

163291

T.C.
S. Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM ve JİNEKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**KOYUNLARDA REAL-TİME ULTRASONOGRAFİ ile
EMBRYONİK ÖLÜMLERİN İNSİDANSININ
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

M. Kemal SARIBAY

Danışman

Doç. Dr. Hüseyin ERDEM

KONYA – 2005

T.C.
S. Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM ve JİNEKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**KOYUNLARDA REAL-TIME ULTRASONOGRAFİ ile
EMBRYONİK ÖLÜMLERİN İNSİDANSININ
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

M. Kemal SARIBAY

Bu tez aşağıda isimleri yazılı jüri üyeleri tarafından 7./7./ 2005 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oy birliği / ~~oybirliği~~ ile kabul edilmiştir. (S.B.E. Yön. Kur. Karar Tarih ve No :.....)

Tez Jürisi : Jüri Başkanı : Prof. Dr. Tervik Tekeli *bleheli*
Danışman : Doç. Dr. *Alper* *ERDEM*
Üye : Mahmut OK *M. Güneş*
Üye : Prof. Dr. Ahmet SEMERCİ *A. Semerci*
Üye : Doç. Dr. İsmail Kusan *I. Kusan*

1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZET.....	3
2.1. Koyunlarda Östrüs Siklusu.....	4
2.2. Gebeliğin Maternal Kabulü.....	5
2.3. Koyunlarda Gebelik Tanı Yöntemleri.....	7
2.3.1. Radyografi.....	7
2.3.2. Ultrasonografik yöntemler.....	7
2.3.2.1. A-Mode ultrasonografi.....	8
2.3.2.2. Doppler ultrasonografi.....	8
2.3.2.3. Real-time B-mode ultrasonografi.....	8
2.3.3. Ultrason fetal pulzasyon dedektörü.....	8
2.3.4. Fötal elektrokardiyogram.....	8
2.3.5. Rektal-abdominal palpasyon.....	8
2.3.6. Elle palpasyon.....	9
2.3.7. Meme sekresyonu.....	9
2.3.8. Vücut ağırlığının artması.....	9
2.3.9. Sakral refleks.....	9
2.3.10. Arama koçları.....	9
2.3.11. Vaginal biyopsi	10
2.3.12. Caudal uterus arterinin genişlemesi.....	10
2.3.13. Laparotomi ve peritenoskopi.....	10
2.3.14. Vaginal smear.....	10
2.3.15. Cervikal mukusun vizközitesi.....	11
2.3.16. Cervico-vaginal mukus arborisation testi.....	11
2.3.17. İdrar kreatin-kreatinine oranı.....	11
2.3.18. Östrojen enjeksiyonları.....	11
2.3.19. Kan şekeri seviyesi.....	11
2.3.20. İmmunolojik testler.....	11
2.3.21. Anti-kolostrum testi.....	12
2.3.22. Endokrinolojik muayeneler.....	12
2.3.22.1 Plazma progesteron analizi.....	12
2.3.22.2. Süt progesteron analizi.....	12
2.3.23.3. Plazma östrojen analizi.....	12
2.3.23.4. Ovine chorionic somatomamotrophin (OCS) veya ovine placental lactogen (oPL).....	13

2.3.24. Gebelik proteinlerinin değerlendirilmesi.....	13
2.3.24.1. Gebelik-spesifik protein B (oPSPB).....	13
2.3.24.2. Ovine pregnancy-associated glycoproteins (oPAGs).....	13
2.4. Embriyonal Dönemin Tanımı.....	13
2.5. Embriyonik Ölümün Nedenleri.....	14
2.5.1. Asenkronizasyon.....	14
2.5.2. Beslenme	15
2.5.3. Embriyo transferi.....	16
2.5.4. Enfeksiyöz nedenler.....	16
2.5.4.1. Embriyonun bulunduğu ortamın enfeksiyonu.....	17
2.5.4.2. Embriyonun enfeksiyonları.....	17
2.5.4.2.A. Hatching öncesi (zona pelucida bozulmadan önce).....	17
2.5.4.2.B. Hatching sonrası.....	17
2.5.5. Genetik nedenler.....	18
2.5.6. Hormonal dengesizlik.....	19
2.5.7. Stres.....	20
2.5.8. Ovulasyon oranı.....	20
2.5.9. Sıcaklık stresi.....	21
2.5.10. Yaş.....	22
2.5.11. Travma.....	22
2.6. Embriyonik Ölüme Ait Semptomlar.....	23
2.7. Embriyonik Ölüm Tanı Yöntemleri.....	24
2.8. Ultrasonografi.....	25
2.8.1. Ultrasonun tanımı ve bazı temel prensipleri.....	25
2.8.2. Real-time ultrason ile genital sistemin muayenesi.....	27
3. MATERYAL ve METOT.....	30-32
3.1. Materyal.....	30
3.2. Metot.....	30
4. BULGULAR.....	33-46
4.1. Aşım sonrası 18. günde gebe ve gebe olmayan uterusun ultrasonografik görünümü.....	35
4.2. Aşım sonrası 22, 26, 30 ve 34. günlerde gebe uterusun ultrasonografik görünümü.....	36
4.3. Onsekiz, 22, 26, 30 ve 34. günlerde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	37
4.4. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda uterusun ultrasonografik görünümü.....	39

III

4.5. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda uterusun ultrasonografik görünümü.....	41
4.6. Yirmiiki -26. günler arasında ikiz gebe koyunda gerçekleşen embriyonik ölümün ultrasonografik görüntüsü.....	43
4.7. Otuz-34. günler arasında ikiz gebe koyunda gerçekleşen embriyonik ölümün ultrasonografik görüntüsü.....	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	47-55
6. ÖZET.....	56-57
7. SUMMARY.....	58
8. LİTERATÜR LİSTESİ.....	59-65
9. ÖZGEÇMİŞ.....	66
10. TEŞEKKÜR.....	67



IV

Resim 1. Onsekizinci günde gebe olmayan uterusun ultrasonografik görünümü.....	35
Resim 2. Onsekizinci günde gebe olan uterusun ultrasonografik görünümü.....	35
Resim 3. Yirmiikinci günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü.....	36
Resim 4. Yirmialtıcı günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü.....	36
Resim 5. Otuzuncu günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü.....	36
Resim 6. Otuzdördüncü günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü.....	36
Resim 7. Onsekizinci günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	38
Resim 8. Yirmiikinci günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	38
Resim 9. Yirmialtıcı günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	38
Resim 10. Otuzuncu günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	38
Resim 11. Otuzdördüncü günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	38
Resim 12. Yirmiikinci günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 18. günde gebeliğin ultrasonografik görünümü.....	40
Resim 13. Yirmiikinci günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 22. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	40
Resim 14. Yirmiikinci günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	40
Resim 15. Yirmiikinci günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	40
Resim 16. Yirmiikinci günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	40
Resim 17. Yirmialtıcı günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunun 18. günde gebeliğinin ultrasonografik görünümü.....	42
Resim 18. Yirmialtıcı günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunun 22. günde gebeliğinin ultrasonografik görünümü.....	42
Resim 19. Yirmialtıcı günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	42

Resim 20. Yirmialtıncı günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	42
Resim 21. Yirmialtıncı günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	42
Resim 22. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 18. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	44
Resim 23. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 22. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	44
Resim 24. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	44
Resim 25. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 30 günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	44
Resim 26. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	44
Resim 27. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 18. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	46
Resim 28. Otuz -34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 22. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	46
Resim 29. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	46
Resim 30. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	46
Resim 31. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü.....	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Rektal muayene çubuğunun rektuma yerleştirilmesi.....30

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada elde edilen ultrasonografik muayene bulguları.....46



1. GİRİŞ

Embriyonik ölümler, embriyonal dönemde yüksek oranda karşılaşılan ve evcil hayvanlarda infertilitenin en önemli nedeni olarak kabul edilen bir sorundur. Koyunlarda embriyonik ölümler aşım sezonu içerisinde gebe kalmanın gecikmesine ve dolayısıyla doğum sezonunun uzamasına, çoğul gebeliklerde ise yavru sayısının azalmasına neden olarak önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Koyunculukta erken gebelik tanısı, gebe olmayan hayvanların erken dönemde belirlenerek tekrar tohumlanıp gebe kalmalarına olanak sağladığından büyük önem taşır. Bu durum aşım sezonu kısa süren ırklarda daha da önemlidir. Diğer yandan ikiz, üçüz gebeliklerin belirlenerek bakım ve beslemede gerekli özenin gösterilmesi, bu hayvanların abortus ve metabolizma hastalıkları gibi sorunlarla karşılaşmadan sağlıklı olarak gebeliklerini sürdürmelerini sağlayabilir.

Gebe olmayan koyunların erken tanısı, bu hayvanların mevsime bağlı östrüs siklusu göstermesi yönünden de ayrı bir önem taşımaktadır. Böylece gebe kalmayan koyunların infertilite nedenlerinin araştırılması ve sorunların aşım sezonu içerisinde giderilmesiyle bunların gebe kalmaları sağlanabilmektedir. Ayrıca gebe olmayan hayvanların çiftleştirilmeyip yalnızca yapağı verimi yönünden beslenmesi ya da tamamen elden çıkarılması gibi sürü yönetim planı yapılmasına imkan verilerek ekonomik açıdan da yarar sağlanabilmektedir. Koyunlarda gebelik tanısı yetiştiricilikte olduğu kadar, mezbahalarda gebe koyun kesiminin önlenmesi bakımından da önem taşımaktadır.

Erken gebelik tanısı sürü içerisinde koçun serbest dolaştığı işletmelerde önemsenmeyebilir. Ancak modern yetiştiricilikte, kontrollü üremenin yapıldığı sürülerde, koçun kıymetli ve sayıca yetersiz olduğu durumlarda ve sun'i tohumlama uygulamalarında büyük değer taşımaktadır.

Koyunlar sürü hayvanı olduğundan gebelik tanısı amacıyla kullanılacak yöntemin ucuz, basit, saha şartlarında kolayca uygulanabilir olması ve yüksek oranda doğru sonuç vermesi arzu edilir. Koyunlarda gebelik tanısı amacıyla uygulanabilen 20'den fazla yöntem bulunmakla birlikte çoğunun ekonomik, pratik ve saha şartlarında uygulanabilir olmaması, gebeliğin erken döneminde sonuç vermemesi, doğruluk oranının düşük olması, anne ve yavruya zararlı etkilerinin bulunması, sonuçların elde edilmesinin uzun zaman alması, deneyime ya da donanımlı laboratuvara gereksinim göstermesi gibi nedenlerden dolayı bunların uygulama alanı sınırlıdır. Bu yöntemler içerisinde real-time ultrason; fötüs, ana

hayvan ve operatör üzerinde zararlı bir etkisinin olmaması, saha şartlarında kolaylıkla uygulanabilmesi ve çabuk sonuç alınması nedeniyle son yıllarda en çok başvuru alan güvenilir bir yöntem olarak öne çıkmaktadır.

Real-time ultrason veteriner reproduksiyon alanında gebelik tanısı, yavru sayımı, yavrunun canlılığının belirlenmesi, uterus ve ovaryumlarda şekillenen fizyolojik değişimlerin izlenmesinin yanısıra; ovaryum kistleri, pyometra, hydrometra vb. bir çok genital organ bozukluklarının tanısında da kullanılmaktadır. Ayrıca transrektal ultrasonografik muayene ile yüksek doğruluk oranı elde edilerek erken gebelik tanısı yapılabilmekte, embriyo sayısı belirlenebilmekte ve daha da önemlisi embriyo gelişimi izlenebilmektedir.

Veteriner hekimlik alanında real-time ultrasondan önce embriyonik ölümler, mezbaha şartlarında kesim sonrası ovulasyon sayısı ve corpus luteum sayısı belirlenip, uterusun yıkanmasıyla elde edilen embriyo sayısı karşılaştırılarak veya seksüel siklustaki sapmalara göre belirlenmekteydi. Son 25 yıldan beri embriyonik ölümlerin in vivo ve direkt belirlenmesinde real-time ultrasonun uygun bir yöntem olduğu kabul edilmektedir. Bu yöntemde embriyonik ölümlerin tespiti, mümkün olan en erken zamanda gebeliğin belirlenerek embriyonal dönemin sonuna kadar düzenli aralıklarla muayenelerin yapılması esasına dayanır.

Embriyonik ölümler indirekt olarak plazma progesteron hormonu düzeyine göre de belirlenebilmektedir. Embriyonik ölüm sonucu daha önce yüksek olan plazma progesteron düzeyi düşmektedir. Bu amaçla aşımı izleyen 15, 16, 17 veya 18. günlerdeki progesteron düzeylerine göre gebelik tanısı yapılmakta ve izleyen günlerde progesteron düzeyindeki düşüşler embriyonik ölüm olarak değerlendirilmektedir.

Türkiye’de embriyonik ölümlerin belirlenmesi ile ilgili olarak ineklerde ve kısıraklarda yapılmış olan değişik çalışmalar olmakla birlikte, koyunlarda henüz böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Sunulan çalışmada; koyunlarda embriyonik ölümlerin belirlenmesinde direkt bir yöntem olan real-time ultrason uygulamaları, indirekt bir yöntem olan plazma progesteron düzeyleri ile doğrulanarak, embriyonik ölümlerin insidansı belirlenmiş ve mevcut kayıplar değerlendirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Koyunlarda embriyonal dönem, aşım sonrası gebe kalanlarda 34. güne kadar olan süre olarak tanımlanmaktadır (Ley 1985). İlk olarak 1923 yılında Corner tarafından domuzlarda ortaya konan embriyonik ölümlerin insidansının çiftlik hayvanlarında % 20-50 arasında olduğu (Arthur ve ark 1989), koyunlarda ise embriyonik ölüm oranının % 20-30 arasında değiştiği, meydana gelen bu ölümlerin çoğunun 30. günden önce şekillendiği ve 30. günden sonraki kayıpların % 1-4 arasında değiştiği bildirilmektedir (Bretzlaff ve ark 1993, Nancarrow 1994, Kaulfuss ve ark 1996, Wilkins 1997, Alosta ve ark 1998). Michels ve ark (1998); toplam kayıpların % 73'ünün implantasyondan önce, % 23'ünün implantasyondan sonra ve % 4'ünün de fetal dönemde olduğunu belirtmektedirler. Strmsnik ve ark (2002) da; embriyonik ölümlerin insidansının 3-30. günler arasında en yüksek oranda gerçekleştiğini bildirmektedirler. Aşım yaptırılan koyunlarda 13. günden önce meydana gelen embriyonik ölümlerde uterustan salınan PGF2 α etkisiyle corpus luteum (CL) lize olduğundan siklus uzunluğu değişmemekte, 13-19. günler arasında meydana gelen embriyonik ölümlerde ise CL, varlığını 2-18 gün devam ettirdiğinden östrüs siklusu uzamaktadır (Nancarrow 1994). Ancak Michels ve ark (1994); koyunlarda aşım sonrası 17-18. günden 34. güne kadar meydana gelen kayıpların embriyonik ölüm olarak değerlendirilmesi gerektiğini ileri sürmektedirler.

Ultrasonografik muayene; rutin gebelik muayenesi, gebelik anomalileri, ovaryum fonksiyonları ve embriyonik ölümlerin tespit edilmesi amacıyla güvenilir ve hemen sonuç vermesi nedeniyle diğer jinekolojik muayene yöntemlerine göre daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Shrick ve Inskeep 1993, Kaulfuss ve ark 1997).

Ovulasyon sonrası CL'nin oluşmasıyla özellikle siklusun üçüncü gününden itibaren kanda progesteron düzeyi hızla yükselmekte ve siklusun 10-14. günleri arasında maksimum düzeyi olan 3-4 ng/ml'ye ulaşmaktadır. Gebelik oluşmamışsa siklusun 12. gününden itibaren endometriumdan salgılanmaya başlayan PGF2 α CL'nin lizisine neden olduğundan 14. günden itibaren kandaki progesteron düzeyi düşmekte ve 16. günde bazal seviyeye <0.2 ng/ml'ye inmektedir. Buna karşılık gebe hayvanlarda CL regrese olmadığından progesteron düzeyi yüksek kalmaktadır. Bu durumda 0. ve 17. gündeki plazma progesteron düzeyleri arasındaki farklılıklar gebelik tanısında kullanılmaktadır (McPhee ve Tiberghien 1987, Alaçam ve ark 1988, Ünal ve ark 1991, Kadunc ve ark 2000).

Evcil hayvanlarda erken gebelik tanısı ekonomik yönden büyük önem taşımaktadır. Özellikle seksüel aktivite bakımından mevsimsel poliöstrik olan koyunlarda gebeliğin ya da daha doğru bir yaklaşımla gebe olmayanların erken tanısı önemlidir (Alaçam ve ark 1988, Garcia ve ark 1993, Cunningham ve Deborah 1997, Dinç ve ark 2001). Çünkü gebe olmadığı belirlenen bir koyuna aşım sezonu içerisinde yeniden gebe bırakma girişimleri yapılabilmektedir. Gebe olduğu belirlenen koyunlarda ise embriyonal dönem izlenebilmekte, fötüs sayısı, fötal yaş ve gebelikteki anormaliteleri belirlenebilmektedir (Cunningham ve Deborah 1997, Gordon 1997).

2.1. Koyunlarda Östrüs Siklusu

Koyunlar pubertasa ortalama 8, yetiştirme olgunluğuna ise 9-15 aylık olduklarında erişmektedirler. Irk, ısı, ışık ve beslenme gibi çevresel faktörler pubertasa ulaşma yaşını etkiler. Pubertasa erişme yaşı, doğum zamanından etkilenmektedir. Kış sonunda doğan kuzular ilkbaharın sonunda doğan kuzulara göre daha erken pubertasa erişmektedir. Koyunlar mevsimsel poliöstrik hayvanlar olup, aşım sezonunda gebe kalmadıkları sürece sezon sonuna kadar östrüs gösterirler. Kuzey yarımkürede çiftleşme mevsimi, günlerin kısaltmaya başladığı yaz sonundan sonbahar ve kış başlarına kadar devam eder. Buna halk arasında “koç katımı” mevsimi adı verilir (Ward 1986, Çoyan 1994, Kalkan ve Horoz 1999, Thomas 2005). Türkiye’de aşım sezonu; Orta Anadolu, Güney Doğu ve Karadeniz bölgelerinde Eylül-Ekim, Doğu Anadolu’da Ekim-Kasım, Ege ve Marmara’nın kıyı bölgelerinde Haziran-Ağustos ve Trakya’da Temmuz-Ağustos aylarında başlar (Kaya 1996).

Östrüs siklusu uzunluğu ortalama 16-17 (14-21 gün) gün olup, sıcak iklimlerde ve aşım sezonunun sonuna doğru daha uzundur. Östrüs siklusunun evrelerinden proöstrüs 2-3 gün, östrüs 30-36 saat, metöstrüs 2 gün, diöstrüs 12-14 gün sürer. Anöstrüs seksüel dinlenme dönemi olup, kuzey yarımkürede kış ortalarından yaz ortalarına kadar sürer (Ward 1986, Çoyan 1994, Kalkan ve Horoz 1999, Thomas 2005).

Seksüel siklusun hormonal mekanizması kısıraklara benzer ve epifiz bezinden salgılanan melatonin tarafından kontrol edilir. Ancak sikluslar kısıraklardan farklı olarak günlerin kısaltmaya başladığı zamanda başlar. Kısa günler seksüel aktiviteyi uyarıcı etki yaparken, uzun günler inhibitör etki yapar. Seksüel aktivite üzerine ışık periyodunun etki mekanizması şu şekilde izah edilir. Gözdeki retina tarafından algılanan günlerin uzunluğu ya da kısalığıyla ilgili ışık bilgi sinyali, pineal beze gider. Bu uyarıya karşı pineal bez

cevap olarak melatonin salınımını başlatır. Gün uzunluğunun kısılmasına bağlı olarak artan melatonin koyunlarda GnRH salınımının artmasına neden olur. Daha sonra GnRH, hipofiz ön lobunu etkileyip FSH ve LH salınımını uyarak folliküler gelişme kontrol edilir (Kaya 1996, Kalkan ve Horoz 1999, Thomas 2005).

Diöstrüsün sonlarında kanda progesteron düzeyinin düşmesi ile hipotalamus uyarılır. Hipotalamustan salınan GnRH'de hipofizi uyarak FSH salgısını başlatır. FSH salınımıyla ovaryumlarda follikülogenezis başlar. Folliküler gelişme proöstrüs boyunca hızlı olur ve ovulasyon öncesi östrüste iken tamamlanır. Östrüsten 24 saat öncesinde ovaryumlardaki folliküllerin gelişmesine bağlı olarak kandaki östradiol-17 β 10-20 pg/ml düzeyine çıkar. Bu artışa paralel olarak vulvada ödem, cervical mukusta artış, vagina epitelinde değişimler, koyunların koça yaklaşması gibi östrüs semptomları görülür. Aynı zamanda hipofizin de uyarılması sonucu LH salgısı başlar. LH düzeyi, pik değeri olan 80 ng/ml'ye ulaştığı zaman; hem LH hem de östrojen düzeyi hızla düşer. LH'nin ovulasyonu stimule etmesi, LH pikinden 14 saat sonra gerçekleşmektedir. Başka bir ifadeyle koyunlarda ovulasyon, östrüsün başlamasından 24-30 saat sonra oluşmaktadır. LH pikiyle aynı zamanda FSH düzeyi de pik değer olan 170 ng/ml'ye ulaşır ve daha sonra hızla düşer (Ward 1986, Kaya 1996, Kalkan ve Horoz 1999).

Ovulasyonu takiben granuloza ve teka hücreleri LH etkisiyle luteinize olarak CL şekillenmeye başlar. Corpus luteum'un gelişmesinde prolaktin de rol oynamaktadır. Corpus luteum, siklusun yaklaşık 2-3. günlerinde progesteron salgılamaya başlar. Progesteron 8. günde en yüksek seviyeye ulaşır ve 12-14. güne kadar seviyesini devam ettirir. Progesteronun negatif feedback etkisiyle hipotalamus ve hipofizi baskı altında tutularak yeni bir östrüs oluşumu engellenir. Eğer uterusu canlı bir embriyo yoksa endometriumdan PGF2 α salgılanmaya başlar ve CL'nin regresyonu sağlanır. Gebe olmayan koyunda PGF2 α düzeyi 14. günde pik değere ulaşır. Corpus luteum'un regresyonuna bağlı olarak plazma progesteron düzeyinin düşmeye başlamasıyla birlikte, progesteronun hipotalamus ve hipofiz üzerindeki negatif baskısının kalkması sonucu folliküler gelişme tekrar başlar. Gebelik şekillenmediği sürece bu olaylar bir çiftleşme mevsiminde 6-9 kez devam eder (Ward 1986, Çoyan 1994, Kalkan ve Horoz 1999).

2.2. Gebeliğin Maternal Kabulü

Gebeliğin maternal kabulü; conceptus ve maternal ortam arasındaki immun, vasküler ve endokrin sistemleri kapsayan kompleks bir olaydır (Gordon 1997). Devamlı

gelişmeler gösteren conceptus (embriyo ve keseleri)'un yapısı, fonksiyonları ve maternal ortamla kurduğu bağlantılar üç ayrı dönemde incelenmektedir;

- Blastogenezis; zigotun veya fertilize ovumun hücresel bölünerek çoğalma evresi
- Embriyogenezis; farklılaşma ve organogenezis veya metamorfozis evresi
- Fötal büyüme evresi

Erkek ve dişi pronükleuslarının birleşmesiyle meydana gelen zigot, birbirini takip eden mitotik bölünmelere uğrar. İlk bölünmeyi takiben blastomer olarak adlandırılan iki hücreli embriyo haline gelir. Birbirini izleyen bu mitotik aktivitelerle, hücreler küçülür, ancak embriyonun hacminde net bir artış olmaz. Çünkü blastomerler zona pellucida içerisinde bölünmekte, zona pellucida'nın hacmi sabit kalmaktadır.

Embriyo 24 saatte 2 hücreli, 1-3 günde 4 hücreli ve 3-5 günde morula dönemindedir. Embriyolar uterusu ulaştıkları zaman 8-16 hücreli morula safhasındadırlar. Daha sonra blastocyst haline gelirler. Bu kritik dönemin başlangıcında gebeliğin devam edebilmesi için conceptus anaya sinyal gönderir. Bu olay gebeliğin maternal kabulü olarak bilinmektedir. Gebeliğin sürdürülebilmesi için luteolizisin engellenmesi ve progesteron düzeyinin yeterince yüksek düzeyde kalması gerekmektedir. Conceptusun anaya gönderdiği sinyaller luteolizisin oluşmasını engellemektedir (Ward 1986, Alaçam 1997, Gordon 1997, Güler 1999, Senger 1999, Goff 2002).

Koyunda serbest dolaşan blastocyst, spesifik proteinler üretir. Bu spesifik proteinler ovine trophoblastic protein-1 (oTP-1) olarak adlandırılmakta ve günümüzde aktif interferonlar veya interferon tau (IFN-tau) olarak bilinmektedir. İnterferonlar en fazla lökositler, fibroblastlar, lenfositler ve trophoblastlar tarafından üretilen 18.000-20.000 dalton ağırlığında glikoproteinlerdir (Senger 1999). Gebeliğin 10-21. günleri arasında embriyonun genişleyen trophoblastic hücrelerinden interferon salınımı yapılmaktadır. İnterferonun görevi uterus endometriumundan luteolitik prostaglandin üretimini engellemektir (Gordon 1997). Ancak bunun luteotropik etkileri bulunmamaktadır ve CL tarafından progesteron üretimi interferonlar tarafından artırılmamaktadır (Senger 1999). İnterferon-tau'nun etki mekanizması, endometrium epitel hücrelerinde direkt olarak östrojen reseptörlerini ve buna bağlı olarak da oksitosin reseptörlerinin sentezlenmesini önleyerek PGF2 α 'nın pulsatil salınımını engellediği şeklinde izah edilmektedir. Bir diğer görüş ise; IFN-tau, 9-ketoreduktaz enzimini stimule ederek PGF2 α 'yı PGE2'ye çevirmektedir. PGE2 seviyesinin utero-ovarian damarlarda gebeliğin 12.5-14.5 günleri

arasında kanda dört kat artması bu görüşü desteklemektedir (Jouniden ve Hafez 1987, Senger 1999). PGE2, ovaryum damarlarında vazodilatasyon ve sonuçta luteotropik destek sağlamaktadır (Alaçam 1997, Gordon 1997).

Koyunlarda siklusun 14-16. günleri arasında endometriumdan PGF2 α salınımı artmakta ve CL'nin regresyonu gerçekleşmektedir (Jouniden ve Hafez 1987). Gebe olmayan koyunlarda 14-15. günler arasında PGF2 α pulzasyonu 7.6 iken, gebe koyunlarda 1.3'tür. Östrojen ise endometriumda oksitosin reseptörleri artışını uyarır. Oksitosin hipofiz arka lobu ve/veya CL'den salınır ve PGF2 α salınımını stimule eder (Jouniden ve Hafez 1987, Gordon 1997). PGF2 α salınımı oksitosin reseptörlerinin başlangıçtaki eşik sayısına bağlıdır. Diğer bir ifadeyle, bu reseptörler yeterli sayıda bulundukları zaman PGF2 α salınımı başlamaktadır (Senger 1999). İnterferonlar endometrial östradiol reseptörlerini baskı altında tutarak oksitosin reseptörlerinin sentezini önler ve bu da PGF2 α salınımının engellenmesine neden olur (Gordon 1997).

2.3. Koyunlarda Gebelik Tanı Yöntemleri

Son yıllarda koyunlarda erken gebelik tanısının önemi gittikçe artmaktadır. Çünkü gebe kalmayan ya da gebeliği sona eren bir koyunun işletmeye yıllık maliyetinin 6-7 koyundan elde edilen ekonomik kazanca eşit olduğu ileri sürülmektedir (Richardson 1972, Cunningham ve Deborah 1997, Gordon 1997).

Koyunlarda gebelik tanısı amacıyla uygulanabilen birçok yöntem bulunmaktadır.

2.3.1. Radyografi

Koyunlarda radyografik tanı yöntemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında Cowie tarafından uygulanmıştır (Richardson 1972). Gebeliğin 70. gününden itibaren fetal iskelet kalsifiye olduğundan gebelik tanısı ve fetal sayı tahmini kesin olarak yapılabilmektedir (Ward 1986). Gebeliğin 70. gününden sonra gebelik tanısı % 100, fetal sayı tahmini % 90 doğrulukta belirlenebilmektedir. Bu yöntem yüksek doğruluk oranının yanı sıra hemen sonuç vermesi bakımından da önemlidir. Hayvanlar dorso-ventral pozisyonda muayene edilir. Bir günde 400-600 koyun muayene edilebilir. Ekipman maliyeti ve operatörün sağlığının risk altında olması, bu yöntemin dezavantajlarıdır (Richardson 1972, Gordon 1997, Karen ve ark 2004a).

2.3.2. Ultrasonografik yöntemler

Küçük ruminantların gebelik tanısında üç tip ultrason sistemi kullanılmaktadır.

2.3.2.1. A-Mode ultrasonografi

A-mode ultrason koyunlarda gebelik tanısı amacıyla ilk defa 1966 yılında Lindhal tarafından kullanılmıştır. A-mode ultrason hızlı, kullanışlı ve basit bir yöntemdir. Ancak bu yöntemde fetal sayı tahmini ve canlılık muayenesi yapılamamaktadır (Karen ve ark 2001). Gebeliğin 50-120. günleri arasında açıklık çukurluğunun altında memelerin yan tarafındaki tüysüz bölgeye uygulanarak oldukça güvenilir sonuçlar alınmaktadır (Taşal ve ark 1995). Alan ve ark (1993) yaptıkları çalışmada; gebeliğin 56-69. günlerinde gebelik tanısının % 100'e yakın doğrulukla yapılabildiğini bildirmektedirler.

2.3.2.2. Doppler ultrasonografi

Çalışma prensibi; fetal kalp atımının, fetal damarların ve uterustaki damarların kan akımının tespitine dayanmaktadır. Gebeliğin 40. gününden itibaren doğru tanı konulabilmektedir (Karen ve ark 2001).

2.3.2.3. Real-time B-mode ultrasonografi

Koyunlarda gebelik tanısı, canlılık muayenesi, fetal sayı tahmini ve yaş tayininde hızlı, güvenilir ve pratik bir yöntemdir. Transrektal olarak 17-19. günden itibaren gebelik tanısı, 25. günden itibaren de embriyo sayımı yapılabilmektedir, 30. günden itibaren transabdominal yoldan muayeneler yapılabilmektedir (Ward 1986, Taşal ve ark 1995, Dinç ve ark 2001, Karen ve ark 2001).

2.3.3. Ultrason fetal pulzasyon dedektörü

Bu yöntem ilk kez insanlarda gebelik tanısında plasental lokalizasyon ve fetal yaşamın belirlenmesinde kullanılmıştır. Fetal kalp atımı ve/veya umbilikal sesler gebeliğin göstergesidir (Richardson 1972).

2.3.4. Fetal elektrokardiyogram

Koyunlarda gebelik tanısında fetal elektrokardiyogram % 20 oranında doğru sonuç vermektedir (Richardson 1972).

2.3.5. Rektal-abdominal palpasyon

Bu yöntem ilk kez 1972 yılında Hulet tarafından uygulanmıştır. Yöntemin prensibi; genişleyen uterusun, rektuma sokulan bir proba tespiti esasına dayanmaktadır. Kayganlaştırılmış bir cam çubuğun (1.5x50 cm) sırtüstü yatırılmış koyunun rektumuna yerleştirilmesiyle yapılmaktadır. Bir elle çubuk idare edilirken, diğer el posterior

abdomene konulur. Deneyimli bir operatör gebeliğin ikinci yarısından itibaren yüksek doğrulukta tanı koyabilmektedir (Gordon 1997). Bu yöntem basit, hızlı ve düşük maliyetli olmasına rağmen, çoğul gebeliklerin tanısında doğruluğunun azlığı, rektum mukozasında hasara ve abortusa neden olabilmesi gibi önemli dezavantajları bulunabilmektedir (Karen ve ark 2001).

2.3.6. Elle palpasyon

Bu yöntemle gebeliğin ilerleyen dönemlerinde (90-130. günlerde) % 80-95 doğrulukta gebelik tanısı yapılabilmektedir. Abdominal palpasyonun gebeliğin ilerleyen dönemlerinde uygulanabilmesi ve fetal sayı tahmininin yapılamaması nedeniyle fazla bir ekonomik değeri yoktur (Ward 1986, Gordon 1997).

2.3.7. Meme sekresyonu

Bu yöntem ilk kez 1942 yılında Webb tarafından uygulanmıştır. İlk kez gebe kalan koyunlarda gebeliğin 3. ayından itibaren memeden yapışkan, bal benzeri bir sıvı geldiği, çok sayıda doğum yapmış olan koyunlarda bu sekresyonun daha sulu olduğu belirtilmektedir. Dolayısıyla bu bulgular gebelik tanı yöntemi olarak değerlendirilebilmektedir (Richardson 1972).

2.3.8. Vücut ağırlığının artması

İkiz gebe koyunların aşım öncesi vücut ağırlığıyla gebeliğin 4. ayındaki vücut ağırlığı kıyaslandığı zaman %13-16 oranında artış gösterdiği, tek yavru taşıyanlarda aynı dönemde ağırlık artışının % 6-12 oranında olduğu bildirilmektedir (Richardson 1972).

2.3.9. Sakral refleks

Bu yöntem ilk kez 1960 yılında Gavrilyak tarafından uygulanmıştır. Gebe olmayan koyunlarda 1. ve 2. sakral vertebranın her iki tarafının dorseline 1-1.5 kiloluk mekanik bir basınç uygulandığında gayret sarfettikleri tespit edilmiştir. Gebe olan koyunlarda ise bu refleks gözlenmemiştir. Ayrıca karakteristik olarak, gebe olmayan koyunların sağrı kaslarının daha aşağıda olduğu belirtilmektedir (Richardson 1972).

2.3.10. Arama koçları

Arama koçlarının göğüs kısmının boyanarak östrüste bulunan koyunları bulmaları en eski yöntemlerden birisidir. Gebe kalmayan koyunların tekrar östrüs göstermeleri ve bunun belirlenmesi esasına dayanır (Richardson 1972, Ward 1986).

2.3.11. Vaginal biyopsi

Bu yöntem ilk kez 1972 yılında Richardson tarafından uygulanmıştır. Yöntem; gebe olan koyunun vaginal hücre katlarının gebe olmayan koyuna göre farklılık göstermesi esasına dayanır. Bu yöntemde vaginal mukoza kesiti orificium uretranın hemen önündeki vagina duvarından alınmaktadır. Gebe olmayan koyunlarda vaginal epitel 12 hücre katmanından oluşmakta olup, lumene bakan hücreler düz ve squamöz'dür. Gebe koyunlarda ise vaginal epitel, 5 hücre katmanından oluşur ve lumene bakan hücreler kübik ve primordiyaldir (Richardson 1972, Karen ve ark 2001). Gebeliğin 40. gününden itibaren % 93-97, 80. günden sonra % 100 doğrulukla tanı konulmaktadır (Ward 1986). Alaçam ve ark (1982); aşımı izleyen 2. ve 3. aylarda vaginal biyopsi yöntemiyle % 85 doğrulukta gebelik tanısı yapmışlardır. Hemen sonuç vermemesi ve donanımlı laboratuvar şartlarına gereksinim göstermesi yöntemin önemli dezavantajlarıdır.

2.3.12. Caudal uterus arterinin genişlemesi

İlk kez 1952 yılında Varenika tarafından uygulanmıştır. Koyunlarda erken gebelik tanısı için uygulanması kolay olan bir yöntemdir. Gebe koyunlarda, gebeliğin 50. gününden itibaren a.uterina caudalis sert ve kalın bir hal alır; gebelik ilerledikçe de daha kolay farkedilebilir. Arterin pulzasyonu gebeliğin 60. gününden sonra vaginaya yerleştirilen parmakla rahatlıkla hissedilir. Genişleyen arter saat on ve iki yönünde bulunmaktadır. Gebe olmayanlarda ise arter incedir ve hissedilmez (Richardson 1972). Gebelik tanısı amacıyla bu yöntemin uygulandığı bir çalışmada (Şendağ ve ark 1996), 70-79. günler arasında gebelik % 77 oranında doğrulukla belirlenmiştir.

2.3.13. Laparotomi ve peritenoskopi

Gebeliğin 4. haftasında fossa paralumbalise 5 cm genişliğinde bir ensizyon yapılarak pelvis boşluğu digital olarak gözlenir. Gebelik durumunda uterusun gergin, kalın duvarlı, 1 cm çapında ve pelvik çatının önünde olduğu, 6-7. haftadan sonra cornuların çapının 5-10 cm'e ulaştığı ve cotiledonların varlığı tespit edilebilmektedirler. Doğruluk oranı tekli gebeliklerde yüksek, çoğul gebeliklerde ise sınırlıdır (Ward 1986).

2.3.14. Vaginal smear

Gebe koyunların vaginal smearlarında keratinize polygonal hücreler, gebe olmayanlara göre % 80 oranında daha azdır. Gebeliğin ilk 60 gününde % 45-50 civarında olan bu oran gebelik ilerledikçe giderek artmaktadır (Richardson 1972).

2.3.15. Cervikal mukusun vizközitesi

Cervikal mukusun akışkanlığı ve elastikiyetindeki değişikliklere göre gebelik tanısı ilk kez 1961 yılında Hashimoto tarafından uygulanmıştır. Bu teste göre gebeliğin 50. gününden sonra mukus örneğinin bulanık olması % 100 doğrulukta hayvanın gebe olduğunu göstermektedir (Richardson 1972).

2.3.16. Cervico-vaginal mukus arborisation testi

Cervikal mukusun klorit içeriği östrüste ve ovulasyon zamanında artmaktadır. Bu dönemde alınan örnekler mikroskop altında incelendiği zaman eğrelti otu manzarası görülmektedir. Gebe koyunlardan alınan mukusta bu manzaranın görülmemesi yöntemin esasını oluşturmaktadır (Richardson 1972).

2.3.17. İdrar kreatin-kreatinine oranı

Gebe hayvanlarda idrar kreatin-kreatinine oranının artmasının gebelik tanısı amacıyla kullanılabilceği ileri sürülmektedir. Kreatinin, kreatin metabolizmasının günlük atılan fazlalığıdır ve değerleri sabittir. Gebe olmayan koyunlarda 0.57-0.88 mg/kg'dır. Gebe olmayan koyunlarda kreatin/kreatinine oranı 0.891 iken, gebeliğin 60. gününde bu oran 1.056 olarak bulunmuştur (Richardson 1972).

2.3.18. Östrojen enjeksiyonları

Bu yöntemde koyunlara diöstrüsün ortasından itibaren (yaklaşık 8. günde) östrojen enjeksiyonu yapıldığında, gebe olmayan koyunlar enjeksiyondan sonra üç gün içerisinde östrüs belirtileri gösterirken, gebe olan koyunlar östrüs belirtileri göstermemektedirler (Richardson 1972).

2.3.19. Kan şekeri seviyesi

Kan glikoz seviyesinde gebeliğin değişik dönemlerinde fark bulunmazken, laktasyondakiler ile gebe koyunlar arasında önemli fark bulunduğu ifade edilmektedir (Richardson 1972).

2.3.20. İmmunolojik testler

Antijenler aşımından 24 saat gibi kısa bir süre sonra maternal dolaşımda tespit edilebilmektedir. Fertilizasyondan kısa bir süre sonra lenfosit aktivitesinde değişiklikler meydana gelmekte ve bu sayede embriyonun maternal doku tarafından reddi engellenmektedir. Koyunlarda erken gebelik; gebelik-spesifik antijeni hemaglutinasyon

testi kullanılarak yapılabilmektedir. Gebeliğin 6-50. günleri arasındaki koyunlardan alınan birkaç damla kana tavşan anti-koyun embriyo serumu katıldığı zaman hemaglutinasyon oluşmakta, gebe olmayan koyunların kanına ilave edildiği zaman hemaglutinasyon oluşmamaktadır. Bu yöntem gebeliğin çok erken dönemde belirlenmesine olanak sağlamakla birlikte uygulanabilirliği sınırlıdır. Tekli ve çoğul gebeliğin ayırt edilmesinde kullanılamamaktadır (Ward 1986, Gordon 1997, Karen ve ark 2001).

2.3.21. Anti-kolostrum testi

Bu yöntemde; kolostrum kuyruk kökünün altına veya meme derisinin kılsız bölgesine enjekte edildiğinde gebe koyunlarda enjeksiyondan bir saat sonra güçlükle farkedilebilen hipereminin görülmesi gebeliği işaret etmektedir (Richardson 1972).

2.3.22. Endokrinolojik muayeneler

2.3.22.1. Plazma progesteron analizi

Koyunlarda plazma progesteron düzeylerinin belirlenmesi aşımından sonraki 17-18. günlerde enzimimmunoassay (EIA), radioimmunoassay (RIA) ve ELISA yöntemleri kullanılarak yapılmaktadır. Bu testler kullanılarak aşımından sonraki 17-18. günlerde gebe olmayan hayvanlarda % 100, gebe hayvanlarda % 85-90 oranında doğru tanı konulabilmektedir (Richardson 1972, Susmel ve Piasentier 1992, Gordon 1997, Karen ve ark 2004b). Progesteron analizlerinin maliyetinin yüksek olması, zaman alması, donanımlı bir laboratuvara gereksinim göstermesi ve tekli-çoğul gebeliklerin ayırt edilmesindeki doğruluğunun düşük olması yöntemin dezavantajları olarak görülmektedir (Ward 1986).

2.3.22.2. Süt progesteron analizi

Gebe olmayan koyunların belirlenmesinde aşımından sonra 18. günde doğruluk oranı % 92-100 arasında değişmektedir (Gordon 1997). Süt progesteron düzeyinin aşımından sonraki 22-26. günlerde 10 ng/ml⁻¹'in üzerinde olması gebelik yönünden pozitif olarak değerlendirilmektedir. Gebe olanları doğru belirleme oranı % 86, gebe olmayanları doğru belirleme oranı % 100 olarak bildirilmektedir (Ishwar 1995). Gebe olan hayvanların tanısında doğruluk oranının düşük çıkmasının nedeni sütte bulunan özel proteinlerin daha yüksek seviyede olmasına bağlanmaktadır (Gordon 1997).

2.3.23.3. Plazma östrojen analizi

Östrojen plasentadan sentezlenip salgılanır ve maternal sirkulasyonda belli düzeyde bulunur. Gebelik ilerledikçe ve özellikle de gebeliğin 70. gününden itibaren plazma

östrojen düzeyi belirgin olarak artar. Östrojen düzeyi fötüs sayısına göre değişebilmektedir (Gordon 1997, Karen ve ark 2001). Alaçam ve ark (1988)'ın bildirdiğine göre; Thimonier ve ark (1977) plazma östrojen seviyelerine göre gebeliğin 100-110. günlerde % 99 doğrulukta belirlenebileceğini belirtmektedirler.

2.3.23.4. Ovine chorionic somatomamotrophin (oCS) veya ovine placental lactogen (oPL)

Ovine chorionic somatomamotrophin, memenin gelişimi ve laktasyondan sorumludur. Gebeliğin 55. gününden sonra kanda oPL düzeyi önemli derecede artış göstermektedir (Gordon 1997). Gebeliğin 64. gününde oPL'nin RIA yöntemi ile ölçülmesiyle gebe ve gebe olmayan hayvanlarda sırasıyla % 97 ve % 100 doğrulukta sonuç elde edilmiştir (Karen ve ark 2001).

2.3.24. Gebelik proteinlerinin değerlendirilmesi

2.3.24.1. Gebelik-spesifik protein B (oPSPB)

Gebeliğin 60-120. günleri arasında oPSPB'nin ölçülmesiyle tekli ve ikiz yavru taşıyan koyunlar sırasıyla % 71 ve % 81 doğrulukta tespit edilebilmektedir (Gordon 1997).

2.3.24.2. Ovine pregnancy-associated glycoproteins (oPAGs)

Ovine pregnancy-associated glycoproteins, trophoblast'ın iki çekirdekli hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Kanda oPAG Merinos koyunlarında aşımından sonra 3. haftada 30 koyundan 20'sinde, 4. haftada bütün koyunlarda tespit edilmiştir. Gebeliğin 3-9. haftasından itibaren oPAG düzeyinde artış daha yavaştır (Karen ve ark 2001).

2.4. Embriyonal Dönemin Tanımı

Koyunlarda embriyonal dönem; fertilizasyonu takiben zigotun oluşmasıyla başlayan, daha sonra zigotun uterus duvarına tutunarak ekstra embriyonik membranların oluşması ile organ ve dokuların gelişmesine kadar geçen dönem olarak tanımlanır. Başka bir ifadeyle; koyunlarda embriyonal dönem 0-38. saatten 34. güne kadar devam eden bir dönemdir (Ley 1985). Bu dönem sonunda embriyo, anılan türün minyatür bir modelini oluşturur (Alaçam 1997).

Fertilizasyondan doğuma kadar olan süre genetik olarak her hayvan türü için belirlidir. Bu uzun süreç blastogenezis, embriyonal ve fetal dönem olmak üzere başlıca üç dönemi kapsar. Blastogenezis, fertilizasyondan gebeliğin maternal kabulüne kadar olan dönemdir. Bu dönemde conceptus teratojenik etkilere karşı oldukça dayanıklıdır.

Embriyonal dönem, koyunda blastogenezin sonundan 34. güne kadar olan süredir ve teratojenlere karşı oldukça duyarlıdır. Fötal dönem ise 34-150. günler arasındaki dönemdir (Michels ve ark 1994).

Fötal dönem daha uzun olmasına rağmen, embriyonal dönem organizmanın gelişimi ve yaşamını devam ettirmesi için daha kritik bir dönemdir. Embriyonal dönemde koyun embriyosu 1-10. günler arasında küre formunda iken daha sonra uzayarak 12-14. günlerde flamatöz forma dönüşür ve gebeliğin 15. gününde blastocyst yeterince büyüyerek cornu uterinin yüzeyine temas eder (Gordon 1997).

2.5. Embriyonik Ölümün Nedenleri

2.5.1. Asenkronizasyon

Embriyonun gelişimi ile maternal ortamın uyumsuzluğu embriyonik ölümün nedenlerindendir. Asenkronizasyon olarak adlandırılan bu durum, LH pikini takiben progesteron düzeyindeki değişkenliklerin olması neticesinde oluşmaktadır (Ashworth ve ark 1989). Steroid dengesizliği embriyo ve uterus arasındaki karşılıklı iletişimi etkileyerek, belirli bir zamanda embriyo veya uterusun hazır olmamasına neden olur (Noncarrow 1994).

Koyunlarda embriyonun uterusu migrasyonu gebeliğin ikinci haftasında gerçekleşmektedir. Gebeliğin maternal kabulünden sonra, özellikle kontralateral cornu uteriye girişte embriyolar asenkroni durumuna duyarlıdırlar. Bunun nedeni olarak kontralateral cornu uterinin daha önce oTP-1'e maruz kalmadığı ileri sürülmektedir. Bu fizyolojik nedenden dolayı araştırmacılar (Pope 1988), embriyonik ölümlerin önemli bir oramının gebeliğin 17-18. günlerinde migrasyondan kısa bir süre sonra meydana geldiğini ifade etmektedir.

Ovulasyon sayısının fazla olması asenkronizasyon olayında önemli bir yer tutmaktadır. Bilateral multiple ovulasyon gösteren koyunların embriyonal yaşam şanslarının, unilateral multiple ovulasyon gösteren koyunlardan daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Pope 1988).

Uterus ortamının uygun hale gelmesi, uygun hormonal değişikliklerin oluşmasına bağlıdır. Bu hormonal değişiklik gerçekleşmediğinde uyumun bozulduğu, yapılan embriyo transferi çalışmalarıyla ortaya konulmuştur. Buna göre embriyo vericileri ve alıcıları arasındaki asenkronizasyon embriyonik ölümlerin neden olabilmektedir (Noncarrow 1994, Goff 2002, Vallet ve ark 2002).

2.5.2. Beslenme

Beslenme tarzının embriyoların gelişimi ve ölümü üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak beslenmenin endokrin dengede muhtemel bir değişikliğe yol açabileceği ve sonuçta plazma progesteron düzeyindeki değişikliklere bağlı olarak embriyo ve uterus arasında bir asenkronizasyona neden olabileceği ifade edilmektedir (Nancarrow 1994).

Koyunlarda embriyonik ölümlerin oranındaki artışlar hem aşırı beslenme hem de yetersiz beslenmeye bağlı olabilmektedir. Erken gebelikte plazma progesteron düzeyi ile beslenme arasında ters bir ilişki gözlenirken; gebeliği devam eden koyunlarda ovaryum damarlarında ve endometrial dokuda, embriyonik ölüm geçiren hayvanlara göre progesteron düzeyi daha yüksek olarak bulunmuştur. Rasyondaki enerji ve protein seviyesinin embriyo yaşamı ve gelişmesindeki etkisi hem ovaryum hem de uterus damarlarındaki progesteron düzeyi ile ilişkilidir (Abecia ve ark 1997).

Yetersiz beslenme veya şiddetli negatif enerji dengesinde öncelikle folliküler gelişme, oosit kalitesi ve oviduct'un sekretör ve motil aktivitesi etkilenir. Oosit kalitesinin olumsuz etkilenmesi sonucu zayıf embriyolar oluşur ve bu da embriyonik ölümlerde artışa neden olur (Vanroose ve ark 2000).

Yetersiz beslenme direkt embriyo üzerinde de zararlı etki oluşturur. Özellikle şiddetli vitamin (Vitamin A) ve/veya mineral madde (Cu, Zn, I) eksiklikleri embriyonik ölümlere neden olabilmektedir (Vanroose ve ark 2000).

Beklenen östrüs zamanına yakın bir dönemde besin kısıtlaması yapıldığında da embriyonik ölümlerde artış olmaktadır. Bunun nedeni erken gebelikte progesteron salınımının azalmasıyla ilgilidir. Progesteron salınımındaki artışın zamanlaması hem uterus hem de embriyo fonksiyonunu etkilemektedir (Vallet ve ark 2002).

Birinci haftadan sonra embriyo gelişiminde bazı gecikmeler gözlenebilmektedir. Gebeliğin ikinci ve üçüncü haftasında yetersiz beslenmenin embriyolar üzerinde öldürücü etkisi tespit edilmiştir (Abecia ve ark 1997).

Yetersiz beslenme uterus sıvısının aminoasit kompozisyonunda bir düzensizlik meydana getirerek asenkronizasyona da sebep teşkil edebilmekte hatta ikiz ovulasyonlarda daha fazla kayıplara neden olmaktadır (Nancarrow 1994). Yetersiz beslenmeden dolayı meydana gelen progesteron sentezindeki varyasyonlar uterus asenkronizasyonuna ve sonuçta embriyonik ölümlere sebebiyet vermektedir (Pope 1988).

Aşımı takiben yüksek seviyede enerji alan hayvanlarda progesteron seviyelerinde azalma veya embriyonik ölümlerde artış kaydedilmiştir (Rhind ve ark 1984). Östrüsten hemen önce besin alımının artırılması ovulasyon oranında artışa neden olmakla birlikte embriyonik ölüm oranları da artmaktadır (Nancarrow 1994, Vallet ve ark 2002).

Aşırı beslenme hayvanda ısı stresine neden olarak embriyonun gelişimi ve yaşamını sürdürmesini olumsuz olarak etkiler (Nancarrow 1994).

Protein düzeyiyle ilgili olarak; erken gebelikte yüksek bir protein desteği, örneğin lupin desteği yapıldığında koyunlarda gebelik oranlarında azalmalar gözlenmiştir. Üre desteği yapılan koyunlarda da in vitro olarak embriyonik ölümlerin oranlarında artış olduğu bildirilmektedir (Abecia ve ark 1997).

Aşırı beslenmeyle plazma progesteron düzeyi arasında katabolizma artışından dolayı ters bir ilişki bulunmaktadır. Bu durumdaki koyunlara progesteron sağıtımı uygulandığında % 48-76 oranında gebeliğin artışı belirtilmektedir (Nancarrow 1994).

2.5.3. Embriyo transferi

Embriyo transferi, embriyonik yaşamın devam etmesinde olumsuz bir etki yapmaktadır. Süperovulasyon sonucu elde edilen ovulasyon oranıyla, transfer edilen embriyoların yaşamlarını devam ettirme şansları arasında ilişki vardır. Ovulasyon sayıları yüksek olanlarda embriyoların yaşam şansı % 49 iken, düşük olanlarda % 24 olarak belirlenmiştir. Embriyoların aynı cornu uteriye transfer edilmesi onların yaşam şanslarını artıran bir fenomen olarak gösterilmektedir. İkiz transferlerde embriyoların yaşam şansları % 73, tekli gebeliklerde % 53 olarak belirlenmiştir (Nancarrow 1994).

2.5.4. Enfeksiyöz nedenler

Enfeksiyöz etkenler doğrudan embriyoyu veya dolaylı olarak embriyonun bulunduğu ortamı etkilemektedir. Sistemik etkileri sonucu anada sepsisemi, viremi veya toksemiye neden olur ve bundan embriyo da etkilenir. Enfeksiyöz nedenler bakteriyel, viral veya protozalara bağlıdır. Bu etkenlerin uterusu girişi hematogen veya vaginal yolla olmaktadır. Enfeksiyöz etkenler yüksek ateşe neden olmakta ve yüksek ateş de gebeliğin ilk aşamasında embriyonik proteinlerin denatürasyonu sonucu erken embriyonik ölüme yol açabilmektedir. Oluşan yangı sonucunda açığa çıkan prostaglandinler de ateşin yükselmesine, luteolizise ve sonuçta embriyonik ölümlere neden olabilmektedirler. Ayrıca stres ile birlikte yüksek ateş de varsa, steroid salgısında artış ve diğer organizmalara karşı

immun yanıtların azalmasından dolayı indirekt olarak gebelik kaybı olabilmektedir (Vanroose ve ark 2000).

2.5.4.1. Embriyonun bulunduğu ortamın enfeksiyonu

Ortamın (oviduct ve uterus) enfeksiyonuna spesifik ve nonspesifik uterus patojenleri neden olabilmektedir. Spesifik uterus enfeksiyonları virus, bakteri ve protozoalardır. Bu patojenler uterusa hematogen yolla (*Toxoplasma gondii* gibi) veya doğal aşım da vaginal yolla (*Campylobacter fetus* gibi) girmektedirler. Aşım veya suni tohumlama sonrası oluşan akut endometritis embriyo için olumsuz ortam oluşturarak direkt etki yapabilmekte ve şiddetli durumlarda buna prostaglandin gibi luteolitik ajanlar da eşlik etmektedir. Bakteriyel etkenlere bağlı uterus enfeksiyonları genelde yaygın şiddetli purulent enfeksiyonlara sebebiyet vermektedirler. Viral enfeksiyonlar genelde nekrotik endometritisle karakterize olup endometriumda yaygın ve total lenfatik ve plazmatik değişikliklere neden olmaktadır (Vanroose ve ark 2000).

Kronik endometritisde ise uterustaki yangının yanı sıra morfolojik ve yangisel değişiklikler de söz konusudur. Fibröz doku birikintilerinin olması endometrial bezlerde fonksiyonel bezlerin eksikliğine neden olur. Bu durum protein bakımından zengin olan ekzokrin sekresyondan embriyonun mahrum kalması sonucunu doğurur (Vanroose ve ark 2000).

2.5.4.2. Embriyonun enfeksiyonları

Embriyonun enfeksiyonları, embriyonun gelişimi sırasında iki önemli dönem olan hatching (embriyonun sarkması) öncesi ve hatching sonrası meydana gelmektedirler.

2.5.4.2.A. Hatching öncesi (zona pellucida bozulmadan önce)

Bütün patojenler ve viruslar, erken dönemdeki embriyo için tehikeli ve çok zararlı enfeksiyon kaynağıdır. Zona pellucida ile etkileşerek embriyo içine geçen viral enfeksiyonlar, fertilizasyondan önce oosit maturasyonu esnasında bulunabilirler. Virus zona pellucidaya tutunmakta veya fertilizasyonda sperm yoluyla zona pellucidaya girerek enfeksiyon meydana getirebilmektedir. Hatching sonrası zona pellucida virus penetrasyonuna karşı etkili bir bariyer oluşturmaktadır (Vanroose ve ark 2000).

2.5.4.2.B. Hatching sonrası (zona pellucida bozulduktan sonra)

Koyunlarda embriyolar 7-8. günlerde hatch (sarkmış embriyo) olmaktadır. Yapılan invitro ve invivo çalışmalarda enfeksiyonların sarkmayla ve implantasyondan

sonra geniş bir dağılımının olduğu gösterilmiştir. Embriyonik ölümler hem sitolitik hem de non-sitolitik enfeksiyonlar sonucunda olabilmektedir. Ancak non-sitolitik enfeksiyonlar kromozomal hasara ve embriyonik hücrelerin bölünme hızlarının yavaşlamasına neden olduğundan daha önemlidirler. Bu gecikme organogenezisin kritik fazında oluşmaktadır. Neticede viral enfeksiyonlar konjenital malformasyonların oluşmasına neden olabilmektedirler. İmplantasyondan sonra hematojen yolla ortaya çıkan uterus enfeksiyonları ise; hem embriyo üzerinde sitolitik etkilidir hem de endometritise neden olduğundan daha zararlı olmaktadır (Vanroose ve ark 2000).

2.5.5. Genetik nedenler

Kromozom anormaliteleri gebeliğin sonlanmasının önemli bir nedenidir. Kromozomal anomaliler koyun embriyolarında gebeliğin 2-3. günlerinde % 6 civarında tespit edilmiştir (Ashworth ve ark 1989). Kan yakınlığı da embriyonik ölümün bir nedeni olarak bildirilmekte ve ırktan ırka fark olduğu ifade edilmektedir (Vanroose ve ark 2000).

Avustralya Booroola Merinos ırkı koyunlar üzerinde yapılan çalışmalar, kromozom anormalitelerine bağlı meydana gelen embriyonik ölümlerin fizyolojisinin açıklanmasında önemli ölçüde yardımcı olmuştur. Bu ırkın yüksek döl verimi tek bir major dominant genden (F geni) kaynaklanmaktadır. Booroola Merinoslarının yüksek doğurganlık F geninin kullanılmasıyla reproduktif özellikleri iyileştirilebilmektedir. Multiple ovulasyonlarda embriyonik ölüm oranı artmaktadır. +/+ geni taşıyanlarda embriyonik ölüm oranı F/+ geni taşıyanlara göre nispeten daha yüksek bulunmuştur. F/F geni taşıyanlarda embriyonik ölümlerin oranı % 41, F/+ geni taşıyanlarda % 19 ve +/+ geni taşıyanlarda % 9 olarak bildirilmektedir. F/F geni taşıyan koyunlarda plazma progesteron konsantrasyonu ovulasyon oranındaki artışa bağlı olarak artmamaktadır. İyi gelişmemiş luteal doku yeterli progesteron üretemeyeceğinden; ekzojen progesteron verilse bile embriyoların yaşam şansı artırılamamaktadır. Kromozom anormalitesi bulunan koyunlar fecundin ile tedavi edilmişler, tedavinin kromozom anormalitesi bulunan embriyoların oranını etkilemediği görülmüştür (Kleemann ve ark 1990, Nancarrow 1994). Yüksek verimli iki yaşlı Romney koyunlarında HPR (I+) taşıyanlarda, bu geni taşımayan HPR (++) koyunlardan ovulasyon oranı daha yüksektir ve buna bağlı olarak embriyonik ölümler de daha yüksektir (% 31) (Michels ve ark 1998).

Kromozom anormaliteleri birden fazla spermin penetrasyonu (polyspermi) da meydana gelebilmektedir. İn vitro embriyo çalışmalarında mixoploidy, polyploidy ve

haploidy gibi anomaliler sıkça meydana gelebilmektedir. Kromozomal anomalilerin toplam embriyonik ve fetal kayıplar içerisinde % 20 oranında olduğu hesaplanmaktadır. Bazen bir enzim eksikliği sonucu örneğin üridin monofosfat sentetaz eksikliği erken embriyonik ölümlere neden olabilmektedir (Vanroose ve ark 2000).

2.5.6. Hormonal dengesizlik

Koyunlarda uterusun gebeliğe hazır hale gelebilmesi için birbirini izleyen uygun endokrin olayların olması gerekmektedir. Embriyo gelişimi ve embriyonun kaybında en önemli rol uterus'undur. Uterus gebeliğin maternal kabulünde, erken gebelikte embriyonun uzaması, implantasyon ve embriyonun gelişmesinin desteklenmesinde anahtar role sahiptir. Bu mekanizmaların herhangi birindeki aksama embriyonik ölümlere neden olabilmektedir (Vallet ve ark 2002). Progesteronun gebeliğin sürdürülebilmesi için hayati önemi vardır. En önemli görevi, blastocyst'in uterusun luteolitik mekanizmasına karşı korunmasıdır. Ovulasyon sonrası progesteron artışı, embriyo ile uterus arasındaki ilişkinin düzenli bir şekilde sürdürülebilmesi için gerekmektedir. Progesteron eksikliği primer luteal yetersizliğe neden olmaktadır ve bu durum embriyonik ölümlerin önemli bir nedenidir. Ovulasyon sonrası progesteron artışında yetersizlik ve/veya luteal fazdaki düşük progesteron düzeyi, embriyoların gelişimindeki yetersizlik ile ilişkilidir (Noncarrow 1994, Vanroose ve ark 2000).

Embriyoların yaşam kabiliyeti 0. ve aşımından sonraki 1. günde progesteron düzeyi düşük olan koyunlarda önemli oranda daha düşüktür. Luteal faz süresince progesteron düzeyi daha düşük olan koyunlarda yaşama oranı daha düşüktür. Çünkü bu durumda embriyo tarafından üretilen oTP-1 miktarı azalmaktadır (Wilmot 1985, Goff 2002).

Blastosit tarafından gebeliğin 10-22. günleri arasında antiluteolitik mekanizmanın oluşması ve gebeliğin sürdürülebilmesi amacıyla oTP-1 sekresyonu yapılmaktadır. Ovine trophoblastic protein-1 endometriyal reseptörlere bağlanarak etkisini göstermektedir. Sonuç olarak 6 farklı protein sentezi oluşmaktadır. Plazmadaki luteolitik oksitosin ve prostaglandin salınımında değişikliklere neden olmaktadır (Noncarrow 1994).

Uterusta progesteron tarafından kontrol edilen faktörler embriyonik büyüme, gelişme oranlarını düzenlemektedirler. Eğer bu düzen bozulmuşsa embriyonun yaşamını devam ettirme ihtimali azalmaktadır (Noncarrow 1994).

2.5.7. Stres

Stresin reproduktif fonksiyonları üzerine zararlı etkileri bulunduğu bilinmektedir. Stres yapan faktörler, GnRH'un hipotalamustaki düzeyini veya ovaryumdan progesteron üretimini azaltarak etkilemektedir (Vanroose ve ark 2000).

Stresten dolayı meydana gelen progesteron sentezindeki varyasyonlar uterus asenkronizasyonuna neden olarak embriyonik ölümle sonuçlanır (Pope 1988).

Korku, açlık, ağrı, soğuk-sıcak hava, nakil, yaralanma gibi faktörler strese neden olur ve reproduktif sistem üzerinde olumsuz etki yapar. Stres, neurosekretorik nöronların hipotalamusta aktivasyonuna neden olur. Ayrıca kortikotropin salgılatıcı hormonun ve hipofizden ACTH ön maddesi olan proopiomelanocortin salınımını başlatır. Proopiomelanocortin, ACTH'dan başka, hipofizden gonadotropin sekresyonunu etkileyen enkefalinler ve betaendorfin gibi endojen opioidlerin salınımını artırır. ACTH salınımı adrenal korteksi etkileyerek kortizol salınımına yol açar ve FSH ile LH salınımını engeller. Endojen opioid peptidler (EOP)'in, hipotalamus-hipofiz-adrenal korteksi etkisi altında tuttuğu görülür. Ayrıca kortizol seviyesinin artmasına bağlı olarak da ovaryum fonksiyonları bozulmaktadır (Jonsson ve ark 1997).

2.5.8. Ovulasyon oranı

Ovulasyon oranının artması embriyonik ölüm oranlarında artışa neden olur (Vallet ve ark 2002). Ovulasyon oranının artışıyla ilgili yapılan çalışmalarda embriyonik ölümlerin de önemli oranda arttığı görülmüştür (Kleemann ve ark 1990). Ovulasyon sayısının birden fazla olması; meydana gelen embriyoların yaşam kabiliyetlerini azaltan bir faktör olarak bilinmektedir (Scaramuzzi ve Downing 1997, Wilson 2004). Koyunlarda ovulasyon oranlarının dört veya daha fazla sayıda olması embriyoların yaşam şanslarını azaltmakta ve dolayısıyla doğan yavru sayısı da azalmaktadır (Scaramuzzi ve Downing 1997).

Embriyoların yaşam kabiliyetlerindeki azalmanın transuterin migrasyonundan kaynaklanabileceği, bu durumda bilateral ikiz ovulasyonlarda her embriyonun diğerinden bağımsız olabileceği belirtilmektedir. Buna karşın unilateral ikiz ovulasyon varsa etkileşim beklenmektedir (Nancarrow 1994). Doney ve ark; göç etmeyen embriyoların yaşam şanslarının daha fazla olduğunu, unilateral ikizliklerin bilateral ikizlere göre daha düşük yaşam oranlarının olduğunu belirtmektedirler. Aynı araştırmacılar bilateraldeki kayıpları % 25 ve unilateraldeki kayıpları % 43 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. Döl verimi yüksek koyunlarda üçüncü ve dördüncü haftalardaki embriyonik kayıplar embriyoların

cornu uteriler arasındaki dağılımındaki doğal dengede bozulmaya neden olmaktadır. Embriyonik ölümlerin oranları tekli gebeliklerde % 11, bilateral ikizlerde % 16 ve unilateral ikizlerde % 28 (Merinos) veya % 18 (Border Leicester x Merinos) olarak bildirilmiştir (Nancarrow 1994).

Koyunlarda bilateral ovulasyonlarda elde edilen yavru sayısı, unilateral ovulasyonlardan elde edilen yavru sayısından biraz daha fazladır. Bu durum transuterin migrasyonun embriyonik ölüm üzerine az oranda etkili olduğu sonucunu doğurmaktadır. Unilateral ikiz ovulasyonlarda embriyo migrasyonunun özellikle yaz mevsiminde daha yüksek kayıp riskine sahip olduğu belirlenmiştir (Scaramuzzi ve Downing 1997).

Östrüsleri progesteron ve PMSG ile senkronize edilen koyunlarda embriyonik ölüm oranının % 12'den % 29'a yükseldiği, bunun nedeninin ovulasyon oranındaki artış veya senkronizasyondan dolayı olabileceği belirtilmektedir (Nancarrow 1994).

2.5.9. Sıcaklık stresi

Koyunların yaşadığı ortamın sıcaklığının yüksek olması fertilizasyonu ve daha sonra embriyonun yaşamının devamını etkilemektedir. Uterus ortamı ısısının yüksek olması uterus kan akımının azalmasına neden olduğundan embriyo üzerinde direkt olarak zararlı etki yapmaktadır. Fertilizasyonu takiben 9 gün süresince sıcaklık stresi embriyonik ölümlere neden olabilmektedir. Embriyonun en hassas olduğu aşama blastocyst'in erken bölünme aşamasıdır ve mortalitenin %100 olduğu bildirilmektedir. Sekiz hücreli embriyolar hem 21° C hem de 25° C'de transfer edildiklerinde embriyoların 3. günden önce de, 8. günden sonra da sıcak stresinden dolayı hasar gördükleri gözlenmiştir ve bu günler arasında fark bulunamamıştır. Fertilizasyondan hemen sonra ısıya maruz kalan embriyolarda anormalliklerin oluşma riski daha yüksektir ve bu kayıplar kuzulama oranlarındaki düşüşle gösterilmişlerdir. Sıcak ortama alışma, etkiyi azaltabilmekle birlikte, vücut ısısında 2° C'nin üzerindeki bir artış öldürücüdür (Nancarrow 1994, Vanroose ve ark 2000, Wilson 2004).

Sıcaklık stresinin embriyonun gelişimini geciktirdiği ve luteolizisi önleyen interferon-tau salınımını olumsuz olarak etkilediği belirtilmektedir (Goff 2002). Ovumun deneysel transferinden sonra sıcaklığın etkisi fertilizasyondan sonra oluşmuştur. Ancak bu etki tubal transportu kapsamamaktadır. Son çalışmalar göstermiştir ki düşük ısı da koyunlarda oositlerin olgunlaşma süresince anormallikleri uyatabilmektedir. Bu öldürücü etkiler direkt olarak gametleri, embriyoları veya uterus fonksiyonlarını ya da indirekt

olarak hormonal değişikliklerle ortaya çıkabilir. İneklerde yapılan bir çalışmada sıcağa maruz kalmanın bTP-1 düzeyinde önemli bir azalmaya neden olduğu ve buna bağlı olarak da gebeliğin on yedinci gününde conceptus'un ağırlığında % 50 azalma tespit edilmiş ve anormal küçük conceptusların luteolitik ajanlara karşı koymada zayıf kaldıkları gözlenmiştir (Noncarrow 1994). Ayrıca aşırı sıcak havalarda vct ısısı artar ve genital kanala kan akışının azalması sonucu ovaryum fonksiyonları bozulur. Sıcaklık artışı kortizol seviyesinin artmasına neden olduğundan ovaryum fonksiyonlarında aksaklıklar ortaya çıkmaktadır (Jonsson ve ark 1997).

Aşırı sıcaklık; östrüs siklusunun 1 veya 2 gün kısalmasına, ko katımına doğru östrüs davranışlarının ve daha da önemlisi östrüs sresinin kısalmasına sebebiyet vermektedir (Wilson 2004). Sıcaklık stresinden dolayı meydana gelen progesteron sentezindeki farklılıklar uterus asenkronizasyonuna ve dolayısıyla embriyonik ölümlere neden olabilmektedir (Pope 1988).

2.5.10. Yaş

Embriyonik ölümlerin insidansı genç koyunlarda (1.5 yaş) daha yaşlı koyunlara (2.5 yaş ve daha yukarısı) göre daha yüksek bulunmuştur (Kleemann ve ark 1990, Wilson 2004).

Ancak ovulasyon oranlarındaki artışa bağlı olarak yaşlı hayvanlarda embriyonik ölüm oranlarında artış meydana gelmektedir. İkiiz embriyolarda kayıpların genç merinos koyunlarında % 20, daha yaşlı olanlarda % 35 olduğu belirtilmektedir. Morocco ırkında 12 aylık koyunlarda embriyonik kayıplar % 29-36 iken, 30 aylık çok doğum yapmış olanlarda % 58 olarak bulunmuştur (Noncarrow 1994).

Genç koyunlarda embriyoların yaşam kabiliyetleri yaşlı koyunlardan daha düşüktür. Ayrıca genç koyunlarda geç embriyonik ölümlerin insidansı da daha yüksektir. Geç embriyonik ölümlere luteal yetersizliklerin önemli neden olduğu, çünkü genç koyunlarda gebeliğin 15-30. günlerinde plazma progesteron düzeyinin ergin koyunlardan önemli derecede daha düşük olduğu belirtilmektedir (Beck ve ark 1996).

Yaş ilerledikçe folliküler aktivite ve oosit kalitesindeki düşüşe bağlı olarak embriyo gelişiminde bir azalma oluşmaktadır. Ayrıca endometrium da yaşın ilerlemesiyle birlikte daha yetersiz hale gelmektedir (Vanroose ve ark 2000).

2.5.11. Travma

Rektal palpasyon veya transrektal ultrason uygulamasından sonra oluşan travmadan dolayı gebelik kayıplarının olabileceği ileri sürülse de; rektal palpasyonun dikkatli olarak uygulandığında güvenilir bir yöntem olduğu ve embriyo veya fötüs üzerinde zararlı bir etkisinin bulunmadığı bildirilmektedir (Vanroose ve ark 2000).

2.6. Embriyonik Ölüme Ait Semptomlar

Koyunlarda siklusun 13-19. günleri arasında meydana gelen embriyonik ölümlerde corpus luteumun varlığını 2-18 gün devam ettirmesi nedeniyle, östrüs siklusunun süresi uzamaktadır. Bu durumda beklenen normal zamanda östrüsün dış belirtileri gözlenememektedir (Ley 1985, Nancarrow 1994).

Ultrasonografik muayene yönteminde tekrarlanan muayene bir önceki muayene bulgularıyla kıyaslandığı zaman embriyonun gelişiminde ilerleme olmaması, embriyonun hacminin artmaması veya küçülmesi ve etrafında daha az embriyonal sıvının olması önemli semptomlar olarak kabul edilir (Gearhart ve ark 1988, Shrick ve Inskeep 1993, Kaulfus ve ark 1997, Gonzales ve ark 1998, Martinez ve ark 1998, Strmsnik ve ark 2002).

Ultrasonografik muayene ile gebeliğin 23. gününden itibaren embriyoların tamamında kalp atımı gözlenebilmektedir. Kalp atımının daha sonra yapılan muayenelerde görülmemesi embriyonik ölümün en önemli semptomlarından biri olarak değerlendirilmektedir (Bretzlaff ve ark 1993, Strmsnik ve ark 2002).

Gebeliğin 25. gününden itibaren yapılan ultrasonografik muayenelerde embriyonal sıvı belirgin olarak artış gösterir ve 28-30. günlerde plasentomlar belirlenir. Daha sonra yapılan muayenelerde embriyonal sıvı artışının belirlenememesi, plasentomların 26-28. günden sonra yapılan muayenelerde görüntülenememesi ve sadece sıvıların gözlenmesi embriyonik ölümün önemli semptomları olarak değerlendirilmektedir (Gearhart ve ark 1988, Karen ve ark 2004a). Embriyonik ölüm durumunda; plasentomlar gebelik yaşına göre olması gerekenden daha küçüktür ve embriyonik sıvılar daha azdır. Bunun yanında embriyoda kalp atımı görülmez ve embriyonal zarların düzensizliği söz konusudur (Bretzlaff ve ark 1993). Bu günlerden sonra yapılan ölçümlerde plasentomların çapının artmaması da embriyonik ölümün semptomu olarak değerlendirilir (Doize ve ark 1997). Eğer embriyo yaşıyorsa gebeliğin ilerlemesiyle birlikte conceptusun dairesel mesafesi de giderek artar. Embriyo öldüğü takdirde bu durum gözlenemez (Rodriguez ve ark 2000).

Gebeliğin devam etmediği durumlarda plazma progesteron düzeyinin önemli derecede azalması, embriyonik ölümün bir göstergesi olarak düşünülmektedir (Strmsnik ve

ark 2002). Siklusun 13. gününden sonraki embriyonik ölümlerde luteal fazın uzayacağı düşünüldüğünde progesteron düzeyi 17-20. günlerde yüksek olabilmektedir (Ünal ve ark 1991).

2.7. Embriyonik Ölüm Tanı Yöntemleri

Ultrasonun kullanımından önce veteriner hekimlik alanında embriyonik ölümlerin belirlenmesine yönelik ilk çalışmalar mezbahada kesilen hayvanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda ovulasyon sayısı/corpus luteum sayıları, uterusun yıkanması sonrası elde edilen embriyo sayıları ile karşılaştırılmıştır (Shrick ve Inskeep 1993, Kaulfuss ve ark 1997). Beck ve ark (1996); aşımından 15 gün sonra uterus yıkantısından (X10) elde ettikleri dejenere conceptusların sayılarını ovaryumlardaki corpus luteumların sayıları ile karşılaştırarak embriyonik ölüm oranlarını tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Gebeliğin devam edip etmediği, plazma veya süt progesteron düzeylerine göre belirlenebilmektedir. Embriyonik ölüm durumunda plazma progesteron düzeyinde önemli düşüş meydana gelmektedir (Tyrell ve ark 1980, Susmel ve Piasentier 1992, Zarkawi ve ark 1999).

Rozet inhibisyon testinin de koyunlarda erken embriyonik ölümün tespit edilmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Gordon 1997).

Yapılan bir çalışmada (Nephew ve ark 1991); aşımından sonra 13. güne kadar plazma progesteron düzeyleri ve uterusun yıkanmasıyla tespit edilen oTP-1, PGE2 ve PGF2α miktarına göre 13. günde embriyoların yaşayıp yaşamadığına ve gebeliklerine karar verilmiştir. Çünkü erken gebelikte oTP-1 ile PGF2α'ya karşı oluşan direnç arasında direkt bir ilişki bulunmaktadır. İntrauterin oTP-1 verilen siklustaki koyunlarda luteal fazın uzadığı gözlenmiştir. PGE2 ve PGF2α arasındaki oranının PGE2 lehine olması gebelik CL'nin devamını sağlayan bir diğer faktördür.

Koyunlarda gebeliğin 14-24. günleri arasında trophoblast hücrelerin basit küboidal tek tabakadan küboidal veya kolumnar iki kat tabakaya; endometriumun epitel hücrelerinin de kolumnar hücrelerden yassı hücrelere dönüşmesi implantasyonun gerçekleştiğinin histolojik göstergesi ve gebeliğin devam ettiğinin işareti olarak kabul edilir. Tek kat küboidal epitel hücrelerin varlığı trophoblast hücrelerin gelişmemiş olduğuna ve gebeliğin devam etmediğine işaret etmektedir. Binükleer (BCs) hücrelerin sayısı da yaşayan conceptuslar için bir kriterdir. Binükleer hücreler implantasyon süresince embriyonik

yaşamın bir göstergesi ve bu hücrelerin sayısında yaşayan conceptuslar için bir kriter olarak kabul edilir (Rodriguez ve ark 2000).

Koyunlarda ultrasonografik yöntemle muayenede gebeliğin 18-20 gün gibi erken bir dönemde belirlenebilmesi, embriyonik ölümü belirleme çalışmalarında çok önemli sonuçlar doğurmuştur (Shrick ve Inskeep 1993). Ovaryum ve uterusun ultrason ile muayenesiyle gebeliğin, embriyo ve corpus luteum sayısının belirlenmesi mümkün olabilmektedir (Shrick ve Inskeep 1993, Kaulfuss ve ark 1997). Ultrasonografik muayene ile embriyonun gelişimi de izlenebilmektedir. Embriyonik vezikülün çapı, gebelik yaşıyla yüksek korelasyon göstermektedir. Gebe tanısı konulan koyunlarda 19. günden sonra başpopo mesafesi ve göğüs çapına göre embriyonun yaşı tayin edilebilmekte daha sonra yapılan ölçümlerle embriyonun gelişimi izlenebilmektedir (de Bulnes ve ark 1998). Ultrasonografik muayenin bu özellikleri embriyonik ölüm tanı yöntemleri içerisinde doğruluk oranı en yüksek yöntem olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca ultrasonografik muayene ile embriyonik ölümler diğer yöntemlerden farklı olarak doğrudan belirlenebilmektedir.

2.8. Ultrasonografi

Ultrasonografik gözlem yumuşak dokuların muayenesine oldukça uygun bir yöntemdir. Doku ya da organların hareketi, kan akımı, topografik anatomisi ve özellikleri ultrasonografik muayene ile değerlendirilebilmektedir. Bu amaçla veteriner hekimlikte oftalmoloji, kardiyoloji, abdominal organların gözlenmesi, obstetrik ve jinekolojide önemli kullanım alanları oluşmuştur.

2.8.1. Ultrasonun tanımı ve bazı temel prensipleri

Ultrasonografi, dokulara gönderilen yüksek frekanslı ses dalgalarının bir kısmının geri yansmasıyla görüntü elde edilmesidir. Saniyedeki dalgaya Hertz (Hz), saniyede 1 milyon dalga ihtiva eden sese de Megahertz (MHz) denilmektedir. Ultrason ise insan kulağının duyamadığı 20.000 Hz ile 10 MHz sınırları arasında bulunan ses dalgalarıdır. Diagnostik amaçlı ultrasonografide 2-10 MHz arasındaki ses dalgaları kullanılmaktadır. Ultrasonografi yumuşak dokularda meydana gelen fizyolojik ve patolojik değişikliklerin tespit edilmesini veya eksternal olarak gözlenmesini sağlayan bir muayene yöntemidir. Basit bir tanımlamayla yumuşak dokuların görüntülenmesinde kullanılan bir cihazdır (Cartee 1980a, Cartee 1980b, Herring ve Bjornton 1985, Pierson ve ark 1988, Atmaca 1989, Fluckier 1990, Cartee 1993, England 1994, Myrhofer ve ark 1995, Nyland ve ark 1995, Holoska ve ark 1997, Bushong 1997, Dinç2003, Kırşan 2003).

Ultrasonun en önemli özelliği piezoelektrik etki oluşturmaktır. Piezo eski Yunanca'da piosis (basınç yapma)'ten gelir. Piezoelektrik terimi bugün basınç elektriği anlamında kullanılmaktadır. Transdüser (prob) adı verilen dönüştürücüde, piezoelektrik özelliğine sahip kristaller vardır. Ultrason dalgaları, probun içerisinde 1/1000 gönderici, 999/1000 alıcı görevi gören piezoelektrik kristalleri tarafından oluşturulur. Transdüserdeki kristallere elektrik akımı yüklendiğinde mekanik titreşimlerin oluşmasına "ters piezoelektrik" adı verilir. Kristaller ters piezoelektrik etki ile dokulara yüksek frekansta ses dalgaları gönderir. Dokulara gönderilen ses dalgalarının bir kısmı farklı ses direnci gösteren dokulardan geri yansiyarak tekrar kristallere gelmekte ve elektrik akımına dönüştürülmektedir. Bu akım kullanılan ultrason tipine göre ya insan kulağının duyabileceği sese dönüştürülür veya bir kağıda pikler şeklinde yazdırılır ya da monitörde bir dokunun histolojik kesiti gibi iki boyutlu olarak izlenebilir. Dokular arasında yoğunluk ve yansıma farkından dolayı da dokular rahatlıkla birbirinden ayırt edilir (Schmidt 1986, Atmaca 1989, Flückiger 1990, Gladisch 1993, Mayrhofer ve ark 1995, Nyland ve ark 1995, Bushong 1999, Dinç 2003).

A-mode (amplitude mod), B-mode (brightness mod) ve TM-mode (time motion mod) olmak üzere üç tip ultrason vardır. B-mode parlaklık esasına göre çalışır. Parlaklık beyazdan siyaha kadar değişen tonda gri bölge veya noktalar şeklinde ifade edilir (Herring ve Bjornton 1985, Pierson ve ark 1988, England 1994).

Ultrasonografik muayeneler sırasında muayene edilen organın ekranda verdiği görüntüsü anekojenik (nonekojenik), ipoekojenik ve hiperekojenik olarak ifade edilir. İçi sıvı dolu yapılar (follikül, kist, fetal kese, idrar kesesi v.s) eko vermediklerinden dolayı siyah renkte (anekojenik) görülürken, doku özelliği taşıyanlar değişik oranda eko veren yapılar oldukları için grimsi beyaz renkte (ekojenik) görülürler. Doku yoğunluğu arttıkça görüntü siyahtan beyaza doğru değişmektedir (Herring ve Bjornton 1985, Pierson ve ark 1988, England 1994, Kırşan 2003).

B-mode ultasonda linear-array, sektör ve konveks olmak üzere üç tip prob vardır. Linear-array problarda ses dalgaları kristallerin sırası boyunca dikey olarak dışarı verilir. Bundan dolayı görüntü dikdörtgen olarak elde edilir. Sektör problarda, konveks ve linear problara göre temas yüzeyinin daha küçük olması ve kristallerin daire şeklinde sıralanması nedeniyle yelpaze şeklinde görüntü elde edilir. Konveks problarda temas yüzeyinin küçük olması ve kristallerin yay gibi bir yörünge üzerinde sıralanması nedeniyle derin dokuların görüntüsü geniş olarak elde edilir (Pierson ve ark 1988, Fluckiger 1990, England 1994).

Ultrasonun gücü, ses dalgasının frekansına bağlıdır ve 2-10 MHz arasında değişmektedir. Frekans, saniyede akustik kaynağın titreşimlerinin sayısıdır. Ultrason frekansı megahertz olarak (1 MHz = 1.000.000 ses dalgası/saniye) ölçülür. Yüksek frekanslar iyi bir çözünürlük sağlarken, düşük frekanslarda çözünürlük daha az olmaktadır. Bu yüzden yüksek frekansta ayrıntı elde edilir. Buna karşın düşük frekansta makro dokulara nüfuz edebilmesine rağmen ayrıntı azdır. Düşük frekanslar (3-3.5 MHz), probdan uzak olan ileri gebelikler gibi oluşumların ayrıntılı görüntülenmesine uygundur. Yüksek frekanslar ise (5-7.5 MHz) ovaryum ve uterus gibi proba yakın yapıların ayrıntılı görüntülenmesi için daha uygundur. Bu nedenle reproduktif organların ultrasonografisinde yüksek frekans tercih edildiğinde daha iyi sonuçlar alınmaktadır (Pierson ve ark 1988, Cartee 1993).

2.8.2. Real-time ultrason ile genital sistemin muayenesi

Koyunlarda real-time ultrason ile muayene transrektal ve transabdominal yolla yapılır. Transrektal ultrasonografinin doğruluk derecesi, gebeliğin 35. gününe kadar transabdominal ultrasonografiden daha yüksektir. Pratikte transrektal muayene için 5 MHz frekans ve linear prob daha uygundur (Goll ve ark 1992, Kahn 1994).

Transrektal olarak yapılacak ultrasonografik muayeneden önce hayvan uygun bir şekilde zapt-ı rapt altına alınmalıdır. Koyun sırtüstü pozisyonda, bir yardımcı vasıtasıyla özel olarak tasarlanmış metalden muayene yatağına yerleştirilir. Önce arka bacaklar caudale doğru uzatılıp iple bağlanarak hayvanın tekme atması engellenir. Bu sayede operatör ve ekipmanın korunması sağlanır (Kahn 1994, de Bulnes ve ark 1997, Dickie ve ark 1999). Koyunların küçük yapılı hayvanlar olmaları nedeniyle transrektal muayene el ile yapılamaz. Ancak prob bir çubuğa sabitlenerek, probun çubuk ile birlikte rektum içerisinde ilerletilmesi ve yönlendirilmesi ile dışardan yapılabilir. Rektal muayene çubuğu (3x64 cm), ucu küt, yeterince sert, esnek olmayan, pürüzsüz bir yüzey ve kırılmaz bir maddeden olmalıdır (Shick ve Inskeep 1993, Kahn 1994, Doize ve ark 1997, Dickie ve ark 1999, Dinç ve ark 2001). Proba kayganlaştırıcı jel sürüldükten sonra rektuma girilir, 15 cm kadar craniala doğru ilerletildikten sonra v. urinaria kesesi anekojenik olarak görüntülenir. Daha sonra prob 90° saat yönünde ve 180° ters yönde döndürülerek reproduktif organların muayenesi yapılır (Kahn 1994, Doize ve ark 1997, Karen ve ark 2004a.).

Muayene, ekrandaki görüntünün anlaşılır, açık ve net olabilmesi için loş bir ortamda yapılmalıdır. Koyunlarda en iyi görüntüler hayvan sırtüstü yatırıldığı durumlarda

elde edilmektedir. Koyunlar sırtüstü yatırıldıkları zaman reproduktif kanal ve organlar transdüsere doğru yönelir. Bu sayede ultrason dalgalarının derine işlemesi gerekliliği azalır ve görüntü kalitesi artar. Bu arada rektumdaki dışkının uzaklaştırılması gereklidir. Çünkü gaitanın bağırsak duvarı ve prob arasına girmesi elde edilecek görüntünün karanlık olmasına yol açar. Bu nedenle prob geriye doğru çekilip temizlenmelidir. Bu durum muayeneden 12 saat öncesinden hayvanın yem ve suyunun kesilmesi ile büyük ölçüde önlenabilmektedir. Transrektal yöntemle her hayvanın muayenesi için gereken süre 1-2 dakikadır (Fowler ve Wilkins 1984, Garcia ve ark 1993, Shrick ve Inskeep 1993, Kahn 1994, Kaullfus ve ark 1996, de Bulnes ve ark 1997, Doize ve ark 1997, Dickie ve ark 1999). Eğer prob dikkatli bir şekilde kullanılırsa rektumda ciddi yaralanmalar oluşmaz. Rektal mukozanın irritasyonu orta derecede kanama ile sonuçlanmakla birlikte, önemli bir sorunla karşılaşılmaz (Kahn 1994).

En erken gebelik bulguları genellikle aşımından 18 gün sonra elde edilmektedir. Uterus, idrar kesesinin hemen önünde yer alır ve içerisinde giderek artan embriyonik sıvı tespit edilir. Bu nedenle ultrasonografik muayene ile gebelik tanısında ilk adım vesica urinaria'nın bulunmasıdır. Gebeliğin ilerlemesiyle embriyonik sıvıda artış belirlenirken embriyoda da bazı fiziksel değişiklikler gözlenir. Onsekizinci günde yapılan muayenede v. urinaria'nın önünde yaklaşık 0.5 cm²'lik nonekojenik bir alan içerisinde ekojenik olarak pirinç tanesi şeklinde embriyo görülebilmektedir (Buckrell 1988, Goll ve ark 1992). Gebeliğin 18-20. günlerinde conceptus flamatöz bir yapıdadır, her iki cornu uteride veya corpus uteride bulunabilmektedir. Bu yapı sirküler veya uzamış anekojenik alanlar olarak görülmektedir ve 4 mm civarındadır (Garcia ve ark 1993, Karen ve ark 2004a). Embriyonal sıvı gebeliğin 20. gününden itibaren düzenli olarak uterus lumeninde birkaç yerde görülebilir. Uterus lumeninde görülen sıvı lokülleri arasındaki bağlantıyı her zaman görmek mümkün değildir. Ancak bunlar tek bir embriyonik veziküle aittir ve genelde ayrı anekojenik alanlar olarak görülürler. Sıvı dolu alanların multiloküler görüntüsü ineklerdeki benzer bir fenomendir (Kahn 1994). Kompakt hale gelmiş embriyo sıvı dolu vezikül içerisinde ilk kez ortalama 24-25. günlerde görüntülenmektedir (Goll ve ark 1992, Garcia ve ark 1993, Doize ve ark 1997, Karen ve ark 2001, Karen ve ark 2004a). Embriyonik vezikül içerisinde kalp atımının ritmik pulzasyonu en erken aşımından sonraki 21-23. günlerde tespit edilebilmekle birlikte, kesin tanı 25. günde yapılabilir. Amnion zarı ilk olarak 25-30. günler arasında hiperekojenik bir çizgi şeklindedir ve embriyoyu 1-2 mm mesafede çevirmiş olarak görüntülenir (Kahn 1994). Gebeliğin 26-30.

günlerinde plasentomlar ultrasonografik görüntüde endometrium yüzeyinde hipoekojenik alanlar olarak tespit edilirler (Ishwar 1995, Gordon 1997, Karen ve ark 2001).



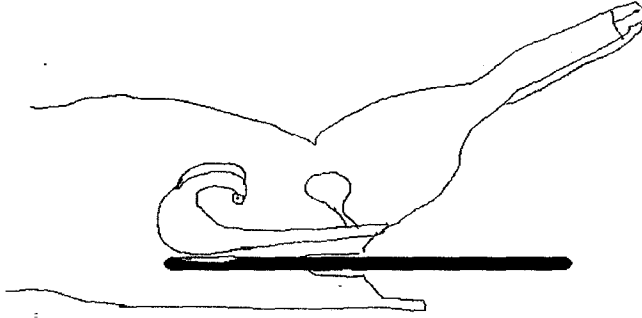
3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Araştırmanın materyalini; en az bir doğum yapmış, 2-5 yaşlı, aşıım sezonunda flushing yapılmış, aynı bakım ve beslenme şartlarında barındırılan, 18. günde yapılan transrektal ultrasonografik muayeneyle gebe olduğu belirlenen 60 baş, % 80 Alman Etçi Merinos'u ve % 20 Akkaraman ırkının melezleme ve seleksiyon çalışmalarıyla elde edilmiş olan Konya Merinos'u ırkı koyun oluşturdu. Koyunların gebelikleri Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Koyunculuk Şubesi'inde 17 Eylül-7 Ekim tarihleri arasında, flushing yapılmış koçlarla doğal aşıım yaptırılarak sağlandı.

3.2. Metot

Doğal aşıım yaptırılan koyunların ilk gebelik muayeneleri aşıım sonrası 18. günde B-model, linear array, 5-7.5 MHz rektal probu bulunan real-time ultrason (Scanner 480 Vet, Pie Data Medical, Maastrich, Netherlands) ile transrektal yoldan yapıldı. Koyun önce sırtüstü pozisyonunda özel olarak tasarlanmış muayene yatağına yatırıldı ve arka bacaklar caudale doğru uzatılarak bağlandı. Koyun zapt-ı rapt altına alındıktan sonra, ele lateks bir eldiven giyilerek kayganlaştırıldı, orta ve işaret parmağı ile rektumdaki dışkı dikkatli bir şekilde boşaltıldı. Bu işlem muayeneyi oldukça kolaylaştırdı. Prob, rektal muayene çubuğuna (3x64) yerleştirildikten sonra rektuma daha iyi temas etmesi ve muayenenin kolaylaştırılması için ultrason jeli ile kayganlaştırıldı. Daha sonra prob, cornu uterilerin görüntülenebilmesi için rektuma yerleştirildi ve cranial'e doğru 15-20 cm yönlendirildi. Önce vesica urinaria'nın görüntülenmesi sağlandı.



Şekil 1. Rektal muayene çubuğunun rektuma yerleştirilmesi

Vesica urinaria görüntülendikten sonra dışardan yönlendirilen prob, 90-180° saat yönünde veya tersi yönde çevrilerek cornu uteriler tarandı. Aşım sonrası 18. gündeki transrektal ultrasonografik muayenede embriyonik vezikül/embriyo görülenlerde gebelik pozitif olarak değerlendirildi. Buna ek olarak koyunların dış östrüs semptomları gözlenerek ve koç muayenesi uygulanarak ultrason bulguları desteklendi. Daha sonra plazma progesteron düzeyleri yardımıyla 18. gündeki gebelik tanıları kesinleştirildi.

Aşım sonrası 18. günde gebe olduğu belirlenen koyunlara izleyen 22, 26, 30 ve 34. günlerde 4 kez daha transrektal ultrasonografik muayene uygulandı. Ultrasonografik muayeneler sonrası

- Embriyonun hacminde diğer embriyolarla kıyaslandığında beklenen gelişmenin gözlenmemesi
 - Onsekizinci ve 22. gün muayenelerinde flamatöz yapıda olan embriyonun 26. gün ve daha sonraki muayenelerde oval kompakt şekilde olmaması
 - Aynı şekilde embriyonal sıvının hacminde de beklenen artışın gözlenmemesi
 - Ölen embriyonun otolize olması
 - Bir önceki muayenede embriyodan kalp atımı alındığı halde izleyen muayenede kalp atımının alınmaması
 - İkiz gebelik tespit edildikten sonra, gebeliğin tekli olarak devam etmesi
 - Yavru sularının olması ancak embriyonun görülmemesi
- hallerinde embriyonik ölümlere karar verildi.

Ayrıca embriyonal dönemde yapılan ultrasonografik muayenelere ek olarak aynı muayene günlerinde (18, 22, 26, 30 ve 34. gün) plazma progesteron düzeyinin belirlenebilmesi amacıyla koyunların v. jugularis'lerinden 5 ml kan alınarak 3000 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkartıldı. Ayrılan plazmalar progesteron analizi yapılncaya kadar -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi. Plazma progesteron düzeylerinin tespiti Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Endokrinoloji Laboratuvarı'nda enzyme immunoassay (EIA) yöntemiyle yapıldı.

Uterus ve embriyoya ait ölçümler ile progesteron düzeylerinin ortalamalarında aritmetik ortalama kullanıldı.

Embriyonal dönem süresince uygulanan 5 transrektal ultrasonografik muayenede erken gebelik tanısı, çoğul gebelikler ve bu dönemde meydana gelen embriyonik ölümler belirlenerek kaydedildi.



4. BULGULAR

Onsekizinci günde ultrasonografik yöntemle gebelik muayenesi yapılan 73 koyundan 60'ında gebelik belirlendi. Gebeliği belirlenemeyen veya şüpheli hayvanlar çalışmaya dahil edilmedi. Onsekizinci günden başlayarak 34. güne kadar beş defa ultrason muayenesi yapılan 60 gebe koyunda 79 embriyo belirlendi ve 7 (% 8.9) embriyonik ölüm tespit edildi. Bu ölümlerin 2'si 22. gün, 4'ü 26. gün ve 1'i de 34. günde yapılan muayenelerde belirlendi. Embriyonik ölüm tespit edilen 7 koyunun 3'ünde ikiz gebelik, 4'ünde ise tekli gebelik vardı. İkiz gebeliklerin birer embriyosu kaybedildiği halde gebelik devam etti. Tekli gebeliklerde ise gebelik sonlandı (Tablo 1).

Onsekizinci günde yapılan muayenelerde; gebe koyunlarda v. urinaria'nın hemen önünde uterus lumeninde ortalama 0.5 cm^2 'lik nonekojenik bir alan içerisinde ekojenik olarak pirinç tanesi büyüklüğünde ve şeklinde 1-2 mm boyunda ve genişliğinde embriyo görüldü. Bir koyuna ait embriyodan kalp atımı alındı, 1 koyunda ikizlik belirlendi. Gebelik tanısı konulan 60 koyunda EIA yöntemiyle ortalama plazma progesteron düzeyi 4.08 ng/ml olarak tespit edildi.

Yirmiikinci günde yapılan muayenelerde; gebe koyunlara ait uterustaki nonekojenik alanın daha da büyüdüğü belirlendi ve içerisinde ekojenik olarak ortalama $5.0 \pm 2.0 \text{ mm}$ uzunluğunda, 1-3 mm kalınlığında filament şeklinde embriyo görüldü, embriyonik vezikülün genişliği ortalama $15.0 \pm 2.0 \text{ mm}$ olarak ölçüldü. Kırkdokuz embriyoda kalp atımı, 9 koyunda ikizlik ve 2 embriyonik ölüm belirlendi. Tespit edilen embriyonik ölümlerden 1 tanesi ikiz gebelik diğeri tekli gebelikti. Embriyonik ölümlere, 18. günde gebelik (+) tanısı konulduktan sonra, 22. gün muayenesinde yavru suları görülmesine rağmen embriyonun bulunmamasına, ikizlik tespit edilip birinden kalp atımı alınıp diğerinden alınamaması ile embriyonun net bir şekilde görülüp kalp atımının belirlenememesine göre karar verildi. Yirmiikinci günde gebeliği devam eden 59 koyunda ortalama plazma progesteron düzeyi 3.6 ng/ml olarak bulundu. Embriyonik ölüm gerçekleşen 2 koyunda ortalama plazma progesteron düzeyleri 18, 22, 26, 30 ve 34. günlerde sırasıyla ikiz gebelikteki embriyonik ölümde, 3.26, 2.23, 4.50, 4.42, 4.10 ve tekli gebelikteki embriyonik ölümde, 4.18, 2.40, 5.10, 3.98, 4.90 ng/ml olarak elde edildi.

Yirmialtıncı günde yapılan muayenelerde; amnion sıvısının giderek arttığı ve embriyoyu 1-2 mm mesafeden hiperekojenik bir çizgi şeklinde çevirdiği ve uterus endometrium kıvrımlarının daha belirgin olduğu görüldü. Plasentomlar ilk kez 26. günde

yapılan muayenelerde endometriumda birkaç mm genişliğinde ekojenik bölgeler şeklinde tespit edildi. Embriyonun filament şeklinden oval kompakt bir hale dönüşmüş olduğu gözlemlendi. Bu dönemde bütün embriyolardan kalp atımı alındı. Embriyoların baş-popo mesafeleri ortalama 13.0 ± 3.0 mm, embriyonik vezikülün genişliği ortalama 22.0 ± 3.0 mm olarak ölçüldü. Yirmialtıncı günde yapılan muayenelerde; 16 koyunda ikizlik, 4 embriyonik ölüm belirlendi. Tespit edilen embriyonik ölümlerden 1 tanesi ikiz gebelik diğerleri tekli gebelikti. Yirmialtıncı gün muayenelerinde tespit edilen embriyonik ölümlerde; bir önceki muayenede kalp atımı alınanlardan daha sonra kalp atımının alınamadığı, ikiz gebelik tespit edilende tekli gebelik belirlendiği, diğer embriyolarla kıyaslandığında embriyoda ve embriyonal sıvılarda beklenen gelişmenin görülmediği, önceki muayenede filament şeklinde olan embriyonun 26. günde oval kompakt forma dönüşmediği, daha önceki muayenelerde tespit edilen embriyonun görülmediği ve ölen embriyonun otolize olmaya başladığı görüldü. Yirmialtıncı günde gebeliği devam eden 56 koyunun plazma progesteron düzeyi ortalama 4.2 ng/ml olarak elde edildi. Embriyonik ölüm gerçekleşen 4 koyunda 18, 22, 26, 30 ve 34. günlerdeki plazma progesteron düzeyleri sırasıyla ikiz gebelikteki embriyonik ölümden 3.74, 5.56, 3.60, 3.14, 4.34 ve tekli gebelikteki embriyonik ölümlerde 3 koyunda sırasıyla 2.94, 1.80, 1.60, 2.23, 3.20 ng/ml, 3.10, 2.34, 1.85, 2.41, 3.8 ng/ml, 2.32, 1.91, 1.62, 3.70, 4.50 ng/ml olarak belirlendi.

Otuzuncu günde yapılan muayenelerde; amnion sıvısının biraz daha arttığı, amnion zarının embriyonun çevresinde bir bant şeklinde olduğu, embriyoların organ taslaklarının belirmeye başladığı ve kalp atımları bariz bir şekilde görüldü. Otuzuncu günde embriyoların baş-popo mesafeleri ortalama 22.0 ± 4.0 mm, embriyonik vezikülün genişliği 32.0 ± 4.0 mm olarak belirlendi ve plasentomların hacimlerinin arttığı gözlemlendi. Otuzuncu günde yapılan muayenelerde; 16 koyunda ikizlik belirlendi. Otuzuncu gün muayenesinde 26. günden sonra gerçekleşmiş embriyonik ölüm belirlenmedi. Otuzuncu günde gebeliği devam eden 56 koyunda ortalama plazma progesteron değeri 4.06 ng/ml olarak elde edildi.

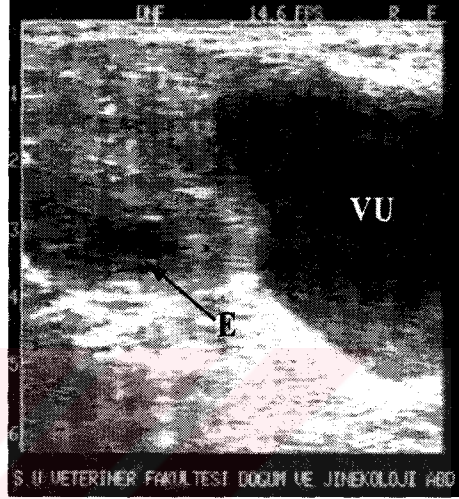
Otuzdördüncü günde yapılan muayenelerde; organ taslakları iyice belirginleşen embriyolarda ön bacakların tomurcuk şeklinde çıkıntı yaptığı, embriyoların baş-popo mesafelerinin ortalama 25.0 ± 4.0 mm, embriyonik vezikülün genişliğinin de ortalama 38.0 ± 3.0 mm olduğu belirlendi. Önceki muayenelerde birkaç mm genişliğinde olan plasentomların ise daha da büyüdüğü görüldü. Muayene sırasında; 30. günde yapılan muayenede yaşayan ikizlerden birinde kalp atımı belirlenmediği için embriyonik ölüm olduğuna karar verildi. Otuzdördüncü günde gebeliği devam eden 56 koyunda ortalama

plazma progesteron değeri 4.12 ng/ml olarak bulundu. Embriyonik ölüm gerçekleşen 1 koyunda 18, 22, 26, 30 ve 34. günlerde ortalama plazma progesteron düzeyi sırasıyla 6.12, 4.17, 3.2, 4.0 ve 4.2 ng/ml olarak belirlendi.

4.1. Aşım sonrası 18. günde gebe ve gebe olmayan uterusun ultrasonografik görünümü



Resim 1



Resim 2

E: Embriyo

VU: Vesica Urinaria

Resim1. Onsekizinci günde gebe olmayan uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 2. Onsekizinci günde gebe olan uterusun ultrasonografik görünümü

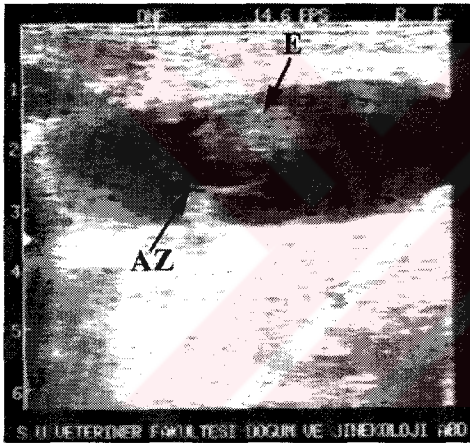
4.2. Aşım sonrası 22, 26, 30 ve 34. günlerde gebe uterusun ultrasonografik görünümü



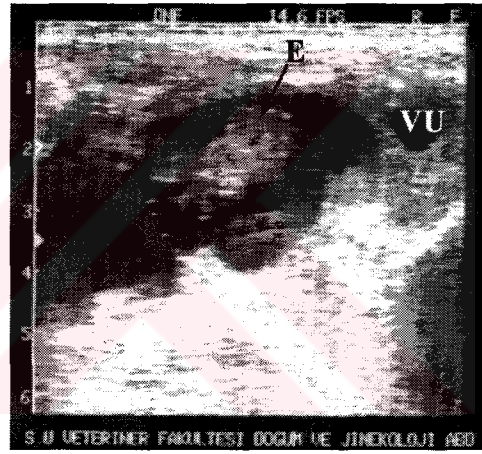
Resim 3



Resim 4



Resim 5



Resim 6

E: Embriyo

VU: Vesica Urinaria

PL: Placentom

AZ: Amnion Zarı

Resim 3. Yirmiikinci günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 4. Yirmialtıncı günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 5. Otuzuncu günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 6. Otuzdördüncü günde gebe uterusun ultrasonografik görünümü

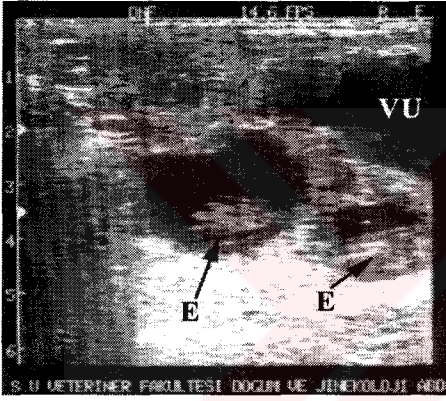
4.3. Onsekiz, 22, 26, 30 ve 34. günlerde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü



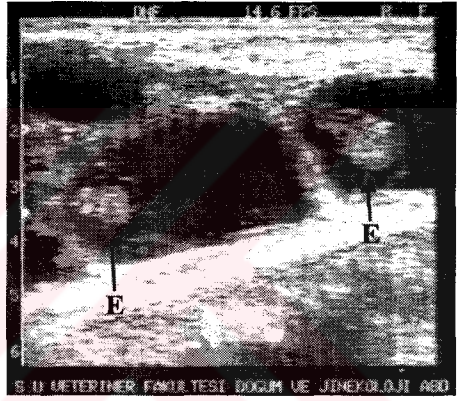
Resim 7



Resim 8



Resim 9



Resim 10



Resim 11

E: Embriyo EV: Embriyonik Vezikül VU: Vesica Urinaria

Resim 7. Onsekizinci günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü

Resim 8. Yirmiikinci günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü

Resim 9. Yirmialtıncı günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü

Resim 10. Otuzuncu günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü

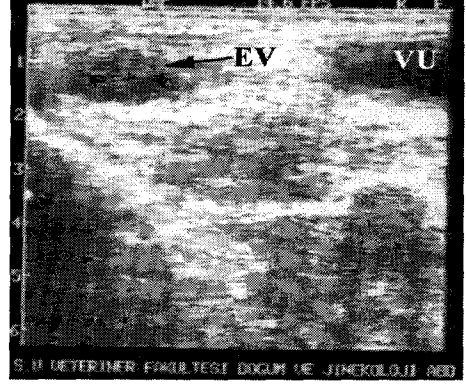
Resim 11. Otuzdördüncü günde ikiz gebeliğin ultrasonografik görünümü



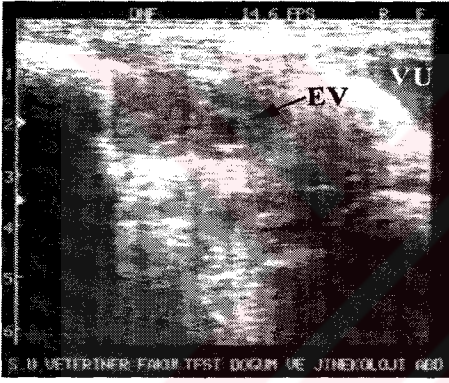
4.4. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda uterusun ultrasonografik görünümü



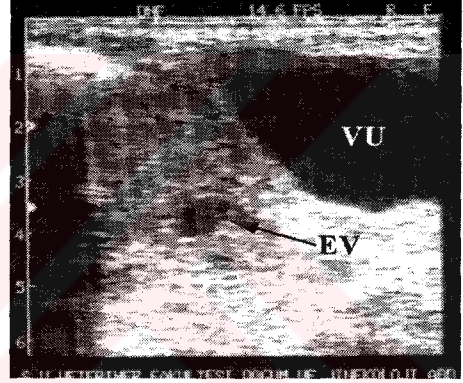
Resim 12



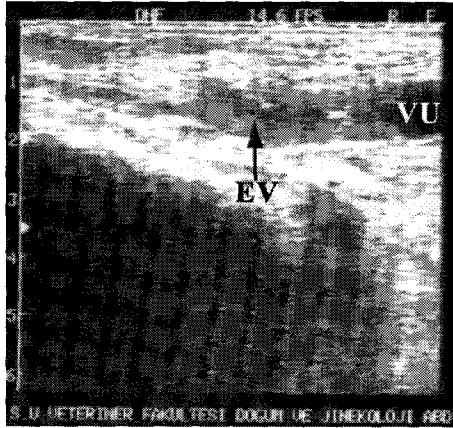
Resim 13



Resim 14



Resim 15



Resim 16

EV: Embriyonik Vezikül VU: Vesica Urinaria

Resim 12. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 18. günde gebeliğin ultrasonografik görünümü

Resim 13. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 22. günde uterusun ultrasonografik görünümü

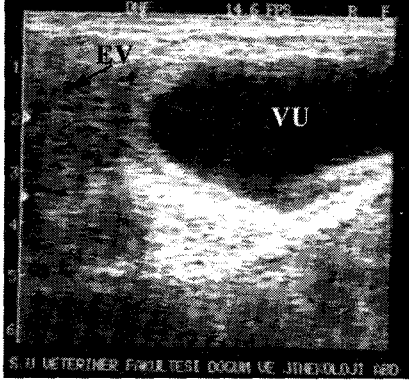
Resim 14. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 15. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü

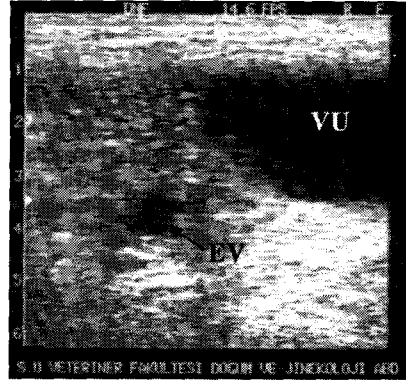
Resim 16. Onsekiz-22. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü



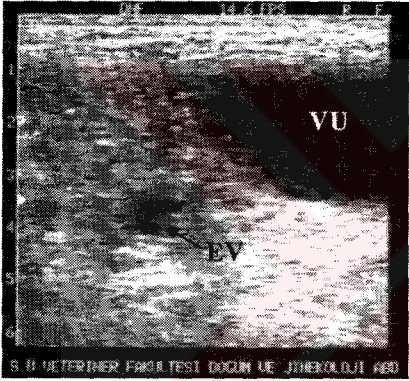
4.5. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda uterusun ultrasonografik görünümü



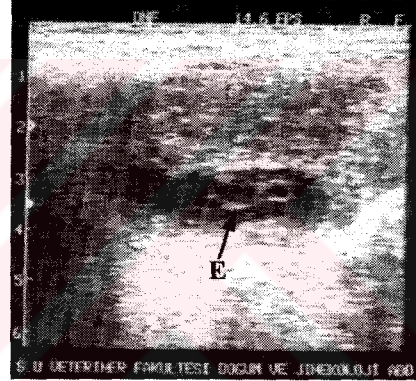
Resim 17



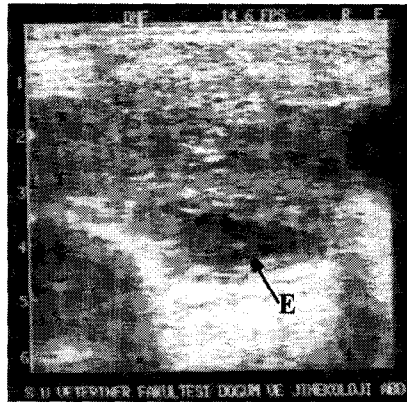
Resim 18



Resim 19



Resim 20



Resim 21

E: Embriyo EV: Embriyonik Vezikül VU: Vesica Urinaria

Resim 17. Yirmiiki-26. günler arasında günde embriyonik ölüm gerçekleşen koyunun 18. günde gebeliğinin ultrasonografik görünümü

Resim 18. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunun 22. günde gebeliğinin ultrasonografik görünümü

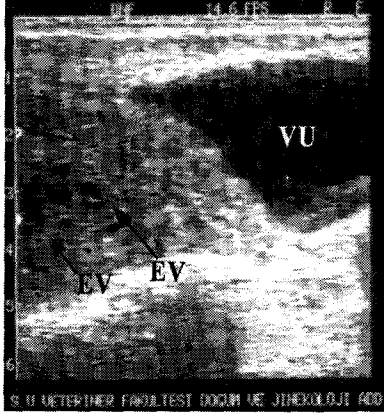
Resim 19. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 20. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü

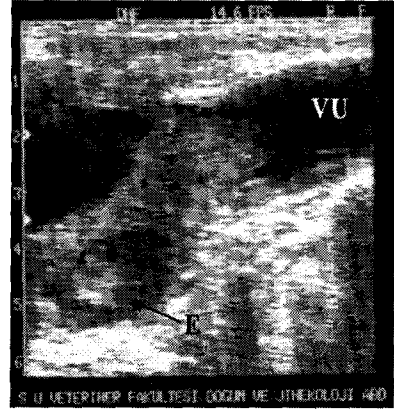
Resim 21. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü



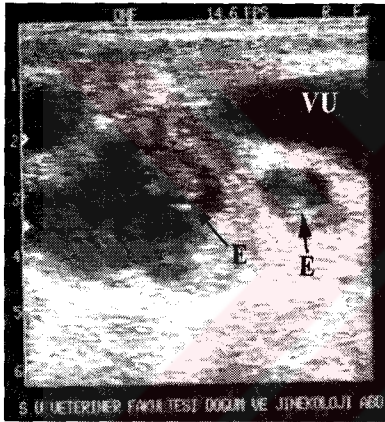
4.6. Yirmiiki-26. günler arasında ikiz gebe koyunda gerçekleşen embriyonik ölümün ultrasonografik görüntüsü



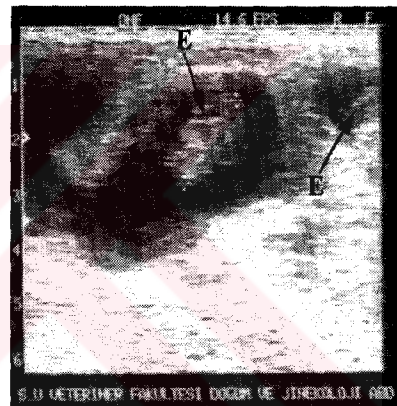
Resim 22



Resim 23



Resim 24



Resim 25



Resim 26

E: Embriyo EV: Embriyonik Vezikül VU: Vesica Urinaria

Resim 22. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 18. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 23. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 22. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 24. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 25. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü

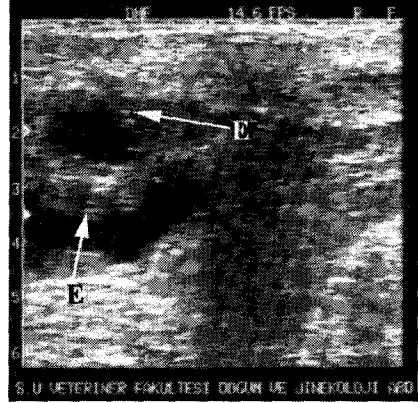
Resim 26. Yirmiiki-26. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü



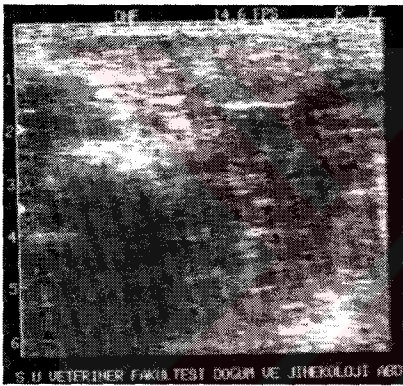
4.7. Otuz-34. günler arasında ikiz gebe koyunda gerçekleşen embriyonik ölümün ultrasonografik görüntüsü



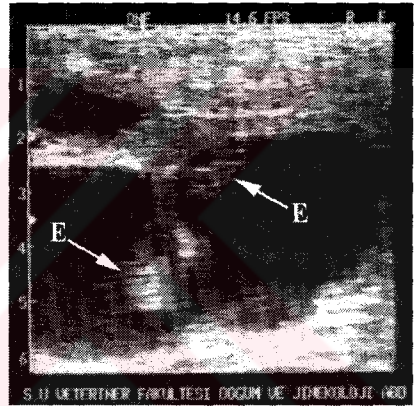
Resim 27



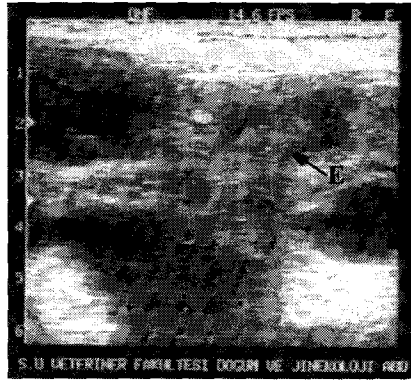
Resim 28



Resim 29



Resim 30



Resim 31

E: Embriyo EV: Embriyonik Vezikül

Resim 27. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 18. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 28. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 22. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 29. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 26. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 30. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 30. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Resim 31. Otuz-34. günler arasında embriyonik ölüm gerçekleşen ikiz gebe koyunda 34. günde uterusun ultrasonografik görünümü

Tablo 1. Çalışmada elde edilen ultrasonografik muayene bulguları

BULGULAR							
Muayene Dönemi (gün)	Gebe Koyun (n)	Kalp Atımı n (%)	İkizlik n (%)	Embriyonik Ölüm		Embriyonik Vezikül Genişliği (mm)	Baş-Popo Mesafesi (mm)
				Tekli n (%)	İkiz n (%)		
18	60	1 (1.2)	1 (5.2)	-	-	-	1-2
22	59	49 (62)	9 (47)	1(14.3)	1 (14.3)	15.0±2.0	5.0±20
26	56	73 (100)	16 (100)	3(42.8)	1 (14.3)	22.0±3.0	13.0±3.0
30	56	73 (100)	16 (100)	-	-	32.0±4.0	22.0±4.0
34	56	72 (100)	15 (100)	-	1 (14.3)	38.0±3.0	25.0±4.0

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Koyunlar mevsime bağı poliöstrik hayvanlar olup, aşım sezonu içinde gebe kalmadıkları sürece sezon sonuna kadar 6-9 kez östrüs gösterirler. Bu nedenle koyunlarda gebeliğin ya da daha doğru bir yaklaşımla gebe olmayanların erken tanısı önemlidir. Çünkü gebe olmadığı belirlenen bir koyuna aşım sezonu içerisinde yeniden gebe bırakma girişimlerinde bulunulabilir. Gebe olduğu belirlenen koyunlarda ise embriyonal dönem izlenebilmekte, fötüs sayısı, fötal yaş ve gebelikteki anormaliteler belirlenebilmektedir (Alaçam ve ark 1988, Garcia 1993, Cunningham ve Deborah 1997, Gordon 1997, Dinç ve ark 2001). Sunulan çalışmada yüksek oranda embriyonik ölüm olduğu bilinen koyunlarda bu embriyonik ölümlerin insidansının real-time ultrason ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Koyunlarda fertilité genellikle yüksek oranda elde edilmekte ve ineklerde karşılaşılan infertilite sorunlarıyla (metritis, pyometra, hydrometra, ovaryum kistleri, inaktif ovaryum vs.) pek sık karşılaşılmamaktadır. Sunulan çalışmada; gebe kalmayan ya da gebeliği sona eren koyunlarda yapılan ultrasonografik muayenelerde yukarıda adı geçen infertilite sorunlarıyla karşılaşmadı. Bu nedenle koyunlarda embriyonik ve fötal ölümlerin en önemli infertilite sorunu olduğu söylenebilir.

Veteriner hekimlikte ultrasonografi kullanılmadan önce embriyonik ölümler ancak mezbahada kesilen hayvanlarda belirlenebiliyordu. Alost ve ark (1998); 870 baş koyunda yaptığı mezbaha çalışmasında, çift ovulasyon gösteren koyunların % 17'sinde tek embriyo gözlediğini bildirmektedir. Kaulfuss ve ark (1997); gebeliğin 21-31. günleri arasında yaptığı postmortem muayenede % 37 oranında embriyonik ölüm tespit ettiğini ifade etmektedir.

Son 25 yıldır ultrasonografik muayene rutin gebelik muayenesi, gebelik anormaliteleri, ovaryum fonksiyonları ve embriyonik ölümlerin tespit edilmesi, gebelik yaşı, ikizliğin belirlenmesinde güvenilir olması ve hemen sonuç vermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Real-time ultrasonografinin avantajı gebeliğin hydrometra, pyometra ve fötal mumifikasyondan kesin olarak ayırt edilebilmesine olanak vermesidir (Gearhart ve ark 1988, Shrick ve Inskeep 1993, Kaulfuss ve ark 1996, de Bulnes ve ark 1997, Gordon 1997, Martinez ve ark 1998, Strmsnik ve ark 2002).

Embriyonik ölümlerin belirlenmesi çalışmalarında gebeliğin mümkün olduğunca erken dönemde tespit edilmesi en önemli noktadır. Sunulan çalışmada; aşım sonrası 18. günde gebeliğin yüksek oranda tespit edilmiş olması çalışmanın esasını teşkil etmektedir. Çünkü embriyonal dönemin 0-34. günler arası olduğu düşünüldüğünde, gebelik ne kadar

erken tespit edilirse yapılan ultrasonografik muayenelerle embriyonik ölümlerin belirlenmesinde o oranda zaman kazanılmış olmaktadır.

Embriyonik ölümleri belirleme çalışmalarında real-time ultrason embriyonal dönemin izlenmesine olanak verdiğinden önemli bilgiler elde edilmiştir. Kaulfuss ve ark (1997); ultrasonografik muayene ile postmortem muayeneyi karşılaştırdığında, ultrasonografinin embriyonik ölümlerin belirlenmesinde güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmektedir.

Koyunlarda erken gebelik tanısı ve embriyonik ölümlerin belirlenmesinde ultrasonografik muayenenin transrektal olarak uygulanmasıyla elde edilen doğruluk oranlarının, gebeliğin 35. gününe kadar transabdominal uygulamadan daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Goll ve ark 1992, Bretzlaff ve ark 1993, Shrick ve Inskeep 1993, Kahn 1994, Kaulfuss ve ark 1996, Zipper ve ark 1997). Strmsnik ve ark (2002); gebeliğin 6, 13, 16, 20, 23, 30 ve 37. günlerinde 7.5 MHz transrektal (linear-array, human prostat) proba sırtüstü pozisyonda yapılan muayene ile embriyonik ölümlerin insidansını % 20-40 arasında bulmuştur. Shrick ve Inskeep (1993); gebeliğin ilk 25 günü hergün ve izleyen 30, 35 ve 40. günlerde 7.5 MHz transrektal (linear-array, human prostat) proba sırtüstü pozisyonda yaptığı çalışmalarda embriyonik ölümlerin insidansını % 11 olarak bulmuşlardır. Gearhart ve ark (1988); 23 gebe koyunda gebeliğin ilk 50 günü boyunca transrektal, 51-150. günler arasında transabdominal yoldan yaptığı çalışmada embriyonal ve fetal ölümleri % 16 oranında bulduklarını bildirmektedirler. Bu çalışmada; en az bir doğum yapmış, aynı bakım ve beslenme şartlarında barındırılan, flushing uygulanan, 17 Eylül-7 Ekim tarihleri arasında doğal aşım yaptırılan 60 gebe Konya Merinosu ırkı koyunda embriyonik ölümlerin insidansı gebeliğin 18-34. günleri arasında transrektal yoldan yapılan muayenelerle % 8.9 olarak elde edildi. Elde edilen oranın aynı konuda yapılan diğer çalışmaların bulgularına göre düşük bulunması, embriyonik ölümlerin insidansının düşük veya yüksek olmasında bakım ve beslenme şartlarının ve ırk faktörünün önemli bir neden olduğunu göstermektedir.

Koyunlarda transrektal ultrasonografik muayeneden önce hayvanın zapt-ı raptı yapılmalıdır. Bu sayede hayvanın hareketleri sınırlandırılır, oluşabilecek yaralanmalara karşı önlem alınmış olur ve muayene daha rahat bir şekilde gerçekleştirilebilir (Kahn 1994, Doize ve ark 1997, Karen ve ark 2001). Dickie ve ark (1999); Muayenin sırtüstü yatırılarak yapılmasının, ayakta yapılan muayeneye göre çok daha avantajlı olduğunu ve hayvanda daha az stres oluştuğunu ileri sürmektedir. Sunulan çalışmada, koyun sırtüstü pozisyonda,

bir yardımcı vasıtasıyla, özel olarak tasarlanmış muayene yatağına yerleştirildi. Hayvanın tekme atmasını engellemek için arka bacakları caudale doğru uzatılıp bağlandı. Bu yöntem sayesinde muayeneler oldukça rahat bir şekilde gerçekleştirildi.

Koyunlar sırtüstü yatırıldıkları zaman reproduktif organlar, özellikle uterus yerçekimi etkisiyle rektuma yerleştirilen probun tarama yüzeyine doğru inmektedir. Bu sayede uterus muhteviyatı daha yakından gözlenebilmekte, ultrason dalgalarının daha derine ulaşması gerekliliği azalmaktadır. Ancak transrektal muayenenin daha rahat ve görüntü kalitesinin daha iyi olması için rektumdaki dışkının uzaklaştırılması gerekmektedir. Çünkü dışkının rektum duvarı ve prob arasına girmesi, elde edilecek görüntü kalitesini düşürmektedir. Dışkının rektumdan uzaklaştırılması amacıyla, hayvanlara muayeneden 12 saat öncesinden itibaren yem ve su verilmemesi önerilmektedir (Garcia ve ark 1993, Shrick ve Inskeep 1993, Kahn 1994, Kaulfuss ve ark 1996, de Bulnes ve ark 1997, Dickie ve ark 1997, Doize ve ark 1997). Bu çalışmada kullanılan koyunların işletmedeki diğer koyunlarla birarada tutulmalarından dolayı, işletmenin düzenini bozmamak için 12 saat öncesinden yem ve su kısıtlaması yapılması imkanı yoktu. Bu nedenle muayene sırasında dışkının belirtilen olumsuz etkilerinin giderilmesi amacıyla temizleme işlemi yapıldı. Bu işlemin, yapılan muayeneyi oldukça kolaylaştırdığı belirlendi. Bu yöntemin hayvanın aç ve susuz kalmasına göre daha avantajlı olabileceği düşünülmektedir.

Dickie ve ark (1999); transrektal olarak yapılan muayenede bazı hayvanlarda hafif rektal kanama gözleendiğini ancak daha sonra postmortem muayene sonucunda kullanılan hayvanların % 1'inden de daha azında rektumda fiziksel hasara rastladığını belirtmektedir. Sunulan çalışmada da; bazı hayvanlarda hafif rektal kanama gözlenmesine rağmen, bu hayvanların hiçbirinde genel durum bozukluğu veya ölüm gibi olumsuzluklarla karşılaşmadı. Muayenelerden önce dışkının uzaklaştırılmasının rektumda meydana gelebilecek hasarları da önlediği düşünülmektedir. Çünkü rektum dolu olduğu zaman muayene çubuğu ilerletilmeye çalışıldığında dışkı direnç oluşturacak ve bu dirençten dolayı çubuğu ilerletmek için daha fazla güç uygulanacağından rektumda hasar oluşacaktı.

Transrektal ultrasonografik yöntemde, hayvanın genital sistem muayenesi birkaç dakikada tamamlanabilmektedir. Monitör üzerindeki görüntünün açık ve net olabilmesi için muayenenin loş bir ortamda yapılması önerilmektedir (Fowler ve Wilkins 1984, Kahn 1994, Dickie ve ark 1999). Bu çalışmada hayvan materyali, kapalı ve nispeten loş bir ortamda muayene edildi. Muayene süresi her hayvan için 18. ve 22. günlerde ortalama 1-2

dakika sürerken, ilerleyen günlerde detayların artmasıyla embriyo sayımı, kalp atımının tespiti, embriyoların ve embriyonik vezikül ölçümlerinin yapılmasından dolayı 3-4 dakikaya kadar uzamıştır.

Koyunlarda transrektal muayenin gerçekleştirilebilmesi için probun yeterince sert, esnek olmayan, pürüzsüz bir yüzeye sahip, kırılmaz bir maddeden yapılmış bir rektal muayene çubuğuna (3x64) yerleştirilmesi gerekmektedir (Shrick ve Inskeep 1993, Dickie ve ark 1997, Doize ve ark 1997, Dinç ve ark 2001, Karen ve ark 2001). Çalışmada kullanılan ekipman tüm bu özelliklere sahipti. Muayenede kullanılan çubuğun çapının mümkün olduğunca küçük olmasının muayeneyi kolaylaştıracağı ve bunu sağlamak için probun da küçük olmasının yararlı olacağı kanısına varıldı.

Koyunlarda transrektal ultrasonografide ilk adım v. urinaria'nın bulunmasıdır. Çünkü uterusun ultrasonografik görüntüsü v. urinaria'nın hemen cranialinde elde edilmektedir. Ancak v. urinaria'nın çok dolu olması ultrason muayenesini zorlaştırabilmektedir (Buckrell 1988, Goll ve ark 1992, Kahn 1994, Doize ve ark 1997, Karen ve ark 2001). Bu çalışmada; muayeneden 12 saat önce hayvanları susuz bırakma imkanı olmadığından bazı hayvanlarda idrar kesesinin aşırı dolu olması uterus görüntüsünün alınmasını imkansız hale getirdi. Bu durumda herhangi bir ek işlem yapmadan hayvanın muayenede en sona bırakılması ile hayvanın idrar yapmasına izin verilerek veya burun sıkma yöntemiyle hayvanın idrar yapması sağlanarak bu olumsuzluk giderildi.

Real-time ultrasonografi ile en erken gebelik tanısının 17-18. günlerde yüksek doğruluk oranıyla yapılabileceği belirtilmektedir. Aşımdan sonraki 18. günde gebeliğin en önemli bulgusu v. urinaria'nın cranial'indeki uterus lumeninde nonekojen bir alanın görülmesidir. Embriyo, gebeliğin 18-20. günlerinde flamatöz bir yapıdadır, cornu uteride veya corpus uteride bulunabilmektedir (Goll ve ark 1992, Garcia ve ark 1993, Karen ve ark 2004a). Sunulan çalışmada; 18. günde yapılan muayenelerde, v. urinaria'nın hemen önünde uterus lumeninde ortalama 0.5 cm²'lik nonekojenik bir alan içerisinde 1-2 mm boyunda ekojenik olarak pirinç tanesi büyüklüğünde ve şeklinde embriyo görüldü.

Bretzlaff ve ark (1993); transrektal yoldan 5 MHz proba gebeliğin 20. günde veya daha erken günlerde belirlenebildiğini bildirmektedir. Garcia ve ark (1993); 91 koyunda aşımdan sonra 17-19. günlerde 5 MHz proba transrektal yoldan ayakta yaptığı muayenede % 52 oranında doğru gebelik tanısı koymuştur. Karen ve ark (2001); embriyoyu ilk kez

aşımdan sonra 19. günde tespit etmiştir. Sunulan çalışmada; aşımdan sonra 18. günde 73 koyunun gebelik muayenesi sonucunda 60 koyuna gebe tanısı konuldu. Bu bulgular, koç katımı ile de koyunların östrüse gelmemesiyle ve daha sonra belirlenen plazma progesteron düzeyleriyle de teyit edildi. Ayrıca gebelik (-) tanısı konulan koyunların daha sonraki muayenede de gebe olmadıkları belirlendi.

Sırtüstü yapılan transrektal muayenede, embriyoda kalp atımı ilk kez 18-19. günlerde tespit edilebilmektedir (Shrick ve Inskeep 1993, Martinez ve ark 1998, Karen ve ark 2001). Hayvan ayakta iken yapılan muayenede ise kalp atımı ilk kez 24-25. günlerde tespit edilebilmiştir (Gearhart ve ark 1988, Kaulfuss ve ark 1997). Bu çalışmada; muayenelerin tamamı sırtüstü pozisyonunda yapıldı ve kalp atımı ilk kez 18. günde tespit edildi. Bu durumda sırtüstü pozisyonunda yapılan muayenenin erken gebelik teşhisinde daha avantajlı olduğu söylenebilir. Ayrıca ayakta yapılan muayenelerde hayvanda ıkınma eğilimi görüldüğünden muayene güçleşmektedir.

Bretzlaff ve ark (1993); rutin gebelik muayenesinin aşımdan sonra 21-23. günler arasında yapılabileceğini bildirmektedir. Garcia ve ark (1993); 5 MHz proba transrektal yoldan gebeliğin 21-23. günlerinde % 71 doğrulukta gebelik tanısı koymuşlardır. Buckrell (1988); 5 MHz proba ayakta yapılan transrektal muayenede hedeflenen gebelik tanısı sonuçlarına 22. günde ulaşmıştır. Strmsnik ve ark (2002); sırtüstü pozisyonunda 7.5 MHz (human prostat, linear array) prob kullandığı çalışmasında, sırtüstü pozisyonunda 23. günde bütün embriyoları ve kalp atımlarını gözlemiştir. Sunulan çalışmada; 22. günde daha önceki muayenede gebe olduğu belirlenen 60 koyunda, 2 adet embriyonik ölüm belirlendi, 49 (% 62) embriyoda kalp atımı alındı, 9 (% 50) koyunda ikizlik belirlendi.

Karen ve ark (2001); transrektal ultrasonografiyle embriyoların tamamının 25. günde görüntülenebileceğini bildirmektedir. Embriyo amnion kesesiyle birlikte ilk kez gebeliğin 25. gününde görüntülenebilmektedir (Goll ve ark 1992, Kahn 1994). Gearhart ve ark (1988); ilk 25 günde yanlış tanı ihtimalinin gebe olmayan hayvanlarda daha yüksek olduğunu ileri sürmektedir. Buckrell ve ark (1988); aşımdan sonra 25. günde transrektal yöntemle doğruluk oranını % 97, Garcia ve ark (1993); 24-26. günlerde % 87 olarak bulmuştur. Sunulan çalışmada; 26. günde embriyoların tamamı görüntülendi. Embriyoların oval görünümünden kompakt hale dönmüş olduğu, amnion sıvısının giderek arttığı ve embriyoyu 1-2 mm mesafeden hiperekojenik bir çizgi şeklinde çevirdiği görüldü. Bütün embriyolardan kalp atımı alındı.

Karen ve ark (2004a) ve Buckrell (1988); plasentomları 26-28. günlerde rutin olarak ekojenik bir alan şeklinde uterus endometriumunda izlenebildiğini bildirmektedirler. Çalışmada; 26. günde plasentomlar bazı gebeliklerde görüntülendi.

Karen ve ark (2001) ve Shrick ve Inskeep (1993); 25. günde baş-popo mesafesini ortalama 10 ± 2 mm olarak tespit etmiştir. de Bulnes (1998); 26. günde embriyonik vezikülün çapını ortalama 25.3 ± 4.2 mm olarak bulmuştur. Çalışmada; 26. günde ortalama baş-popo mesafesi 13 ± 3 mm, embriyonik vezikülün çapı ortalama 22 ± 3 mm olarak bulundu. Embriyoların ve embriyonik veziküllerin çaplarının ortalama değerlerinin daha önce yapılmış olan çalışmalarda bulunan değerlerden daha yüksek bulunması, Vanroose ve ark (2000) ve Vallet ve ark (2002)'nin belirttiği gibi; beklenen östrüs zamanına yakın bir zamanda ve erken gebelikte yetersiz beslenmenin oosit kalitesini olumsuz etkilemesi nedeniyle zayıf embriyoların oluştuğu teorisiyle uyum göstermektedir. Dolayısıyla bu durum beslenmenin embriyonik gelişme hızı üzerinde etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Karen ve ark (2001); embriyonik ölüme, 20. günde yapılan muayenede kalp atımı alınmasına rağmen 25. günde yapılan muayenede iki adet embriyodan kalp atımının alınamamasına göre karar vermiştir. Embriyonik ölüm kararı verilenlerde; daha önceki muayeneye kıyaslandığında yavru sularında azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Diğerinde 20. günde tespit edilen embriyo, 25. günde tespit edilememiştir. Garcia ve ark (1993); gebeliğin 17-34. günleri arasında yaptığı çalışmada, embriyonik ölüm oranını % 7 olarak bulmuştur. Onlar 21-23. günlerde kalp atımı tespit edilen embriyolardan 24-26. günlerde kalp atımının alınamamasına göre embriyonik ölüme karar vermiştir. Çalışmada 26. günde 4 adet embriyonik ölüm belirlendi. Yirmiikinci günde ikiz olup 26. günde ikizlerden birisinin olmaması, daha önceki muayenede kalp atımı olduğu halde 26. günde kalp atımı alınamaması, daha önceki muayeneye kıyaslandığında embriyonun filament şekilden, oval kompakt hale gelmesi beklenirken bu gelişmenin olmaması, embriyonik sıvıda artış belirlenememesi ve embriyoda otoliz dikkat çekici nitelikteydi. Daha sonraki günlerde yapılan muayenelerde bu embriyonik ölümler teyit edildi.

Gordon (1997); ultrasonografi yardımıyla embriyoların sayımlarının 25. güne kadar mümkün olmadığını ileri sürmektedir. Karen ve ark (2004b); gebeliğin 29. gününde ayakta gerçekleştirdiği transrektal muayenede doğruluk oranını % 100 olarak bulmuştur. Buckrell; 30. günde transabdominal yoldan yaptığı muayenede embriyolarda kalp atımı ve amnion kesesini tespit etmiştir. Goll ve ark (1992); embriyoyu amnion kesesiyle birlikte ilk kez 30. günde, plasentomları 31. günde görüntülemiştir. Bu çalışmada embriyo, amnion kesesi ve

plasentomlar birlikte ilk kez 26. günde yapılan muayenelerde görüntülendi. Koyunlarda transrektal ultrasonografiyle gebelik tanısında en sağlıklı ve güvenilir sonuçların aşımından sonraki 26. günde yapılan muayenelerde elde edileceği sonucuna varıldı.

Sunulan çalışmada; embriyo, amnion kesesi ve plasentomlar birlikte 30. günde yapılan muayenelerde de görüntülendi.

Shrick ve Inskeep (1993); 30. günde yaptıkları muayenelerde baş-popo mesafesini ortalama 17.0 ± 2.0 mm olarak bulmuşlardır. Sunulan çalışmada; 30. günde baş-popo mesafesi ortalama 22.0 ± 4.0 mm olarak belirlendi.

Shrick ve Inskeep (1993); 30. günde yaptıkları muayenelerde; kalp atımının olmamasına, embriyoların hacminde bir önceki muayeneye göre artış bulunmamasına ve yavru sularının hacmindeki azalmaya göre iki tane embriyonik ölüm belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada; 30. günde yeni meydana gelmiş embriyonik ölüm belirlenemedi. Daha önce belirlenen embriyonik ölümler 30. günde yapılan muayenelerde teyit edildi.

Gebeliğin 32-34. günlerinde transrektal ultrasonografiyle % 95-100 oranında doğru tanı konulabilmektedir. Bu günlerde yapılan muayenede kalınlaşmış uterus duvarı, plasentomlar, amnion kesesi ve embriyoda organ taslaklarının olduğu görülmektedir (Buckrell 1988, Garcia ve ark 1993, Kahn 1994, Karen ve ark 2004a). Sunulan çalışmada; 34. günde yapılan muayenelerde; embriyoların tamamı tespit edildi, organ taslaklarının belli olduğu, ön bacakların çıkıntı verdiği ve amnion kesesinin daha da genişlediği görüldü. Araştırmacıların belirttiklerinin aksine daha erken günlerde yapılan muayenelerde de embriyoların tamamının gözlemlenebildiği, muayenelerin optimal şartlarda yapılması, zapt-ı raptın iyi olması vs. gibi nedenlerin başarıyı arttırdığı kanısına varılmıştır.

Shrick ve Inskeep (1993); gebeliğin 35. gününde baş-popo mesafesini ortalama 25.0 ± 2.0 mm olarak bulmuşlardır. Sunulan çalışmada; 34. günde baş-popo mesafesi ortalama 23.0 ± 2.0 mm olarak bulundu.

Koyunlarda plazma progesteron düzeylerine göre yapılan erken gebelik tanısı çalışmalarında, değişik araştırmacılar 0.5 ng/ml'yi, 1 ng/ml'yi ve 2 ng/ml'yi eşik değer kabul edip bu değer altındakileri gebelik (-), üstündekileri gebelik (+) olarak değerlendirmişlerdir (Ünal ve ark 1991). Sunulan çalışmada; eşik değer 1 ng/ml kabul edilip, bu değer üzerindeki gebelik yönünden pozitif değerlendirildi. Embriyonik ölüm gerçekleşen hayvanlarda plazma progesteron düzeylerine bakarak gebeliğin sonlandığına

veya ikiz gebeliklerde embriyolardan bir tanesinin öldüğüne karar verilemedi çünkü progesteron düzeylerinde dikkate değer bir düşüş belirlenemedi.

Aşım sonrası 16-18. günlerde progesteron düzeylerine göre gebelik % 84-100 arasında belirlenebilmektedir. EIA yöntemine göre gebe olanları doğru belirleme oranını Boscós ve ark (2003); % 91, Flores ve ark (1992); % 92, RIA yöntemine göre Alaçam ve ark (1988); % 85, Zarkawi (1997); % 100, ELISA yöntemine göre Susmel ve Piasentier (1992); % 95 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. Aynı günlerde elde edilen gebe olmayanları belirleme oranlarını ise Boscós ve ark (2003); % 91, Alaçam ve ark (1988); % 86 olarak bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ise gebe olanları EIA yöntemine göre doğru belirleme oranı % 100 olarak elde edildi. Elde edilen bu değer yukarıda belirtilen araştırmacıların değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin çalışmanın yapıldığı işletmede aşımın kontrollü olarak yapılması, kayıtların çok düzenli olarak tutulması, koyunlara aşım sezonunda flushing uygulanması ve kullanılan koçların kaliteli olması düşünülmektedir. Dolayısıyla kayıt sistemi ve idaresi iyi olan işletmelerde yapılacak olan endokrinolojik muayenenin (progesteron analizi) oldukça güvenilir sonuçlar vermesi beklenebilir. Bu durumda yapılacak erken gebelik tanısında progesteron düzeyinin belirlenmesi diğer muayene yöntemlerini destekleyen bir tanı yöntemi olarak değerlendirilebilir. Fakat bunun embriyonik ölümün indirekt olarak belirlenmesinde etkili bir yöntem olmayacağı belirlenmiştir. Çünkü progesteron düzeyi gebe koyunlarda >1ng/ml olarak kabul edildiğinden, embriyonik ölüm geçirenlerde bu değer altına düşmemekte ve dolayısıyla progesteron düzeyine göre embriyonik ölüme karar verilememektedir.

Çalışmada elde edilen % 8.9 erken embriyonik ölüm oranı diğer araştırmacıların bulgularından daha düşük olarak elde edildi. Bunun nedenlerinden birisi işletmedeki bakım ve beslenme şartlarının iyi olmasıdır. Nitekim Vanroose ve ark (2000) ve Vallet ve ark (2002); beklenen östrüs zamanında açlık veya yetersiz beslenme durumlarında embriyonik ölümlerde artış gözlemlendiğini bildirmektedirler.

“Sonuç:”

- Koyunlarda infertilitenin (metritis, pyometra, hydrometra, ovaryum kistleri, inaktif ovaryum vs.) önemli bir sorun oluşturmadığı ancak yavru kaybı açısından düşünüldüğünde önemli bir kaybın olduğu tespit edildi. Olaya bu açıdan bakıldığında mevcut kayıpların önlenmesinin koyunlarda yavru veriminin artırılmasına ilişkin çalışmalara bir alternatif teşkil edebileceği düşünülebilir.

- Progesteron düzeyinin belirlenmesinin erken gebelik tanısında diğer muayene yöntemlerini destekleyen güvenilir bir yöntem olduğu, ancak erken embriyonik ölümlerin belirlenmesinde yetersiz kaldığı görülmüştür.

- Progesteron düzeyinin belirlenmesinin hemen sonuç vermemesi, saha şartlarında uygulanmasının zor olması, Türkiye’de donanımlı bir laboratuvar eksikliği önemli dezavantajları olarak belirlendi.

- Daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi embriyonik ölüm çalışmalarında başlıca 4 sorunun olduğu ifade edilmektedir: İnsidansı nedir, ne zaman meydana gelir, sebepleri nelerdir ve önlenmesi için neler yapılabilir? Ultrasonun bu dört sorudan ilk ikisine çözüm olabileceği kanısına varıldı.



6. ÖZET

S. Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞUM ve JİNEKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ / KONYA – 2005

M. Kemal SARIBAY

Danışman

Doç. Dr. Hüseyin ERDEM

Koyunlarda Real-Time Ultrasonografi ile Embriyonik Ölümünün İnsidansının Belirlenmesi

Sunulan çalışmada; koyunlarda embriyonik ölümlerin belirlenmesinde direkt bir yöntem olan real-time ultrason ve indirekt bir yöntem olan plazma progesteron düzeyleri ile embriyonik ölümlerin insidansı belirlenmiş ve mevcut kayıplar değerlendirilmiştir.

Çalışma materyalini en az bir doğum yapmış, 2-5 yaşlı, aynı bakım ve beslenme şartlarında barındırılan, flushing uygulanan, 17 Eylül-7 Ekim tarihleri arasında doğal aşım yaptırılan 60 gebe Konya Merinosu ırkı koyun oluşturdular.

Doğal aşım yaptırılan koyunların ilk gebelik muayeneleri aşım sonrası 18. günde B-model, linear array, 5-7.5 MHz rektal probu bulunan real-time ultrason (Scanner 480 Vet, Pie Data Medical, Maastrich, Netherlands) ile transrektal yoldan yapıldı. Aşım sonrası 18. günde gebe olduğu belirlenen koyunlara izleyen 22, 26, 30 ve 34. günlerde 4 kez daha transrektal ultrasonografik muayene uygulandı. Ayrıca embriyonal dönemde yapılan ultrasonografik muayenelere ek olarak, aynı muayene günlerinde (18, 22, 26, 30 ve 34. gün) plazma progesteron düzeyi enzim immünoassay (EIA) yöntemiyle belirlendi.

Onsekizinci günde yapılan ultrasonografik muayenede 73 koyundan 60'ında gebelik belirlendi. Gebeliği belirlenemeyen veya gebelik şüpheli hayvanlar çalışmaya dahil edilmedi. Onsekizinci günden başlayarak 34. güne kadar 5 kez ultrason muayenesi yapılan 60 gebe koyunda 79 embriyo belirlendi ve 7 (% 8.9) embriyonik ölüm tespit edildi. Bu ölümlerin 2'si 22. gün, 4'ü 26. gün ve 1'i de 34. günde yapılan muayenelerde belirlendi. Plazma progesteron düzeyleri >1 ng/ml olanlar gebe olarak kabul edildi. Ancak embriyonik ölüm gerçekleşen hayvanlarda plazma progesteron düzeylerine göre gebeliğin sonlandığına veya ikiz gebeliklerde embriyolardan bir tanesinin öldüğüne karar verilemedi.

Daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi embriyonik ölüm çalışmalarda başlıca 4 sorunun olduğu ifade edilmektedir. Bunlar, insidansı nedir, ne zaman meydana gelir, sebepleri nelerdir ve önlenmesi için neler yapılabilir. Ultrason bu dört sorudan ilk ikisine çözüm olabileceği kanısına varıldı.

Sonuç olarak plazma progesteron düzeyinin embriyonik ölümlerin belirlenmesinde yetersiz kaldığı, ultrasonun ise gerek ölümlerin ne zaman meydana geldiği ve gerekse insidansının belirlenmesinde güvenilir bir yöntem olduğu kanısına varıldı.



7. SUMMARY

Determination of the Incidence of Embryonic Death by means of Real-Time Ultrasound Scanning in Ewes

In the present study, incidence of embryonic mortality in ewes was determined directly by real-time ultrasonography and indirectly by changes in level of plasma progesterone. Then the results were evaluated.

Primiparous and multiparous Konya Merino ewes (n=60), which were housed under the same conditions, were flushed and naturally mated between September 17 and October 7.

The first pregnancy detection was done transrectally 18 days after mating by using B-model, linear array, 5-7.5 MHz real-time ultrasonography (Scanner 480 Vet, Pie Data Medical, Maastrich, Netherlands). Ewes, which were confirmed pregnant on day 18, were repeatedly examined by ultrasonography for pregnancy 22, 26, 30, and 34 days after mating. Blood samples were collected simultaneously with ultrasonography and plasma was stored at -20 C until measurements of plasma progesterone with enzyme immunoassay (EIA).

Of 73 ewes, 60 ewes were pregnant on day 18. Remain ewes, which were not pregnant or suspicious, were excluded from the study. From day 18 until day 34, 60 pregnant ewes were examined by ultrasonography, and 79 embryos were detected and embryonic mortality rate was 8.9 % (7 of 79 embryos). Of these embryonic mortalities, 2 on day 22, 4 on day 26 and 1 on day 34 happened. Ewes with > 1 ng/ml of plasma progesterone were considered pregnant. However, plasma progesterone levels were not correlated with embryonic mortalities (i.e., it did not decrease following embryonic death). Also, it was decided that progesterone level was not a good indicator of embryonic mortality in twin pregnancies when only one embryo is dead.

When embryonic mortality is of concern, there are four important questions; 1) What is the incidence; 2) When does it happen; 3) What are the reasons; 4) What can be done to prevent it? It was agreed that ultrasonography could answer the first two questions.

As a result, measurements of plasma progesterone levels are not sufficient to determine embryonic mortality. However, ultrasonography is a dependable method to determine the time and the incidence of the embryonic death.

8. LİTERATÜR LİSTESİ

- Abecia JA, Lozano JM, Forcada F and Zarazaga L (1997)** *Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes*, Anim Reprod Sci, 48, 209-218.
- Alaçam E (1997)** *Sığırlarda döl verimi ve sorunları*, Alınmıştır “Sığır Hastalıkları” E Alaçam ve M Şahal (eds), 325-388, Medisan, Ankara.
- Alaçam E, Deveci H, Arvas H ve Timurkan H (1982)** *Koyunlarda ultrases ve vaginal biyopsi yöntemleriyle gebelik tanısı çalışmaları*, FÜ Vet Fak Dergisi, 7, 1-2, 49-56.
- Alaçam E, Dinç DA ve Güler M (1988)** *Koyunlarda mezbaha şartlarında ultrases ile gebeliğin tanısı üzerine çalışma*, 9, 55, 21-25.
- Alaçam E, Dinç DA, Güler M, Eröz S ve Sezer AN (1988)** *Anöstrüs döneminde progestagen (MAP), PMSG VE GnRH ile senkronize edilen koyunlarda radyoimmünassay (RIA) yöntemi ile erken gebelik tanısı üzerinde çalışma*, SÜ Vet Fak Dergisi, 4, 1:91-98.
- Alan M, Semacın A ve Dinç DA (1993)** *Koyunlarda A-mod utrasonla gebelik teşhisi*, Doğa-Tr J of Vet Anim Sci, 17, 1-4, TÜBİTAK.
- Alosta RA, Vaughan L and Collins CD (1998)** *An abattoir of ovine reproductive tract in Ireland*, Theriogenology, 50:457-464.
- Anwar M and Ahmad KM (1999)** *Ovulation rate, number of fetuses and embryo loss in Teddy goats of Pakistan*, Small Rum Res, 31, 281-283.
- Arthur GH, Noakes DE and Pearson H (1989)** *Veterinary Reproduction and Obstetrics (Theriogenology)*, 6 th ed, Bailliere Tindall, London.
- Ashworth CJ, Sales DI and Wilmut I (1989)** *Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe*, J Repröd Fert, 87, 23-32.
- Bartlewski PM, Beard AP and Rawlings NC (1999)** *Ultrasonographic study of ovarian function during early pregnancy and after parturition in the ewe*, Theriogenology, 53:673-689.
- Beck NFG, Davies MCG and Davies B (1996)** *A comparison of ovulation rate and late embryonic in ewe lamb subfertility*, J Anim Sci, 62: 79-83.

- Boscós CM, Samartzi FC, Lymberopoulos AG, Stefanakis A and Belibasaki S (2003)** *Assesment of progesterone concentration using Enzymeimmunoassay, for early pregnancy diagnosis in sheep and goats*, *Reprod Dom Anim*, 38, 170-174.
- Bretzlaff K, Edwards T, Forrest D and Nuti L (1993)** *Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants*, *Vet Med*, January, 12-24.
- Buckrell BC (1988)** *Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats*, *Theriogenology*, 29:71-84.
- Buckrell BC, Bonnett BN and Johnson WH (1986)** *The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep*, *Theriogenology*, 25, 5, 665-673.
- Cartee RE (1980a)** *Diagnostic ultrasonography*, *Modern Vet Prac* 61: 744-747.
- Cartee E (1980b)** *Ultrasonography: A new diagnostic technique for veterinary medicine*, *Vet Med* 75: 1524-1533.
- Cartee E (1993)** *Ultrasonography*, *Vet Clin of North Am: Small Animal Practise* 23(2): 345-377.
- Cunningham W and Deborah M (1997)** *Pregnancy Diagnosis*, In "Current Therapy in Large Animal Theriogenology" Youngquist RS (ed), in Missouri, 612-616.
- Çoyan K (1994)** *Evcil hayvanlarda seksüel sikluslar*, Alınmıştır "Reproduksiyon Sun'î Tohumlama Doğum ve İnfertilite" E Alaçam (ed), 25-36, Medisan, Ankara.
- Dickie AM, Paterson C, Anderson JLM and Boyd JS (1999)** *Determination of corpora lutea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound*, *Theriogenology*, 51: 1209-1224.
- Dinç DA ve Güler M (1988)** *Koyunlarda ultrases ile gebelik üzerine çalışmalar*, *SÜ Vet Fak Derg*, 4 (1), 66-71.
- Dinç DA, Erdem H, Taşal İ, Semacan A ve Ergin A (2001)** *Early pregnancy diagnosis in ewes by means of transrektal real-time ultrasonography*, *Arch Tierz., Dummerstorf*, 44, 1:65-69.
- Dinç DA (2003)** *İneklerde Reprodüktif Ultrasonografi*, *Türk Veteriner Jinekoloji Kongresi*, 4-6 Eylül, Konya.
- Dinç DA, Taşal İ, Erdem H, Semacan A ve Aral S (1994)** *Koyunlarda transabdominal ultrasonografi ile yavru sayımı*, *Vet Bil Derg*, 10, 1-2, 81-83.

- Dorze F, Vaillancourt D, Carabin H and Belanger D (1997)** *Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurement of placentomes*, Theriogenology, 48, 449-460.
- England G (1994)** *Real-time ultrasonography for the diagnosis and management of equine pregnancy*, In Practise 3: 84-92.
- Flores G, Amezcua R, Zarco L, Ducging A and Quspe T (1992)** *Pregnancy diagnosis by progesterone determination on day 18 post-service in the ewe comparison of radioimmunoassay and enzyme immunoassay*, 12 th International Congress on Animal Reproduction, August, 45-47, The Hague-The Netherlands.
- Flückiger M (1990)** *Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze. 1. Funktionseweise, Greate, Biologische Wirkung*. Schweiz Arch Tierheilk 132: 275-282.
- Fowler DG and Wilkins JF (1984)** *Diagnosis of pregnancy and number of foetuses in sheep by real-time ultrasonic imaging effect of number of foetuses, stage of gestation, operator breed of ewe on accuracy of diagnosis*, Livestock Prod Sci, 11, 437-450.
- Garcia A, Neary MK, Kelly GR and Pierson RA (1993)** *Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe*, Theriogenology, 39:87-861.
- Gearhart MA, Wingfield WE, Knight AP, Smith JA, Dargatz DA, Boon JA and Stokes CA (1988)** *Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes*, Theriogenology, 30, 2, 323-335.
- Goff AK (2002)** *Embryonic Signals and Survival*, Reprod Dom Anim, 37, 133-139.
- Goll D, Marek J, Krejci M and Riha M (1992)** *Pregnancy diagnosis in sheep using real-time ultrasonography*, 12th International Congress on animal Reproduction, August 23-27, Vol. 2, 132-134, The Hague-The Netherlands.
- Gonzales de Bulnes A, Moreno JS and Sebastian AL (1998)** *Estimation of fetal development in Manchega dairy ewes by transrectal ultrasonographic measurements*, Small Rum Res, 27, 243-250.
- Gordon I (1997)** *Controlled Reproduction in sheep and goats*, Universty College Dublin Ireland. 241-259.
- Güler M (1999)** *Gebelik fizyolojisi*, Alınmıştır “Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite”, E Alaçam (ed), 99-108, Medisan, Ankara.

- Herring DS and Bjornton G (1985)** *Physict, facts and artifacts of diagnostic ultrasound*, Vet Clin of North Am: Small Anim Prac 15(6): 1107-1122.
- Ishwar AK (1995)** *Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review*, Small Rum Res, 17, 37-44.
- Jonsson MM, Mc Gowan MR, Mc Guigan K, Davison TM and Hussain AM (1997)** *Relationships among calving season, heat load, energy balance and postpartum ovulation of dairy cows in a subtropical environment*, Anim Reprod Sci, 47: 315-326.
- Jouniden MR and Hafez ESE (1987)** *Maternal recognition of pregnancy*, In "Reproduction in Farm Animals" 5th edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Kahn W (1992)** *Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction*, Anim Reprod Sci, 28, 1-10.
- Kahn W (1994)** *Veterinary Reproductive Ultrasonography*, Mosby-Wolfe, London.
- Kalkan C ve Horoz H (1999)** *Pubertas ve seksüel sikluslar*, Alınmıştır "Evcil . Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", E Alaçam (ed), 25-42, Medisan, Ankara.
- Karen A, Kovacs P, Beckers JF and Szenci O (2001)** Review article pregnancy diagnosis in sheep: *Review of the most practical methods*, Acta Vet BRNO, 70: 115-126.
- Karen A, Beckers JF, Sulon J, Melode SN, Szabados K, Reczigel J and Szenci O (2004a)** *Early pregnancy diagnosis in sheep by progesterone and pregnancy-associated glycoprotein tests*, Theriogenology, 59, 1941-1948.
- Karen A, Szabados K, Rerczigel J, Beckers JF and Szenci O (2004b)** *Accuracy of transrectal ultrasonography for determination of pregnancy in sheep: effect of fasting and handling of the animals*, Theriogenology, 61, (7-8), 1291-1298.
- Kaulfuss KH, May J, Süß R and Moog U (1997)** *In vivo diagnosis of embryo mortality in sheep by real-time ultrasound*, Small Rum Res, 24:141-145.
- Kaulfuss KH, Uhlich K, Brabant S, Blume K and Strittmatter K (1996)** *Real-time ultrasonic pregnancy diagnosis (B-mode) in sheep, 1. Frequent examinations during the first month of pregnancy*. Tier Prax 24, 5: 443-452.

- Kaya A (1996)** *Anöstrüs dönemindeki koyunlarda melatonin ve koç etkisi uygulamalarının bazı üreme parametrelerine etkisi*, Doktora tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Kırşan (2003)** *Köpeklerde Genital Organların Ultrasonografik Muayenesi*, Türk Veteriner Jinekoloji Kongresi, 4-6 Eylül, Konya.
- Kleemann DO, Walkers SK, Walkley JRW, Smith DH, Grimson RJ and Scaamark RF (1990)** *Fertilization and embryo loss in Booroola MerinoSouth Australian Merino Ewes: Effect of the F genes*, Theriogenology, 33, 2, 487-498.
- Ley WB (1985)** *Influence of the sire of on early embryonic loss in domestic large animals*, Compend Cont Educ Pract Vet 7 (4):277-284.
- Martinez MF, Bosch P and RA (1998)** *Determination of early pregnancy and embryonic growth in goats by transrectal ultrasound scanning*, Theriogenology, 49: 1555-1565.
- McPhee IM and Tiberghien (1987)** *Assessment of pregnancy in sheep by analysis of plasma progesterone using an amplified enzyme immunoassay technique*, Vet Rec, 121:63-65.
- Michels H, Vanmontfort D, Dewil E and Decuypere E (1998)** *Genetic variation of survival in relation to ovulation rate in sheep*, Small Rum Res, 29:129-142.
- Nancarrow CD (1994)** *Ebryonic mortality in the ewe and doe*, In "Embryonic Mortality in Domestic Species", MT Zavy and RD Geisert (eds), 79-97, Crd Press, Boca Raton.
- Nephew KP, McClure KE, Ott TL, Dubois DH, Bazer FW and Pope WF (1991)** *Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes*, Biol Reprod, 44, 536-539.
- Pierson RA, Kastelic JP and Ginther OJ (1988)** *Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle ana horses*, Theriogenology 29 (1): 3-19.
- Pope WF (1988)** *Uterine Asynchrony: A cause of embryonic loss*, Biol Reprod, 39, 999-1003.
- Richardson C (1972)** *Pregnancy diagnosis in the ewe: A Review*, Vet Rec, 90, 264-275.
- Rodriguez I, Jimenez C, Hernandez A (2000)** *A microscopical study of uterine lining modification, binucleate cell numbers and trophoblastic development, at day 14, 20 and 24 of gestation in single and multiple pregnancies in sheep*, Small Rum Res, 35, 163-168.

- Scaramuzzi RJ and Downing JA (1997)** *The distribution of ovulations from the ovaries of Merino and Border Leicester X Merino ewes and its effect on the survival of their embryos*, Anim Reprod Sci, 47, 327-336.
- Senger PL (1999)** *Early embriyogenezis and maternal recognition of pregnancy*, In "Pathways to Pregnancy and Parturition", The Mack Printing Group-Science Press Ephnata, PA.
- Shrick FN and Inskeep EK (1993)** *Determination of early pregnancy in ewes utilizing trasrectal ultrasonography*, Theriogenology, 40:295-306.
- Strmsnik L, Progacnik M, Kadun NC and Kosec M (2002)** *Examination of oestrus cycle and early pregnancy in sheep using transrectal ultrasonography*, Slov Vet Res, 39(1): 47-58.
- Susmel P and Piasentier E (1992)** *Assesment of pregnancy in Bergamasca ewes by analysis of plasma progesterone*, Small Rum Res, 8: 325-332.
- Şendağ S, Tekeli T, Uçar M ve Erdem H (1996)** *Koyunlarda kaudal uterus arterinin palpasyonu yöntemi ile gebelik tanısı*, Hayvancılık Araştırma Dergisi, 6, 1-2, 95-97, 1996.
- Taşal İ, Ataman MB, Dinç DA, Ergin A and Erdem H (1995)** *Koyunlarda gebelik teşhisi amacıyla A ve B-mode real-time ultrason tekniklerinin karşılaştırılması*, Vet Bil Derg, 41-45.
- Thomas WD (2005)** *Estrous cycles ewe*, www.microvet.arizona.edu (Erişim tarihi: Ocak 2005).
- Trapp MJ and Slyter AL (1983)** *Pregnancy diagnosis in ewe*, J Anim Sci, 57, 1, 1-5.
- Tyrrell RN, Gleeson AR, Peter DA and Connel PJ (1980)** *Early identification of non-pregnant and pregnant ewes in the field using circulating progesterone concentration*, Anim Reprod Sci, 3, 149-153.
- Ünal EF, Eroğlu A, Deligözoğlu F, Nak Y ve Çelik İ (1991)** *Koyunlarda gebelik tanısı ve yavru sayısının belirlenmesi konusunda karşılaştırmalı çalışmalar*, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koyunculuk Araştırma Enstitüsü, Bandırma.
- Vallet JL, Leymaster KA and Christenson RK (2002)** *The influence of uterine function on embryonic and fetal survival*, J Anim Sci, 80 (E Suppl. 2): E115-E125.

- Vanroose G, Kruif A de and Van Soom A (2000)** *Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions*, Anim Reprod Sci, 60-61, 131-143
- Wani GM (1981)** *Ultrasonic pregnancy diagnosis in sheep and goats*, World Review of Animal Production, Vol XVII, No 4, October-December.
- Ward WR (1986)** *The breeding season and the estrous cycle*, In "Current Therapy in Theriogenology" David A Morrow (ed), WB Saunders Co, Philadelphia.
- White IR, Russel AJF and Fowler DG (1984)** *Real-time ultrasonic scanning in the diagnostic of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep*, Vet Rec, 115, 140-143.
- Wilkins JF (1997)** *Method of stimulating ovulation rate in Merino ewes may affect conception but not embryo survival*, Anim Reprod Sci, 47:31-42
- Wilmot I (1985)** *The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals*, Theriogenology, 23, 107-118.
- Wilson M (2004)** *Role of placental function in mediating conceptus growth and survival*, mwilso25@wvu.edu, (Erişim tarihi Ekim 2004).
- Zarkawi M (1997)** *Monitoring the reproductive performance in Awassi Ewes using progesterone radioimmunoassay*, Small Rum Res, 26, 291-294.
- Zarkawi M, Al-Merestani MR and Wardeh F (1999)** *Induction synchronized oestrous and early pregnancy diagnosis in Syrian Awassi ewes, outside the breeding season*, Small Rum Res, 33:99-102.
- Zipper N, Kaulfuss KH, May J and Elze K (1997)** *Real-time ultrasonographic pregnancy diagnosis (B-mode) in sheep. 3. Determination of the number of embryos and fetuses*, Tierärztliche Praxis, 25 3:212-222.

9. ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Hatay'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Hatay'da tamamladı. 1991 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girdikten sonra 1996 yılında mezun oldu. 1999 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi'nde açılan sınavı kazanarak araştırma görevlisi olarak atandı. 2000 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Halen Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.



10. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Tefvik TEKELİ, Prof. Dr. Dursun Ali DİNÇ, Prof. Dr. Ahmet SEMACAN, Doç. Dr. Mehmet GÜLER, Dr. İbrahim AYDIN ve Dr. Aydın GÜZELOĞLU'na, Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Melih Aksoy ve Doç. Dr. M. Bozkurt ATAMAN'a, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Gökhan DOĞRUER'e, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. H. Ahmet ÇELİK'e, saha çalışmasında kurumun imkanlarını sunan Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü müdürü Yüksek Ziraat Mühendisi Eyüp BAŞER ve müdür yardımcısı Dr. Mehmet ÇOLAK'a, Koyunculuk Şube Şefi Yüksek Ziraat Mühendisi Mehmet GÜRKAN ve şube çalışanlarına, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 2003-2004 ve 2004-2005 öğretim yılı mezun öğrencilerine, tezi türkçe gramer ve imla kuralları açısından değerlendiren Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Türk Dili Bölümü Araş.Gör. Emel Kaya'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.