



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



SAFKAN ARAP ATI KISRAKLARINDA
PREOVULATÖR FOLİKÜL, KOPRUS HEMORAJİKUM
VE KORPUS LUTEUMUN VASKÜLARİZASYONUNUN
GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ

Mustafa Oğuzhan ŞAHİN

DÖLERME ve SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet Borga TIRPAN

ANKARA
2023

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAFKAN ARAP ATI KISRAKLARINDA
PREOVULATÖR FOLİKÜL, KOPRUS HEMORAJİKUM
VE KORPUS LUTEUMUN VASKÜLARİZASYONUNUN
GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ

Mustafa Oğuzhan ŞAHİN

DÖLERME ve SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet Borga TIRPAN

ANKARA
2023

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Safkan Arap Atı Kısıraklarında Preovulator Folikül, Korus Hemorajikum ve Korpus Luteumun Vaskülarizasyonunun Gebelik Üzerine Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak hazırlanmıştır. Tezimin fikir ve hipotezi tümüyle tez danışmanıma ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mustafa Oğuzhan ŞAHİN

Tarih: 18.07.2023

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalında

Mustafa Oğuzhan ŞAHİN tarafından hazırlanan

“Safkan Arap Atı Kısıraklarında Preovulator Folikül, Korus Hemorajikum ve Korus Luteumun Vaskülarizasyonunun Gebelik Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/07/2023

Prof. Dr. Ergun AKÇAY

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. İlker YAVAŞ

Mustafa Kemal Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Ömer VARİŞLİ

Kırıkkale Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Halit KANCA

Ankara Üniversitesi

Raportör

Doç. Dr. M. Borge TIRPAN

Ankara Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kısırlıklarda Reprodüktif Anatomi	2
1.2. Kısırlıklarda Reprodüktif Fizyoloji ve Endokronoloji	6
1.2.1. Puberta	10
1.2.2. Geçiş Dönemi	11
1.2.3. Seksüel Siklus	12
1.2.3.1. Proöstrus	12
1.2.3.2. Östrus	13
1.2.3.2.1. Tay Kızgınlığı	14
1.2.3.3. Metaöstrus	14
1.2.3.4. Diöstrus	14
1.2.3.5. Foliküler Dalgalanma	15
1.2.3.6. Anöstrus	18
1.2.3.6.1. Aktif Ovaryumlu Anöstrus	19
1.2.3.6.2. Aktif Olmayan Ovaryumlu Anöstrus	21
1.3. Kısırlıklarda Reprodüktif Muayene	22
1.3.1. Rektal Palpasyon	23
1.3.2. Ultrasonografi	27
1.3.2.1. B-Mod Ultrasonografi	27
1.3.2.2. Renkli Doppler Ultrasonografi	29
1.3.2.3. Preovülatör Folikülün Ultrasonografisi	31
1.3.2.4. Luteal Yapının Ultrasonografisi	33
1.3.2.5. Erken Dönem Gebelik Ultrasonografisi	37
2. GEREÇ VE YÖNTEM	41
2.1. Gereç	41
2.2. Yöntem	41
2.2.1. Hayvanların Seçilmesi, Bakım ve Beslenmesi	41
2.2.2. Preovülatör Folikülün Ultrasonografik Görüntülenmesi	42
2.2.3. Aşım ve Aşım Sonrası Deslorelin Uygulaması	43
2.2.4. Korpus Hemorajikumun Ultrasonografik Görüntülenmesi	43
2.2.5. Korpus Luteumun Ultrasonografik Görüntülenmesi	44
2.2.6. Gebelik Kontrolü	45
2.2.7. Alınan Görüntülerin ImageJ Programıyla Değerlendirilmesi	45
2.2.8. Renkli Doppler Görüntülerinin Değerlendirilmesi	47
2.2.9. İstatistiksel Değerlendirme	48

3. BULGULAR	49
3.1. Preovulatör Foliküle Ait Bulgular	49
3.2. Korpus Hemorajikuma Ait Bulgular	51
3.3. Korpus Luteuma Ait Bulgular	53
3.4. Gebelik Bulguları	55
4. TARTIŞMA	58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
ÖZET	69
SUMMARY	70
KAYNAKLAR	71
EKLER	85
Ek-1. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı	85
ÖZGEÇMİŞ	86

ÖNSÖZ

20. yüzyıla kadar ağırlıklı olarak gücünden, etinden ve sütünden yararlanılan atlar, makineleşmenin ilerlemesi ve motorlu taşıtların yaygın olarak kullanılmasıyla ulaşım, savaş ve tarımdaki önemini kaybetmeye başlamıştır. Zamanla insanların atçılık anlayışı değişime uğramış ve ağırlıklı olarak koşu ve engel yarışları üzerine eğilim göstermiştir. Günümüzde, tüm dünya genelinde düz koşu endüstrisi büyümeye devam etmektedir. Büyüyen bu endüstrinin devamlılığı sağlamak adına yetiştiricilik faaliyetleri de paralel olarak gelişmekte ve profesyonelleşmektedir.

Ülkemizde düz koşu yarışları hem Safkan İngiliz hem de Safkan Arap atları üzerine gerçekleştirilmektedir. Her iki ırkın yetiştiriciliğinin denetimi Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yapılırken Safkan İngiliz atlarının yetiştirilmesi başta Türkiye Jokey Kulübü (TJK) olmak üzere özel işletmeler tarafından sürdürülmektedir. Safkan Arap atı yetiştiriciliği ise Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM), TJK ve bunun yanında özel işletmeler tarafından sürdürülmektedir.

Safkan Arap atları birçok ülkede vücut güzelliği ve zerafeti itibarı ile yalnızca gösteri atı olarak yetiştirilirken, Türkiye'nin de içinde bulunduğu birkaç ülkede ise düz koşu yarış atı olarak yetiştirilmektedir. Yıllardan beri TİGEM'e bağlı Anadolu (Eskişehir), Karacabey (Bursa) ve Sultansuyu (Malatya) Haralarında hassasiyetle sürdürülen yetiştirme, seleksiyon ve ıslah çalışmaları ile geline nokta Safkan Arap Atı asalet ve zerafeti muhafaza ve geliştirmenin yanında önemli bir koşu performansı kazanmıştır.

Tay satışı yetiştiriciler için en büyük gelir kalemi olarak görülmektedir. Satılacak bir tayın satış ücreti belirlenirken; sağlıklı, güçlü olması ve kendini ispatlamış bir pedigreeye sahip olmasının yanında yarış hayatına birlikte başlayacağı yaşıtı taylar içerisinde en erken doğumlu olması da göz önünde bulundurulmaktadır. Bu sebepten yetiştiriciler damızlık kısıraklarının sezon içerisinde en erken dönemde

gebe kalmalarını istemektedir. Ülkemizdeki mevzuat gereği her iki ırkın aşım sezonları 15 Şubat'ta başlayıp 30 Haziran'da son bulmaktadır.

Yıllar içerisinde gelişen teknolojinin veteriner hekimlikte takip edilmesiyle beraber reproduktif amaçlı ultrasonografi kullanımı 90'lı yılların sonunda ülkemizde at yetiştiriciliğinin gelişmesine büyük artı sağlamıştır. Böylelikle daha önceki yıllarda uygulanan, kızgınlıkta olduğu tespit edilmiş kısırakların kızgınlık sonlanana kadar günlük aygır aşimleri son bulmuştur. Bu sayede hem kısırak yönetimi hem de aygır yönetimi daha başarılı yapılmaya başlanmıştır. Ek olarak da ultrasonografik muayene sonucunda ovulasyon günü en doğru şekilde tahmin edilmekte ve ovulasyon sonrası 12-14. günlerde gebelik kontrolleri yapılmaktadır.

Ultrasonografik görüntüleme teknolojisinin de gelişmesiyle beraber kısırak reproduksiyonu üzerine daha fazla çalışmalar yapılmaktadır. Bunlardan biri olan Renkli Doppler Ultrasonografisi sayesinde araştırmacılar kısırak ovaryumları, üzerlerinde geliştirdikleri foliküller ve luteal yapıların fizyolojileri hakkında yeni bilgiler edinmektedir. Tez araştırması, kısıraklarda preovulatör folikül, korpus hemorajikum ve korpus luteumda olası gebeliği işaret eden çap ve vaskülarizasyon değişikliklerinin B-mod ve renkli doppler ultrasonografi ile tespit edilebileceği hipotezi üzerine kurulmuştur. Bu hipotezden yola çıkılarak tasarlanan çalışmanın amacı gebe olan ve olmayan kısırakların bu aşamalarda B-mod ve renkli doppler ultrasonografik muayenelerinde belirli parametreler açısından farklılıklarını ortaya koymak olarak belirlenmiştir. Böylelikle, kısa bir süreyi kapsayan aşım sezonunda, transrektal ultrasonografi ile yapılan folikül muayenesinden ovulasyon sonrası 14. günde yapılan ilk gebelik kontrolüne kadar geçen süreyi hem maliyet hem iş gücü açısından daha verimli kullanabilmek hedeflenmiştir. Bununla beraber kısırak ve aygır açısından hem gereksiz hormon uygulamalarının hem de ekstra performans harcamalarının önüne geçilmesi planlanmıştır.

Lisansüstü eğitimim boyunca emeğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Borgia TIRPAN başta olmak üzere Anabilim Dalı bünyesinde görev yapmakta olan sayın hocalarım Prof. Dr. Ali DAŞKIN'a, Prof. Dr. Ergün AKÇAY'a, Prof. Dr. Ongun UYSAL'a, Dr. Öğretim Üyesi Kemal Tuna OLGAC'a, Doç. Dr. Koray TEKİN, Dr. Beste ÇİL'e ve Hüsne ARSLAN ile Selahattin ÖNLÜEL başta olmak üzere bütün akademik ve idari personele teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca çalışmalarım sırasında bana destek olan Uzm. Vet. Hek. Burak YILMAZ ve Dr. Öğretim Üyesi Ufuk KAYA'ya teşekkür ediyorum. Ayrıca tez çalışmasının gerçekleşmesi için gerekli tüm imkanları sağlayan Türkiye Jokey Kulübü'ne ve çalışma arkadaşlarım Vet. Hek. Umut PALAMUTLU, Dr. Vet. Hek. Serdar BABAESKİ, Vet. Hek. Can ATEŞ ve Veteriner Sağlık Teknikeri Selahattin YALÇIN ile Hara Müdürüm Vet. Hek. Yurdaser SAÇLI'ya teşekkürlerimi borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
AUC	Eğri altında kalan değer
Cm	Santimetre
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
hCG	İnsan koryonik gonadotropin
KH	Korpus hemorajikuma
KL	Korpus luteuma
LH	Luteinleştirici hormon
MHz	Megahertz
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ng	Nanogram
PF	Preovulatör foliküle
PGF ₂ α	Prostaglandin F ₂ α
TİGEM	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
TJK	Türkiye Jokey Kulübü

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Uterus ödemine ait değerlendirme	42
Şekil 2.2. Preovulator folikülün B-mod ve renkli doppler ultrasonografisi	43
Şekil 2.3. Korpus hemorajikumun B-mod ve renkli doppler ultrasonografisi	44
Şekil 2.4. Korpus luteumun B-mod ve renkli doppler ultrasonografisi	44
Şekil 2.5. Kısırlarda 14.gün ultrasonografik gebelik muayenesi	45
Şekil 2.6. Korpus hemorajikum çapının hesaplaması	46
Şekil 2.7. Preovulator folikülün vaskülarizasyon skalası	47
Şekil 2.8. Korpus hemorajikumun vaskülarizasyon skalası	47
Şekil 2.9. Korpus luteumun vaskülarizasyon skalası	48
Şekil 3.1. Preovulator foliküle (PF) ait çapın gebelik açısından belirleyiciliği	50
Şekil 3.2. Preovulator foliküle (PF) ait vaskülarizasyon gebelik açısından belirleyiciliği	51
Şekil 3.3. Korpus hemorajikuma (KH) ait çapın gebelik açısından belirleyiciliği	52
Şekil 3.4. Korpus hemorajikuma (KH) ait vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği	53
Şekil 3.5. Korpus luteuma (KL) ait çapın gebelik açısından belirleyiciliği	54
Şekil 3.6. Korpus luteuma (KL) ait vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği	55

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. Preovulatör foliküle (PF) ait çap ve vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği	50
Çizelge 3.2. Korpus hemorajikuma (KH) ait çap ve vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği	52
Çizelge 3.3. Korpus luteuma (KL) ait çap ve vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği	54
Çizelge 3.4. Kısırak yaşlarının gebelik durumuna göre değerlendirilmesi	56
Çizelge 3.5. Kısıraklarda preovulatör folikül, korpus hemorajik ve korpus luteum çapı ile vaskülarizasyonun gebelik durumu ve döneme göre değerlendirilmesi	57

1.GİRİŞ

Atgiller (Equidae) familyasına dâhil otçul, memeli bir hayvan türü olan atlar, insanoğlunun ilk evcilleştirdiği hayvanlardandır. Bu türün Türkler tarafından M.Ö. 4000 yıllarında evcilleştirilmesiyle atlı hayvancılık ve tarım kültürünün ortaya çıktığı ve medeniyetin bugüne gelmesinde Türklerin bu buluşunun büyük yeri olduğu bilinmektedir (Yılmaz, 2012).

Uzun yıllar sonunda evcilleştirilen günümüz at ırklarının kökenlerini Przewalski ve Tarpan adındaki yabani ırklardan geldiği bilinmektedir. Sıcakkanlı at grubunun üyelerinden olan Arap atı Przewalski yabani atından köken almasına rağmen, kökenini Tarpan yabani atından aldığına ait düşünceler daha yaygındır (Öcal, 2015). Günümüzde mevcut olan at ırkları içerisinde en eskisi olup, bazı at ırklarının oluşturulmasında büyük yeri olan Arap atı; yarış, biniş ve çekim kabiliyetine sahip, dayanıklı ve kalıtsal aktarım olarak da çok başarılı bir ırktır (Apaçık, 1999).

Kısraklar mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar olarak, günlerin uzunluğunun arttığı bahar aylarında başlayan siklik aktivite göstermektedirler. Östrus siklusu ortalama 22 gün (17-24) sürmekte, mevsime bağlı olarak 10-30 gün aralığında değişebilmektedir. Ortalama gebelik süresi 330-345 gün olup sıklıkla tek yavru beklenmekte ancak ikiz gebelikler de mümkün olmaktadır (Yener ve ark., 2006). Dişi ve erkek taylarda doğumun gerçekleştiği mevsimine bağlı olarak pubertaya ulaşma yaşları değişiklik gösterebilmekte, ilkbaharda doğan yavrular için bu süre yaz-sonbahar arası doğan yavruya göre daha kısa sürmekle beraber ortalama 12 ila 24 ay olarak belirlenmektedir. Kısraklarda ilk çiftleştirme 3 yaşından itibaren tercih edilirken aygırların damızlığa ayrılma yaşı 3-5 yaş aralığında olup 5-6 yaşına kadar reproduktif performansları artmaya devam etmektedir. Kısraklar fertilite pikine 6-7 yaşlarında ulaşırken 15 yaşından sonra fertilitede düşüş gözlenmekte, aygırlar ise genellikle 20 yaş ve üzerine kadar fertil kalabilmektedir (Öcal, 2015).

1.1. Kısıraklarda Reprodüktif Anatomi

Kısıraklarda reprodüktif anatomi değerlendirildiğinde perineum vulva, vagina ve serviks, büyük bir kısmı pelvik boşluk içerisinde yer alan dış koruyucu yapılar olarak adlandırılırlar. Bu yapılar, fertilizasyon ve embriyo gelişiminden sorumlu içteki daha hayati yapılar olan ve abdominal boşlukta yer alan uterus, tuba uterina ve ovaryumların için koruma sağlamaktadır (McAllister ve Sack, 1990).

Dış perineal konformasyonun değerlendirilmesi, genellikle kısırakların üreme özelliklerini değerlendirmede ilk adımdır. Perineum, simfizis pubisten koksak kemiğe kadar olan alan olarak tanımlanır ve pelvik kanalın çıkışını çevrelemektedir (Chew ve Dascanio, 2011). Kaudal rektum, anüs, vestibül, vulva, klitoris ile beraber yüzeysel kasları, sinirleri ve deriyi içerir. Anatomik olarak perineum, kaslar, kemik ve yağ dokusu ile bunlarla ilişkili sinir, lenf ve kan damarlarından oluşur (Chew ve Dascanio, 2011; McKinnon ve ark., 2011).

Kısıraklarda üreme sisteminin kontaminasyonuna karşı üç ana anatomik bariyer vardır: vulva, vestibulovaginal kıvrım ve serviks. Vulvar labiadan hymen/üretral orifisyumun kalıntısına kadar olan reprodüktif doku vestibül olarak kabul edilir. Hymen/üretral orifisyum kalıntılarından servikse kadar ise vagina olarak kabul edilir. Vestibül ve vagina arasındaki, hymenin kısmi bir kalıntısı olan dorsal transversal doku kıvrımı, vestibulovaginal kıvrım olarak adlandırılır (Trotter ve McKinnon, 1988).

Vulva, dikey yöneliminde belirgin bir eğim olmaksızın dik olmalıdır. Vulvar labia, dorsal komissürü oluşturmak için dorsal olarak keskin bir açıyla ve ventral komissürü oluşturmak için yuvarlak bir açıyla ventral olarak buluşur (Pascoe, 1979). Vulvanın dikey yöneliminde eğim artarsa, vulvar labianın boşaltılan fekal materyalle teması arttığı için vestibülün fekal kontaminasyon riski de artar. Kısıraklarda vulva girişi genellikle 12 ila 15 cm arasındandır (Easley, 1993).

Klitoris, vulvanın ventral komissüründe bulunur. Aygırın penisiyle eşdeğerdir. Klitoris veya glans klitoridis, ventral vulvar labianın her iki tarafına bir parmak yerleştirilerek ve hafifçe içe doğru iterek dışa doğru çevrilebilir (Easley, 1993). Östrus sırasında klitorisin “çakma hareketi” yapması veya dışa dönmesi, konstriktör vulva kasının, konstriktör vestibuli kasının ve retraktör klitoridis kasının kasılması ile gerçekleştirilir. Klitoris ve ilişkili yapılar bakteri veya mantarlar için bir rezervuar olabilmekte bu nedenle kültürü bulaşıcı at metriti için tarama programlarında rutin olarak yer almaktadır (McAllister ve Sack, 1990).

Kısıraklarda üreme sistemi ovaryumlar, tuba uterinalar, kornu uteriler, uterus, serviks, vagina, vestibül ve vulvadan oluşmaktadır. Bu üreme kanalı ovaryumların yaklaşık konumundan, ventrale doğru dördüncü veya beşinci lumbal vertebraya; kaudale doğru da pelvik boşluktan vulvaya kadar uzanmaktadır (Dascanio, 2011). Kontralateral ovaryumlar, tuba uterinalar ve kornu uteriler inen kolonun ve bunun mezokolonunun her iki tarafında; uterus ve serviks ise inen kolonun ve rektumun terminal kısmının ventralinde bulunmaktadır. İdrar kesesi uterus gövdesinin ve serviksin ventralinde bulunur (Easley, 1993). Üretra vaginanın kaudaventralinde seyrederek ve üretral orifiste vestibüle boşalmaktadır. Vagina bilateral olarak sakrotüberöz bağlarla, dorsal olarak rektum ve ventral olarak üretra ile ilişkilidir. Vaginanın vestibülü dorsalde anüsle ilişkilili olmakta ve kaudovertralde de arcus ischiadicus üzerinden vulvaya kadar uzanmaktadır. Vestibül ve vulva ise lateral olarak semimembranosus kasları ile yan yana olan perineal fascia ile sarılıdır (Bergfeldt, 2000).

Ovaryumların pozisyonu, geniş bir pasif hareket alanına izin veren mezovaryum nedeniyle büyük ölçüde değişkendir. Ovaryum, abdomenin dorsal duvarı ile temas halinde bağırsak kütesinin üstünde veya dördüncü veya beşinci lumbal vertebradan geçen bir düzlemde bağırsak halkaları arasında yer alabilir (McAllister ve Sack, 1990). Sol ovaryum, sağa doğru kaudaldedir, ancak ipsilateral böbreğe daha yakındır. Ovaryumlardan kornu uteri uçlarına kadar olan mesafe de değişmektedir. Gebelik sırasında, ovaryumlar kranioventral ve mediana doğru çekilmektedir, bu da rektal palpasyon sırasında hatırlanması gereken önemli bir pozisyonudur (LeBlanc, 1988).

Kısırakların ovaryumları (uzun eksen boyunca ortalama 7-8 cm) böbrek şeklindedir ve mezovaryuma bağlı dışbükey bir dorsal sınırı ile fossa ovarialis tarafından şekillendirilen girintili keskin içbükey ventral serbest sınırı bulunmaktadır. Medial ve lateral yüzeyler mezovaryum ile devam eden visseral periton ile kaplı ve ovaryum damarlarından belirgin paralel dallar içermektedir (Meinecke ve ark., 1987). Ovaryum yüzeyindeki gevşek bağ dokusunda sarı, üzüm benzeri adrenokortikal nodül kümeleri (1-2 mm çapında) bulunabilmektedir. Gevşek bir şekilde yapışık olan serozada değişken miktarda yağ dokusu da oluşabilmektedir. Ovaryum, abdominal aorttan ventrolateral olarak yönelen ovaryan arterin kıvrımlı ovaryan dalı tarafından beslenir (Ginther, 1979).

Kısırak ovaryumunun histolojik yapısı, gelişmekte olan ve atretik folikülleri, korpus luteum ve korpus albicansı içeren merkezi bir parankimatöz bölge etrafında periferik kollajenöz bağ dokusu vasküler bölgesine sahip olması bakımından evcil memeliler arasında benzersizdir (Dyce ve ark., 2010).

Her bir tuba uterina, fossa ovarialis kaplayan geniş bir infundibulum, yaklaşık 6 mm çapında oldukça kıvrımlı bir ampulla ve ampulla çapının yarısı kadar olan daha az kıvrımlı bir istmustan oluşur (Dascanio, 2011). İstmus, kornu uteri ucundaki bir papilla üzerindeki küçük bir uterus ostiyumunda sonlanır. Mezosalpinksten ayrılmış ve düzleştirilmiş olarak yapılan ölçümlere dayanarak, kısırak tuba uterinası 20 ila 30 cm uzunluğundadır ve ampulla bu uzunluğun yaklaşık yarısını oluşturur (Dyce ve ark., 2010).

Küçük bir interkornual ligamentten keskin bir şekilde ayrılan iki kornu uteri, tamamen karın boşluğunda bulunur, bağırsak halkaları üzerinde uzanır veya bunlarla iç içe geçer. Korpus uteri ise pelvik boşluğun kranial kısmındaki uterus serviksi ile kaudale doğru devam eder (Sisson ve ark., 1975). Kornu uteri uzunluğu 20-25 cm arasında değişmektedir. Bir veya daha fazla doğum yapmış kısıraklarda asimetriktir. Kornuların çapı, küt uçlarından gövdeyle birleşim yerlerine kadar artar. Korpus uteri ortalama 18-20 cm; serviks ise 5-7 cm'dir (Hafez ve Hafez, 2013).

Tuba uterinanın uterus ostiumu, her bir kornunun ucundaki endometriyumda bulunan küçük bir papilla üzerinde açılır. Korpus ve kornu uterilerin endometriyumunun epitel tabakası, östrus siklusunun aşamasına bağlı olarak kübik ve uzun hücrelere sahip basit kolumnar epiteldir (Kenney, 1978).

Vagina, vestibülü de dahil olmak üzere, kaudale doğru forniksten vulvanın labiasına kadar uzanır. Vaginal forniks, kraniyal vaginal duvarların, serviksin kaudal olarak çıkıntı yapan vaginal kısmı ile birleşmesiyle oluşan anular bir girintidir. Bazı yazarlar, insan vestibülünün tanımına ve üreme sisteminin bu bölümlerinin embriyonik kökenine uygun olarak vestibülü vulvanın bir parçası olarak kabul eder (Dascanio, 2011; Dyce ve ark., 2010). İnce duvarlı vagina (ortalama yaklaşık 20 cm uzunluğunda) dış üretral deliğin üzerindeki enine kıvrımda kaudal olarak sona erer. Bu kıvrım, vestibülü vaginadan tam olarak ayıran hymenin bir kalıntısıdır. Bu hymen kalıntısı lateral duvarlarda farklı uzunluklarda görülebilmektedir ve bazen kalıcı bir hymen mevcuttur (Ginther, 1979).

Vestibülün (vaginal veya vulvar) kısa, düz bir dorsal duvarı ve işiyatik kemerin hemen ötesinde vulvanın labiasına uzanan daha uzun (10-12 cm), eğimli bir ventral duvarı vardır. Bu konfigürasyon, vestibüler kubbeye labianın ventral komissüründen içeriye doğru ventrodorsal bir eğim verir (LeBlanc, 1988).

Kaudale doğru arcus ischiadicus üzerinde çıkıntı yapan vulva, iki labia ve klitoristen oluşur. Labialar vulvar yarıktan yan yanadır, dorsal komissürün keskin açısında ve yuvarlak ventral komissürde birleşir (Dascanio, 2011). Mukokutanöz kavşakta, aglandüler müköz membran, labiumları kaplayan pürüzsüz, yüksek oranda glandüler, genellikle pigmentli deri ile karşılaşır. Dorsal olarak, vulvar konstriktör kası, dış anal sfinkter kasının kaudal kısmı ile devam eder; ventral olarak klitorisin altına uzanır. Klitorise doğru giderken, klitoral ekartör kasının her bir bandı, yüzeysel fasia ve vulvar konstriktör kasının birkaç lifi ile kaplıdır (Bergfeldt, 2000). Vulvar konstriktör kasının kontraksiyonları, çiftleşme sırasında vestibüler konstriktör kası ile birlikte işlev görür. Bu kaslar ayrıca ürinerasyonu takiben veya östrusta görülen akıntı sırasında klitorisin dışa dönmesine (çakma hareketi) neden olur (Ginther, 1979).

1.2. Kısıraklarda Reprodüktif Fizyoloji ve Endokronoloji

Dünyamız dikey eksen üzerinde eğik olduğu için, güneşin etrafındaki yıllık yolculuğu, dünyanın farklı şekilde ısınmasına veya soğumasına neden olur. Yiyecek kaynaklarının kısıtlı olduğu yılın soğuk döneminde yavrulayan kısıraklar, genlerini aktarmama tehlikesiyle karşı karşıya kalmaktadır. Bundan dolayı ise, kısıraklarda üreme mevsiminin zamanlaması, evrimsel seleksiyon aracılığıyla, kışın taylama olasılığını en aza indirecek şekilde uygun mekanizmalar ile düzenlenerek atların yıllık üreme ritmi oluşmuştur (Irvine ve Alexander, 1998).

Diensefalonun; epifiz bezi, hipotalamus ve hipofiz bezi bölgelerinin nöral ve endokrin fonksiyonları kısırak üreme sisteminin gelişimine ve döngüsel fizyolojisine katkıda bulunur. Sinir sisteminin diğer bölümleriyle ve üreme sistemi organları tarafından üretilen hormonlarla etkileşimler cinsel davranışı, gebeliği, doğumu ve laktasyonu etkiler (Henderson, 2005).

Piamater kapsülünden epifiz bezine uzanan septa, ependimadan köken alan epitel hücre kitlelerini ayırır. Bu hücreler tarafından salgılanan melatonin, hipotalamik-hipofiziyal-gonadal eksen üzerindeki etki yoluyla reprodüktif fotoperiyodun kontrolünde antigonadotropik bir etki gösterdiği düşünülmektedir (Reiter, 1981). Işık, epifizin aktivitesini inhibe ederek reprodüktif sistemi uyarır. Midilli ırkı kısıraklarda yapılan bir çalışmada, epifiz aktivitesinin sonbaharın sonlarında ve kışın en yüksek buna karşın ilkbahar, yaz ve erken sonbaharda en düşük olduğu ve ovulasyon gerçekleştiren kısırak yüzdesinin pineal hidroksiindol-O-metiltransferaz aktivitesiyle ters orantılı olduğu tespit edilmiştir (Wesson ve ark., 1979).

Hipotalamusta bulunan supraoptik, paraventriküler, preoptik ve rostra hipotalmik çekirdeklerde nörosekretuar hücrelerin gövdeleri yer almaktadır. Supraoptik çekirdeklerdeki nörosekretuar hücreler vazopressin, paraventriküler çekirdeklerdeki ise hem vazopressin hem de oksitosin salgılamaktadır (Ferris ve Shupnik, 2006). Preoptik çekirdeklerdeki paravizüel nörosekretuar hücre

gövdelerinde gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) üretilir. Rostra hipotalmik çekirdekten ise tiotropin salgılatıcı hormon salgılanır (Krieger, 1971). Bunlar ve diğer salgılatıcı hormonlar, parviselüler nörosekretuar hücreler aracılığıyla hipofizyal infundibulumun median eminence bölgesine taşınarak dorsal ve ventral kapiller pleksuslarla birleşir (Vitums, 1975).

Hipofizin büyük bir kısmı, sfenoid kemiğin Türk eyeri olarak isimlendirilen sella turcicasının hipofizer fossasında bulunur. Hipofiz, nörohipofiz ve adenohipofiz olarak adlandırılan iki ana parçadan oluşmaktadır. Adenohipofize ait pars distalis, granüler asidofiller vebazofiller ile agranüler kromofob küme ve kordlarından oluşur (Greaves ve ark., 2000). Uygun uyarıyla, spesifik hücre tipleri somatotropin, prolaktin, adrenokortikotropik hormon, folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinleştirici hormon (LH), tiotropin ve lipoproteinler salgılar (Vick ve ark., 2006).

Ovulatör mevsimin başlangıcı, tam olarak gün uzunluğundaki bir artışa yanıt olarak gerçekleşir; ışığın karanlığa artan oranı ilk olarak merkezi sinir sistemi denetiminde kısarak tarafından yorumlanır (Ferris ve Shupnik, 2006). Gözdeki fotoreseptörler, gün uzunluğundaki artışı fark eder ve bu, nörolojik olarak epifiz bezine iletilir; buradaki melatonin salgılanmasındaki azalma, melatonin hipotalamustaki GnRH sentezi üzerindeki baskılayıcı etkisinin azalmasına ve GnRH salgılanmasında bir artışa neden olur (Morel, 2020).

GnRH, öncelikle LH ve ayrıca FSH sentezini ve periferik dolaşım sistemine salgılanmasını uyaran bir portal dolaşım sistemi aracılığıyla ön hipofiz bezine ulaşır. Ovaryumlara ulaştıktan sonra gonadotropinler, minör ve majör anovulatör dalgaları içeren foliküler büyümenin yeniden başlamasını uyarır (Greaves ve ark., 2000).

Yılın ilk ovulasyonunu takiben büyüyen foliküllerin (östradiol) ve korpus luteumun (progesteron) ürettiği ovaryum steroidlerindeki artış, sadece cinsel davranışı etkilemekle kalmaz, bununla beraber gebelik, mevsim veya patolojik bir durum nedeniyle kesintiye uğramadıkça yaklaşık olarak her 22 günde bir tekrarlanan ritmik

bir tarzda östrus döngüsü sırasında GnRH ve gonadotropinlerin sentezini ve salgılanmasını modüle eder (Ginther ve ark., 2008b).

Genel olarak, östrus döngüsü sırasında foliküler dalga gelişimi, erken östrus sırasında majör ikincil veya minör dalgaların ve diöstrus ortasında majör birincil dalgaların ortaya çıkmasından önce dolaşımdaki FSH konsantrasyonlarındaki dalgalanmalara bağlıdır (Hart ve ark., 2005).

Geç diöstrus/erken östrus sırasındaki ortak büyüme fazının sonunda, birincil dalganın ortaya çıkmasının ardından, seçim sürecinde büyümeye devam eden dominant bir folikül belirlenirken ikincil foliküller regrese olmaya, küçülmeye gider. Folikül seçimi ve dominantlık geçici olarak FSH'de bir azalma ve LH seviyelerinde bir artış ile ilişkilidir (Ginther ve ark., 2004). Sistemik FSH konsantrasyonlarındaki azalma, öncelikle dalganın büyüyen antral folikülleri grubundan çıkan sistemik inhibin seviyesinin artışı nedeniyle negatif geri besleme etkisi ile bağlantılıdır. İkinci olarak, seçimden sonra esas olarak dominant folikülden yayılan artan sistemik östradiol konsantrasyonlarının negatif geri besleme etkisiyle ilişkilidir (Ferris ve Shupnik, 2006). İnhibin ve östradiolün hipotalamik-hipofiz seviyesindeki negatif sinerjistik etkisi, ovulasyondan birkaç gün önce FSH'yi bazal seviyeye düşürür (Greaves ve ark., 2000).

Geç diöstrus/erken östrus sırasında LH'deki artış, korpus luteumun gerilemesine ve progesteronun negatif geri bildirim etkisindeki azalmaya bağlanır (Ginther ve ark., 2004). Ginther ve ark. (2007c), yaptıkları bir çalışmada, LH'deki artışın, orta düzeyde artmakta olan östradiol konsantrasyonlarının hafifletici etkisiyle geç östrusa kadar orta düzeyde tutulduğunu öne sürmektedir. İntrafoliküler düzenleyici faktörler (örn. insülin benzeri büyüme faktörleri) ile kombinasyon halinde mevcut FSH reseptörleri ile birlikte granüloza hücresi LH reseptörlerinin edinimi ve bolluğu, azalan FSH seviyelerine rağmen, dominant folikülün seçimden sonra büyümeye devam etmesine izin verir. Buna karşılık, ikincil foliküller, yeterli granüloza hücresi LH reseptörlerinden ve intrafoliküler düzenleyici faktörlerden yoksundur ve bu nedenle,

azalan FSH konsantrasyonlarına yanıt veremez; dolayısıyla gerilerler (Beg ve Ginther, 2006).

Dominant folikülün seçimden sonra baskın folikülün devam eden büyümesi, LH'nin ara konsantrasyonlarına bağlıdır. Foliküler ve sistemik östradiol seviyeleri, dominant folikül boyutundaki artışa paralel olarak artmaya devam eder ve ovulasyondan yaklaşık 1-2 gün önce, ovülatör folikül çapının maksimuma ulaştığı zamana yakın bir zamanda en yüksek konsantrasyonlara ulaşır (Aurich, 2011). Tipik olarak ovulasyondan önce pik yapan yüksek östradiol seviyeleri, hipotalamik-hipofiz seviyesinde pozitif bir geri besleme etkisine sahiptir, bu da geç östrus sırasında LH'de belirgin bir artışa neden olur, öyle ki ovulasyondan sonra pik konsantrasyonları meydana gelir (Vick ve ark., 2006). Ovulasyondan önce başlayan östradioldeki düşüş, yüksek inhibin seviyelerine rağmen ovulasyondan önce FSH'de hafif bir artışa karşılık gelir. Ovulasyonu takiben, ovaryum hormonlarında, özellikle inhibinde belirgin bir azalma olur ve bu da erken diöstrus sırasında FSH konsantrasyonlarında daha fazla artışa izin verir. Kısırta ovulasyon, endojen LH'ye yanıt olarak östrusun sonunda gerçekleşir (Ginther ve ark., 2008a).

Ovulasyondan hemen sonra korpus luteumun fonksiyonel gelişimi ve bakımı, dolaşımdaki progesteron konsantrasyonlarında artışla sonuçlanan, periyodik ve düşük şiddette LH dalgalanmalarının luteotropik etkisini içerir (Ginther ve ark., 2007a). Erken diöstrus sırasında korpus luteumun LH'ye bağlı büyümesi ve olgunlaşması, progesteronun yaklaşık 6. günde maksimum değerlerine ulaşmasıyla sonuçlanır ve bunun sonucunda postövülatör LH, progesteronun negatif geri besleme etkisinin bir sonucu olarak bazal konsantrasyonlara ulaşır (Castro ve ark, 2021). LH'nin luteal bez üzerindeki stimülatör etkisi kademeli olarak azaldıkça progesteron seviyeleri hafifçe düşse de, orta ve geç diöstrus boyunca orta seviye değerler korunur. Bir korpus hemorajikum ile intraluteal boşluğu olan ve olmayan bir korpus luteum arasında belirgin morfolojik farklılıklar gözlenmesine rağmen, işlevsel olarak bu yapılar arasında bir fark bulunmamaktadır (Ginther ve ark., 2007a). Dolaşımdaki progesteron seviyeleri ve interovülatör aralığın uzunluğu, her iki tür luteal bez morfolojisine sahip kısırlarda karşılaştırılabilir. Gebe olmayan kısırlarda luteolizin başladığı yaklaşık

14. güne kadar korpus luteumun yapısal ve fonksiyonel değişikliklerinin günlük profilleri gebe olan ve olmayan kısıraklarda benzerdir (Rantanen ve McKinnon, 1998).

Luteolitik mekanizmayı bloke edecek bir embriyonik vezikül var olmadığında luteal fazın kendiliğinden sonlanması, hipofiz kaynaklı oksitosinin uterus üzerinde endometriyal prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) üretimine yol açan etkisini içeren bir dizi hormonal olayı içerir (Ginther ve ark., 2008b). $PGF_{2\alpha}$ 'nın luteolitik etkisi, luteal bezin fonksiyonel ve yapısal apoptozisini başlatmak için sistemik bir yoldan korpus luteuma ulaşır. 14. günden hemen sonra progesteron seviyelerinde ani bir düşüş olur ve bunu takiben uterus $PGF_{2\alpha}$ 'nın pulsatil salınımı gelir (De Ruijter-Villani ve ark., 2015). $PGF_{2\alpha}$ 'nın sıklaşan bu salınımı sonucunda 17. günde progesteron konsantrasyonlarının <2 ng/ml düşmesiyle luteolizis tamamlanır. Geç diöstrusta uterus kaynaklı $PGF_{2\alpha}$ 'nin zamanında üretimi, doğal olarak gebeliğe verilen ilk luteal tepkinin sonucu veya uterus patolojisi veya suni olarak da erken dönemde $PGF_{2\alpha}$ uygulamasının sonucunda kesintiye uğrayabilir (Dimmick ve ark., 1993).

1.2.1. Puberta

Çoğu çiftlik ve üretim hayvanı türünde puberta döneminin tespiti, verim ve performansı en üst düzeye çıkarmanın ayrılmaz bir parçasıdır. Kısırakta pubertaya erken ulaşmak sığır ve domuzdaki kadar önemli olmamıştır, bu nedenle kısırakta erken puberta başlangıcının araştırılması diğer hayvan türlerinde olduğu kadar yoğun olmamıştır (Donadeu ve Watson, 2007). Performans geçmişi, hangi kısırakların yetiştirileceğinin seçiminde önemli bir rol oynar, bu nedenle kısırakların büyük bir bölümü, performans geçmişlerini tamamlandığında pubertaya da ulaşmış olmaktadır (Brown-Douglas ve ark., 2004).

Puberta, hipotalamus-hipofiz-ovaryum ekseninin olgunlaşması sonucu oluştuğu düşünülen, dişi tayların üreme yaşamındaki ilk ovulasyon olarak tanımlanır. Genellikle dişi taylar pubertaya 12 ila 24 aylıkken ulaşılır (Naden ve ark., 1990). İlkbaharda doğan yavruların (Kuzey Yarımküre'de Ocak'tan Mayıs'a kadar) iyi

beslenme ve sağlıklı olmaları durumunda, ikinci yılın baharında pubertaya ulaşması beklenebilir. Bunun aksine, yazdan sonbahara olan süreçte doğan dişi yavruların (Haziran-Kasım) ikinci yılda pubertaya biraz daha geç erişmesi beklenebilir (Nogueira ve ark., 1997).

Puberta östrusunu tanımlamak için kullanılan kriterler; plazma progesteronundaki ilk artış, aygır muayenesi sırasındaki ilk kızgınlık davranışları veya kesim sırasında korpus luteumun varlığından oluşmaktadır (Brown-Douglas ve ark., 2004; Naden ve ark., 1990; Wesson ve Ginther, 1981).

1.2.2. Geçiş Dönemi

Geçiş dönemi, ovule olamayan dominant büyüklükteki foliküllerin periyodik gelişimi nedeniyle, at veteriner hekimleri ve yetiştiricileri için yılın en zorlu zamanlarından biridir. Bu bağlamda ve pratik önemi nedeniyle, ovulasyon mevsiminin başlangıcını yapay olarak kontrol etmek ve bahar geçiş dönemini incelemek için çok sayıda çalışma yapılmıştır (Donadeu ve Watson, 2007; Ginther ve ark., 2003b; Viana ve ark., 2018).

Ovulatör mevsimin başlangıcından önce bireysel olarak kısıraklar arasında foliküler dalga dinamiklerinde aşırı farklılıklar gözlemlenmektedir. Bazı kısıraklarda, minör dalgaların ardından majör bir ovulatör dalga veya ovulatör dalgadan önce bir veya iki majör anovulatör dalga dönemi olabilir (Ginther, 1990). Dominant anovulatör foliküllerin büyüme oranları, ovulatör foliküllere benzer. Bazı durumlarda, kızgınlık benzeri davranışlar ve uterus ekojenitelerindeki değişiklikler büyük dalgalarla ilişkilendirilebilir (Viana ve ark., 2018). Bu nedenle, bu gözlemler, yaklaşan ovulasyonun güvenilir tahmin edicileri olarak kabul edilmez. Viana ve ark. (2018), anovulatör ve ovulatör foliküllerin karşılaştırılmasında renkli Doppler ultrasonografiyi kullanmıştır.

Genel olarak, ovülatör mevsimin başlangıcı, artan gün uzunluğu ile ilişkili epifiz, hipotalamus ve hipofizde gerçekleşen olaylar zincirini içerir ve sonucunda dolaşımdaki LH konsantrasyonlarında kademeli bir artışa yol açmaktadır. Buna bağlı olarak, minör dalgalarda periyodik olarak ortaya çıkmasıyla ilişkili en büyük folikülün çapı, FSH dalgalanmalarının varlığında 25-30 mm'ye ulaşana kadar kademeli olarak büyümektedir (Ginther ve ark., 2003b). Daha sonra, majör anovülatör dalgalarda periyodik olarak ortaya çıkmasıyla ilişkili dominant folikülün (≥ 30 mm) LH destekli büyümesi, FSH ve perovülatör LH pikinin dolaşımdaki konsantrasyonlarında düşüş gözlemlenip ovülatör dalgaının ortaya çıkışına kadar kademeli olarak artmaktadır. Böylece, folikül seçimi ile ilişkili olarak FSH-folikül geri besleme ilişkisi yeniden kurulduğundan, dolaşımdaki östradiol ve LH seviyelerinde ve ovulasyon gerçekleştirecek dominant folikülün nihai büyüme ve gelişmesinde belirgin bir artış görülmektedir (Ginther ve ark., 2007c).

1.2.3. Seksüel Siklus

Kısraklar, üreme mevsimi boyunca yaklaşık 21 günlük aralıklarla seksüel sikluslarını tekrarlamaktadır. Kısraklarda östrus döngüsü, davranışsal (östrus ve diöstrus) veya fizyolojik (foliküler ve luteal faz) olarak bölümlendirilmektedir (Öcal, 2015).

1.2.3.1. Proöstrus

Kısraklarda bu evre 2 gündür ve bu süreçte Graaf folikülü, FSH etkinliğinde gelişirken teka hücreleri aracılığı ile üretilen östrojen artmaya başlamaktadır. Östrodiol üretimindeki artışa bağlı vagina epitelinde kalınlaşma, uterusun mukoza tabakasında artan damarlaşma, mukus salgısında belirgin bir artış ile bu evrenin sonunda kısrakların aygıra ilgisi gözlemlenmektedir (Sönmez, 2013).

1.2.3.2. Östrus

Östrus, bir kısırağın aygırın çiftleşmek için yapmış olduğu eylemlere karşı cinsel olarak açık olduğu dönemdir. Davranışsal östrus, progesteron yokluğunda gelişen dominant folikül tarafından üretilen östradiolün artan seviyeleri ile uyarılır. Ortalama östrus süresinin 6,5 gün olduğu, 4 ila 9 gün arasında değişebildiği bildirilmiştir (Ginther, 1979). Östrus süresi, östrusun sonundaki folikül boyutu, dominant folikülün büyüme hızı ve nihai ovulasyon öncesi folikül boyutuyla ilişkilidir. Ovulasyon tipik olarak östrusun bitiminden 24 - 48 saat önce gerçekleşir. Gelişmekte olan korpus luteum kaynaklı progesteron artışı, davranışsal östrusun kesilmesinde rol oynamaktadır (Roser ve ark., 1994).

Östrus döneminin tespitinde, son yıllarda ultrasonografinin ve suni tohumlamanın yaygın kullanımı sebebiyle aygır muayenesine (teasing) olan bağımlılık azalmaktadır. Bununla beraber yoğunluğun çok olduğu ve suni tohumlamanın yapılmasının yasak olduğu (Safkan İngiliz Atlarında) durumlarda aygır muayenesinden faydalanılmaktadır. Aygırın kısarak veya kısarakların bulunduğu ahırdaki locaların önünden geçirilirken kapıya yaklaştırılarak yapılan bu uygulamada kısırağın davranışsal olarak verdiği cevaplarla östrus döneminde olup olmadığına ait bilgiler edinilmektedir (Samper, 2008a). Bu davranışlar; bir tarafa sapmış şekilde kuyruk kaldırma, vulva dudaklarının ritmik ters çevrilmesiyle klitorisi açığa çıkartma (çakma hareketi), çömelme hareketi, çite veya kapıya yaslanma ve aygıra karşı sakın davranışlar göstermesidir. Maiden, yanında tayı bulunan veya agresif kısarakların da net bir şekilde bu davranışları göstermesi beklenmektedir (Crowell-Davis, 2007).

Davranışsal östrus, birincil foliküler dalga sırasında dominant folikülünün seçimi ile bağlantılı olarak dolaşımdaki artan östrojen konsantrasyonlarının, özellikle de östradiolün etkilerine bağlanır. Genellikle, dominant folikülün maksimum çapına, endometriyal heterojeniteye ve ovulasyondan 1-3 gün önce östradiolün pik seviyelerine karşılık gelen ovulasyon yaklaştıkça östrus davranışının yoğunluğu daha belirgindir; ovulasyon sonrası ise östradiol konsantrasyonları azalır ve östrus davranışı ve endometriyal heterojenite azalır (Samper, 2008b).

1.2.3.2.1. Tay Kızgınlığı

Yetiştiricilikte yıllık tay üretiminin sürdürülmesi ekonomik olarak önemlidir. Gelir genellikle, kısırak sahibinin yaptığı bakım ve yetiştirme masraflarını dengeleyen yavru satışından elde edilir. Kısırakların ortalama gebelik süresi 330 ile 345 gün olduğundan, her yıl tay üretmeye devam edebilmeleri için doğumdan sonraki 1 ay içinde kısırakların gebe kalmaları gerekir (Yener ve ark., 2006). Kısırakların doğum sonrası ilk östrusta çiftleştirilmesi (tay kızgınlığı, doğumdan 5-12 gün sonra başlar ve çoğu kısırak doğumdan sonra 20 gün içinde ovulasyon gerçekleştirir), yıllık tay üretimini sürdürme şansını artırmak için kullanılan bir yöntemdir (Hodge ve ark., 1982).

Tay kızgınlığında çiftleştirilen kısırakların, tay kızgınlığını takip eden sikluslarda çiftleştirilen kısıraklara göre gebe kalma oranlarının daha düşük olması ve tay kızgınlığında gebe kalan kısırakların erken dönem embriyonik ölüm oranının diğerlerine göre daha yüksek olması sebebiyle hara yönetimi yapan hekimler genellikle tay kızgınlığından kaçınmaktadırlar (Blanchard, 2006).

1.2.3.3. Metaöstrus

Bu evre gelişen ovumun yumurta kanalından uterusu ulaştığı süreyi kapsamakta bu da yaklaşık olarak 2 ila 3 gün arası sürmektedir. Ovulasyonu takiben granuloza hücrelerinin hızla luteinleşmesi sonucu korpus luteum gelişerek progesteron salgılamaya başlar. Uterus endometriyumunda yer alan bezler gelişirken salgılanan mukus da azalmaktadır (Sönmez, 2013).

1.2.3.4. Diöstrus

Diöstrus terimi, "iki östrus dönemi arasındaki cinsel durgunluk dönemi" anlamına gelmektedir. Ancak diöstrus durgun bir dönem değildir. Tüm memelilerde diöstrus sırasında ovaryumlar hayli aktiftir (Öcal, 2015).

Tanım olarak, diöstrustaki bir kısrağın işlevsel bir korpus luteumu vardır. Buna bağlı olarak serum progesteron konsantrasyonları, ovulasyondan kısa bir süre sonra yaklaşık 1–2 ng/mL'den korpus luteum olgunlaştığında maksimum değerleri olan 8–16 ng/mL'ye hızla yükselir (Ginther, 1992b). Ovulasyondan yaklaşık 2 hafta sonra, konsantrasyonlar düşmeye başlar ve bir sonraki östrus döneminin başlangıcında, ovulasyondan yaklaşık 15 ila 16 gün sonra yeniden bazal seviyelere ulaşır (Meinecke ve ark., 1987). Bu, bir kısrağın östrus döngüsünün 21 ila 22 gün olmasına rağmen kısraklarda diöstrusun diğer çiftlik hayvanlarından daha kısa olduğunu hatırlatır ve diğer çiftlik hayvanlarına kıyasla nispeten uzun bir östrus dönemine (~ 6 gün) sahip olmanın bir sonucudur. İnekler, keçiler ve hatta koyunlardaki nispeten uzun luteal fazlar, bu türlerde prostaglandinlerle östrus döngülerini manipüle etmek için daha fazla zaman verir (Hafez ve Hafez, 2013). Kısraklar, diğer çiftlik hayvanlarından önemli ölçüde daha az, östrus döngüsünün yalnızca yarısı uzunluğunda bir luteal faza sahiptir (Daels ve ark., 1996).

Kısraklar genellikle diöstrus sırasında seksüel olarak istekli değildir. Bu dönemde olan kısraklar, yapılan aygır muayenesinde; aygıra karşı tedirgin ve saldırgan davranır, kulaklarını geri ve aşağıya doğru alır ve ısırma davranışında bulunur. Bununla birlikte, yüksek serum progesteron konsantrasyonlarına sahip kısrakların da bazen östrus davranışları gösterebildikleri göz ardı edilmemelidir (Ginther, 1992a).

1.2.3.5. Foliküler Dalgalanma

Bir östrus döngüsünün sonu ve diğerinin başlangıcı ovulasyon ile işaretlenir. Ovulasyon günü 0. gün olarak tanımlanır ve genellikle olayları daha kesin bir şekilde tanımlamak ve gebelik sırasında olduğu kadar östrus döngüsü sırasında da tedavi zamanını belirlemek için bir referans noktası olarak kullanılır. Birbirini izleyen iki ovulasyon arasındaki süre, interovulatuvar aralık olarak adlandırılır (Pierson ve Ginther, 1987).

Foliküler dalga, ortaya çıkan ve başlangıçta senkronize olarak büyüyen birkaç folikülü ifade eder. Bir interovulatuvar aralık sırasında çeşitli sayıda ve tipte foliküler dalgalar gelişir. Majör dalgada, dalganın en büyük folikülü, dominant bir folikülün çapına (≥ 28 mm) ulaşır. Minör dalgalarda en büyük folikül dahi dominant hale gelemez. Minör dalgalar için en büyük folikülün ortalama maksimum çapı 22 veya 23 mm olarak bildirilmiştir (Ginther ve ark., 2004).

Majör foliküler dalgalar birincil ve ikincil dalgaları içerir. Geç diöstrus sırasında birincil ana dalga ortaya çıkar ve ovulasyon öncesi preovülatör folikül haline gelen dominant bir folikül oluşturur. Bir önceki interovulatuvar aralıktaki son ovulasyondan önce ikincil bir büyük dalga ortaya çıkar ve sonucunda ya anovülatör ve gerileyen ya da anovülatör hemorajik folikül oluşturan veya ovule olan dominant bir foliküle yol açar (Ginther, 1993).

Ultrasonografik olarak tespit edilen antral foliküllerin gelişimi, majör foliküler dalgalarla bağlantılı olarak östrus döngüsü sırasında meydana gelen olayları açıklamak için fonksiyonel bölümlere ayrılabilir. Bölümler şunlardır: (i) ortaya çıkış ve ortak büyüme aşaması, bu süre zarfında birçok folikülün bir kohort veya grup olarak ortaya çıktığı ve birlikte büyüdüğü aşama; (ii) farklılaşma ve baskınlık aşaması, kohortun bir folikülünün büyümeyle devam ettiği ve dominant hale geldiği, diğer foliküllerin büyümeyle durdurduğu ve gerilediği aşama; (iii) preovülatör aşama, dominant folikülün maksimum boyuta ulaştığı ve ovulasyona hazırlanırken morfolojik ve fizyolojik değişikliklere uğradığı aşama (Ginther ve ark., 2018).

Bir dalganın foliküllerinin ortaya çıkması, ultrasonografi ile tek tek foliküllerin izlenebildiği durumu ifade eder. Folikül çıkış zamanı, en büyük folikül çapının 15 mm'ye ulaştığı zamanki retrospektif incelemesine dayandırılmıştır (Sirois ve ark., 1989). İlk tespit veya dalga oluşumu sırasında ortalama antral folikül sayısı 7 ila 11 arasında değişir (Gastal ve ark., 2004).

Ortalama olarak, bir dalganın en büyük folikülü, bir sonraki en büyük folikülden 1 gün önce tespit edilir ve yaklaşık 3 mm'lik bir boyut avantajı veya 1 günlük büyüme farkı vardır (Ginther ve ark., 2001). Buna karşılık olarak, bir dalganın folikül kohortunun büyüme oranları, çıkıştan folikül farklılaşması başlayana kadar günlük yaklaşık olarak 3 mm'dir. Bu nedenle, dalganın ortaya çıkışından folikül farklılaşmasının başlangıcına (6 ila 7 gün) kadar geçen süre, majör dalgalarla birlikte ortak büyüme aşaması olarak adlandırılır (Gastal ve ark., 2004).

Folikül farklılaşması, bir veya bazen iki folikül büyümeye devam ederken ve dalganın diğer foliküllerinin büyümeyi durdurup nihayetinde gerilerken, ortak büyüme fazının sonundaki foliküller arasında çap bakımından görülen farklılığı ifade eder (Ginther ve ark., 2003a). Folikül farklılaşması, folikül seçim sürecinin önemli bir bileşenidir ve özellikle bir dalganın birçok folikülünün dominant hale gelebilmesi nedeniyle, çoklu foliküllerin monovüler türlerde eş baskın hale gelmesini önleyen bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (Ginther ve ark., 2001).

Ultrasonografik görüntülemeye göre, en büyük foliküllerin çapı 22 ila 25 mm'ye (ortalama 22,5 mm) ve ikinci en büyük folikül ortalama 19 mm'ye ulaştığında folikül farklılaşmasının başlaması beklenmektedir (Bergfelt ve ark., 2007). Folikül farklılaşması, ikinci en büyük folikülün büyüme hızında hızlı bir düşüşle tanımlanan, ani bir olaydır. Folikül farklılaşmasından sonraki yaklaşık iki gün boyunca azalan büyüme hızına rağmen, en büyük ikinci folikül, gerilemeye başlamadan önce dominant veya eş dominant olma kapasitesini korur (Gastal ve ark., 2004).

Folikül deviasyonunun başlangıcını belirtmek için B-mod ve renkli-doppler ultrasonografik değişiklikler kullanılabilir. Granüloza hücre tabakasının kalınlığı ve ekojenitesi ve folikülün granülozasının altındaki anekoik tabakanın çevresel tutulumunun belirginliği ve kapsamı, ikincil foliküllere kıyasla dominant folikül için daha büyüktür (Gastal ve ark., 1999). Kan akışı için renkli sinyallere sahip folikül duvar alanı ve renkli Doppler ultrasonografi ile belirlenen kan akış hızları, farklılaşma başlangıcından önce gelecekteki dominant folikül için ikincil foliküllerden daha büyüktür (Acosta ve ark., 2004).

Dominant aşaması, yaygın olarak, majör dalgalar, özellikle birincil dalga ile bağlantılı olarak, farklılaşmanın başlangıcından ovulasyon öncesi fazın başlangıcına (yaklaşık 8 gün) kadar geçen süre olarak adlandırılır (Gastal ve ark., 2006b). Dominant aşaması morfolojik olarak folikül çapının ve en büyük iki folikül arasındaki çap farklılıklarının ultrasonografik görüntülenmesiyle; fizyolojik olarak da LH reseptörleri gibi artan miktarlarda hormon reseptörlerinin diferansiyel gelişim kapasitesini belirlemek için yapılan analiz teknikleri ve foliküler sıvıda üreme hormonları ve büyüme faktörlerinin (östradiol, inhibin ve serbest IGF1) miktarlarında diferansiyel artışlar ile belirtilir (Ginther ve ark., 2003b).

Preovulatör faz, dominant folikülün endojen veya ekzojen bir ovulasyon uyarısına cevap vermesi için gerekli gelişimsel kapasitesini ifade eder. Dominant folikülün ovulasyon öncesi faza girdiği minimum çapı gösteren doğrudan bir çalışma olmamasına rağmen, genellikle folikül ≥ 30 mm'ye ulaştığı zaman olarak kabul edilir, çünkü 30 mm'den küçük foliküller kendiliğinden veya dışsal uyarıya yanıt olarak nadiren ovule olurlar (Bergfelt ve ark., 2007).

Genel olarak granüloza hücre tabakasının altında anekoik bir tabakanın belirginliği, B-mod ultrasonografi ile tespit edilen folikül duvarının kalınlığının ve ekojenitesinin artması ve renkli Doppler ultrasonografi ile tespit edilen folikül duvarındaki kan akışına ilişkin renkli sinyallerin artması preovulatör folikülün özellikleridir (Gastal ve ark., 2006a).

1.2.3.6. Anöstrus

Anöstrus, kısarak tarafından uzun bir süre östrus veya aygıra karşı cinsel alıcılık sergilememe durumu olarak tanımlanmaktadır. Tipik olarak, kısaraklar en az 21 gün boyunca veya bir tam kızgınlık döngüsü boyunca herhangi bir kızgınlık belirtisi göstermediği durumlar dışında anöstrusta oldukları düşünülmez. Kızgınlık tespitinde yetersizlik veya belirli bir kısrağa aşına olmama (özellikle östrus süresi 1-2 gün olan kısaraklarda) nedeniyle östrus döneminin kaçırılması sık karşılaşılan bir durumdur ve değerlendirilmesi gereken ilk şeylerden biri olmalıdır (Gentry ve ark., 2002).

Altında yatan olası nedenlerin çeşitliliği sebebiyle, anöstrus terimi klinisyene veya üreticiye yalnızca kısmi bilgi verir. Mevsimsel anöstruslarda olduğu gibi, ovaryumlar yetersiz gonadotropin uyarısı nedeniyle küçülüp inaktif hale geldiğinde anöstrusa anovulasyon eşlik edebilir (Watson ve ark., 2002). Alternatif olarak, foliküler gelişim ve ovulasyon ile birlikte normal ovaryan siklusunun varlığında da anöstrus meydana gelebilir. Bu nedenle, anöstrusun nedenini teşhis etmenin ilk adımı, ovaryum boyutunun ve foliküler aktivitenin değerlendirmesini içermelidir (Hart, 1984). 10 mm'den büyük folikülleri olmayan küçük, inaktif ovaryumlar, aktif folikülogenezis olan büyük, normal görünen ovaryumlardan farklı bir sorunu işaret etmektedir. İlk durumda, birkaç olası etiyolojiye sahip, organa bağlı bir neden kendini gösterirken, ikinci durumda, sebep bir organa bağlı (gebeliğe bağlı yüksek progesteron veya kalıcı luteal doku gibi) veya psikolojik olabilir (Ginther, 1992a).

1.2.3.6.1. Aktif Ovaryumlu Anöstrus

Östrus belirtisi göstermemek gebeliğin birincil göstergesidir, bu nedenle daha fazla ilerlemeden önce kapsamlı bir ultrason muayenesiyle kısrağın gebe olup olmadığını ortaya konulmalıdır. Gebe kısarakların ovaryumlarında gebeliğin ilk birkaç ayında normal foliküler dalgalar ve en az bir korpus luteum bulunur (Ginther ve ark., 1992b). Gebeliğin 180. günü civarında tüm luteal yapıların (esas ve yardımcı)

kaybından sonra, ovaryumlar regrese olarak inaktif hale gelir ve doğum boyunca bu durumda kalır (Ginther, 1992a).

Ovaryumların değerlendirilmesinde, kayda değer ölçüde ovaryum boyutu ve foliküler aktivite tespit edilirse, ancak kısırağın hala kızgınlık belirtileri gösterdiğine dair bir geçmişi yoksa progesteron seviyeleriyle ilişkili olarak altta yatan nedene dair çeşitli olasılıklar bulunmaktadır. Bunlardan en temeli, luteal dokudan, feto-plasental birimden veya bazı ektopik kaynaklardan kısırağı sürekli diöstrus benzeri bir durumda tutmaya yetecek kadar progesteronun varlığıdır (Elhay ve ark., 2007). Jugular kan örneğinden progesteron ölçümü, doğrulama için gerekli bilgileri sağlamalıdır. 1 ng/mL veya daha yüksek progesteron konsantrasyonları genellikle bir kısırağın kızgınlık göstermesini engeller ve onun aygıra karşı agresif davranış, kulakları arkaya çevirme, tekme ve kuyruğun agresif bir şekilde sallanması gibi tipik diöstrus belirtileri göstermesine neden olmaktadır (Ginther, 1992a).

Kısırağın plazma progesteron seviyesi gerçekten de yüksekse ve gebe olmadığı doğrulandıysa, yapılacak luteolitik bir PGF₂ α dozu, varsa, luteal dokuyu lize ederek kısırağın 3 ila 4 gün içinde kızgınlık belirtileri göstermesini sağlayacaktır (Gentry ve ark., 2002). 5 ila 6 gün sonra kızgınlık belirtileri görülmemesi başka bir PGF₂ α enjeksiyonunu gerektirebilmekte ancak ikinci enjeksiyona yanıt olmaması, yüksek progesteronun luteal olmayan bazı kaynaklarını doğrulamaktadır. Gebeliğin ortasından sonuna kadar feto-plasental ünite dışında luteal olmayan progesteron kaynakları nadirdir ve açığa çıkarmak için kapsamlı araştırmalar gerekmektedir (Watson ve ark., 2002).

İlk kan örneğindeki progesteron düşük düzeydeyse ve belirgin bir foliküler aktivite mevcutsa, kısrağın siklik olduğu halde numune foliküler faz sırasında alınmış olabilir veya kısrağın çeşitli nedenlerle folikülü ovule edemediği için siklik döngüyü gerçekleştiremeyebilir. Bu iki durum, ilk kan örneğinden 10 ila 12 gün sonra ikinci bir kan progesteron örneği alınarak birbirinden ayırılmaktadır. İkinci numunedeki

yüksek progesteron, luteal doku oluşumunu ve siklik döngüyü gösterir. İkinci numunedeki düşük progesteron ise, siklus düzensizliğini gösterir (Elhay ve ark., 2007).

Progesteron seviyeleri açısından kısrağın siklik ise ve hala östrus belirtisi göstermiyorsa, o zaman psikolojik bir nedenden şüphelenilebilir. Taylarını koruyan kısrağın, normal foliküler aktiviteye ve kanda östrojen seviyelerine sahip olmalarına rağmen, kızılgınlık davranışı sergileyemezler (Sharp, 1980). Bu tür kısrağlardan bazıları, foliküler fazdayken, özellikle de taylarından kademeli olarak kısa ayrılık dönemlerine maruz kalıyorsa, genellikle davranış olarak küçük farklılıkları göstereceklerdir. En inatçı vakalarda, düzenli ultrasonografik muayeneler, foliküler boyut ve morfolojiye dayalı ovulasyon tahmini, kısrağın ne zaman çiftleştirilmesi gerektiğini bilmenin tek yolu olarak düşünülmektedir. Aslında, bu tür kısrağlarda suni tohumlama uygulamalarının gerçekleştirilmesi çiftleşme sürecini büyük ölçüde basitleştirmektedir (Nett, 1975).

İkinci numunede de kan progesteron seviyesi düşük bulunan kısrağlarda, üreme mevsimine geçiş aşamasında foliküler aktivitenin eşlik ettiği ovulasyon başarısızlığı yaygındır. Bununla birlikte, bu tür vakalar, genellikle süre olarak düzensiz veya günden güne tutarsız olsa da, bazı östrus davranışları sergileyebilmektedir. Kısrağın uzun süre östrus belirtisi göstermemesine rağmen ovaryumlarında büyük foliküller olması nadirdir ve yine nedeni bir tür psikolojik bozukluk olabilmektedir (Elhay ve ark., 2007). Mevcut foliküllerin östrus belirtilerine neden olacak kadar östrojen üretip üretmediği veya kısrağın normal östrojen stimülasyonuna yanıt vermesini engelleyen bir nöral lezyona sahip olup olmadığı sorgulanmalıdır. Bununla birlikte, üreme mevsimindeki bir kısrağta bu tür semptomların uzun süre görülmesi nadirdir ve hipofiz bezi tarafından salgılanan lüteinleştirici hormonun yetersizliğini göstermektedir (Sharp, 1980). İnsan koryonik gonadotropin (hCG) uygulaması, foliküler olgunlaşma ve ovulasyon için uygun bir uyarı sağlamakta; alternatif olarak, uzun salınımlı bir formülasyonda deslorelin gibi bir gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogu denenebilmektedir (Johnson ve ark., 2002).

1.2.3.6.2. Aktif Olmayan Ovaryumlu Anöstrus

Kısraklar mevsime bağı poliöstrik olmalarına karşın; sezon başında doğum yapma, bakım ve besleme, hormon üretimi veya salınımındaki eksiklikler, aşı uygulamaları ve yaş gibi nedenlerden kaynaklı veya idiyopatik olarak sezon içinde de anöstrus gösterebilmektedirler (Hafez ve Hafez, 2013).

Kısraklarda anovulatör foliküller ve küçük inaktif ovaryumların eşlik ettiği anöstrus, çiftleşmenin olmadığı, sezon dışı olarak adlandırılan kış mevsiminde yaygındır (Ginther, 1992a). Kısrak ovaryumunda folikülogenezin, gonadotropinlerin yokluğunda yaklaşık 2 mm'lik bir foliküler çapa kadar ilerlediği düşünülmektedir (Bergfelt ve Ginther, 1985). Bu boyutun ötesinde, foliküller daha fazla gelişmeyi teşvik etmek için kandaki folikül uyarıcı hormona (FSH) ve nihai olgunlaşma ve yumurtlama için nihayetinde LH'ya bağımlıdır (Irvine, 1981).

Kışın gün ışığının daha kısa olması, diğer mevsime bağı siklik aktivite gösteren türlere benzer şekilde, kısrak tarafından epifiz-melatonin sinyali aracılığıyla algılanmaktadır. Henüz aydınlatılamayan bir şekilde, bu melatonin sinyali hipotalamus tarafından yorumlanır ve buna göre GnRH üretimi ve salgılanması değişir (kışın azalır, gün uzunluğu arttıkça artar) (Grubbaugh ve ark., 1982).

Mevsime bağı anöstrus ve anovulasyonu tersine çevirmek için prosedürler, yapay fotoperiyod ve çeşitli hormonal manipölasyonların kullanımını içerir (Ginther, 1992b). Tipik olarak kısraklar, ovaryum aktivitesinde arzu edilen uyarımdan en az 30 gün önce başlayarak, genellikle gün sonu ek ışık ile toplam 16 saatlik bir gün uzunluğuna tabi tutulur. Ülkemizin de içinde bulunduğu Kuzey Yarım Kürede yapay fotoperiyod uygulamasına Aralık başında başlanması, ovaryumların uyarılması ve Şubat ortasında başlayan çiftleşme sezonunda nihai ovulasyon için yeterli zamana izin vermektedir (Öcal, 2015). Mevsimsel olarak anovulatör olan kısraklarda ovaryum aktivitesini uyarmak için başarılı hormonal tedaviler arasında GnRH veya analoglarından biri ile tedavi ve prolaktin veya alternatif olarak endojen prolaktin

sekresyonunu uyaran dopaminerjik antagonistlerin kullanılması gibi uygulamalar yer almaktadır (Turner ve Irvine, 1991).

1.3. Kısıraklarda Reprodüktif Muayene

Üreme mevsiminin başında, kısırakların üreme geçmişine ait eksiksiz ve doğru bilginin elde edilmesi, sezon sonunda başarılı bir sonuç elde edebilmek için önemli bir ilk adımdır (Irvine ve Alexander, 1998).

Bir kısırağa ait reprodüktif geçmişin değerlendirilmesi, ilgili tedavi planı oluşturulmasına ve sezon başlamadan önce karşılaşılabilecek çeşitli sorunların erken müdahalesine izin vermektedir. Herhangi bir ıslah programında zamanın çok önemlidir. Sezon başlamadan önce ne kadar çok şey yapılabilirse, sezon başladıktan sonra o kadar az zaman harcanmaktadır (Morrow, 1986).

Temel olarak reprodüktif muayene yöntemleri; vajinal muayene, direkt rektal palpasyon, ultrasonografik muayene, uterus sitolojisi, endometriyal biyopsi, endoskopik muayene, uterin ve klitoral kültür ve laparoskopik muayeneleri içerir (Ricketts ve Troedsson, 2007). Bu muayene yöntemleri içerisinde direkt rektal palpasyon ve ultrasonografik muayene sezon içerisinde en doğru zamanda aşım kararı verilmesi ve gebelik başarısıyla sonuçlanabilmesi için en önem arz eden uygulamalardır (Morrow, 1986).

1.3.1. Rektal Palpasyon

Kısırakların rektal palpasyonu, reprodüktif anatomi ve fizyoloji ile ilgili önemli bilgiler sağlar. Rektal palpasyon rutin bir işlem olarak kabul edilir ve asla gelişigüzel yapılmamalıdır (Newcombe, 2007). Her palpasyonu sistematik bir şekilde yürütmek önemlidir. Doğru kayıt tutma, bireysel kısırak değerlendirmesi ve optimal sürü yetiştirme yönetimi için esastır. Palpasyon sırasında kazanılan bilginin etkili bir

şekilde yorumlanması, ilgili anatomi ve fizyoloji hakkında kapsamlı farkındalık gerektirir (Ricketts ve Troedsson, 2007).

Rektal palpasyon kendi başına basit bir prosedürdür. Amaç sadece üreme organlarını bulmak ve tanımlamak değil, palpasyon bulgularının makul bir yorumuyla üreme organlarını ve endokrin durumunu değerlendirmektir. Canlı bir fetüsün palpe edilmesinden sonra gebelik teşhisi konması gibi, yorum kesin olabilir veya uygun bir uterus büyümesinin palpe edilmesinden sonra gebelik teşhisi konması gibi varsayımsal olabilir (Bergfelt ve Adams, 2007).

Reprodüktif organların çoğu, sublumbar bölgeden ve lateral pelvik duvarın alanlarından kaynaklanan geniş bağ (broad ligament) liflerinden oluşan bir ağ tarafından gevşek bir şekilde desteklenir (Newcombe, 2007). Bu geniş bağlar, üreme organlarının dorsal yüzüne bağlanır ve uterusun gövdesi ve serviks üzerinde birleşir. Bununla birlikte, gebe olmayan kısırakta desteğin çoğu, kemikli pelvisin tabanı ve arka karındaki bağırsak halkaları gibi karın yapıları tarafından sağlanır (Bergfelt ve Adams, 2007).

Rektal palpasyon, çiftlik veya klinik ortamda gerçekleştirilebilir. Kolaylık ve verimlilik önemli hususlar olsa da, güvenlik birincil amaç olmalıdır. Güvenlik endişeleri sadece palpasyonu yapan kişiye yönelik olmamalı, aynı zamanda bakıcı ve kısırakları da içermelidir. Rektal palpasyon için özel olarak tasarlanmış travaylar mümkün olduğunda kullanılmalıdır. Kısırağa erişime izin verecek kadar alçak, rektal palpasyonu gerçekleştiren veteriner hekimi koruyacak kadar yüksek olmalıdır (Ricketts ve Troedsson, 2007).

Agresif, gergin, ürkek ve huysuz kısırakların rektal palpasyonunda sakinleştiriciler ve yatıştırıcılar (asepromazin maleat, ksilazin hidroklorür, detomidin hidroklorür ve butorfanol tartrat) tek başına veya kombinasyon halinde kullanılabilir. (Newcombe, 2007).

Palpasyon için gerekli malzemeler minimum düzeydedir. Tek kullanımlık plastik eldivenler omuzluklu veya omuzluksuz, çeşitli boyut ve kalınlıklarda mevcuttur. Rektal palpasyonda kullanılan yağlayıcılar için birincil bileşen olarak, suda çözündüğü ve perianal bölgeden rahatça temizlendiği için karboksimetilselüloz tercih edilmektedir. Mineral yağ veya hafif sabunlu solüsyon gibi diğer tahriş edici olmayan sıvılar da kullanılmaktadır (Bergfelt ve Adams, 2007).

Palpasyona ancak kısarak uygun şekilde konumlandırıldıktan ve zaptedildikten sonra başlanmalıdır. Palpasyondan önce bir yardımcı ve palpasyoncu tarafından kısrağın kuyruğunun sabitlenmesi tercih edilir. Bol miktarda kayganlaştırıcı eldivenin üzerine ve kısrağın anal bölgesine uygulanır. Palpasyon esnasında mukozal iritasyondan kaçınarak, dikkatli bir şekilde rektal boşluktaki fekal materyaller boşaltılır. Sık sık karşılaşılan bir durum olan güçlü ve uzun süreli peristaltik hareketler karşısında palpasyona ara verilmeli ve kol pasif pozisyonda bırakılmalıdır (Newcombe, 2007). Nadiren bazı kısraklar ısrarcı bir şekilde kasılmalara, güçlü peristaltik harekete devam eder. Bu durum palpasyonun etkinliğinin azalmasının yanında rektal duvarda ciddi yaralanmalara sebep olabilir. Bu tarz kısraklarda rektal boşluğa lokal olarak lidokain veya damar içi enjeksiyon olarak bütülskopolamin uygulamaları yapılabilir (Baker ve Kenney, 1980).

Direkt rektal palpasyonda serviks, avuç içinin ventral olarak pelvise bastırılması ve serviksin tübüler yapısı farkedilene kadar bir yandan diğer yana gezdirilmesiyle bulunur. Kalınlık, uzunluk ve ton gibi özellikler anatomik ve fizyolojik durumla ilgili bilgi sağlamaktadır. Gebeliğin erken döneminde serviks nispeten uzun ve dardır ve uterus gövdesinden iyi ayrılmıştır. Diöstrus sırasında bu özellikler daha az belirgindir, ancak tübüler doğası hala kolayca fark edilir. Östrus sırasında gevşemiş, ödemli serviksin saptanması zor olabilir. Bu dönemde boru şekli daha az belirgindir, ton ve sertlik bakımından uterus gövdesine benzemektedir (Ricketts ve Troedsson, 2007).

Uterus, pelvis girişinin önünde ilerleyerek bulunur. Parmaklar ventrale yönlendirilmiş şekildeyken uterus gövdesinin serbest, ventral sınırına ulaşılır. Kavranılan ventral sınırdan uterus yavaşça geriye çekilerek hem gövdesinin hem de

kornularının palpasyonu yapılır. Avuç içine alınmış bir kornunun ucundan diğerinin ucuna kaydırarak genel bir boyut ve simetri kontrolü yapılabilir. Kornu boyutlarındaki eşitsizlik ve asimetri genellikle maiden kısıraklar dışında hepsinde tespit edilmektedir (Bergfelt ve Adams, 2007).

Ton ve kıvam en iyi şekilde uterusu başparmak ve işaret parmağı arasında nazıkçe yakalayarak ve tüm organı sistematik olarak değerlendirerek anlaşılır. Endokrin durumu doğrudan uterus tonunu ve kıvamını etkiler. Anöstrus sırasında uterus ince duvarlıdır, sarkıktır ve genellikle tanımlanması zordur. Diöstrus sırasında progesteronun baskın olduğu uterus sert ve tübülerdir, kolayca tanınır (Voss ve Pickett 1975). Bu özellikler gebeliğin erken döneminde tanımlanır. Östrus sırasında östrojene bağlı ödemdeki değişiklikler uterus duvarının gevşemesine ve kalınlaşmasına neden olur. Bu dönemde uterus daha yumuşak, daha esnek ve daha az tübüler şekildedir (Bergfelt ve Adams, 2007). Nazık palpasyon ince bölgesel tutarsızlıkların, anormal yapıların veya sıvı birikimlerinin tanınmasına izin verir. Endometriyal kıvrımlar, sıkıştırılmış başparmak ve işaret parmakları arasında kayarken tanımlanabilir. Endometriyal kistler genellikle derin palpasyon sırasında tanınır. Kısrağın gebe olmadığından kesinlikle emin olana kadar uterusun agresif palpasyonu ve kompresyonuna teşebbüs edilmemelidir (Newcombe, 2007).

Fasulye şeklindeki her bir ovaryum, karşılık gelen uterus kornusunun yan tarafında ve hafifçe dorsalinde bulunur. Her biri normal olarak ileum şaftının hemen kraniyalinde yerleşmiştir. Geniş bağın bir kısmı olan mezovaryum, dorsal konveks sınırı çevreler ve destekleyici bir yapı olarak işlev görür. Gebe olmayan veya erken gebelik döneminde olan kısıraklarda ovaryumlar bağırsakların üzerinde bulunur ve mezovaryum tam olarak açılmamıştır. Bu gevşek bağlantı, palpasyon sırasında önemli ölçüde hareketliliğe izin verir (Ricketts ve Troedsson, 2007).

Kısırak ovaryumu, belirgin mevsimsel ve döngüsel değişim sergileyen dinamik bir yapıdır. Her biri yaklaşık 7–8 cm uzunluğunda, 3–4 cm kalınlığındadır ve genellikle biri diğerinden daha büyüktür. Anöstrus, palpe edilebilir aktivite çok azdır. Ovaryumlar küçük ve serttir (Newcombe, 2007). Geçiş döneminde artan aktivite,

genel genişleme ve azalan sertlik ile karakterize edilir. Çok sayıda folikül görünüşte rastgele büyüme ve gerileme modellerinde gelişir. Bu foliküller genellikle gruplar halinde ortaya çıkar ve ovaryum anormal derecede büyük görünebilir. Sonunda bir veya daha fazla ovulasyon ile düzenli östrus döngüsü başlar (Ricketts ve Troedsson, 2007).

Ovaryum palpasyonu çoğunlukla foliküler gelişimi değerlendirmek ve ovulasyon zamanını tahmin etmek için kullanılır. Ovulasyon, ovulasyon çukurunda meydana gelir, ancak ilk foliküler büyüme, ovaryumun dışbükey yüzeyinde belirgindir. Bir folikül ilk önce ovaryum yüzeyinin üzerinde çıkıntı yapan sert, yuvarlak bir yapı olarak tanımlanır. Birkaç folikül mevcut olsa da, östrusun başlamasıyla birlikte bir veya iki tanesi hızla büyüyecektir. Başlangıçta folikül sert ve simetrik kalırken boyut olarak artar (Bergfelt ve Adams, 2007). Ovulasyondan önce büyüme durur, "olgunlaşmış" folikül fluktuant hale gelir ve simetrisini kaybeder. Bununla birlikte, ovulasyondan önce tüm foliküllerin tonu önemli ölçüde azalmaz. Ovulasyondan hemen önce bir folikül palpe edildiğinde, kısarak genellikle hassasiyet veya artan duyarlılık belirtileri gösterir (Ricketts ve Troedsson, 2007).

Ovulasyon, folikülün hızlı bir şekilde yırtılıp sönmesiyle tanımlanmaktadır. Ovulasyon sonucu oluşan boşluk yavaşça kılcak kanla dolar ve sonunda ovaryum yüzeyinin üzerinde şişer. Bu dalgalı yapı, korpus hemorajikum, kolayca olgun bir preovülatör folikül ile karıştırılır (Baker ve Kenney, 1980). Dikkatli palpasyon, gelişmekte olan pıhtı içindeki fibrin organizasyonundan dolayı hamursu bir kıvam gösterecektir. Ek olarak, korpus hemorajikum genellikle yerini aldığı folikülden daha küçüktür. Korpus hemorajikum hızla organize olur ve daha sıkı bir yapı olan korpus luteuma döner. Ovulasyondan birkaç gün sonra korpus luteumun palpasyonla tanımlanması zordur. Gelişmekte olan bir korpus luteumun palpasyondaki özellikleri, olgunlaşan bir preovülatör foliküle benzer olabilmektedir (Newcombe, 1997).

1.3.2. Ultrasonografi

1.3.2.1. B-Mod Ultrasonografi

Kısırağın üreme sisteminin ultrasonografik muayenesi, kısırağın rutin jinekolojik incelemesinin temel bir bileşenidir. Bu muayene tekniği, kısırak üreme sistemi üzerinde klinisyenlerle beraber araştırmacılara da uterus ve ovaryumları invaziv olmayan bir şekilde incelemeleri için imkan vermektedir (Watson ve ark., 2002). Ultrasonografik cihazların kapsamlılık ve taşınabilirliği arttıkça, bu konu hakkındaki bilginin de artmaya ve gelişmeye devam etmesi muhtemeldir. Ultrason cihazı temel olarak prop, işlemci ve ekrandan oluşmaktadır (Kremkau, 2002).

Ultrason probu, elektriksel olarak uyarıldığında hemen altındaki dokuya iletilen bir dizi yüksek frekanslı ses dalgası üreten piezoelektrik kristaller içerir. Farklı doku arayüzleri, ses dalgalarının bir kısmını dönüştürücüye geri yansıtır, burada aynı kristaller ses dalgalarını elektrik enerjisine dönüştürür ve ekranda görüntülen bir dizi beyaz noktadan oluşan bir görüntü oluşturur. Daha sonra yapının bir görüntüsünü oluşturmak için geri dönen yankılara farklı gri ölçekler atanır. Yansıtılan ultrason sinyalinin gücü değişir ve ultrason makinesi tarafından görüntülen görüntüyü oluşturan bir dizi nokta halinde işlenir. Her noktanın parlaklığı, geri dönen yankının ekosu ile orantılıdır (Mihm ve Evans, 2008). Genel olarak, kas veya kemik gibi yoğun dokularda, üretilen yankının gücü de artar. Bu yoğun dokular, ultrasonik ışının çoğunu yansıtır ve ekrandaki görüntü, hiperekoik/ekojenik olarak adlandırılan beyaz/parlak görüntü verir (Ihnatsenka ve Boezaart, 2010). Sıvılar, farklı yoğunluktaki bitişik bir dokuya ait arayüzle karşılaşılınca kadar ultrason sinyaline çok az empedans sağlar. Sıvı dolu yapılar ekranda siyah/anekoik görünür. Ses dalgalarını yansıtma yeteneklerine bağlı olarak, diğer dokular grinin çeşitli tonlarında görülür. Güçlü bir yankıya neden olduğu için gaz beyaz veya hiperekoik görünür (Kremkau, 2002).

Kısırak üreme sistemi muayenesinde tanısal ultrasonografide tipik olarak, genellikle 2 ila 10 megahertz (MHz) arasında yüksek frekanslı ses dalgaları kullanılır. Yüksek frekanslı ses dalgaları, düşük frekanslı ses dalgalarından daha iyi çözünürlüklü

bir görüntü oluştururlar. Çözünürlük basitçe doku yoğunluğundaki küçük farklılıkları algılama yeteneği olarak tanımlanabilir. Gerçekte, çözünürlük ultrasonografinin karmaşık bir özelliğidir ve ultrason fiziğini derinlemesine anlamayı içerir (Mihm ve Evans, 2008). Daha yüksek frekanslı rektal probalar (7,5 MHz) tipik olarak detaylı inceleme gerektiren yüzeysel yapıların rutin kısırak jinekolojik muayenelerinde kullanılır. Düşük frekanslı probalar (3 MHz) ise transabdominal tarama ile daha ileri yaşlı bir fetüsün gelişimini takip etmek gibi, derin ve daha büyük yapıları görüntülemek için kullanılır (Powis, 1986).

Ultrasonografik görüntünün çeşitli gösterim modları vardır ve kısırak üreme sistemi muayenelerinde temel olarak B-modu gösterimi kullanılır. B-modu, parlaklık modunu (gri tonlama) ifade eder ve ekranda üretilen beyaz noktalar olarak geri dönen ekoların iki boyutlu bir görüntüsüdür (Powis, 1986).

1.3.2.2. Renkli Doppler Ultrasonografi

B-mod ultrasonografi, reproduksiyon alanındaki çiftlik hayvanlarının klinik ve araştırma programlarına geniş çapta entegre olmuştur. İlgili bir teknoloji de, theriogenolojide dikkate alınmaya ve kullanılmaya başlananan renkli doppler ultrasonografidir. Bu görüntüleme yöntemi temel olarak vasküler sistemi değerlendirmek için belirgin şekilde farklı iki yaklaşım sağlar. Bunlar; bir doku yapısı veya organın iki boyutlu B-mod ultrasonografisinde renkli kan akışı gösterimi ve arteriyel bir nabız sırasında küçük bir akış alanında değişen hızın spektral analizidir (Coulam ve ark., 1999).

Doppler ultrasonografinin çalışma prensibi ekojen cisimin hareketine bağlı oluşturduğu yansıyan ses dalgasının frekansının etkilenmesine ve frekans kayması oluşumundan temel almaktadır. Bu prensiple gönderilen ses dalgaları penetre olduğu doku veya organda bulunan damarlar içerisindeki hareketli eritrositlere çarparak doppler kaymasını oluşturur. Akan kan hücrelerinden yansıyan ses dalgalarının

frekansı hareketin yönü ve hızına göre artmakta veya azalmaktadır (Shrestha ve ark., 2006).

Renkli Doppler görüntüleme, büyük damarlardaki (uterus ve ovaryum arterleri) yüksek hızlı akıştan terminal damarlardaki minimum akışa kadar değişen gerçek zamanlı kan akışının görselleştirmesini sağlamaktadır (Gastal ve ark., 2006a). Renkli Doppler görüntüleme, ilgili alanın tamamı (endometriyum, folikül) taranırken kan akışının anlık izlenimini sağlamaktadır. Yalnızca gözle yapılan gerçek zamanlı değerlendirmede, doku veya organın mevcut ve gelecekteki potansiyellerini yansıtan vasküler durumunun yorumlanması mümkün olmaktadır. Daha fazla zaman harcanabildiğinde, subjektif değerlendirmeler doğrulanabilir ve renk sinyallerinin objektif değerlendirmeleriyle daha ayrıntılı sonuçlar elde edilmektedir (Herzog ve Bollwein, 2007).

Renkli Doppler ultrasonografisindeki kazanç (gain) kontrolü, B-modundaki kazanç kontrolüne benzemektedir. Yetersiz kazanç, renk sinyallerinin kaybolmasına neden olmaktadır. Çok fazla kazanç ise aşırı doygunluğa neden olabilir, böylece monitörde harici sinyaller görünecektir (Du ve ark., 2006). Bireysel olarak hayvan incelenirken kazanç optimizasyonu gereklidir, ancak aynı zamanda operatör de karşılaştırma amacıyla bir standardizasyon geliştirmektedir. Bu, vasküler perfüzyonun kapsamına dayalı olarak bir dokunun fonksiyonel durumunu tahmin etmede değerlendirmeyi kolaylaştırmaktadır. Kazanç ayarlarının standardizasyonu, özellikle bir incelemenin sonuçlarının diğeriyle karşılaştırıldığı araştırmalarda çok önemlidir (Gastal ve ark., 2006a).

Renkli doppler uygulamalarında ultrason cihazının monitöründe gösterildiği gibi renk tonlamalarını gösteren bir açıklama veya renk haritası görüntülenir. Renkli Doppler cihazları, iki farklı renk kullanarak dönüştürücüye doğru ve dönüştürücüden uzağa hareketi kodlamak üzere programlanmıştır. Sırasıyla dönüştürücüye doğru ve dönüştürücüden uzağa akış için kırmızı ve mavi renkler kullanılır (Ferreria ve ark., 2011; Ginther, 2014). Bu, arteriyel ve venöz akışı tasvir etmek için geleneksel olarak kırmızı ve mavinin kullanıldığı anatomik çizimlerle karıştırılmamalıdır. Çoğu

ultrasonografik cihazda, operatörün tercihinine göre renkler tersine çevrilebilir ve değiştirilebilir. Probun yönü, algılanan akış yönünü ve dolayısıyla renkleri etkiler. Yani akış yönü, anatomik referanslar kullanıldığında bilinen yön dikkate alınmaksızın dönüştürücü yönüne göredir. Her piksel için yalnızca bir renk gösterilebilir ve bu nedenle yeşil, yalnızca yönü değil aynı zamanda hızı da temsil etmek için yöne bağlı olarak kırmızı veya mavi ile birlikte kullanılır (Palmer ve ark., 2006). Saf yeşil kullanılmaz. Yeşilin kırmızıya veya maviye eklenmesi, sarıya doğru (akış yönünün kırmızı göstergesi için aşırı) mavi-yeşile (camgöbeği; mavi yönü için aşırı) uzanan çeşitli renklerle sonuçlanır. Renk çubuğu, kan akışının yönü ile görüntüdeki renkler arasındaki ilişkiyi gösterir (Ginther, 2014). Çubuğun üst kısmı kırmızıyı ve alt kısmı maviyi temsil eder. Üst kısım kırmızıdan turuncu ve sarıya, alt kısım ise lacivertten camgöbeğine kayar. Çubuğun merkezinden (kırmızı ve mavi arasındaki sınır) uçlara doğru (yukarı veya aşağı) kayması, artan akış hızını temsil eder. Yeterli sayıda bitişik piksel aynı renkle kodlandığında, alan görüntü üzerinde renkli bir nokta olarak görünür hale gelir. Bir arter görüntüsündeki renk çeşitleri, değişen hızları veya türbülansı temsil eder (Ginther ve Utt, 2004).

1.3.2.3. Preovülatör Folikülün Ultrasonografisi

Ultrasonografi, kısıraklarda preovulatör folikül değerlendirmesine güçlü bir boyut kazandırmıştır. B-mod (gri tonlamalı) ve renkli Doppler modlu yüksek çözünürlüklü ultrasonografik makineler, son zamanlarda farklı amaçlarla preovulatör folikül özelliklerini inceleyen çalışmalarda kullanılmaktadır (Gastal ve ark., 2006a). Bu teknolojiler, bir folikülün ve oositinin durumu ve gelecekteki başarısı hakkında klinik bilgi sağlama potansiyeline sahiptir. Memelilerde, bir preovulatör folikül içten dışa doğru; granüloza, teka interna ve teka eksterna ile kademeli olarak kapsüllenmiş sıvı dolu bir antrumdan oluşur (Hunter, 2003). Avasküler stratum granulozum, vasküler tekal tabakalardan bir bazal membran ile ayrılır. Teka interna, zengin bir kılcal plexus ile karışmış bir glandular hücre tabakasıdır. Teka eksterna daha liflidir ancak belirgin bir arteriyol ve venül ağı içerir. Folikül olgunlaşması, teka damarlarının

ve kılcal damarların genişlemesi ve yeni damarların oluşumunu da içerir (Familiari ve ark., 1991).

Kısıraklarda folikül çapında değişimin veya seçiminin başlamasından 1 veya 2 gün önce, gelecekteki dominant folikül duvarında gri skala ekotekstüründe ve renkli Doppler kan akışı sinyallerinde ultrasonografik olarak saptanabilir değişiklikler gerçekleşmektedir (Acosta ve ark., 2004; Gastal ve ark., 1999). Devam eden süreçte folikül olgunlaştıkça ve ovulasyon yaklaştıkça preovulatör folikülün duvarında çeşitli ultrasonografik değişiklikler oluşmaktadır. Folikülün küresel şeklinin bozulması, ovulasyondan 3 gün önce fark edilebilir ve en sık olarak, ovulasyondan 24 ila 12 saat önce meydana gelir (Gastal ve ark., 1998; Gastal ve ark., 2006b). Küresel ve küresel olmayan foliküller arasında ayırım yapmak için kullanılan kriterler ve muayene sırasında prob ile uygulanan basınç nedeniyle operatörler arasında farklı sonuçlar üretilebilir, bu da subjektif bir değerlendirmeye neden olabilmektedir. Foliküler duvar ile ilgili olarak, granüloza tabakası, antrumu çevreleyen ekoik bir bant olarak tanımlanabilir. Teka'nın iki katmanı, konuma göre sınıflandırılabilir, ancak teka externa ve interna arasındaki sınır belirsizdir (Gastal ve ark., 1998). Atlarda B-modu ultrasonografi ile yapılan ilk çalışmalarda, ovulasyon aralığı azaldıkça ekojenite ve granüloza kalınlığının arttığı belirtilmiştir (Carnavale, 1998; Pierson ve Ginther, 1985). Granülozanın ekojenitesindeki artışa ek olarak, ovulasyondan önceki 3 gün içinde teka tabakalarının beklenen alanında anekoik bir bandın belirginleştiği ve bunun kademeli olarak günlük arttığı belirtilmektedir (Gastal ve ark., 1998).

Teka katmanları alanında anekoik bant bulunmaktadır. Renkli doppler ultrasonografisinde bu anekoik bant içinden kan akış sinyalleri alınmaktadır. Bu sebepten bandın vena ve arterleri içerdiği düşünülmektedir (Gastal ve ark., 1999). Benzer bir anekoik bant kadınlarda da tanımlanmıştır (Jaffe ve Aderet, 1984; Picker ve ark., 1983).

Son zamanlarda, büyük çiftlik hayvanlarında ovaryum ve folikül hemodinamiklerinin araştırılması ve klinik çalışmalarında transrektal Doppler ultrasonografi giderek daha fazla kullanılmaktadır (Ellenberger ve ark., 2009; Mihm

ve Evans, 2008; Silva ve ark., 2006) Doppler ultrasonografi ile folikül kan akışı değerlendirmesi; kısıraklarda folikül seçimi, mevsimsel geçiş sırasında anovulasyonu incelemek, yılın ilk ve sonraki ovulasyonlarının takibi, folikül maturasyonu ve ovulasyon zamanına olan yakınlık, oosit eldesi oranı, maturasyon ve kalitesi, dolaşımdaki hCG antikorlarının folikül ve oosit üzerindeki etkilerin değerlendirilmesinin yanısıra yaş ilgili etkiler ile birlikte gebeliğin tanımlanması ve incelenmesi için de kullanılmıştır (Acosta ve ark., 2004; Ginther ve ark., 2007b; Miyamoto ve ark., 2006; Palmer ve ark., 2006; Siddiqui ve ark., 2009; Silva ve ark., 2006).

Kısıraklarda folikül duvarının vaskülaritesinin değerlendirmesi amacıyla renkli Doppler teknolojisinin kullanımı 2004 yılında başlamıştır. Özellikle folikül seçimi sırasında değerlendirildiğinde, dominant ve diğer foliküller arasında gözlemlenen kan akışındaki fark, oluşan çap farkından 24-48 saat daha öncesinde meydana gelmektedir (Acosta ve ark., 2004). Bu sayede dominant ve ikincil foliküller arasındaki farklı kan akışı değişikliklerinin, ovulasyon dalgasında erken başladığına ve dominant folikül seçimi sırasında çap sapmasından önce geldiğine dair ilk kanıt sağlamıştır (Hunter, 2003).

Renkli Doppler ultrasonografi ayrıca geçiş döneminde dominant foliküllerin durumu (ovulatör ve anovulatör) hakkında yorum sağlama potansiyeline sahiptir (Palmer ve ark., 2006). Kısıraklarda geçiş döneminde folikül duvarındaki vasküler değişiklikler 25 mm'de başlamaktadır ve ovulatör foliküllerde anovulatör foliküllere kıyasla bu alan daha azdır (Acosta ve ark., 2004).

1.3.2.4. Luteal Yapıların Ultrasonografisi

Korpus luteum, östrusun sonuna yakın ovulasyondan sonra veya kısırakta diöstrus veya erken gebelik sırasında önceki dominant folikül yerine oluşan, ovaryum içinde geçici bir endokrin bezdir (LeBlanc ve ark., 2003). Bir korpus luteum, özellikle

gebeliğin erken döneminde, dominant bir anovulator folikülün luteinizasyonundan da kaynaklanabilir (England, 2005).

Direkt rektal palpasyon, kısırta ovulasyonu tespit etmek için nispeten doğrudur, ancak, özellikle ovulasyonun zamanı bilinmiyorsa, luteal bez gelişiminin durumunu saptamak ve değerlendirmek için oldukça subjektif ve hatalı bir yaklaşımdır (Kähn ve Volkmann, 2004). Bu bağlamda, luteal bezin ovaryum yüzeyinden dışarı çıkmasını önleyen kısırak ovaryumunun benzersiz anatomik yapısı, ultrasonografinin önemine katkıda bulunmaktadır. Ultrasonografik görüntülemenin at üremesinde önemli bir araştırma ve teşhis aracı olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak ultrasonografik görüntüleme luteal bez gelişiminin maturasyondan regresyona kadar hem yapısal hem de işlevsel yönlerinin anında saptanmasını hem de görsel ve objektif bir değerlendirmesini sağlamaktadır (Reef, 1998).

B-mod ve renkli Doppler ultrasonografi ile luteal bezin varlığı ve durumu hakkında bilgi toplama yaklaşımı özellikle gebe olmayan kısıraklarda ovulator mevsim boyunca morfolojik, fizyolojik ve endokrinolojik ilişkileri içermektedir (LeBlanc ve ark., 2003). Bu verilerin çoğu, deneysel koşullar altında çok sayıda kısıraktan elde edilen ortalama değerlerdir ve klinik veya saha koşullarında tek tek hayvanlarda gözlemlenenleri yansıtmayabilmektedir. Genellikle popülasyon varyansının bir göstergesi tarafından kapsanan ortalama sonuçların, bireysel bir kısırta belirli bir sonucu tahmin etmek veya bu amaçla referans olarak kullanılabilen bir kılavuz görevi görmesi amaçlanmaktadır (Ginther, 2014).

Kısıraklarda luteal bez gelişimini saptamak ve değerlendirmek için B-mod ve renkli Doppler ultrasonografinin kullanımına dahil olan teknikler ve metotlar, atlarda iyi bir biçimde belgelenmiş olan ultrasonografinin temel ilkelerine dayanmaktadır (Ginther, 1995; Ginther, 2014).

Ultrason cihazlarının marka ve modelleri, görüntüleme özellikleri ve olası tedarikler büyük ölçüde değişiklik gösterir. Bazı makineler ve problemler özellikle veteriner kullanımı için üretilirken, çoğu insan kullanımı için üretilir ancak

hayvanlarda kullanım için kolayca uyarlanabilmektedir. Problar çeşitli tiplerde (lineer ve konveks) ve frekanslarda (3,5; 5,0; 7,0 MHz) mevcuttur ve intrarektal, intravajinal ve transkutan olarak kullanılabilir (England, 2005). Minyatür atlar/midilliler ve eşekler de dahil olmak üzere her tür ata maturasyondan regresyona kadar korpus luteumu saptamak ve değerlendirmek amacıyla ovaryumu taramak için 5 ila 8 MHz frekanslı lineer proba transrektal uygulama en yaygın ultrasonografik yaklaşımdır (Purdy, 2010).

Transrektal yaklaşımla sol veya sağ ovaryumun konumu, az deneyime sahip kişiler için başlangıçta zorlayıcı olabilir, ancak birkaç inceleme denemesiyle çabucak kavranabilmektedir (Ginther, 1995). Ovaryumun tanımlanması, önce bir kornu uterinin enine kesitinin görüntülenmesiyle ve ikinci olarak, ovaryumun görüneceği zaman probun kornu uterinin kraniyal olarak uca ve ötesine doğru lateral yönde yavaşça döndürülmesiyle kolaylaştırılabilir (Ginther, 2014). Bazı durumlarda, rektum duvarı ile ovaryum arasına giren doku veya hava nedeniyle ovaryumun görülmesi zor olabilir veya kısmen görülebilir veya görüntü net olmayabilmektedir. Buna bağlı olarak, bir muayene devam ederken ovaryumun yönü veya konumu değişebilir ve görüntü kısmen veya tamamen belirsiz olabilmektedir (England, 2005). Bu bağlamda, luteal bez gelişiminin doğru tespiti ve kesin değerlendirmesi amacıyla tüm ovaryumun baştan sona taranabilmesini sağlamak için, ovaryumun transrektal palpasyonla veya palpasyon mümkün değilse kısrağı hareket ettirerek yeniden konumlandırılması gerekebilir (Ginther, 1986).

Kısırakta luteal dönemle ilgili ilişkili biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler ile doku yeniden şekillenme süreçlerinin morfolojik yönleri incelenmiştir. Genel olarak, folikül teka hücreleri ovulasyondan hemen önce dejenere olmaya başlar ve ovulasyondan 24 saat sonra foliküler sıvı boşaltılıp folikül duvarı kollabe olduğunda neredeyse dejenerasyon tamamlanmış olmaktadır (Ginther ve ark., 2007b). Buna bağlı olarak, folikül granüloza hücreleri östrojen salgılayan hücrelerden progesteron salgılayan luteal hücrelere dönüşmektedir. Bu nedenle, başlangıçta olgunlaşmamış bir korpus luteum, erken diöstrus sırasında nispeten yüksek derecede ekojenite sergilemektedir. Luteal hücreler, korpus luteum olgunlaştıkça, çapında bir artış,

veziküllü çekirdekler ve sitoplazmada ince vakuoller ile nitelendirilir; bunların tümü, progesteronun hücrel sentezinde ve salgılanmasında bir artışa işaret etmektedir (Ravindra ve ark., 1994).

Ovulasyondan sonra, granüloza ve tekal tabakalar arasındaki bazal membran, kan damarlarının teka internadan gelişmekte olan korpus luteuma invazyonu ile bağlantılı olarak parçalanmaktadır. Preovulator folikülün vaskülaritesi ile gelişen korpus luteum arasındaki boyutsal ilişki kısırlıklarda incelenmiştir (Ginther ve ark., 2007a). Normal folikül evakuasyonu ve uzun süren bölmeli evakuasyon olan kısırlıklar dikkate alındığında sonuçlar, normal olan kısırlıklarda ovulasyon bölgesinin vaskülarizasyonunun ve ardından korpus luteumun vaskülarizasyonunun yapının tabanında başladığını göstermiştir. Bu bulgu, normal evakuasyonda ovulasyondan sonraki ilk hafta boyunca korpus luteumun kan akış sinyalleri yüzdesinde ve bununla birlikte plazma progesteron konsantrasyonlarında progresif bir artışı gösteren önceki çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermektedir (Ginther, 2014). Uzun süren bölmeli evakuasyon grubunda, periferik damarlar, yapının tüm kısımlarında (bazal, orta, apikal) üniform olarak yeni oluşan korpus luteum damarlarına katkıda bulunmaktadır (Gastal ve ark., 2008).

Luteinizasyon ile ilişkili yapısal ve fonksiyonel değişikliklerle eş zamanlı olarak, neovaskülarizasyon ile kan ve lenfatik damarların oluşumu, stromal doku kıvrımlarının luteinizan dokuya invazyonuna eşlik etmektedir. Bu nedenle, olgun bir korpus luteum, artmış luteal hücre hipertrofisi ve sekresyonunun yanında artan glandüler kan ve lenf akışı ile ilişkili daha seyrek dokunun bir sonucu olarak, diöstrusun ortasında nispeten daha düşük derecede luteal doku ekojenitesi sergilemektedir (Ginther, 2014). Luteinizasyon ve vaskülarizasyon ovulasyondan 3-5 gün sonra tamamlanmaktadır. Korpus luteumun regresyonu olarak luteoliz, hücrel dejenerasyon ve devaskülarizasyonu içerir ve bu nedenle, regrese olan bir korpus luteum, geç diöstrus sırasında daha yüksek derecede luteal doku ekojenitesi sergilemektedir (Gastal ve ark., 2008).

Maturasyon ve regresyon sırasında luteal doku ekojenitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak, doku arayüzlerinde empedans farkı nedeniyle korpus luteumun daha vaskülarize ve seyrek luteal dokusu ile ovaryan stromanın daha az vaskülarize ve yoğun bağ dokusu arasındaki bağlantı noktasında belirgin bir sınır bulunmaktadır (Ginther ve ark., 2007b). Sonuç olarak, korpus luteum ovulasyondan geç regresyona kadar kolaylıkla ayırt edilebilirken, bu dönemde artık ovaryan stromadan ayırt edilemez hale gelmektedir (Renaudin ve ark., 1997).

Atlarda reproduksiyonda renkli Doppler ultrasonografinin uygulanabilirliği ilk kez 1998'de ovaryum ve erken gebelikle ilişkili renkli akış görüntülerinin oluşturulup kaydedilebileceğinin gösterilmesiyle ortaya konmuştur (Rantanen ve McKinnon, 1998). Takip eden çalışmalarda, renkli Doppler teknolojisi, birçok taşınabilir ultrason makinesinin hem B-modu hem de renkli Doppler özelliklerini içerecek şekilde tasarlanmasına neden olacak şekilde incelenmiştir (England, 2005; Gastal ve ark., 2008; Ginther, 2007; Ginther, 2014).

Korpus luteum vücuttaki en vaskülarize organlardan biridir ve kısırakta, fizyolojik bütünlüğün bir göstergesi olarak glandüler kan akışını değerlendirmek için nispeten büyük luteal beze renkli akış görüntüleme kolayca uygulanmaktadır. Bu amaçla luteal beze ait renkli piksel sayısını belirlemek için bilgisayar destekli görüntü analizinin (Bollwein ve ark., 2002a) yanı sıra, sübjektif görsel değerlendirme de kullanılmıştır (Ginther, 2007).

1.3.2.5 Erken Dönem Gebelik Ultrasonografisi

Erken gebeliğin teşhisi, embriyo ve fötusun gelişimi boyunca sağlığın prognozu, doğumda sağlıklı bir tay ile kısırakta reproduktif ultrasonografinin en değerli ve ödüllendirici kullanımlarından biri olarak tercih edilmektedir. Gelişmiş B-modu ve renkli Doppler ultrasonografi teknolojisi, bilim adamlarına, klinisyenlerin ve yetiştirme çiftliği yöneticilerinin konseptusun morfolojik ve fizyolojik gelişimini ve

bunun maternal üreme sistemi ile olan ilişkilerini saptayabileceği, izleyebileceği ve çalışabileceği sanal bir pencere sağlamaktadır (Ginther, 1998).

Transrektal yol, minyatür atlar ve midilliler de dahil olmak üzere tüm yetişkin at türlerinde ve eşeklerde üreme sisteminin incelenmesi ve gebelik teşhisi için en geleneksel yaklaşımdır. Tipik olarak, 5,0 veya 7,5-MHz veya çoklu frekanslı lineer problar gebeliğin 70-80. gününe kadar transrektal olarak kullanılmaktadır (Gastal ve ark., 2008).

Anatomik olarak uterus, transrektal ultrasonografik inceleme sırasında probun yeri ve yönü için bir kılavuz görevi görmektedir. Erken dönemde embriyonik vezikül için uterusu incelerken, tüm uterus gövdesini ve her iki kornu uteri kapsayan yavaş, metodik hareketler, saptamayı sağlayabilmektedir (Turner ve ark., 2006). Hızlı hareketler, ultrason ışını çok ince olduğundan (1-2 mm) ve küçük bir kese üzerinden hızla geçebildiğinden (9. günde yaklaşık 3 mm) yanlış negatif tanıya neden olabilmektedir. Yaklaşım hem kornu uterileri hem de özellikle uterus gövdesini kapsadığı sürece, incelemeye başlamak için serviks veya ovaryumların referans olarak kullanılması önemli arz etmektedir (McKinnon ve ark., 2011).

At konseptusunun embriyolojisi, çeşitli referans metinlerinde kapsamlı bir şekilde açıklanmıştır ve kısıraklarda erken gebeliğin teşhisi ve yönetimi için kritik dönemlerde konseptus ve uterus arasındaki dinamik etkileşimleri tam olarak değerlendirmek için çalışılması gerektiği bildirilmiştir (McKinnon ve ark., 2011). Genel olarak konseptus, ovulasyondan 6-8 gün sonra geçici bir müsinöz glikoprotein kapsülü, tek bir embriyonik zar, ektoderm (trofoblast) ve bir iç hücre kütlesi (gelişmekte olan embriyonik disk) içeren erken bir blastosist olarak uterusu girmektedir (McCue, 2014). Yaklaşık 12. günde, ikinci bir embriyonik zar olan endoderm, blastosisti bir bilaminer (iki duvarlı) yolk kesesine dönüştürmektedir (10 ve 12. günler). Yaklaşık 14. günde, üçüncü bir embriyonik zar olan mezoderm, ektoderm ile endoderm arasındaki embriyonik diskten çıkarak iki duvarlı yolk kesesinin bir kısmını üç duvarlı (trilaminer) bir yolk kesesi haline almaktadır (14 ve 16. günler). Ektoderm ve mezodermin bölümleri sonunda embriyonik diski geçerek ve

birlikte erken embriyoyu kapsayan amniyotik keseyi oluşturmaktadır (18. gün). Allantoik kese, embriyonun kolon ve rektumunu içeren caudal sindirim kanalından ekzoselomun içine çıkar ve embriyonun altında ventral olarak hareket eder (22 ve 24. günler). Ektoderm ve mezodermin diğer kısımları koryona yol açacaktır (24. gün) ve nihai olarak, endometriyal kap oluşumu ve implantasyonda yer alan koriyo-allantoik plasenta oluşması beklenmektedir (29. gün) (Turner ve ark., 2006).

Bir embriyonik vezikül, 9. gün gibi erken bir tarihte tespit edilebilmekte; bununla birlikte, pratik amaçlar için, gebelik teşhisi genellikle daha büyük bir vezikül tespit etme olasılığının yüksek olduğu (%98-100) 12 ve 14. gün civarında yapılmaktadır. İkiz veziküller tespit edildiği durumlarda, ikizlik yönetimi için fikzasyondan (15 ve 16. günler) önce yeterince erken yapılır (McCue, 2014).

Erken dönem at konseptusu küreseldir, sıvı doludur ve ultrason ekranında anekoik bir görüntü oluşturur (10-14. günler). Blastosel veya yolk kesesi görüntüsünün dorsal ve ventral yönlerinde sıklıkla parlak ekoik bir nokta gözlenir. Bu görüntü nitelikleri aynasal yansımalar olarak adlandırılır ve embriyonik diskin görüntüsü değildir (12. gün) (McCue, 2014). Speküler ekolar, erken embriyonik vezikülün aranması sırasında yararlı bir yardımcı olabilir, ancak yine bazı intrauterin kistlerin özelliği olan speküler ekolardan ayırt edilmelidir. Bu bağlamda, bir vezikül intrauterin bir kistten kavramın hareketliliği ve büyümesi ile ayırt edilebilmektedir (Mari ve ark., 2004).

Yetiştiricilikte hedef yılda bir tay elde edilmesidir ve yarışlar göz önünde bulundurulduğunda bu tayın doğum sezonu başındaki Ocak veya Şubat aylarında doğması önem arz etmektedir. Aksi takdirde sezon sonu, Haziran ayı doğan taylar, sezon başında doğan taylar ile birlikte yarıştırmakta, buda geç doğan taylar için büyük dezavantaja neden olmaktadır (Yener ve ark., 2006). Bunun yanısıra aygırı daha etkin bir şekilde kullanarak, aşım maliyetlerini de düşürmek adına kısrağın minimum sayıda aşım ile gebe kalması da üstünde durulması gereken bir noktadır. Tekrarlanan aşımlarda uterusu yangı gibi çeşitli problemler ortaya çıkabilmekte bu da gebelik başarısını düşürebilmektedir. Bahsedilen tüm bu nedenlerden dolayı kısraklarda ilk

ovulasyonun takibi ile bu dönemde gebe kalmasını sağlamak, gelişen foliküller ile beraber ovulasyonun aşım zamanı uyarılması ile sonrasında oluşan yapıların yakın takibi sayesinde mümkün olmaktadır (Öcal, 2015).

Yardımcı üreme programlarının yaygınlaşmaya başlaması ile preovülatör folikül özelliklerinin oositin gebelik üretme kapasitesi üzerine etkisi birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. Transrektal Doppler ultrasonografi, çeşitli üreme mekanizmalarını incelemek amacıyla kısıraklarda kullanılmaya başlanmıştır (Acosta ve ark., 2004; Bollwein ve ark., 2002b; Silva ve Ginther, 2006). Yapılan çeşitli çalışmalarda, foliküler duvarın vaskülarizasyonu gebelik oranı ile pozitif olarak ilişkilendirilmektedir (Bhal ve ark., 2001; Borini ve ark., 2001; Chui ve ark., 1997; Siddiqui ve ark., 2009). Ayrıca kısıraklarda preovülatör folikül duvar vaskülarizasyonunun ovulasyondan 4 saat önce düşmeye başladığı da belirtilmektedir (Gastal ve ark., 2006a). Ayrıca preovülatör foliküle ait kan akışının gebe kalan kısıraklarda diğerlerine oranla daha yüksek olduğu da bildirilmiştir (Silva ve ark., 2006). Bunun yanı sıra korpus luteumun vaskülarizasyonu ile progesteron üretimi arasındaki pozitif korelasyon çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur (Bollwein ve ark., 2012a; Sales ve ark., 2021).

Tez çalışmasında kısıraklarda preovülatör folikülün çap ve vaskülarizasyonu ile aşım sonrası uygulanan deslorelin enjeksiyonu ile desteklenen ovulasyon sonrasında oluşan korpus hemorajikum ve korpus luteumun çap ile vaskülarizasyonunun B-mod ve renkli doppler ultrasonografi ile takip edilip gebeliğin belirlenmesindeki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda elde edilen veriler sayesinde 14. gün gebelik kontrollerine kadar geçen sürenin maliyet ve iş gücü açısından daha verimli kullanılabilmesi hedeflenmektedir. Bununla birlikte kısırak ve aygır açısından gereksiz ilaç ve performans harcamalarının önüne geçilmesi de çalışmanın hedefleri arasındadır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Tez çalışmasında, Türkiye Jokey Kulübü Mahmudiye Pansiyon Harada bulunan daimi statüsündeki 40 baş Safkan Arap Atı kısrağı ve 1 baş Safkan Arap Atı aygırı kullanılmıştır. Çalışma prosedürü, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylanmıştır (Etik Kurul Onayı Karar Sayısı: 807, Karar Tarihi: 09/10/2020). Etik kurul onayı ekte sunulmuştur.

Çalışma için elde edilen verilerin toplanması için Türkiye Jokey Kulübü Mahmudiye Pansiyon Harada bulunan alet ve ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Hayvanların Seçilmesi, Bakım ve Beslenmesi

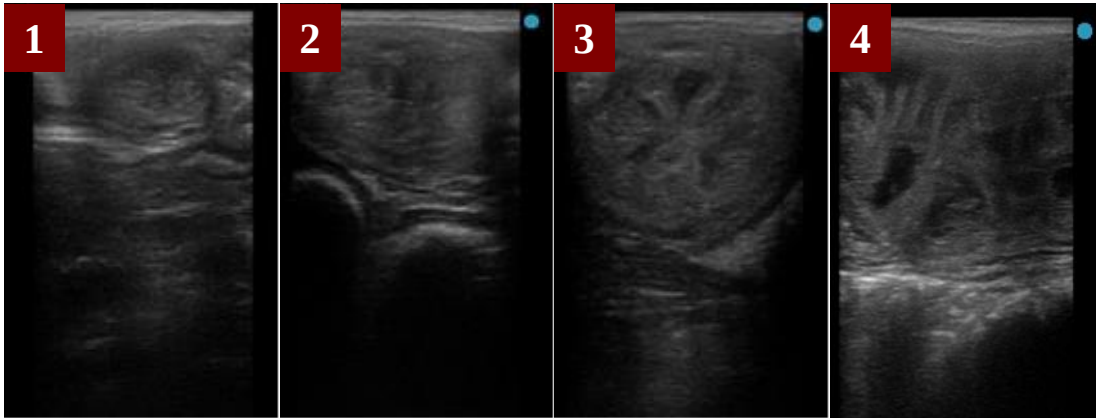
Çalışma için kullanılan safkan Arap atı kısrakları 5-17 yaş arasında ve son 3 yıl içerisinde en az 1 canlı tay doğumu yapmıştır. Seçim için kriter olarak tüm kısrakların daha önceki yıllarda aşım yapmış ve fertilitesi kanıtlanmış olan tek aygıra müracaat etmiş olmaları göz önünde bulundurulmuştur. Çalışmadaki kısrakların siklik aktiviteleri takip edilerek ilgili ölçümler sezon içi ilk sikluslarında gerçekleştirilmiştir. Aşımlarda kullanılan safkan Arap atı aygırı 17 yaşında olup son 3 yıla ait gebelik başarısı sırasıyla %95,65, %85,71 ve %97,96 olarak belirlenmiştir.

Seçilen kısraklar ve aygır haranın daimi statüsünde olduğu için bakım ve beslemeleri Türkiye Jokey Kulübü tarafından karşılanmıştır. Kısraklar öğünlere bölünmüş olarak konsantre yem, kuru ot ve yoncayla beslenmişlerdir.

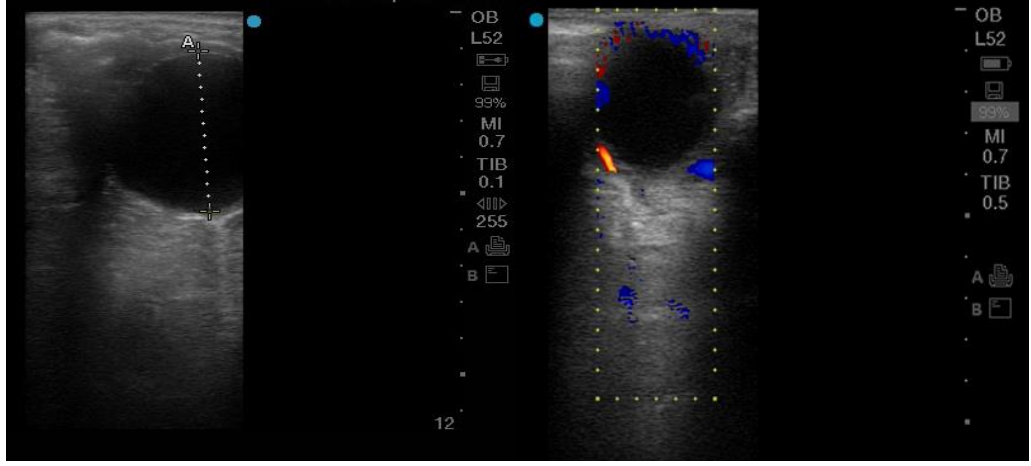
Aygıra verilen yemin (Dodson & Horrell, İngiltere) kompozisyonu ise %20 Nişasta, %15 Ham protein, %10 Lif, %9,2 Ham kül, %6,5 Şeker, %5,5 ham yağ, 9 g/kg Lizin, 2,5 g/kg Metiyonin, çeşitli vitaminler ile makro ve mikro mineraller içermektedir.

2.2.2. Preovulatör Folikülün Ultrasonografik Görüntülenmesi

Aşım sezonun başlamasıyla beraber kısıraklara, TJK'ya ait ultrason cihazıyla (Sonosite II, Fujifilm, Japonya) rutin ultrasonografik rektal muayeneler yapılmıştır. Uygulanan rutin ultrasonografik muayeneler sonucunda, 40 mm ve üzeri çapta foliküle sahip olan, uterus ödemi (Şekil 2.1) ile serviks ödemi ve servikal çapı arttığı tespit edilen kısırakların aşım için hazır olduğu kararı verilmiştir (Ginther ve ark., 2008a; Samper, 2010). Bu kısıraklarda preovulatör foliküllerin çap ölçümü için B-modda vaskülarizasyon değerlendirmesi için renkli doppler modunda görüntüleri kayıt altına alınmıştır (Şekil 2.2). Bu görüntüler ultrason cihazının standart ayarları ile kaydedilmiştir (Ginther, 2007a). Folikül çapı foliküle ait antrumun maksimum olduğu görüntü üzerinden birbirine en uzak olan noktalar arasındaki mesafe ölçülerek hesaplanmıştır.



Şekil 2.1. Uterus ödemeine ait değerlendirme.



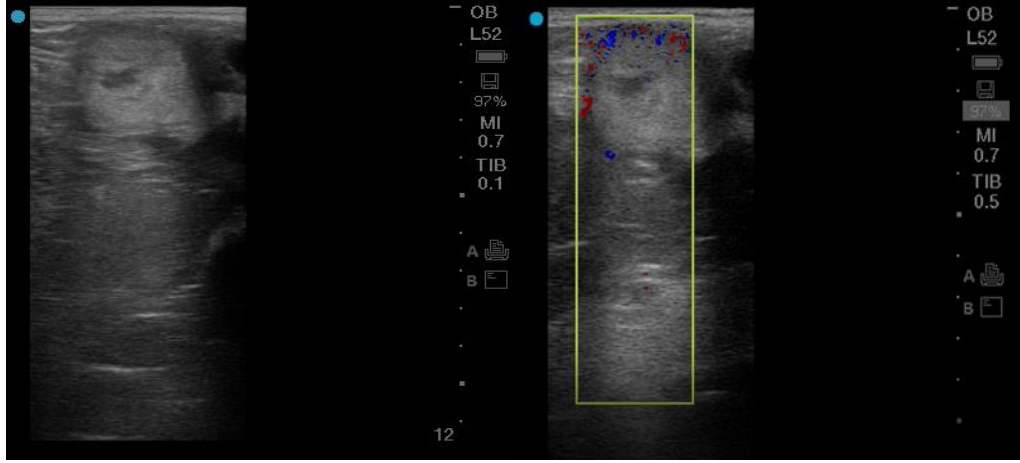
Şekil 2.2. Preovulatör folikülün B-mod ve renkli doppler ultrasonografisi.

2.2.3. Aşım ve Aşım Sonrası Deslorelin Uygulaması

Kısıraklarda preovulatör folikül görüntülenmesinin ardından 24 saat içinde aşım gerçekleştirilmiştir. Ayrıca aşımı takiben kısıraklara kas içi 1 ml (1,25 mg) deslorelin asetat (BioRelease® Deslorelin) enjeksiyonu, aşım ve ovulasyon arasındaki kısaltmak amacıyla uygulanmıştır.

2.2.4. Korpus Hemorajikumun Ultrasonografik Görüntülenmesi

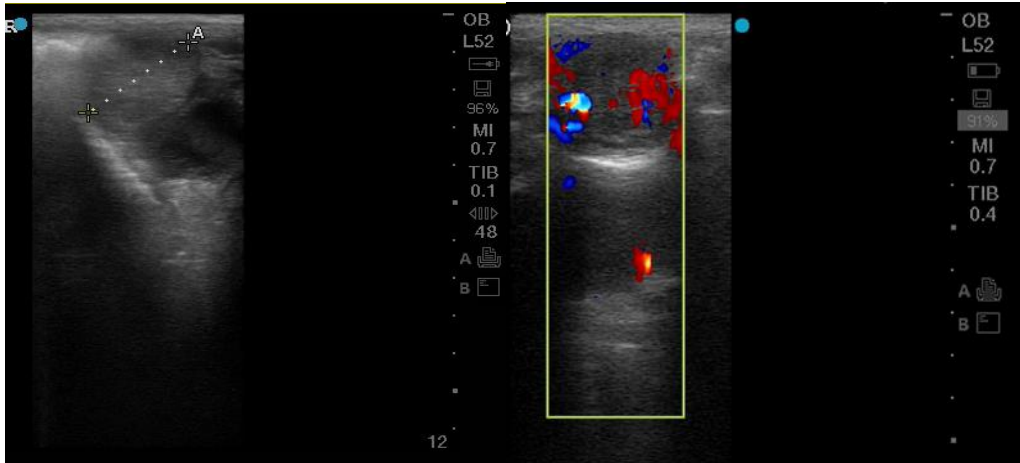
Preovulatör folikülün görüntülenmesi sonrası 24 saat içinde kısıraklara ovulasyonun ve oluşan korpus hemorajikumun tespiti için ultrasonografik rektal muayeneler yapılmıştır. Preovulatör folikülün ovule olmadığı durumda foliküle ait ultrasonografik değerlendirmeler tekrarlanarak güncellenmiş ve takip eden 24 saat içinde korpus hemorajikumun görüntülenmesi amacıyla ultrasonografik muayeneler yinelenmiştir. İlgili muayeneler sırasından tespit edilen korpus hemorajikumların hem çap ölçümü için B-modda hem de vaskülarizasyon değerlendirmesi için renkli doppler modunda görüntüleri (Şekil 2.3), ultrason cihazının standart ayarları ile kayıt altına alınmıştır (Kähn ve Volkmann, 2004).



Şekil 2.3. Korpus hemorajikumun B-mod ve renkli doppler ultrasonografisi.

2.2.5. Korpus Luteumun Ultrasonografik Görüntülenmesi

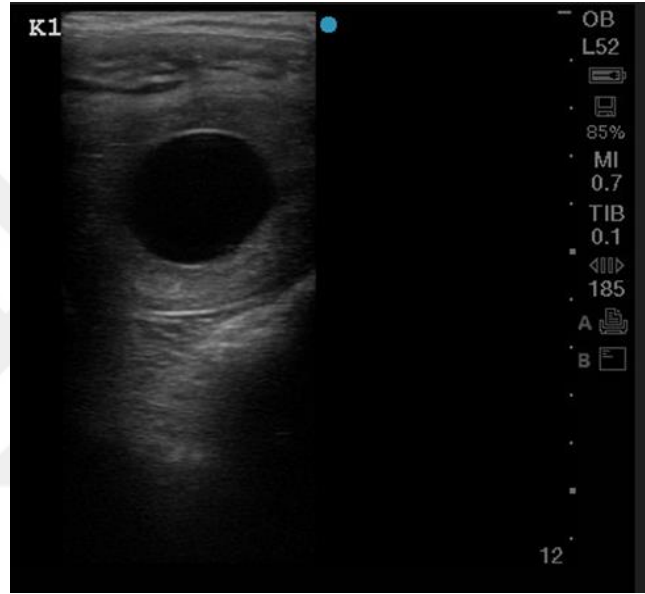
Çalışmada ovulasyon ve korpus hemorajikum tespitini takip eden 7. günde korpus luteuma ait görüntüler (Şekil 2.4), ultrason cihazının standart ayarları ile alınmıştır. Çap ölçümleri B-modda, vaskülarizasyon değerlendirmesi için renkli doppler modunda kayıtlar alınmıştır (Ferreira ve ark., 2020).



Şekil 2.4. Korpus luteumun B-mod ve renkli doppler ultrasonografisi.

2.2.6. Gebelik Kontrolü

Çalışmada kullanılan kısırakların gebelik kontrolleri ovulasyon sonrası 14. günde kısırakların ultrasonografik rektal muayenesi ile değerlendirilmiştir (Şekil 2.5). Yapılan muayenelerinde embriyo görülemeyen kısıraklar ovulasyon sonrası 16. gün tekrar muayene edilerek gebelik durumları kaydedilmiştir. Ayrıca gebelik durumları kısırakların yaşlarına göre de değerlendirilmiştir.

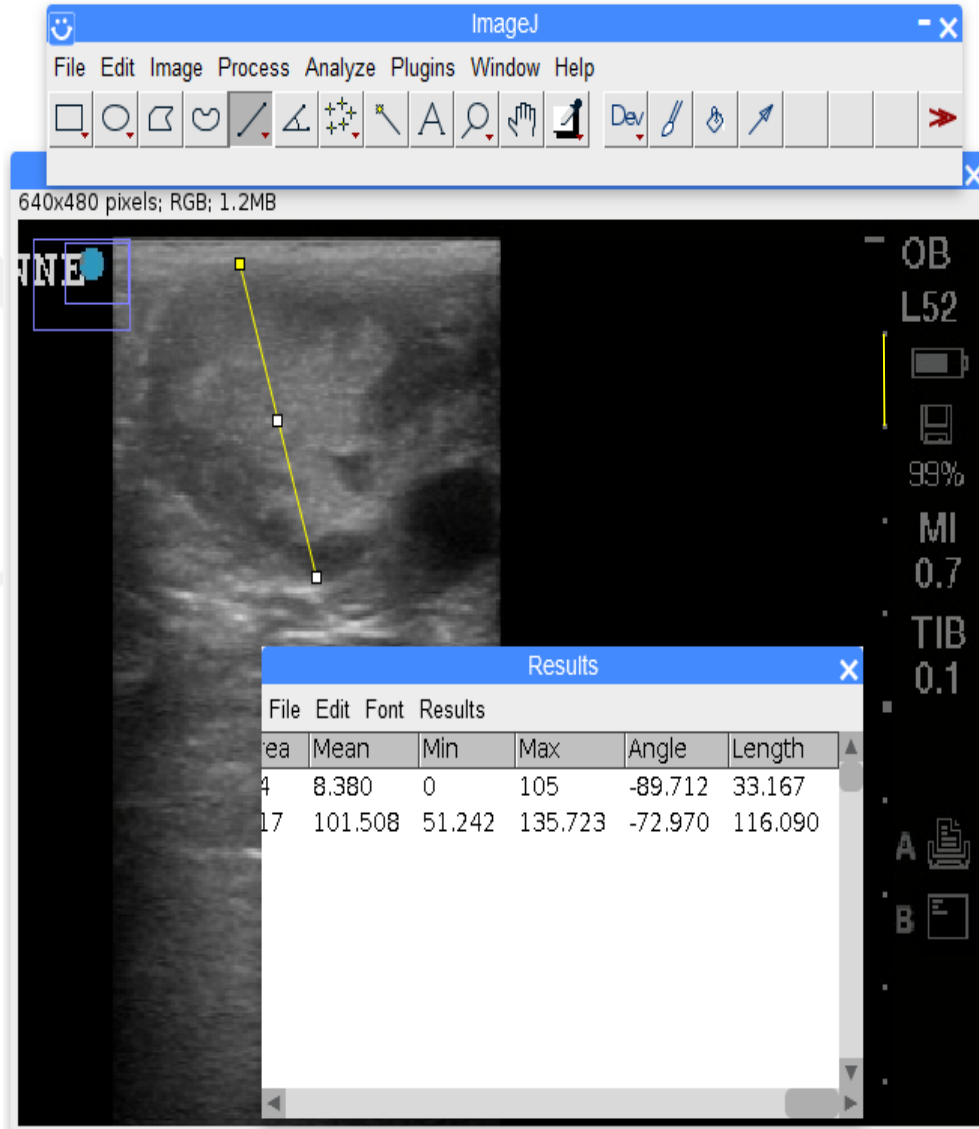


Şekil 2.5. Kısıraklarda 14.gün ultrasonografik gebelik muayenesi.

2.2.7. Alınan Görüntülerin ImageJ Programıyla Değerlendirilmesi

B-mod ile kaydedilen preovulatör folikül, korpus hemorajikum ve korpus luteuma ait ultrasonografik görüntüler, Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Optik ve Hesaplamalı Enstrümantasyon Laboratuvarı'nda (LOCI, Wisconsin Üniversitesi) geliştirilen Java tabanlı bir görüntü işleme programı olan ImageJ ile değerlendirilmiştir (Şekil 2.6).

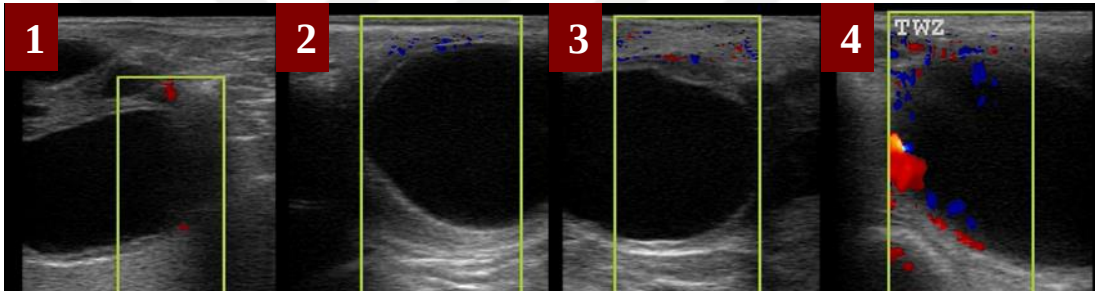
Bu yöntemin çalışma prensibine uygun olarak öncelikle ultrasonografik görüntülerdeki uzunluğu bilinen ölçeklerin piksel sayısı tespit edilmiştir. Daha sonra preovulator folikül, korpus hemorajikum veya korpus luteumun çapının piksel sayısı tespit edilmiştir. Uzunluğu bilinen piksel sayısı ile yapıların çaplarına ait piksel sayıları oranlanarak çap uzunlukları hesaplanmıştır.



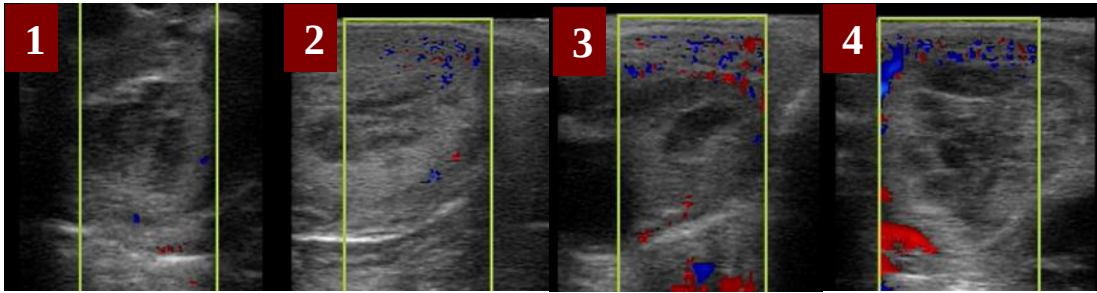
Şekil 2.6. Korpus hemorajikum çapının hesaplaması.

2.2.8. Renkli Doppler Görüntülerinin Değerlendirilmesi

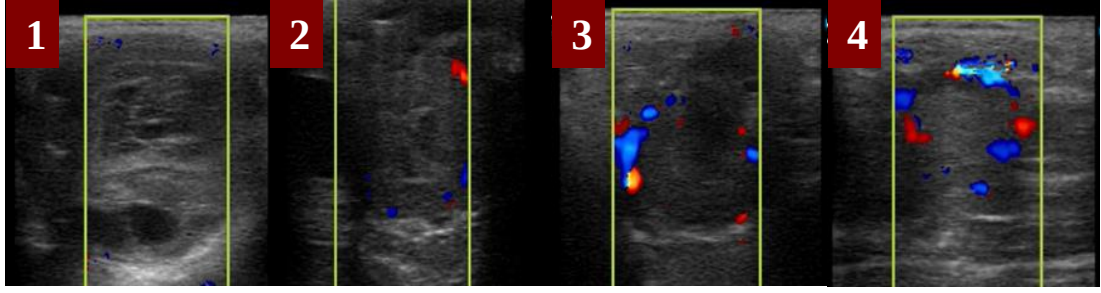
Çalışmada alınan renkli doppler görüntülerinin değerlendirilmesinde skorelama sistemi kullanılmıştır. Renkli doppler görüntülerin skorlanması preovulator folikül duvarı (Şekil 2.7), korpus hemorajikum çeperi (Şekil 2.8) ve korpus luteum (Şekil 2.9) için yapılmıştır. Bu sistemde her yapı için kendi içinde, 1 ile 4 arasında bir skorelama yapılmıştır (Ginther, 2007). Bu skorlamada 1 en düşük vazkularizasyonu ifade ederken renkli piksel alanlarının ilgili yapının toplam alanına göre oranı %1-25 arasında gözlemlenmesi dikkate alınmıştır. Benzer şekilde, skorlamada 2 ve 3 dereceleri oranın %26-50 ve %51-75 aralığını ifade ederken en yüksek vazkularizasyon %76-100 oranı ile 4 olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 2.7. Preovulator folikülün vaskularizasyon skalası.



Şekil 2.8. Korpus hemorajikumun vaskularizasyon skalası.



Şekil 2.9. Korpus luteumun vaskülarizasyon skalası.

2.2.9. İstatistiksel Değerlendirme

Önemlilik testlerine geçilmeden önce değişkenlere parametrik test varsayımlarından normallik için Shapiro Wilk testi, varyansların homojenliği için Levene testi uygulandı. Tüm değişkenler için tanımlayıcı istatistikler hesaplandı ve "Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata" şeklinde gösterildi. Gebelik durumuna göre atların yaşlarının karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirildi. Folikül çapı ve vaskülarizasyon değişkenlerinin gebelik durumu ve ilgili dönemdeki ovaryum üzerindeki yapıya göre değerlendirilmesi için iki yönlü karma ANOVA kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılığın bulunduğu durumlar için Bonferroni düzeltmeli basit etki analizinden yararlanıldı. Folikül çapı ve vaskülarizasyon değişkenleri kullanılarak gebelik durumunun tanımlanması için ROC analizi kullanıldı. Her bir dönemdeki ilgili yapıya ait kesim noktaları (cut-off) ve her bir değişkene ait eğri altında kalan değerleri (AUC) belirlendi. Ayrıca, duyarlılık, özgüllük ve bunların güven aralıkları hesaplandı. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 23.0 ve MedCalc 9.2 istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiş olup, anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ alınarak değerlendirildi.

3. BULGULAR

Tez çalışmasında aşım için hazır olduğu düşünülen ve 40 mm ve üzeri çapta foliküle sahip olan 40 adet Safkan Arap kısırağının uterus ödem skoru 2 ve 4 aralığında, ortalama $3,4 \pm 0,54$ olarak tespit edilmiştir.

Çalışma materyalini oluşturan kısırakların ilk ovulasyonu öncesi incelenen preovulatör folikül çapları ortalama $48,0 \pm 3,75$ mm olmak üzere 42,2 ila 56,7 mm aralığında belirlenmiştir. Tüm kısırakların ovulasyondan sonra gözlemlenen korpus hemorajikuma ait çap değerleri 22,5 ila 53,2 mm arasında değişim göstererek ortalama $35,6 \pm 7,12$ mm olarak tespit edilmiştir. Ovulasyondan 7 gün sonra ölçülen korpus luteum çapları ise 18,6 ila 44,5 mm aralığında, ortalama $27,0 \pm 5,30$ mm olarak hesaplanmıştır.

Kısırakların ovaryumu üzerindeki döneme ait gözlemlenen yapıların renkli doppler ultrasonografi ile vaskülarizasyon değerlendirmesinde renkli piksel alanlarının yapının toplam alanına olan yüzdesi baz alınarak, her yapı için kendi içinde 1 ila 4 arası skalaya göre belirlenerek, preovulatör foliküle ait vaskülarizasyonlar 3 ve 4 derece olarak gözlemlenmiş ve tüm kısırakların ortalaması 3,5 olarak hesaplanmıştır. Korpus hemorajikum incelendiğinde ise korpus luteumun vaskülarizasyonuna benzer şekilde 2 ve 4 arasında değerler ile ortalamaları sırasıyla 3,4 ve 3,6 olarak hesaplanmıştır.

3.1. Preovulatör Foliküle Ait Bulgular

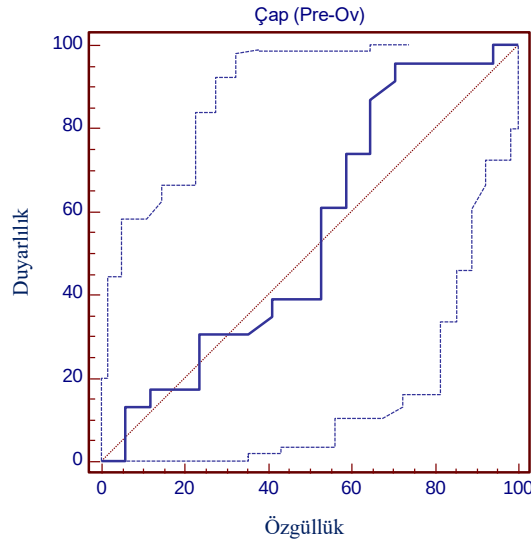
Aşım kararı verilmeden önce preovulatör foliküle ait B-mod ve renkli doppler modunda alınan ultrasonografik görüntülerin çap ve vaskülarizasyonlarına ait değerlerin gebelik durumu açısından belirleyiciliği Çizelge 3.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Preovulatör foliküle (PF) ait çap ve vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği.

Parametre	Kesim Noktası	Duyarlılık (%)	Duyarlılık %95 GA	Özgüllük (%)	Özgüllük %95 GA	EAA	p	
PF	Çap (mm)	≤51,3	95,65	78,0 - 99,3	29,41	10,4 - 55,9	0,545	0,632
	VS	>3	60,87	38,6 - 80,3	52,94	27,9 - 77,0	0,581	0,377

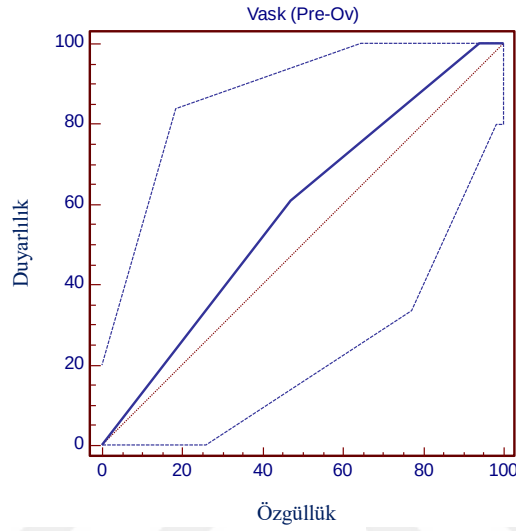
PF: Preovulatör folikül, VS: Vaskülarizasyon, EAA: Eğri altında kalan alan.

Preovulatör foliküle ait çap değerleri incelendiğinde kesim noktası ≤51,3 mm olarak tespit edilmiştir. Değerlendirme sonucunda preovulatör folikül çapının gebelik üzerindeki belirleyiciliği anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Preovulatör foliküle (PF) ait çapın gebelik açısından belirleyiciliği.

Renkli doppler ultrasonografiyle alınan preovulatör foliküle ait vaskülarizasyon görüntüleri tetkik edildiğinde kesim noktası >3 olarak belirlenmiştir. Yapılan tetkik sonucunda preovulatör foliküle ait vaskülarizasyonun gebelik üzerindeki belirleyiciliği anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Preovulatör foliküle (PF) ait vaskülarizasyon gebelik açısından belirleyiciliği.

3.2. Korpus Hemorajikuma Ait Bulgular

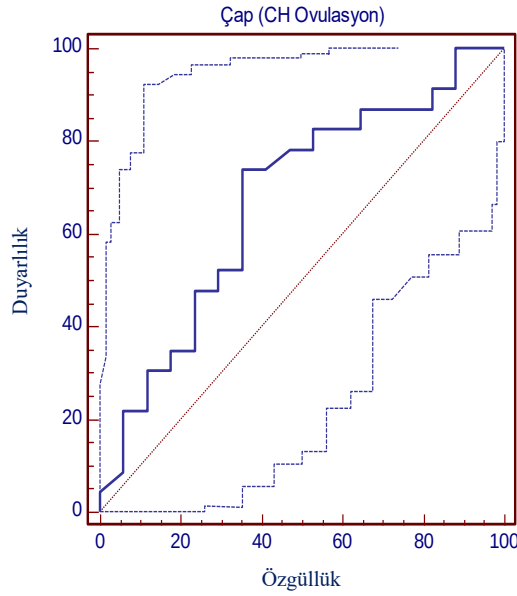
Ovulasyon sonrası oluşan korpus hemorajikunun tespiti ve değerlendirilmesi için aşım sonrası 24 ve 48. saatlerde rektal ultrasonografik muayeneler yapılmıştır. Ovulasyonlar her kısrakta tek bir folikülden meydana gelmiş ve kısraklarda tespit edilen korpus hemorajikumlara ait B-mod ve renkli doppler modunda alınan ultrasonografik görüntüler değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonrasında elde edilen değerlerin gebelik durumu üzerindeki belirleyiciliği ise Çizelge 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Korus hemorajikuma (KH) ait çap ve vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği.

Parametre	Kesim Noktası	Duyarlılık (%)	Duyarlılık %95 GA	Özgüllük (%)	Özgüllük %95 GA	EAA	p
Çap (mm)	≤36,7	73,91	51,6 - 89,7	64,71	38,4 - 85,7	0,670	0,049
KH							
VS	>2	91,3	71,9 - 98,7	23,53	7,0 - 49,9	0,559	0,523

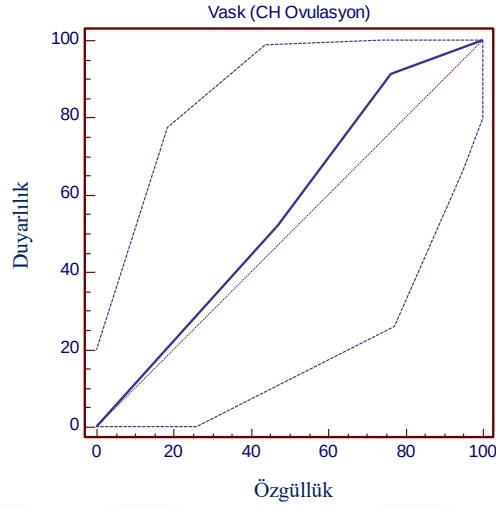
KH: Korus hemorajikum, VS: Vaskülarizasyon, EAA: Eğri altında kalan alan

B-mod ultrasonografiyle alınan korus hemorajikuma ait görüntülerin, ImageJ programıyla ölçümü yapıp elde edilen çap verileri incelendiğinde kesim noktası ≤36,7 mm olarak tespit edilmiştir. Kesim noktasına bağlı değerlendirme sonucunda korus hemorajikum çapının, gebelik durumunun ortaya konulmasında %73,9 duyarlılık ve % 64,7 özgüllük ile etkinlik sağladığı görülmüştür (p<0,05) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Korus hemorajikuma (KH) ait çapın gebelik açısından belirleyiciliği.

Korpus hemorajikuma ait renkli doppler ultrasonografik görüntüleri vaskülarizasyon yönünden analiz edilmiş ve skortlama yapılmıştır. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde kesim noktası >2 olarak tespit edilmiş ancak korpus hemorajikumun vaskülarizasyonun gebelik üzerine belirleyiciliği anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Korpus hemorajikuma (KH) ait vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği.

3.3. Korpus Luteuma Ait bulgular

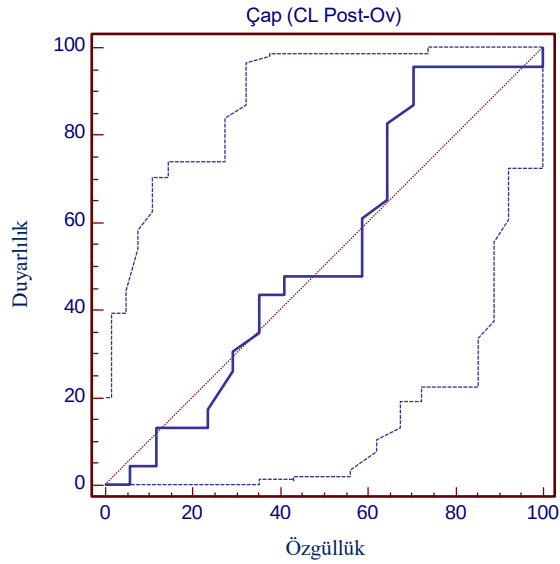
Ovulasyon tespitini takip eden 7. günde yapılan rektal ultrasonografik muayenelerde korpus luteuma ait B-mod ve renkli doppler modda görüntüler alınmıştır. Korpus luteuma ait bu ultrasonografik görüntüler değerlendirilmiş ve elde edilen değerlerin gebelik durumu açısından belirleyiciliği Çizelge 3.3' de sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Korpus luteuma (KL) ait çap ve vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği.

Parametre	Kesim Noktası	Duyarlılık (%)	Duyarlılık %95 GA	Özgüllük (%)	Özgüllük %95 GA	EAA	p	
KL	Çap (mm)	>22	95,65	78,0 - 99,3	29,41	10,4 - 55,9	0,528	0,762
	VS	>3	78,26	56,3 - 92,5	64,71	38,4 - 85,7	0,721	0,006

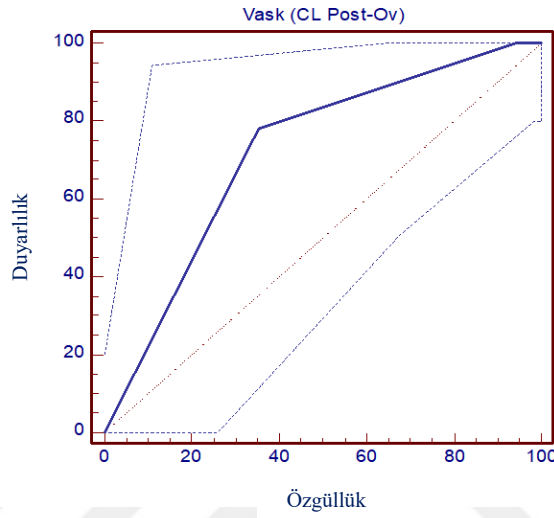
KL: Korpus Luteum, VS: Vaskülarizasyon, EAA: Eğri altında kalan alan.

Korpus luteuma ait B-mod ultrasonografik görüntülerin ImageJ programıyla ölçümleri yapılarak çap uzunlukları belirlenmiştir. Bu veriler incelendiğinde kesim noktası >22 mm bulunmuştur. Kesim noktasına bağlı gerçekleştirilen değerlendirme sonucunda korpus luteum çapının gebelik üzerinde belirleyiciliği anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Korpus luteuma (KL) ait çapın gebelik açısından belirleyiciliği.

Ovulasyon sonrası 7. günde alınan, korpus luteumun renkli doppler ultrasonografik görüntüleri vaskülarizasyon yönünden incelenmiş ve skorelama yapılmıştır. İnceleme sonuçları değerlendirildiğinde kesim noktası >3 olarak tespit edilmiştir. Kesim noktasına bağlı değerlendirmede ise korpus luteumun vaskülarizasyonunun gebelik durumunun ortaya konulmasında %78,3 duyarlılık ve %64,7 özgüllük ile etkinlik sağladığı görülmüştür ($p<0,05$) (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Korpus luteuma (KL) ait vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği.

3.4. Gebelik Bulguları

İlk ovulasyonu takip eden aşım sonrası 14. günde yapılan gebelik kontrollerinde %57,5 oranında gebelik başarısı elde edilmiş, sezonun devamında takip eden ovulasyonlar ile birlikte gebe kalma oranı %89,68 oranına ulaşmıştır. İlk ovulasyonlar 24 adet kısrakta tay kızgınlığına denk gelmiş ancak yapılan muayenelerde uterus henüz involusyonunu tamamlamamış olarak belirlendiği için aşımlar devamındaki östrusta gerçekleştirilmiştir.

5 ila 17 yaş aralığında bulunan bu kısırakların yaşlarının gebelik durumlarına göre değerlendirilmesi Çizelge 3.4’de belirtilmiştir. İlk ovulasyonunda gebe kalan kısırakların yaş ortalaması $8,52 \pm 3,07$ bulunurken gebe kalmayan kısırakların yaş ortalaması benzer şekilde $8,47 \pm 3,24$ olarak belirlenmiştir ($p=0,960$).

Çizelge 3.4. Kısırak yaşlarının gebelik durumuna göre değerlendirilmesi.

Parametre	Grup	N	Arit. Ort.	Std. Sapma	Std. Hata	p
Yaş	Boş	17	8,47	3,24	0,79	0,960
	Gebe	23	8,52	3,07	0,64	

Kısıraklarda ovulasyondan önce tespit edilen preovulatör folikül, ovulasyonun ardından oluşan korpus hemorajikum ve ovulasyondan 7 gün sonra olgunlaşmış, aktif korpus luteumun çap ölçümleri, kısırakların gebelik durumuna göre değerlendirildiğinde benzer değerler elde edilmiş, gebe ve boş kısırakların ortalama preovulatör folikül çapı $48,06 \pm 0,86$ mm olarak belirlenirken, korpus hemorajikum $35,88 \pm 0,86$ mm ile daha küçük bir çapta, korpus luteum ise daha kompakt olarak $27,00 \pm 0,86$ mm çap ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmuştur ($p<0,001$) (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Kısırlarlarda preovulatör folikül, korpus hemorajik ve korpus luteum çapı ile vaskülarizasyonun gebelik durumu ve döneme göre değerdendirilmesi.

Parametre	Gebelik	Dönem			Ortalama	p		
		PF	KH	KL		Gebelik	Dönem	Gebelik*Dönem
Çap (mm)	Boş	48,59 ±1,30	37,88 ±1,30	27,08 ±1,30	37,85 ±0,85			
	Gebe	47,52 ±1,12	33,88 ±1,12	26,92 ±1,12	36,10 ±0,73	0,129	<0,001	0,210
	Ortalama	48,06 ±0,86 ^a	35,88 ±0,86 ^b	27,00 ±0,86 ^c				
VS	Boş	3,41 ±0,14	3,24 ±0,14	3,29 ±0,14	3,31 ±0,09 ^B			
	Gebe	3,61 ±0,12	3,44 ±0,12	3,78 ±0,12	3,61 ±0,08 ^A	0,022	0,207	0,400
	Ortalama	3,51 ±0,09	3,34 ±0,09	3,54 ±0,09				

PF: Preovulatör folikül, KH: Korpus hemorajikum, KL: Korpus Luteum, VS: Vaskülarizasyon.

Renkli doppler ultrasonografi ile ovaryum üzerindeki bulunan yapıların vaskülarizasyonu değerdendirildiğinde, yapılan skorlamaların ortalamasında preovulatör folikül, korpus hemorajikum veya korpus luteum için gebelik durumuna göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Ancak tüm yapıların vaskülarizasyon ortalamaları dikkate alındığında gebe hayvanlarda vaskülarizasyon skoru ortalamasının boş hayvanlara göre daha yüksek olduğuna dair istatistiksel olarak anlamlı bir fark göze çarpmıştır (p=0,022) (Çizelge 3.5).

4. TARTIŞMA

Kısıraklarda ovulasyon zamanının belirlenmesi, özellikle yoğun bir aşım programına sahip aygırların kullanılması gerektiğinde, gebelik oranlarını maksimum düzeye çıkarmak için zorunlu bir uygulamadır (Samper, 1997). Bu amaçla folikül çapı rehber olarak kullanılmakta ancak bireysel hatta aynı bireyin farklı sikluslarında gözlemlenen çap ölçümlerinde büyük değişkenlikler olabilmektedir. Benzer şekilde uterus ödemi karakteristiği, ödem yoğunluğunun ovulasyon yaklaştıkça dağılması sebebiyle en uygun çiftleştirme zamanının belirlenmesinde faydalı olabilmekle birlikte, her kısırakta aynı şekilde gözlemlenemeyebilmektedir (Cuervo-Arango ve Newcombe, 2008). Ovulasyonun çeşitli ajanlar kullanılarak indüksiyonu klinik açıdan bu yönde bir avantaj sağlamaktadır. Örneğin, güçlü bir sentetik GnRH analogu olan Desrolerin asetat uygulanmasından sonra 48 saat içinde folikülün ovule olması beklenmektedir (Pinto, 2013). Veteriner hekimlerin bir kısırağın optimal aşım zamanını belirlemesi ultrasonografi ile uterus ödem karakteristiğinin takibi, bununla birlikte foliküllerin muayenesi ve devamında ovulasyon indükleyen ajanların kullanılması aracılığıyla sağlanabilmektedir (Samper, 1997). Bu bilgiler doğrultusunda, ilgili tez çalışmasında aşım kararı folikül çapının 40 mm ve üzeri olduğu durumlarda, uterus ödemi ile serviks ödemi ve servikal çapı arttığı tespit edilen kısıraklar için verilmiş, aşım sonrası ise desrolerin enjeksiyonu ile folikülün ovulasyonu indüklenmiştir.

Bunun yanısıra, preovulatör folikül çapının ovulasyondan 24 saat önce 34 – 70 mm arasında değişebildiği, bunun ise sezondaki zamana, ırka ve bireysel faktörlerden kaynaklanabildiği bildirilmektedir (Ginther, 1995). Yapılan bir araştırmada ovulatör folikülün ovulasyondan 4 gün önce, veya preovulatör dönemde, günlük yaklaşık 3 mm genişleyerek 35 mm'ye ulaştığı, ovulasyona 2 gün kalana kadar büyümenin aynı hızda devam ettiği, 2 gün kala ise yaklaşık 41 mm ile büyümenin plato seviyesine ulaştığı ortaya konulmuştur (Ginther ve ark., 2008a). Preovulatör folikül çaplarının çiftleşme sezonu başlangıcında, sezonun ilerleyen dönemlerine kıyasla daha büyük çapta gözlemlendiği (Ginther ve Pierson, 1989) ancak, hCG ve desrolerin implantları gibi ovulasyonun indüksiyonunu sağlayan çeşitli ajanların, foliküler büyümeyi

uyarımdan sonra kesintiye uğratarak ovulasyonun daha küçük foliküllerden sağlanabildiğini bildirilmiştir (Cuervo-Arango ve Newcombe, 2008; Gastal ve ark., 2006c). Tez çalışmasında aşım kararı verilen kısırakların ilk ovulasyonu öncesi incelenen preovulatör folikül çapları ortalama $48,0 \pm 3,75$ mm olmak üzere 42,2 ila 56,7 mm aralığında belirlenmiştir. İlgili tez çalışmasındaki preovulatör foliküle ait çap değerleri Ginther ve ark. (1995), tarafından belirtilen değer aralığı içinde bulunmuştur. Ginther ve ark. (2008a), tarafından bulunan plato değerinden yüksek bulunmasının nedeni olarak ise tez çalışmasında kısırakların ilk ovulasyonun takip edilmesi ve bu dönemdeki folikül boyutunun sezonun ilerleyen dönemlerine kıyasla daha büyük olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Kısıraklarda uterus endometriyumunun ultrasonografik görüntüsü östrus başlangıcı ve ovulasyon arası geçen dönemde spesifik bir karakteristiğe sahiptir. Kısıraklarda östrojen etkisi altındaki uterusu belirgin bir ödem tablosu ile endometriyal kıvrımlar oluşmakta ve ultrasonografik görünümü ekojenik ve hipoekojenik alanların birleşimi nedeniyle “araba tekerleğine” benzetilmektedir. Kısırağın ovulasyonunun yaklaşması ile birlikte bu ödem daha az belirgin hale gelmekte, ovulasyon ile birlikte reproduktif kanal progesteron etkisi altında geçtiğinde ise ödem ortadan kaybolmaktadır (Pelehach ve ark., 2000; Samper, 1997). Tez çalışmasında kısıraklara ait aşım kararı amacıyla değerlendirilen uterus ödemi skorları 2 ila 4 aralığında, ortalama $3,4 \pm 0,54$ olarak tespit edilmiştir. Pelehach ve ark. (2000), ile Samper ve ark. (1997), tarafından da bildirildiği üzere uterus ödemi skorundaki varyasyonların kısırakların bireysel olarak farklı steroid konsantrasyonlarına sahip olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Foliküler çapın ovulasyon ve fertilite ile ilişkili olduğu bilinmekte, dolayısıyla preovulatör folikül çapının takibi ile ovulasyonun tahmini ve böylece aşımın en uygun zamanda gerçekleştirilmesi sağlanabilmektedir (Ginther ve ark., 2008a). Sezon içi östrusun GnRH kullanılarak indüklendiği güncel bir araştırmada 43 kısırağın östrusta ölçülen folikül çapı 36 mm ve üzerinde iken %86 güven aralığı ile, ve tohumlama günü folikül çapı 38 mm ve üzerinde bulunan kısırakların %94 güven aralığı ile gebe

kalacağının belirlenebildiği bildirilmiştir (Romero-Márquez ve ark., 2022). Ancak, ovulasyonun hCG ile uyarıldığı bir başka çalışmada ise, 168 kısırağın 249 östrus periyodu takip edilmiş, hCG uygulaması sırasındaki folikül çapı 30-35 mm, 35-39 mm ile 40 mm üzeri üç gruba ayrıldığında, gebe kalma oranlarının folikül boyutundan etkilenmediği (küçük 45,9%; orta 41,6%; büyük 47,5%) gözlemlenmiştir (Bollwein ve Braun, 1999). Araştırmalar, preovulatör folikülün 35-40 mm arasında çapa ulaşmasının ovulasyon için yeterli olduğunu bildirmektedir (Donadeu ve Pedersen, 2008; Ginther ve ark., 2008a). Tez çalışmasında kısıraklarda preovulatör foliküle ait çapın gebelik üzerindeki belirleyiciliği incelenmiş ve yapılan analiz sonucunda çap için kesim noktası $\leq 51,3$ mm olarak belirlenmiş ancak bu değerin gebelik için belirleyiciliği istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu veriler ışığında aşım kararı için kısırakların en az 40 mm ve üzeri foliküle sahip olması kriter alındığı için 40 mm çapından daha düşük ölçülen foliküllere gelişimi için zaman tanınarak değerlendirmeye alınamamıştır. Bu nedenle farklı senkronizasyon programları kullanılarak dizayn edilen diğer araştırmalarla (Bollwein ve Braun, 1999; Romero-Márquez ve ark., 2022) kıyaslandığında 30-40 mm arası belirlenen daha küçük çap değerlerinin gebeliğin belirlenmesi üzerine olan etkisi değerlendirilememiş, analiz sonucu 51,3 mm olarak bulunan kesim değeri ise gebeliğin belirlenmesinde istatistiksel açıdan bir anlam ifade etmemiştir. Literatürdeki preovulatör folikül boyutlarından daha yüksek bir çap ortalaması eldesinin nedeninin, değerlendirilen farklı ırklardan, değerlendirmelerin sezonun farklı dönemlerinde gerçekleştirilmesinden ve bakım besleme koşulları ile çevresel etkenlerin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Ultrasonografi, kısırak preovulatör folikülünün değerlendirilmesine güçlü bir boyut kazandırmıştır. B-modu ve renkli Doppler özellikli yüksek çözünürlüklü ultrasonografik makineler son zamanlarda preovulatör folikül özellikleriyle ilgili çalışmalarda farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Gastal ve ark., 2006a; Gastal ve ark., 2007; Ginther ve ark., 2007b; Siddiqui ve ark., 2009; Silva ve ark., 2006). Bu teknolojiler, bir folikül ve oositin durumu ve gelecekteki başarısı hakkında klinik açıdan bilgi sahibi olunmasını sağlamaktadır.

Son zamanlarda, transrektal Doppler ultrasonografi, büyük çiftlik hayvanlarında klinik çalışmalarda giderek daha fazla kullanılmaktadır (Ginther ve Utt, 2004; Herzog ve Bollwein, 2007; Miyamoto ve ark., 2006). Renkli veya power Doppler ultrasonografi ile değerlendirilen yumurtalık ve foliküllerin vasküler perfüzyon derecesi, ovaryum ve folikül hemodinamiğinin araştırılması ve klinik çalışmaları için ve atlarda, sığırlarda ve insanlarda fertilitiyi tahmin etmek için potansiyel yeni bir teknoloji olarak kullanılmıştır. Folikül olgunlaşmasının son aşamasında LH'deki hızlı artışla birlikte artan folikül kan akışı, mayozun yeniden başlaması ve oosit olgunlaşmasının tamamlanması ile ilişkilendirilmiştir. Kadınlar, kısıraklar ve düvelerde yapılan çalışmalarda preovulatör folikülün daha fazla damarlanması, daha büyük folikül çapı (kadınlar, kısıraklar ve düvelerde), oositlerin elde edilme oranı (kadınlar, kısıraklar ve düvelerde), olgun oositlerin elde edilme oranı (kısıraklarda), in vitro fertilizasyon oranı (kadınlar ve düvelerde), gebelik oranı (kadınlar, kısıraklar ve düvelerde) ve daha düşük triploidi insidansı (kadınlarda) ile ilişkili bulunmuştur (Bhal ve ark., 2001; Du ve ark., 2006; Ginther ve ark., 2007b; Shrestha ve ark., 2006; Siddiqui ve ark., 2009; Silva ve ark., 2006;). Ayrıca daha fazla kan akışına sahip olan foliküller, kadınlarda embriyo transferinden sonra daha iyi embriyolara ve daha fazla gebeliğe neden olmuştur (Chui ve ark., 1997; Shrestha ve ark., 2006).

Renkli doppler ultrason teknolojisi ile anovulatör ve ovulatör dominant folikülün ayrımı makul bir doğruluk ile yapılabilmektedir. Folikül 35 mm boyuta ulaştığında vaskülarize alan ovulatör foliküllerde 0,48-0,81 cm² aralığında yer alırken, anovulatör grupta 0,12-0,28 cm² aralığında kalmıştır (Acosta ve ark., 2004). Kısıraklarda hCG ile ovulasyonun uyarımından sonra geçen 30 saat içerisinde preovulatör foliküle ait çapın ve vaskülarizasyonun artışı daha yüksek gebelik oranları ile ilişkilendirilmiştir (Silva ve ark., 2006). Ginther ve ark. (2007b), hCG uygulamasından 30 saat sonra aspire edilen foliküllerin oosit maturasyonunu değerlendirmiş, oosit eldesi gerçekleştirilemeyen grupta oosit elde edilen gruplara göre folikül vaskülarizasyonunun daha iyi olduğunu, bununla birlikte matur oosit gruplarında immatür oositlere göre vazkularizasyonun daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yukarda belirtilen araştırmaların sonuçlarının çelişkili olması, araştırmacıların elde ettikleri folikül vaskülarizasyon değerlerinin oosit maturasyonuna bir etkisi olmadığı

sonucunu ortaya koymuştur. Preovulatör folikülün yetersiz kan akımının gebelik oranı veya oosit kalitesi üzerindeki zararlı etkileri ile ilişkilendirilen mekanizmalar henüz bilinmemektedir. Benzer şekilde, Arap kısıraklarında preovulatör folikül vaskülarizasyonu renkli doppler ultrasonografi ile değerlendirildiğinde ve renkli alanlar yazılım ile analiz edildiğinde gebe ve boş hayvanların değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir (Uçmak ve ark., 2020). Tez çalışmasında aşımından bir gün önce muayene edilen preovulatör folikül vaskülarizasyonun gebelik açısından belirleyiciliği değerlendirildiğinde vaskülarizasyon skoru için kesim noktası 3 üzeri olarak hesaplanmış, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Değerlendirilen vaskülarizasyon skorları 1 hayvan hariç 3 ile 4 arasında bulunmuş, gebe kalmayan bir hayvanda ise 2 olarak değerlendirilmiştir. Vasküler sistemin dokuya besleyici öğeler taşıması sebebiyle, oosit kalitesi ve kan akışı arasında benzer bir ilişki olduğu varsayılabilir (Silva ve ark., 2006). Folikül vaskülarizasyonları açısından anlamlı farklar elde eden çalışmalardan; Acosta ve ark. (2004), preovulatör ve anovulatör folikül arasındaki vaskülarizasyon farkını değerlendirmiş ($p<0,05$), Silva ve ark. (2006), gebelik açısından folikül muayenesini senkronizasyon sonrası sabit saatte gerçekleştirmiş ($p<0,01$), Ginther ve ark. (2007b), ise folikül vaskülarizasyonunu oosit matürasyonu açısından değerlendirmiş ($p=0,08$). Bununla birlikte aynı ırkta araştırma yapan Uçmak ve ark. (2020), ise tez çalışmasına benzer şekilde gebe ve boş kısıraklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Preovulatör foliküle ait vaskülarizasyon skorlarının 3 ile 4 arasında belirlenmesinin, vaskülarizasyonun gebelik üzerine etkilerinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasında yeterli hassasiyeti sağlayamayarak etkisiz kalmasına neden olduğu düşünülmüştür.

Korpus luteum gelişiminin ilk evresinde progesteron sekresyonu progresif olarak artmakta, buna korpus luteum çap ve vaskülarizasyon artışı ile birlikte korpus hemorajikum olarak adlandırılan merkezi kan pıhtısının yeniden organizasyonu eşlik etmektedir (Sieme ve ark., 2015). Kısıraklarda korpus luteum ovulatör folikülün granüloza hücrelerinden köken alan büyük ve küçük luteal hücrelerden meydana gelmektedir (Van Niekerk ve ark., 1975). Büyük luteal hücreler LH ve progesteron

etkisi altında progesteron üretmekte, bu da bu hormonların spesifik hücrel reseptörleri aracılığıyla sağlanmaktadır (Galvao ve ark., 2010; Roberto da Costa ve ark., 2005). Diğer türlerdeki korpus luteumdan farklı olarak kısırakların luteal bezi ovaryan stroma içerisinde yer almaktadır. Ovulasyonla eş zamanlı ve takibinde, granüloza hücreleri biyokimyasal ve morfolojik değişikliklere uğrayarak luteinize olmaktadır. Basitçe ifade edildiğinde, luteinizasyon, östrojen sekresyonu gerçekleştiren granüloza hücrelerinin morfogenez ile progesteron sekresyonunu gerçekleştiren luteal hücrelere dönüşümünü ve bununla ilişkili yoğun bir neovaskülarizasyonu kapsamaktadır (Samper ve ark., 2006). Kısıraklarda korpus luteum boyutu, ovulasyon sonrası görülen hemoraji sonucunda küçük veya geniş bir sıvı içeriğinin varlığı nedeniyle çok değişken olabilmektedir. Oluşan korpus luteum, fizyolojik olarak preovulatör folikül boyutuna erişememekte, 25 mm çap ile eğer kanama devam ederse 45 mm arasında değişebilmektedir (Newcombe, 1996). Patolojik bir durum olarak kabul edilmeyen korpus hemorajikum, ilk olarak 0. gün (%28), 1. gün (%62), 2. gün (%6), veya 3. günde (%4) belirgin olarak gözlemlenebilmektedir. Luteal/luteal olmayan doku oranı, diöstrusun erken günlerinde yeni oluşan korpus luteumda minimum düzeyde, diöstrus ortasında ise maksimum düzeydedir. Gelişimi süresince korpus hemorajikumun sıvı dolu boşluğu pıhtılaşma süreci ile ilişkili bağ dokunun üretim ve organizasyonu sonucu kademeli olarak düşmektedir. Korpus hemorajikumun daha geniş olan çapına rağmen, içerdiği luteal doku alanı korpus luteumdan farklı değildir (Samper ve ark., 2006).

Literatürde korpus hemorajikum çapı ve vaskülarizasyonu ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Ancak kısıraklarda sezon başlangıcı ve sezon sonunda preovulatör folikül ve korpus luteuma ait çap ve vaskülarizasyonların takip edildiği kapsamlı bir çalışmada preovulatör foliküle ait çap 40-45 mm aralığında değişirken ovulasyon günü ve sonraki gün çapın sırasıyla ortalama 28 mm ve 30 mm olarak belirlendiği, vaskülarizasyonun ise %15-20 aralığında kaldığı bildirilmektedir (Ishak ve ark., 2017). Tez çalışmasında korpus hemorajikum çapının gebeliğin belirlenmesi üzerine etkileri analiz edildiğinde, kesim noktası 36,7 mm ve altında kalan çap değerinin %73,9 duyarlılık ve %64,7 özgüllük ile gebelik belirleyiciliği olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur. Gebe olan kısıraklarda preovulatör foliküle ait ortalama 47,52

$\pm 1,12$ mm olarak bulunan folikül çapının ovulasyon sonrası $13,64$ mm küçülerek oluşan korpus hemorajikumda $33,88 \pm 1,12$ mm'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Boş olan kısıraklarda ise bu fark $10,71$ mm seviyesinde kalmıştır. Folikülün ovule olmasıyla kanlanması başlayan korpus hemorajikuma ait vaskülarizasyonun ise gebelik belirlemede istatistiksel olarak anlam ifade etmediği görülmüştür. Bu bilgiler ışığında, korpus hemorajikumlara ait daha küçük çap değerleri ile gebelik arasındaki ilişkinin, foliküle ait sıvının daha erken atılarak luteal organizasyonun daha hızlı tamamlanmasından kaynaklanabileceği varsayılmıştır.

Korpus luteum aktivitesini belirlemek için kullanılan en temel yöntem ürettiği progesteron miktarının değerlendirilmesidir (Bolwein ve ark., 2002a; Vecchio ve ark., 2012). Kısıraklarda korpus luteum boyutları ile progesteron üretimi arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Gomes (2008), korpus luteum çap ve alan ile progesteron seviyelerini karşılaştırdığında istatistiksel açıdan önemli herhangi bir korelasyon elde edememiştir. Benzer şekilde, Lüttgenau ve ark. (2011), tarafından bildirildiği üzere korpus luteum alanı ile progesteron konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon gözlemlenmemiş ve luteal fonksiyonunun korpus luteum boyutuna bağlı olmadığını varsayımına ulaşılmıştır. Bollwein ve ark. (2012a), korpus luteum kesit alanı ile progesteron seviyeleri arasında zayıf bir korelasyon elde etmiş ($r=0,37$; $P<0,0001$) ve luteal dönüm ile benzer şekilde korpus luteum boyutunun ovulasyondan sonraki iki gün boyunca arttığını daha sonra ise küçülmeye başladığını bildirmişlerdir (Bergfelt ve Ginther 1996; Ginter ve ark., 2007b). Bir başka çalışmada ise 27 kısırağa ait 119 korpus luteum ovulasyon sonrası 1, 2, 9, 12 ve 16 günlerde ultrasonografi ile incelendiğinde korpus luteum alanı gebe ve boş hayvanlarda istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır (Sichtar ve ark., 2013). Gebe hayvanlarda luteal alan takip edilen günler arasında değişiklik göstermezken boş hayvanlarda 2 gün $8,2 \pm 0,8$ cm², 12.gün ise $5,0 \pm 0,4$ cm² olarak hesaplanmıştır. Gebe ($r = 0,56$, $P < 0,0001$) ve boş kısıraklarda ($r = 0,49$, $P < 0,05$) korpus luteum alanı ile progesteron seviyeleri arasında yüksek bir korelasyon elde edilmiştir. Ancak yapılan çalışmada luteal alan ölçümü kullanılarak gebeliğin belirlenmesi mümkün olmamıştır. Ovulasyonun hcG ile indüklendiği 21 kısırağı içeren bir başka çalışmada ise ovulasyondan 7 gün sonra gebe ($7,7 \pm 1,0$ cm²) ve boş hayvanlara ($6,3 \pm 0,9$) ait

korpus luteum alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Silva ve ark., 2006). Tez çalışmasında korpus luteuma ait çap uzunlukları belirlenmiş ve kesim noktası >22 mm elde edilmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Scihtar ve ark. (2014) ile Silva ve ark. (2006), tarafından yapılan çalışmalara paralel olarak korpus luteum çapının gebelik üzerinde belirleyiciliği anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu durumun nedeninin, kısırakların bir kısmında fizyolojik olarak görülebilen, korpus luteumun kan pıhtısı barındırması sebebiyle çap ölçümlerinde bireysel olarak varyasyon oluşabildiğini, bu sebepten dolayı luteal çapın kısıraklarda gebelik durumunun belirlenmesinde etkisiz kaldığı düşünülmektedir.

Kısıraklarda östrus siklusundaki luteal kan akımı ile progesteron üretimi arasındaki ilişki çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuş, luteal vaskülarizasyonun progesteron seviyelerini güvenilir bir şekilde yansıttığı bildirilmektedir (Bollwein ve ark., 2002a; Ginther ve ark., 2007b). Yeterli kan akımı ile anjiyogeneze luteal yapının gelişimi ve progesteron hormonu sentezi amacıyla ihtiyaç duyulmaktadır (Yan ve ark., 1998). Progesteron sentezi ovulasyondan sonra 5. gün en yüksek konsantrasyonuna çıkmakta, 11. güne kadar sabit kalmaktadır. Bunun da progesteron sentezi ve sekresyonu için gerekli olarak yoğun kapillar ağını sağlayan endotelyal hücrelerin hızlı profilerasyonu sayesinde sağlandığı öne sürülmüştür (Bollwein ve ark., 2002a; Ginther ve ark., 2007a,b; Ginther ve ark., 2008a). Kapillar proliferasyon, Sales ve ark. (2021), tarafından korpus luteumdaki vasküler perfüzyon ile progesteron konsantrasyonları arasındaki korelasyon ile ortaya konulmuştur. Ayrıca korpus luteumun fonksiyonel aktivitesinin boyutuna bağlı olmadığı (Lüttgenau ve ark., 2011; Sales ve ark., 2021) kan akımının luteal boyuta kıyasla progesteron konsantrasyonlarını belirlemede daha iyi bir biyobelirteç olduğu bildirilmiştir (Herzog ve ark., 2010). Gebeliğin erken evresinde luteal vaskülarizasyonun tanı amacıyla kullanımının ineklerde (Dubuc ve ark., 2020; Hassan ve ark., 2019; Scully ve ark., 2015; Siqueira ve ark., 2013; Utt ve ark., 2009), mandalarda (Samir ve Kandiel, 2019), koyunlarda (Arashiro ve ark., 2018; Cosentino ve ark., 2019; Dal ve ark., 2019; Figueira ve ark., 2015; Santos ve ark., 2020) keçilerde (Balaro ve ark., 2017; Cosentino ve ark., 2018) araştırıldığı çeşitli güncel çalışmalar mevcuttur. Silva ve ark. (2006), gebe ve boş kısıraklarda ovulasyondan sonra 7. gün luteal morfoloji, vaskülarite veya

fonskiyon açısından bir fark elde edememiştir. Luteal kan akımı yüzdesi gebe kısıraklarda $56,1 \pm 4,1$ olarak elde edilirken boş kısıraklarda $58,8 \pm 5,9$ olarak belirlenmiş, 1-4 arası değerlendirilen renkli sinyal skoru ise gebe kısıraklarda $3,2 \pm 0,1$ boş kısıraklarda ise benzer şekilde $3,1 \pm 0,1$ olarak belirlenmiştir. Sichtar ve ark. (2013), gebe ve boş kısıraklarda ovulasyon sonrası 1, 2, 9, 12 ve 16. günler luteal yapıyı takip ettiklerinde, renkli piksel alanları gebe kısıraklarda ($0,8 \pm 0,2 \text{ cm}^2$) boş kısıraklardan ($0,74 \pm 0,14 \text{ cm}^2$, $P = 0,18$) daha yüksek olarak gözlemlemiştir. İneklerde ise tohumlama sonrası 3 hafta süresince luteal çap vaskülarizasyon ve progesteron seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, luteal vaskülarizasyon bakımından gebe ve boş inekler arasında 7. günden itibaren takip edilen dönem boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlendiği, luteal çap ve progesteron seviyeleri açısından ise farkın daha ileri dönemlerde, sırasıyla 17 ve 19. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu bildirilmiştir (Hassan ve ark., 2009). Bu araştırmalara ek olarak luteal vazkülerizasyonun, korpus luteumun fonksiyonu ve optimum gelişimi için gerekli substrat ve besinlerin sağlanmasında önemi bir rol oynadığı belirtilmiştir (Carr ve ark., 1982; Ferrara ve ark., 1998). Tez çalışmasında ise ovulasyon sonrası 7. günde değerlendirilen korpus luteumun vaskülarizasyonu sübjektif olarak skorlanmış ve sonuçları değerlendirildiğinde kesim noktası >3 olarak tespit edilmiştir. Korpus luteumun vaskülarizasyonunun gebelik durumunun ortaya konulmasında $78,3$ duyarlılık ve $64,7$ özgüllük ile etkinlik sağladığı görülmüştür ($P<0,05$). Bu nedenle yüksek vaskülarizasyon skorunun fertilité ile ilişkilendirilebileceği kanısına ulaşılmıştır. Bu konuda Sichtar ve ark. (2013), ile Silva ve ark. (2006), tarafından kısıraklarda yapılan çalışmalarda kullanılan hayvan sayısının sırasıyla; 21 ve 27 olarak seçilmesi nedeniyle tez çalışmasına göre daha az sayıda olması, luteal vaskülarizasyonların sezonun farklı dönemlerinde takip edilmesi, kullanılan senkronizasyon protokollerinin etkisi ve araştırılan ırkların Çek (Sichtar ve ark., 2013), pony ve safkan olmayan ırklardan seçilmesi (Silva ve ark., 2006) gibi nedenlerden dolayı tez çalışmasından farklı sonuçlar elde edildiği düşünülmektedir.

Kısıraklar ırklara göre farklılık göstermekle birlikte fertilité pikine 6-7 yaşlarında ulaştıkları bildirilmektedir (Öcal, 2015). Kısıraklarda yapılan çeşitli çalışmalarda kısrağın yaşının gebelik üzerine olan etkisi değerlendirilmiş ve bu

konuda farklı sonuçlar elde edilmiştir (Bosh ve ark., 2009; Katila ve ark., 2010; Morris ve Allen 2002; Nath ve ark., 2010; Romero-Márquez ve ark., 2022; Silva ve ark., 2006). Tez çalışmasında kullanılan kısrakların yaşları 5 ila 17 arasında değişmekle birlikte ortalaması 8,5 olarak belirlenmiştir. Araştırmada gebelik verileri yaşa göre değerlendirildiğinde Romero-Márquez ve ark., (2022) ve Silva ve ark., (2006) çalışmalarıyla paralel şekilde istatistiki bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte araştırma sonuçlarının aksine yaşı gebelik için önemli bir faktör olduğu görüşüne sahip çalışmaların da bulunduğu belirlenmiştir (Bosh ve ark., 2009; Katila ve ark., 2010; Morris ve Allen, 2002; Nath ve ark., 2010). Bu durumun sebebinin, tez çalışmasında kullanılan kısrakların daha genç olmaları ve ırksal farklılıklar nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada, aşım sezonunda kısırakların preovulatör follikül, korpus hemorajikum ve korpus luteumuna ait çap ölçümleri ve bu yapıların renkli doppler ultrasonografi aracılığıyla vaskülarizasyonlarına ait belirlenen subjektif skorlamalarının gebelik ile ilişkisi araştırılarak, bu parametrelerin gebelik açısından belirleyiciliği değerlendirilmiştir. Preovulatör foliküle ait çap ölçümü veya folikül vaskülarizasyonunun gebelik belirlemek için etkili bir öngörü sağlamada yetersiz kaldığı kanaatine ulaşılmıştır. Elde edilen verilere göre aşım sonrası 24 saat içerisinde değerlendirilen korpus hemorajikuma ait çap ölçümleri incelendiğinde korpus hemorajikum çapı 36,7 mm ve altı olan kısıraklar için gebelik %73,9 duyarlılık ve % 64,7 özgüllük ile ortaya konulabilmektedir. Ancak preovulatör folikül ile benzer şekilde korpus hemorajikuma ait vaskülarizasyonun da gebelik belirlemede yetersiz kaldığı kanısına varılmıştır. Aşım sonrası 7. günde değerlendirilen korpus luteuma ait çap ölçüsü gebelik açısından istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir öngörü sağlamazken, vaskülarizasyon skoru 4 olarak belirlenen kısırakların gebelik durumunda %78,3 duyarlılık ve % 64,7 özgüllük ile belirleyicilik sağlamıştır. Ayrıca kısıraklar arasında gebelik durumu açısından yaşa bağlı bir fark gözlemlenmemiştir.

Sonuç olarak, korpus hemorajikum çap ölçümü ve korpus luteumun renkli doppler ultrasonografi ile vaskülarizasyonun belirlenmesinin kısıraklarda gebeliğin değerlendirilmesinde çok daha erken bir öngörü sağlayabileceği ortaya konmuştur. Araştırmadan elde edilen veriler doğrultusunda yapılacak muayeneler, aşım sezonunda ilk gebelik kontrolüne kadar geçen sürenin daha verimli kullanılabilmesi ve gerekli görülen önlemlerin daha erken alınarak ilgili müdahalelerin daha etkin ve hızlı bir şekilde yapılabilmesi için fayda sağlayabileceği kanısına ulaşılmıştır.

İleriki çalışmalar için önem arz eden bu bulgular, luteal yapının yeterliliğinin değerlendirilmesi, erken embriyonik ölümlerin takibi ve dolaylı olarak gebelik başarısının arttırılmasında, ayrıca üreme teknolojilerinin ve ileri görüntüleme yöntemlerinin etkili ve yaygın bir şekilde kullanılmasında bir basamak sağlamıştır.

ÖZET

Safkan Arap Atı Kısıraklarında Preovulatör Folikül, Korus Hemorajikum ve Korpus Luteumun Vaskülarizasyonunun Gebelik Üzerine Etkisi

Yardımcı üreme teknolojilerinin ve ileri görüntüleme yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması, ovaryum üzerindeki folikül ve korpus luteuma ait çeşitli özelliklerin daha detaylı incelenerek fertilizasyon ve gebeliğin devamı üzerindeki etkilerinin ortaya konulması açısından önemli bir basamak sağlamıştır. Tez çalışmasında kısıraklarda üreme sezonu içerisinde östrus süresince ovaryum üzerindeki görülen yapılardan olan preovulatör folikül, korpus hemorajikum ve korpus luteuma ait çap ölçümleri ve bu yapıların vaskülarizasyonlarının renkli doppler ultrasonografi ile değerlendirilerek gebelik ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 5-20 yaş aralığında 40 adet Arap atı kısırağının üreme sezonundaki ilk ovulasyonları takip edilerek 4 mm ve üzeri foliküle sahip olan, uterus ödemi ile serviks ödemi ve servikal çapı arttığı tespit edilen kısırakların aşımaları gerçekleştirilerek preovulatör folikül, aşım sonrası 24 saat içerisinde korpus hemorajikum ve aşımından 7 gün sonra korpus luteuma ait ultrasonografik muayeneler yapılmıştır. B-mod ultrasonografi ile alınan görüntülerden çap ölçümleri ImageJ programı ile değerlendirilmiş, renkli doppler ultrasonografi ile bu yapılara ait görüntülenen vaskülarizasyonlar sübjektif olarak skorlanmıştır (1-4). Gebelik muayenesi 14. günde ultrasonografi ile gerçekleştirilmiş, ilgili parametrelerin gebelik üzerindeki belirleyiciliği değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda preovulatör folikül ve korpus luteuma ait çap değeri ile preovulatör folikül ve korpus luteum vaskülarizasyon skorunun gebelik üzerindeki belirleyiciliği anlamlı bulunmamıştır. Korpus hemorajikum çapı 36,7 mm ve altı olan kısıraklar için gebelik %73,9 duyarlılık ve % 64,7 özgüllük ile ortaya konulabilirken ($p<0,05$), korpus luteum vaskülarizasyon skoru 4 olan belirlenen kısırakların gebelik durumunda %78,3 duyarlılık ve % 64,7 özgüllük ile belirlenebilmiştir ($p<0,05$). Sonuç olarak, korpus hemorajikum çap ölçümü ve korpus luteumun renkli doppler ultrasonografi ile vaskülarizasyonunun belirlenmesinin kısıraklarda gebeliğin değerlendirilmesinde erken bir öngörü sağlayabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Kısırak, Korpus hemorajikum, Korpus luteum, Renkli doppler ultrasonografi, Vaskülarizasyon

SUMMARY

The Effect of Preovulatory Follicle, Coprus Hemorrhagicum and Corpus Luteum Vascularization on Pregnancy in Purebred Arabian Mares

The widespread use of assisted reproductive technologies and advanced imaging methods has provided an important step in examining the various features of the follicle and corpus luteum on the ovary in more detail, and revealing their effects on fertilization and the maintaininf of a pregnancy. In the thesis, it was aimed to evaluate the diameter of the preovulatory follicle, corpus hemorrhagicum and corpus luteum, which are the structures seen on the ovary through estrus cycle during the breeding season in mares, and to evaluate the vascularization of these structures with color Doppler ultrasonography and correlate them with pregnancy. For this purpose, the first ovulations of 40 Arabian mares between the ages of 5-20 were followed in the breeding season. The mares that have follicles of 4 mm and above, with uterine edema, cervical edema and increased cervical diameter were followed and the ultrasonographic examinations of the preovulatory follicle, corpus hemorrhagicum within 24 hours after ovulation, and corpus luteum 7 days after ovulation was performed. The measurements of the diameter on the images taken with B-mode ultrasonography were evaluated by using ImageJ software, and the vascularizations of these structures were scored subjectively by color Doppler ultrasonography (1-4). Pregnancy examination was performed by using ultrasonography on the 14th day, and the determinants of the relevant parameters on pregnancy were evaluated. As a result, the diameter value of the preovulatory follicle and corpus luteum, and the vascularization score of the preovulatory follicle and corpus luteum were not found to be significant on pregnancy. Pregnancy can be demonstrated with 73.9% sensitivity and 64.7% specificity for mares with a corpus hemorrhagicum diameter of 36.7 mm and less ($p < 0.05$), while a sensitivity of 78.3% and 64.7% specificity in the case of pregnancy in mares with a corpus luteum vascularization score of 4 ($p < 0.05$). As a result, it was concluded that corpus hemorrhagicum diameter measurement and determination of vascularization of the corpus luteum by color Doppler ultrasonography can provide an early prediction in the evaluation of pregnancy in mares.

Keywords: Color-Doppler Ultrasonography, Corpus hemorrhagicum, Corpus luteum, Mare, Vascularization

KAYNAKLAR

- ACOSTA TJ, BEG MA, GİNTHER OJ (2004). Aberrant blood flow area and plasma gonadotropin concentrations during the development of dominant-sized transitional anovulatory follicles in mares. *Biology of Reproduction*, **71**(2): 637-642.
- APAÇIK R (1999). *At Yetiştiriciliği*. Şahin Matbaası, Ankara.
- ARASHİRO EKN, UNGERFELD R, CLARİGET RP, PİNTO PHN, BALARO MFA, BRAGANÇA GM, BRANDÃO FZ (2018). Early pregnancy diagnosis in ewes by subjective assessment of luteal vascularisation using colour Doppler ultrasonography. *Theriogenology*, **106**: 247-252.
- AURİCH C (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal reproduction science*, **124**(3-4): 220-228.
- BAKER CB, KENNEY RM (1980). Systematic approach to the diagnosis of the infertile or subfertile mare. In DAWB Morrow, *Current Therapy in Theriogenology*, Saunders Co., Philadelphia. 721-736.
- BALARO MFA, SANTOS AS, MOURA LFG, FONSECA JF, BRANDÃO FZ (2017). Luteal dynamic and functionality assessment in dairy goats by luteal blood flow, luteal biometry, and hormonal assay. *Theriogenology*, **95**: 118-126.
- BEG MA, GİNTHER OJ (2006). Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*, **132**(3): 365-377.
- BERGFELDT DR (2000). Anatomy and physiology of the mare. In: JC Samper. *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. 141–164.
- BERGFELT DR, ADAMS GP (2007). Ovulation and corpus luteum development. In *Current therapy in equine reproduction*. 1-13.
- BERGFELT DR, GİNTHER OJ (1985). Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology*, **24**(1): 99-108.
- BERGFELT DR, MEİRA CD, FLEURY JJ, FLEURY PDC, DELL'AQUA JA, ADAMS GP (2007). Ovulation synchronization following commercial application of ultrasound-guided follicle ablation during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, **68**(8): 1183-1191.
- BERGFELT DR, GİNTHER OJ (1996). Ovarian, uterine and embryo dynamics in horses versus ponies. *J. Equine Vet. Sci.*, **16**: 66–72.

- BHAL PS, PUGH ND, GREGORY L, O'BRIEN S, SHAW RW (2001). Perifollicular vascularity as a potential variable affecting outcome in stimulated intrauterine insemination treatment cycles: a study using transvaginal power Doppler. *Human Reproduction*, **16**(8): 1682-1689.
- BLANCHARD TL, LOVE CC, THOMPSON JA, RAMSEY J, O'MEARA A (2006). Role of reinforcement breeding in a natural service mating program. In *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners*, **52**: 384-386.
- BOLLWEIN H, BRAUN J (1999). Follicular dynamics after treatment with hCG for ovulation induction in mares. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/nutztiere*, **27**(1): 47-51.
- BOLLWEIN H, MAYER R, WEBER F, STOLLA R (2002a). Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, **57**(8): 2043-2051.
- BOLLWEIN H, WEBER F, KOLBERG B, STOLLA R (2002b). Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, **57**(8): 2129-2138.
- BORINI A, MACCOLINI A, TALLARINI A, BONU MA, SCIAJNO R, FLAMIGNI C (2001). Perifollicular vascularity and its relationship with oocyte maturity and IVF outcome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **943**(1): 64-67.
- BOSH KA, POWELL D; SHELTON B, ZENT YW (2009). Reproductive performance measures among Thoroughbred mares in central Kentucky, during the 2004 mating season. *Equine Veterinary Journal*, **41**: 883-888. <https://doi.org/10.2746/042516409X456068>.
- BROWN-DOUGLAS CG, FIRTH EC, PARKINSON TJ, FENNESSY PF (2004). Onset of puberty in pasture-raised Thoroughbreds born in southern hemisphere spring and autumn. *Equine Veterinary Journal*, **36**(6): 499-504.
- CARNEVALE EM (1998). Folliculogenesis and ovulation. , In: NW Rantanen, AO McKinnon, *Equine Diagnostic Ultrasonography*. Williams & Wilkins, Baltimore, 201–211.
- CARR BR, MACDONALD PC, SIMPSON ER (1982). The role of lipoproteins in the regulation of progesterone secretion by the human corpus luteum. *Fertility and sterility*, **38**(3): 303-311.
- CASTRO T, JACOB JC, STEFANI G, DOMINGUES RR, GINTHER OJ (2021). Concentrations of progesterone and a PGF2 α metabolite during the interovulatory interval compared to the corresponding days of pregnancy in mares. *Theriogenology*, **165**: 10-17.
- CHEW LR, DASCANIO JJ (2011). Perineal conformation. In: *Clinical Veterinary Advisor: The Horse*. Elsevier Inc. 436-437. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-9979-6.00548-1>.

- CHUI DK, PUGH ND, WALKER SM, GREGORY L, SHAW RW (1997). Follicular vascularity--the predictive value of transvaginal power Doppler ultrasonography in an in-vitro fertilization programme: a preliminary study. *Human reproduction*, **12**(1): 191-196.
- COSENTINO IO, BALARO MFA, ARASHIRO EKN, SANTOS JDR, DA SILVA CARVALHO AB, CLARIGET RP, BRANDÃO FZ (2019). Hormonal protocols for early resynchronization of ovulation in ewes: The use of progestagens, eCG, and inclusion of early pregnancy diagnosis with color Doppler ultrasound. *Theriogenology*, **133**: 113-118.
- COSENTINO IO, BALARO MFA, LEAL FSC, DA SILVA CARVALHO AB, DE SOUZA PRC, ARASHIRO EKN, BRANDÃO FZ (2018). Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. *Theriogenology*, **121**: 104-111.
- COULAM CB, GOODMAN C, RINEHART JS (1999). Colour Doppler indices of follicular blood flow as predictors of pregnancy after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Human Reproduction*, **14**(8):1979-1982.
- CROWELL-DAVIS SL (2007). Sexual behavior of mares. *Hormonal Behavior*, **52**: 12-17.
- CUERVO-ARANGO J, NEWCOMBE JR (2008). Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*, **69**(6): 681-687.
- DAELS PF, MCCUE PM, DEMORAES MJ, HUGHES JP (1996). Persistence of the luteal phase following ovulation during altrenogest treatment in mares. *Theriogenology*, **46**(5): 799-811.
- DAL GE, ENGİNLER SO, BAYKAL K, SABUNCU A (2019). Early pregnancy diagnosis by semiquantitative evaluation of luteal vascularity using power Doppler ultrasonography in sheep. *Acta Veterinaria Brno*, **88**(1): 19-23.
- DASCANIO J (2011). External reproductive anatomy. In: AO McKinnon, , EL Squires, WE Vaala, DD Varner. *Equine Reproduction*,. Wiley-Blackwell, Philadelphia, London. 1577-1582.
- DE RUIJTER-VİLLANI M, VAN TOL HTA, STOUT TAE (2015). Effect of pregnancy on endometrial expression of luteolytic pathway components in the mare. *Reproduction, Fertility and Development*, **27**(5): 834-845.
- DİMMİCK MA, GİMENEZ T, SCHLAGER RL (1993). Ovarian follicular dynamics and duration of estrus and diestrus in Arabian vs. Quarter Horse mares. *Animal Reproduction Science*, **31**(1-2): 123-129.
- DONADEU FX, PEDERSEN HG (2008). Follicle development in mares. *Reproduction in Domestic Animals*, **43**: 224-231. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01166.x>.
- DONADEU FX, WATSON ED (2007). Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. *Animal Reproduction Science*, **100**(3-4): 225-242.

- DU B, TAKAHASHI K, ISHIDA GM, NAKAHARA K, SAITO H, KURACHI H (2006). Usefulness of intraovarian artery pulsatility and resistance indices measurement on the day of follicle aspiration for the assessment of oocyte quality. *Fertility and sterility*, **85**(2): 366-370.
- DUBUC J, HOULE J, ROUSSEAU M, RO JP, BUCZINSKI S (2020). Accuracy of corpus luteum color flow Doppler ultrasonography to diagnose nonpregnancy in dairy cows on day 21 after insemination. *Journal of Dairy Science*, **103**: 2019-2023.
- DYCE KM, SACK WO, WENSING CJG (2010). *Textbook of veterinary anatomy*. London. Elsevier
- EASLEY J (1993). External perineal conformation. In: AO McKinnon, JL Voss. *Equine reproduction*. Lea and Febiger, Philadelphia. 20–26.
- ELHAY M, NEWBOLD A, BRITTON A, TURLEY P, DOWSETT K, WALKER J (2007). Suppression of behavioural and physiological oestrus in the mare by vaccination against GnRH. *Australian veterinary journal*, **85**(1-2): 39-45.
- ELLENBERGER C, MÜLLER K, SCHOON HA, WILSHER S, ALLEN WR (2009). Histological and immunohistochemical characterization of equine anovulatory haemorrhagic follicles (AHFs). *Reproduction in domestic animals*, **44**(3): 395-405.
- ENGLAND G (2008). *Fertility and Obstetrics in the Horse*. John Wiley & Sons.
- FAMILIARI G, VIZZA E, MIANI A, MOTTA PM (1991). Ultrastructural and functional development of the theca interna. In *Ultrastructure of the Ovary*, Springer, Boston, MA. 113-128.
- FERRARA N, CHEN H, DAVIS-SMYTH T, GERBER HP, NGUYEN TN, PEERS D, SCHWALL RH (1998). Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nature medicine*, **4**(3): 336-340.
- FERREIRA CSC, MORAIS RDCL, DE ANDRADE ABP, BALARO MFA, RIBAS JAS, GOMES GM, PINNA AE (2020). Spectral Doppler ultrasound in selecting an equine embryo receiver. *Reproduction in Domestic Animals*, **55**(6): 747-752.
- FERREIRA JC, IGNÁCIO FS, MEIRA CD (2011). Doppler ultrasonography principles and methods of evaluation of the reproductive tract in mares. *Acta Scientiae Veterinariae*, **11**: 1125–23.
- FERRIS HA, SHUPNIK MA (2006). Mechanisms for pulsatile regulation of the gonadotropin subunit genes by GnRH1. *Biology of reproduction*, **74**(6): 993-998.
- FIGUEIRA LM, FONSECA JF, ARASHIRO EKN, SOUZA-FABIAN JMG, RIBEIRO ACS, OBA (2015). Colour Doppler ultrasonography as a tool to assess luteal function in Santa Ines ewes. *Reprod Dom Anim*, **50**: 643e50.

- GALVAO AM, RAMÍLO DW, SKARZYŃSKI DJ, LUKASIK K, TRAMONTANO A, MOLLO A, MATEUS LM, FERREIRA-DÍAS GM. (2010). Is Fas/Fas ligand system involved in equine corpus luteum functional regression? *Biology of Reproduction*, **83**: 901-908. 10.1095/biolreprod.110.084699.
- GASTAL EL, DONADEU FX, GASTAL MO, GINTHER OJ (1999). Echotextural changes in the follicular wall during follicle deviation in mares. *Theriogenology*, **52**(5): 803-814.
- GASTAL EL, GASTAL MO, BEG MA, GINTHER OJ (2004). Interrelationships among follicles during the common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. *Reproduction*, **128**(4): 417-422.
- GASTAL EL, GASTAL MO, DONADEU FX, ACOSTA TJ, BEG MA, GINTHER OJ (2007). Temporal relationships among LH, estradiol, and follicle vascularization preceding the first compared with later ovulations during the year in mares. *Animal reproduction science*, **102**(3-4): 314-321.
- GASTAL EL, GASTAL MO, GINTHER OJ (1998). The suitability of echotexture characteristics of the follicular wall for identifying the optimal breeding day in mares. *Theriogenology*, **50**(7): 1025-1038.
- GASTAL EL, GASTAL MO, GINTHER OJ (2006a). Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. *Reproduction*, **131**(4): 699-709.
- GASTAL EL, GASTAL MO, GINTHER OJ (2006b). Serrated granulosa and other discrete ultrasound indicators of impending ovulation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, **26**(2): 67-73.
- GASTAL EL, NEVES AP, MATTOS RC, PETRUCCI BP L, GASTAL MO, GINTHER OJ (2008). Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics during the oestrous cycle. *Reproduction, Fertility and Development*, **20**(3): 376-385.
- GASTAL EL, SILVA LA, GASTAL MO, EVANS MJ (2006c). Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Anim Reprod Sci*. **94**: 186-90.
- GENTRY LR, THOMPSON JR DL, STELZER AM (2002). Responses of seasonally anovulatory mares to daily administration of thyrotropin-releasing hormone and (or) gonadotropin-releasing hormone analog. *Journal of animal science*, **80**(1): 208-213.
- GINTHER OJ (1979). *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects*, Cross Plains, WI: Equiservices.
- GINTHER OJ (1986). Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. *Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare*. Equiservices, ABD.
- GINTHER OJ (1990). Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. *Reproduction*, **90**(1): 311-320.

- GINTHER OJ (1992a). Characteristics of the ovulatory season. in: Reproductive biology of the mare. Basic and applied aspects. 2nd edition. Equiservices, Cross Plains (WI)1992: 173-232.
- GINTHER OJ (1992b). Endocrinology of the ovulatory season. 233-290. *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects, 2nd edition, Equiservices, Cross Plains WI. Wisconsin.*
- GINTHER OJ (1993). Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. *Journal of equine veterinary science*, **13**(1): 18-25.
- GINTHER OJ (1995). Ultrasonic imaging and animal reproduction: Book 2. Horses. Cross Plains, Equiservices, Publishing; 1995. pp. 57.
- GINTHER OJ (1998). Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. In *Proc Am Assoc Equine Pract.* 73-104.
- GINTHER OJ (2007). Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction, Book 4, Color-Doppler Ultrasonography.
- GINTHER OJ (2014). How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology*, **81**(1): 112-125.
- GINTHER OJ, BEG MA, BERGFELT DR, DONADEU FX, KOT K (2001). Follicle selection in monovular species. *Biology of reproduction*, **65**(3): 638-647.
- GINTHER OJ, BEG MA, DONADEU FX, BERGFELT DR (2003a). Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal reproduction science*, **78**(3-4): 239-257.
- GINTHER OJ, BEG MA, GASTAL MO, GASTAL EL (2018). Follicle dynamics and selection in mares. *Animal Reproduction*, **1**(1): 45-63.
- GINTHER OJ, GASTAL EL, GASTAL MO (2007a). Spatial relationships between serrated granulosa and vascularity of the preovulatory follicle and developing corpus luteum. *Journal of Equine Veterinary Science*, **27**(1): 20-27.
- GINTHER OJ, GASTAL EL, GASTAL MO, BEG YMA (2008a). Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory hormones: what's new? *Journal Equine Veterinary Science*, **28**(8): 454-460. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2008.07.008>.
- GINTHER OJ, GASTAL EL, GASTAL MO, BERGFELT DR, BAERWALD AR, PIERSON RA (2004). Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biology of reproduction*, **71**(4): 1195-1201.
- GINTHER OJ, GASTAL EL, GASTAL MO, SIDDIQUI MAR, BEG MA (2007b). Relationships of Follicle Versus Oocyte Maturity to Ultrasound Morphology, Blood Flow, and Hormone Concentrations of the Preovulatory Follicle in Mare. *Biology of Reproduction*. **77**: 202-208.

- GÏNTHËR OJ, JACOB JC, GASTAL MO, GASTAL EL, BEG MA (2008b). Follicle and systemic hormone interrelationships during spontaneous and ablation-induced ovulatory waves in mares. *Animal reproduction science*, **106**(1-2): 181-187.
- GÏNTHËR OJ, PIERSON RA (1989). Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. *J Equine Vet Sci.*, **9**:4-12.
- GÏNTHËR OJ, UTT MD (2004). Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, **24**(12): 516-526.
- GÏNTHËR OJ, UTT MD, BEG MA, GASTAL EL, GASTAL MO (2007c). Negative effect of estradiol on luteinizing hormone throughout the ovulatory luteinizing hormone surge in mares. *Biology of reproduction*, **77**(3): 543-550.
- GÏNTHËR OJ, WOODS BG, MEIRA C, BEG MA, BERGFELT DR (2003b). Hormonal mechanism of follicle deviation as indicated by major versus minor follicular waves during the transition into the anovulatory season in mares. *Reproduction*, **126**(5): 653-660.
- GOMES TJDS (2008). Equine corpus luteum vascular evaluation by power-doppler ultrasound. Universidade T cnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterin ria, Lisans Tezi. Portekiz.
- GREAVES HE, PORTER MB, SHARP DC (2000). Effect of oestradiol on LH secretion and pituitary responsiveness to GnRH in ovariectomized mares. *Journal of Reproduction and fertility*, **56**: 227-237.
- GRUBAUGH W, SHARP DC, BERGLUND LA, MCDOWELL KJ, KILMER DM, PECK LS, SEAMANS KW (1982). Effects of pinealectomy in pony mares. *Journal of reproduction and fertility*, **32**: 293-295.
- HAFEZ ESE, HAFEZ B (2013). *Reproduction in farm animals*. John Wiley & Sons.
- HART PJ, SQUIRES EL, IMEL KJ, NETT TM (1984). Seasonal variation in hypothalamic content of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), pituitary receptors for GnRH, and pituitary content of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the mare. *Biology of reproduction*, **30**(5): 1055-1062.
- HASSAN M, ARSHAD U, BILAL M, SATTAR A, AVAIS M, BOLLWEIN H, AHMAD N (2019). Luteal blood flow measured by Doppler ultrasonography during the first three weeks after artificial insemination in pregnant and non-pregnant Bos indicus dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, **65**(1): 29-36.
- HENDERSON J (2005). Ernest Starling and 'Hormones': an historical commentary. *Journal of Endocrinology*, **184**(1): 5-10.
- HERZOG K, BOLLWEIN H (2007). Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, **42**: 51-58.

- HODGE SL, KREIDER JL, POTTER GD, HARMS PG, FLEEGER JL (1982). Influence of photoperiod on the pregnant and postpartum mare. *American Journal of Veterinary Research*, **43**(10): 1752-1755.
- HUNTER RHF (2003). *Physiology of the Graafian follicle and ovulation*. Cambridge University Press.
- IHNATSENKA B, BOEZAART AP (2010). Ultrasound: Basic understanding and learning the language. *International journal of shoulder surgery*, **4**(3): 55.
- IRVINE CHG (1981). Endocrinology of the estrous cycle of the mare: applications to embryo transfer. *Theriogenology*, **15**(1): 85-104.
- IRVINE CHG, ALEXANDER SL (1998). Managing the mare for optimal fertility. *Journal of equine science*, **9**(3): 83-87.
- ISHAK GM, BASHIR ST, GASTAL MO, GASTAL EL (2017). Pre-ovulatory follicle affects corpus luteum diameter, blood flow, and progesterone production in mares. *Animal reproduction science*, **187**: 1-12.
- JAFFE R, ADERET NB (1984). Ultrasonic screening in predicting the time of ovulation. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, **18**(6): 303-305.
- JOHNSON CA, THOMPSON JR DL, CARTMILL JA (2002). Pituitary responsiveness to GnRH in mares following deslorelin acetate implantation to hasten ovulation. *Journal of animal science*, **80**(10): 2681-2687.
- KÄHN W, VOLKMANN D (2004). *Veterinary reproductive ultrasonography*. Schlütersche.
- KATILA T, REILAS K, NIVOLA T, PELTONEN YAM, VIRTAL A (2010). A 15-year survey of reproductive efficiency of Standardbred and Finnhorse trotters in Finland-descriptive results. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **52**: 40. 10.1080/00480169.2001.36209.
- KENNEY RM (1978). Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **172**(3): 241-262.
- KNOTTENBELT DC, PASCOE RR, LEBLANC M, LOPATE C (2013). *Equine stud farm medicine & surgery*. Elsevier Health Sciences.
- KREMKAU FW (2002). *Diagnostic ultrasound: principles and instruments*. Saunders.
- KRIEGER DT (1971). The hypothalamus and neuroendocrinology. *Hospital Practice*, **6**(9): 87-99.
- LEBLANC MM, LOPATE C, KNOTTENBELT D, PASCOE R (2003). The Mare. In *Equine stud farm medicine and surgery*. Elsevier, Londra.

- LEBLANC PH, CARON JP, PATTERSON JS, BROWN M, MATTA MA (1988). Epidural injection of xylazine for perineal analgesia in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **193**(11): 1405-1408.
- LÜTTGENAU J, ULBRICH SE, BEINDORFF N, HONNENS A, HERZOG K, BOLLWEIN H (2011). Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, **125**: 20-29.
- MARI G, IACONO E, MERLO B, CASTAGNETTI C (2004). Reduction of twin pregnancy in the mare by transvaginal ultrasound-guided aspiration. *Reproduction in domestic animals*, **39**(6): 434-437.
- MCALLISTER RA, SACK WO (1990). Identification of anatomic features of the equine clitoris as potential growth sites for *Taylorella equigenitalis*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **196**(12): 1965-1966.
- MCCUE PM (2014). Ultrasound examination of the pregnant mare. *Equine Reproductive Procedures*, 188-192.
- MCKINNON AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (2011). *Equine reproduction*. John Wiley & Sons.
- MEINECKE B, GIPS H, MEINECKE-TILLMANN S (1987). Progestagen, androgen and oestrogen levels in plasma and ovarian follicular fluid during the oestrous cycle of the mare. *Animal Reproduction Science*, **12**(4): 255-265.
- MIHM M, EVANS ACO (2008). Mechanisms for dominant follicle selection in monovulatory species: a comparison of morphological, endocrine and intraovarian events in cows, mares and women. *Reproduction in Domestic Animals*, **43**: 48-56.
- MIYAMOTO A, SHIRASUNA K, HAYASHI KG, KAMADA D, AWASHIMA C, KANEKO E, MATSUI M (2006). A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *Journal of Reproduction and Development*, **52**(1): 153-160.
- MOREL MCD (2020). *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. CABI.
- MORRIS LH, ALLEN WR (2002). Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Veterinary Journal*, **34**: 51-60. <https://doi.org/10.2746/042516402776181222>.
- MORROW DA (1986). *Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment, and prevention of reproductive diseases in small and large animals*. Saunders.
- NADEN J, SQUIRES EL, NETT TM (1990). Effect of maternal treatment with altrenogest on age at puberty, hormone concentrations, pituitary response to exogenous GnRH, oestrous cycle characteristics and fertility of fillies. *Reproduction*, **88**(1): 185-195.

- NATH LC, ANDERSON GA, MCKINNON YAO (2010). Reproductive efficiency of Thoroughbred and Standardbred horses in north-east Victoria. *Australian Veterinary Journal*, **88**: 169-175. <https://doi.org/10.1111/i.1751-0813.2010.00565.x>.
- NETT TM, HOLTAN DW, ESTERGREEN VL (1975). Levels of LH, prolactin and oestrogens in the serum of post-partum mares. *Journal of reproduction and fertility*, **23**: 201-206.
- NEWCOMBE JR (1996). Ultrasonography of ovulation and development of the corpus luteum in the mare: a personal view. *Equine Veterinary Education*, **8**(1): 47-58.
- NEWCOMBE JR (1997). The incidence of fluid in the post ovulatory area and in the early corpus luteum in the mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, **17**(2): 58-63.
- NEWCOMBE JR. (2007). The follicle: practical aspects of follicle control. In *Current therapy in equine reproduction*, WB Saunders. 14-21.
- NOGUEIRA GP, BARNABE RC, VERRESCHI ITN (1997). Puberty and growth rate in Thoroughbred fillies. *Theriogenology*, **48**(4): 581-588.
- ÖCAL H (2015). Kısırlarlarda üreme olaylarının denetlenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, **29**(1): 55-66.
- PALMER E, CHAVATTE-PALMER P, VERDONCK E (2006). Field trial of Doppler ultrasonography of the preovulatory follicle in the mare. *Animal Reproduction Science*, **94**(1-4): 82-185.
- PASCOE RR (1979). Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. *Journal of Reproduction and fertility*, **27**: 299-305.
- PELEHACH LM, SHARP DC, PORTER MB, DIXON LN, MCDOWELL KJ (2000). Role of oestrogen and progesterone in the control of uterine edema in pony mares. *Biol Reprod Suppl*, **62**: 386.
- PICKER FRACOG RH, FRACOG DHS, MRCOG MHT, SAUNDERS DM (1983). Ultrasonic signs of imminent ovulation. *Journal of Clinical Ultrasound*, **11**(1): 1-2.
- PIERSON RA, GINTHER OJ (1985). Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. *Theriogenology*, **24**(3): 359-368.
- PIERSON RA, GINTHER OJ (1987). Follicular population dynamics during the estrous cycle of the mare. *Animal Reproduction Science*, **14**(3): 219-231.
- PINTO CR (2013). Hormones and breeding. In *Annual Convention of American Association on Equine Practitioners*. Nashville, ABD. 59
- POWIS RL (1986). Ultrasound science for the veterinarian. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, **2**(1): 3-27.

- PURDY SR (2010). Reproduction in donkeys. In *Large animal. Proceedings of the North American Veterinary Conference, Orlando, Florida, USA*,. 249-252). The North American Veterinary Conference.
- RANTANEN NW, MCKINNON AO (1998). *Equine diagnostic ultrasonography*. Williams & Wilkins.
- RAVINDRA JP, RAWLINGS NC, EVANS ACO, ADAMS GP (1994). Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. *Reproduction*, **101**(2): 501-509.
- REEF VB (1998). *Equine diagnostic ultrasound*. WB Saunders Company.
- REITER RJ (1981). Pineal control of reproduction. *Progress in clinical and biological research*, **59**: 349-355.
- RENAUDIN CD, GILLIS CL, TARANTAL AF (1997). Transabdominal combined with transrectal ultrasonographic determination of equine fetal gender during midgestation. In *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP*. **43**: 252-255.
- RICKETTS S, TROEDSSON MH (2007). Fertility expectations and management for optimal fertility. In *Current therapy in equine reproduction*.. WB Saunders, 53-69
- ROBERTO DA COSTA RP, BRANCO V, PESSA P, ROBALO SILVA J, FERREIRA-DÍAS G (2005). Progesterone receptors and proliferating cell nuclear antigen expression in equine luteal tissue. *Reproduction, Fertility and Development*, **17**: 659-666. <https://doi.org/10.1071/RD05024>.
- ROMERO-MÁRQUEZ C, PÉREZ-ANZÚREZ G, HUERTA-BRAVO M, LÓPEZ-ORDAZ R, RUÍZ-FLORES A (2022). Fertilidad en yeguas y caracterización de la dinámica ovárica. *Nova scientia*, **14**(28): 1-17.
- ROSER JF, MCCUE PM, HOYE E (1994). Inhibin activity in the mare and stallion. *Domestic Animal Endocrinology*, **11**(1): 87-100.
- SALES FABM, AZEVEDO MV, SOUZA NM, FERREIRA-SILVA JC, CHAVES MS. JUNIOR VR, OLIVEIRA MAL (2021). Correlations of corpus luteum blood flow with fertility and progesterone in embryo recipient mares. *Tropical Animal Health and Production*, **53**(2): 280.
- SAMIR H, KANDIEL MM (2019). Accuracy of subjective evaluation of luteal blood flow by color Doppler ultrasonography for early diagnosis of pregnancy in Egyptian buffalo. *Animal Reproduction Science*, **208**: 106129.
- SAMPER JC (1997). Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. In *Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, **43**: 189-91.
- SAMPER JC (2008a). *Equine breeding management and artificial insemination*. Elsevier Health Sciences.

- SAMPER JC (2008b). Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, **70**(3): 445-447.
- SAMPER JC (2010). A review of a practitioner's perspective on endometrial edema. *Pferdeheilkunde*, **26**(1):14-8.
- SAMPER JC, MCKINNON AO, PYCOCK J (2006). *Current therapy in equine reproduction*. Elsevier Health Sciences.
- SANTOS L, BRILHANTE G, DRECHMER J, de MELO LAMP, RAMOS A, SILVA B (2020). Vascularização luteal e diagnóstico de gestação precoce em ovinos. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia- Comunicado Técnico*, **207**:1-8.
- SCULLY S, EVANS AC, CARTER F, DUFFY P, LONERGAN P, CROWE MA (2015). Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. *Theriogenology*, **83**: 449-458.
- SHARP DC (1980). Environmental influences on reproduction in horses. *The Veterinary Clinics of North America. Large Animal Practice*, **2**(2): 207-223.
- SHRESTHA SM, COSTELLO M.F, SJOBLUM P, MCNALLY G, BENNETT M, STEIGRAD SJ, HUGHES GJ (2006). Power Doppler ultrasound assessment of follicular vascularity in the early follicular phase and its relationship with outcome of in vitro fertilization. *Journal of assisted reproduction and genetics*, **23**(4): 161-169.
- SÍCHTAR J, RAJMON R, HOŠKOVÁ K, ŘEHÁK D, VOSTRÝ L, HÄRTLOVÁ H (2013). The luteal blood flow, area and pixel intensity of corpus luteum, levels of progesterone in pregnant and nonpregnant mares in the period of 16 days after ovulation. *Czech J Anim Sci*, **58**: 512-519.
- SİDDİQUİ MAR, GASTAL EL, GASTAL MO, BEG MA, GİNTHER O (2009). Effect of hCG in the presence of hCG antibodies on the follicle, hormone concentrations, and oocyte in mares. *Reproduction in domestic animals*, **44**(3): 474-479.
- SİEME H, LÜTTGENAU J, SIELHORST J, MARTINSSON G, BOLLWEIN H, THOMAS S, BURGER D (2015). Improving the formation and function of the corpus luteum in the mare. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **39**(1): 117-120.
- SİLVA LA, GASTAL EL, GASTAL MO, BEG MA, GİNTHER OJ (2006). Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares. *Animal Reproduction*, **3**(3): 339-346.
- SİLVA LA, GİNTHER OJ (2006). An early endometrial vascular indicator of completed orientation of the embryo and the role of dorsal endometrial encroachment in mares. *Biology of reproduction*, **74**(2): 337-343.
- SIQUEIRA LG, AREAS VS, GHETTI AM, FONSECA JF, PALHAO MP, FERNANDES CA, VIANA JH (2013). Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. *J Dairy Sci*, **96**: 6461-6472.

- SİROİS J, BALL BA, FORTUNE JE (1989). Patterns of growth and regression of ovarian follicles during the oestrous cycle and after hemiovariectomy in mares. *Equine Veterinary Journal*, **21**(8): 43-48.
- SİSSON S (1975). Female genital organs. In: Getty R, Sisson and Grossman's *The Anatomy of the Domestic Animals*, vol. 1, 5th edn. Philadelphia: W.B. Saunders, 542-549.
- SÖNMEZ M (2013). Reprodüksiyon suni tohumlama ve androloji ders notları. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını*, Elazığ.
- TROTTER GW, MCKINNON AO (1988). Surgery for abnormal vulvar and perineal conformation in the mare. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, **4**(3): 389-405.
- TURNER JE, IRVINE CH (1991). The effect of various gonadotrophin-releasing hormone regimens on gonadotrophins, follicular growth and ovulation in deeply anoestrous mares. *Journal of Reproduction and fertility*. **44**: 213-225.
- TURNER RM, MCDONNELL SM, FEIT EM, GROGAN EH, FOGLIA R (2006). How to determine gestational age of an equine pregnancy in the field using transrectal ultrasonographic measurement of the fetal eye. In *Proc Am Assoc Eq Pract*. **52**: 250-255.
- UÇMAK ZG, KURBAN İ, UÇMAK M (2020). The vascularity of preovulatory follicle: The colour-Doppler assessment and its predictive value in the early pregnancy outcome in Arabian Mares. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, **91**(2): 104-109.
- UTT MD, JOHNSON GL RD, BEAL WE (2009). The evaluation of corpus luteum blood flow using color-flow Doppler ultrasound for early pregnancy diagnosis in bovine embryo recipients. *Theriogenology*, **71**: 707-715.
- VAN NIEKERK CH, MORGENTHAL JC, GERNEKE WH (1975). Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility*, **23**: 171-175.
- VECCHIO D, NEGLIA G, GASPARRINI B, RUSSO M, PACELLI C, PRANDI A, D'OCCHIO MJ, CAMPANILE G (2012). Corpus luteum development and function and relationship to pregnancy during the breeding season in the Mediterranean buffalo. *Theriogenology*, **77**: 1811-1815.
- VIANA JHM, ARASHIRO EKN, SIQUEIRA LGB, GHETTI AM, AREAS VS, GUIMARÃES CRB, FERNANDES CAC (2018). Doppler ultrasonography as a tool for ovarian management. *Animal Reproduction*, **10**(3): 215-222.
- VICK MM, SESSIONS DR, MURPHY BA, KENNEDY EL, REEDY, SE, FITZGERALD BP (2006). Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity. *Reproduction, Fertility and Development*, **18**(6): 609-617.
- VITUMS A (1975). Observations on the equine hypophysial portal system. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, **4**(2): 149-161.

- VOSS JL, PICKETT BW (1975). The effect of rectal palpation on the fertility of cyclic mares. *Journal of Reproduction and fertility*, **23**: 285-290.
- WATSON ED, HEALD M, TSIGOS A, LEASK R, STEELE M, GROOME NP, RILEY SC (2002). Plasma FSH, inhibin A and inhibin isoforms containing pro-and-alphaC during winter anoestrus, spring transition and the breeding season in mares. *Reproduction*, **123**(4): 535-542.
- WESSON JA, GINTHER OJ (1981). Influence of season and age on reproductive activity in pony mares on the basis of a slaughterhouse survey. *Journal of Animal Science*, **52**(1): 119-129.
- WESSON JA, ORR EL, QUAY WB, GINTHER OJ (1979). Seasonal relationship between pineal hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) activity and reproductive status in the pony. *General and Comparative Endocrinology*, **38**(1): 46-52.
- YAN Z, NEULEN J, RACZEK S, WEICH HA, KECK C, GRUNWALD K, BRECKWOLDT M (1998). Vascular endothelial growth factor (VEGF)/vascular permeability factor (VPF) production by luteinized human granulosa cells in vitro; a paracrine signal in corpus luteum formation. *Gynecological Endocrinology*, **12**(3): 149-153.
- YENER SM, GUCUYENER O, OZBEYAZ C (2006). Horse breeding in Turkey. In *57th Annual meeting of the EAAP*, 17-20.
- YILMAZ O (2012). Türkiye yerli at ırkları ve bir koruma çalışması. *YYÜ Tar Bil Derg.* **22**(2): 117-133.

EKLER

Ek-1 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

	T.C. ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI	
TOPLANTI TARİHİ	: 09.10. 2020
TOPLANTI SAYISI	: 151
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 807
KARAR NUMARASI	: 807
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Doç. Dr. Mehmet Borge TIRPAN
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: Veteriner Helim Mustafa Oğuzhan ŞAHİN
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: Arap Atı (40 adet Dişi)
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet Borge TIRPAN'ın araştırma yürütücüsü olduğu 807/2020 kayıt numaralı ve "Safkan Arap Atı Kısıraklarında Preovulator Folikül, Korpus Hemorajikum ve Korpus Luteumun Vaskularizasyonunun Gebelik Üzerine Etkisi" konulu çalışma; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde varılması uygun bulunmuştur.	
Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Başkan)	
Prof. Dr. Emel ULUPINAR (Üye)	Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ (Üye)
Prof. Dr. Hakan SENTÜRK (Üye)	Prof. Dr. Enan YILDIRIM (Üye)
Doc. Dr. Nûrhan KIRIMLIOĞLU (Üye)	Doç. Dr. Mehmet BAL (Üye)
Dr. Öğr. Üyesi Cihan KOP BOZBAY (Üye)	Dr. Öğr. Üyesi Vet. Hek. Oya ERALP İNAN (Üye)
Dr. Öğretim Üyesi, Hayriye ŞEN DOĞRAMACI (Üye)	Vet. Hek. Banu NARİN (Üye)
Eczacı Nuran YENİLMEZ (Üye)	
Adres: Meşelik Kampüsü PK.26480 Odunpazarı/Eskişehir Telefon: 0 222 239 2979 / (45 63) E-posta: http://hadyek.ogu.edu.tr	

ÖZGEÇMİŞ

I. Kişisel Bilgiler

Adı : Mustafa Oğuzhan
Soyadı: : ŞAHİN

II. Eğitimi

2017-Devam Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi, Ankara, Türkiye

2015-2018 Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Yüksek Lisans Eğitimi, Ankara, Türkiye

2010-2015 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği, Ankara

2006-2010 Bahçelievler Anadolu Lisesi Ankara

Yabancı Dil: İngilizce (İyi düzeyde)

III. Ünvanları

2018- Uzman Veteriner Hekim

2015- Veteriner Hekim

IV. Mesleki Deneyimi

2019- Türkiye Jokey Kulübü, Uzman Veteriner Hekim

2018- Petcode Hayvan Hastanesi, Uzman Veteriner Hekim

2016- Zoleant Pharmaceuticals International, Farmakovijilans Sorumlusu

2015- Hellenic Wild Life Hospital (EKPAZ) Gönüllü Veteriner Hekim

V. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilimi Derneği

VI. Bilimsel İlgi Alanları

Androloji, Aygıralarda ve Kısıraklarda Reprodüksiyon

Yayımları (Ulusal ya da uluslararası makale, bildiri, poster, kitap ya da kitap bölümü vb.)

- Şahin MO, Tırpan MB (2023). İneklerde Erken Gebelik Teşhisinde Gebelik İlişkili Glikoproteinlerin Kullanımı. In: Veteriner Hekimlik Alanında Uluslararası Araştırmalar, Platanus Publishing, Ankara, 41-64
- Tırpan MB, Olğaç KT, Kaya U, Şahin MO, Sabuncular Ö (2023) Pregnancy rates according to the follicle diameter and uterus edema between different age groups in two consecutive ovulations. IHSLC 02-05 Mart, Türkiye.