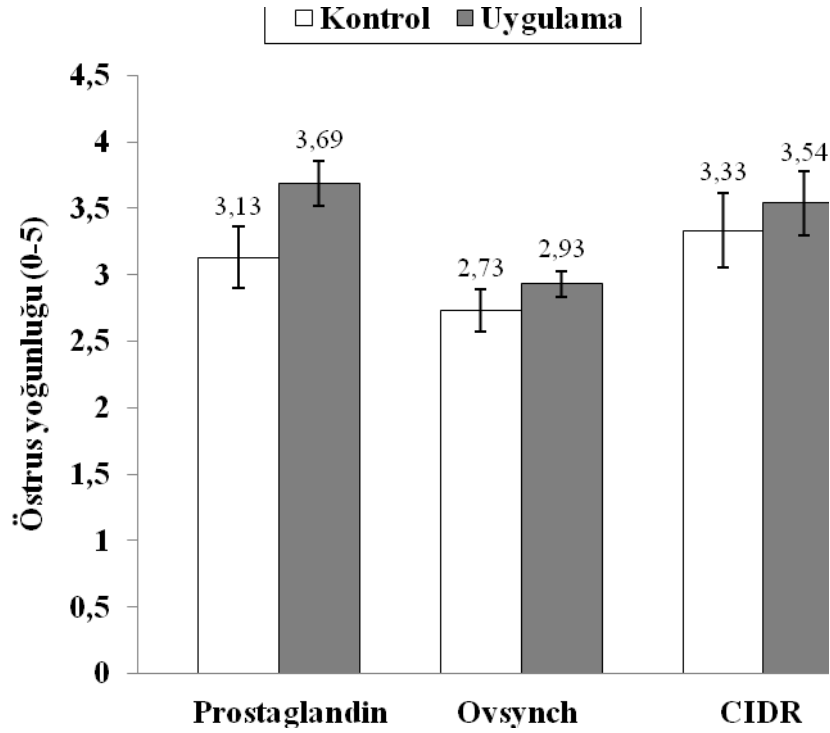
Veriler ortalama $\pm$ S.E.M. değerleri olarak sunuldu. Değerler arasındaki farklılıklar $p < 0.05$ düzeyinde önemli olarak kabul edildi. Östrus yoğunluğu açısından aynı senkronizasyon yöntemindeki kontrol ve uygulama gruplarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, farklı senkronizasyon yöntemlerinin karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis testi uygulandı. Gebelik oranları açısından

aynı senkronizasyon yöntemindeki kontrol ve uygulama grupları ile farklı senkronizasyon yöntemlerinin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. MDA ve vitamin E düzeyleri açısından aynı senkronizasyon yöntemindeki kontrol ve uygulama gruplarının karşılaştırılmasında bağımsız t-testi, bu gruplar içerisindeki 1. ve 2. kan örneklerinin karşılaştırılmasında ise bağımlı t-testi kullanıldı. MDA ve vitamin E düzeyleri açısından farklı senkronizasyon yöntemlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve takibinde *post-hoc* Tukey-HSD testi uygulandı. Östrus yoğunluğu, gebelik oranı, MDA ve vitamin E düzeyleri arasındaki ilişkinin tespitinde Pearson korelasyon testi kullanıldı. Tüm verilerin istatistikî karşılaştırmaları SPSS (10.0) istatistik programında yapıldı.

5.BULGULAR

5.1. Östrus yoğunlukları

Farklı senkronizasyon yöntemleri ile senkronize edilen ineklerde tohumlama zamanında tespit edilen östrus yoğunlukları Şekil 1’de sunulmuştur. Östrus yoğunlukları açısından hem aynı senkronizasyon grubu içerisindeki kontrol ve uygulama grupları arasında hem de farklı senkronizasyon uygulamaları arasında istatistiki anlamda önemli bir farklılık ($p>0.05$) gözlenmemiştir.



Şekil 1. Farklı senkronizasyon uygulamalarından sonra ineklerde gözlenen östrus yoğunlukları.

5.2. Gebelik oranları

Çalışmada elde edilen gebelik oranları Tablo 2’de sunulmuş olup bu sonuçlara göre çift doz PGF_{2α} ile senkronize edilen ineklerde kontrol ve uygulama gruplarında sırasıyla %40,0 ve %53,3 olarak, ovsynch protokolü ile ovulasyon senkronizasyonu yapılan gruptaki kontrol ve uygulama gruplarında sırasıyla %23,1 ve %46,7 olarak, CIDR uygulanarak senkronize edilen gruptaki kontrol ve uygulama gruplarında ise sırasıyla %46,2 ve %53,8 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2: Farklı senkronizasyon yöntemleriyle senkronize edilmiş kontrol ve uygulama grubu ineklerdeki gebelik oranları.

Senkronizasyon Yöntemleri	Gruplar			
	Kontrol		Uygulama	
	(%)	gebe hayvan/ tohumlanan hayvan	(%)	gebe hayvan/ tohumlanan hayvan
Çift Doz PGF_{2α} (n=30)	40,0	6/15	53,3	8/15
Ovsynch (n=28)	23,1	3/13	46,7	7/15
CIDR (n=26)	46,2	6/13	53,8	7/13

Aynı senkronizasyon grubunun kontrol ve uygulama grupları arasında yapılan istatiki analizler sonucunda gebelik oranları açısından uygulama grubunda sayısal bir artış gözlenmesine rağmen istatistikî anlamda önemli bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Ayrıca farklı senkronizasyon gruplarının kontrol ve uygulama gruplarının birbirleriyle karşılaştırılması sonucunda da istatistikî olarak önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0.05$).

5.3. Vitamin E düzeyleri

Serum vitamin E düzeyleri Tablo 3’de sunulmuştur. Buna göre çift doz PGF_{2α} uygulaması ile senkronize edilen gruptaki kontrol grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin vitamin E değerleri sırasıyla 0,169±0,016 ve 0,178±0,060 mg/dl, uygulama grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin değerleri ise sırasıyla 0,252±0,019 ve 1,650±0,720 mg/dl olarak tespit edilmiştir.

Ovsynch protokolü ile senkronize edilen gruptaki kontrol grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin vitamin E düzeyleri sırasıyla 0,318±0,100 ve 0,262±0,058 mg/dl, uygulama grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin değerleri ise 0,164±0,024 ve 0,718±0,260 mg/dl olarak tespit edilmiştir.

CIDR uygulaması ile senkronize edilen gruptaki kontrol grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin vitamin E değerleri sırasıyla 0,173±0,055 ve 0,165±0,012 mg/dl, uygulama grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin değerleri ise 0,297±0,003 ve 0,787±0,383 mg/dl olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistikî değerlendirmede aynı grup içerisindeki uygulama grubuna ait 2. kan örneklerinin vitamin E düzeyleri 1. kan örneklerinin vitamin E düzeylerinden sayısal olarak yüksek bulunmasına rağmen istatistikî açıdan önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde farklı senkronizasyon uygulaması yapılan bütün gruplar arasında da vitamin E düzeyleri açısından istatistiki olarak önemli bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tablo 3: Farklı senkronizasyon yöntemleriyle senkronize edilmiş kontrol ve uygulama grubu ineklerde 1. ve 2. kan örneklerine ait vitamin E düzeyleri.

	Gruplar			
	Kontrol (mg/dl)		Uygulama (mg/dl)	
Senkronizasyon Yöntemi	1. kan örneği	2. kan örneği	1. kan örneği	2. kan örneği
Çift Doz PGF_{2α} (n=30)	0,169±0,016	0,178±0,060	0,252±0,019	1,650±0,720
Ovsynch (n=28)	0,318±0,100	0,262±0,058	0,164±0,024	0,718±0,260
CIDR (n=26)	0,173±0,055	0,165±0,012	0,297±0,003	0,787±0,383

5.4. MDA düzeyleri

Serum MDA düzeyleri Tablo 4’de sunulmuştur. Buna göre çift doz PGF_{2α} uygulamasıyla senkronize edilen gruptaki kontrol grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin MDA düzeyleri sırasıyla 3,78±0,46 ve 3,74±0,43 nmol/ml, uygulama grubu ineklere ait düzeyler ise 4,09±0,36 ve 3,40±0,31 nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî değerlendirmede hem kontrol grubu içerisindeki 1. ve 2. kan örnekleri arasında hem de uygulama grubu içerisindeki 1. ve 2. kan örnekleri arasında istatistikî anlamda bir farklılık gözlenememiştir (p>0.05). Benzer şekilde hem 1. kan örnekleri hem de 2. kan örnekleri açısından kontrol ve uygulama grupları arasında da istatistikî olarak önemli bir farklılık tespit edilememiştir (p>0.05).

Ovsynch protokolü uygulanan gruptaki kontrol grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin MDA düzeyleri 4,14±0,40 ve 4,12±0,60 nmol/ml, uygulama grubu ineklere ait düzeyler ise 3,96±0,53 ve 2,46±0,18 nmol/ml olarak bulunmuştur.

Tablo 4: Farklı senkronizasyon yöntemleriyle senkronize edilmiş kontrol ve uygulama grubu ineklerde 1. ve 2. kan örneklerindeki MDA düzeyleri

Senkronizasyon Yöntemi	Gruplar			
	Kontrol (nmol/ml)		Uygulama (nmol/ml)	
	1. kan örneği	2. kan örneği	1. kan örneği	2. kan örneği
Çift Doz PGF _{2α} (n=30)	3,78±0,46 ^a	3,74±0,43	4,09±0,36 ^a	3,40±0,31
Ovsynch (n=28)	4,14±0,40 ^a	4,12±0,60	3,96±0,53 ^a	2,46±0,18
CIDR (n=26)	7,01±0,48 ^b	3,22±0,35 [*]	7,45±0,98 ^b	2,53±0,47 ^{**}

(a,b): Aynı sütun içerisinde değişik harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistikî açıdan önemlidir (p <0.01).

(*): Kontrol grubu içerisinde 1. kan örneği ile 2. kan örneği arasındaki fark istatistikî olarak önemlidir (p<0.01).

(**): Uygulama grubu içerisinde 1. kan örneği ile 2. kan örneği arasındaki fark istatistikî olarak önemlidir (p<0.001).

Yapılan istatistikî değerlendirmede hem kontrol grubu içerisindeki 1. ve 2. kan örnekleri arasında hem de uygulama grubu içerisindeki 1. ve 2. kan örnekleri arasında istatistikî anlamda bir farklılık gözlenmemiştir (p>0.05). Benzer şekilde hem 1. kan örnekleri hem de 2. kan örnekleri açısından kontrol ve uygulama grupları arasında da istatistikî olarak önemli bir farklılık tespit edilememiştir (p>0.05).

CIDR uygulaması ile senkronize edilen gruptaki kontrol grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin MDA düzeyleri sırasıyla 7,01±0,48 ve 3,22±0,35 nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre kontrol grubuna ait 1. ve 2. kan örneklerindeki MDA düzeyleri arasında istatistikî olarak önemli bir fark gözlenmiştir (p<0.01). Uygulama grubu ineklere ait 1. ve 2. kan örneklerinin MDA düzeyleri 7,45±0,98 ve 2,53±0,47 nmol/ml olarak bulunmuştur. Bu sonuca

göre uygulama grubuna ait 1. ve 2. kan örneklerindeki MDA düzeyleri arasında istatistikî olarak çok önemli bir fark gözlenmiştir ($p<0.001$).

CIDR uygulaması ile senkronize edilen gruptaki kontrol ve uygulama grubu ineklere ait 1. kan örneklerindeki MDA düzeyleri çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ ve ovsynch protokolü ile senkronize edilen gruptaki kontrol ve uygulama grupları ineklere ait 1. kan örneklerindeki MDA düzeylerinden istatistikî olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

5.5. Korelasyon bulguları

Çalışmadan elde edilen tüm parametrelere ait korelasyon katsayıları Tablo 5’de sunulmuştur. Yapılan istatistikî değerlendirmede sadece gebelik oranı ile 2. kan örneklerine ait MDA düzeyleri arasında önemli derecede pozitif bir ilişki tespit edilmiştir ($r= 0,853$, $p<0.05$).

	MDA (1.kan örneği)	MDA (2.kan örneği)	Vitamin E (1. kan örneği)	Vitamin E (2. kan örneği)	Gebelik oranı	Östrus yoğunluğu
MDA (1.kan örneği)	-----					
MDA (2.kan örneği)	-0,805	-----				
Vitamin E (1. kan örneği)	-0.114	-0,047	-----			
Vitamin E (2. kan örneği)	0,352	- 0,257	0,200	-----		
Gebelik oranı	0,764	0,853*	- 0,054	0,685	-----	
Östrus yoğunluğu	0,255	0,176	0,375	0,449	-0,07	-----

Tablo 5: MDA, vitamin E, gebelik oranı ve östrus yoğunluğu parametrelerine ait korelasyon katsayıları.

(*) : $p < 0.05$.

6. TARTIŞMA

Çeşitli araştırmacılar (9, 26, 34, 59, 63, 74, 77, 154) 11 gün arayla çift PGF_{2α} uygulanan ineklerden ilk tohumlamada %30-70 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada ise aynı yöntemle tohumlanan ineklerde kontrol ve uygulama gruplarından sabit tohumlama sonucunda gebelik oranı sırasıyla % 40 ve % 53.3 oranında belirlenmiş ve yapılan çalışmada ayrıca uygulama grubuna Vitamin E'de uygulanmıştır. Bu çalışmada son PGF_{2α} enjeksiyonundan sonra 80. saatte sabit zamanlı tek tohumlama uygulanırken, birçok çalışmada genellikle 72.ve 96. saatlerde çift tohumlama yapılması gebelik oranları arasındaki farklılığa bir neden olarak ileri sürülebilir. Bununla birlikte sunulan çalışma ile diğer çalışmalar arasında gebelik oranları açısından gözlenen farklılık tohumlama yöntemi, kullanılan hayvanların farklı ırkta olmasına veya bakım besleme şartlarındaki değişikliklere bağlı olabilir. Ayrıca bu konuya ilişkin literatür bildirimlerde; PGF_{2α} analogları ile senkronize edilerek tohumlanan ineklerde gebe kalma oranının %10-20 olumsuz etkilenebileceği bildirilmektedir. PGF_{2α} analoglarının gebe kalma oranı üzerine olumsuz etkileri olarak gebelik oranlarının uygulama grubunda, herhangi bir hormon uygulanmayan kontrol grubundan daha düşük olduğunun gözlemlenmesi sonucu ortaya çıkmıştır. Oysa 11 gün arayla PGF_{2α} uygulayarak senkronize ettiğimiz hem kontrol hem de uygulama grubu hayvanların gebelik oranları normal sınırlar içerisinde bulunmuş ancak istenilen seviyede olmamıştır. Sunulan çalışmada senkronizasyon yöntemlerinden olan 11 gün arayla çift doz PGF_{2α} uygulaması ile birlikte Vitamin E uygulamasının gebelik oranında sayısal yükselmeye neden olduğu görülmektedir. Bununla birlikte çalışmada elde edilen verilere göre çift doz PGF_{2α}

ile senkronize edilen kontrol ve uygulama grubu hayvanların 1. ve 2. kan örnekleri arasında vitamin E düzeyleri açısından istatistiki açıdan farklılıklar gözlenmemesine rağmen, $\text{PGF}_{2\alpha}$ analoglarının ineklerde gebe kalma oranı üzerine olumsuz etkisini vitamin E'nin kısmen bertaraf ettiğini göstermektedir. Çeşitli araştırmalarda (1, 41, 68, 103, 138) bildirildiği gibi bu durum, $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonucu oluşabilecek oksidatif maddelerin antioksidan vitamin E ile non-enzimatik olarak inaktif hale getirilmesinden kaynaklanabilir. Gebelik oranında sayısal olarak vitamin E uygulanan grupta daha yüksek olması eksojen $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonucu artan ROS etkisini vitamin E'nin düzenlemesinden meydana geldiği kanaatindeyiz. Çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasıyla senkronize edilen gruptaki MDA düzeylerinde yapılan istatistikî değerlendirmede hem kontrol grubu içerisindeki 1. ve 2. kan örnekleri arasında hem de uygulama grubu içerisindeki 1. ve 2. kan örnekleri arasında istatistikî anlamda bir farklılık gözlenememiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde hem 1. kan örnekleri hem de 2. kan örnekleri açısından kontrol ve uygulama grupları arasında da istatistikî olarak önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0.05$). Elde edilen bu veride çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasının ROS'nin neden olduğu lipid peroksidasyon sonucu oluşan MDA düzeylerinde organizmada artışa neden olmadığını göstermektedir.

Sunulan çalışmada $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile östrus senkronizasyonu sonucu oluşan stres MDA düzeyini istatistikî değil de sayısal olarak arttırmıştır. Halbu ki organizmada ROS fizyolojik düzeylerde bulunduğu zaman oosit olgunlaşması, ovulasyon, implantasyon, blastosist şekillenmesi, lüteolizis steroidogenezis, akrozom reaksiyonu, fertilizasyon ve gebelikte luteal devamlılık gibi pek çok reproduktif olaylarda düzenleyici bir rol oynar. ROS'nin fazlılığı ise tersi etki

yapabilmektedir. Vitamin E'de ROS'nin organizmadaki bu rolünü antioksidan etkisiyle kontrol edebilmektedir (1, 68, 103, 138). Bu yüzden 11 gün arayla çift doz PGF_{2α} ile senkronize edilen ineklerden uygulama grubunda gebelik oranı kontrol grubuna göre sayısal olarak fazla bulunmuştur. Yapılan çalışmada diğer araştırmacılar farklı olarak hem tek ve sabit zamanlı tohumlama yapılmış hem de vitamin E uygulanmıştır. Buna rağmen gebelik oranları uygulama grubunda sayısal yükselme olmasına rağmen istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur.

Sunulan çalışmada, ovsynch senkronizasyon programı uygulanan ineklerde vitamin E enjeksiyonu ile suni tohumlama sonrası gebelik oranını artırmak amaçlanmıştır. Pursley ve ark. (104) ilk defa yaptıkları uygulamada ovulasyonun senkronizasyonu sonrası sabit-zamanlı tohumlama programı ile östrus semptomlarının gözlenmesi sorununu ortadan kaldırmıştır. Bu programla tedavi edilen ineklerde, ovaryumlarda kist/hipoplazi, suböstrus, kornulardaki tonus zayıflığı ve Graaf follikülünün belirlenememesi gibi durumların uygulanacak suni tohumlanmada bir engel oluşturmadığı bildirilmektedir. Yapılan birçok çalışma da, ovsynch senkronizasyon programları ile %11-60 arasında gebelik elde edildiği bildirilmiştir (26, 34, 61, 79, 84, 104).

Sunulan çalışmada ise, ovsynch protokolü ile yapılan suni tohumlama sonucu kontrol ve uygulama gruplarından sırasıyla elde edilen % 23,1 ve % 46,7'lik gebelik sonuçları ile yukarıdaki araştırmacıların bildirdikleri gebelik oranları arasında paralellik bulunmaktadır. Ovsynch protokolü ile östrus senkronizasyonda ilk GnRH uygulamasından sonra oluşan dominant follikülün ovule olmaması nedeniyle prematüre östrusların şekillenmesinden dolayı araştırmacıların elde ettiği bulgular arasında farklılık oluşmuş olabilir.

İneklerde seksüel siklusun folliküler ve erken luteal dönemde olmasına bağlı olarak kan plazma progesteron düzeylerinin düşük olması nedeniyle gebelik oranlarında elde edilen düşük bulguların nedeni olabileceği kanaatindeyiz. Ayrıca İneklerde sperm kapasitasyonunun diğer türlere göre daha uzun sürmesi (6 saat), ovule olmuş oositin hızla yaşlanmaya başlayıp döllenme yeteneğini kısa sürede kaybetmesi gibi nedenlerle döllenme yeteneğine sahip iki üreme hücresinin ovidukta uygun zamanda karşılaştırılabilmesi için ovulasyon ve tohumlama zamanı kritik öneme sahiptir. Bu nedenle sekronizasyon yapılmalıdır. Sunulan çalışmada ise, ovsynch yöntemi ile senkronizasyon edilen kontrol ve uygulama grupları arasında gebelik oranları yönünden göreceli farklılıkların, uygulanan senkronizasyon programı bitiminden önce prematüre östrus gösterme oranlarına ve hayvanların uygulama esnasında seksüel sikluslarının değişik dönemlerinde olmalarına bağlı olduğu da düşünülebilir. Sonuç olarak, sunulan çalışmada ineklerde ovsynch ile sekronizasyonda uygulama grubuna yapılan vitamin E enjeksiyonunun serum seviyelerini çok önemli düzeyde arttırmamasına rağmen bu durumun suni tohumlama sonrası gebelik oranlarında göreceli artışa neden olduğu görülmektedir. Dolayısıyla, ovsynch ile sekronizasyonda vitamin E uygulanması özellikle yetersiz bakım besleme şartları altındaki ineklerde daha yüksek gebelik oranları elde etmek için belli düzeyde yararlı olabilir sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle ineklerde fertilitenin artırılabilmesi için ovsynch ile östrüslerin senkronizasyonu ile birlikte ROS'nin etkisini ortadan kaldırmak için antioksidan kullanılabilir. Sunulan çalışmada elde edilen gebelik oranında ki sayısal farklılık da bu durumu göstermektedir. Çalışmada elde edilen verilere göre ovsynch protokolü ile senkronize edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki hayvanların 1.

ve 2. kan örneklerinin vitamin E düzeyi arasında istatistikî olarak farklılıklar gözlenmemiş ve yapılan istatistikî değerlendirmelerde önem arz etmemektedir. Buna rağmen ovsynch protokolü ile sekronizasyon sonucunda oluşabilecek ROS'nin vücudun savunma mekanizması olan antioksidan sistem ve vitamin E enjeksiyonu ile uzaklaştırılabileceği düşünülebilir. Çünkü ovsynch protokolü ile sekronize edilen kontrol grubu ineklerde tespit edilen MDA düzeyi vitamin E uygulanan gruptan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Antioksidan olan vitamin E organizmada oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizmasının tam bir denge halinde çalışmasına neden olduğu ve bu dengenin radikallerin olumsuz etkisi ile ortaya çıkan oksidatif strese engel olduğu aşikârdır.

Sönmez ve ark. (123) Saanen keçileri üzerine yapmış oldukları çalışmada intravaginal sünger uygulamasıyla senkronize edilen keçilerde süngerin çıkarılması ve suni tohumlama zamanında uygulanan E vitaminin gebelik oranını etkilemediğini ancak yavru sayısını olumlu etkilediğini bunun da embriyo kalitesinin korunması yoluyla meydana gelmiş olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmada kullanılan ineklerin çoklu doğum yapma ihtimali çok az olduğu için yavru sayısı konusundaki etkisi belirlenememiştir. Ancak her senkronizasyon metodunun kontrol grubu kendi uygulama gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak olmasa da sayısal olarak bir artışın bulunduğu ortaya çıkmıştır. Bu da vitamin E'nin embriyo kalitesini korumaya yönelik etkisinden olabileceği kanısını ortaya çıkarmaktadır.

Hıdıroğlu ve ark. (48) silaj ile beslenen ineklerde serum vitamin E düzeyini 3.41 µg/ml (0,341mg/dl) ve samanla beslenen ineklerde ise 2.25 µg/ml (0,225 mg/dl) olarak bulmuşlardır. Kara ve ark. (58) yapmış oldukları çalışmada

gebe olmayan ineklerde kandaki vitamin E düzeyini 4.85 µg/ml (0,485 mg/dl) gebe olan ineklerde ise 2.56 µg/ml (0,256 mg/dl) olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların (58) gebe olmayan ineklerde tespit edilen vitamin E düzeyi ovsynch ile sekronizasyon yöntemindeki kontrol grubunun 1. ve 2. kan örnekleri ve uygulama gruplarındaki 1. kan örneklerindeki vitamin E değerlerinden yüksek, uygulama grubu ineklerin 2. kan örneklerindeki değerlerden düşük çıkmıştır. Bu farklılık enjeksiyonunu takiben kandaki vitamin E düzeyinin gözle görülür şekilde arttığını göstermektedir.

Lynch ve ark. (78) holştayn ineklerde gebeliğin 6 ve 7. aylarında kan serumu vitamin E düzeylerinin 137 µg/dl (0,137 mg/dl) olduğunu, Jagos ve ark. (53) ise holştayn ineklerde gebeliğin son ayında vitamin E düzeyinin 168 µg/dl (0,168 mg/dl) olduğunu bildirmektedirler. Her iki çalışmadaki vitamin E düzeyleri bütün senkronizasyon yöntemlerindeki kontrol gruplarının 1. ve 2. kan örnekleri ve bütün uygulama gruplarındaki 1. kan örneklerindeki vitamin E değerlerine benzer, bütün uygulama grubu ineklerinin 2. kan örneklerindeki değerlerinden düşük çıkmıştır. Vitamin E düzeyleri arasındaki farklılıklar bakım-besleme şartlarına, ölçümü yapan kişiye, gebelik dönemine veya ölçüm metodundaki farklılıklara bağlı olabilir.

Aksakal ve ark. (7, 8) gebe holştayn ve montofon sığırlarda haziran ayında 4.31µg/ml (0,431 mg/dl) olan vitamin E düzeylerinin gebelik süresince azaldığını ve gebeliğin son ayında 1.64 µg/ml (0,164 mg/dl) seviyesi ile en düşük değerde olduğunu belirtmişlerdir. Aksakal ve ark.'nın holştayn ve montofon ırkı sığırlarda haziran ayında elde ettiği vitamin E değerleri, çalışmadaki bütün senkronizasyon yöntemlerindeki kontrol gruplarının 1. ve 2. kan örnekleri ve bütün uygulama

gruplarındaki 1. kan örneklerindeki vitamin E değerlerinden yüksek, bütün uygulama grubu ineklerinin 2. kan örneklerindeki değerlerden düşük çıkmıştır. Bu farklılık enjeksiyonunu takiben kandaki vitamin E düzeyinin gözle görülür şekilde arttığını göstermektedir.

Beytut ve Kamiloğlu (16) yapmış oldukları çalışmada Kars yöresindeki sağlıklı ineklerde serum E vitamini düzeyini 738.75 µg/dl (0,73875 mg/dl) olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler çalışmamızdaki bütün senkronizasyon yöntemlerindeki kontrol gruplarının 1. ve 2. kan örnekleri ve bütün uygulama gruplarındaki 1. kan örneklerindeki vitamin E değerlerinden yüksek, bütün uygulama grubu ineklerinin 2. kan örneklerindeki değerlere benzerlik göstermiştir. Vitamin E düzeyleri arasındaki farklılıklar bakım-besleme şartlarına, ölçümü yapan kişiye, gebeliğe veya ölçüm metodundaki farklılıklara bağlı olabilir.

Siversten ve ark.(121) yapmış oldukları çalışmada Norveç şartlarında yetiştirilen sağlıklı Norveç ırkı sütçü ineklerin kanındaki ortalama vitamin E miktarını 6.9 µg/ml (0,69 mg/dl) olarak bildirmişlerdir. Bu sonuç çalışmadaki kontrol gruplarından ve uygulama gruplarının 1. kan örneklerinden elde edilen değerlerden yüksek, uygulamanın 2. kan örneklerindeki değerlere benzer bulunmuştur. İki çalışmanın vitamin E düzeyleri arasındaki farklılık kullanılan hayvan ırkının farklı olmasına, hayvanların farklı iklimsel ve çevre şartlarında yetiştirilmesine ve bakım ve besleme koşulları arasındaki farklılıklara bağlı olabilir.

Witchel ve ark.(148) merada otlayan düvelerde kontrol grubundaki vitamin E düzeyini 1.3 µg/ml (0,13 mg/dl) olarak bildirmişlerdir. Değer çalışmadaki bütün

senkronizasyon yöntemlerindeki kontrol gruplarının 1. ve 2. kan örnekleri ve bütün uygulama gruplarındaki 1. kan örneklerindeki vitamin E değerlerine benzer, bütün uygulama grubu ineklerinin 2. kan örneklerindeki değerlerden düşük çıkmıştır. Bu farklılık enjeksiyonunu takiben kandaki vitamin E düzeyinin gözle görülür şekilde arttığını göstermektedir.

Çalışmada elde edilen MDA düzeyleri çift doz prostaglandin uygulamasıyla senkronize edilen ineklerin kontrol grubu için 1. ve 2. kan örneklerine ait değerler sırasıyla $3,78 \pm 0,46$ nmol/ml ve $3,74 \pm 0,43$ nmol/ml, uygulama grubuna ait inekler için ise sırasıyla $4,09 \pm 0,36$ nmol/ml ve $3,40 \pm 0,31$ nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Buna göre yapılan analizler değerlendirildiğinde kontrol ve uygulama gruplarındaki 1. ve 2. kan örnekleri arasında istatistiksel anlamda bir farklılık gözlenmemiştir. Buna göre çift doz prostaglandin uygulaması senkronize edilen ineklerde oksidatif strese sebep olmamaktadır.

Ovsynch protokolü uygulanan ineklerin kontrol grubunun 1. ve 2. kan örneklerinden tespit edilen MDA düzeyleri $4,14 \pm 0,40$ nmol/ml ve $4,12 \pm 0,60$ nmol/ml, uygulama grubunun ise $3,96 \pm 0,53$ nmol/ml ve $2,46 \pm 0,18$ nmol/ml'dir. Yapılan istatistikî analizler sonucunda bu protokol grubu içinde önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu sonuca göre ovsynch protokolü senkronize edilen hayvanlar üzerinde herhangi bir oksidatif strese yol açmamaktadır.

CIDR uygulanan ineklerde kontrol grubunda alınan 1. ve 2. kan örneklerinin MDA değerleri sırasıyla $7,01 \pm 0,48$ nmol/ml ve $3,22 \pm 0,35$ nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre 1. ve 2. kan örneklerindeki MDA değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmiştir ($p < 0,01$). Uygulama grubundan alınan 1. ve 2. kan örneklerinin MDA değerleri $7,45 \pm 0,98$

nmol/ml ve $2,53 \pm 0,47$ nmol/ml olarak bulunmuş olup aradaki fark istatistiksel olarak oldukça önemli tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu sonuca göre CIDR yöntemi senkronize edilen hayvanlar üzerinde uygulama süresince önemli derecede oksitadif strese neden olmaktadır. Ancak sönmez ve ark.(108) belirttiği gibi CIDR'ın uzaklaştırılmasından sonra 3 gün içerisinde MDA değerleri normal seviyelere dönmektedir. CIDR'ın vaginada kaldığı süre boyunca MDA değerlerinin yüksek bulunması CIDR'ın neden olduğu vaginitten kaynaklanan ROS düzeylerindeki artışa bağlı olabilir.

Çalışmada kullanılan farklı senkronizasyon yöntemleri arasında gebelik oranı bakımından sayısal olarak farklılık bulunmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark elde edilememiştir. Bu durum senkronizasyon yöntemlerinin gebelik sonuçları açısından birbirlerine herhangi bir üstünlüğünün olmadığını göstermektedir. Östrus yoğunlukları açısından farklı senkronizasyon grupları arasında ve aynı senkronizasyon grubundaki kontrol ve uygulama alt grupları arasında istatistiki anlamda bir farklılık tespit edilmemesine rağmen ovsynch grubunun östrus yoğunlukları diğer iki senkronizasyon grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum ovsynch protokolünde uygulanan 2. GnRH'ın preovulatör LH'yı indüklemesi ve preovulatör LH'nin da östrojeni baskılamasına bağlı olarak östrus semptomlarının daha hafif şekillenmesi ile izah edilebilir.

Çift doz prostaglandin ve ovsynch yöntemleri ile senkronize edilen gruplardaki hayvanların kontrol ve uygulama grupları arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark çıkmamıştır. Ancak CIDR -Kontrol ve CIDR-Uygulama gruplarının 1. ve 2. kan örnekleri arasında önemli derecede farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu da CIDR uygulamasının önemli derecede oksidatif strese neden

olduğunu göstermiştir. Ancak gebelik sonuçları karşılaştırıldığında diğer senkronizasyon grupları ile arasında herhangi bir fark çıkmadığından CIDR uygulamasından dolayı meydana gelen oksidatif stresin embriyo kalitesini etkilemediği görüşüne varıldı. CIDR kontrol grubunun 1. ve 2. kan örnekleri arasında önemli derecede ($p<0,01$) farklılık bulunmasına karşın CIDR-uygulama grubunun 1. ve 2. kan örnekleri arasında oldukça önemli bir farklılık ($p<0,001$) ortaya çıkmış olması da vitamin E uygulamasının MDA'nın etkilerinin ortadan kaldırılmasında etkili bir rol oynadığı kanısına varıldı.

Sunulan çalışmada ayrıca gebelik oranı ile 2. kan örneği MDA düzeyleri arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Normal gebelikte homeostasisin etkilenmesine bağlı olarak metabolik bir stres meydana gelebilmektedir. Bu nedenle gebelik oranı ile MDA düzeyi arasında pozitif bir ilişki olması muhtemeldir.

Sonuç olarak, bütün senkronizasyon yöntemlerinin uygulama gruplarında elde edilen gebelik oranları kontrol gruplarındakilere oranla sayısal olarak daha yüksek olduğundan ve ayrıca CIDR ile senkronizasyon sonucu ortaya çıkan reproduktif oksidatif stresin önlenmesi amacıyla vitamin E'nin senkronizasyon yöntemleri ile birlikte kullanılması tavsiye edilebilir.

6. KAYNAKLAR

- 1-Agarwal A, Allamaneni SS. (2004). Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reprod Biomed Online* 9: 338–347.
- 2-Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 3, 28.
- 3-Agrawal A, Kale RK, (2001). Radiation Induced Peroxidative Damage Mechanism and Significance. *Ind Jour Exp Bio* 39: 291-309.
- 4-Aitken RJ, Clarkson JS. (1988). Significance of reactive oxygen species and antioxidants in defining the efficacy of sperm penetration techniques. *J Androl* 9: 367-376.
- 5-Akkuş İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1. Baskı, 17.
- 6-Akman N, Özkütük K, Kumlu S, Yener SM, (2009). Türkiye’de Sığır Yetiştiriciliği ve Sığır Yetiştiriciliğinin Geleceği. Erişim: (http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/71c50ad1a156d72_ek.pdf?tipi=14&sube=) Erişim Tarihi: 03.04.2009.
- 7-Aksakal M, Karakılçık AZ, Kalkan C, Çay M, Nazıroğlu M. (1995). İneklerde üremenin çeşitli dönemlerinde β -karoten ve E vitamini düzeyleri. *Doğa Tr J of Vet Anim Sci* 19: 59-64.
- 8-Aksakal M, Karakılçık AZ, Kalkan C. (1990). İnek ve düvelerin kan plazması β -karoten ve vitamin E değerleri üzerinde ırk, yaş, mevsim gebelik ve laktasyonun etkileri. *Doğa Tr J of Vet Anim Sci* 14: 320-333.
- 9-Aksoy M, Alan M, Tekeli T, Semacan A, Çoyan K. (1992). İnek ve düvelerde östrus belirleme hataları ve suni tohumlama uygulamasındaki önemi. *Assuit Vet Med J* 53: 284-288.
- 10-Allison RD, Laven RA. (2000). Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Vet Rec* 147: 703-8.
- 11-Anonim. Adet Döngüsü-Kadının 28 günü, (2009) Erişim (<http://www.hormonlar.com/siklus1.html>) Erişim tarihi: 09.08.2009
- 12-Aréchiga CF, Vázquez-Flores S, Ortiz O, Hern J, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ. (1998). Effect of injection of β -carotene or Vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 50: 65-76.
- 13-Aréchiga CF, Ortiz O, Hansen PJ. (1994). Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology* 41: 1251-1258
- 14-Bartolome JA, van Leeuwen JJJ, Thieme M, Sa’filho OG, Melendez P, Archbald LF, Thatcher WW. (2009). Synchronization and resynchronization of inseminations in lactating dairy cows with the CIDR insert and the Ovsynch protocol. *Theriogenology* 72: 869–878.

- 15-Beal WE, Chenault JR, Day ML, Corah LR. (1988). Variation in conception rates following synchronization of estrus with melengestrol acetate and prostaglandin F2 α . *J Anim Sci* 66: 599-602.
- 16-Beytut E, Kamiloğlu NN. (2005). *Brucella abortus* ile enfekte sığırların eritrosit antioksidan savunma sistemi ve lipid peroksidasyonundaki değişiklikler. *Kafkas Üni Vet Fak Dergi* 11: 61-64
- 17 Bieri JG. (1990). Vitamin E. In: Brown ML, ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington, DC: International Life Sciences Institute: 117–121.
- 18-Bourne N, Wathes DC, Lawrence KE, McGowan M, Laven RA. (2008). The effect of parenteral supplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the U.K. *Vet Jour* 177: 381–387.
- 19-Butler WR, Smith RD. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci* 72: 767–783.
- 20-Canooğlu E. (2004). İneklerde senkronizasyon amaçlı Prostaglandin F2 α uygulamalarından sonra oluşacak östrusların görülme zamanı. *Erciyes Üni Vet Fak Derg* 1: 43-47.
- 21-Carriere PD, Amaya D, Lee B. (1995). Ultrasonography and endocrinology of ovarian dysfunctions induced in heifers with estradiol valerate. *Theriogenology* 43: 1061–1076.
- 22-Cheeseman KH, Slater TF.(1993). *An Introduction to Free Radical Biochemistry*. Br Med Bull 49: 481-493.
- 23-Chenault JR, Kratzer DD, Rzepkowski RA, Goadwin MC. (1990). LH and FSH response of Holstein heifers to fertilin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology* 34: 81-86.
- 24-Cleef JV, Macmillan KL, Drost M, Lucy MC, Thatcher WW.(1996). Effects of administering progesteron at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology* 46: 1117–1130
- 25-Colazo MG, Kastelic JP, Whittaker PR, Gavaga QA, Wilde R, Mapletoft RJ. (2004). Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Anim Reprod Sci* 81: 25-34.
- 26-Çoyan K, Ataman MB, Erdem H, Kaya A, Kaşıkçı G. (2003). Synchronization of Estrus in Cows Using Double PGF2 α , GnRH- PGF2 α and HCG- PGF2 α Combination. *Revue de Med Vet* 154: 91-96.
- 27-Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Ghosh S, Goswami SK, Chakravarty BN, Chaudhury K. (2006). Reactive oxygen species level in follicular fluid—embryo quality marker in IVF? *Hum Reprod* 21: 2403–2407.
- 28-Daşkın A. (2005). Sığırcılık işletmelerinde reproduksiyon yönetimi ve suni tohumlama kitabı 226-244.

- 29- De Rensis F, Allegri M, Seider GE. (1999). Estrus synchronization and chorionic gonadotrophin and prostaglandin F 2 alpha analog. *Theriogenology* 52: 259-269.
- 30- Demirci E. (2007). Evcil hayvanlarda reproduksiyon, suni tohumlama ve androloji ders notları.
- 31-Desai ID. (1984). Vitamin E analysis methods for animal tissues. In: L. Packer, Editor, *Methods in enzymology; Oxygen radicals in biological systems*. Vol. 105, Academic Press, New York, 138–147.
- 32-Dinç DA. (2006). İneklerde reproduktif verimliliği arttırma programları. *vet hek derg* 77: 50-64
- 33- El-Zarkouny SZ, Stevenson JS. (2004). Resynchronizing estrus with progesterone or progesterone plus estrogen in cows of unknown pregnancy status. *J Dairy Sci* 87: 3306–3321.
- 34-Erdoğan G, Alaçam E. (2003). Aile tipi sütçü inek işletmelerinde kontrollü tohumlama ile fertilitenin yükseltilmesine ilişkin girişimler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 50: 187-193
- 35-Fainaru O, Almog B, Pinchuk I, Kupferminc MJ, Lichtenberg D, Many A. (2002). Active labour is associated with increased oxidisibility of serum lipids ex vivo. *Br J Obst Gynecol* 109: 938–941.
- 36-Ferguson JD, Galligan DT. (1993). Prostaglandin synchronization programs in dairy herds (part I). *Compend Contin Educ Pract Vet* 15: 646–655.
- 37-Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. (1984). Reproductive management of dairy cattle based on synchronization of estrous cycles. *J Dairy Sci* 67: 153-160.
- 38-Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. Effects of progesterone and parity on conception. *J Dairy Sci* 73: 2817–2825.
- 39-Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J Dairy Sci* 58: 248–256.
- 40-Fricke PM, Reynolds LP, Dale AR. (1993). Effects of human chorionic gonadotropin administered early in estrus cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *J Anim Sci* 71: 1242-1246.
- 41-Fujii J, Iuchi Y, Okada F. (2005). Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol* 3: 43.
- 42-Geary TW, Whittier JC. (1998). Effect of a timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or Co-Synch protocol in beef cows. *Prof Anim Sci* 14: 217–220.
- 43-Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. (1989). Composition and characteristic of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 20: 187-200.

- 44-Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil* 87: 223-230.
- 45-Gökçen H. (1990). Evcil hayvanlarda seksüel sikluslar, "Therigenoloji" Alaçam E (Editör). Nurol matbaacılık, Ankara
- 46-Helmersson J. (2005). Prostaglandins and isoprostanes in relation to risk factors for atherosclerosis: role of inflammation and oxidative stress. Thesis, Uppsala University.
- 47-Heuweiser W, Mansfeld R. (1999). Oestrus synchronisation. In, Grunert E, De Kruif A (Eds): *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*. 3. Auflage, Parey Verlag, Berlin, 351-358.
- 48-Hidiroglu M, Batra TR, Roy GL. (1994). Changes in plasma alpha-tocopherol and selenium of gestating cows fed hay or silage. *J Dairy Sci* 77: 190-5.
- 49-Hixon DL, Kesler DJ, Troxel TR, Vincent DL, Wiseman BS. (1981). Reproductive hormone secretions and first service conception rate subsequent to ovulation control with Synchro-Mate-B. *Therigenology*; 16: 219-229.
- 50-Holliwell B, Gutteridge JMC. (1989). *Free radicals in Biology and Medicine* (2nd edition). Oxford: clarendon pres.
- 51-Ishikawa M. (1993). Oxygen radicals-superoxide dismutase system and reproduction medicine. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 45: 842-848.
- 52- Jackson PS, Johnson CT, Furr BJ, Beattie JF. (1979). Influence of stage of oestrous cycle on time of oestrus following cloprostenol treatment in the bovine. *Therigenology* 12: 153-154.
- 53-Jagos P, Bouda J, Geryk J. (1979). The plasma Levels of vitamins A, E and carotene in cows in late pregnancy and their foetuses. *Acta Vet Brno* 48: 19-23.
- 54-Jochle W. (1993). Forty years of control of the oestrous cycle in ruminants: progress made, unresolved problems and the potential impact of sperm encapsulation technology. *Reprod Fertil Dev* 5: 587-594.
- 55-Johnson CT. (1978). Time of onset of oestrus after the injection of heifers with cloprostenol. *Vet Rec* 103: 204-206.
- 56-Jozwik M, Wolczynski S, Szamatowicz M. (1999). Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod* 5: 409-413.
- 57-Kaçar C, Kamiloğlu NN, Uçar Ö, Arı UÇ, Pancarcı ŞM, Güngör Ö. (2008). İneklerde β -karoten + E Vitamini Uygulamasıyla Kombine Edilen Ovsynch ve Cosynch Senkronizasyon Programlarının Gebelik Oranı Üzerine Etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 14: 45-50.
- 58-Kara H, Karataş F, Servi K, Akar Y, Konar V. (2001). Holştayn Sığırlarda Gebeliğin Farklı Dönemlerindeki Plazma Adrenalin, Noradrenalin İle Vitamin A ve E Düzeylerinin Araştırılması. *FÜ Sağ Bil Derg* 15: 171-174.

- 59-Karaca F, Gülyüz F, Uslu BA. (2006). Saha şartlarındaki sığırlarda ikinci PGF2 α enjeksiyonunu takiben östrüste tohumlamalar ile sabit zamanlı tohumlamaların karşılaştırılması. YYÜ Sağ Bil Derg 9: 226-230.
- 60- Kastelic JP. (1994). Understanding ovarian follicular development in cattle. Vet Med 6: 64-71.
- 61-Kırbaş M, Çoyan K, Bülbül B, Ataman MB, Köse M, Akman O, Dursun S. (2008). İnek ve Düvelerde Luteal Aktivitenin Ovsynch Protokolüne Etkisi. Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 27: 47-52.
- 62-King ME, Kiracofe GH, Stevenson JS, Schalles RR: (1982) Effect of stage of estrous cycle on interval to estrus after PGF2 α in beef cattle. Theriogenology 18:191– 200,.
- 63-King GJ, Robertson HA. (1974). A two injection schedule with prostaglandin F2 α for the regulation of the ovulatory cycle of cattle. Theriogenology 1: 123-128.
- 64- Ko JCH, Kastelic JP, Del Campo MR, Ginther OJ. (1991). Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers. J Reprod Fert 91: 511-519.
- 65- Köse M, Tekeli T, (2006) ineklerde östrus ve ovulasyonun senkronizasyonunda güncel yaklaşımlar. Hay Araş Derg 16: 25–33.
- 66- Kristula MR, Bartholomew R, Galligan D, Uhlinger C. (1992). Effects of a prostaglandin F2 α synchronization program in lactating dairy cattle. J Dairy Sci 75: 2713–2718.
- 67-Kristula MA, Bartholomew R. (1998). Evalution of prostaglandin F2a treatment in dairy cows at risk for low fertility after parturition. J Am Vet Med Assoc 212: 702-704.
- 68- Kurt N. (2008) Yaşa bağlı olarak antioksidan enzimlerinin süperoksit dismutaz (sod), katalaz (cat) aktivitelerinin ve malondialdehit (mda) seviyesinin incelenmesi. Çukurova Üni Fen Bil Enst Kimya ABD yüksek lisans tezi.
- 69-Lamb GC, Larson JE, Geary TW, Stevenson JS, Johnson SK, Day ML, Ansotegui RP, Kesler DJ, DeJarnette JM, Landblom DG. (2006). Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2 alpha, and progesterone. J Anim Sci 84 :3000-9.
- 70-Lamoglia B, Short RE, Bellows SE, Bellows RS, Macneil MD, Hafs DA. (1998). Induced and synchronized estrus in cattle: Dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesteron-releasing insert and prostaglandin F2 α . JAnimal Sci 76: 1662-1670.
- 71- Landivar C, Galina CS, Duchateau A, Navarro-Fierro R. (1985). Fertility trial in Zebu cattle after a natural or controlled estrus with prostaglandin F2 Alpha, comparing natural mating with artificial insemination. Theriogenology 23: 421-429.
- 72-Larsson B, Gustafsson A, Nasholm A, Bjurström L. (1991). A programme for oestrus synchronization and embryo transfer in sheep. Reprod Domest Anim 26: 301–308.

- 73-Larson LL, Ball PJH. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology* 38: 255–267.
- 74- Lokhande SM, Patil VH, Mahajan DC, Phadnis YP, Humblot P, Thibie M. (1983). Fertility on synchronized estrus in crossbred (*Bos taurus* × *Bos indicus*) heifers. *Theriogenology* 20: 397-406
- 75-López-Gatius F, Santolaria P, Yáñez J, et al. (2001). Persistent ovarian follicles in dairy cows: A therapeutic approach. *Theriogenology* 56: 649–659.
- 76- López-Gatius F, López-Béjar M. (2002). Reproductive performance of dairy cows with ovarian cysts after different GnRH and cloprostenol treatments. *Theriogenology* 58: 1337–1348.
- 77- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 70: 3615–3626
- 78- Lynch GP. (1983). Changes of tocopherols in blood serum of cows fed hay or silage. *J Dairy Sci* 66: 1461-1465.
- 79- Macmillan KL, Day AM. (1982). Prostaglandin F2 α – A fertility drug in dairy cattle? *Theriogenology* 18: 245-253.
- 80- Macmillan KL, Henderson NV. (1983). Analysis of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 α to oestrous as a method of studying patterns of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 6: 245–254.
- 81- Macmillan KL, Henderson HV. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 α to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 6: 245-254.
- 82- Macmillan KL, Peterson AJ. (1993). A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Anim Reprod Sci* 33: 1-25.
- 83-Macmillan KL, Taufa VK, Day AM. (1993). Combination treatments for synchronising oestrus in dairy heifers. *Proc NZ Soc Anim Prod* 53: 267-270.
- 84-Mialot JP, Constant F, Dezaux P, Grimard B, Deletang F, Ponter AA. (2003). Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF2 α + GnRH and PRID + PGF2 α + eCG. *Theriogenology* 60: 319–330.
- 85- Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. (1994). Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J Reprod Fertil* 102: 123-130.
- 86- Milvae RA, Hinckley ST, Carlson JC. (1996). Luteotropic and luteolytic mechanism in bovine corpus luteum. *Theriogenology* 45: 1327-1349.
- 87-Momcilovic D, Arcbald LF, Walters A, Tran T, Kelbert D, Risco C, Thatcher WW. (1998). Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotropin releasing hormone (GnRH) and / or prostoglandin F2 α (PGF2 α) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology* 50: 1131-1139.

- 88- Momont HW, Sequin BE. (1984). Influence of day of estrous cycle on response to PGF2 α products. Proceedings of the 19 th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination III, 336-338.
- 89-Moreira F, De la Sota RL, Diaz T, Thatcher WW. (2000). Effect of day of the estrus cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. J Anim Sci 78: 1568–1576.
- 90- Motlomelo KC, Greyling JPC, Schwalbach LMJ. (2002). Synchronization of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. Small Rumin Res 45: 45–49.
- 91-Muray JA, Cavalieri J, Occhio MJD, Whyte TR, Maclellan LJ, Fitzpatrick LA. (1998). Treatment with progesteron and 17 β – östradiol to induce emergence of a newly – recruited dominant ovulatory follicle during oestrus synchronisation with long – term use of norgestomet in Brahman heifers. Anim Reprod Sci 50: 11–26.
- 92-Murugavel K, Yániz JL, Santolaria P, López-Béjar M, López-Gatius F. (2009) Prostaglandin Based Estrus Synchronization in Postpartum Dairy Cows: An Update Erişim: (<http://jarvm.com/articles/Vol1Iss1/LOPEZDJVM.htm>). Erişim tarihi: 09.08.2009
- 93-Myatt L, Cui X. (2004). Oxidative stress in the placenta. Histochem Cell Biol. 122: 369–382.
- 94-Nash JG, Ball L, Olson JD. (1980). Effects of reproductive performance of administration of GnRH to early postpartum dairy cows. J Anim Sci 50: 1017-1021.
- 95-Occhio MJD, Kinder JE. (1995). Failure of the LH releasing hormone agonist, deslorelin, to prevent development of persistent follicle in heifers synchronized with norgestomet. Theriogenology 44: 849–857.
- 96- O'Connor M. (1993). New concepts in follicular development in cattle. Erişim: (<http://www.inform.umd.edu/EdRes/Topic/AgrEnv/ndd/reproduce/>). Erişim tarihi : 09.08.2009.
- 97- Odde KG. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J Anim Sci 68: 817-830.
- 98-O'Farrel K. (1994). Measurement of fertility in seasonally calving dairy herds, R&H Hall Technical Bulletin 8
- 99-Okawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues bythiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95: 351–358.
- 100-Olson J. (1999). Improving Pregnancy Rates in High Producing Herds, Western Dairy Management Conference, Las Vegas, Nevada.
- 101-Orihuela A, Galina CS, Duchateau A. (1989). The efficacy of estrus detection and fertility following synchronization with PGF2 α or synchro - mate- B in Zebu cattle Theriogenology 32: 745-753
- 102-Pelissier CL. (1972). Herd breeding problems and their consequences. J Dairy Sci 55: 385–391

- 103-Pierce JD, Cackler AB, Arnett MG. (2004). Why should you care about free radicals? *RN*. 67: 38–42.
- 104-Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC.(1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 alpha and GnRH. *Theriogenology* 44: 915-923.
- 105-Pursley JR, Fricke PM, Garverick HA, et al. (2001). Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, IA, abstr 63.
- 106-Roche JF. (1974). Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin F2 α . *J Reprod Fertil* 37: 135–138
- 107-Roche JF. (1976). Fertility in cows after treatment with a prostaglandin analogue with or without progesterone. *J Reprod Fertil* 46: 341-345.
- 108-Rosenberg M, Kaim M, Herz Z, Folman Y. (1990). Comparison of methods for synchronization of estrous cycle in dairy cows. 1. Effect on plasma progesterone and manifestation of estrus. *J Dairy Sci* 73: 2807-2816.
- 109-Ruckebusch Y, Phaneuf LP, Dunlop R. (1991). Physiology of small and large animals. B.C. Decker Inc. Philadelphia Chapter 53: 563-572.
- 110-Ryan DP, Snijders H, Yakuup H, O'Farrel KJ. (1995). An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *J Anim Sci* 73: 3687-3695.
- 111-Sales JNS, Dias LMK, Viveiros ATM, Pereira MN, Souza JC. (2008). Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with β -carotene and tocopherol. *Anim Reprod Sci* 106: 77-89.
- 112-Sanchez T, Wehrman ME, Bergfeld EG, Peters KE, Kojima FN, Cupp AS, Mariscal V, Kittok RJ, Rasby RJ, Kinder JE. (1993). Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. *Biol Reprod* 49: 1102-1107.
- 113- Savio JD, Thatcher WW, Morris GR, Entwistle K, Drost M, Mattiacci MR. (1993). Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device of follicular turnover and fertility in cattle. *J Reprod Fertil* 98: 77-84.
- 114-Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *J Reprod Fertil* 83: 663-671.
- 115-Savio JD, Boland MP, Hynes N, Mattiacci MR, Roche JF. (1990). Will the first dominant follicle of the estrous cycle of heifers ovulate following luteolysis on day 7? *Theriogenology* 33: 677-687
- 116-Schmitt EJP, Diaz T, Drost M, Thatcher WW.(1996). Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J Anim Sci* 74: 1084-1091

- 117- Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H. (2002). Eight-hydroxy-2_-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril* 77: 1184–1190.
- 118-Senger PL. (1994). The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *J Dairy Sci* 77: 2745-2753.
- 119- Sianangama PC, Rajamahendran R. (1996). Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on follicular Dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology*, 45: 583-592.
- 120- Singh U, Devaraj S, Jialal I. (2005). Vitamin E, oxidative stress and inflammation. *Annu. Rev. Nutr.* 25: 151–174.
- 121- Sivertsen T, Overnes G, Osterås O, Nymoen U, Lunder T. (2005). Plasma vitamin E and blood selenium concentrations in Norwegian dairy cows: regional differences and relations to feeding and health. *Acta Vet Scand.* 46: 177-91.
- 122- Smith RD, Pomerantz AJ, Beal WE, McCann JP, Pilbeam TE, Hansel W. (1984). Insemination of Holstein heifers at a preset time after estrous cycle synchronization using progesterone and prostaglandin. *J Anim Sci* 58: 792-800.
- 123- Sönmez M, Bozkurt T, Türk G, Gür S, Kızıl M, Yüce A. (2009). The effect of vitamin E treatment during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Anim Reprod Sci* 114: 183–192.
- 124- Spitzer JC, Burrell WC, LeFever DG, Whitman RW, Wiltbank JN. (1978). Synchronization of estrus in beef cattle. I. Utilization of a norgestomet implant and injection of estradiolvalerate. *Theriogenology* 10: 181-200.
- 125-Stevenson JS, Schmidt MK, Call EP. (1984). Stage of estrous cycle, time of insemination, and seasonal effects on estrous and fertility of Holstein heifers after prostaglandin F2 α . *J Dairy Sci* 67: 1798–1805.
- 126-Stevenson JS, Smith JF, Hawkins DE. (2000). Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin F2 α , norgestomet, and gonadotropin-releasing hormone. *J Dairy Sci.* 83: 2008–2015.
- 127-Stock AE, Fortune JE. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 132: 1108-1114.
- 128-Sturman H, Oltenacu EAB, Foote RH. (2000). Importance of inseminating only cows in estrus. *Theriogenology* 53: 1657–1668.
- 129-Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura Y, Kato H. (2000). Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Mol Hum Reprod* 6: 19–25.

- 130-Suzuki T, Sugino N, Fukaya T, Sugiyama S, Uda T, Takaya R, Yajima A, Sasano H. (1999). Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization. *Fertil Steril* 72: 720–726.
- 131- Szczepanska M, Kozlik J, Skrzypczak J, Mikolajczyk M. (2003). Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril* 79: 1288–1293
- 132- Tanabe TY, Hann RC. (1984). Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F_{2α}. I. Influence of stage of cycle at treatment. *J Anim Sci* 58: 805–811.
- 133-Tanaka Y, Vincent DL, Ledgerwood KS, Weems CW. (1995). Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. *Theriogenology* 43: 1077 – 1086.
- 134-Tao Y, Zhou B, Xia G, Wang F, Wu Z, Fu M. (2004). Exposure to L-ascorbic acid or alpha-tocopherol facilitates the development of porcine denuded oocytes from metaphase I to metaphase II and prevents cumulus cells from fragmentation. *Reprod Domest Anim* 39: 52-57.
- 135-Tek Ç, Sabuncu A, Baran A, Evecen M. (2003). Postpartum Sütçü ineklerde GnRH + PGF_{2α} ve hCG + PGF_{2α} Uygulamalarının, östrus Senkronizasyonu ve Fertilite üzerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci* 27: 125-131.
- 136-Thatcher WW, Moreira F, Pancarci M, Bartolome JA, Santos JEP. (2002). Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Dom Animal Endocrinology* 23: 243–254.
- 137-Valastyan S, Thakur V, Johnson A, Kumar K, Manor D. (2007). Novel transcriptional activities of vitamin e: inhibition of cholesterol biosynthesis. *Biochemistry* 15;47: 744-52.
- 138-Van Langendonck A, Casanas-Roux F, Donnez J. (2002). Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertil Steril* 77: 861–870.
- 139-Vega M, Johnson MC, Diaz HA, Urrutia LR, Troncoso JL, Devoto L. (1998). Regulation of human luteal steroidogenesis in vitro by nitric oxide. *Endocrine* 8: 185–191.
- 140-Verma A, Kanwar KC. (1999). Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian J Androl* 1: 151-154.
- 141-Voh AA Jr, Oyedipe EO, Buwanendran V, Kumi-Diaka J. (1987). Estrus response of indigenous Nigerian Zebu cows after prostaglandin F₂ alpha analogue treatment under continuous observations for two seasons. *Theriogenology* 28: 77–99.
- 142-Voh AA Jr, Oyedipe EO, Pathiraja N, et al. (1987). Peripheral plasma levels of progesterone in Nigerian Zebu cows following synchronization of oestrus with prostaglandin F₂ alpha analogue (Dinoprost Tromethamine). *Br Vet J* 143: 254–263.
- 143-Wall PD, Pressman EK, Woods JR. (2002). Preterm premature rupture of the membranes and antioxidants: the free radical connection. *J Perinat Med* 30: 447–457.

- 144-Walsh RB, LeBlanc SJ, Duffield TF, Kelton DF, Walton JS, Leslie KE. (2007). The effect of a progesterone releasing intravaginal device (PRID) on pregnancy risk to fixed-time insemination following diagnosis of non-pregnancy in dairy cows. *Theriogenology* 67: 948–956.
- 145-Watts TL, Fuquay JW. (1985). Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F_{2α} during early, middle or late diestrus. *Theriogenology* 23: 655-661.
- 146-Wehrman ME, Roberson MS, Cupp AS, Kojima FN, Stumpf TT, Werth LA, Wolfe MW, Kittok RJ, Kinder JE. (1993). Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases endogenous 17β-estradiol and increases conception in cows. *Biol Reprod* 49: 214-220.
- 147-Wenzel JGW. (1991). A review of prostaglandin F products and their use in dairy reproductive herd health programs. *Vet Bull* 61: 433-447.
- 148-Wichtel JJ, Craigie AL, Thompson KG and Williamson NB. (1996). Effect of selenium and a-tocopherol supplementation on postpartum reproductive function of dairy heifers at pasture. *Theriogenology* 46: 491-502.
- 149-Williamson NB, Morris RS, Blood DC, and Cannon CM. (1972). A study of oestrus behaviour and oestrus detection methods in a large commercial dairy herds. *Vet Rec* 91: 58–62.
- 150-Wiltbank Mc, Gumen A, Saroti R. (2002). Physiological classification of anovulatory condition in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52.
- 151-Wiltbank MC, Niswender GD. (1992). Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Anim Reprod Sci* 28: 103-110.
- 152-Whittier JC, Deutscher GH, Clanton DC. (1986). Progestin and prostaglandin for estrous synchronization in beef heifers. *J Anim Sci* 63: 700-704.
- 153-Xu ZZ, Burton LJ. (1998). Reproductive performance of dairy heifers after estrus synchronization and fixed-timed artificial insemination. *J Dairy Sci* 82: 910 – 917.
- 154-Xu ZZ, Burton LJ, Macmillan KL. (1997). Reproductive performance of lactating dairy cows following estrus synchronization regimens with PGF_{2α} and progesterone. *Theriogenology* 47: 687-701.
- 155- Yılmaz B. (1999). Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal Matbaacılık, Ankara.

8.ÖZGEÇMİŞ

01.01.1982 tarihinde Afyonkarahisarda doğdum. İlkokulu ve ortaokul 2. sınıfa kadar Konyada okudum. Ortaokul 3. sınıfı ve lise öğrenimini Afyonkarahisarda tamamladım. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine yerleştirildim ve 2003 yılında mezun oldum. 2004 yılı şubat ayında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Programı Dölerme ve Suni Tohumlama A.B.D.'nda doktora programına başladım. Halen Tarım ve Köyişleri Bakanlığı taşra teşkilatı Afyonkarahisar ili Başmakçı ilçesinde hükümet veteriner hekimliği görevimi yürütmekteyim.