T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LAKTASYONDA OLMAYAN İSVİÇRE ESMERİ İNEK ve DÜVELERDE KETOPROFEN ve FLUNİXİN MEGLUMİN UYGULAMASININ GEBE KALMA ORANI ÜZERİNE ETKİSİ

Şükrü DURSUN

DOKTORA TEZİ

DOĞUM ve JİNEKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hüseyin ERDEM

KONYA-2011

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LAKTASYONDA OLMAYAN İSVİÇRE ESMERİ İNEK ve DÜVELERDE KETOPROFEN ve FLUNİXİN MEGLUMİN UYGULAMASININ GEBE KALMA ORANI ÜZERİNE ETKİSİ

Şükrü DURSUN

DOKTORA TEZİ

DOĞUM ve JİNEKOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hüseyin ERDEM

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 08 202 005 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2011

ii. ÖNSÖZ

Hayvancılık işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan sorunların başında infertilite gelmektedir. İnfertilite olarak tanımlanan sorunda embriyonik ölümler önemli yer tutmaktadır. Embriyonik ölümler endokronolojik yetersizlik, embriyonun yeterli interferon-tau (INF-t) üretememesi ve sonuçta uterus endometriumundan prostaglandin $F_{2\alpha}$ salınımını durduramaması,spesifik ve nonspesifik mikroorganizmalar gibi enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz birçok nedene bağlı oluşmaktadır. Embriyonik ölümlerin önemli bir oranı (~ % 20) tohumlamadan sonraki 8-16. günlerde meydana gelmektedir.

Sunulan tez çalışmasında embriyonik ölümlerin azaltılması ve dolayısıyla gebe kalma/ gebelik oranının arttırılmasında nonsteroid antienflamatuar ilaçlarınetkisi araştırılmıştır. Bu amaçla veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılan Flunixin Meglumin ve Ketoprofenin tercih edilmiştir.

Doktora çalışmamın her aşamasında mesleki deneyim ve bilgi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin ERDEM başta olmak üzere, lisans ve doktora eğitimim süresince bana rehberlik eden Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Tevfik TEKELİ, Prof. Dr. Dursun Ali DİNÇ, Prof. Dr. Mehmet GÜLER, Prof. Dr. Ahmet SEMACAN, Doç. Dr. Aydın GÜZELOĞLU'na Adnan Menderes Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Melih AKOY'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda zaman mefhumu gözetmeden sabırla bana yardımcı olan meslektaşlarım; Dicle Üniversitesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç Dr. Mehmet KÖSE, Mesut KIRBAŞ, Hüseyin BAŞ, Bünyamin YAZAR'a; Veteriner Sağlık Teknisyenleri Bayram YAMAN ve Ahmet OYAR'a; istatistiki analizleri yapan arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Tamer ÇAĞLAYAN'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bugüne kadar desteklerini esirgemeyen, evimizi adeta bir mutluluk bahçesine dönüştüren, her zaman moral ve güç veren sevgili eşim Havva Nur DURSUN'a, çocuklarım Murad Han, Muhammed Serdar ve Nur Gül'e, her zaman bana destek olan ağabeylerim Mehmet ve Bekir'e, başımın tacı annem Gülsüm ve babam Abdulkadir DURSUN'a müteşekkirim.

Tez çalışmamda hayvan materyalini kullanmama izin veren Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün tüm idareci ve personeline, çalışmayı maddi olarak destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)'ne teşekkür ederim.

Ayrıca ilkokuldan bugüne kadar yetişmemde emeği geçen öğretmenlerimi de saygıyla anıyorum.

iii. **İÇİNDEKİLER**

1. **GİRİŞ ……..**1

1.1. İneklerde Embriyonal Dönemin Tanımı ve Önemi…….....1

1.2. Embriyonik Ölümün Nedenleri…….3

1.2.1 Genetik Faktörler……..3

1.2.2. Fizyolojik Faktörler ……..4

Yaş……4

Laktasyon ve süt verimi……4

1.2.3. Endokrinolojik Faktörler……...5

Ovaryumların siklik aktivitelerinin durması……7

İneklerde seksüel siklus düzensizliği ve sakin östrüs……...7

1.2.4. Çevresel Faktörler ……8

Beslenme bozuklukları……..9

Enfeksiyöz hastalıklar……10

1.3. Normal Bir Seksüel Siklusta $PGF_2\alpha$ 'nın Salınımı……10

1.3.1. Embriyonik Ölümler……...11

1.3.2. Gebeliğin Kabulü……14

1.4. Fertilitenin Artırılmasına Yönelik Girişimler…….15

1.4.1. Büyük Corpus Luteum Oluşumunun Sağlanması……...15

1.4.2. Corpus Luteumun Gelişiminin Hızlandırılması……..18

1.4.3. Luteal Dünemde Progesteron Düzeyinin Artırılması …….19

1.4.4. Preimplantasyon Döneminde Dominant Follikülün Baskılanması…….21

1.4.5. Embriyonun Yaşama Gücünün Artırılması……22

1.4.6. Ananın Luteolitik Cevabının Azaltılması ……..23

1.4.7. Geç Embriyonik Ölüm/Erken Fötal Ölümlerin Azaltılması……...27

1.4.8. Diğer Uygulamalar……..28

1.5. Nonsteroid Antienflamatuar (NSAID) İlaçların Etki Yerleri……..29

1.6. $PGF_2\alpha$ Salınımının Durdurulması/Azaltılması……...29

2. GEREÇ ve YÖNTEM……...33

4. **BULGULAR**……..35

5. **TARTIŞMA**……...40

6. **SONUÇ ve ÖNERİLER**.....47

7. **ÖZET**……..48

8. **SUMMARY**.....49

9. **KAYNAKLAR**……..50

10. **EKLER**

a. Etik Kurul Kararı……56

11. **ÖZGEÇMİŞ**.....57

iv. SİMGELER VE KISALTMALAR

CL	Korpus luteum
FSH	Follikül uyarıcı hormon
GnRH	Gonadotropin salınım hormonu
IM	İntramüsküler
LH	Luteinleştirici hormon
PG	Prostaglandin
$PGF_{2\alpha}$	Prostaglandin F_2 alfa
SC	Deri altı
IFN-t	İnterferon-tau
VKS	Vücut kondüsyon skoru
NSAID	Non steroidal anti-enflamatuvar
FM	Flunixin Meglumin
HP	Ham protein
P_4	Progesteron
CIDR	Kontrollü intravaginal ilaç salımı
eCG	Gebe kısrak serum gonadotropini
İÜ	İnternational ünite
USG	Ultrasonografi
BSA	Bovine serum albümin
COX-	Cyclooxygenase
PGFM	Prostaglandin $F_{2\alpha}$ metaboliti
EÖ	Embriyonik ölüm
bTP-1	Bovine Trophoblastic Protein-1
PRID	Vajina içi progesteron salan alet
hCG	İnsan koriyonik hormon

ERα	Östrojen reseptörü alfa
OTR	Oksitosin reseptörü
bINF-t	Bovine İnterferon-tau
rbIFN-t	Recombinant bovine İnterferon-tau
ET	Embriyo transferi
RP	Rektal palpasyon
FL	Follikül
OvM	Ovulasyon muayenesi
CA	Canlı ağırlık

1. GİRİŞ

Süt ineklerinde en önemli sorunlardan birisi, gebeliğin sağlanamaması veya belirlenen süreden daha geç bir zamanda sağlanmasıdır. Bu sorunun temelinde tohumlamanın zamanında yapılamaması, erken ve geç embriyonik ölümler ile erken fötal ölümler yer almaktadır (Shore ve ark 1998, Santos ve ark 2004, Topaloğlu ve Güneş 2005, Santos ve Thatcher 2006). Optimal fertilitenin sağlanabilmesinde öncelikle tohumlamanın doğru zamanda yapılması gereklidir. Ancak bunun için sürüdeki ineklerin östrüslerinin yüksek oranda doğru olarak belirlenmesi ve yapılan tohumlamalarda gebe kalma oranının artırılması gereklidir (Rossov 2006). Son 50 yılda ineklerden elde edilen süt veriminde artışın tersine reprodüktif performansta azalma olmuştur. Örneğin 1950'li yıllarda yapılan tohumlamalarda gebe kalma oranı % 55 iken, günümüzde bu oran % 35-45'e düşmüştür. Gebe kalma oranlarındaki bu düşüşün en önemli nedeni, erken veya geç embriyonik ölümlerdir. Yapılan çalışmalarda, bu tür kayıpların insidansının % 6-35 arasında olduğu ifade edilmektedir (Brilling 2001, Lucy 2001, Diskin ve ark 2006).

Embriyonik ölümlerin önemli ekonomik kayıplar oluşturması, bu ölümlerin azaltılmasına yönelik çalışmaları oldukça önemli hale getirmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda değişik stratejiler önerilmektedir. Bu stratejilerden birinin ya da birkaçının birlikte uygulanmasıyla embriyonik ölümlerin önlendiği/azaltıldığı ve dolayısıyla gebe kalma oranlarında artış sağlandığı bildirilmektedir (Bineli 2001).

Sunulan çalışmada sığırlarda sabit zamanlı tohumlama sonrası embriyonik ölümlerin azaltılmasına yönelik olarak non steroidal anti-enflamatuvar (NSAID) ilaçlardan Flunixin Meglumin (FM) ve Ketoprofen'in, gebeliğin maternal kabulü sırasında uygulanmasının gebe kalma oranı üzerine etkisi araştırılmıştır.

1.1. İneklerde Embriyonal Dönemin Tanımı ve Önemi

İneklerde tohumlamalardan sonra % 90-100 arasında fertilizasyon şekillenmekle birlikte buzağılama oranı % 46-55 arasında değişmektedir. Fertilizasyon ile buzağılama oranları arasındaki farkın önemli bir bölümü embriyonik ölümlerden kaynaklanmaktadır (Simith ve ark 1982, Lucy 2001, Santos ve Thatcher 2006, Diskin ve Morris 2008).

Fertilizasyon (zigot oluşumu) ile embriyonal dönem başlar. Zigot, ilk beş gün hücresel bölünme, altıncı gün morula, yedinci gün kompakt morula, sekizinci gün erken blastosist, dokuzuncu gün blastosist, 10. gün expanded blastosist, 11. gün hatching blastosist olarak gelişimine devam eder. Gebeliğin 42. gününde embriyonun organ taslakları tamamlanmıştır ve bu aşama embriyonal dönemin sonu olarak kabul edilmektedir (Seidel ve Seidel 1991, Alaçam 1994, Thatcher ve ark 2006a)

Çizelge 1.1. Embriyonun ilk 11 gün gelişim safhaları.

Gün	Seidel ve Seidel (1991)	Alaçam (1994)	Thatcher ve ark (2006a)
1			
2	1 Hücre	2 Hücre	
3	2-4 Hücre	4-8 Hücre	8-16 Hücre
4	4-8 Hücre	16-32 Hücre	8-16 Hücre
5	8-16 Hücre	Morula	16-32 Hücre
6	Erken Morula	Erken Blastosist	16-32 Hücre
7	Kompakt (sıkı) Morula	Blastosist	
8	Erken Blastosist	Hatching Blastosist	Erken Blastosist (120 Hücre)
9	Balastosist	Hatched Blastosist	
10	Expanded Blastosist		Hatched Blastosist
11	Hatching (sarkmış) Blastosist		

Embriyonik ölümler, embriyonal dönemde meydana gelen ölümler olarak tanımlanmaktadır (Alaçam 1994, Rossow 2006). Bu dönemde meydana gelen ölümler, erken ve geç embriyonik ölüm olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Sartori 2004). Erken embriyonal dönemin bitişi, geç embriyonal dönemin başlama günü ile ilgili olarak araştırmacılar arasında farklı yorumlar yapılmaktadır. Tohumlama sonrası ilk 24 günü Barrett ve ark (2004), Santos ve ark (2004), Santos ve Thatcher (2006) erken embriyonal dönem olarak tanımlarlarken; Geary (2005) erken embriyonal dönemin 27. güne kadar devam ettiğini ifade etmektedir. Geç embriyonal dönem ise Thatcher ve ark (2006a), Diskin ve Morris (2008) 24-42. günler arası olarak tanımlarlarken; Geary (2005) 27-42. günler arası olarak ifade etmektedir. Tohumlamadan sonraki 42-60. günler arası ise erken fötal dönem olarak tanımlanmaktadır (Alaçam 1994, Santos ve ark 2004, Sartori 2004, Geary 2005).

Gebeliğin ilk 60 gününe kadar olan gebelik kayıplarının yüksek olması, toplam embriyonik ölümler içinde erken embriyonik ölümlerin oranının %25-50'sini oluşturması, erken/geç embriyonik ve erken fötal ölümlere ilgiyi artırmaktadır. Gebelik şekillenmemiş ineklerin % 85'inde tohumlamadan sonraki 16. günde

luteolizis başlar ve bu ineklerin % 50'sinde, tohumlamadan sonraki üçüncü haftada beklenen yeni siklüs görülür (Rossow 2006, Diskin ve Morris 2008).

Tohumlama sonrası 24 gün içinde östrüsün görülmesi, fertilizasyonun olmamasına ya da erken embriyonik ölümlere; 24. günden sonra ise, östrüsün görülmesi geç embriyonik ölümlere bağlanmaktadır. Tohumlamadan sonraki 10-12. günlere kadar olan embriyonik ölümlerde siklusta herhangi bir değişiklik gözlenmez ve beklenen zamanda östrüs görülür. Embriyonik ölümlerin 12. günden sonra meydana gelmesi durumunda ise siklusta uzamaların olduğu gözlenir (Janowitz 2009). Tohumlamadan sonra beklenen östrüsün, 24 güne kadar uzaması embriyonik ölümlerin 12 - 16. günlerinde, 24. günden sonra östrüsün görülmesi ise embriyonik ölümlerin 16. günden sonra meydana geldiğine işaret etmektedir (Santos ve ark 2004, Barrett ve ark 2004).

Aslan ve Wesenauer (1999) tohumlamadan sonra 8. günde yaptıkları ultrasonografik muayenede endometriumda görülen nidasyon alanlarının, 18. günde görülmemesinin embriyonik ölüme işaret ettiğini ifade etmektedirler. Embriyonik ölüm şekillendiği kanısına varılan bu ineklerin, beklenen östrüs zamanından 8 - 22 gün daha geç östrüs gösterdiklerini bildirmektedirler.

Fertilizasyon sonrası ilk 5 gün içerisinde progesteron düzeyi yükselen bir seyirde olmalıdır. Progesteron düzeyinde yükselişin gecikmesi veya progesteron düzeyinin yetersizliği durumunda hücresel bölünmelerin olumsuz etkilenmesi nedeniyle erken ebriyonik ölümlerin daha fazla meydana geldiği bildirilmektedir (Mann 2002).

1.2. Embriyonik Ölümün Nedenleri

Embriyonik ölüm nedeni olarak birçok faktör ileri sürülmektedir. Bu faktörler esas olarak dört ana başlıkta değerlendirilmektedir. Bunlar;

1. Genetik faktörler
2. Fizyolojik faktörler
3. Endokrinolojik faktörler
4. Çevresel faktörler

1.2.1. Genetik Faktörler

Kromozom anomalileri individual (bireysel/ferdi) genler ve genetik interaksiyonları (etkileşim) içerir. 1/29 Robertsonian kromozomal anomali etçi ırk sığırlarda tespit edilmiştir ve bu anomalinin erkek ve dişilerde infertilite nedeni olduğu ileri sürülmektedir. Bu gen yapısına sahip boğaların tespit edilerek elimine edilmesi ile fertilitede önemli artış sağlandığı ifade edilmektedir. Holstein ırkı sığırlarda embriyo veya yaşamını etkileyen iki önemli resesif letal gen tespit edilmiştir. Uridinmonofosfat sentez yetersizliği, bir homozigot resesif durumdur ve gebeliğin 40-50. günlerinde fötal ölüme neden olur. Kompleks vertebral malformasyon da letal resesif bir durumdur ve geç fötal ölümlere neden olur (Diskin ve Morris 2008, Hansen 2002). Yakın akrabalık oluşturacak şekilde yapılan tohumlamalarda da fertilite olumsuz etkilenmektedir (Diskin ve Morris 2008).

1.2.2. Fizyolojik Faktörler

Etçi ırk inek ve düvelerde, sütçü ırklarda ise düşük ve orta düzeyde süt verimine sahip ineklerdeki embriyonun yaşayabilirlik oranı birbirine yakındır. Bununla birlikte embriyonun yaşayabilirliği yüksek süt verimine sahip ineklerde oldukça düşüktür. Bu durumun yaş veya doğum sayısı ile ilişkilendirilmesi mümkün olmasa da, süt veriminin direkt ve endirekt etkisi vardır (Silva ve ark 2002, Diskin ve Morris 2008).

Yaş

Beş ve daha fazla doğum yapmış olan yaşlı ineklerde, daha az doğum yapmış ineklere oranla daha fazla embriyonik ölüm gerçekleşmektedir (Silva ve ark 2002). Lee ve Kim (2007) iki ve üç kez doğum yapmış ineklerdeki embriyonik ölüm oranlarının, bir kez doğum yapmış olan ineklere göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Diskin ve ark (2006) ise beş ve daha fazla doğum yapmış olan ineklerde embriyonik ölüm oranının, 3 ve 4 kez doğum yapmış oranlara göre daha yüksek olduğunu ifade etmektedirler. Yaşla ilişkili olarak ilk kez tohumlanacak düvelerde de tohumlama yaşı önemlidir. Çünkü düvelerin 15–16 aylık yaşta tohumlamalarından elde edilen gebe kalma oranının maximum düzeyde olduğu belirtilmektedir (Diskin ve Morris 2008).

Laktasyon ve süt verimi

İneklerde süt verimi ile döl veriminin ters orantılı olduğunu birçok araştırıcı belirtmektedir (Santos ve Thatcher 2006, Ga´bor ve ark 2008, Garcia-Ispierto ve ark 2009). Süt verimindeki artışın başlıca nedenleri olarak daha iyi besleme, iyi bir sürü yönetimi ve yoğun genetik seleksiyon sayılabilir (Lucy 2001, Ga´bor 2008).

Yüksek süt verimi ineklerde embriyonik ölümlerin büyük bir bölümü tohumlamadan sonraki 8. günden önce, genel olarak ise 16. günden önce şekillenmektedir (Rossow 2006, Diskin ve Morris 2008).

Santos ve Thatcher (2006) ovulasyon sonrası 5. günde yapılan post mortem muayenede laktasyondaki genç ineklerde % 87.8, laktasyonda olmayan (kurudaki) ineklerde % 89.5 oranında fertilizasyonun olduğunu bildirmektedir. Thatcher ve ark (2006a) tohumlamadan sonra 5-6. günlerdeki embriyo oranının % 65 olarak gerçekleştiğini ifade etmektedirler. Laktasyonda olmayan ineklerde ve laktasyondaki genç ineklerde fertilizasyon oranı daha yüksek olarak gerçekleşmektedir (Santos ve Thatcher 2006, Thatcher ve ark 2006a). Düvelerde ise tohumlama sonrası 3. günde yapılan post mortem fertilizasyon muayenesinde, fertilizasyonun % 94 oranında gerçekleştiği ifade edilmektedir (Smith ve ark 1983). Aslan ve Wesenauer (1999) suni tohumlama sonrası ilk 8 günde meydana gelen embriyonik ölüm oranını % 8.8 olarak tespit ettiklerini bildirirlerken, Rabaglino ve ark (2010) bu zaman dilimindeki embriyonik kayıpların erken embriyonal ölümlerin % 40'ını oluşturduğunu ifade etmektedirler. Aslan ve Wesenauer (1999) geç embriyonik/fötal ölüm oranını % 14 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. Yüksek süt verimi, döl verimini olumsuz yönde etkilemekte olduğu ve embriyonik ölüm insidansını da artırdığı araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Lucy 2001). Yüksek süt verimine sahip ineklerde embriyonik ölümlerin daha çok tohumlamadan sonraki ilk sekiz gün içinde meydana geldiği bildirilmektedir (Rossow 2006, Aslan ve Wesenauer 1999). Bunun muhtemel bir nedeni olarak yüksek süt verimli ineklerde oksitosinin daha uzun süre etki etmesidir. Oksitosinin embriyonun yaşama gücü üzerinde olumsuz yönde etkili olması nedeni ile embriyonik ölümlerin olabileceği birçok araştırmacı tarafından ifade edilmektedir (Aslan ve Wesenauer 1999, Lemaster ve ark 1999, Thatcher ve ark 2006a).

1.2.3. Endokrinolojik Faktörler

Endokronolojik faktörlerin tohumlama öncesi ve tohumlama sonrası olmak üzere iki dönemde incelenmesi daha uygun olmaktadır.

Tohumlama öncesi dönem**:** Embriyonun yaşayabilirliği üzerine tohumlama sonrası progesteron düzeyi kadar, tohumlama öncesi progesteron düzeyinin de etkisi vardır. Prostaglandin $F_2\alpha$ uygulaması sırasındaki progesteron düzeyi ile izleyen dönemde embriyo yaşayabilirliği arasında pozitif bir ilişki vardır. Düşük progesteron seviyesi sonrasında meydana gelen östrüste yapılan tohumlamalarda fertilizasyon ve/veya embriyo yaşayabilirliliği azalmaktadır (Diskin ve Morris 2008, Rabaglino ve ark 2010). Tam bir senkronizasyon sağlanabilmesi ve yeterince progesteron salgılayacak CL oluşması için $PGF_2\alpha$'nın siklusun 5-17. günlerinde yapılmasının daha uygun olduğu ifade edilmektedir (Stevenson ve Pursley 1994, Murugavel ve ark 2005, Kasimanickam ve ark 2006).

Tohumlama sonrası dönem: Tohumlama sonrası erken ve orta luteal dönemdeki progesteron düzeyinin, embriyo yaşayabilirliği ve gebe kalma üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Çünkü progesteron, conceptusun büyümesi ve gelişiminde direkt etkilidir ve bu durum embriyonun interferon-tau (IFN-t) salınımını pozitif yönde etkilemektedir (Diskin ve Morris 2008).

Erken embriyonik ölüm ve/veya geç embriyonik ölümlerin meydana gelmesinde diğer bir faktör de mastitistir. Gebeliğin ilk 45. gününde klinik mastitise yakalanan ineklerde erken fötal ölüm riski daha fazladır. Bu durumda, doğum-yeniden gebe kalma aralığı ve gebelik başına yapılan tohumlama sayısı artmaktadır (Santos ve Thacher 2006, Günay ve Günay 2007).

Gebeliğin devamını sağlayan hormon olarak da bilinen progesteronun (P_4), yetersizliği durumunda gebelik sonlanmaktadır (Silvia ve ark 2002, Hoffmann 2007, Alnimer ve Lubbadeh 2008). Tohumlamadan sonra luteal dönemin değişik günlerinde gebe olan ve gebe olmayan hayvanların progesteron düzeylerinde farklılık olduğu çoğu araştırıcı tarafından ifade edilmektedir. Gebe olan hayvanlarda bu düzey daha yüksek olarak seyretmektedir (Ball ve Peters 2004, Diskin ve ark 2006, Rhinehart ve ark 2009).

Silva ve ark (2002) östrüs (0. gün) 4, 7 ve 21. günlerdeki plazma progesteron düzeylerinin gebe kalma ve gebeliğin devamına etkisini araştırdıkları çalışmada; 0, 4 ve 7. günlerde gebe ve gebe olmayanlardaki plazma progesteron seviyelerinin birbirine çok yakın olduğunu, ancak 21. günde istatistiki farkın önemli olduğunu bildirmektedirler. Demetrio (2007) ise tohumlamadan sonra 7. günde progesteron seviyesinin düşük olmasının embriyonik ölüm oranını artmasına neden olduğunu ileri sürmektedir. Nitekim Lucy (2001) de ovaryumlarda büyük corpus luteuma sahip ineklerde P_4'un daha yüksek olduğunu bildirmektedir. Bu yönde yapılan diğer bir çalışmada ise (Aslan ve Wesenauer 1999) embriyonik ölüm şekillenen ineklerdeki CL çapı ve progesteron düzeyinin, gebe olan ineklerdeki CL çapı ve progesteron düzeyinden daha düşük olduğu bildirilmektedir.

Kalıcı dominant foliküllerdeki oositlerin fertilize olma yetenekleri zayıftır. Kalıcı dominant folikül oluşumu bazı senkronizasyon yöntemlerinde meydana gelebildiği gibi, siklusunda 2 foliküler dalgaya sahip hayvanlarda da görülebilmektedir. Buna karşın iki foliküler dalgalı sikluslarda ovulatör folikülün daha uzun sürede gelişmesi kalıcı dominant folikül olarak düşünülmemelidir (Santos ve Thatcher 2006). Bununla beraber 8 günden daha uzun süre varlığını devam ettiren folliküllerin ovulasyonu sonucunda daha düşük oranda fertilite elde edilmektedir. Real-time ultrasonun veteriner hekimlik alanında kullanılmasıyla ineklerde folliküler dalga sistematiği daha iyi anlaşılır hale gelmesine karşılık, folliküler dalga sayısına göre elde edilen fertilite hakkında bilgiler henüz yetersiz olup, bu konuda araştırmalar yapılmaktadır. Çelik ve ark (2005) bir siklusta iki ve üç dalga şekillenen hayvanlardaki gebelik oranlarını karşılaştırdıkları çalışmada, üç dalgalı olan hayvanlarda istatistikî olarak önemsiz, ancak sayısal olarak daha yüksek gebelik şekillendiğini ileri sürmektedirler.

Ovaryumların siklik aktivitelerinin durması

Doğumdan sonra ovaryum fonksiyonları besleme, sağım, emzirme, metabolik hastalıklar, retensiyo sekundinarum, güç doğum gibi durumlarda olumsuz olarak etkilenmektedir (Küplülü ve Salmanoğlu 1994).

Ovaryumların siklik aktivitelerinin durması, döl verimini direkt olumsuz yönde etkileyen bir unsurdur. Süt verimi yüksek ineklerde ovaryum fonksiyonu daha da olumsuz etkilenmektedir. Siklik aktivitesi olmayan ovaryumlarda öncelikle

fonksiyonların oluşturulması gereklidir ve bunun için hormonal yöntemlerden yararlanılır. Ovaryumların siklik olması, genital sistemle ilgili özellikle uterus yangılarının (endometritis) spontan olarak iyileşmelerine de katkıda bulunur (Smith ve ark 1983, Lucy 2001, Diter 2009).

İneklerde seksüel siklus düzensizliği ve sakin östrüs

Pubertasa ulaşan sağlıklı düve ve inekler gebe kalmadıkları sürece belirli zaman aralıkları ile tekrarlanan ve dış belirtileri ile de fark edilebilen erkeği kabul etme davranışları gösterirler (Grunert 1999, White ve ark 2002, Schichtl 2007). İneklerde bir östrüs döneminden izleyen östrüs dönemine kadar geçen süre östrüs siklusu ya da seksüel siklus olarak tanımlanır (Schichtl 2007). İki östrüs arası süre ineklerde ortalama 21 (21±4) düvelerde ise 20 (20±3) gündür (Grunert 1999).

Bir inekte östrüs siklusu klasik olarak, östrüs (0. gün), metöstrüs (1-4 gün), diöstrüs (5-17 gün) ve proöstrüs (18-21gün) olmak üzere dört evreye ayrılır (Grunert 1999, Schichtl 2007). Ancak östrüs siklusunun süresi bakım, besleme, ırk, iklim, boğanın bulunması ve ineğin serbest dolaşması gibi faktörlere bağlıdır. Boğanın bulunması ve ineğin serbest dolaşması siklus süresini kısaltırken, aşırı soğuk ve sıcak havalarda bu süre uzamaktadır (Grunert 1999, Sönmez ve ark 2005).

Östrüsün dış semptomlarının gözlenememesine (atlanıldığında hareketsiz durma, aktivite artışı, çara vb) bağlı olarak östrüsün tespit edilememesi tohumlama başarısını olumsuz olarak etkilemektedir (White ve ark 2002). Östrüslerin tespit edilememesinin önemli nedenleri vardır. Yüksek süt verimine sahip ineklerde östrüslerin belirlenmesinin daha zor olduğu ifade edilmektedir (Sabuncu ve ark 1999). İneklerin bulunduğu zeminin toprak ya da beton olması da östrüs semptomlarının görülmesinde etkilidir. Toprak zeminde dolaşan ineklerin östrüs gösterme oranı beton zemindeki ineklere göre 15 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Lucy 2001).

Ayak hastalıkları ineklerde östrüsün dış semptomlarından aktivite artışı ve özellikle atlama hareketlerinde azalmalara neden olduğu gibi, hayvanların gebe kalmasını (boş geçen süre) 13-30 gün uzattığıda ifade edilmektedir (Baran ve Kamiloğlu 1997, O'Connor ve Senger 1997).

Sürüde aynı anda birden fazla ineğin östrüste olması aktivite ve atlama hareketlerinin daha belirgin olarak gözlenmesine imkan sağlamaktadır (Heres ve ark 2000).

1.2.4. Çevresel Faktörler

Çevre sıcaklığının yüksek olması gebe kalma oranına etkilidir. Çünkü bu etki genelde östrüslerin görülmemesine, östrüs süresinin kısa olmasına ve gebe kalma oranının düşmesine neden olmaktadır. Tohumlamadan önceki yedi, tohumlamadan sonraki üç günlük zaman diliminde çevre sıcaklığında meydana gelen ani değişikliklerin gebe kalma oranında azalma ile sonuçlandığı bildirilmektedir (Garcia-Ispierto 2009). Yaz ve sonbahar aylarında yapılan tohumlamalarda elde edilen gebelik/gebe kalma oranları diğer mevsimlerde yapılan tohumlamalara göre daha düşüktür. Ayrıca östrüsün dış semptomları ve östrüsün belirlenmesinde de sorunlar yaşanmaktadır (Sönmez ve ark 2005).

İneklerde embriyonun uterusa implantasyonu 21-30. günler arasında olmaktadır. İmplantasyon döneminde meydana gelen ani sıcaklık değişimleri embriyonik ölüm oranlarını arttırmaktadır. Çevre sıcaklığının yüksek olduğu dönemlerde yapılan tohumlamalarda gebe kalmış ineklerde embriyonik ölüm oranı % 12.3 iken, diğer dönemlerde bu aran % 2.1 olarak tespit edilmiştir (Garcia-Isperto ve ark 2006).

Beslenme bozuklukları

Postpartum dönemin sorunsuz geçirilmesi gönüllü bekleme süresi sonunda tohumlamaların yapılabilmesi ve embriyonik ölümlerin önlenmesi/azaltılması esas olarak dengeli bir besleme rejiminin uygulanmasına bağlıdır. İneklerin doğumdan sonra ilk periyotta tohumlanabilmesi için doğum sonrası ilk 4 haftadaki besleme (negatif enerji balansı) kuru madde, enerji ve protein yönleriyle dengeli olması gerekir. Merada beslenen hayvanlarda buzağılama sonrası 70-100. günler arasında tohumlama yapılabilmesi için, ilave konsantre yem vermenin minimal düzeyde etkisi olurken entansif yetiştiricilikte dengeli besleme daha ön plana çıkmaktadır (Diskin ve Morris 2008, Leonhard 2009). Negatif enerji balansına sahip rasyonlarla beslenen ineklerde suni tohumlama başarısı düştüğü gibi embriyonik ölümlerin oranı da artmaktadır. Ad libitum olarak merada beslenen hayvanlar kısa bir süre merada

beslenen hayvanların oranla daha düşük P_4 seviyesine sahip oldukları bildirilmektedir (Lucy 2001).

Besleme; kaliteli oosit oluşumunu olumlu/olumsuz etkileyebilir. Düşük vücut kondüsyon skoruna sahip, ilk doğumunu yapmış yüksek süt verimine sahip ineklerin yüksek miktarda parçalanabilir ham protein (HP) içeren rasyonla beslenmesi oosit oluşumu olumsuz yönde etkilemektedir. Dengesiz beslenen hayvanlarda ovulatör follikül daha küçük şekillenmektedir (Hansen 2002).

Enfeksiyöz hastalıklar

İnekler için çevreden kaynaklanan olumsuzlukların eliminasyonu ile birlikte döl verimini etkileyen ve beden ısısında yükselmelere neden olan enfeksiyöz hastalıklara karşı da gerekli tedbirler alınmalıdır. Çünkü gebeliğin elde edilmesi sağlıklı bir uterus ortamına da bağlıdır. Sağlıklı bir uterus ortamında Pyogenes bakterileri, Mycoplazmalar Clamidyalar, BVD, BHV ve Q – Fivergibi enfeksiyöz etkenler bulunmamalıdır (Janowitz 2009). Vücut sıcaklığındaki artışlar da embriyonik ölümlere neden olmaktadır. Tohumlamadan sonra 7. gündeki yüksek vücut sıcaklığı embriyonik ölüm insidansının artmasına neden olmaktadır. Stres ve/veya ağrının artması $PGF_2\alpha$ salgısının artmasına neden olmaktadır. Prostaglandin $F_2\alpha$ salgısının artması ise embriyonun yaşamını olumsuz etkilemektedir (Demetrio 2007).

1.3. Normal Bir Seksüel Siklusta $PGF_2\alpha$ 'nın Salınımı

Seksüel siklusta önemli bir yeri olan prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), diöstrüs döneminin sonuna doğru (seksüel siklusun 15-17. günlerinde) uterus endometriumundan salgılanır. Uterus venası yoluyla dolaşıma salındıktan sonra doğrudan ipsilateral CL'un olduğu ovaryuma gider (Gökçen 1990, Alaçam 1994). Ovaryumda bulunan fonksiyonel corpus luteumun morfolojik ve fonksiyonel olarak regresyonunu sağlar (İzgür 1990, John 1999, Rossow 2006, Weems ve ark 2006). Prostaglandin $F_2\alpha$ corpus luteumun regrese olmasını, utero-ovarian damarların kontraksiyonuna neden olarak CL'un hücrelerinin beslenmesini engellemek suretiyle gerçekleştirmektedir (Özkoca 1984).

Prostaglandin $F_2\alpha$ gebe olmayan hayvanlarda corpus luteumun ömrünü ve fonksiyonunu kontrol etmesinden dolayı seksüel siklus süresi üzerinde son derece

etkilidir. Gebe olanlarda ise embriyonun gelişmesi ve gebeliğin anne tarafından kabulü ile uterus endometriumundan $PGF_2\alpha$'nın salınımı engellenir. Prostaglandin $F_2\alpha$ salınımının engellenmesi ile luteal yapı fonksiyonel olarak varlığını devam ettirir (Gökçen 1990, Alaçam 1994, Weems ve ark 2006).

Endojen prostaglandinler üretildikleri bölgelerde, akciğerler, karaciğer ve böbreklerde çok hızlı bir şekilde metabolize olurlar. Bundan dolayı bir dokudan salınan $PGF_2\alpha$ oran ve miktarını belirlemek için PGFM'in periferal kan seviyesi belirlenmektedir. Corpus luteumun yapısında teka interna (küçük) ve granuloza (büyük) hücreler vardır. Teka interna hücreleri, LH reseptörleri taşır ve progesteron (P_4) üretir. Granuloza hücreleri ise ruminantlarda luteal oksitosin ve relaksinin kaynağıdırlar ve östradiol, PGE_2 ve $PGF_2\alpha$ reseptörü taşırlar (Lucy 2001, Weems ve ark 2006).

Prostaglandinler corpus luteumun regresyonunu sağladığı kadar, luteotropik hormon (LH) salınımında, ovulasyonda, uterus motilitesinde, doğumda ve genital kanalda spermatozoonların taşınmasında da önemli rol oynamaktadırlar (Alaçam 1994).

Prostaglandinler ovaryumdaki luteal hücreler tarafından da üretilmekle birlikte, buradaki salınım corpus luteum fonksiyonunun otokrin kontrolünde etkili olmaktadırlar (Curz 1997).

1.3.1. Embriyonik Ölümler

Embriyonal dönem; fertilizasyonu takiben (zigotun oluşmasıyla) gebe kalma ve farklılaşma dönemlerini kapsayan tohumlamadan sonraki 42–45. güne kadar devam eden, organ ve sistemlerin oluşumunun tamamlandığı bir dönemdir. İneklerde 42. günden önce meydana gelen ölümler, embriyonik ölüm olarak kabul edilmektedir (Alaçam 1994, Rossow 2006).

Embriyonik ölümler doğum–gebe kalma aralığının uzamasına, gebelik başına düşen suni tohumlama sayısının artmasına, dolayısıyla önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Erdem 1997).

Süt ineği veya damızlık düve işletmelerinde, reprodüktif parametreler optimal verimlilik için önemlidir. Bunlar; ilk tohumlama yaşının 15 ay, ilk buzağılama yaşının 22-26 ay, buzağılama aralığının 365 gün, doğumdan sonraki ilk

tohumlamaya kadar geçen sürenin 65 gün, doğumdan gebe kalıncaya kadar geçen sürenin (açık periyod) 85 gün olması gerekmektedir (Topaloğlu ve Güneş 2005, Diskin ve ark 2006, Schichtl 2007, Diskin ve Morris 2008, Erdem ve Güzeloğlu 2008).

Sütçü bir işletmede postpartum 85. güne kadar gebe kalmamış bir ineğin, 85. günden sonra işletmeye maliyetinin günlük 4 dolar (6 TL) olduğu hesaplanmıştır. Bu nedenle ineklerin doğum-gebe kalma aralığı sütçü inek işletmeleri için temel kriter olup, işletmede oluşacak olan bu zararı ortadan kaldırmak için ineklerin postpartum 60-90. günlerde gebe kalmaları gerekmektedir (Charles ve ark 2004). Lee ve Kim (2007) yaptıkları bir çalışmada bir inekte şekillenen embriyonik ölümün işletmeye yaklaşık maliyetinin 2,333 dolar/yıl (3.500 TL) olduğunu bildirmektedirler. Türkiye'de ise süt maliyetlerinin daha yüksek olması nedeniyle bu durumun işletmeyi daha büyük ekonomik kayba uğratacağı anlaşılmaktadır.

Embriyonik ölümler embriyonal dönemin herhangi bir aşamasında şekillenebilir. Tohumlamadan sonraki 10-12. günlere kadar meydana gelmiş embriyonik ölümlerde siklusta herhangi bir değişikliğe neden olmayıp beklenen zamanda östrüs görülür. Siklusun 12. gününe kadar oluşan embriyonik ölümlerde embriyo uterus tarafından rezorbe edildiği için inspeksiyonda herhangi bir anormallik görülmez. Ancak bundan sonraki zamanda oluşan embriyonik ölümler, siklusta uzamalara neden olurlar. Dolayısıyla siklusun uzaması embriyonik ölümlerin önemli göstergelerinden birisini oluşturmaktadır (Janowitz 2009).

Fertilizasyondan doğuma kadar geçen sürede yaklaşık % 40-55 oranında embriyo-fötüs kaybı oluşmaktadır (Noakes 1986). Embriyonik kayıpların önemli bir kısmı erken embriyonal dönemde tohumlamadan sonraki 8-16. günler arasında meydana gelmektedir. Erken embriyonik ölümlerin oranı % 27-31 olarak bildirilmektedir. Geç embriyonal dönemde (16-42. günler arası) meydana gelen kayıplar % 3.8 ve 42. gün ile doğuma kadar (Fötal dönem) geçen süredeki kayıplar ise % 3.1 olarak bildirilmektedir (Santos ve Thatcher 2006). Thatcher ve ark (2006a). Tohumlamadan sonraki 5-30. günler arasındaki embriyonik kayıpların yaklaşık % 48 olduğu bildirilmektedir. Benzer şekilde Türkiye'de yapılan bir çalışmada da (Erdem 1997) embriyonik ölümlerin % 22' sinin 22- 26. günlerde olduğu, takip eden 30, 37

ve 45. günlerde ise sırasıyla % 5, 2 ve 1 oranlarında (geç embriyonik ölüm) gebelik kayıplarının olduğunu bildirilmektedir.

Sütçü veya etçi inek ve düvelerde uygun şartlarda yapılan tohumlama sonrası fertilizasyon oranları % 90-100 arasında gerçekleşmektedir. Ancak Noakes (1986) buzağılama oranını % 45-60 arasında olduğunu bildirmesine karşılık, Santos ve Thatcher (2006), Diskin ve Morris (2008), bu oranın % 55'in altında olduğunu bildirmektedirler. Diskin ve ark (2006) ise, holstein ırkı sütçü ineklerde doğum oranının % 40 gibi düşük bir oranda olduğunu ifade etmektedirler.

Embriyonik ölümlerin % 22'si tohumlamadan sonraki ilk 21 gün içinde oluşan erken embriyonik ölümlerdir. Erken embriyonik ölümlerin % 70–80'i tohumlamadan sonraki 8-16. günler arasında gerçekleştiği farklı araştırıcılar tarafından ifade edilmektedir (Howard 2006, Thatcher ve ark 2006). Mann ve ark (1999) embriyonik ölümlerin büyük bir bölümünün conceptus'un maternal kabulüne özellikle tohumlamadan sonraki 17-19. günlere kadar geçen sürede olduğunu bildirmektedirler. Aslan ve Wesenauer (1999) yaptıkları çalışmada erken embriyonik ölümleri % 8.8, geç embriyonik ölümleri ise % 14 olarak tespit ettiklerini ifade etmektedirler. Tek ve ark (2003) tohumlamadan sonraki 28-55. günler arasındaki (Geç embriyonik ölüm/erken fötal ölüm) embriyonik ölümlerin % 11.5 olarak gerçekleştiğini bildirmektedirler. Ultrasonografi kullanılarak yapılan son çalışmalar da gebeliğin 28-60. günleri arasında geç embriyonik kayıp/erken fötal kayıplar Lucy (2001) % 20, Erdem (1997) %30, Romano ve ark (2007) %14.5 olduğunu ifade etmektedirler.

Emriyonik ölümler ırklar bazında da farklılıklar göstermektedir. British Friesian ırkı sığırlarda, fertilizasyonun oluşmaması, erken embriyonik ölüm, geç embriyonik ölüm ve buzağılama oranlarının sırasıyla % 10, % 28, % 7 ve % 55; Holstein Friesian ırkı ineklerde ise anılan özelliklerin yine sırasıyla % 10, % 43, % 7 ve % 40 olarak elde edildiği bildirilmektedir (Diskin ve ark 2006).

Embriyonik ölümlerin meydana gelmesinde embriyonal anomalilerin de etkili olduğu ifade edilmektedir. Serrano ve ark (2008) ineklerde % 0,5 oranında anomali yavru belirlediklerini (15/3094) ve anomali belirledikleri 15 gebeliğin 8'inde de embriyonik ölümün gerçekleştiğini ifade etmektedirler.

Tohumlamayı izleyen 5-6. günlerdeki gebe kalma oranının yaklaşık % 50 olduğu, bunun sebebinin de fertilizasyonun olmaması veya zayıf embriyoların olabileceği ifade edilmektedir. Ultrasonografik yöntemle belirlenen gebeliklerde 27-31. günlerdeki gebelik oranının % 35-45 olduğu değişik araştırmacılarca ifade edilmektedir (Thatcher ve ark 2006a).

Erdem (1997) 100 baş gebe sığır üzerinde gerçekleştirmiş olduğu çalışmada 22-45. günler arasındaki emriyonik ölüm insidansının % 30 olduğunu bildirmektedir. Aynı çalışmada, embriyonik ölümlerin 26, 30, 37 ve 45. günlerde sırasıyla % 22, % 5, % 2 ve % 1 olarak gerçekleştiği belirtilmektedir.

Romano ve ark (2007) tohumlamadan sonraki 30-45. günler arasında oluşan embriyonik kaybın % 10.0 (52/520), 46-60. günler arasındaki fötal kaybın ise % 4.5 (21/468) olduğunu bildirmişlerdir.

Sartori ve ark (2006) suni tohumlama ve embriyo transferi sonrası embriyonik kayıpları karşılaştırdıkları çalışmalarında her iki grupta da embriyonik ölümlerin 25-32. günler arasında embriyonik ölümlerin daha yüksek oranda gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Camevale ve ark (2006) atlarda yaptıkları embriyo transferi çalışmasında embriyonik kayıpların 12-50. günlerde daha yüksek olduğunu, bunun da plazma progesteron seviyesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

1.3.2. Gebeliğin Kabulü

Ruminantlarda CL'dan salgılanan progesteron, gebeliğin devamı için zorunludur (Lucy 2001). Ruminantlarda luteolitik $PGF_2\alpha$, CL'un regresyonuna dolayısıyla progesteron salgısının azalmasına neden olur (Alaçam 1994). Gebelik ile CL tarafından salgılanan progesteron hormonu arasında doğru orantının olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Diskin ve ark 2006). Kan progesteron seviyesi yüksek ($\geq$ 2ng/ml) olan ineklerle, kan progesteron seviyesi düşük (< 2ng/ml) olan ineklerin gebelikleri arasında istatistiki bir fark olmamakla beraber, P_4 düzeyi yüksek olan ineklerde sayısal olarak daha fazla gebelik elde edildiği bildirilmektedir (Sartori ve ark 2006).

Uterus içinde gebeliğin oluşması ve devamı için ilk olarak embriyo, uterus ve CL arasında birtakım karmaşık mekanizmaların devreye sokulması gerekmektedir. Bu karmaşık mekanizma gebeliğin 12-23. günler arasında embriyonun trofoblast

hücrelerinden salgılanan eski adı ile Bovine Trophoblastic Protein (bTP-1) (Rossow 2006), yeni adı ile İnterferon-tau (IFN-t) vasıtası ile başlatılır. Ruminantlarda IFN-t salgısı embriyonun endometriuma tutunduğu preimplantasyon dönemi (21-30. günler) boyunca salgılanır. Ruminantlarda IFN-t'nın fonksiyonlarından en önemlisi uterus endometriumundan $PGF_2\alpha$'nın pulzatif salgısını azaltarak CL'un ömrünü uzatmaktır (Güzeloğlu 2006, Rossow 2006). Yapılan çalışmalarda $PF_2\alpha$ salgısının IFN-t tarafından baskılandığı (durdurulduğu) invitro ortamda inek endometrium hücre kültürlerinde ortaya konulmuştur (Güzeloğlu ve ark 2004).

Embriyo 12-23. günler arasında IFN-t salgılayarak $PGF_2\alpha$ salgısını durdurmak için aslında bir uyarı (sinyal) göndermektedir. IFN-t vasıtasıla uterustan salgılanan $PGF_2\alpha$ salgısının durdurulması ile gebeliğin devamını sağlayan ve progesteron üretimini yapan CL'un da korunması sağlanmış olur. Embriyo tarafından IFN-t'nin az üretilmesi ya da sinyalin uterus tarafından yanlış algılanması (anlaşılması) embriyonun ölümüne neden olmaktadır. Embriyo tarafından salgılanan IFN-t tohumlamadan sonraki 15. günde ve en az 15 mm büyüklüğündeki embriyo tarafından yeterli miktarda salgılanabilir. İnek embriyosu 13. günde 5.25 mm büyüklüğünde iken 16-17. günlerde 52 mm büyüklüğe ulaşmaktadır. Prostaglandin $F_2\alpha$'nın baskılanması için embriyonun yeterli büyüklüğe ulaşması, doğru zamanda ve yeterli miktarda IFN-t üretmesi gerekmektedir (Güzeloğlu 2006, Rossow 2006, Thatcher ve ark 2006a, Rabaglino ve ark 2010). Nitekim embriyoların küçük ya da zayıf (yeterli INF-t salgılayamaması) olması durumunda uterusun, normal bir embriyo gelişimini sağlamasının mümkün olmadığı bildirilmektedir (Lucy 2001).

Embriyonun gelişimindeki gecikme, $PGF_2\alpha$'nın bloke edilememesine ve CL'un regresyonuna (luteolizisine) neden olacaktır. Corpus luteumun regresyonu progesteron seviyesinin düşmesi ve dolayısıyla embriyonun yaşamının sona ermesi anlamını taşımaktadır (Rossow 2006, Rabaglino ve ark 2010).

Luteolizis iki aşamada gerçekleşir. Progesteron üretiminin durması ile başlayan fonksiyonel luteolizisden sonra, CL'un regresyonu ile devam eden yapısal bir luteolizis sözkonusudur. İneklerde Corpus luteumun olduğu taraftaki kornu uteriye kornectomie yapıldığında CL'un ömrünün ve östrüs siklusunun uzadığı bildirilmektedir. Bu da $PGF_2\alpha$'nın corpus luteumun ömrü üzerinde etkili olduğunu göstermektedir (McCracken ve ark 1999).

1.4. Fertilitenin Artırılmasına Yönelik Girişimler

1.4.1. Büyük Corpus Luteum Oluşumunun Sağlanması

Progesteronun embriyonun gelişimi, gebeliğin maternal kabulü ve gebeliğin devamında önemli rolünün olduğu bilinen bir gerçektir (Lucy 2001, Mantonavi ve ark 2005). Büyük preovülatör follikülden büyük CL oluşmaktadır (Moura ve ark 2001). Büyük corpus luteumdan daha fazla progesteron salgısı olmakta ve bu hayvanlardan daha yüksek oranda gebelik elde edilmektedir. Nitekim Baruselli ve ark (2001) senkronizasyon sonrası 6. günde plazma progesteron düzeyi ile CL büyüklüğü arasında pozitif bir ilişki olduğunu ve büyük CL'a sahip düvelerde daha yüksek oranda gebelik elde edildiğini bildirmektedirler. Aslan ve Wesenauer (1999) ise gebe ineklerde belirlenen CL çapının (1.89-2.20 cm) embriyonik ölüm şekillenen ineklerdeki CL çapından (1.10-1.46 cm) daha büyük olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşın Battocchio ve ark (1999) ise CL hacmi ile progesteron düzeyi arasında bir ilişki olmadığını ifade etmektedirler. Tek ve ark (2003) büyük folliküle sahip ineklerde yüksek oranda gebelik oluşmadığını; ancak bu hayvanlarda daha az oranda embriyonik ölümle karşılaşıldığını bildirmektedirler. Bu görüşü destekleyen diğer bir çalışmada (Mantovani ve ark 2005) ise, büyük bir follikülden büyük bir CL oluşacağını, buna bağlı olarak büyük bir CL'dan daha fazla progesteron üretildiğini, ancak bu durumun elde edilecek gebelik oranını etkilemediğini ifade etmektedirler. Araştırmacılar persistent (kalıcı) folliküle sahip olan ineklerde CIDR ve EB (estradiol benzoate) uygulayarak yaptıkları senkronizasyon çalışmasında, büyük çaplı follikülden oluşan daha geniş yüzey alanına sahip CL'dan siklusun 7. gününde yüksek düzeyde progesteron salgılandığını, ancak progesteron düzeyi düşük olan gruplarda gebelik oranın daha yüksek olduğu ifade etmektedirler Lemaster ve ark (1999).

Silva ve ark (2002) yaptıkları bir çalışmada, inek ve düvelerde 0, 4, 7 ve 21. günlerdeki plazma progesteron düzeyleri ile gebelik oranı ve embriyonik/fötal ölüm arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışma sonuçlarına göre ise, inek ve düvelerde embriyonik ölümün gebeliğin erken dönemlerinde daha yüksek oranda meydana geldiği belirlenmiştir. Çalışma sonucuna göre erken embriyonik ölümlerin ineklerde % 33.9, düvelerde ise % 37.2 oranında elde edildiği ifade edilektedir. Çalışmada elde edilen diğer sonuçlar çizelge 1.2'de sunulmuştur.

Çizelge 1.2. İnek ve düvelerde plazma progesteron düzeyi ve elde edilen gebelik oranları (Silva ve ark 2002).

		Embriyonik ölüm		Fötal ölüm	Progesteron düzeyi (Gün)				Toplam gebelik (%)
Grup	n	E (n,%)	G (n,%)	(n, %)	0	4	7	21	
İnek	165	56(33.9)	39(23.6)	2(1,2)	.21	.91	2.71	6.04	42.4
Düve	242	90(37.2)	26(10.7)	7(2.9)	.21	.99	3.03	5.98	52.1

E: Erken (0-24. günler arası), G: Geç (24-42. günler arası).

İnek ve düvelerde oluşan embriyonik ölümler meydana geldiği zaman aralığına göre değerlendirildiğinde fertilitenin artırılmasına yönelik önemli bilgiler ortaya çıkmaktadır. Örneğin erken embriyonik ölümler düvelerde, geç embriyonik ölümler ise ineklerde daha yüksek oranda görülmektedir (Çizelge 1.3.).

Luteal dönem öncesinde progesteron uygulamalarının folliküler gelişimi hızlandırdığı ve artırdığı bildirilmektedir (Savio 1993). Moura ve ark (2001) progesteron içeren implant ve heatsynch östrüs senkronizasyon protokolü uyguladıkları bir çalışmada; 10. gündeki dominant follikülün büyük çaplı olmasına (1.25±0.23 cm, kontrol 1.00± 0.13 cm), bağlı olarak CL'ların da büyük çaplı olarak şekillendiği (1.81±0.12 cm, kontrol 1.54±0.17 cm) ve siklusun 17. günündeki plazma progesteron düzeyinin daha yüksek olduğunu (2.96±2.33ng/ml, kontrol 1.98±1.28ng/ml) belirlemişlerdir. Çalışmadaki hayvanlarda siklusun 6. gününde CL büyüklüğü, plazma progesteron düzeyi CL alanı ve gebe kalma oranı Çizelge1.3'de görülmektedir.

Çizelge1.3 Siklusun 6. günündeki CL büyüklüğü, plazma progesteron düzeyi, CL alanı ve gebe kalma oranları (Moura ve ark 2001).

CL alanı (USG)	n	Progesteron düzeyi (ng/mL)	Ortalama CL alanı (cm^2)	Gebe kalma oranı (%)
CL1 (> 2.0 cm^2)	77	2.44 ± 0.86	2.66 ± 0.51	47/77 (58.4 %)
CL2(1.5-2.0 cm^2)	41	1.75 ± 0.69	1.74 ± O.10	17/41 (41.5 %)
CL3 (< l.5cm^2)	22	0.96 ± 0.56	1.19 ± 0.20	07/22 (31.8 %)

Yüksek düzeyde progesteron salınımının elde edilmesinde diğer bir yaklaşım da CL sayısının artırılmasıdır. Bu amaçla eCG uygulamaları yapılmaktadır. Nitekim Nogueira ve ark (2004) yaptıkları bir araştırmada en büyük çaplı CL'un 400 İÜ eCG uygulamasıyla elde edildiğini, buna karşılık 600 İÜ eCG uygulamasıyla ise daha fazla sayıda CL oluştuğunu bildirmektedirler. Elde edilen progesteron düzeyleri değerlendirildiğinde, fazla sayıda CL'a sahip ineklerin daha yüksek progesteron düzeyine sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte gebe kalma oranlarında önemli bir fark elde edilmediği bildirilmektedir.

1.4.2. Corpus Luteum Gelişiminin Hızlandırılması

Corpus luteumun büyüme hızı ve farklılaşması LH salınım sıklığı ile ilişkilidir (Binelli ve ark 2001, Gaitus ve ark 2006). Tohumlama öncesi, sırası veya hemen sonrasında uygulanan GnRH enjeksiyonları ile LH salınımı uyarılmakta ve sonuçta CL gelişimi daha hızlı olmaktadır (Chenault 1990). Bazı senkronizasyon yöntemlerinde (ovsynch, cosynch) tohumlama öncesinde uygulanan GnRH, senkronizasyon protokolü gereği uygulansa da, CL oluşumunu hızlandırdığı düşünülebilir. Ovsynch protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonu sırasında preovulator folliküllerin benzer evrelerde olması ve folliküllerin LH salınımına cevap vermesiyle senkronize ovulasyonlar gerçekleşmektedir. Senkronize edilmiş ovulasyonların ortalama olarak ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası 24-32. saatler arasında oluştuğu bildirilmiştir (Pursley ve ark 1997). İkinci GnRH uygulamasıyla birlikte preovulator LH seviyesinde artış ve bu artışla bağlı olarak ovulasyon oluşmaktadır. Birçok çalışmada ikinci GnRH uygulamasından sonraki 16. saatte yapılan tohumlamalardan en yüksek gebelik elde edilmiştir (Stevenson ve ark 1999).

Sönmez ve Gür (2007) suni tohumlamadan hemen sonra uygulanan GnRH enjeksiyonlarının gebe kalma oranını artırmasa da, fertilite üzerine olumlu etkisinin olduğunu belirtmektedirler.

Yapılan bir çalışmada (Çınar 2002) tohumlamadan hemen sonra (0. gün) uygulanan GnRH'nın progesteron seviyesinde artışa neden olmazken, tohumlama günü ve tohumlamayı takip eden 12. günde GnRH uygulamasının plazma progesteron seviyesini (gebe 3.176, boş 3.075) artırdığını, en yüksek gebelik oranının (% 40) tohumlama günü GnRH uygulanan grupta şekillendiği bildirilmektedir.

Ataman ve ark (1998) tohumlama sırasında GnRH uygulamasının ovulasyonun gerçekleşmesinde ve CL'un daha hızlı oluşmasında önemli ve pratik bir uygulama olduğunu bildirmektedirler. Çetin ve ark (1999) tohumlamadan sonraki 4. günde hCG uygulamasının gebelik oranında artışa neden olurken, plazma progesteron düzeyinde 13. günde farklılık oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu artışın sebebinin uygulama gurubunda oluşan aksesör CL nedeniyle olduğu ifade edilmektedir. Ancak Paksoy ve Kalkan (2010) senkronizasyon sonrası tohumlanan ineklere tohumlamadan hemen sonra ve 12. günde hCG ve GnRH uyguladıkları çalışmada, gebelik ve progesteron düzeyi yönüyle bir farklılığın olmadığını bildirmektedirler.

Howard ve ark (2005) tohumlamadan 5 veya 6 gün sonra GnRH uygulamasıyla gebeliğin % 45 daha fazla elde edildiğini bildirmektedirler. Bunun nedeninin folliküler dinamiğin değişmesi, luteal dokunun gelişmesi ve sistemik progesteron düzeyinin artışı sonucunda olduğu belirtilmektedir.

1.4.3. Luteal Dönemde Progesteron Düzeyinin Artırılması

Luteal dönem süresince yüksek plazma progesteron düzeyinin sağlanmasının gebelik oranında artışla sonuçlanacağını bildiren değişik araştırıcılar vardır. Bu amaçla birçok yöntem uygulanmaktadır. Plazma progesteron düzeyinin artırılması için aksesör CL oluşumunun uyarılması bunlardan biridir (Howard ve ark 2005). Bu amaçla siklusun 12, 13, 14, 15, 16 veya 17. günlerinde GnRH veya gonodotropik etkiye sahip hCG uygulaması yapılmaktadır. Luteal dönemde progesteron düzeyini artırmak amacıyla araştırmacılar siklüsün 4. gününde (Çetin ve ark 1999), 5. günüde (Noseir 2003, Howard ve ark 2005, Franco ve ark 2006), 12. günde (Erdem 2002, Paksoy ve Kalkan 2010), 14, 15, 16. günde (Sreenan ve Diskin 1986, Alnimer ve Lubbadeh 2008) GnRH ya da hCG uygulayarak aksesör CL oluştuğunu ve plazma progesteron seviyesinin arttığını bildirmektedirler. Paksoy ve Kalkan (2010) ise plazma progesteron seviyesinin artmasının gebelik oranında artış sağlamasa da olumsuz olarak da etkilemediğini ifade etmektedirler. Bu uygulamalar folliküler dinamiğe bağlı olarak aksesör CL oluşumunu sağlamakta ve dolayısıyla progesteron düzeyinde artışa neden olmaktadır. Progesteron düzeyinin artması ise gebeliğin maternal kabulünün sağlanmasında olumlu rol oynamaktadır (Erdem 2002, Willard ve ark 2003, Howard ve ark 2005).

Luteal dönemde GnRH veya hCG uygulamalarıyla progesteron düzeyinde artış sağlanmakla birlikte, elde edilen gebe kalma oranları farklılık göstermektedir. Howard ve ark (2005) bu uygulamalar sonrası gebelik oranlarında istatistiki bir fark olmadığını, Kırbaş ve ark (2007) ise gebelik oranını artırdığını ileri sürmektedir. Ovsynch protokolü sonunda tohumlanan hayvanlara 5. günde GnRH uygulamasının 13. gündeki progesteron seviyesini önemli derecede artırdığını bildirmektedirler (Howard ve ark 2005).

Luteal dönemde progesteron düzeyinin artırılmasında diğer bir yöntem ise eksojen progesteron uygulamalarıdır. Bu amaçla implant (Kırbaş ve ark 2007), PRID (Kaçar 2004, Zonturlu 2005), CIDR (Alnimer ve Lubbadeh 2008), oral progesteron tabletler (Martinez ve ark 2001) uygulanabilmektedir.

Alnimer ve Lubbadeh (2008) yaptıkları bir çalışmada tohumlamadan sonraki 14. günde CIDR uygulayarak progesteron düzeyini artırmayı amaçlamışlardır. Progesteron düzeyi artırılan grupta gebeliğin daha yüksek oranda şekillendiği ve CIDR takılan grupta erken, geç embriyonik ve fötal ölümün daha düşük oranda şekillendiği ifade edilmektedir.

Luteal dönemde GnRH ve hCG uygulamalarının esas amacı aksesör CL oluşumunun sağlanarak P_4 düzeyinin arttırılmasıdır. Benzer durum ikiz ovulasyona ve dolayısıyla iki adet CL'a sahip inekler için de söz konusudur. Sartori ve ark (2006) siklusun 7. gününde iki adet CL bulunduran hayvanlarda progesteron düzeyinin önemli oranda (2.67ng/ml iki CL ve 1.88ng/ml bir CL) gebeliğin ise sayısal olarak yüksek olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar gebeliğin 25-32. günündeki embriyonik, 60-66. günler arasındaki fötal ölümlerin iki adet CL bulunan hayvanlarda daha düşük oranda şekillendiğini, bu başarının progesteron düzeyinin yüksek olmasıyla gerçekleştiğini ifade etmektedirler.

Santos ve ark (2001) aksesör CL oluşturmak için tohumlama sonrası 5. günde hCG uyguladıkları çalışmada ineklerin % 86.2'sinde aksesor CL oluşurken, kontrol grubunda % 23.2 olduğu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar, plazma progesteron seviyesinin hCG yapılan grupta 5ng/ml'ye yükseldiğini ve bunun gebelik oranına olumlu etki yaptığını belirtmektedirler. Konsepsiyon oranlarını ise uygulama ve kontrol gruplarında sırasıyla 28, 45 ve 90. günlerde % 45.8–38.7, % 40.4–36.3 ve % 38.4–31.9 olarak bildirmişlerdir.

Binelli ve ark (2001), luteal dönemde plazma progesteron düzeyinin yükseltilmesi amacıyla diğer bir uygulamanın eCG enjksiyonu olabileceğini bildirmektedirler. İneklerde eCG hem LH hem de FSH'nın salınım sıklığını etkileyebilmektedir. Bundan dolayı senkronize edilen folliküler dalganın oluşma anında eCG enjeksiyonları yapılabilir. Bu amaçla;

1. Follikülün gelişme oranının artırılması daha büyük bir preovulatör follikül oluşturacaktır. Büyümüş olan follikülden ise büyük bir CL meydana gelecektir.

2. Birbiri ardısıra çok sayıda follikül oluşumu ovulasyonu uyarabilir ve çok sayıda CL şekillenebilir. Her iki durumda da ovulasyondan sonra yüksek progesteron seviyesi beklenir.

Baruselli ve ark (2001) östrüs siklusunun herhangi bir döneminde östradiol benzoat, progesteron ve CIDR (0. gün) ile düveleri senkronize ettikleri bir çalışmada, bir kısmına 800 İÜ eCG uygulamışlardır. Çalışmada siklusun 15. gününde plazma progesteron düzeyi, konsepsiyon ve gebelik oranları eCG uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek oranda gerçekleşmiştir. Araştırıcılara göre eCG uygulaması plazma progesteron düzeyini artırmakta ve bunu takiben gebelik oranını da artırmaktadır. Çünkü;

1. Folliküler büyüme ve izleyen dönemde CL'ların sayısı artmaktadır,

2. Corpus luteumun büyüklüğü artmaktadır.

Luteal dönemde P_4 düzeyinin direkt ve/veya dolaylı olarak artırılması erken-geç embriyonik ölüm oranını azalttığı belirtilmektedir (Sartori ve ark 2006). hCG ve eCG uygulamalarıyla ilgili olarak önemli bir nokta, bu hormonların aynı inekte birden fazla kullanılması durumunda etkisinin azalabilmesidir. Bu hormonlar inekler için antijenik moleküllerdir ve antikor oluşumuna neden olabilmektedirler. Bundan dolayı bu hormonlardan maksimum etki, daha önce bu hormonların kullanılmadığı hayvanlar olduğu zaman elde edilir ve böylece dolaşımdaki antikor titresi bu şekilde azaltılabilir (Binelli ve ark 2001).

1.4.4. Preimplantasyon Döneminde Dominant Follikülün Baskılanması

Gebeliğin anne tarafından kabul edildiği yani gebeliğin maternal kabulünün gerçekleştiği dönem "kritik dönem" olarak tanımlanmaktadır (Binelli 2001, Rensis ve Scaramuzzi 2003). Kritik dönemde var olan follikülün büyüklüğünün azaltılması

veya bu follikülün elimine edilmesi plazma östradiol düzeyinin düşmesine ve daha sonra östrojenin de rol aldığı luteolitik sitimülasyonun azalmasına neden olmaktadır. Follikülün bu şekilde değişimi gebeliğin maternal kabulünü destekleyecektir. (Bineli ve ark 2001). Kritik dönemde yüksek düzeyde östradiol salınımının olmasının, oksitosin ve $PGF_2\alpha$ salgısına ve sonuçta gebeliğin sonlanmasına neden olduğu bildirilmektedir (Rensis ve Scaramuzzi 2003).

Smith ve Grimmer (2002) ikinci kalite (Grade 2) embriyoları kullanarak yaptıkları embriyo transferi çalışmasında, transfer zamanında (siklusun 7. günü) GnRH uygulandığında % 7.9 oranında daha az gebelik elde edildiğini bildirmektedirler. Araştırıcılar, uygulamanın yapıldığı gün hayvanlardaki follikülün durumunun kilit rol oynadığını, uygulama zamanında yapılan GnRH'nın follikülü ortadan kaldırmadığı hatta follikül oluşumuna katkıda bulunduğu için gebelik oranının düşük olduğunu ifade etmektedirler.

Peters (1996) siklusun 1–13. günler arasında yapılan GnRH enjeksiyonlarının gebelik oranları üzerine etkisinin değerlendirildiği 6 çalışmada özet olarak; GnRH enjekte edilen ineklerde gebelik oranının % 3.9'dan % 12'ye yükselmiş olduğunu bildirmektedir. Gebelik oranındaki artışı ise, kritik dönemdeki östrojenik etkinin azalmasından kaynaklandığını bildirmektedir.

1.4.5. Embriyonun Yaşama Gücünün Artırılması

İneklerde gebeliğin maternal kabulünün ilk safhası, embriyo tarafından luteolitik mekanızmanın engellenmesidir (Güzeloğlu 2006). Conceptuslar kritik dönemde hızlı bir büyümeye maruz kalırlar (Bineli ve ark 2001). İnterferon-t (IFN-t) inek ve koyunda gebeliğin 12–24. günleri arasında embriyonun trofoblast hücreleri tarafından salgılanan ve gebeliğin anne tarafından kabulünü başlatan bir stokin olduğu bilinmektedir. IFN-t'nun $PGF_2\alpha$ hangi hücresel mekanizmalarla durduğu konusunda değişik teoriler vardır. Bunlar;

1. IFN-t, $PGF_2\alpha$ biyosentezinde rol alan moleküllerin ekspresyonunu baskılayacak şekilde gen ekspresyonunu düzenleyebilir. Örneğin IFN-t, prostaglandin biyosentezinde önemli rolü olan PGHS-2'nin ekspresyonunu invitro olarak inhibe etmektedir.

2. IFN-t luteolizis başlaması için gerekli olan endometrial ERα ve OTR'nü kodlayan genlerin transkripsiyonunu baskılamaktadır (Güzeloğlu 2006).

Thatcher ve Hansen (1992) tohumlamadan sonraki 17. günde conceptusların büyüklüğünün 15-52 mm olduğunu bildirmektedirler. Daha küçük conceptuslar yeterli miktarda bIFN-t üretemezler. Bu durumda embriyonun endometriuma gönderdiği antiluteolitik sinyaller yetersiz kaldığından gebelikler son bulmaktadır. Bu gibi kayıplar, kritik dönemde bIFN-t verilerek önlenebilmektedir (Bineli ve ark 2001). Meyer ve ark (1995) ineklere günde iki kez intra uterin bIFN-t (rbIFN-t) 'yı siklusun 14–24. günleri arasında verildiğinde CL ömrünün bovine serum albumin (BSA) verilenlere göre uzadığını bildirmektedirler. Ancak rbIFN-t'nin pratik olarak verilebilecek bir yolu (örneğin im) bulunmamaktadır.

1.4.6. Ananın Luteolitik Cevabının Azaltılması

Uterus içinde sağlıklı bir embriyo olması halinde gebeliğin oluşması ve devamı için öncelikle embriyo, uterus ve CL arasında bazı mekanizmaların devreye sokulması gerekmektedir. Bu karmaşık mekanizma embriyonun trofoblast hücrelerinden salgılanan İnterferon-tau (IFN-t) vasıtası ile başlatılır. Ruminantlarda IFN-t'nın fonksiyonlarından en önemlisi uterus endometriumundan $PGF_2\alpha$'nın pulzatif salgısını azaltarak CL'un ömrünü uzatmaktır (Güzeloğlu 2006). Yapılan çalışmalarda invitro endometrium hücre kültürlerinde $PGF_2\alpha$ salınımını IFN-t'nin durdurduğu açık bir şekilde gösterilmiştir (Güzeloğlu ve ark 2004).

Embriyo gelişimini iyileştiren diğer bir seçenek ise bST uygulamalarıdır (Santos ve ark 2001). Bu amaçla Bilby ve ark (1999) tohumlama sırasında bST uyguladıkları etçi ve sütçü ineklerde, gebe kalma oranının % 5 arttığını bildirmektedirler.

Kritik dönemde $PGF_2\alpha$ sentez mekanizmasının özel olarak durdurulması da gebeliğin kabulünü artıracaktır (Bineli 2001). Endometrial prostaglandin inhibitörü olarak linoleik asit kullanılabilmektedir. İnvitro olarak linoleik asit, COX-2 aktivitesini durdurarak $PGF_2\alpha$ sentezini yapan sistemin $PGF_2\alpha$ sentez kapasitesini düşürmektedir (Weems ve ark 2006). Scenna ve ark (2005) gebe olan ineklerde 17. günde linoleik asitin araşidonik asitten daha fazla miktarda olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bilgilerin ışığında uterusun luteolitik cevabının azaltılmasında

muhtemel bir stratejinin de uterustaki linoleik asit-araşidonik asit oranının artırılması ve lipid kompozisyonunun değiştirilmesi olabilir (Scenna ve ark 2005, Weems ve ark 2006).

Son zamanlarda $PGF_2\alpha$ sentezini durdurmaya yönelik diğer bir strateji de Flunixin Meglumin gibi nonsteroid antienflamatuar ilaçların uygulanmasıdır (Scenna ve ark 2005, Güzeloğlu ve ark 2007). Flunixin Meglumin (FM) kuvvetli bir non-steroidal anti-inflamatuar madde olup, cyclooxygease–2 (cox–2) enziminin aktivitesini inhibe ederek arachidonic asitten $PGF_2\alpha$ üretilmesini engeller (Anderson ve ark 1990). Bu amaçla çeşitli araştırmacılar tarafından FM'nin endometriumundan luteolitik $PGF_2\alpha$ salınımını durdurma potansiyeli araştırılmıştır. FM'nin sistemik kullanımının $PGF_2\alpha$'nın sentezini engellediği, kandaki $PGF_2\alpha$' nın metaboliti PGFM miktarında azalma ile tespit edilmiştir (Weems ve ark 2006)

Luteolitik bir hormon olan $PGF_2\alpha$ endometriumun epitel hücrelerinde sentezlenir ve oksitosin hormonu endometriumdaki resepörlerine bağlanarak bu sentez ve salgılama olayını pulzatif bir şekilde düzenler. İneklerde doğal aşımdan sonraki 5–8. günler arasında uygulanan FM, oksitosin ile uyarılan PGFM salınımını ve oksitosin ile indüklenen embriyonik ölümleri engellemektedir. Oksitosinin ortaya çıkması uterus endometriumundan $PGF_2\alpha$ salgısını sitimüle etmesine bağlı olarak embriyonun gelişimini yavaşlatır; hatta ölümüne neden olabilir (Lemaster ve ark 1999).

FM'nin oral uygulamaları da uterustan $PGF_2\alpha$ sentezini ve salınımını engellemektedir. Yapılan bir çalışmada; FM granüllerinin siklusun 15. gününden itibarengünde 4 kez 9 gün süreyle düvelerin rasyonlarına ilave edildiğinde siklusun 5–6 gün uzadığı tespit edilmiştir (Odensvik ve ark 1998).

Suni tohumlama ve embriyo transferi sırasında yapılan maniplasyonlar, suni tohumlama ya da embriyo transferi kateterinin ineğin genital organına teması sonucu yangı oluşur ki; bu da $PGF_2\alpha$ salgısına neden olur (Lemaster ve ark 1999, Scenna ve ark 2005). Embriyonun yaşamı üzerine olumsuz yönde etkili olan Prostaglandin $F_2\alpha$'nın uterus lümeninde bulunmaması gerekir (Seidel ve Seidel 1991. Genital organa temasla salgılanacak olan $PGF_2\alpha$'nın baskılanması gebelik oranının artmasında etkili olmaktadır (Seidel ve Seidel 1991, Scenna ve ark 2005).

Scenna ve ark (2005) embriyo transferinden hemen önce FM uygulayarak; transferden önce bir saat, transferden sonra dört saate kadar geçen sürede $PGF_2\alpha$'nın metaboliti PGFM düzeyindeki değişiklikle $PGF_2\alpha$ salgısının azalıp azalmadığını belirlemişlerdir. Flunixin Meglumin uygulanan grupta $PGF_2\alpha$ salgısının azaldığını ve daha yüksek oranda gebelik (kontrol % 60, FM % 65) elde edildiği bildirilmektedir.

Araştırmacılar FM uygulamasının (transferden önce veya sonra) gebelik oranı üzerine; mükemmel (grade-1) olarak değerlendirilen embriyoların gebeliğinin üzerine olumlu/olumsuz bir etkisinin olmadığını; ancak gebeliğinin devam etmesi şüpheli olan iyi (grad-2) ve zayıf embriyoların desteklenmesinde önemli etkisinin olduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar, bu olumlu etkinin, FM'nin $PGF_2\alpha$ salgısını baskılamasına bağlı olduğunu ifade etmektedirler (Scenna ve ark 2005).

Purcell ve ark (2005) dondurulup çözdürülmüş embriyo transferi çalışmasında FM uygulamasının oldukça önemli katkı sağladığını bildirmektedirler. Çalışmada transferden 2–12 dakika önce FM ve FM+CIDR uygulamasının ortalama % 10 daha fazla gebelikle sonuçlandığı ifade edilmektedir.

Dursun ve ark (2007) genital organa temasla birlikte salgılanacak olan $PGF_2\alpha$' nın baskılanması amacıyla düvelerde emriyo transferinden 5 dakika önce FM ejeksiyonu yaptıkları çalışmada kontrol gurubunda (kontrol % 52.6, FM % 50.0) daha yüksek oranda gebelik oluştuğunu bildirmektedirler. Embriyo transferinden 5 dakika önce 500 mg FM uygulamasının düvelerde gebelik oranında artışa neden olmadığı ifade edilmektedir.

Rabaglino ve ark (2010) GnRH ve CIDR kombinasyonu ile yapılan senkronizasyonda tohumlama sonrası 15,5 ve 16. günlerde FM uyguladıkları çalışmada uygulama gurubunda 32. ve 45. günlerdeki gebelik oranları % 60.8 (96/158), % 59.5 (94/158) olarak gerçekleşmiştir. Kontrol grubunda ise aynı günlerdeki gebelik oranları sırası ile % 60.0 (99/165), % 59.4 (98/165) olarak belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada 32–45. günler arasında uygulama ve kontrol gruplarında geç embriyonik ölüm oranı, sırası ile % 2.1 (2/99), % 1 (1/99) olarak gerçekleştiği bildirmektedirler. Flunixin Meglumin uygulanan grupta sayısal olarak bir artışın olduğunu, bu artışın kritik dönemde uygulanan FM'in zayıf embriyoların baskılayamadığı $PGF_2\alpha$ salgısını bloke etmesi ile olduğunu ifade etmektedirler.

Amiridis ve ark (2009) Repeat Breeder ineklerde tohumlama sonrası kritik dönemde meloxicam uyguladıkları çalışmada % 22.58 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmadaki diğer uygulama gurplarında elde edilen gebelik oranları çizelge 1.4'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.4. Repeat Breeder ineklerde yapılan uygulamalar ve elde edilen sonuçlar. (Amiridis ve ark 2009)

Grup	n	Uygulama	Uygulama şekli	Gebelik (%) 37-42.gün
I.	115	GnRH	ST'dan 4-6 saat önce	20.00
II.	51	P4	ST'dan 4-6 saat önce	27.45
III.	31	Meloxicam	16-18. günlerde 24 saat arayla	22.58
IV.	98	GnRH + P4+ Meloxicam	ST'dan 4-6 saat önce+ ST'dan 4-6 saat önce+16-18. günlerde 24 saat arayla	35.71
V.	107	Kontrol	Östrüs gösterenlere suni tohumlama	17.76

Aynı çalışmanın devamı niteliğinde NSAID olarak Flunixin Meglumine, Ketoprofen ve Meloxicam tohumlamadan sonraki 15,16 ve 17. günlerde 24 saat arayla uyguladıkları çalışmada elde edilen gebelik oranları, sırasıyla % 20.50, % 20.70 ve % 21.60 olarak tespit edilmiştir. Kontrol gurubunda ise % 20.40 oranında gebelik elde edildiği ve her iki çalışmada da gruplar arasında istatistiki bir farkın olmadığını ancak NSAID uygulamasının faydalı olacağı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir.

Doğruer ve ark (2007) yaptıkları çalışmada Repeat Breeder sorunlu düvelerde tohumlama sonrası 12 saat arayla 15. ve 16. günlerde FM (1.1 mg/kg CA) uyguladıklarını, çalışma ve kontrol grubundaki gebeliklerin sırasıyla % 50 ve % 20 olarak gerçekleştiğini, Repeat Breeder sorunlu düvelerde gebelik oranının artırılması amacıyla tohumlama sonrası FM uygulamalarının faydalı olacağını bildirmektedirler.

Güzeloğlu ve ark (2007) sabit zamanlı tohumlama yaptıkları düvelere, tohumlama sonrası 15. gün (saat 21:00) ve 16. gün (saat 09:00) 1.1 mg/kg dozunda i.m. Flunixin Meglumin uygulamasının gebelik oranında yaklaşık % 26 artışa neden olduğunu bildirmektedirler. Uygulamanın esasını gebeliğin maternal kabulünün olduğu kritik dönemde salgılanabilecek muhtemel $PGF_2\alpha$ salınımının önlenerek embriyoya yaşamını devam ettirmesi için zaman kazandırılması oluşturmaktadır. Elde edilen gebelik sonuçları çizelge 1.5'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.5. Kontrol ve deneme gruplarında 29 ve 65. günlerde elde edilen gebelik oranları (Güzeloğlu ve ark 2007).

Muayene Günü	Kontrol Grubu (%;n)	Çalışma Grubu (%;n)	P değeri
29	50 (13/26)	76.9 (20/26)	0.04
65	46 (12/26)	69 (18/26)	0.09

Stres altındaki ineklerde de FM uygulamasının embriyonik ölümleri önlediği belirtilmektedir. Gebe kalmış ineklerde, embriyonik gelişimin erken dönemlerinde çeşitli streslere (nakliye, aşırı sıcak soğuk hava vb.) maruz kalmanın embriyonik ölüm riskini artırdığı bildirilmektedir (Hansen 2002).

1.4.7. Geç Embriyonik Ölüm/Erken Fötal Ölümlerin Azaltılması

İneklerde geç embriyonik ölümlerin insidansının ortalama % 12.8 olduğu bildirilmektedir (Santos ve ark 2004). Geç embriyonik ölüm/erken fötal ölümlerin azaltılması amacıyla gebeliğin 27. gününde yapılan ultrasonografik muayene sonucu, gebeliği pozitif olanlara 2.1 mg deslorelin implant uygulaması yapılabilmektedir. Çünkü gebeliğin olduğu cornu uteri tarafındaki ovaryumdaki folliküler gelişim baskılanmakta ve buna bağlı olarak embriyonun yaşayabilirliği artmaktadır. Bu uygulamanın nedeni aksesor CL'ların oluşumunun uyarılması, plazma progesteron düzeyinin arttırılması, folliküler gelişimin baskılanmasıyla geç embriyonik ölüm ve erken fötal ölümlerin oranının azaltılabilmesidir. Bartolome ve ark (2006)'nın yaptıkları bir çalışmada, gebeliğin 27. gününde uygulanan deslorelin implantın izleyen dönemde gebelik kayıplarını istatistiksel olarak azaltmamakla birlikte, uygulamaya bağlı olarak gelişen aksesor CL'a sahip hayvanlarda daha az bir kaybın olduğunu belirtilmektedir.

Aksesör CL oluşumunun uyarılmasının (27. günde) her ne kadar geç embriyonik ölümleri azalttığı ifade edilse de; Sartori ve ark (2006)'nın yaptıkları bir çalışmada tek CL olan (7. günde) hayvanlarda elde edilen gebelik oranının 25–32. günde % 40.3 iken; 60–66. günlerde bu oranın % 31.6'ya düştüğü ifade edilmektedir. Aynı şekilde çift CL olanlardan elde edilen gebelik oranları % 51.7'den % 25'e düşmüştür. Dolayısıyla geç embriyonik ölüm/erken fötal ölümlerin azaltılması düşünüldüğünde tek/çift CL oluşmasının/varlığının bir katkısı bulunmamaktadır. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar çizelge 1.6'da özetlenmiştir.

Çizelge 1.6. Siklusun 7. günü tek/çift CL bulunan hayvanlarda 25–32. günler ile 60–66 günler arasında embriyonik/fötal ölüm ve gebelik oranları (Sartori ve ark 2006).

Gebelik kaybı	Tek (%, n/N)	Çift (%, n/N)	P- değeri
Genel	17.9 (22/123)	32.1 (9/28)	0.02
Suni tohumlama	14.8 (8/54)	14.3 (2/14)	0.91
Embriyo transferi	20.3 (14/69)	50.0 (7/14)	0.01
25–32. gün gebelikler			
Genel	38.1 (128/336)	50.9 (29/57)	0.10
Suni tohumlama	35.6 (57/160)	50.0 (14/28)	0.18
Embriyo transferi	40.3 (71/176)	51.7 (15/29)	0.22
60–66. gün gebelikler			
Genel	30.5 (101/331)	33.9 (19/56)	0.75
Suni tohumlama	29.3 (46/157)	42.9 (12/28)	0.16
Embriyo transferi	31.6 (55/174)	25.0 (7/28)	0.43

1.4.8. Diğer Uygulamalar

İşletmelerde sürü sağlığı ve mastitis kontrol programlarının kayıpların minimuma indirilmesinde önemli bir rolü vardır. Kontagiyöz ve çevresel bakterilerin, viral, protozoal etkenlerin kontrol altında tutulması, fertilitenin arttırılması ve sürekliliğinde önemli bir aşamadır. Ayak hastalıkları, genital organ hastalıkları ve diğer hastalıklar gibi stres oluşturabilen faktörlerin elimine edilmesi de fertiliteyi arttıracaktır. Dengeli rasyonun fertilite üzerine olumlu etkisi olduğu bilinen bir gerçektir (Alaçam ve Şenünver 1994, Alaçam 1994, Silva ve ark 2002, Thatcher ve ark 2006b).

1.5. Nonsteroid Antienflamatuar (NSAID) İlaçların Etki Yerleri

Prostaglandinlerin kaynağını teşkil eden araşidonik asit hücre membranındaki fosfolipitlerden fosfolipaz A2 enzimi aracılığı ile koparılır. COX-1 birçok hücrede (kolon, böbrek, dalak, karaciğer, kalp, beyin) devamlı olarak hiçbir denetim mekanizması olmadan sentez edilirler. Dokularda devamlı olarak bulunan COX-1

salgılanması bir denetim mekanizmasına bağlı olmayan bir enzim olup (Büyükuysal 1999), prostaglandinlerin fizyolojik olarak etkilerinden sorumludur. İzoformu olan COX-2 ise leukositler ve diğer bazı hücrelerin interlökin-1 (savunma hücreleri), Tümör Nekrozis Faktör (TNF) ve benzeri yangı mediatörleri (yangı uyarıcıları, nedenleri) ve büyüme faktörleri tarafından aktivasyonu sonucu indüklenir. Son yapılan çalışmalar COX-1 ve COX-2 izoformlarının yapısal olarak benzerliklerinin % 60 olduğunu ve her iki formun da araşidonik asitten prostaglandinleri oluşturma etkilerinin aynı olduğunu ortaya koymuştur (Büyükuysal 1999, Lees ve ark 2004).

Prostaglandinlerin biyolojik etkileri uygun reseptörlerle etkileşimi ile üretilen prostaglandinin türüne ve miktarına bağlıdır (Lees ve ark 2004).

COX-1 ve COX-2'nin zamana bağlı yavaş inhibisyonu yada COX-2'nin spesifik inhibisyonu şeklinde COX enzimlerinin inhibisyonu sağlanabilir. NSAID ilaçlar siklooksijenaz (COX) enzimini azaltarak araşidonik asitten prostaglandin sentezini azaltabilir (Büyükuysal 1999, Sookvanichsilp ve Pulbutr 2002). Türkiye'de veteriner klinik alanında Aspirin, Diklofenak Sodyum, İbuprofen, İndometazin, Naproksen Sodyum, Meloksikam, Meglofenic Asit, Flunixin Meglumin ve Ketoprofen gibi nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Büyükuysal 1999).

1.6. Prostaglandin $F_2\alpha$ Salınımının Durdurulması / Azaltılması

$PGF_2\alpha$, diöstrüs döneminin sonuna doğru (seksüel siklusun 15-17. günleri) uterustan salgılanarak, ovaryumda bulunan fonksiyonel corpus luteumun morfolojik ve fonksiyonel olarak regresyonuna neden olmaktadır (İzgür 1990, John 1999, Weems ve ark 2006). Corpus luteumun regresyonu, $PGF_2\alpha$'nın utero-ovarian damarların kontraksiyonuna neden olarak CL'un hücrelerinin beslenmesini engellemesi sonucunda gerçekleşir (Özkoca 1984).

Kritik dönemde $PGF_2\alpha$ sentez mekanizmasının özel olarak durdurulması gebeliğin kabulünü artıracaktır (Binelli 2001). İneklerde önemli ekonomik kayıplara neden olan erken embriyonik ölümlerin önemli bir bölümü, bu dönemde oluşan sorunlardan kaynaklanmaktadır. Bu dönemde inekler gebe olsalar dahi; embriyo tarafından salgılanan IFN-t uygun zamanda ve yeterli miktarda salgılanmadığı sürece endometriumdan $PGF_2\alpha$ salınımını engelleyemez. Bu nedenle gebeliğin

sürdürülmesinde $PGF_2\alpha$ salınımının başarılı bir şekilde bloke edilmesi gerekir (Bineli ve ark 2001, Güzeloğlu 2006).

Veteriner hekimlikte NSAID'ler yan etkilerinin az olması nedeniyle anti-endotoksik, anti-pretik, non-narkotik ve analjezik amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Özbek ve Öztürk 2003, Lees ve ark 2004). Nonsteroid anti inflamatuvar ilaçlar siklooksijenaz enzimini inhibe ederek yangıya aracılık eden siklooksijenaz ürünlerinin oluşumunu azaltırlar. NSAID'ler yukarıda belirtilen etkilerini araşidonik asidin Prostaglandin G_2'ye dönüşümünü katalizleyen siklooksijenaz enzim sistemini inhibe ederek göstermektedirler. Bu konuda yapılan çok sayıdaki çalışmada NSAID'lerin bu özelliğinden faydalanılarak endometriumdan $PGF_2\alpha$ salgılanmasının baskılandığı belirlenmiştir (Sager 1993, Frey ve ark 1996, Büyükuysal 1999, Lees ve ark 2004).

Son zamanlarda NSAID'lerin $PGF_2\alpha$ sentezini durdurduğu/azalttığı bildirilmektedir (Scenna ve ark 2005, Güzeloğlu ve ark 2007). Flunixin Meglumin kuvvetli bir non-steroidal anti-inflamatuar madde olup cyclooxygease–2 (Cox–2) enziminin aktivitesini inhibe ederek arachidonic asitten $PGF_2\alpha$ üretilmesini engeller (Anderson ve ark 1990). Bu amaçla çeşitli araştırmacılar tarafından FM'nin endometriumdan luteolitik $PGF_2\alpha$ salınımını durdurma potansiyeli araştırılmıştır. FM'nin sistemik kullanımının $PGF_2\alpha$'nın sentezini engellediği, kandaki $PGF_2\alpha$ nın metaboliti olan PGFM miktarındaki azalma ile tesbit edilmiştir (Weems ve ark 2006).

İneklerde gebeliğin maternal kabulü döneminde (15-17. gün) embriyo, salgıladığı IFN-t adı verilen protein vasıtası ile endometriumdan $PGF_2\alpha$ salınımını durdurmakta ve luteolizisin oluşmasını engellemektedir. Bu kritik dönemde, NSAID uygulaması ile endometriumdan $PGF_2\alpha$ salınımının durdurulması ve dolayısıyla luteolizisin geciktirilmesi sağlanmaktadır. Luteolizisin geciktirilmesiyle özellikle yavaş gelişen embriyolara luteolizisi durdurmak için yeterli miktarda IFN-t salgılaması için zaman kazandırıldığı ve gebeliğin devam etmesine katkıda bulunulduğu ifade edilmektedir (Sookvanichsilp ve Pulbutr 2002, Scenna ve ark 2005, Güzeloğlu ve ark 2007).

Sığır embriyoları fertilizasyondan sonraki 13. günde 5.25 mm büyüklüğünde iken 16, 17. günlerde 52 mm büyüklüğe ulaşmaktadır. Bu büyümenin yeterli olmadığı durumlarda salgılayacağı IFN-t'nin yetersiz olması ve dolayısıyla endometriumdan $PGF_2\alpha$ salınımının baskılanması söz konusudur (Thatcher ve ark. 2006a, Rossow 2006).

Endometrial prostaglandin inhibitörü olarak linoleik asit de kullanılabilmektedir. İnvitro olarak linoleik asit, COX-2 aktivitesinin önlenmesini sağlayarak $PGF_2\alpha$ sentezini yapan sistemin $PGF_2\alpha$ sentez kapasitesini düşürmektedir (Weems ve ark 2006).

Son yıllarda nonsteroidal antienflamatvar ilaçların gebeliğin sürdürülmesi amacıyla uygulandığı araştırmalar yapılmaktadır. Bu amaçla Fulinixin Meglumin'in kullanıldığı araştırmalarda olumlu sonuçlar alındığı ifade edilmektedir (Güzeloğlu ve ark 2007).

Flunixin Meglumin intravenöz enjeksiyondan 10-15 dakika sonra emilir ve % 99 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Flunixin Meglumin'in yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle 12-24 saat sonra tekrarlanması gerekir. Flunixin Megluminin bilinen özellikleri yanında antioksidan özelliği de vardır. İntravenöz olarak 2,2mg/kg/gün dozunda uygulanır. En fazla 3 gün uygulanması ve kalıntı sorunu olmaması amacıyla son uygulamadan itibaren et için 10 gün, süt için 1 gün beklenmesi tavsiye edilmektedir (Anderson 1991, Feist 2004).

Flunixin Meglumin'nin sütte kalıntı bırakması ve bu sütün değerlendirilememesi nedeniyle ekonomik kayıplar oluşmaktadır. Ayrıca 12 saat arayla iki kez uygulanması da iş gücünü artırmaktadır. Flunixin Meglumin gibi NSAID ilaçlardan olan Ketoprofen'in sütte kalıntı bırakmaması ve daha uzun etkili ve günde bir kez uygulanması özelliğinin avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

Ketoprofen; 2-(3-benzoylfenil) propionik asit yapısında olup analjezik, antipretik ve antiinflamatuvar etkili ve yan etkisi oldukça az olan bir NSAID'tir. Etkisini prostaglandin sentezini durdurarak gösterir (Şanlı ve Kaya 1991).

Ketoprofen ile ilgili olarak daha çok yangı giderici, ağrı kesici ve sütteki rezüdü oranları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Ketoprofen uygulamasından sonra değişik saat ve günlerde alınan süt örneklerinde çok hassas testlerde bile, ölçülebilir

düzeyde ilaç kalıntısına rastlanmamıştır (Daeseleire ve ark 2003). Stafford ve Mellor (2005) Ketoprofenin; boynuz kesme ve boynuzsuzlaştırma (koterizasyon) öncesinde ve/veya sonrasında antiinflamatuvar, analjezik ve tranklizan olarak kullanılabileceğini belirtmektedirler.

Ketoprofen'in de prostaglandinlerin salınımını azaltıcı özelliği vardır (Lees ve ark. 2004). Ancak gebeliği artırmaya yönelik olarak FM gibi yapılmış bir saha çalışması (Güzeloğlu ve ark 2007) henüz bulunmamaktadır. Etki süresinin uzun olması, sütte kalıntı bırakmaması (Daeseleire ve ark 2003) yan etkisinin daha az olması gibi nedenlerle diğer NSAID ilaçlara göre önemli bir avantaj oluşturmaktadır (Şanlı ve Kaya 1991).

Ketoprofen eklem ya da kas ağrılarında, akut ağrılarda ve enfeksiyonlarda özellikle hareketli organlarda artritis, artroz, tendinitis ve travmalarda, akut E. Coli mastitislerinde, atlarda kolik gibi şiddetli ağrılarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Sığırlarda 3 mg/kg/gün intramuskuler/intravenöz olarak kullanılabilir. Enjeksiyondan kısa süre sonra % 85 oranında emilir % 92 den daha fazlası proteinlere bağlanarak taşınırlar (Feist 2004, Kneer ve ark 2008)

Ayrıca operasyon sonrası ağrıların kontrolünde uygulanmaktadır. Nitekim Schulz (2007) Ketoprofeni domuzlarda yaptıkları kastrasyon operasyonlarında ağrıyı azaltmak için kullanıldığında, anestezi sonunda ağrı semptomlarını görmediklerini ifade etmektedir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Sunulan doktora tez çalışması, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'nun 05.02.2008 tarih ve 200/001 sayılı onayıyla yapılmıştır.

Çalışma materyalini Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde bulunan İsviçre Esmeri 103 baş düve ve 62 baş laktasyonda olmayan inek oluşturdu. İnek materyalinin tamamını işletmede yürütülen Embriyo Transferi (ET) çalışmalarında en az bir defa ET yapılmış; düve materyalinin ise tamamı en az üç defa (Embriyo Transferi hariç) senkronize edilmiş suni tohumlama yapılmış ve gebe kalmamış, ancak rektal palpasyon (RP) ve ultrasonografik muayene (USG) ile genital sistemle ilgili her hangi bir sorunu belirlenemeyen hayvanlar oluşturdu.

Çalışmaya dahil edilen düveler 3-6 yaşlı ve ortalama 521 kg (346-805 kg) canlı ağırlıkta, inekler ise 3-9 yaşlı ve ortalama 607 kg (435-805 kg) canlı ağırlığa sahipti. Hayvanlar yarı açık bölünmüş padok sistemi ile (25 hayvan/padok) barındırılmakta olup mısır silajı, yonca ve buğday sapı ile ad libitum beslenmişlerdir. Günlük su ihtiyaçları da ad libitum temin edilmiştir.

Çalışmada ilk önce modifiye ovsynch yöntemi ile östrüs ve ovulasyonlar senkronize edildi (Güzeloğlu ve ark. 2007). Bu amaçla 14 gün arayla iki kez $PGF_2\alpha$ (150 µg d-kloprestonol; Dalzamin, Vetaş, İstanbul) kas içi, ikinci $PGF_2\alpha$'dan 48 saat sonra GnRH (50 µg lesirelin asetat; Dalmarelin, Vetaş, İstanbul) kas içi ve GnRH enjeksiyonundan 12-16 saat sonra sabit zamanlı tohumlama (TAI) yapıldı (0. gün). Tohumlamaların tamamı fertilitesi kanıtlanmış aynı boğaya ait sperma ile aynı veteriner hekim tarafından yapıldı. İki $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu arasındaki günlerde 30 dakika süreyle günde üç kez (08^{00}, 16^{00}, 21^{00}) gözlem yöntemi ile östrüs takibi yapıldı ve östrüs gösteren hayvanlar kaydedildi. İkinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu sırasında USG ile sağ-sol ovaryum dorso-ventral ve latero-medial olarak muayene edildi. Bu muayene sırasında mevcut corpus luleum (CL) ve follikül (FL) görüntüleri dondurularak, ekran üzerinde en uzun çap ölçümleri yapıldı. GnRH enjeksiyonu sırasında da aynı yöntemle mevcut folliküllerin ölçümleri yapıldı. Sabit zamanlı olarak tohumlanan hayvanların ovulasyon muayeneleri (OvM), tohumlama sonrası 24. saatte USG ile yapıldı. Ovulasyonun olup olmadığına GnRH enjeksiyonu sırasında tespit edilen en büyük çaplı follikülün varlığına göre karar verildi (Şekil 1).

Ultrasonografik muayeneler B-model, linear array, 6-8 MHz rektal probu olan real-time ultrason (Falco Vet, Pie Data Medical, The Netherlands) ile aynı Veteriner Hekim tarafından gerçekleştirildi.

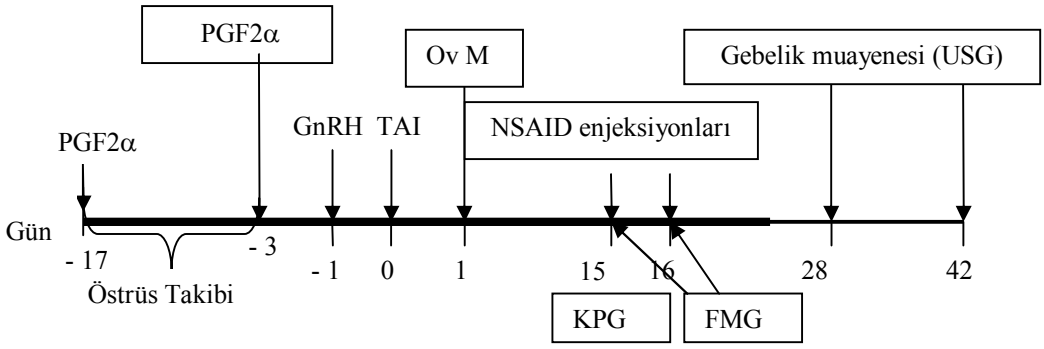
Tohumlamaları yapılan inek ve düveler her biri eşit olacak şekilde random yöntemiyle üç gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (KG) : Bu gruba dahil olan hayvanlara (n= 55; İnek:23, Düve: 32) tohumlama sonrası herhangi bir uygulama yapılmayıp kontrol olarak değerlendirildi (Şekil 1).

Flunixin Meglumin grubu (FMG) : Bu gruba dahil hayvanlara (n= 55; İnek:20, Düve: 35) 15. gün saat 21^{00} ve 16. gün saat 09^{00}'da 1.1 mg/kg dozunda Flunixin Meglumin (Fulimed, Alke, İstanbul) kas içi yolla uygulandı (Şekil 1).

Ketoprofen grubu (KPG) : Bu gruba dahil hayvanlara (n= 55; İnek:20, Düve: 35) 15. gün saat $21^{30'}$da 3 mg/kg dozunda Ketoprofen (Ketobay, Bayer, İstanbul) kas içi yolla uygulandı (Şekil 1).

Gebelik muayeneleri USG ile 28. ve 42. günlerde olmak üzere iki kez yapıldı.



Şekil 2.1. Çalışmada uygulanan östrüs ve ovulasyon senkronizasyon yöntemi, çalışma programı ve muayene günleri.

İstatistiksel hesaplamalar: Gruplardan elde edilen gebe kalma oranları, 28-42 gün aralığında meydana gelen embriyonik ölümler, yüzdeler arası farkın önem kontrolü ile yapılmıştır.

3. BULGULAR

Birinci $PGF_2\alpha$ uygulama sonrası östrüs gösterme oranı, ikinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyon günü CL varlığı, GnRH enjeksiyonu sırasında follikül varlığı ve ovulasyon sayıları çizelge 3.1'de sunulmuştur. Çalışmada 35 baş hayvan birinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu sonrası östrüs göstermiştir. İkinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyon günü toplam 153 baş hayvanda CL tespit edilirken, 12 baş hayvanda CL tespit edilememiştir. GnRH enjeksiyonu sırasında toplam 160 baş hayvanda dominant follikül tespit edilmiş, beş hayvanda ise follikül tespit edilememiştir. Çalışmadaki 128 baş hayvanda ovulasyon şekillenirken, 37 baş hayvanda ovulasyon şekillenmemiştir (Çizelge 3.1.).

İnek ve düvelerde iki $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu arasında östrüs gösterme, ikinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu gününde CL ve GnRH enjeksiyonu gününde FL varlığı bakımından istatistiki bir fark tespit edilmemiştir ($p> 0.05$). Ancak ovulasyonun gerçekleşmesinde düveler lehine istatistiki bir fark tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada uygulanan modifiye ovsynch yönteminde tespit edilen östrüs, CL, FL sayı ve oranları

	I. $PGF_2\alpha$		II. $PGF_2\alpha$		GnRH		Ovulasyon	
	Öst (+) (n,%)	Öst (-) (n,%)	CL (+) (n,%)	CL (-) (n,%)	FL (+) (n,%)	FL (-) (n,%)	(+) (n,%)	(-) (n,%)
İnek (n=63)	12 (19.0)	51 (81.0)	55 (87.3)	8 (12.7)	60 (95.2)	3 (4.8)	42 (66.7)	21 (33.0)
Düve (n=102)	23 (22.5)	79 (77.5)	98 (96.1)	4 (3.9)	100 (98.0)	2 (2.0)	86 (84.3)	16 (15.7)
Toplam (n=165)	**35** (21.2)	**130** (78.8)	**153** (92.7)	**12** (7.3)	**160** (96.97)	**5** (3.0)	**128** (75.6)	**37** (24.4)

Ultrasonografik yöntemle elde edilen ikinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu öncesinde ovaryum CL ölçüm değerleri ile GnRH enjeksiyonu sırasındaki mevcut dominant folliküllerin elde edilen ölçüm değerleri çizelge 3.2'de sunulmuştur. İkinci $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu öncesinde 108 baş hayvanda ovaryum CL ölçüleri değerlendirmeye

alınmış, ölçüm yapılamayan 57 baş hayvan değerlendirmeye alınmamıştır. Corpus luteum'un ultrasonografik ölçümleri ve sınıflandırılması Moura ve ark (2001) ve Baruselli ve ark (2001) bildirdiği yönteme göre yapıldı. GnRH enjeksiyonu sırasında ise 164 baş hayvanda mevcut dominant follikülün ölçümü yapılmış, ölçüm yapılmayan bir hayvan (düve) değerlendirmeye alınmamıştır. Folliküllerin ultrasonografik ölçümleri ve sınıflandırılması tasnifi ve ölçümü Tek ve ark (2003) bildirdiği yönteme göre yapıldı.

Çizelge 3.2. İkinci $PGF_2\alpha$ öncesindeki corpus luteum ve GnRH enjeksiyonu sırasındaki folliküllerin ultrasonografik ölçümleri ve sınıflandırılması ($p > 0.05$).

	Corpus luteum (n=108)		Follikül (n=164)	
	<17 mm (n, %)	≥ 17 mm (n, %)	<10mm (n, %)	≥ 10mm (n, %)
İnek (n=63)	4 (6.35)	36 (57.14)	7 (11.11)	55 (87.30)
Düve (n=102)	6 (5.88)	62 (60.78)	18 (17.65)	84 (82.35)
Toplam (n=165)	**10 (6.06)**	**98 (59.39)**	**25 (15.15)**	**139 (84.24)**

Çalışmadaki deneme ve kontrol gruplarında 28. ve 42. günlerde yapılan ultrasonografik muayenede elde edilen gebe kalma oranları ile 28.-42. gün aralığında meydana gelen embriyonik ölümlerin sayı ve oranları çizelge 3.3'te sunulmuştur. Çizelgede deneme ve kontrol grubu arasında gebe kalma oranı bakımından istatistiki fark olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Yirmisekiz ve 42. günde, deneme ve kontrol gruplarındaki yapılan USG muayene sonrası elde edilen gebe kalma oranı ile meydana gelen embriyonik ölüm sayı ve oranları ($p > 0.05$).

	28. gün USG gebelik (n, %)		42. gün USG gebelik (n, %)		Embriyonik ölüm (n,%)	
	İnek	Düve	İnek	Düve	İnek	Düve
KG (n=55)	11 (47.8)	11 (34.3)	10 (45.5)	11 (33.3)	1 (9.1)	0
FMG (n=55)	6 (30.0)	9 (25.7)	4 (20.0)	8 (22.9)	2 (33.3)	1 (11.1)
KPG (n=55)	9 (45.0)	14 (40.0)	9 (45.0)	12 (34.3)	0	2 (14.3)
TOPLAM (n=165)	26 (41.3)	34 (33.3)	23 (36.5)	31 (30.4)	3 (11.5)	3 (8.8)
Genel Toplam	**60 (36.4)**		**54 (32.7)**		**6 (10.0)**	

Çalışmada kullanılan hayvanlardan canlı ağırlık (CA) ortalamasının altında olan 38 baş inekten 2 baş inekte embriyonik ölüm (% 5.2) gerçekleşirken, CA ortalamasının üstündeki 25 baş inekte 1 embriyonik ölüm (% 4) gerçekleşmiştir. Düvelerde ise CA ortalamasının altında olan 60 baş düvede 1 (% 1.7), CA ortalamasının üstünde olan 42 baş düvenin 2' sinde (% 4.8) embriyonik ölüm görülmüştür (Çizelge 3.4). Çalışmada canlı ağırlığa göre embriyonik ölümler arasında fark görülmemiştir.

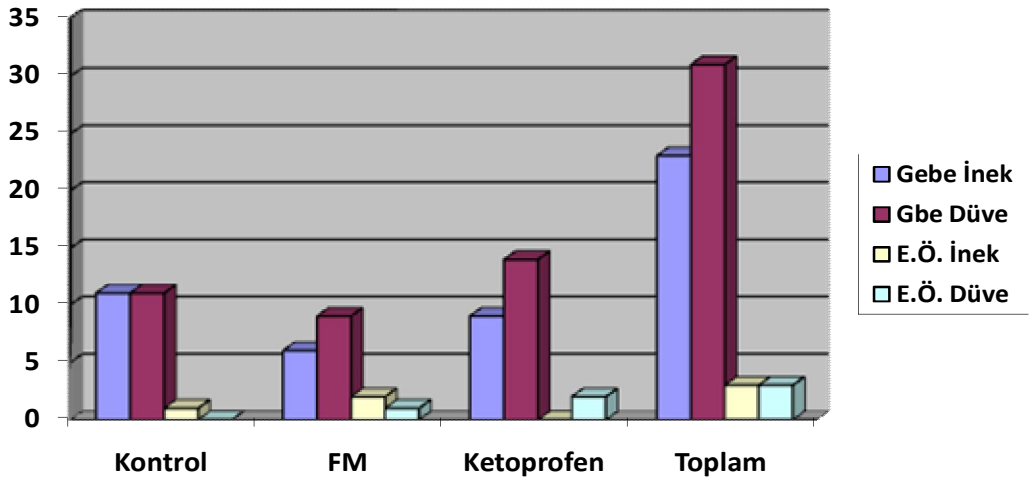
Çizelge 3. 4. Canlı ağırlık ortalamasının altında ve üstünde bulunan hayvanların ve embriyonik ölümlerin dağılımı ($p > 0.05$).

	İnek (ortalama 607 kg CA)		Düve (ortalama 521 kg CA)		Embriyonik Ölüm			
					İnek (kg)		Düve (kg)	
	<607	≥607	<521	≥521	<607	≥607	<521	≥521
KG	15	8	22	10	1	-	-	-
FMG	11	9	16	19	1	1	-	1
KPG	12	8	22	13	-	-	1	1
Genel	38	25	60	42	2	1	1	2

Canlı ağırlığa göre elde edilen gebe kalma oranı çizelge 3.5'te sunulmuştur. Çizelgede canlı ağırlık ortalamasının altında ve üstünde bulunan hayvanlar arasında gebe kalma oranı ve embriyonik ölüm oranı bakımından istatistikî fark elde edilememiştir.

Çizelge 3.5 Canlı ağırlık ortalamasının altında ve üstünde bulunan hayvanlarda gebe kalma ve embriyonik ölüm ve oranları ($p > 0.05$).

	İnek (ortalama 607kg CA)		Düve (ortalama 521kg CA)		Embriyonik Ölüm			
					İnek (kg)		Düve (kg)	
	<607	≥607	<521	≥521	<607	≥607	<521	≥521
KG	8	3	7	4	1 (12.6)	-	-	-
FMG	4	2	4	5	1 (25.0)	1 (50.0)	-	1 (20.0)
KPG	7	2	10	4	-	-	1 (10.0)	1(25.0)
Toplam (%)	19 (50)	7 (28)	21 (35)	13 (31)	2 (10.5)	1 (14.3)	1 (4.8)	2 (15.4)
Genel	26		34		3 (11.54)		3 (8.82)	



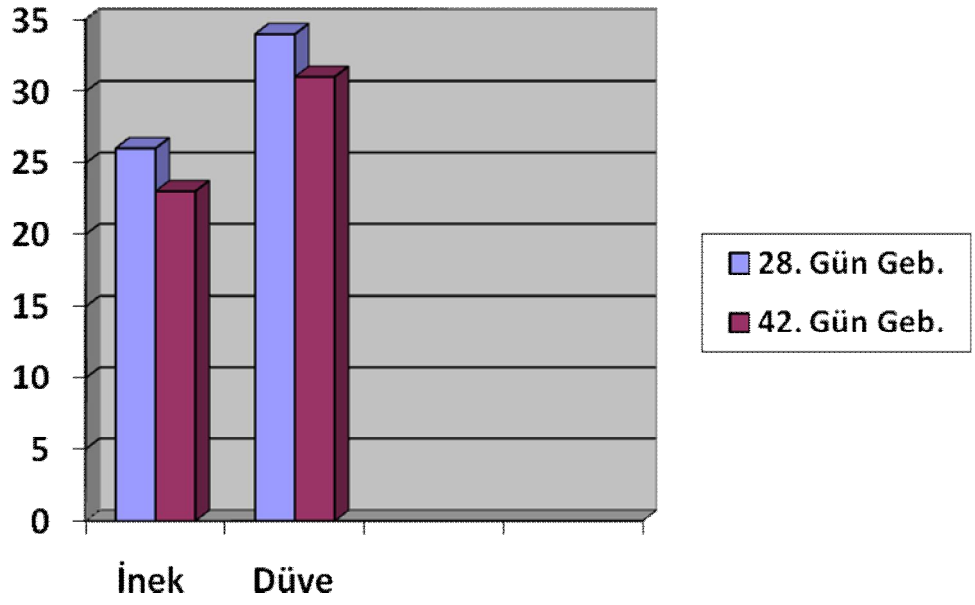
Grafik 3.1. İnek ve düvelerde gebelik ve şekillenen embriyonik ölümler

Çalışmada inek ve düve ayrımı yapılmadan genel gebelik durumu dikkate alındığında; 28. günde en yüksek gebelik oranı KPG gurubunda şekillenirken, 42. günde CG ve KPG gurubunda aynı oranda gebelik şekillendiği belirlenmiştir. Ketoprofen gurubunda geç embriyonik ölüm oranının, kontrol gurubuna göre daha yüksek oranda şekillendiği tespit edilmiştir (Çizelge 3.6, Grafik 3.1).

Çizelge 3.6 Çalışmada 28 ve 42. günde belirlenen gebe kalma sayı ve oranı ($p > 0.05$).

	28. gün gebelik (n, %)	42. gün gebelik (n, %)
KG (n=55)	22/55 (40.0)	21/55 (38.2)
FMG (n=55)	15/55 (27.3)	12/55 (21.8)
KPG (n=55)	23/55 (41.8)	21/55 (38.2)
Genel (n=165)	60/165 (36.7)	54/165 (32.7)

Çalışmada USG ile gebelik muayenesinde 28. günde tüm gruplarda 26 baş inekte gebelik şekillendiği tespit edilirken 42. günde 23 baş inekte gebeliğin devam ettiği tespit edilmiştir. Düvelerde ise yine tüm gruplarda 28. günde 34 gebelik şekillendiği; 48. günde ise 31 baş düvede gebeliğin devam ettiği tespit edilmiştir (Grafik 3.2). Yapılan çalışmada inek ve düvelerde 3'er baş hayvanda geç embriyonik ölüm şekillenmiştir.



Grafik 3.2. İnek ve düvelerde 28. ve 42. günde gebe kalma oranları.

Çalışmadaki tüm gruplarda tohumlama yapılan 63 baş inekte % 11.5 oranında embriyonik ölüm gerçekleşirken, 102 baş düvede % 8.8 oranında embriyonik ölüm meydana gelmiştir (Çizelge 3.7). İnek ve düvelerde meydana gelen embriyonik ölüm oranları gruplar arasında önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 3.7. Tohumlanan inek, düve sayısı ve embriyonik ölüm oranları ($p > 0.05$).

	Hayvan sayısı)(n)	Embriyonik ölüm oranı (%)
İnek	63	11.5
Düve	102	8.8
Toplam	165	10.0

4. TARTIŞMA

Embriyonik ölümler günümüzde döl verimi ile ilgili karşılaşılan sorunların başında yer almaktadır. Çünkü gerek doğal östrüste gerekse senkronize östrüs sonrasında tohumlanan inek ve düvelerde embriyonik ölüm insidansının yüksek olduğu bildirilmektedir (Akar ve Apaydın 1996, Santos ve ark 2004, Diskin ve ark 2006). Süt ineği işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan embriyonik ölümlerin azaltılmasının gerekliliği bilenen bir gerçektir.

İneklerde embriyonal dönem fertilizasyonu takiben 42–45. güne kadar devam eden dönem olup, 42. günden önce oluşan ölümler, embriyonik ölüm olarak kabul edilmektedir (Alaçam 1994, Thatcher ve ark 2006b). Embriyonik ölüm insidansının % 6.1–35 olduğu bildirilmekte (Brilling 2001, Lucy 2001, Diskin ve ark 2006); ancak repeat breeder, süt verimi yüksek, 5. doğumunu yapmış inekler, sıcak iklim bölgesinde bulunan düve ve ineklerde daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Sreenan ve Diskin 1986, Akar ve Apaydın 1996, Silva ve ark 2002, Thatcher ve ark 2006b). Ayrıca Embriyonik gelişimin erken dönemlerinde çeşitli streslere (nakliye, aşırı sıcak soğuk hava vb.) maruz kalan inek ve düvelerde de, normalden daha fazla oranda embriyonik ölüm meydana geldiği ifade edilmektedir (Hansen 2002).

Sunulan tez çalışmasında embriyonik ölüm oranı ineklerde % 11.5, düvelerde % 8.8, inek ve düveler birlikte değerlendirildiğinde % 10 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.7). Araştırmada düvelerde elde edilen gebe kalma oranı ineklere göre daha düşük olması yaşla ilgili olabilir. Çünkü gebe kalma oranının düşük olması embriyonik ölümlerin daha yüksek olduğunun bir yansıması olarak değerlendirilebilir. Nitekim Lee ve Kim (2007) embriyonik ölümlerin insidansını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, yaşı ilerlemiş olan düvelerde ve üçden daha fazla doğum yapmış olan ineklerde embriyonik ölümlerin daha yüksek oranda olduğunu ifade etmektedirler. Sunulan çalışmada da senkronize edilerek tohumlanan düvelerin 3-6 yaş aralığında olmasının gebelik oranı ve embriyonik ölüm oranlarında etkili olduğu düşünülmektedir.

Embriyonik ölümlerin insidansına yönelik çalışmalarda ilk-son muayene gününün farklı olmasına bağlı olarak değişik sonuçlar alındığı görülmektedir. Nitekim Erdem (1997) yaptığı çalışmada 22-45. günler arasında % 30 oranında embriyonik ölüm gerçekleştiğini bildirmektedir. Romano ve ark (2007) 30-45.günler

arası embriyonik ölüm oranının % 10 olduğunu ifade etmektedirler. Alnimer ve Lubbadeh (2008), inek ve düvelerde 28-45. günlerde şekillenen toplam embriyonik ölüm oranının % 11.9, ancak düvelerde ineklere göre embriyonik ölüm oranının daha düşük olduğunu ileri sürmektedirler. Silvia ve ark (2002)'da erken embriyonik ölümlerin düvelerde, geç embriyonik ölümlerin ise ineklerde daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Robaglino ve ark (2010) 32-45. günler arasında meydana gelen geç embriyonik ölüm oranlarının, uygulama ve kontrol gruplarında sırasıyla % 2.1 ve % 1 olarak elde etmişlerdir. Geç embriyonik ölüm oranlarının; uygulama ve kontrol grupları arasında istatistiki bir fark olmamakla birlikte sayısal olarak kontrol gurubunda daha düşük olduğu ifade edilmektedir.

Sunulan tez çalışmasında da 28-42. günler arasında tüm gruplarda EÖ oranı % 10 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen gebelik oranı, yapılan benzer çalışmalardaki embriyonik ölüm oranlarından daha iyi bir sonuç olarak elde edilirken Romano ve ark (2007) ile uyumlu olduğu görülmektedir. Ayrıca çalışmada embriyonik ölüm oranı KG, FM, KPG ve toplamda inek ve düvede, sırasıyla % 9, % 0; % 33.3, % 11.1; % 0, % 14.3; % 11.5 ve % 8.8 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.3). Sunulan çalışmada Kontrol ve Flunixin Meglumine grubunda geç embriyonik ölümlerin ineklerde daha yüksek oranda olması Silvia ve ark (2002)'nın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir, Bunun aksine Ketoprofen grubunda geç embriyonik ölümler düvelerde daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Buna karşın Flunixin Meglumin'in gebeliğin maternal kabulü döneminde kas içi uygulamaları ile embriyonik ölümlerin azaltıldığı ve dolayısıyla da gebe kalma oranının artırıldığı belirlenmiştir. Flunixin Meglumin stres altındaki ineklerde de erken dönemdeki strese bağlı embriyonik ölümleri engellemektedir. (Hansen 2002).

Düvelerde maximum gebelik oranı 15-16 ay yaşlarında tohumlandıklarında gerçekleşmektedir. İlk tohumlama yaşı 15-16 ay olan düvelerde elde edilen gebelik oranının ilk tohumlama yaşı 26 ay olan düvelerden % 13 daha yüksek oranda gerçekleştiği bildirilmektedir (Diskin ve Morris 2008).

Sunulan çalışmada tohumlanan düvelerin 36-72 aylık yaşlarda ve daha önce yapılan embriyo transferi (en az bir defa) ve suni tohumlama (en az üç defa) çalışmalarında gebe kalmayan hayvanlardan oluştuğu dikkate alındığında kabul edilebilir bir oranda gebelik elde edildiği söylenebilir (Çizelge 3.3). Çalışmada

kullanılan ineklerin canlı ağırlıkları ortalamasının 607 kg, düvelerin ise 521 kg olması gebeliklerin sağlanmasında olumsuz bir faktör olrak düşünülebilir (Çizelge 3.4, 3.6).

Gebelik oranını artırmak amacıyla GnRH hormonu yaygın olarak kullanılmaktadır. Chenault (1990) bu amaçla tohumlama öncesi veya sırasında uygulanan GnRH enjeksiyonlarının CL gelişimini hızlandırdığını ifade etmektedir. Sönmez ve Gür (2007) GnRH uygulamalarının gebelik oranında artışa neden olmasa da, fertiliteyi artırmada önemli derecede etkili olabileceğini ifade etmektedirler. Benzer şekilde Çınar (2002) ve Ataman (1998) da tohumlama sırasında GnRH uygulamasının fertiliteyi olumlu yönde etkilediğini bildirmektedirler.

Uygulanan senkronizasyon protokolü gereği tohumlama öncesi GnRH uygulaması yapılmaktadır. Uygulanan bu GnRH enjeksiyonu fertilitenin artırılmasında önemli sonuçlara neden olabilir. Çünkü bu uygulama hem ovulasyonların senkronize bir şekilde olmasını sağlamakta, hem de ovulasyon sonrası CL gelişimini desteklemektedir. Sunulan çalışmada senkronizasyon protokolü gereği tohumlamadan 12-16 saat önce GnRH uygulanmıştır. İnek ve düvelerde sırasıyla % 66.67, % 84.31 oranında ovulasyon şekillenmesi ve CL oluşumunun hızla gerçekleşmesi,daha önceki benzer çalışmalarla uyumludur

Ruminantlarda corpus luteumdan salgılanan progesteron, gebeliğin devamı için zorunlu bir hormondur. Bununla birlikte luteolitik $PGF_2\alpha$, CL'un regresyonuna dolayısıyla progesteron salgısının durmasına neden olmaktadır (Alaçam 1994). Gebeliğin oluşması ve devamı için embriyo, uterus ve CL arasında birtakım mekanizmaların devreye sokulması gerekmektedir. Bu mekanizma gebeliğin 12–24. günleri arasında embriyonun trofoblast hücrelerinden IFN-t salınımı ile başlatılır (Güzeloğlu 2006).

Kastelic (1994) gebeliğin 15. gününden itibaren sadece 15 mm büyüklüğündeki conceptusların yeterli IFN-t üretebildiğini bildirmektedir. Daha küçük conceptusların yeterli miktarda bIFN-t üretemedikleri için embriyonun endometriuma gönderdiği antiluteolitik sinyaller yetersiz kalmakta, buna bağlı olarak gebelikler son bulmaktadır. Bu gibi kayıpların önlenmesine yönelik olarak kritik dönemde, bIFN-t verilmesinin ya da $PGF_2\alpha$ salınımının baskılanmasının etkili olabileceği bildirilmektedir (Bineli ve ark 2001).

Thatcher ve Hansen (1992) ise, 17. günde conceptusların büyüklüğü 15-25 mm olduğunu bildirmektedirler. Gebeliğin maternal kabülünün olduğu kritik dönemde 15-25 mm'den daha küçük conceptusların yeterli miktarda bIFN-t üretemediklerini ve embriyonun endometriuma gönderdiği antiluteolitik sinyallerin yetersiz kalması nedeniyle gebeliklerin sonlandırıldığı bildirilmektedir (Thatcher ve Hansen 1992, Kastelic 1994). Çünkü ineklerde gebeliğin maternal kabulünün ilk safhası, embriyo tarafından luteolitik mekanizmanın engellenmesidir. Ruminantlarda IFN-t'nin fonksiyonlarından en önemlisi endometriumdan $PGF_2\alpha$'nın pulzatif salgısını azaltarak CL'un ömrünü uzatmaktır (Güzeloğlu 2006). İnek endometriumu in vitro hücre kültürlerinde IFN-t'nin $PGF_2\alpha$ salınımını durdurduğu açık bir şekilde tespit edilmiştir (Güzeloğlu ve ark 2004).

Kritik dönemde $PGF_2\alpha$ sentez mekanizmasının özel olarak durdurulması gebeliğin maternal kabulü şansını artırmaktadır (Bineli 2001). Bu amaçla endometrial prostaglandin inhibitörü olarak linoleik asit kullanılmaktadır. İn vitro olarak linoleik asit, COX–2 enzim aktivitesini engellemekte ve $PGF_2\alpha$ sentezini yapan sistemin, $PGF_2\alpha$ sentez kapasitesini düşürmektedir (Şanlı ve Kaya 1991, Weems ve ark 2006). Bu bilgilerin ışığında uterusun luteolitik cevabının baskılanması veya geciktirilmesi embriyonik ölümleri azaltacaktır (Binelli 2001, Scenna ve ark 2005, Weems ve ark 2006).

Sookvanichsilp ve Pulbutr (2002) ise prostaglandinlerin mevcut bilgiler ışığında embriyonun uterus endometriumuna implantasyonu sürecinde önemli olduğunu işaret etmektedirler.

Son yıllarda $PGF_2\alpha$ sentezini azaltmak/durdurmak amacıyla kullanılan yöntemlerden birisi de NSAID özellikli ilaçların uygulanmasıdır (Scenna ve ark 2005, Güzeloğlu ve ark 2007). Bu amaçla çeşitli araştırmacılar tarafından FM'nin endometriumdan luteolitik $PGF_2\alpha$ salınımını durdurma potansiyeli araştırılmıştır. Flunixin Meglumin'in sistemik kullanımının $PGF_2\alpha$'nın sentezini engellediği, kandaki $PGF_2\alpha$'nın metaboliti PGFM miktarında azalma ile tespit edilmiştir (Weems ve ark 2006).

Tohumlama sonrası (15–17. gün arası) gebeliğin maternal kabulünün gerçekleştiği süreç "kritik dönem" olarak tanımlanmaktadır. İneklerde önemli

ekonomik kayıplara neden olan erken embriyonik ölümlerin önemli bir bölümü, bu dönemde oluşabilecek problemlerden kaynaklanmaktadır (Sreenan ve Diskin 1986, Bineli ve ark 2001, Howard ve ark 2006). Bu dönemde inekler gebe olsalar dahi embriyo tarafından salgılanan IFN-t doğru zamanda ve yeterli miktarda salgılanmadıkça endometriumdan $PGF_2\alpha$ salınımını engelleyemez. Bu nedenle gebeliğin devam etmesi için $PGF_2\alpha$ salınımının başarılı bir şekilde bloke edilmesi gerekir (Güzeloğlu 2006). Yapılan araştırmalarda FM uygulanan gruplarda $PGF_2\alpha$ salgısını azalttığı ve gebelik oranlarında artışa neden olduğu bildirilmektedir (Scanna ve ark 2005). Sunulan çalışmada da FM ve KP uygulamasının zamanı yukarda belirtilen kritik dönem sınırları içerisinde yer almaktadır.

Embriyonun büyümesindeki gecikme $PGF_2\alpha$'nın bloke edilememesine ve CL'un regresyonuna (luteolizisine) neden olacaktır. Corpus luteum'un regresyonu progesteron seviyesinin düşmesi, embriyonun yaşamının sona ermesi anlamını taşımaktadır (Rossow 2006, Rabaglino ve ark 2010). Sunulan çalışmada CL'un regresyonunu engellemek ya da geciktirmek amaçlanmıştır. Çalışmada uygulanan senkronizasyon protokolünü aynen uygulayan (Köse 2010) tohumlamadan sonraki 28. günde % 36.78 oranında gebelik elde edildiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada Ketoprofen uygulama grubunda 28. günde % 41.8 oranında gebelik elde edilmiştir. Sunulan tez çalışmasında Ketoprofen grubunda elde edilen gebelik oranının, Köse (2010)'nin çalışmasından daha yüksek elde edilmesi CL'un regresyonunun geciktirildiği/engellendiğini düşündürmektedir.

Rabaglino ve ark (2010) suni tohumlamadan sonra 15.5 ve 16. günlerde FM uygulamasının embriyonik ölümleri azalttığını ve tohumlama doğum oranının (tohumlama başına düşen doğum) arttığını ifade etmektedirler. Amiridis ve ark (2009) Repeat Breederli ineklerde NSAID uygulamalarının embriyonik ölümleri azaltmadığını, yani gebelikte bir artış sağlamadığını ifade ederlerken, Doğruer ve ark (2007) embriyonik ölümleri azalttığını dolayısı ile gebeliği artırdığını (kontrol % 20, uygulama grubu % 50) bildirmektedirler.

Sunulan çalışmada, gerek NSAID uygulanan gruplarda gerekse kontrol grubunda elde edilen gebelik oranları Amiridis ve ark (2009)'nın elde ettiği gebelik oranlarından daha yüksek, Doğruer ve ark (2007)'nın çalışmasında elde ettiği gebelik oranlarından daha düşük olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Benzer çalışmalarda,

farklı gebe kalma oranlarının elde edilmesinin sadece $PGF_2\alpha$ salınımı durdurulması ile ilgili olmadığı görülmektedir. Gebeliğin meydana gelmesinde hayvan ve çevreye bağlı şartların da düşünülmesi gereklidir. Çünkü fertilizasyonun olmadığı bir hayvanda tohumlama sonrası yapılan uygulamaların olumlu katkı sağlayacağı düşünülemez. Dolayısıyla tohumlama sonrası yapılacak uygulamalarda şartların optimize edilmesi, yapılan uygulamaların fertiliteye katkısının daha iyi anlaşılmasına neden olacaktır.

Güzeloğlu ve ark (2007), Holstein ırkı düvelerde gebeliğin maternal kabulünün olduğu kritik dönemde $PGF_2\alpha$ salgısını baskılayarak, embriyonun yaşamını devam ettirmesi için zaman kazandırılması amacıyla tohumlamadan sonraki 15. gün (saat 21.00) ve 16. gün (saat 09.00) FM uyguladıkları çalışmalarında, çalışma gurubunda % 26 daha yüksek oranda bir gebelik elde ettiklerini ifade etmektedirler.

Erdem ve Güzeloğlu (2008) gebeliği artırmak amacıyla 15-18 aylıkken senkronize edilen Holstein ırkı düvelere tohumlama sonrası 15. gün Meloxicam (0.5mg/kg CA) uyguladıkları çalışmada kontrol grubunda % 52 (25/48) gebelik elde ederlerken uygulama grubunda % 24.3 (9/37) gebelik elde etmişlerdir. Sunulan çalışmada ise uygulama gruplarında (FM ve KP) sırasıyla % 27.3 ve % 41.8 oranlarında gebelik elde edilirken kontrol gurubunda % 40 gebelik elde edilmiştir. Deneme gruplarında kontrol gurubuna göre istatistiki açıdan bir farkın olmaması yapılan uygulamanın her zaman yetersiz olduğu anlamaına gelmeyebilir. Çünkü yapılan/düşünülen uygulamalar embriyonun varlığında kendisini gösteren uygulamalardır. Dolayısıyla senkronizasyon yöntemi, tohumlama zamanı, sperma kalitesi, teknisyen becerisi, ani ısı değişiklikleri gibi faktörlerin düşünülmesi gerekmektedir. Nitekim çalışmanın yapıldığı günlerde, tohumlamadan sonraki üçüncü haftada havaların ani olarak soğumasının embriyonik ölüm oranında etkili olduğu düşünülmektedir. Bununla ilgili olarak Garcia-Isperto ve ark (2006) da sığırlarda ani sıcaklık değişiminin embriyonik ölümlerin artırdığını bildirmektedirler. Sunulan çalışmada elde edilen bulgular Garcia-Isperto ve ark (2006) ile parelellik arz etmektedir.

Sığırlarda preimplantasyon döneminde meydana gelen (implantasyon 21-30. günlerde) ani sıcaklık değişikliklerinin embriyonik ölüm oranını artırdığı ifade edilmektedir Garcia-Isperto ve ark (2006).

Çalışmadaki deneme gruplarından birini oluşturan NSAID'lardan Ketoprofen etken maddesini yine reprodüktif amaçlı olarak Amiridis ve ark (2009) da çalışmalarında kullanmışlardır. Sunulan çalışma, ile Amiridis ve ark (2009)'nın yaptığı çalışmanın her ikisinin de döl tutmayan hayvanlarda yapılmış olması yönünden benzerlik göstermektedir. Sunulan çalışmada Amiridis ve ark (2009)'nın çalışmasına göre daha yüksek oranda gebelik elde edilmiştir. Ketoprofen; daha çok post operatif analjezik özelliğinden faydalanılan, klinik tedavilerde kullanılan bir nonsteroiddir. Reprodüktif amaçlı çalışmalar henüz yeterli değildir. Ancak gebeliğin maternal kabulü mekanizmasında bilinen ilişkileri nedeniyle gebeliği olumlu yönde etlileyecek yapıya sahip olması, Ketoprofen'in bu amaçla da yaygın olarak kullanılabileçeğini göstermektedir. Ancak bununla ilgili yeterli sayda çalışma bulunmamaktadır.

Döl tutmayan ineklerde embriyoların küçük ya da zayıf (yeterli INF-t salgılayamaması) olmasının uterusta normal bir embriyonun gelişmesini sağlayamayacağı gibi, embriyonun zarar görmüş olabileceğinin de bir göstergesidir (Lucy 2001). Sunulan çalışmada kullanılan hayvanların tamamı daha önceden yapılan ET/ST çalışmalarında gebe kalmayan hayvanlar olduğundan, embriyoların küçük ya da zayıf kaldığı düşünülmektedir. Ayrıca sunulan çalışmada kullanılan hayvanların daha önce yapılan çalışmalarda gebe kalmayan reprodüktif sorunlu hayvanlardan oluşmasının da gebelik oranına olumsuz yönde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Sunulan çalışma ile aynı senkronizasyon protokolünü uygulayan, aynı bakım besleme ve çevre şartlarında bulunan hayvanları kullanılan, Köse (2010), yaptığı çalışmada % 36.78 gebelik elde ettiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada ise KG, FMG ve KPG'da sırasıyla gebelik oranları % 40.0, % 27.3 ve % 41.8 olarak elde edilmiş, en iyi sonuç KPG'da sağlanmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde Ketoprofenin embriyonik ölümleri azalttığı ve gebelik oranını artırdığı izlenimini vermektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Erken embriyonik ölümler, geç ve fötal ölümlere oranla daha yüksek oranda şekillenmektedir. Bu nedenle erken embriyonik ölümlerin azaltılmasına yönelik girişimler her zaman dikkat çekmekte ve değişik altenatif senkronizasyon metodları, ilaç uygulamaları yapılmaktadır.

Fertiliteyi artırmaya yönelik yapılacak çalışmaların/uygulamaların endokronolojik olarak desteklenmesi, elde edilecek olan verilerin daha sağlıklı değerlendirilmesini sağlayacaktır. Buda yapılan uygulamanın olumlu veya olumsuz yönlerinin belirlenmesinde önemlidir.

Fertilitenin arttırılması amacıyla tohumlama öncesi ve tohumlama sonrasında ineğin endokronolojik durumu, fertilizasyonun olup olmadığı gibi faktörler değişik sonuçların alınmasına neden olmaktadır.

Tohumlama sonrası kritik dönemde uygulanan nonsteroid antienflamatuvar ilaçlardan Flunixin Meglumin embriyonik ölümleri azaltmazken, Ketoprofen uygulamasının embriyonik ölümleri azalttığı tespit edilmiştir. Gebeliğin artırılması amacıyla tohumlamadan sonra 15. gün yapılan Ketoprofen uygulaması, erken embriyonik ölümleri azaltıp gebeliği sayısal olarak artırmaktadır. Bu nedenle kritik dönemde Ketoprofen uygulaması tavsiye edilebilir niteliktedir. Çünkü embriyo transferi gibi maliyeti yüksek uygulamalarda veya ekonomik değeri yüksek olan ineklerde sayısal farklılıklar bile öneml kazanımlar sağlayabilmektedir.

Tohumlama sonrası Ketoprofen uygulamasının insan ve hayvan sağlığına olumsuz bir etkisinin olmaması (et ve sütte kalıntı sorunu oluşturmaması), maliyetinin düşük ve uygulama kolaylığı gibi nedenlerle de fertilitenin artırılmasında uygun bir seçenek olabileceği düşünülmektedir.

6. ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Laktasyonda Olamayan İsviçre Esmeri İnek ve Düvelerde Ketoprofen ve Flunixin Meglumin Uygulamasının Gebe Kalma Oranı Üzerine Etkisi

Şükrü DURSUN

Doğum ve Jinekoloji (Vet.) Anabilim Dalı

Sunulan tez çalışmasında erken embriyonik ölümlerin azaltılması/önlenmesi amacıyla tohumlama sonrası 15-16. günlerinde nonsteroidal anti-enflamatuvar (NSAID) ilaçlardan Ketoprofen ve Flunixin Meglumine uygulamasının gebe kalma üzerine etkisi araştırıldı.

Araştırma materyalinin daha önce ET ve ST çalışmalarında gebe kalmamış 103 baş düve ve 62 baş laktasyonda olmayan inek olmak üzere toplam 165 baş İsviçre Esmeri sığır oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen hayvanlara 14 gün arayla iki kez $PGF_2\alpha$ kas içi, ikinci $PGF_2\alpha$'dan 48 saat sonra GnRH kas içi uygulandı. GnRH enjeksiyonu sonrası 60-66 saat aralığında tüm hayvanlar sabit zamanlı olarak tohumlandı (0. gün).

Tohumlanan hayvanlar random yöntemi ile 3 gruba ayrıldı. Birinci grup hayvanlar (KG, inek= 63, düve=32) kontrol olarak değerlendirilirken; iknci grup hayvanlara (FMG, inek=20, düve=35) 15. günde (saat saat 21^{00}) ve 16. günde (saat 09^{00}) 1.1mg/kg dozda Flunixin Meglumine kas içi; üçüncü grup hayvanlara ise (KPG, inek=29, düve=35) 15. günde (saat 21^{30}) 3mg/kg dozda Ketoprofen kas içi uygulandı.

Real-time ultrasonografi ile 28. günde gebe kalma oranı KG, FMG ve KPG gruplarında sırasıyla % 40.0; 27.3; 41.8 olarak belirlenirken; 42. günde ise sırasıyla % 38.2, 21.8; 38.2 olarak tespit edildi.

Sonuç olarak Ketoprofen uygulamasıyla gebe kalma oranı artmakla birlikte geç embriyonik ölümeerin azaltılması/önlenmesinde önemli bir etkisinin olmadığı kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: Embriyonik ölüm; Gebelik; İnterferon-tau; NSAID; Prostaglandin $F_2\alpha$

7. SUMMARY

The effect of Ketoprofen and Flunixin Meglumine treatment and pregnancy rate in Brown Swiss non-lactating cows and heifers

In this thesis, the effect of Ketoprofen and Flunixin Meglumine, nonsteroid antienflamatuar drugs (NSAID) application at 15-16 days of cycle following insemination to reduce/prevent early embryonic mortality rate on pregnancy rate was examined.

A total of 165 Brown Swiss, 3-6 years old 103 heifers and 62 dry cows that were not conceived at previous ET and ST applications were used in the research. The animals were injected two doses of $PGF_2\alpha$ intramuscularly at 14 day intervals. All animals were injected with GnRH intramuscularly 48 hours after the second $PGF_2\alpha$ application and were artificially inseminated at 60-66 hours after GnRH application.

Animals were randomly separated into 3 groups: First group (KG, cow=23, heifer=32) served as control. Animals in the second group were applied Flunixin Meglumine (FMG, 1.1 mg/kg) at day 15 (hour 21^{00}) and day 16 (saat 09^{00}). Animals (KPG, cows=20, heifer=35) in the third group were applied Ketoprofen (3mg/kg) at day 15 (hour 21^{30}). Pregnancy rates that were diagnosed by real-time ultrasonography on day 28 were 40.0%, 27.3% and 41.8 % for KG, FMG and KPG, respectively, while on day 42 the they were 38.2%, 21.8% and 38.2% for KG, FMG and KPG, respectively.

It was concluded that Ketoprofen numerically increased the pregnancy rate, at day 28 but had not effect on reducing the late embryonic loss.

Key Words: Embrionic loss; Pregnancy; Interferon-tau; NSAID; Prostaglandin $F_2\alpha$

8. KAYNAKLAR

1. Akar Y, Apaydın AM. İneklerde embriyonik ölümler ve sebepleri. Hayvancılık Araştırma Dergisi 1996; 6: (1–2), 67–70.

2. Alaçam E. Reproduksiyon Sun'i Tohumlama ve İnfertilite I. Baskı, Konya, Dizgievi,1994; 37–126.

3. Alaçam E, Şenünver A. Abortuslar In: Erol Alaçam, editör, Reproduksiyon Sun'i Tohumlama ve İnfertilite I. Baskı, Konya, Dizgievi, 1994, 151-160.

4. Alnimer Mufeed A, Lubbadeh Wadie F. Effect of progesterone (P4) intravaginal device (CIDR) to reduce embryonic loss and to synchronize return to oestrus of previously timed inseminated lactating dairy cows Anim Reprod Sci, 2008;107: 36–47.

5. Anderson KL, Neff-Davis CA, Davis LE, Bass VD. Pharmokinetics of flunixin meglumine in lactating cattle after single and multiple intramuscular and intravenous administration. Am J Vet Res, 1990; 51: 1464–1467.

6. Anderson KL. Nichtsteroidale antiphlogistika des Rindes zu behandlung der akuten koli-mastitis, Prakt Tierarzt, 1991; 72(2): 11-116.

7. Aslan S, Wesenauer G. İneklerde gebelik, embriyonik - fötal ölümler, ovaryum fonksiyonları ve uterus çapının ultrasonografi ile saptanması. Tr J of Veterinary and Animal Sciences 1999; 23 (3): 623-631.

8. Ball PJH, Peters AR. Fertilization, conception and pregnancy. In: Ball PJH, Peters AR, editors. Reproduction in Cattle. 3th ed. Cornwall: Blackwell Publishing Company; 2004. p. 56-67.

9. Baran V, Kamiloğlu A. Sığırlarda topallığın belirlenmesinde yararlanılan tanı kontrol çizelgeleri. Kafkas Üniv. Vet Fak Derg 1997; 3 (2): 247-249.

10. Barrett DC, Boyd H, Mihm M. Failure to conceive and embryonic loss. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, editors. Bovine Medicine: diseases and husbandry of cattle. 2th. Iowa: Blackwell Publishing Company; 2004; p. 5:52-76.

11. Baruselli P, Arques MO, Hoffmann EM, Costa Neto WP, Grandinetti, Bo G. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. Theriogenology, 2001; 55: 355 (abstr).

12. Bilby C, Bader JF, Salfen BE, Youngquist RS, Murphy CN, Garverick HA, Crooker BA, Lucy MC. Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. Theriogenology 1999; 51: 1285–1296.

13. Bineli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. Theriogenology, 2001; 56: 451–1463.

14. Brilling W. Rinderzucht im Wandel. Der Goldene Flug 2001; 12: 21-29.

15. Büyükuysal L. Nonsteroid antienflamatuar ilaçların etki mekanizmaları. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi, 1999; 45: Özel sayı 126-132.

16. Camevale EM, Ramirez RJ, Squires EL, Alvarenga MA, Vanderwall DK, McCue PM. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embriyo transfer. Theriogenology, 2006; 54: 965-979.

17. Curz LC, doValle ER, Kesler DJ. Effect of prostaglandin $F_2\alpha$ - and gonodotropin releasing hormone – induced luteinizing hormone release on ovulation and corpus luteum function of beef cows. Reproductive Science 1997; 49: 135-142.

18. Çelik HA, Aydın İ, Şendağ S, Dinç DA. Number of follicular waves and their effect on pregnancy rate in the cow. Reprod Dom Anim. 2005; 40: 87-92.

19. Çetin H, Bozkurt T, Kaygusuzoğlu E, Rışvanlı A, Öcal H. İneklerde tohumlama sonrası 4. günde uygulanan humon chorionic gonadotropin'in (hCG) gebelik oranı ve progesteron seviyelerine etkisi. FÜ Sağlık Bil Dergisi, 1999; 13(3): 385-390.

20. Çınar M. Prostaglandin $F_2\alpha$ ile senkronize sütçü ineklerde tohumlama sırasında ve/veya tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilite üzerine etkisi. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 2002; 12(2): 31–34.

21. Daeseleire E, Mortier L, Ruyck HD, Geerts N. Determination of flunixin and ketoprofen in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Analytica Chimica Acta, 2003; 488: 25–34.

22. Demetrio DGB, Santos RM, Demetrio CGB, Vascencolos JLM. Factors affecting conceptin rates following artificial incemination or embryo transfer in lactating holstein cows. J Dairy Sci, 2007; 90: 5073-5082.

23. Dieter F. Hitzestress bei Kühen. 2005; http://www.rkwsued.de/rinder/infos_news. html?focustype=news&focusid= 5692.

24. Diskin MG, Morris DG. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. Reprod Dom Anim 2008; 43 (Suppl. 2): 260–267.

25. Diskin MG, Murphy JJ, Sreenan JM. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. Anim Reprod Sci 2006; 96: 297–311.

26. Doğruer G, Sarıbay MK, Karaca F. Repeat Breeder sorunlu düvelerde fluniksin meglumin uygulamalarının gebelik oranları üzerine etkisi. FÜ Sağ Bil Derg, 2007; 21 (6): 263-268.

27. Dursun Ş, Bülbül B, Kırbaş M, Köse M, Ümütlü S Düvelerde embriyo transferi öncesi funixin meglumin uygulamasın gebelik oan üzerine etkisi. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi: 118, 25-28 Ekim 2007: Manavgat/ Antalya.

28. Erdem H. İneklerde real-time ultrasonografi ile embriyonik ölümlerin insidansının belirlenmesi. Doktora Tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997, Konya.

29. Erdem H, Tekeli T, Yenice M. Holtein ırkı düvelerde tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilite üzerine etkisi. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 2002; 12: 50-57.

30. Erdem H. Güzeloğlu A. Effect of meloxicam treatment drung early pregnancy in holstein heifers. Report dom Anim doi 2008; 10.1111/j.1439-0531.

31. Feist M. Untersuchungen zum schmerzausdrucksverhalten bei Küchen nach Klauen operationen. Doktor würde de, Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 2004, Münich.

32. Frey HH, Schulz R, Werner E. Pharmakologie des zentralen nervensystems. Alınmıştır: Lehrbuch der Farmakologie und Toxikologie für die veterinärmedizin, Stuttgart, Ferdinant Enke Verlag, 1996; 162-163.

33. Garcia-Ispierto I, Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz JL, Nogareda C, Lopez-Bejar M, De Rensis F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. Theriogenology, 2006; 65: 799-807.

34. Garcia-Ispierto I, Lopez-Gatius F, Bech-Sabat G, Santolaria P, Yaniz J, Nogareda C, De Rensis F, Lopez-Bejar M. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. Theriogenology, 2009; 67 (8): 1379-1385, Abstract.

35. Geary T. Management strategies to reduce embriyonic loss. The range beef cow symposium proceding, 2005; 69-78.

36. Gökçen H. Reproduktif Endokronoloji. In Erol Alaçam editör, Theriogonoloji I. Baskı, Nurol Matbacılık, 1990; 25–30, Konya.

37. Grunert E. Sexualzyklus. In: Grunert E ve Kruif A, editors. Fertilitatsstörungen beim weiblichen Rind, 3. Auflage, Berlin, Parey Buchverlag, 1999: 1-11.

38. Günay A, Günay Ü. Erken laktasyon dönemindeki ineklere akut mastitisin reprodüktif performans üzerine etkileri. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi: 56, 25-28 Ekim 2007 Manavgat/ Antalya.

39. Güzeloğlu A, Michel F, Thatcher WW. Differential effects of interferon-tau on the prostaglandin synthetic pathway in bowine endometrial cells treated with phorbol ester. J Dairy Sci, 2004; 87: 2032–2041.

40. Güzeloğlu A. İneklerde gebeliğin maternal kabulü sürecinde anti-luteolizisin moleküler mekanizması. Vet Bil Derg, 2006; 22: 1–2: 83–88.

41. Güzeloğlu A, Erdem H, Sarıbay MK, Thatcher WW, Tekeli T. Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. Vet Rec, 2007; 160: 404–406.

42. Hansen PJ. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. J Anim Sci, 2002; 80: 33–44.

43. Heres L, Dilemen SJ, van Erdenburg FJCM. Validation of a new method of visual oestrus detection on the farm. Vet Quart 2000; 22(1): 50-55.

44. Howard JM, Manzo R, Dalton JC, Frago F, Ahmedzadeh A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. Anim Reprod Sci, 2006; 95: 3-4, 224-233.

45. İzgür H. Reprodüktif Hormonların Klinik Kullanımları. In:Erol Alaçam. Editör, Theriogenoloji I. Baskı, Nurol Matbaacılık, 1990; 39-42, Konya.

46. Janowitz U. Tierbedingte Störungen. Euro Surveill 2009; [cited 2009 Jan 19] Available from http://members.tripod.com/~starthof/felix/Tier.html.

47. John HK. Reviev of reproductive hormones for dairy cows. Veterinary Medicine Extension University of California, Davis CA 1999; 93274.

48. Kaçar C, Aslan S İneklerde geç postpartum dönemde PRID ve CIDR-B ile $PGF_{2\alpha}$ (İliren®) kombinasyonunun fertilite parametrelerine etkisi. AÜ Vet Fak Derg, 2004; 51:19-23.

49. Kastelic JP. Noninfectious embryonic loss in cattle. Vet Med, 1994; 6: 584-589.

50. Kırbaş M, Bülbül B, Köse M, Dursun Ş, Çolak M. İneklerde embriyo transferinde 13. gün GnRH ya da 13-20. günler arasında progesteron uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisi. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi: 138, 25-28 Ekim 2007: Manavgat/ Antalya.

51. Kneer W, Lehnhardt K, Seidel EJ, Rother M, Mazgareanu M. Innovative lokale Schmerztherapie mit Diractin® (Ketoprofen in Transfersom®) zur Behandlung der Kniegelenksarthrose. Orthop. Praxis. 2008; 43: 649-654.

52. Köse M. İsviçre esmeri düve ve laktasyonda olmayan ineklerde ovaryum fonksiyonlarının östrüs senkronizasyonları ve gebelik oranı üzerine etkisi. Doktora Tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010, Konya.

53. Küplülü Ş, Salmanoğlu R. Puerperal dönem ve sorunları. In: Erol Alaçam. Editör Reproduksiyon Sun'i Tohumlama ve İnfertilite I. Baskı, Dizgievi, 1994; 235-247, Konya.

54. Lee Je-In, Kim Ill-Hwa. Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects onreproductive performance and the economic impact. J Vet Sci 2007; 8(3): 283–288.

55. Lees P, Landoni FM, Gıraudel J, Toutaın PL. Pharmocodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. J Vet Pharmacol Therap, 2004; 27: 479–490.

56. Lemaster JW, Seals RC, Hopkins FM, Schrick FN. Effects of administration of oxytocin on embryonic survival in progestogen supplemented cattle. Prostaglandins Other Lipid Mediators, 1999; 57: 259–268.

57. Leonhard D. Mineralstoffversorgung und Fruchtbarkeit bei der Milchkuh. Euro Surveill 2009; [cited 2009 Sep 12] Available from. http://www.blattin.de/Service/Tipps/pdf/Fruchtbarkeit.pdf.

58. Lucy MC. ADSA Foundation scholar award reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?. J Dairy Sci 2001; 84: 1277–1293.

59. Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. J Reprod Fertil Suppl, 1999; 54: 317–328.

60. Mann GE. Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine. 22. World Buiatrics Congress, Abstract Book: p. 300-6, 18-23 August 2002 Hannover.

61. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ The use of GnRH or estradiol lactitate fixet time incemination in an MGA based synchronization regimen in beef catle. Anim Reprod Sci, 2001;7: 221-229.

62. McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. Physiol Rev, 1999; 79: 263-324.

63. Meyer MD, Hansen PJ, Thatcher WW, Drost M, Badinga L, Roberts RM, Li , Ott TL, Bazer FW. Extention of corpus luteum life span and reduction of uterine secretion of prostaglandin $F_2\alpha$ of cows in response to recombinant interferon-tau. J Dairy Sci, 1995;78: 1921–1931.

64. Moura MT, Marques MO, Frare J, Madureira EH, Bo GA, Baruselli PS. Sincronizacb da ovula@o corn Crest& e CIDR@ para inovulacsI0 de embrioes bovinos em tempo fixo. 4 Simposio. International de Reproduction Animal, 2001; 269 (abstr).

65. Noakes DEFertility and Obstetrics. Butler and Taner Ltd, 1986; London.

66. O'Connor ML, Senger PL. Estrus detection In Current Therapy in Large Animal. Theriogenology Ed. RS Youngquist, 1997; Missouri.

67. Odensvik K, Gustafsson H, Kindahl H. The effect on luteolysis by intensive oral administration in heifers. Anim Reprod Sci, 1998; 50: 35–44.

68. Özbek H, Öztürk A. Antienflamatuvar etkinliğin ölçülmesinde kullanılan yöntemler. Van Tıp Dergisi, 2003; 10: 23-28.

69. Özkoca A. Çiftlik Hayvanlarında Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama, İ. Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları, 1984; 275–284, İstanbul.

70. Paksoy Z, Kalkan C. The effect of GnRH and used during and after artificial insemination on blood serum progesteron levels and pregnancy rate in cows. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2010; 16(3): 371-375.

71. Rabaglino MB, Risco CA, Thatcher MJ, Lima F, Santos JEP, Thatcher WW. Use of a five-day progesterone-based timed AI protocol to determine if flunixin meglumine improves pregnancy per timed AI in dairy heifers. Theriogenology, 2010; 73: 1311-1318.

72. Rhinehart JD, Starbuck-Clemmer MJ, Flores JA, Milvae RA, Yao J, Poole DH, Inskeep EK. Low peripheral progesterone and late embryonic/early fetal loss in suckled beef and lactating dairy cows. Theriogenology 2009; 71: 480–490.

73. Romano JE, ThompsonJA, Kraemer DC, Westhusin ME, Rorrest DW, Tomaszweski ME. Early pregnency diagnosis by palpation per rectum: Influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. Theriogenology. 2007; 67: 486-493.

74. Rossow N. Progesteron und frühembryonaler. Fruchttod . Euro Surveill 2009; [cited 2009 Jan 12] Available from (2006) http://www.portal-rind.de/index.php?name=News&file=article&sid= 107.

75. Sabuncu A, Kaya H, Tek Ç. Doğum sonrası anöstrüs gösteren süt ineklerinde ovaryum aktivitelerinin PGF2 alfa ve GnRH ile uyarılması. İÜ Veteriner Fakültesi Dergisi, 1999; 29(2): 277-284.

76. Sager M. Schmerzprophylaxe und thrapie bei kleinen und grossen haustieren Tierärztlichen Praxis. 1993;.21(2): 87-94.

77. Santos JEP, Juchem SO, Cerri RLA, Galva KN, Chebel RC, Thatcher WW, Dei CS, Bilby CR. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. J Dairy Sci, 2001; 87: 868–881.

78. Santos JEB, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Anim Reprod Sci. 2004; 82-83: 513-35.

79. Santos JEP, Thatcher WW. Carectarization of early embryonic death and prevention of pregnancy wastage. Published, 09 Ocak 2006.

80. Sartori R. Fertilization and embryonic mortality in cattle. Acta Scientiae Veterinariae. 2004; 32: 35-50.

81. Sartori R, Gümen A, Guenther JN, Souza AH, Caraviello DZ, Wiltbank MC. Comparision of artificial insemination versus embryo transfer in lactating dairy cows. Theriogenology, 2006; 65: 1311-1321.

82. Scenna FN, Hockett ME, Towns TM, SaxtonAM, Rohrbach NR, Wehrman ME, Schrick FN. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. Prostaglandins Other Lipid Mediators, 2005; 78: 38–45.

83. Schichtl V. Einfluss der Kreuzung von Deutschen Holsteins und Deutschem Fleckvieh auf milchleistung, milchqualität und allgemeine gesundheitsmerkmale in einem automatischen Melksystem. Aus dem Institut für Tierzucht Lehrstuhl für Tierzucht und Allgemeine Landwirtschaftslehre der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, 2007; München.

84. Schulz C. Auswirkung einer Isofluran Inhalations narkose auf den Kastrationsstress und die post operativen Kastrationsschmerzen von Ferkel. Doktorwürde der Tierärzlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, 2007; München.

86. Seidel GE, Seidel SM. Training Manual for Embryo Transfer İn Cattle. Food And Agriculture Organization Of De United Nations. 1991; 49, Rome.FAO.

87. Serrano B, López-Gatius F, Hunter RHF, Santolaria P, Ispierto Garcia I, Bech-Sabat G, de Sausa NM, Beckers JF, Yániz JL. Anomalous pregnancies during late embryonic ⁄ early foetal period in high producing dairy cows. Reprod Dom Anim, 2008; 10.1111: 1439-1444.

88. Shore LS, Rios C, Marcus S, Bernstein M, Shemesh M. Relationship between peripheral estrogen concentrations at incemination and subsequent fetal loss in catle. Theriogenology, 1998; 50: 101-107.

89. Silva JC, Costa LP, Silva JR. Plasma progesteron profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy catle. Theriogenology, 2002; 58: 51–59.

90. Smith MF, Nix, KJ, Kraemer DC, Amoss MS, Herron MA, Wiltbank JN. Fertilization rate and early embryonic loss in Brahman crossbred heifers. J Anim Sci 1983; 54: 1005-1011.

91. Smith AK, Grimmer SP. Pregnancy rates for grade 2 embryos following administration os synthetic GnRH at the time of transfer in embryo-recipient cattle. Theriogenology, 2002; 57, 2083–2091.

92. Sookvanichsilp N, Pulbutr P. Anti-implantation effects of indomethacin and celecoxib in rats. Contraception, 2002; 65: 373-378.

93. Sönmez M, Demirci E, Türk G, Gür S. Effect of season on some fertility parameters of dairy and beef cows in Elazığ province. Turk J Vet Anim Sci, 2005; 29: 821-828.

94. Sönmez M, Gür S. $PGF_{2\alpha}$ ile senkronize edilen düvelerde tohumlama sonrası uygulanan GnRH'nın fertilite üzerine etkisi. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi: 185. 25-28 Ekim 2007; Manavgat/ Antalya.

95. Sreenan JM, Diskin MG. The extent and timing of embryonic mortality in the cow. In "Embryonic Mortality in Farm Animals, Ed Sreenan JM and Diskin MG, Dordrechts Mortinius Nijhoff, 1986; 1–12: Luxembourg.

96. Stafford KJ, Mellor DJ. Dehorning and disbudding distress and its alleviation in calves. Vet. J 2005; 169: 337–349.

97. Şanlı Y, Kaya S. Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri, , I. Baskı, Ankara Medisan, 1991; 206–380.

98. Tek Ç, Sabuncu A, Baran A, Evecen M. Postpartum sütçü ineklerde GnRH+$PGF_2\alpha$ ve hCG+$PGF_2\alpha$ uygulamalarının, östrüs senkronizasyonu ve fertilite üzerine etkileri. Turk J Vet Anim Sci, 2003; 27: 125-131.

99. Thatcher WW, Hansen PJ. Systems to alter embryo survival in: Von Horn HH, Wilcox CJ , Large Dairy Herd Management, Champaing, Am Dairy Sci,1992; 16-30.

100. Thatcher WW, Güzeloğlu A, Bilby TR. Early embryonic mortality in modern dairy cows: causes, consequences and remedies. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 2006a; 75: 106-113.

101. Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JEP. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. Theriogenology, 2006b; 65: 30–44.

102. Topaloğlu N, Güneş H. İngilteredeki siyah alaca sığırların döl verimi özellikleri üzerine araştırmalar. İÜ Veteriner Fakültesi Dergisi, 2005; 31(1): 99-118.

103. Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. Vet J, 2006; 171: 206–228.

104. White FJ, Wettemann RP, Looper ML, Prado TM, Morgan GL. Seasonal effects on estrous behavior and time ovulation in nonlactating beef cows. J Anim Sci, 2002; 80: 3053-3059.

105. Zonturlu AK, Çetin H, Atlı MO Anöstrüs semptomu gösteren ineklerde PRID uygulamalarının çeşitli fertilite parametrelerine etkisi. AÜ Vet Fak Derg, 2005; 52: 161-163.

10. ÖZGEÇMİŞ

Yozgat İli, Saraykent İlçesi'ne bağlı Çiçekli Köyü'nde 1970 yılında doğdu. İlkokulu Çiçekli Köyü'nde bitirdi. Orta ve lise öğrenimini Tokat ve Konya'da tamamladı. Konya İmam Hatip Lisesi'nde 1990 yılında tamamladı. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1996 yılında mezun oldu. Ağustos 1996-Temmuz 1998 yılları arasında Konya İli Karapınar İlçesi Çiğil Köyü'ne İmam Hatip olarak çalıştı. Ağustos 1998'de Sivas İli Kangal İlçesi Tarım İlçe Müdürlüğü'ne Veteriner Hekim olarak atandı. Temmuz 1999–Kasım 2000 yılları arasında Veteriner Hakim Asteğmen olarak askerlik görevini yaptı. Temmuz 2003 yılında Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne Veteriner Hekim olarak atandı. Halen Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsünde Hayvan Islahı ve Biyoteknoloji Bölümü ve Küçükbaş Hayvan Yetiştirme Bölümü Başkanlıklarını yürütmektedir. Evli ve üç çocuk babasıdır. İyi derecede Almanca, orta derecede İngilizce ve Arapça bilmektedir.