

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**SÜTÇÜ İNEKLERDE OVSYNCH PROTOKOLÜNDE
İKİ FARKLI GNRH ANALOGUNUN EPİDURAL VE
İNTRAMUSKULER UYGULAMALARININ GEBELİK ORANI
ÜZERİNE ETKİSİ**

Proje No: TSA_12-4057

Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Yrd. Doç. Dr. Murat ABAY
Veteriner Fakültesi/Veteriner Doğum ve Jinekolojisi

Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK, Prof. Dr. Kutlay GÜRBULAK,
Yrd. Doç. Dr. Esra CANOĞLU
Veteriner Fakültesi/Veteriner Doğum ve Jinekolojisi Anabilim Dalı
Doç. Dr. Aytaç AKÇAY
Veteriner Fakültesi/ Biyometri Anabilim Dalı

Kasım 2017

KAYSERİ

TEŐEKKÜR

Bu alıőma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiőtir. Proje Numarası: TSA-12-4057.

Ayrıca çalıőmanın yürütülebilmesi için gerekli hayvan materyalini sağlayan PLATO Entegre Hayvancılık ve Tarım San. Tic. A.Ő.'ne ve çalışma boyunca desteklerini esirgemeyen iőletmenin Hayvan Sağlığı bölümü çalıőanlarına en içten teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	6
1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM	7
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. PUBERTAS	7
2.2. SEKSÜEL SIKLUSUN HORMONAL MEKANİZMASI	8
2.3. SEKSÜEL SIKLUS	9
2.3.1. Proöstrus (19–20. gün)	9
2.3.2. Östrus (0. gün)	10
2.3.3. Metaöstrus (1–3. gün)	10
2.3.4. Diöstrus (4-18. gün)	11
2.4. FOLLİKÜLER GELİŞİM	12
2.4.1. Dolaşımdaki LH Konsantrasyonu ve LH Salınımının Düzenlenmesi	12
2.4.2. Dolaşımdaki FSH Konsantrasyonu ve FSH Salınımının Düzenlenmesi	14
2.4.3. Dolaşımdaki Progesteron Konsantrasyon	15
2.4.4. Dolaşımdaki Östradiol 17 β Konsantrasyonu	15
2.4.5. İneklerde Folliküler Dinamikler	16
2.5. ÖSTRUS SENKRONİZASYONU	17
2.5.1. Progesteron Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyonu	17
2.5.2. Prostaglandin Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyonu	20
2.6. OVULASYON SENKRONİZASYONU	21
2.6.1. Ovsynch	22
2.6.2. Cosynch	26
2.6.3. Heatsynch	
2.6.4. Selectsynch	28
2.6.5. Presynch	29
2.6.5.1. Ovsynch Protokolü ile Uygulanması (Presynch-Ovsynch Kombinasyonu)	30
2.6.5.2. Cosynch Protokolü ile Uygulanması (Presynch-Cosynch Kombinasyonu)	31
2.6.6. Hedef Çiftleştirme Protokolü (Targeted Breeding / TB)	31
2.6.6.1. Modifiye Hedef Çiftleştirme Protokolü (Modify Targeted Breeding / MTB)	31
2.6.7. Progesteron Kullanılan Ovulasyon Senkronizasyon Programları	32
2.6.8. Resenkronizasyon	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Hayvan Materyali	33
3.2. Hayvanların Gruplara Ayrılması	33
3.3. Hayvanlara Ovulasyon Senkronizasyon Yönteminin Uygulanması	33
3.4. Hayvanların Tohumlanması	34
3.5. Ultrasonografik Kontrol Düzeni	34
BULGULAR	35
TARTIŞMA VE SONUÇ	38
KAYNAKLAR	41

ÖZET

Bu çalışmada, sütçü ineklerde uygulanan Ovsynch protokolünde uzun ve kısa etkili GnRH analoglarının intramuskuler ve epidural enjeksiyonlarının gebelik oranı üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

Araştırmada yaşları en az 3-4 yaşlı, postpartum (PP) 50.günde olan olan toplam 406 adet Holştayn ırkı inek kullanıldı. Çalışmaya alınan inekler dört gruba ayrıldı (Grup 1A, 1B, 2A ve 2B) ve tüm hayvanlara Ovsynch protokolü uygulandı. Grup 1B ve 2B’de uygulanan Ovsynch protokolünde GnRH analogu olarak Buserelin asetat (2,5 ml, Receptal, Intervet, Türkiye), Grup 1A ve 2A’da ise Lesirelin asetat (2,5 ml, Dalmarelin, Vetaş, Türkiye), kullanıldı. Tüm hayvanlar son gonadotropin releasing hormon (GnRH) uygulamasını takiben 20 saat sonra tohumlandı. Çalışma boyunca hayvanlara birinci ve ikinci GnRH uygulamasında, Prostaglandin (PG) F₂α enjeksiyonu, suni tohumlama (ST) aşamasında ve tohumlamadan 3 gün sonra transrektal ultrasonografik muayene yapıldı ve progesteron seviyelerinin değerlendirilmesi için kan örnekleri alındı. Gebelik muayenesi tohumlama sonrası 30 ve 60. günde transrektal ultrasonografi ile yapıldı.

Çalışma sonunda Çalışma gruplarında (Grup 1A, 1B, 2A ve 2B) elde edilen östrüs oranları sırasıyla %92,2, %74, %87,1 ve %88,1; gebelik oranları sırasıyla %39,2, %36,3, %36,6 ve %33,7; embriyonik ölüm (EÖ) oranları sırasıyla %2,9, %2,9, %3,0 ve %2,0 olarak belirlendi.

Sonuç olarak, ineklerde uygulanan Ovsynch protokolünde kullanılan GnRH analoglarının epidural yolla uygulanması gebelik oranlarında sayısal olarak bir artış sağlasa da; epidural enjeksiyonun sahada uygulanabilirliği düşünüldüğünde yeterli değere ulaşamadığı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Inek, Epidural enjeksiyon, GnRH, Ovsynch

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the effect of intramuscular and epidural injections of long and short acting GnRH analogues on the pregnancy rate in the Ovsynch procedure in dairy cows.

In this research, 406 Holstein breed cows which were at least 3-4 years old and postpartum 50 days were used. The cows were divided into four groups and all animals were subjected to the Ovsynch procedure (Groups 1A, 1B, 2A and 2B). Buserelin acetate (2.5 ml, Receptal, Intervet, Turkey) was used as GnRH analogue in the Ovsynch protocol applied in Groups 1B and 2B, and Lesirelin acetate (2.5 ml Dalmarelin, Vetaş, Turkey) was used in Groups 1A and 2A. All animals were inseminated rectovaginally 20 hours after the second GnRH administration. During the study, transrectal ultrasonographic examination was performed on the first and second GnRH administration, PGF₂ α injection, artificial insemination (AI) and 3 days after insemination, and blood samples will be collected throughout the process to evaluate the progesterone levels. Pregnancy was examined by transrectal ultrasonography at 30 and 60 days after artificial insemination

At the end of the study, oestrus ratios obtained in Group 1A, 1B, 2A and 2B were 92.2%, 74%, 87.1% and 88.1%, respectively; pregnancy rates were 39.2%, 36.3%, 36.6% and 33.7% respectively; embryonic mortality rates were 2.9%, 2.9%, 3.0% and 2.0%, respectively.

In conclusion, although epidural administration of GnRH analogues used in Ovsynch protocol in cows increases numerically in pregnancy rates, it was concluded that the epidural injection would not see enough value when considering applicability in the field.

Key Words: Cow, Epidural injection, GnRH, Ovsynch

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

İneklerde uygun reproduktif verimliliği sağlamada östrüs tespiti ve hayvanın uygun zamanda tohumlanması kritik öneme sahiptir. Östrüs tespit oranı reproduktif performans üzerine doğrudan etki gösterir. Yetersiz ve yanlış tespit, gebelik başına tohumlama sayısını, boş geçen günleri ve buzağılama aralığını artırır. Boş geçen günler ile östrüs tespitindeki yanlışlara bağlı kayıplar arasında %92 oranında korelasyon vardır. Bu sebeple östrüs tespiti ve hayvanların uygun zamanda tohumlamasına yardımcı olabilen senkronizasyon yöntemleri üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Sığırlarda ovaryumlar, ovaryan ve hipogastrik sinir ağında yer alan sempatik sinirler tarafından innerve edildiğinden GnRH analoglarının epidural yolla uygulanması ovaryumlar üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla sunulan projede GnRH analoglarının intramusküler ve epidural yol ile uygulanmasının Ovsynch prosedüründe gebelik oranları üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PUBERTAS

Evcil hayvanlarda ovaryumun siklik faaliyetleri ancak türe ait belli bir yaşa gelince başlar ve değişik sürelerde düzene girer. Bu cinsel olgunluğa erişmeye ergenlik veya pubertas ismi verilir. Hayvanlarda oogenesis embriyonal hayatta başlar, doğumdan sonra pubertasa kadar dinlenmemedir. Pubertasla birlikte primer folliküller gelişerek ovulasyon şekillenir, böylece oogenezin yarım kalan kısmı tamamlanır.

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

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

2.2. SEKSÜEL SIKLUSUN HORMONAL MEKANİZMASI

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

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

Eğer gebelik şekillenmemişse siklusun 16-18. günlerinde, uterustan salgılanan prostaglandin (PG) F_{2α} ovaryum arterlerine ve oradan da ovaryumlara gelerek CL'un hızlı regresyonuna sebep olur. Anatomik olarak uterus venaları ve ovaryum arterleri birlikte seyrederek. Uterustan salınan PGF_{2α} evcil hayvanların birçoğunda luteolizin olarak kabul edilir (1).

Son yıllarda PGF_{2α} salgılanmasında, ovaryum kökenli oksitosinin rol oynadığı bildirilmektedir. Luteal regresyon sonucu P₄ sekresyonunda ani düşme, hipotalamus ve hipofiz üzerindeki negatif feedback etkiyi kaldırır ve GnRH tekrar salınmaya başlar. Gonadotropin releasing hormon, FSH ve LH salgısını uyararak, folliküler gelişme tekrar

başlatılır. Eğer kornu uteride canlı bir embriyo varsa, lokal luteotrofik etkiyle aynı taraftaki CL'u kontrol eder (1).

2.3. SEKSÜEL SIKLUS

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

2.3.1. Proöstrus (19–20. gün)

Östrustan önceki dönem olup, süresi iki veya üç gündür. Ovaryum aktivitesindeki belirgin bir artışla karakterizedir. Bu dönem hipofizden salgılanan FSH etkisiyle hızlı bir folliküler gelişmenin olduğu ve önceki siklustan kalan korpus luteum'un (CL) regrese olduğu dönemdir. Korpus luteumun regrese olması nedeniyle P₄'ün hipotalamus üzerine yaptığı negatif feedback etkisi ortadan kalkar ve GnRH'nın yeniden salgılanması uyarılır. GnRH'nın etkisi ile hipofiz ön lobundan FSH ve LH salgılanır (3, 4). Bu dönemde artan FSH ve LH'nın etkisi ile hızlı bir follikülogenezis görülür, FSH etkisi altındaki bir follikül preovulatorik graaf follikülüne dönüşür ve bu zaman içerisinde LH salınımları sıklaşır. Gelişen folliküllerden salgılanan östrojenlerin etkisiyle hayvanda bir takım davranış değişiklikleri olur. Proöstrustaki inekler diğerlerinin üzerine atlama eğilimi gösterirler. Uterus büyümüş, konjesyone ve ödemlidir. Serviksin portio vaginalis'i gevşemiş ve hiperemiktir. Ovaryumlar üzerindeki folliküler gelişim rektal palpasyon ve ultrasonografi ile belirlenebilir (1, 2.).

Folliküler büyüme yalnızca FSH ile stimüle edilebilmesine rağmen, in vitro olarak östradiolun maksimum biyosentezinin FSH ve LH kombinasyonu ile elde edildiği gösterilmiştir (5). Lüteinleştirici hormon teka hücrelerine bağlanarak testesteron ve diğer steroid androjenlerin üretimini stimüle eder. FSH ise granuloza hücrelerine bağlanarak teka hücrelerinde üretilen androjenlerin östradiole dönüşümünü stimüle eder (6). Follikülün östradiol üretme yeteneği, kendi geleceğini belirler ve bu yüzden LH follikülün olgunlaşmasında, ovulasyonunda veya atreziye olmasında kritik bir rol oynar (7). Östrus öncesi dönemde follikülün hacmi ve içerisindeki sıvı miktarı artar. Olgun bir graaf follikülünün sıvısı ortalama 2-3 ml'dir ve her 1 ml follikül sıvısı yaklaşık 0.5-0.9 ug östradiol içermektedir. Follikülün büyümesi ile paralel olarak, 2-7 pg/ml olan östradiolun plazma seviyeleri artarak östrustan 2-3 gün önce hafif bir dalgalanma yapar. Kanda P₄ oranlarının düşük olduğu folliküler dönemde, östradiolun artan

fizyolojik konsantrasyonları, gonadotropin sekresyonu ve özellikle de LH üzerinde pozitif etki yaparak LH'nın preovulator yükselişini indükler (6, 8, 9). Lyimo ve ark. (9), belirli bir östradiol eşliğine ulaşıldıktan sonra, ovulasyonla sonuçlanabilen bir LH pikinin meydana geldiğini bildirmişlerdir.

2.3.2. Östrus (0. gün)

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

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

2.3.3. Metaöstrus (1-3. gün)

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

gün sonra ve daha çok düvelerde görülür. Suböstrustaki hayvanların seksüel aktivitelerinin dışarıdan tanınabilen nadir semptomlarından biridir (13).

Ovulasyonun meydana gelmesinde en fazla etkinin LH tarafından oluşturulduğu ve olgun bir graaf follikülünde ovulasyonun görülebilmesi için hipofiz ön lobu tarafından LH salınımının gerekli olduğu yaygın olarak kabul görmektedir. Ovulasyondan sonra yine LH etkisiyle ovulasyon yerindeki luteal hücreler CL'ü geliştirir. Korpus luteum giderek artan miktarlarda P₄ salgılar ve ovulasyondan sonraki 3-4. günlerde yaklaşık 1 ng/ml P₄ üretir (13). Bu dönemde enjekte edilecek PGF₂α etkisizdir. Bunun sebebi olarak ya PGF₂α reseptörlerinin LH tarafından işgal edildiği ya da PGF₂α'nın genç luteal hücrelere etki etmemesinin olduğu düşünülmektedir. Bu dönemde östrojen ve P₄ miktarı düşüktür. Korpus luteum gelişir, P₄ sentezlemeye başlar ve metaöstrus sona erer. İneklerde bu dönem 3-4 gün sürer (1).

2.3.4. Diöstrus (4-18. gün)

Korpus luteumun aktif olarak P₄ sentezlediği, siklusun en uzun dönemidir. Diöstrus süresince P₄ düzeyi yüksektir ve fölliküler gelişme baskılanır. Ayrıca P₄'ün etkisiyle endometrium bezleri hipertorfiye olarak salgı üretirler. Buna uterus sütü denir. Uterus sütü implantasyon öncesi embriyonun yaşama ve beslenmesi için önemlidir.

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

Korpus luteum tarafından salgılanan P₄, GnRH üzerine negatif feedback etki yaparak LH sekresyonunu baskılar (13) ve bunun sonucunda LH salınım frekansı folliküler fazda her saatte bir iken luteal fazda 2-4 saatte bire düşer. Dişi sığırlarda bir siklus boyunca 2 veya 3 kez meydana gelen FSH salınımları ile eş zamanlı olarak dalga benzeri folliküler gelişim düzenleri görülür ve 2 veya 3 dominant follikül şekillenir (7). Diöstrus döneminde dominant follikül içerisindeki östradiol miktarının artması bazen dişilerin açık östrus semptomları göstermesine neden olmakta ve bu durum parasiklik östrus veya yalancı östrus olarak isimlendirilmektedir (13). Dominant follikül östrus semptomları oluşturacak düzeyde östradiol üretecek kadar büyüebilmesine rağmen luteal faz esnasındaki düşük LH salınım sıklığı nedeniyle ovule olamamakta ve atreziye olmaktadır. Dominant follikül baskın halde iken FSH salınımını sınırlamakta ve ikincil folliküllerin gelişimini ve yeni bir folliküler dalganın ortaya çıkışını önlemektedir (7, 14, 17, 18). Dominant follikülün FSH üzerindeki baskılayıcı etkisinin ortadan kalkmasının ardından FSH seviyesinde bir artış görülmekte, bu da yeni bir folliküler dalganın gelişimini başlatmaktadır. Bu nedenle CL'un yaşam süresi, östrus siklusunun süresini ve bir sonraki ovulasyon zamanını belirlemede anahtar role sahiptir (17).

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

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

2.4. FOLLİKÜLER GELİŞİM

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

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

2.4.1. Dolaşımdaki LH Konsantrasyonu ve LH Salınımının Düzenlenmesi

İneklerde östrus siklusu boyunca LH konsantrasyonundaki değişiklikler ortaya konulmuştur. Luteal fazın orta ve geç döneminde P_4 artışıyla birlikte LH dalgalarının frekansı azalmış ancak salınım konsantrasyonu yükselmiştir, öyle ki follikülden salgılanan 17β -östradiol

konsantrasyonunun arttığı folliküler ve erken luteal fazda dalgaların frekansı artarken salınım konsantrasyonu düşük bulunmuştur (20).

Luteal fazın ortasında P₄ dalgaları LH dalgalarından daha siktir. Bu faz boyunca, LH dalgaları FSH dalgalarının yardımıyla salınır. Ancak bazı bildirilerde ineklerde LH'nin pulsatile salınımı ve P₄ konsantrasyonu arasında görünür bir ilişki yoktur (21). Peters et al. (22) siklusun 2-12. günlerinde CL'dan P₄'ün üretimi için LH dalgalarının uyarımının gerektiğini, siklusun 12-17. günlerinde ise gerekli olmadığını bildirmişlerdir. Bundan başka LH dalgaları, LH pikinden 48 saat öncesi ile siklusun 7. günü arasında P₄ üretimi ve CL gelişimi için gereklidir (20).

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

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

İneklerde follikülden östradiol 17 β salınması, LH dalgalarının frekansı ve dolaşımdaki P₄ konsantrasyonu arasında karışık bir ilişki vardır. Ovaryektomili ineklerde LH frekansında ve dolaşımdaki LH konsantrasyonunda bir artış görülür. Luteal fazın ortası ve sonunda CL'dan salınan P₄ miktarı arttığında, erken luteal dönemle karşılaştırıldığında LH dalgalarının sıklığı ve östrus siklusunun diğer dönemleri ile karşılaştırıldığında östradiol 17 β konsantrasyonu da göreceli olarak düşer (23). Ovaryektomili ineklere P₄ uygulandığında LH salınımı baskılanır. Luteal fazda P₄ konsantrasyonundaki değişimler LH frekansında değişikliklere neden olur. Progesteronun LH sekresyonu üzerindeki bu inhibitör etkisinin bir sonucu olarak luteal faz boyunca ovulatör follikülün olgunlaşmasının son aşaması baskılanır. Progesteronun yokluğunda östradiol 17 β 'nin fizyolojik konsantrasyonun uygulanması LH konsantrasyonunu ve dalga büyüklüğünü artırır. Östradiol 17 β 'nin yüksek dozda uygulanmasının bifazik etkisi vardır ve başlangıçta LH salınımını birkaç saat için inhibe eder. Progesteron ve östradiol

17 β 'nin kombinasyonları LH salınımının inhibasyonunda bu iki hormonun tek başına uygulanmalarından daha etkilidir. Ovaryan steroidler, P₄ ve östradiol 17 β ineklerde östrus siklusu boyunca LH salınımının düzenlenmesinde birlikte veya bağımsız olarak görev alırlar (20).

2.4.2. Dolaşımdaki FSH Konsantrasyonu ve FSH Salınımının Düzenlenmesi

Folikül stimüle edici hormonun dolaşımdaki konsantrasyonu ve ovaryumdaki folliküler gelişme ve büyüme arasında zamansal ilişki tam olarak anlaşılmasına rağmen, FSH ineklerde folliküler gelişim ve büyümesinde önemli bir role sahiptir (20).

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

İneklerde FSH salınımının en güçlü inhibitörünün östradiol 17 β olduğu düşünülmektedir. Ovariectomize edilmiş düvelere fizyolojik konsantrasyondan fazla östradiol 17 β uygulandığında FSH salınımı azalmıştır. Ovariectomize düvelere P₄ ve östradiol 17 β 'nin luteal faz konsantrasyonları kombine olarak uygulandığında FSH konsantrasyonları luteal faz ile benzer bulunmuştur. Östradiol ve FSH konsantrasyonları arasındaki negatif korelasyon folliküler fazda da incelenmiştir (24).

Ovariectomili veya hiç çiftleşmemiş düvelerde folliküler sıvının uygulanması da FSH konsantrasyonunu baskılar. Bu etkiler muhtemelen adenohipofizden FSH salınım ve sentezini özellikle inhibe eden ve follikülün granuloza hücrelerinden salınan bir gonadal glikoprotein, inhibine dayandırılabilir (25). Beard et al. (25) oldukça saf inhibinin ovariectomize düvelerde FSH salınımını baskılayabildiğini göstermiştir. Düvelerin, sığır α inhibin'in sentetik peptidlerine ve koyun rekombinant α inhibine karşı aktif immunizasyonun ovulasyonların sayısını arttırdığı bulunmuştur (26, 27). Bu çalışmalar inhibinin çiftleşmemiş düvelerde FSH salınımının düzenlenmesiyle ilgili olduğunu göstermiştir.

İnhibin ve östradiol 17 β 'nin FSH salınımının kontrolüyle ilgili olduğu bilinmesine rağmen, FSH sekresyonu üzerinde inhibin'in kısa vadeli etkilerini değerlendirmek için inhibin'in pasif immunonötralizasyonu üzerine son yıllarda yapılan çalışmalara kadar bunun önemi çok açık değildi. İneklerde luteal fazın ortasında inhibin'in pasif immunonötralizasyonu FSH

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

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

2.4.3. Dolaşımdaki Progesteron Konsantrasyonu

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

2.4.4. Dolaşımdaki Östradiol 17 β Konsantrasyonu

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

Siklusun erken ve orta luteal fazı boyunca tüm LH ve FSH dalgaları, ayrı östradiol 17 β dalgalarını takiben oluşur. Ancak LH dalgalarından bağımsız FSH dalgaları östradiol 17 β sekresyonu ile ilgili değildir. Östradiol 17 β dalgalarının büyüklüğü luteal fazın ortasından sonra azalır. Rhodes et al. 1995 (21), her LH dalgasından sonra östradiol 17 β

konsantrasyonunda belirgin bir artış olduğunu ve LH pikinden 15-30 dakika sonra maksimum seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir.

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

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

2.4.5. İneklerde Folliküler Dinamikler

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

Real-time ultrasonografi, ovaryumlarda follikül gelişiminde veri toplamak (Pierson RA, Ginther OJ. Ultrasonography of the bovine ovary. Theriogenology 1994; 21: 495-504) ve farklı çalışma gruplarında çapı 2 mm'den büyük folliküllerin gelişimlerini incelemek amacıyla kullanılmıştır (34).

Preovulatör follikül gelişimi ile sonuçlanan antral folliküllerin devam eden gelişim ve regresyon işleyişi "folliküler dinamikler" olarak adlandırılır. Sığırlarda tek bir östrus siklusu süresince "dalga modeli" tarzında, iki veya üç adet folliküler büyüme ve gelişim dalgası gözlenir ve preovulatör follikül, en son follikül dalgasından meydana gelir (34, 35).

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

1. Ön seçim aşaması: Follikül havuzundaki bir grup follikülün (cohort folliküller) hızla büyümeye başlayarak, yeterli hipofizer gonadotropik stimülasyon ortamında ovulasyona kadar devam eden bir olgunlaşma süreci başlangıcını ifade eder.
2. Seleksiyon: Sonuçta dominant follikül (DF) veya DF'leri oluşturacak şekilde gelişmeye devam eden folliküllerin, ön seçimi yapılmış edilmiş folliküller arasından seçilme işlemidir.

Seleksiyon, ovule olabilecek potansiyele sahip genellikle tek bir follikülün seçildiği ve bu follikülün atreziden korunduğu proses olarak tanımlanır.

3. Dominant hale gelme: Seçilmiş bir follikülün yeni cohort folliküllerin ön seçiminin önlenmesi sırasında dominant hale geldiği bir süreçtir. Yani dominant folliküller kendilerinden daha küçük follikülleri (subordinate folliküller) bir mekanizma ile baskılayarak, kendileri büyümelerine devam ederler (36).

Sığırlarda östrus davranışlarının başlamasından 12-60 saat önce bovine folliküler sıvısı uygulandığında birinci folliküler dalganın ortaya çıkmasının gecikmesi ile sonuçlanan ikinci FSH dalgasının son bölümü iptal edilir. Bu sonuçlardan, Turzillo ve Fortune 1990 (37) ikinci FSH pikinin ineklerde folliküler gelişmenin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Adams et al 1992 (38), FSH dalgaları ile folliküler dalganın ortaya çıkması arasında zamansal bir ilişki olduğunu, yeni folliküler dalganın ortaya çıkışından 1-2 gün önce FSH piki belirlendiğini ve bunun folliküler gelişim için gerekli olabileceğini bildirmişlerdir. Sunderland et al. 1994 (24) ayrıca folliküler gelişmenin seleksiyon bölümünün birinci dalgada 1-3. günde, ikinci dalgada 10-12. günde olduğunu ve bunun FSH konsantrasyonundaki geçici bir artışla ilgili olduğunu bildirmiştir.

Cupp et al. 1995 (23) siklusun luteal fazında FSH konsantrasyonlarındaki değişiklikler ile ilgili yoğun değerlendirmeler yapmışlar ve FSH konsantrasyonunda dalgalanmanın az olduğunu belirlemişlerdir. FSH konsantrasyonu luteal fazda yeni bir folliküler dalganın ortaya çıkışı sırasında veya gelişen folliküllerin seçiminde değişir (21-24). Yapılan bu çalışmalar ineklerde folliküler gelişimin FSH konsantrasyonundaki artışla başladığını gösterse de folliküler dalganın ortaya çıkışı ve folliküler gelişim sırasında FSH sekresyonunun tam fonksiyonunu açıklamak için yeni çalışmalar gerekmektedir.

Dominant follikülün ovulasyonu, yeteri kadar endojen veya ekzojen LH konsantrasyonuna maruz kalmasına bağlıdır. Preovulator LH pikinin yokluğu dominant follikülün atrezisi ve folliküler ön seçimin tekrar başlaması ile sonuçlanır. İneklerde folliküler dinamiğin görüntülenmesinde ultrasonografinin kullanılması üzerine yapılan çalışmalar her siklusta 2-4 folliküler dalganın meydana geldiğini, hayvanların çoğunun iki veya üç dalga gösterdiğini ortaya koymuştur. İneklerde iki dalgalı siklusta birinci dalga 3-4. gün, ikinci dalga 12-14. günde başlar. Üç dalgalı siklusta folliküler dalgalar yedi gün aralıklarla gözlenir (sırasıyla 2, 9 ve 16. gün). Böyle sikluslarda follikül östrusa kadar en büyük boyuta ulaşamaz. Sütçü ve besi ineklerinde üç dalgalı sikluslar 20-23 gün, iki dalgaya sahip sikluslar 18-20 gün sürer (34).

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

2.5. ÖSTRUS SENKRONİZASYONU

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

Östrus senkronizasyonun avantajları (40)

1. Östrusları kısa bir süre içinde toplamak,
2. Tohumlama ve aşmaları planlanan zaman içinde yapmak,
3. Suni tohumlama ve embriyo nakli uygulamalarını kolaylaştırmak,
4. İlk tohumlamada gebe kalmayan hayvanların izlenme sorununu gidermek,
5. Gebe hayvanlarda grup halinde yem değişiklikleri, aşılama ve anti paraziter ilaçlamaları kolaylaştırmak,
6. Doğumları belli bir zaman diliminde yaptırıp, denetleyebilmek ve yavru kayıplarını azaltmak,
7. Pazara bir örnek yavrular verebilmek,
8. Sürüde bir örnek gençleşmeyi sağlayabilmek,
9. Barınak, iş gücü ve malzemeleri daha verimli bir şekilde kullanmaktır.

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

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

2.5.1. Progesteron Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyonu

Progesteron follükül, CL ve plasentadan üretilen bir steroid hormondur. Bu hormon GnRH salınımını ve reproduktif davranışları inhibe eder ve gebeliğin korunmasına yardım eder.

Progesteronun 12-14 gün boyunca günlük enjeksiyonları östrusun indüklenmesinde kullanılsa da fertilité oranı düşüktür (41).

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

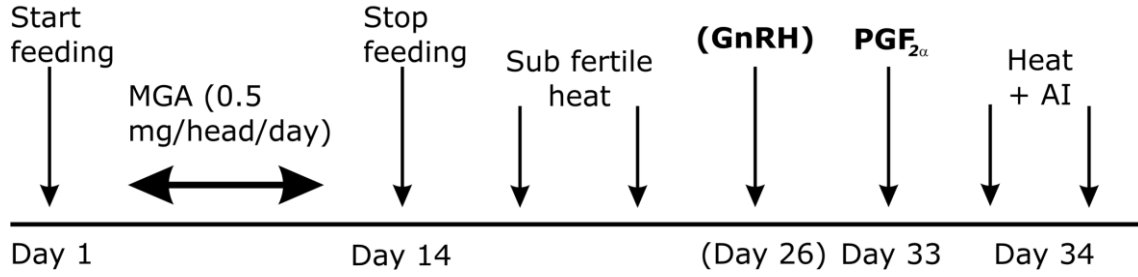
Progesterone-Releasing-İntravaginal-Device uygulamalarında PRID'in çıkarılmasından 48 saat sonra GnRH ya da 24 saat sonra östradiol benzoat ve bunlara ek olarak PGF_{2a} uygulanmaktadır. Ovulasyon senkronizasyonunun başarısı, uygulama sonunda CL'un olmaması ve seçilmiş yeni dominant follükülün varlığına bağlanmaktadır. Progestagen tedavisinin süresi, yeni dominant follükül gelişimi için belirlenmiş zaman aralığına ve kullanılan hormona bağlıdır. Uygulamanın başlangıcı için seçilen hormon eğer GnRH ise PRID'in uygulama süresi 5-7 gün, ancak; seçilen hormon östradiol benzoat ise, PRID'in uygulama süresi 7-12 gün olarak belirlenmiştir (42).

Controlled İnternal Drug Release (CIDR) ile yapılan östrus senkronizasyonlarında senkronizasyon oranını artırmak için ek uygulamalar yapılmaktadır. Örnek olarak; yapılan bir çalışmada 2,077 düve 4 gruba ayrılmış, 1. gruptaki düvelere (n=517) 7 gün boyunca CIDR uygulanmış ve CIDR'in çıkarıldığı gün 25 mg PGF_{2a} enjekte edilmiştir. Bunu takiben düveler 84 saat boyunca kontrol altında östrus tespitleri yapıp tohumlanmışlardır. Seksendört saat boyunca östrus göstermeyen düvelere ise 100ug GnRH uygulaması yapılarak tohumlanmışlardır. İkinci gruptaki düvelere de (n=504), 1. gruptakilere uygulanan işlemler yapılmış fakat tek fark olarak CIDR uygulamasının başladığı gün 100 ug GnRH uygulaması yapılmıştır. Üçüncü gruptaki düvelere (n=531) CIDR uygulandığı gün GnRH, çıkartıldığı gün ise PGF_{2a} ve bunu takiben 60. saatte 2. GnRH uygulaması yapıp östrus belirtilerine bakmadan suni tohumlama yapılmıştır. Dördüncü gruptaki düvelere (n=525) ise CIDR'in çıkarıldığı gün PGF_{2a} ve bunu takiben 60. saatte GnRH uygulanıp östrus belirtilerine bakılmadan suni tohumlama yapılmıştır. Gebelik teşhisleri suni tohumlamadan 30-35 gün sonra transrektal olarak ultrasonografi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak gebelik oranlarında östrus belirlenip tohumlanan birinci grup (%54.5) ve ikinci grup (%57.3) arasında fark bulunamamış ancak östrus belirlemesi yapılmadan tohumlananlara göre daha yüksek bir gebelik oranı elde edilmiştir (43).

Melengestrol asetat (MGA) östrusu baskılayan sentetik bir progesterondur. Melengestrol asetat oral yolla günlük 0.5 mg dozda genellikle yemle birlikte verilir. Melongestrol acetate 14 gün verildikten sonra hayvanlar östrus göstermeye başlar. Fakat bu östruslar subfertildir ve

hayvanlar bu dönemde çiftleştirilmez. Melongestrol acetate kullanımı bittikten 12 gün sonra GnRH uygulaması yapılır ve bunu takiben 7 gün sonra PGF_{2a} uygulanır (Şekil 1.5.). Bunu takiben 24-72 saat içinde östruslar saptanıp tohumlamalar yapılır. Bu programa MGA synch adı verilir ve bu protokol daha çok düvelerde kullanım için uygulanmaktadır (44)

MGA Synch



Şekil 1.5.1. MGA synch programı

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

2.5.2. Prostaglandin Preparatları ile Yapılan Östrus Senkronizasyonu

Östrus senkronizasyonu PG'nin bir veya iki enjeksiyonu kullanılarak yapılabilir. Programa başlanırken hayvanların siklik durumları göz önünde bulundurulmaz. Bir enjeksiyon kullanılan protokollerde 1-5 gün içinde (1. gün enjeksiyonun yapıldığı gün) 9östrus tespit edilen hayvanların tohumlanması gerekir. 6. gün de östrus göstermeyen ineklere tekrar PG enjeksiyonu yapılır ve 6-11. gün arasında östrus gösterenler tohumlanır. Protokole alınan hayvanlar başlangıç gününden 27-33 gün sonra östrus takibine alınır ve östrus belirlenen inekler tohumlanır. İki PG enjeksiyonu yapılan protokollerde 1. gün ilk PG enjeksiyonu yapılır, 2-6. günler arasında östrus gösterenler tohumlanır. Tohumlanmayan hayvanlara 12. günde ikinci PG enjeksiyonu yapılarak 13-17. günler arasında östrus belirlenenler tohumlanır. Protokole alınan hayvanlar ilk PG enjeksiyonun gününden 32-38 gün sonra östrus

takibine alınır ve östrus gösteren hayvanlar tohumlanır. Bu metot ineklerde başarılı sonuçlar vermiştir. (41, 45).

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

Prostaglandinler değişik protokollerde östrus siklusu kontrolü için kullanılmaktadır. Örneğin postpartum dönemde aktif CL bulunan ineklerde kullanılmaktadır. Östrus 48-72 saat sonra görülmektedir. Bu uygulama ile open period adı verilen dönemin süresi azaltılmaktadır. Fakat bu sistem östrus senkronizasyonunun avantajlarını azaltmaktadır. Çünkü bu işlem için her hayvana rektal palpasyon yapmak gerekmektedir. Diğer bir yöntem de düvelerde 11-14 gün ara ile iki PGF_{2a} enjeksiyonu yapmaktır. Postpartum 40-50. günlerde 7 gün ara ile uygulanan PGF_{2a} ile tüm inekler östrus gösterir ve tohumlanabilirler. Bu sistem östrus belirleme oranını artırır ve gebe olmayan gün sayısını azaltır, fakat pahalı bir programdır. Prostaglandin F_{2a} kullanılacak düvelerin en azından yetişkin ağırlığının %60'ına ulaşması ve 15 aylık olması gerekmektedir. Jersey düveleri 225 kg ağırlığın üstüne çıkınca, Ayrshire ve Guernsey düveleri ise 300 kg üstüne çıktıklarında, Swiss ve Holstein düveleri ise 350 kg üstüne çıkınca programa katılmalıdır. Prostaglandin programları östrus saptanması gerektirir. Östrus belirlenmesi rutin ve eksiksiz yapılmalıdır. Çoğu sürüde düşük gebe kalma oranının sebebi östrusun kaçırılmasıdır. Östrusu saptamak için günde 3 kez ve 15-20 dakika süreyle hayvanlar gözlenmelidir. Güncel sütçü yetiştirme sistemlerinde haftalık veya 2 haftalık PGF_{2a} programları ekonomik olarak kullanılmaktadır. En popüler program Pazartesi sabahı (Monday Morning) programıdır (Şekil 1.2.). Pazartesi sabahı sütçü üreticiler postpartum 50. günde veya daha ileri dönemdeki ineklere PGF_{2a} enjeksiyonu yapmaktadır ve geriye kalan günlerde östrusu kontrol etmektedir. Hafta içinde östrus gösteren inekler 8-12 saat sonra tohumlanırlar (Graves ve Lauren, 2004). Östrus göstermeyenler ise izleyen pazartesi tekrar aynı prosedürden geçirilir. Üç hafta boyunca tohumlanamayan ineklere jinekolojik muayene önerilir (44).

Bu programın faydası ineklerin östruslarının önceden tayin edilmesidir. Bu programların tamamında günlük olarak östrusların kontrol edilmesi gerekmektedir (44).

2.6. OVULASYON SENKRONİZASYONU

Ovaryum fonksiyon bozukluklarının tedavisinde kullanılan GnRH hormonu, son yıllarda ineklerde östrüs ve ovulasyonun senkronizasyonu, özellikle de folliküler dalgaların kontrolü

amacıyla yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Hatta, senkronizasyon çalışmalarının çoğu belirlenen zamanda (fixed-time) tohumlamalar ile daha fazla gebelik oranı elde etme üzerine yoğunlaşmıştır Böylece reproduktif fizyologlar tarafından uzun zamandır araştırılan ve östrüs gözlemeyi sınırlandıran ve bununla ilişkili problemlere çözüm getiren yöntem keşfedilmiştir (46). Burada gözetilen amaç, ardışık hormon uygulamaları ile belirlenen zamanda fertil bir ovulasyonu sağlamak için gerekli olayları uygun şekilde kurgulayarak, ineklerde reproduktif siklusu maksimum düzeyde kontrol altına almaktır (47).

Gonadotropin releasin hormonunun yanı sıra, senkronizasyon amacıyla daha önceden kullanılan östrojen, progesteron hormonlarından ve prostaglandin'den de yararlanılarak, her bir bileşiğin yalnız başına uygulamasında karşılaşılan komplikasyonlar ve elde edilen dölverimi düşüklüklerinin giderilmesi yönünde farklı kombinasyonlar oluşturularak değişik senkronizasyon programları uygulamaya konulmuştur.

Söz konusu gelişmeler sonucunda ineklerde östrüs siklusunun kontrol altına alınması işlemleri, folliküler gelişimin senkronizasyonu (GnRH, Östradiol, Progesteron), CL'un kontrolü/regresyonu (Prostaglandin $F_{2\alpha}$) ve ovulasyonun uyarılması (GnRH, Östradiol, hCG ve LH) şeklinde özetlenebilir (48).

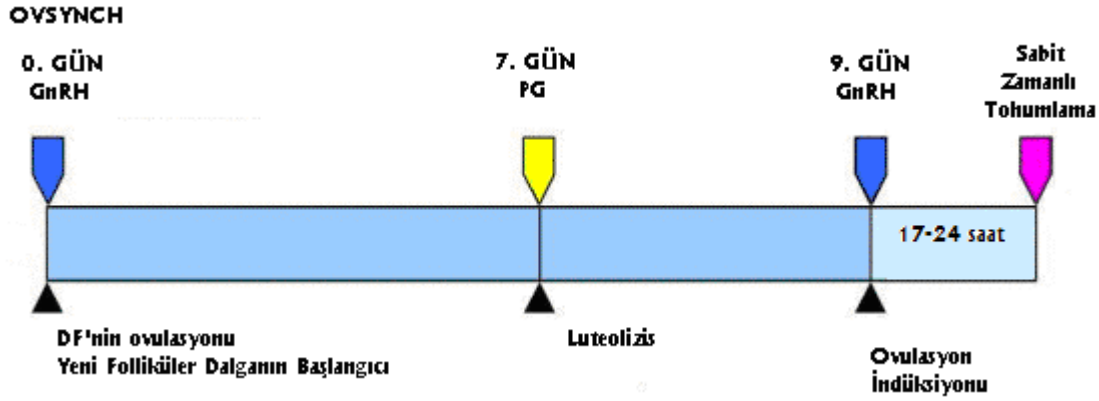
Protokollerin çoğunda östrüslerin gözlenmesine gerek duyulmamaktadır. Dolayısıyla iş gücü ve zaman kazancı sağlanmaktadır. Ayrıca östrüs tespitindeki yanlışlıkların ve ovulasyon mekanizmasında oluşan bozuklukların (suböstrüs, anostrus, kistik ovaryum) önüne geçilmekte, infertiliteye neden olan repeat breeder (RB) ve metritis gibi problemler daha kolay çözülebilmektedir (49-51).

2.6.1. Ovsynch

Ovsynch, GnRH ve PG kullanılarak ovulasyonun senkronizasyonu veya kontrol altına alınması demektir. Ovsynch uygulaması, östrüsten ziyade ovulasyonu senkronize etmektedir. Östrüs gözlenerek yapılan tohumlama (AI) ile benzer sonuçların alınabildiği ilk belirlenen zamanda tohumlama yapılabilen senkronizasyon protokolüdür (52). İlk kez Wisconsin Üniversitesinde geliştirilmiştir (53). Laktasyondaki süt inekleri için en popüler senkronizasyon protokolüdür. Diğer tüm senkronizasyon protokolleri, ovsynch protokolünün varyasyonu denebilir (54, 55).

Ovsynch ile östrüs gözlenmeden aşım ya da tohumlama zamanı belirlenir. Ovsynch protokolü, aşım veya tohumlama yapılmadan önce GnRH, PG ve GnRH'ın ardışık olarak uygulanmasıdır (Şekil 2.6.1). GnRH hipofizden LH salınımına neden olur. GnRH enjeksiyonundan yedi saat sonra LH hormonu pik seviyeye ulaşır ve bir pikin süresi 100 dakika sürer (56). Gonadotropin

releasing hormon, siklusun dönemine veya ovaryumlardaki follüküler gelişmenin evresine göre (follüküler dalgalar), genç follüküllerin gelişmesini hızlandırır, östrojenin dominant olduğu follükülerde ovulasyon oluşturur (antral follüküller) ve büyük veya yaşlı follükülleri luteinize eder. Kısaca follüküllerin gelişimini senkronize eder. PG ise luteal regresyonu senkronize eder. GnRH'nin PG'den 6-7 gün önce uygulanması, PG ile senkronizasyona cevabı artırmaktadır.



Şekil 2.6.1. Ovsynch protokolü

İlk GnRH enjeksiyonu sonrası dominant bir follükül varsa ovulasyon şekillenir. Takiben yeni veya accessory CL oluşur ve yeni bir follüküler dalga gelişmeye başlar. Yeni follüküler dalganın sırasıyla gelişen (adaya), selektif ve dominant follükül evrelerine ulaşması için genelde bir hafta gerekir. Bu sebeple PG enjeksiyonu ilk GnRH uygulamasından yedi gün sonra yapılmaktadır. PG orijinal CL'ü ve ilk GnRH enjeksiyonunu takiben oluşabilen accessory CL'ü veya luteal yapıyı regrese eder. Progesteron seviyesi düşer. Dominant follükül olgunlaşmaya (maturasyon) devam eder. PG enjeksiyonundan iki gün sonra yapılan ikinci GnRH, LH pikinin oluşturur. LH, follükül ve ovumun nihayi olgunlaşmasına sebep olarak 24-32 saat sonra ovulasyonu gerçekleştirir (46, 52). LH piki oluşunca, östrojen sentezleyen follüküler hücreler progesteron sentezleyen hücrelere dönüşerek östrüs belirtileri baskılanıp provoke ovulasyon şekillenir (57)

Ovsynch protokolünde östrüsün oluşması, ovulasyonun senkronizasyonu, elde edilen gebelik oranı ve embriyonik kayıplar karşılaştırıldığında uygulama başlangıcında siklusun döneminin çok önemli olduğunu ileri süren farklı görüşler oluşmuştur (58). Siklusun 5-10. (52) veya 5-14. günleri arasında uygulandığında fertilitenin arttığı ve gebelik oranının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. En iyi cevap 10 mm çapında dominant bir follükülün bulunduğu evrede alınmaktadır (59). Dolayısıyla siklusun 5-14. günleri arası herhangi bir gün uygulamaya başlanması halinde dominant follükül yakalama şansı daha yüksek olmaktadır. Bu sebeple

ovsynch protokolü öncesinde hayvanlara 14 gün arayla iki kez PG uygulanması (Presynch), ovsynch'in söz konusu günlerde başlatılmasını sağlamaktadır. Siklusun erken döneminde (1-4 gün) başlatıldığında ikinci GnRH enjeksiyonunda yaşlı bir dominant follikül ile karşılaşılır. Bu follikül 5 gün ve daha fazla süre dominant kaldığından ovulasyon şekillenmeyebilir veya şekillense de fertilitesi düşüktür. İleri döneminde (15. günden sonra) başlatıldığında ise PG enjeksiyonu esnasında hayvan muhtemelen östrüs evresindedir, follikül çok küçüktür ve yeni CL gelişmez (60).

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

İkinci GnRH uygulamasına oluşan cevabın ilkiyle ilişkisi bulunmamaktadır. Hatta ilk uygulama sonrası ovulasyonların düşük olması halinde, ikincisine cevap daha yüksek olmaktadır. İkinci GnRH uygulamasına cevabın oluşmaması, ya ilk uygulama sonrası gerçekleşen ovulasyonu takiben dominant follikülün hızla gelişerek ikince GnRH uygulaması esnasında dominant özelliğini kaybetmesi yada CL'un tabii regresyonu sonucu ikinci GnRH enjeksiyonundan önce dominant follikülden ovulasyon şekillenmesi sebebiyledir (46, 52, 58). İlk GnRH enjeksiyonu sonrasında PG uygulamasından hemen önce veya sonra hayvanlar östrüs gösterebilir (%8-16). Bu durumda daha sonraki uygulamalara geçilmeden ve maksimum gebelik oranı elde etmek için tohumlama yapılabilir (12, 61, 62). Yukarıda seyri tanımlanan olaylar laktasyondaki normal siklik inekler için söz konusudur.

Ovsynch protokolünde en güç evre ikinci GnRH enjeksiyonundan sonra tohumlamanın (AI) ne zaman yapılacağıdır. İster ovsynch ister Cosynch protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonu ovulasyonu hızlandırarak östrüsün dış belirtilerinin oluşmasına fırsat vermemektedir. Ovulasyon 2. GnRH enjeksiyonundan 24-32 saat sonra şekillenmektedir (52). Farklı saatlerde yapılan AI uygulamalarından sonra elde edilen gebelik oranlarında da farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin 2. GnRH enjeksiyonunu takiben 24. saatten sonra yapılan tohumlamalarda gebelik oranı düşmektedir (54). Bu sebeple tohumlamaların 2. GnRH enjeksiyonu sonrası daha erken dönemde (en ideal 16. saat) yapılması başarıyı artırmaktadır. (50, 63). Modifiye senkronizasyon programlarının uygulandığı bazı çalışmalarda ise (64),

ikinci PG enjeksiyonu sonrası 72. saatte GnRH+AI yapılması ile daha yüksek oranda gebelik elde edildiği bildirilmektedir.

Ovsynch protokolü yoğun olarak laktasyondaki ineklerde denenmiş ve sonuç alınmış bir senkronizasyon yöntemidir. Özellikle yüksek süt verimine sahip ineklerde reproduktif performansı artırmakta ve ekonomik katkı sağlamaktadır (52). Düveler için yapılan benzer uygulamalar için aynı şeyleri söylemek mümkün değildir. Hatta bu yöntemin düvelerde uygulanmaması tavsiye edilmektedir (63). Düvelerdeki folliküler dalgaların çok farklılık arz etmesi, oluşan yanıtı da büyük oranda etkilemektedir. Örneğin, düveler ilk GnRH enjeksiyonuna daha az duyarlıdır ve premature östrüsler oluşabilmektedir. Bu sebeple düvelerde daha çok progesteron destekli protokoller kullanılmaktadır. Aynı amaçla ovsynch protokolü modifiye edilerek (PG 6. gün, ikinci GnRH 8. gün verilip fixed-time tohumlama veya ilk GnRH ile birlikte progesteron desteği yapılması) fixed-time tohumlamalarla da düvelerde tatmin edici gebelik oranlarına ulaşılabilmiştir (65 - 68)

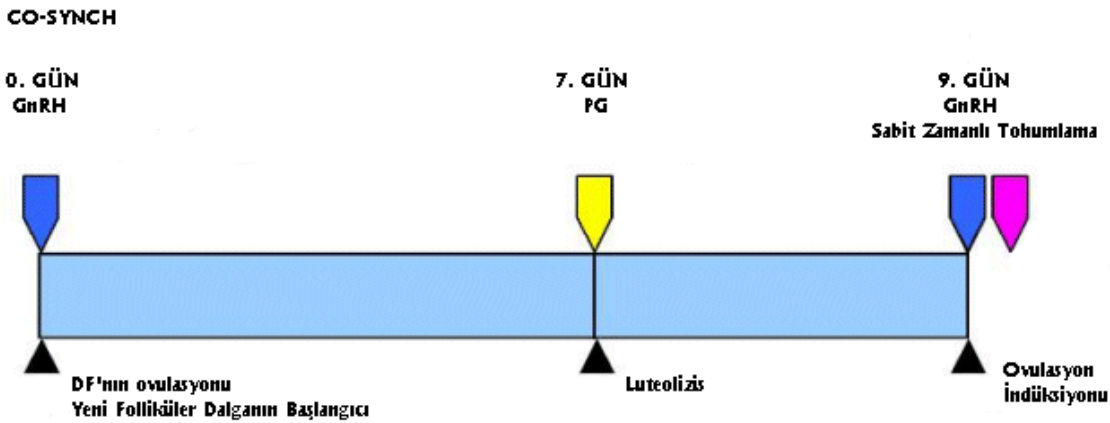
Gonadotropin releasing hormon ile ovulasyonun senkronizasyonunu etkileyen faktörler, uygulamaya başlandığında östrüs siklusunun dönemi, yaş (hayvanın inek veya düve olması), laktasyonun dönemi, sıcaklık stresi ve ovaryum fonksiyon bozukluklarıdır (anöstrüs, kistik ovaryum dejenerasyonu). Siklusun dönemine ilişkin en iyi cevap 10 mm çapında dominant bir follikülün bulunduğu evrede alınır (59). Laktasyonun dönemi de etkilidir. En erken postpartum 70-75. günde başlanmalıdır. Erken uygulama, postpartum anöstrüsde oluşacak cevabı ve gebelik oranını düşürür. Kondisyon skorunun da kötü olması (2.5 ve aşağı) başarıyı düşürür (69). Sıcaklık stresi ise preovulatör folliküllerden östrojen salınımını azaltır ve östrüs belirtileri daha hafif oluşur. Bu yüzden ovsynch protokolünde belirlenen zamanda (fiked time) tohumlama tavsiye edilir. Ovsynch protokolü, rutin uygulamalarla östrüs tespiti yapılamayan sürüler ve birden fazla PG uygulaması yapılan ve östrüs göstermeyen inekler için yararlı olabilmektedir. Hormon uygulamalarının akşam sağımından önce (saat 16-18) yapılması, fixed-time tohumlamanın işbaşı saatine (sabah 08.00-10.00) rastlatılması sebebiyle kolaylık sağlar.

Ovsynch protokolü uygulandıktan sonra hayvan gebe kalmamış ise, 21 gün sonra östrüs gösterir. Bu dönemde hayvanın dikkatli gözlenmesi ile östrüs tespit edilebilir. Eğer hayvan gebe kalmadığı halde östrüs göstermiyor ise ve bu durum ultrasonografik muayene ile belirlenmiş ise, 35. gün PG enjeksiyonu yapılabilir. Bunu takiben 2-5 gün içerisinde oluşacak östrüste hayvan tohumlanır. Böylece sonraki östrüs oluşma süreci kısaltılır veya re-senkronizasyon yöntemlerinden biri uygulanabilir (70).

Ovsynch protokolünde kullanılan GnRH'in dozu 100 mikrogram, PG'in ise luteolitik dozu yeterlidir. Ancak GnRH ovsynch, Cosynch ve Selectsynch protokollerinde yarı dozda (50 mikrogram) kullanılarak da aynı sonuçlar alınabilmektedir (70 - 72). Buna karşılık post partum 75. günden önce yapılan uygulamalarda ilk GnRH dozunu 200 mikrograma çıkararak gebelik oranını artırdığını savunan araştırmacılar vardır.

2.6.2. Cosynch

Ovsynch protokolünün benzeri veya özel bir şeklidir. Besi hayvanları üzerinde çalışan araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir. Cosynch protokolünde sadece ikinci GnRH uygulaması aşım veya tohumlama ile birlikte yapılmaktadır. İlk GnRH uygulamasından yedi gün sonra PG enjeksiyonu yapılır, bundan iki gün sonra GnRH ile birlikte tohumlama yapılır (Şekil 2.6.2.).



Şekil 2.6.2. Cosynch protokolü

Ovsynch protokolünde olduğu gibi östrüs gözlemeyi gerektirmeyen bir programdır. Ancak Ovsynch ile karşılaştırıldığında inekler için daha az zaman ve işgücü gerektirmesi avantaj olarak nitelenebilir. Ziyaret sayısı ile birlikte çalışma etkinlikleri de 1/3 oranında azdır. Çünkü cosynch protokolünde tohumlamalar ikinci GnRH enjeksiyonu ile birlikte yapılmaktadır. Ama CoSynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranları, Ovsynch protokolünde 12-18 saat sonra yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları kadar olamayabilir (46)

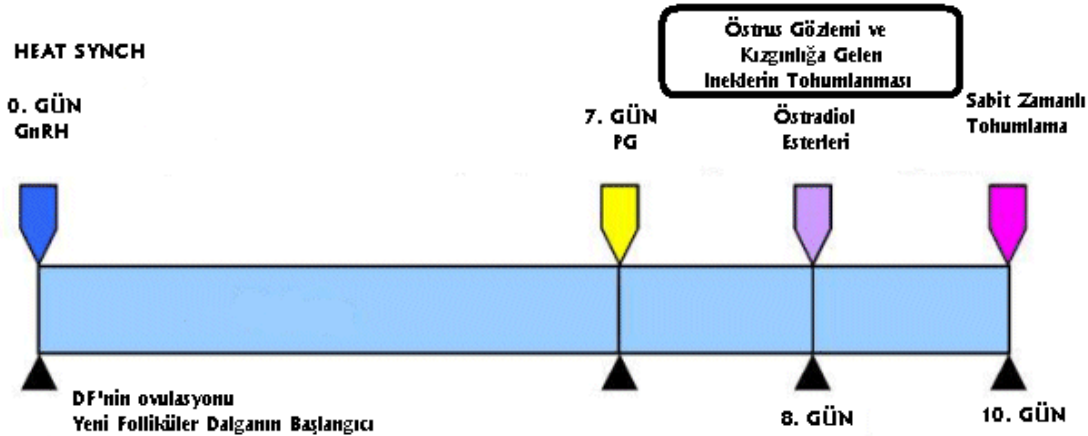
Cosynch ile Presynch programının birlikte kullanılması ile daha iyi gebelik oranı elde edilebilir. Ancak yöntem maliyet artışıyla birlikte daha fazla enjeksiyon gerektirmektedir.

2.6.3. Heatsynch

Östrojen eskiden beri ovulasyonu sağlamaya yardımcı olmak amacıyla fizyolojik ve patolojik olgularda kullanılmıştır. Östrojenin başlıca etkisi östrüsün belirtilerini daha çarpıcı olarak

oluşturmak ve hipotalamus'tan pik seviyeye ulaşacak dalgalar şeklinde GnRH salınımını sağlamaktır.

Heatsynch, Ovsynch protokolünün benzeridir. Farklılıklar, ikinci GnRH yerine estradiol cypionate (ECP) enjeksiyonu yapılması ve tohumlamaların hem östrüs gözlenerek hem de fixed time gerçekleştirilebilmesidir (Şekil 2.6.3). Ayrıca östrojen'in ucuz olması sebebiyle heatsynch'in maliyeti daha düşüktür. Heatsynch'de ikinci GnRH yerine, PG enjeksiyonundan 1 gün sonra 1 mg ECP uygulanır. Tohumlamalar ise östrüs gözlenerek veya PG enjeksiyonundan sonraki 72. saatte veya ECP enjeksiyonundan sonraki 48. saatte fixed-time da yapılabilir. Östrojenin etkisi, östrüs belirtilerinin daha çarpıcı olarak oluşturmasının yanı sıra, tedavinin sonunda GnRH'ın pulsatile salınımıyla senkronize folliküler dalgaların oluşmasına neden olarak, sağlıklı, östrojen-aktif, dominant bir follikülün bulunmasını sağlamasıdır. Heatsynch östrüs tespitini %100'e ulaştırmayı amaçlayan bir yöntemdir (73, 74).



Şekil 2.6.3. Heatsynch protokolü

Heatsynch, Ovsynch/Presynch protokolünün alternatifi olarak sunulmaktadır. Çünkü ECP'nin, PG'den sonra uygulanan ikinci GnRH'dan daha iyi östrüs oluşturduğu ileri sürülmektedir (48).

Ovsynch ve Heatsynch arasındaki diğer önemli farklılıklar; Ovsynch'de ikinci GnRH uygulaması sonrası çok kısa sürede (bir saat veya sonrası) LH piki oluşmakta, takiben hızla ovulasyon şekillenmekte ve hatta östrüs belirtilerinin oluşmasına fırsat dahi kalmamaktadır. Heatsynch'de, östrojen uygulaması sonrası ise LH piki 41. saate kadar uzamakta ve östrüs belirtileri çok çarpıcı olarak oluşmaktadır (75). Östrüsler ECP uygulamasından 29.0 ± 1.8 saatten sonra başlamakta, ovulasyonların % 75'i ise 48-72. saatler arasında (ortalama 55.0 ± 2.7 saat) şekillenmektedir. Bu sebeple, ECP enjeksiyonundan sonraki 48. saatte hayvanların tohumlanmış olması tavsiye edilmektedir (74). Heatsynch protokolünde östrüsü tespit etmek

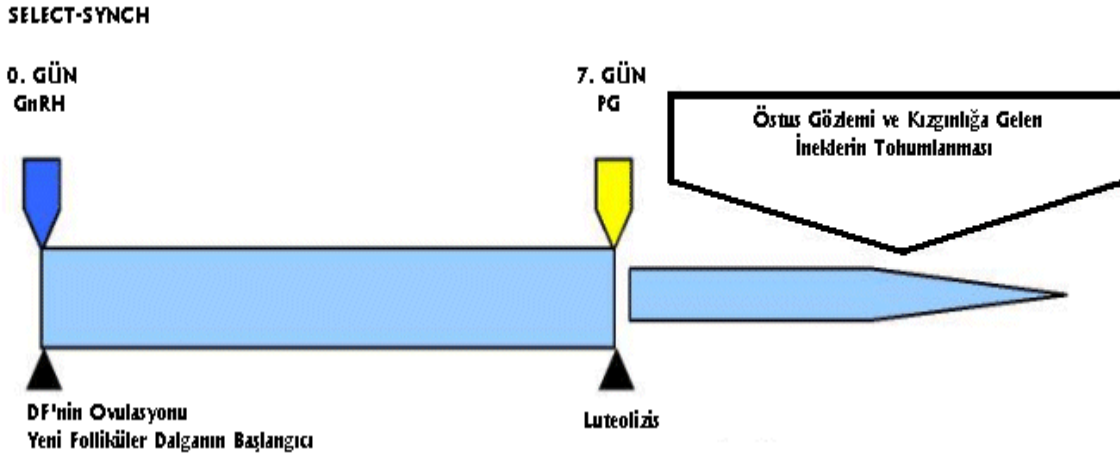
daha kolaydır. Fixed-time tohumlama yapılırken dahi östrüse ilişkin değişimler (uterus tonusu vs) kolaylıkla izlenebilir (52).

Ovsynch ve Presynch protokolleri, kistik ovaryumlu ineklerde daha etkili olmasına karşılık, Heatsynch normal siklus gösteren ineklerde daha iyi sonuç vermektedir (76). Anovulator hayvanlarda, siklusu presynch-ovsynch kombinasyonu kadar uyaramamaktadır (52) Heatsynch protokolü, ahır ve gezinti alanları zemini uygun olmayan işletmelerde uygulanmamalıdır. Yoğun östrüs davranışları sonucu bazı kazalar oluşabilir (57).

2.6.4. Selectsynch

Modifiye ovsynch yöntemidir. Selectsynch senkronizasyon protokolünde 2. GnRH enjeksiyonu yapılmamakta, östrüs tespiti ve tohumlama birleştirilerek, yalnızca östrüs gösteren inekler tohumlanmaktadır. Bu bakımdan ovulasyondan ziyade bir östrüs senkronizasyon protokolüdür. İkinci enjeksiyon için ilaç maliyetini ortadan kaldırmakta, ancak östrüslerin gözlenmesi için zaman harcamayı gerektirmektedir (62).

Protokole GnRH enjeksiyonu ile başlanır. Yedi gün sonra PG enjeksiyonu yapılır. Östrüsler ilk GnRH enjeksiyonundan sonraki 6. günde gözlenmeye başlanarak 12. güne kadar sürdürülür. Tohumlamalar östrüs gözlenerek gerçekleştirilir (Şekil 2.6.4).



Şekil 2.6.4. Selectsynch protokolü

Siklik ineklerin büyük bir bölümü PG enjeksiyonundan 36-71 saat sonra östrüs gösterir (77). Nonsiklik ineklerde östrüs daha erken oluşabilir. Bu yüzden östrüs tespit gözlemlerine PG enjeksiyonundan bir gün önce başlanılmaktadır. Eğer östrüsler PG enjeksiyonundan önce oluşursa, hayvan 12 saat sonra tohumlanır ve PG enjekte edilmez (50).

Basit ve kısa süre içerisinde östrüs oluşumuna sebep olan bir yöntemdir. Non siklik ineklerde selectsynch ve Cosynch protokolü ile aynı oranda (%50) gebelik elde edilirken, siklik

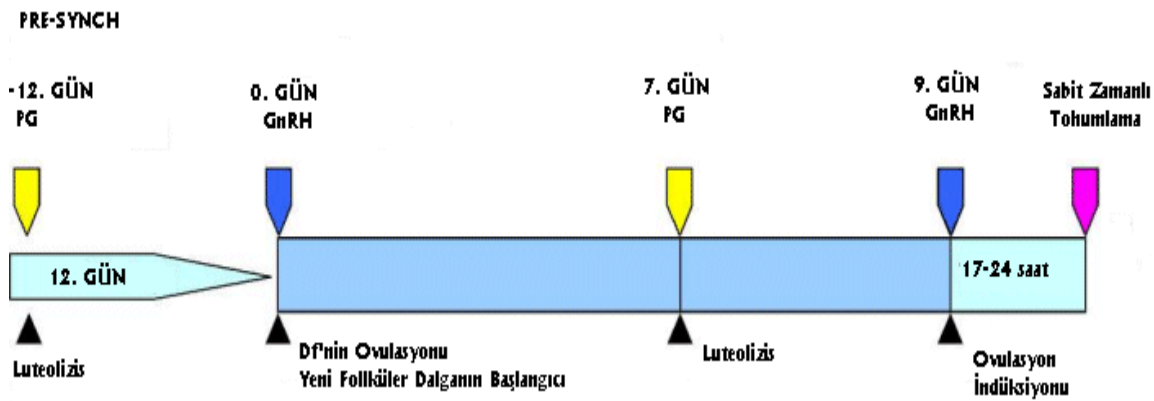
ineklerde Selectsynch protokolü ile daha yüksek oranda (%70) gebelik elde edilmiştir (50). Selectsynch protokolüne başlamadan yedi gün önce ilave GnRH verilir protokolün sürdürülmesi anöstrüs ineklerde siklusu uyarabildiği gibi, siklik ve nonsiklik hayvanlarda follüküler gelişimi daha iyi senkronize etmektedir (50).

Modifiye Selectsynch Protokolü; Nonsiklik ineklerde gebelik oranını artırmak için, Selectsynch protokolündeki uygulamalara progestin ilave edilerek, Stevenson tarafından geliştirilmiştir (78). Gonadotropin releasing hormon ile birlikte aynı gün progestin uygulaması başlatılır. Yedi gün sonra progesteron uygulamasına son verilir aynı anda PG enjekte edilir. Östrüs gözlenerek tohumlama yapılır. Progesteron nonsiklik ineklerde ovaryum üzerine sıçrama diyebileceğimiz ilave uyarımlar başlatmaktadır. Erken östrüs oluşumunu engellemektedir ve PG uygulaması sonrası 36-48 saat sonra östrüs aktivitelerinin yoğunlaşmasına sebep olmaktadır (50).

2.6.5. Presynch

Presynch, gerçek anlamda ovulasyon senkronizasyon yöntemlerinin (Ovsynch, Cosynch, Heatsynch) uygulanmasına başlamadan önce hayvanların siklusun uygun döneminde, daha doğru bir ifadeyle follüküler gelişimin uygun döneminde bulunmasını sağlayan protokoldür. Çünkü sözü edilen programlar, dominant bir follükülün bulunduğu siklusun 5-9. günleri arasında başlatıldığında gebe kalma oranında artışlar sağlanabilmektedir (35, 65, 79).

Presynch, bu yöntemler uygulanmaya başlamadan önce 14 gün arayla iki kez PG uygulamasıdır. Ancak orijinal presynch protokolünde, senkronizasyon ikinci PG uygulamasından 12 gün sonra başlatılmaktadır. Oysa 14 gün sonra başlatılması halinde ilk dört enjeksiyon haftanın aynı adlı gününe isabet edeceğinden programlama daha kolay olmakta ve orijinal presynch uygulaması ile aynı döl verimi sonuçları alınabilmektedir (Şekil 2.6.5) (46, 52).



Şekil 2.6.5. Presynch protokolü

Presynch protokolünde iki kez PG uygulamanın uterus ortamını ve uterus savunma sistemini olumlu etkilediği gözlenmiştir (46). Presynch'in bir diğer gerekçesi de hayvanların gönüllü bekleme süresinin sonunda mümkün olan en kısa sürede tohumlanmasını sağlamaktır. Çünkü çoğu sağlıklı inekde pp 30. günden evvel östrüs başlar ve gönüllü bekleme süresinin sonunda en azından iki kez östrüs göstermiş olur. Bu sebeple genelde post partum 28 ± 3 günde protokol uygulanmaya başlanır. Hayvan ilk PG enjeksiyonuna cevap verirse ki arzu edilen budur, 14 gün sonra yapılan 2. PG enjeksiyonu esnasında luteal evrededir ve buna da cevap verecektir. Şayet ilkine cevap vermez ise 14 günlük süre içinde luteal evreye girecek ve ikincisine kesin cevap verecektir. İkinci PG enjeksiyonundan 14 gün sonra başlanacak orijinal protokol esnasında hayvan siklusun 5-14 günleri arasında bulanacaktır. Örneğin 2. PG enjeksiyonundan 2-5 gün sonra östrüs oluşursa (ortalama 3 gün), 2-3 gün de proöstrüs, östrüs ve ovulasyon için eklendiğinde $14-5=9$. güne tekabül eder. Presynch, siklik ineklerde Ovsynch ve Heatsynch uygulamasında gebelik oranını artıran etkili bir yöntemdir. İlk PG uygulanması esnasında, özellikle post partum dönemde, hayvanın siklik olması gebelik oranını artırmaktadır. Presynch iyi bir resenkronizasyon yöntemi değildir ve bu amaçla kullanılmamalıdır (52).

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

Ovsynch programına ilave PG uygulamasıyla gerçekleştirilen modifiye Ovsynch protokolü olarak tanımlanabilir. Ovsynch programının aynısı uygulanmadan önce, yani ovsynch protokolündeki ilk GnRH enjeksiyonundan 14 ve 28 gün önce iki kez PG uygulaması yapıp ovosynch programı ile tamamlanır. Özetle, iki kez PG ve ovsynch programının kombinasyonudur. Ovsynch protokolünün östrüs siklusunun 5-14. gününde başlatılması halinde dölverimi artmaktadır. Bu da ancak presynch protokolü uygulanarak gerçekleştirilebilir (72).

Idaho Üniversitesinde yapılan bir araştırmada (80), presynch protokolünde, 2. GnRH enjeksiyonu ve tohumlamaların PG enjeksiyonundan 72 saat sonra birlikte yapılması ile daha iyi gebelik oranı elde edildiği bildirilmektedir

Postpartum dönemde uygulanan ve fixed time tohumlama yapılan hayvanlarda, ilk tohumlamada gebelik oranı Ovsynch protokolüne nazaran daha yüksektir (52). Bu sebeple, genellikle postpartum dönemde başvurulan bir yöntemdir. Hatta erken postpartum dönemde uygulanmaya başlanması uterus enfeksiyonu bulunan hayvanlarda önemli yararlar sağlamaktadır. Uygulama başlangıcında hayvanların siklik olmaları gebelik oranını artırmaktadır. Anovulatör hayvanlarda % 75'e varan oranda siklusu uyaramaktadır (62).

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

Presynch'in diğer protokollerle birlikte uygulanması, ovsynch protokolünde olduğu gibi asıl protokole başlamadan evvel 14 gün arayla 2 kez PG uygulaması ve 28. günde asıl protokolün başlatılması şeklindedir. Cosynch ile kombinasyon sonrası gebelik oranında düşüşler elde edildiği bildirilmiştir (81)

2.6.6. Hedef Çiftleştirme Protokolü (Targeted Breeding / TB)

Pharmacia Animal Health tarafından geliştirilen ve senkronize östrüslerde östrüs tespitini kolaylaştıran, agresif ve aktif bir protokoldür. Östrüs tespiti gerektiren bir yöntemdir. Daha önce bilinen klasik PG ile senkronizasyon protokolündeki gibi birbiri ardı sıra iki kez PG enjeksiyonu şeklinde tanımlanabilir. Ancak hedef çiftleştirme protokolünde PG uygulama aralıkları 14 gündür. Böylece ikinci PG uygulamasında folliküler gelişim dalgası ve CL daha uygun dönemde yakalanarak maksimum cevap alınması amaçlanmaktadır. Düveler için uygun bir protokoldür (45).

Protokol, PG enjeksiyonu ile başlatılır. 14 gün sonra ikinci PG enjeksiyonu yapılır. Hayvanlar östrüs gözlenerek tohumlanır. Östrüsler genelde PG enjeksiyonundan sonraki 2-5 gün içerisinde oluşur (en fazla 6. gün). Östrüs göstermeyenlere 14 gün sonra üçüncü enjeksiyon yapılır. Östrüs tespitinde hedef, enjeksiyon yapılan ineklerin en az % 70' ini kapsamalıdır. Protokol, hayvanların gönüllü bekleme süresinin sonunda tohumlanabilmesini sağlayacak şekilde post partum 30-40. günler arası başlatılmalıdır. Daha doğrusu gönüllü bekleme süresinin bitiminden 14 gün önce ilk enjeksiyon yapılırsa, süre bitiminde hemen sonra ilk tohumlama gerçekleştirilebilir. Bu sebeple ilk enjeksiyon sonrası tohumlama yapılmaz. Üçüncü enjeksiyon sonrası östrüs gözlemeden 80.saatte (72-96 saatler arası) tohumlama yapılabilir (61).

2.6.6.1. Modifiye Hedef Çiftleştirme Protokolü (Modify Targeted Breeding / MTB)

Modifiye hedef çiftleştirme protokolü, Pharmacia Animal Health tarafından geliştirilen ve östrüs tespiti ve belirlenen zamanda (fixed-time) tohumlamanın kullanıldığı hibrit protokoldür (45). GnRH kullanılması sebebiyle, hedef çiftleştirme protokolünün verimliliğini artıran bir protokoldür. Ovsynch protokolünün aksine ovulasyonların yanı sıra östrüsleri de senkronize edebilen bir yöntemdir. Bu sebeple tohumlamalar için östrüsleri gözlemeyi gerektirmesinin yanı sıra östrüs belirtileri göstermeyenlerin de belirlenen zamanda tohumlanabilmesine imkan veren bir protokoldür (63). Belirgin dönemlerde östrüsü gözlenemeyen veya tespit edilemeyen inekler için yarar sağlar. Gönüllü bekleme dönemini takiben ilk siklusta hayvanların % 100'ünde östrüs oluşumuna imkan verebilir (45).

Modifiye hedef çiftleştirme protokolünde, önce PG enjeksiyonu yapılır. 14 gün sonra GnRH verilir. Yedi gün sonra tekrar PG enjeksiyonu yapılır. Hayvanlar östrüs gözlenerek tohumlanır. İlk PG enjeksiyonu esnasında hayvan luteal evrede ise östrüs gösterecektir. Bu dönemde hayvan tohumlanmaz. Ancak bu östrüsün fertiliteye olumlu etkisi vardır. Ondört gün sonra uygulanan GnRH, dominant follikül varsa ovulasyonu şekillendirir. Yeni bir CL oluşumu veya aksesör CL oluşumuyla sonuçlanarak yeni bir folliküler dalga gelişmesini başlatır. Yeni dalgada aday, selektif ve dominant follikül evrelerine geçiş için genelde yedi gün gereklidir. Bu dönemde (GnRH'dan yedi gün sonra) uygulanan ikinci PG orijinal CL'ü ve accessory CL'ü regrese eder ve dominant follikülden kısa süre içerisinde ovulasyonun şekillenmesine sebep olur. İkinci PG enjeksiyonundan sonra östrüsler iki veya üç gün içerisinde oluşur (genelde 24-36 saatlerde başlar). Dominant follikülde yüksek miktarda östrojen bulunur ve östrüs belirtileri de çok bariz olarak oluşur. Şayet östrüs belirtileri tespit edilemez ise inekler ikinci PG enjeksiyonundan sonraki 72-80. saatler arasında tohumlanabilir. Bu uygulama ile hayvan gebe kalmamış ise 21 gün sonra östrüs gösterecektir ve bu östrüste hayvan tekrar tohumlanabilir. Gebelik muayenesinde boş olduğu tespit edilen ineklere uygun zamanda GnRH yapılarak tekrar MTB protokolüne dahil edilip yedi gün sonra ikinci PG enjeksiyonu yapılarak zamandan kazanç sağlanabilir (63).

2.6.7. Progesteron Kullanılan Ovulasyon Senkronizasyon Programları

Progesteron içeren protokoller veya CIDR birçok farklı şekilde uygulanmaktadır. Örneğin fast-back breeding (hızlı geri dönüş) protokolünde yalnız başına kullanıldığı gibi, PG ile birlikte, Ovsynch ve Cosynch protokolü içerisinde, embrio transferi (ET) çalışmalarında alıcıların hazırlanmasında, anöstrüste, kistik ovaryumların tedavisinde de kullanılabilir (82).

CIDR ile hedef çiftleştirme ve modifiye hedef çiftleştirme protokolleri ile ovulasyon ve total gebelik oranında iyileştirme sağlanabilmektedir.

Ayrıca progesteron ve östrojen uygulamaları ile Ovsynch protokolünün kombine edilmeesiyle östrüsün oluşmasını güçlendirmekte, dış (davranışsal) belirtilerini artırmakta ve östrüs tespitini kolaylaştırmaktadır. Bu yöntem en sık postpartump anöstrüs gösteren ineklerde uygulanır. Anöstrüslü hayvanlarda progesteron hipotalamus-hipofiz bağdaşımını sağlar, östrojen ise dominant follikülün olgunlaşması ve ovulasyonun şekillenmesi için gonadotropinlerin salınımını uyarır (83).

2.6.8. Re-senkronizasyon

Yukarıda uygulanan senkronizasyon protokolleri sonrası gebe kalmayan hayvanlarda uygun gebelik oranına ulaşmak için hayvanların mümkün olan en kısa sürede tekrar östrüs göstermeleri sağlanarak yeniden tohumlanabilmeleri için yeniden senkronizasyon programına başvurulabilmektedir (62).

Bu yöntemler, Fast back breeding (67, 84, 85), Ovsynch ile resenkronizasyon (62), Ovsynch-Heatsynch ile re-senkronizasyon (Jumpstart Resynch) (87, 88). PG ile re-senkronizasyon veya hızlı re-senkronizasyon (rapid resynch/RR) (63) oluşmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Çalışmada, bir örnek bakım ve besleme yapılan, en az bir kez doğum yapmış, postpartum 50 günü doldurmuş, sağlıklı, en az 3-4 yaşlı, 406 adet Holstayn ırkı inek kullanıldı. Ovulasyon senkronizasyon yöntemi uygulanmasından bir hafta önce yapılan genital organ muayenesinde anormallik tespit edilmeyen inekler çalışma gruplarına rastgele dahil edildi. Çalışmaya alınan tüm hayvanların IBR-IPV, BVD-MD, Brucella, Tüberküloz ve Leptospiroz gibi hastalıklara karşı tüm testleri yapıldı.

3.2. Hayvanların Gruplara Ayrılması

Çalışmada kullanılan inekler öncelikle Grup 1 (n=204) ve Grup 2 (n=202) olmak üzere Dalmarelin (Lesirelin asetat) ve Receptal (Buserelin asetat) uygulanacak iki ana gruba ayrıldı. Her bir grup ise kendi içlerinde iki gruba ayrıldı (Grup 1A (n=102), 1B (n=102) ve Grup 2A (n=101), 2B (n=101)). Bu gruplardan birer tanesine (Grup 1B ve 2B) Ovsynch protokolünde kullanılan GnRH analogları Lesirelin asetat (Dalmarelin, Vetaş, Türkiye) ve Buserelin asetat (Receptal, Intervet, Türkiye) intramuskuler yolla; diğer gruplara ise (Grup 1A ve 2A) epidural yolla uygulandı.

3.3. Hayvanlara Ovulasyon Senkronizasyon Yönteminin Uygulanması

Birinci GnRH enjeksiyonu: Grup 1A'daki ineklere 2,5 cc Dalmarelin (62,5 mg lesirelin asetat) ve Grup 2A'daki ineklere 2,5 cc Receptal (0,105 mg buserelin asetat) IM olarak uygulandı. Grup 1B'deki hayvanlara ise 2,5 cc Dalmarelin (50 mg lesirelin asetat) ve Grup 2B'deki ineklere 2 cc Receptal (0.105 mg buserelin asetat) epidural yolla (üst epidural) uygulandı.

PGF_{2α} enjeksiyonu: Birinci GnRH uygulamasından 7 gün sonra tüm gruplardaki ineklere 5 cc Dinoprost tromethamine (Dinolytic, Zoetis, Türkiye) IM olarak uygulandı.

İkinci GnRH enjeksiyonu: PGF_{2α} enjeksiyonundan 48 saat sonra, Grup 1A'daki ineklere 2,5 cc Dalmarelin (62,5 mg lesirelin asetat) ve Grup 2A'daki ineklere 2,5 cc Receptal (0.105 mg

buserelin asetat) IM olarak uygulandı. Grup 1B'deki hayvanlara ise 2,5 cc Dalmarelin (62,5 mg lesirelin asetat) ve Grup 2B'deki ineklere 2,5 cc Receptal (0.105 mg buserelin asetat) epidural yolla (üst epidural) uygulandı.

3.4. Hayvanların Tohumlanması

Gruplardaki tüm hayvanlar son GnRH uygulamasını takiben 20 saat sonra nitelikli ithal tohumlarla rektovaginal yöntemle tohumlandı.

3.5 Ultrasonografik Kontrol Düzeni

Çalışma boyunca hayvanlara ovaryum yapılarının, follikül dinamiğinin, ovulasyon zamanlarının ve gebeliğin belirlenmesi amacıyla; uygulamadan bir hafta öncesinde, birinci GnRH uygulamasında, PGF2 α enjeksiyonu aşamasında, ikinci GnRH enjeksiyonunda, tohumlama anında ve tohumlamadan 30-35 gün sonra, gebe hayvanlara gebeliğin devam edip etmediğinin belirlenmesi amacıyla tohumlama sonrası 60. gün transrektal ultrasonografik muayene yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışma gruplarına alınan ineklerin 1. GnRH günü ortalama PP gün sayısı, vücut kondüsyon skoru (VKS) ve süt verimi ortalamaları Tablo 1’de sunuldu.

Tablo1. Çalışma başlangıcında (1. GnRH günü) tüm gruplarda yer alan hayvanların PP gün sayısı, vücut kondüsyon skoru (VKS) ve Süt verimi ortalamaları

	PP Gün Sayısı		VKS		Süt Verimi	
	Min-Max	Ortalama± Std. Sapma	Min-Max	Ortalama± Std. Sapma	Min-Max	Ortalama± Std. Sapma
Grup 1A	51-154	86,4±26,3	2,00-3,00	2,6±0,3	13,10-33,05	23,7±4,1
Grup 1B	50-135	83,8±20,9	2,00-3,00	2,7±0,3	15,10-34,10	24,3±4,0
Grup 2A	59-164	79,9±18,9	2,00-3,00	2,6±0,4	13,60-45,10	32,5±6,6
Grup 2B	51-136	69,5±14,8	2,00-3,50	2,5±0,3	15,40-44,80	27,8±5,5

Çalışma boyunca (1. GnRH, PG, 2. GnRH ve ST sonrası 3. Gün) yapılan transrektal ultrasonografi muayenesinde belirlenen follikül ve CL varlığının gruplara göre dağılımı Tablo 2’de sunuldu.

Tablo. 2. Çalışma gruplarında 1. GnRH, PG, 2. GnRH ve ST sonrası 3. gün yapılan ultrasonografi kontrollerinde Follikül ve/veya CL olan-olmayan hayvan sayıları

		Grup 1A	Grup 1B	Grup 2A	Grup 2B
1. GnRH günü	Follikül	96 (94,1)	83 (81,4)	92 (91,1)	93 (92,1)
	CL	33 (32,4)	29 (28,4)	49 (48,5)	49 (48,5)
	F+ CL+	33 (34,4)	29 (34,9)	49 (53,3)	49 (52,7)
PG günü	Follikül	102 (100,0)	102 (100,0)	101 (100,0)	101 (100,0)
	CL	96 (94,1)	88 (86,3)	87 (86,1)	92 (91,1)
2. GnRH günü	Follikül	102 (100,0)	102 (100,0)	101 (100,0)	100 (99,0)
	CL	0 (0)	4 (3,9)	10 (9,9)	2 (2,0)
ST sonrası 3.gün	CL	98 (96,1)	101 (99,0)	97 (96,0)	96 (94,1)

Çalışma gruplarında (Grup 1A, 1B, 2A ve 2B) elde edilen östrüs oranları sırasıyla %92,2, %74, %87,1 ve %88,1; gebelik oranları sırasıyla %39,2, %36,3, %36,6 ve %33,7; embriyonik ölüm (EÖ) oranları sırasıyla %2,9, %2,9, %3,0 ve %2,0 olarak belirlendi (Tablo 2). Elde edilen östrüs oranları arasındaki farkın istatistiki olarak önemli ($P=0,02$) olmasına rağmen, elde edilen gebelik oranlarının istatistiki yönden değerlendirilmesinde istatistiki bir önem taşımadığı belirlendi ($P=0,878$). Gruplar arasında embriyonik ölüm oranları bakımından herhangi bir fark belirlenemedi ($p=0,965$).

Tablo 3. Çalışma gruplarında östrüs, gebelik ve embriyonik ölüm oranları

	Östrüs (%)	Gebe + (%)	EÖ(%)
Grup 1A	94 (92,2)	40 (39,2)	3 (2,9)
Grup1B	76 (74,5)	37 (36,3)	3 (2,9)
Grup2A	88 (87,1)	37 (36,6)	3 (3,0)
Grup2B	89 (88,1)	34 (33,7)	2 (2,0)
P değeri	0,02	0,878	0,965

Çalışma başlangıcında (1. GnRH günü) çalışma gruplarında yer alan hayvanların siklik durumlarının belirlenmesi amacıyla yapılan ultrasonografi muayenesinde Follikül ve CL belirlenen hayvanlarda elde edilen östrüs, gebelik ve embriyonik ölüm oranları gruplar arasında karşılaştırıldığında herhangi bir farka rastlanılmadı (Tablo 4).

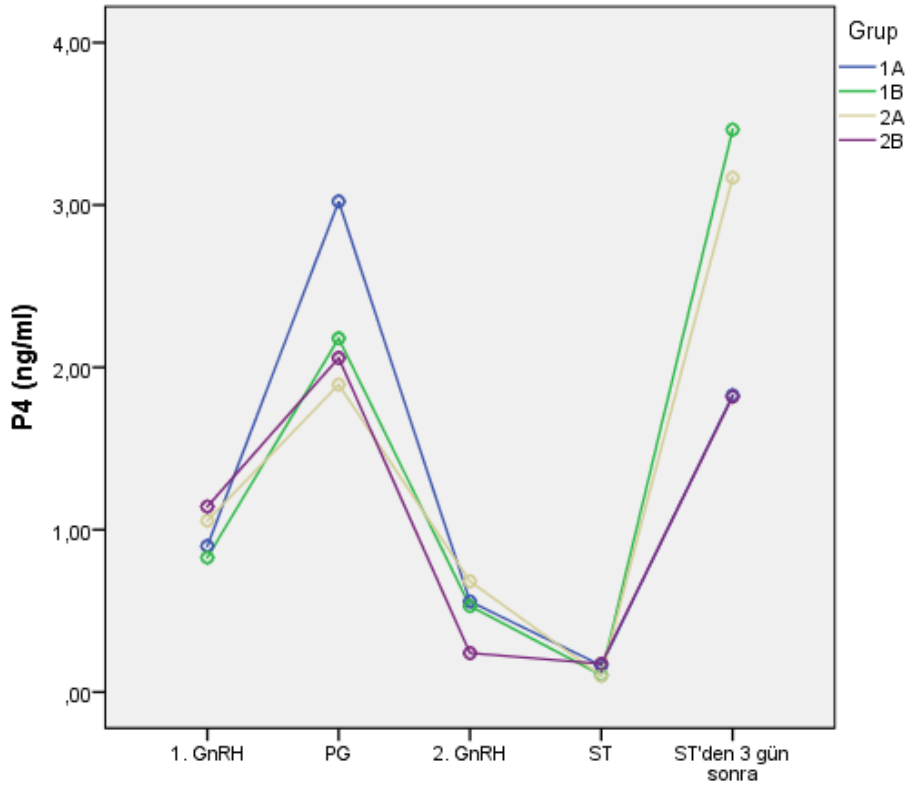
Tablo 4. Çalışma gruplarında 1. GnRH günü hayvanlardaki Follikül ve CL varlığına bağlı olarak elde edilen östrüs, gebelik ve embriyonik ölüm (EÖ) oranları

	1.GnRH günü							
	(F -) (CL -)		(F +) (CL -)			(F+) (CL+)		
	Östrus	Gebelik	Östrus	Gebelik	EÖ	Östrus	Gebelik	EÖ
Grup 1A	6 (100,0)	2 (33,3)	57 (90,5)	21 (33,3)	2 (3,2)	31 (93,9)	17 (51,5)	1 (3,0)
Grup 1B	16 (84,2)	7 (36,8)	43 (79,6)	21 (38,9)	3 (5,6)	26 (89,7)	9 (31,0)	0 (0)
Grup 2A	9 (100,0)	5 (55,6)	35 (81,4)	17 (39,5)	3 (7,0)	44 (89,8)	15 (30,6)	0 (0)
Grup 2B	6 (75,0)	4 (50)	36 (81,8)	13 (29,5)	0 (0)	47 (95,9)	17 (34,7)	2 (4,1)
P değeri	0,307	0,738	0,380	0,709	0,343	<0,001	0,222	0,388

Çalışma sonunda tüm gruplarda 1. GnRH, PG, 2. GnRH ve ST günü ve ST sonrası 3. gün alınan serum örneklerindeki progesteron düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında 2. GnRH günü ve ST sonrası 3. gün istatistiki bir farka rastlanıldı (Tablo 5). Ancak söz konusu günlerde belirlenen P4 düzeyleri beklenen düzeyde olduğundan bu durum göz ardı edildi (Şekil 1).

Tablo 5. Çalışma gruplarında 1. GnRH, PG, 2. GnRH ve ST günü ve ST sonrası 3. gün progesteron değerleri (ng/ml) (Ort±Std. Hata)

	1. GnRH günü	PG günü	2. GnRH günü	ST günü	ST'den sonraki 3. gün
	Ort±Std. Hata	Ort±Std. Hata	Ort±Std. Hata	Ort±Std. Hata	Ort±Std. Hata
Grup 1A	0,9±0,2	3,0±1,4	0,6±0,3	0,2±0,2	1,8±1,0
Grup 1B	0,8±0,2	2,18±1,5	0,5±0,3	0,1±0,1	3,46±1,9
Grup 2A	1,06±0,1	1,9±1,5	0,7±0,3	0,1±0,1	3,17±1,7
Grup 2B	1,14±0,3	2,06±1,1	0,2±0,3	0,2±0,2	1,82±0,07
P değeri	0,683	0,07	<0,001	0,333	0,001



Şekil 1. Çalışma gruplarında 1. GnRH, PG, 2. GnRH ve ST günü ve ST sonrası 3. gün progesteron değerleri (ng/ml)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Östrus siklusunu kontrol etmeye yönelik olarak yapılan tedavilerin amacı, sıkı bir östrus ve ovulasyon senkronizasyonu sonrasında optimal gebelik oranları sağlamaktır (89). Prostaglandinlerin veya progestagenlerin tek başlarına kullanıldığı klasik östrus senkronizasyon programları yeterli östrus yanıtı oluşturabilmelerine rağmen, sabit zamanlı tohumlamaya olanak sağlayacak ölçüde bir ovulasyon senkronizasyonu sağlayamamaktadır (89-93). Ovaryumların senkronizasyon programlarına değişken cevap vermesi, sığırlarda yeni ve etkili reproduktif teknolojilerin uygulanmasında en sınırlayıcı faktördür (17). Östrus siklusunun denetlenmesi, luteal fazın uzatılması yada kısaltılmasından, folliküler dalga düzeninin değiştirilmesine (GnRH'nın veya östradiolun kullanılmasıyla) kadar geniş uygulamaları kapsamaktadır. Östrus senkronizasyonundan başarı proöstrus süresindeki değişkenliğin denetlenmesine bağlıdır. Bu değişkenlik büyük oranda senkronizasyon periyodunun bitiminde dominant folliküllerin farklı gelişimsel aşamalarda olmalarından kaynaklanmaktadır (91). Bu nedenle senkronizasyon programlarının sonunda büyüme fazında olan sağlıklı bir dominant follikülün varlığına, dolayısıyla folliküler dalga gelişiminin kontrol altına alınmasına ihtiyaç duyulmaktadır (94).

Pursley ve çalışma arkadaşları (92), GnRH ve PGF 2α kullanarak ovulasyon zamanını etkili bir biçimde senkronize eden bir protokol geliştirmişlerdir. Daha sonra "ovsynch" olarak isimlendirilen bu protokolün folliküler gelişimi, luteal regresyonu ve ovulasyon zamanını senkronize ederek sabit zamanlı tohumlamaya olanak sağladığı bildirilmiştir (95). Gonadotropin releasing hormon, dekapeptit yapıda olup ilk olarak tarafından 1971 yılında bulunmuştur. Yaklaşık 1.000 hipotalamik nörondan hipofiz portal sistemine salınır (96, 97). Gonadotropin releasing hormon aminoasitlerinin önemli fonksiyonlarında görev alanlar 1, 2, 3, 6 ve 10 pozisyonunda olanlardır. Pozisyon 6'daki aminoasitler enzimatik klivajda, pozisyon 2 ve 3'tekiler gonadotropin salınımında, pozisyon 1, 6 ve 10'da olanlar ise üç boyutlu yapının korunmasında görev alırlar. İki-dört dakika kadar kısa bir yarılanma ömrüne sahiptirler ve bu özellikleri 5-6, 6-7 ile 9-10 numaralı aminoasitler arasındaki bağların çabuk yıkılmasına bağlıdır (96). Altı numaralı glisin aminoasitin D-aminoasitle yer değiştirmesi veya karboksi terminaline glisin-amid yerleştirilmesi uzun yarılanma ömrüne sahip GnRH agonistlerinin üretilmesini sağlamaktadır (96, 97).

Veteriner hekimlikte en sık kullanılan GnRH agonistleri; gonadorelin, buserelin, deslorelin, fertirelin, goserelin, leuprolide, lesirelin, nafarelin ve triptorelindir (98, 99). Histrelin, en güçlü GnRH agonistidir. Ancak ticari preparatı bulunmamaktadır (100).

Sunulan çalışmada GnRH analogu olarak kullanılan buserelin asetat sentetik olup, lesirelin asetat ise doğal GnRH analoglarından farklı olarak, nanopeptid yapıda olup, altıncı halkada D-tert lösin, 10. halkada etilamid ile glisin bulunan bir GnRH'tır. Lesirelin asetat bu yapısal farklılıkları nedeniyle spesifik hipofiz reseptörlerine daha kolay ve güçlü bir şekilde bağlanarak daha uzun bir etki oluşturduğu bildirilmektedir (101).

Lesirelin yapı olarak deka peptit değil de nonapeptit olması ve yapısının 10. pozisyonunda glisin yerine etilamino grubunun yer alması sebebiyle hipofizeal reseptörlerinin seçiciliğini artırarak LH ve FSH seviyelerinin yükselmesini ve doğal hormon ile 90 dk olan sürenin 240 dakikaya kadar uzamasını sağladığı ileri sürülmüştür (101).

Sunulan çalışmada, ineklerde uygulanan Ovsynch protokolünde uzun etkili GnRH epidural yolla kullanımının ovulasyon ve gebelik oranları üzerine etkisini araştırmak amaçlandı.

Normal şartlar altında herhangi bir günde işletmede bulunan gebe olmayan ineklerin %66'sının siklusun diöstrus döneminde olacağı belirtilmektedir (102). Cirit (103) yaptığı çalışmada ilk hormon uygulaması gününde gruplarda yer alan ineklerin ortalama %41,70'inin luteal dönemde olduğunu bildirmiştir. Sunulan çalışmada, çalışma başlangıcında Grup 1A, 1B, 2A ve 3B'te sırasıyla %32,4, %28,4, %48,5 ve %48,5 oranında CL tespit edildi. Elde edilen bulguların diğer çalışmalarla paralellik gösterdiği belirlendi.

Birçok araştırmacı GnRH-PGF₂α esasına dayanan protokollerde uygulanan ilk GnRH'nin, ovulasyona veya luteinizasyona neden olarak PGF₂α enjeksiyonu anında aktif bir CL bulunma oranını arttırdığını bildirmiştir (78, 93, 104). Pursley ve ark. (105) ovulasyon senkronizasyonunda PGF₂α enjeksiyonunda CL varlığının başarıyı etkilediğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Demiral ve ark. (106) yaptıkları çalışmada bu görüşü desteklemektedirler. Yapılan çalışmada PGF₂α enjeksiyonun yapıldığı gün (7. gün) ilk GnRH uygulamasının yapıldığı güne göre tüm gruplarda CL bulunan ineklerin sayısında bir artış gözlemlendi.

Ovsynch protokolünün kullanıldığı birçok çalışmada ovulasyon senkronizasyonunun başarısı, GnRH enjeksiyonundan sonraki 24-48. saatler arasında ovulasyon gösterenlerin oranı dikkate alınarak belirlenmiştir (58, 71, 107). Cirit (103) son PGF₂α enjeksiyonundan sonraki 48-96. saatler arasında ovulasyon gösterme oranlarının %73.7-%87.0 arasında değiştiğini bildirmiştir. Pursley ve ark. (92), laktasyondaki sütçü ineklerin %100'ünde son GnRH enjeksiyonu sonrası 24-32. saatlerde ovulasyonların gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Demiral ve ark. (106) yaptıkları çalışmada cosynch protokolü uyguladıkları hayvanlarda son GnRH enjeksiyonundan sonra 6 saat aralıklarla yaptıkları muayenelerde ovulasyonların (%99.7) 42.

saate kadar dağılım gösterdiğini, ancak en yüksek ovulasyon oranının (%35) 24-30. saatler arasında meydana geldiğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ovulasyonun belirlenmesi amacıyla ST sonrası 3. günde yapılan muayenelerde Grup 1A, 1B, 2A ve 2B’de ovulasyon oranları sırasıyla %96,1, %99,0, %96,0 ve %94,1 olarak belirlendi. Bildirilen bu verilerle sunulan çalışmada tespit edilen veriler uyum içerisindedir.

Pursley ve ark. (53) ovsynch uyguladıkları ineklerde gebelik oranını %55 olarak bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada Grup 1A, 1B, 2A ve 2B’de elde edilen gebelik oranları sırasıyla %39,2, %36,3, %36,6 ve %33,7 olarak belirlendi. Elde edilen gebelik oranının düşük olmasının nedeninin hayvanların postpartum gün sayısı, bakım ve beslenme koşulları, yaş ve canlı ağırlıklarındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünüldü.

Burke ve ark. (108) ineklerde yaptıkları ovsynch protokolünde elde edilen gebelik oranını %29 bildirirken, Stevenson ve ark. (109) ise elde ettikleri gebelik oranını %35.3 olarak bildirmişlerdir. Portaluppi ve Stevenson (80) ise, gerçekleştirdikleri çalışmada co-synch (%22.8) ve ovsynch (%23.5) programları arasında gebelik oranları açısından bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Vasconcelos ve ark. (58), ovsynch ile yaptıkları çalışmada, 0. gün ovaryumlarında ovule olabilecek büyük folliküllerin izlendiği ineklerde gebelik oranının (%32), küçük folliküllere sahip ineklerle (%42) kıyaslandığında belirgin olarak daha düşük olduğunu bildirmektedir. Sunulan çalışmada 0. gün (1. GnRH günü) büyük folliküllerin zilediği hayvanlarda Grup 1A, 1B, 2A ve 2B’de elde edilen gebelik oranları sırasıyla %33,3, %38,9, %39,5 ve %29,5 olarak tespit edildi. Elde edilen verilerin bildirilen çalışma sonuçları ile benzer olduğu belirlendi.

Schmitt ve ark. (110) düvelerde yaptıkları çalışmada ikinci GnRH enjeksiyonu yerine hCG kullandıkları grupta %53, GnRH kullanılan ovsynch grubunda %45.5 gebelik oranı bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada tüm gruplarda elde edilen gebelik oranları bildirilen çalışma ile uyum içerisinde bulundu.

Demiral ve ark. (106) gerçekleştirdiği çalışmada ise co-synch programı ile ineklerde elde edilen gebelik oranını %41 olarak bildirilmektedir. Sunulan çalışmada ovsynch protokolünün uygulandığı Grup 1A, 1B, 2A ve 2B’de elde edilen gebelik oranları sırasıyla %39,2, %36,3, %36,6 ve %33,7 olarak belirlendi. Sunulan çalışmada elde edilen verilerle Demiral ve ark. (106)’nın bildirdiği gebelik oranları benzer bulundu.

Kırbaş ve ark (111) GnRH analogu olarak lesirelin asetat kullandıkları ovsynch protokolünün başlangıcında hayvanları luteal döneme göre ayırarak yaptıkları çalışmada luteal dönemde

olan ve olmayan düvelerde gebelik oranlarını sırasıyla %41.9 ve %39.1 olarak bildirmişlerdir. Öztürk (112) postpartum dönemde ineklerde ovsynch protokolünde lesirelin asetat kullanarak yaptığı çalışmada elde edilen gebelik oranlarını siklik ve asiklik ineklerde sırasıyla %32.8 ve %23.1 olarak bildirmiştir. Sunulan çalışmada lesirelin asetatın kullanıldığı Grup 1A ve 2A'da gebelik oranları sırasıyla %39,2 ve %36,6 olarak tespit edildi. Sunulan çalışmada elde edilen oranların bildirilen çalışmalarla uyum içerisinde olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, ineklerde uygulanan Ovsynch protokolünde kullanılan GnRH analoglarının epidural yolla uygulanması gebelik oranlarında sayısal olarak bir artış sağlasa da; epidural enjeksiyonun sahada uygulanabilirliği düşünüldüğünde yeterli değere ulaşamadığı kanaatine varıldı.

6. KAYNAKLAR

1. Kalkan C, Horoz H. Pubertas ve Seksüel Sikluslar. Kitap: Alaçam E. (yazar), Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan, Ankara 1999; ss:25-42.
2. Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, Arthur GH. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics (8 th ed), Saunders, Philadelphia, USA 2001; 3-53.
3. Fike KE, Bergfeld EG, Cupp AS, Kojima FN, Mariscal F, Sanchez T, Wehrman ME, Grotjan HE, Hamernik DL, Kittok RJ, Kinder JE. Gonadotropin Secretion and Development of Ovarian Follicles during Oestrous Cycles in Heifers Treated with Luteinizing Hormone Releasing Hormone Antagonist. Anim Reprod Sci 1997; 49: 83-100.
4. Prevediville DJ, Enright WJ, Crove MA, Finnerty M, Roche JF. Normal or Induced Secretory Patterns of Luteinising Hormone and Follicle-Stimulating Hormone in Anoestrous Gonadotrophin-Releasing Hormone-Immunised and Cyclic Control Heifers. Anim Reprod Sci 1996; 45: 177-190.
5. Carruthers TD. Principles of Hormone Therapy in Theriogenology. In: Morrow DA. Current Therapy in Theriogenology 2. 2. ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986; 3-13.
6. Gore-Langton RE, Armstrong DT. Follicular Steroidogenesis and Its Control. In: Knobil E, Neill JD (eds). The Physiology of Reproduction Volume 1. 2. ed. Raven Press Ltd., New York, 1994; 571-627.
7. O'Rourke, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. The Effect of Dose and Route of Oestradiol Benzoate Administration on Plasma Concentrations of Oestradiol and FSH in Long-Term Ovariectomised Heifers. Anim Reprod Sci 2000; 59: 1-12.

- 8.** Bo GA, Bergfeit DR, Brogliatti GM, Pierson RA, Adams GP, Magletoft RJ. Local Versus Systemic Effect of Exogenous Estradiol-17 β on Ovarian Follicular Dynamics in Heifers with Progesteron implants. *Anim Reprod Sci* 2000; 59: 141-157.
- 9.** Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TAM, van Eerdenburg FJCM. Relationship Among Estradiol, Cortisol and Intensity of Estrus Behavior in Dairy Cattle. *Theriogenology* 2000; 53: 1783-1795.
- 10.** McDonald LE, Pineda MH. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 4. ed. Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1989.), (Peters AR, Ball PJH. *Reproduction in Cattle*. 2. ed. Blackwell Science Ltd., Cambridge, USA, 1995.
- 11.** Peters AR, Ball PJH. *Reproduction in Cattle*. 2. ed. Blackwell Science Ltd., Cambridge, USA, 1995.
- 12.** Momcilović D, Archibald LF, Walters A, Tran T, Kelbert D, Risco C, Thatcher WW. Reproductive Performance of Lactating Dairy Cows Treated with Gonadotrophin-Releasing Hormone (GnRH) and/or Prostaglandin PgF_{2a} (PgF_{2a}) for Synchronization of Estrus and Ovulation. *Theriogenology* 1998; 50: 1131-1139.
- 13.** İleri İK, Ak K, Pabuçcuoğlu S, Birler S. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını. Ders Notu No: 84, İstanbul, 1998.
- 14.** Webb R, Armstrong DG. Control of Ovarian Function; Effect of Local Interactions and Environmental Influences on Follicular Turnover in Cattle: A Review. *Livestock Production Science* 1998; 53: 95-112.
- 15.** Wiltbank MC, Fricke PM, Sangsritavong, Sartori R, Ginther OJ. Mechanisms that Prevent and Produce Double Ovulations in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2000; 83: 2998-3007.
- 16.** Rathbone MJ, Macmillan KL, Inskoop K, Burggraaf S, Bunt CR. Fertility Regulation in Cattle. *Journal of Controlled Release* 1998; 54: 117-148.
- 17.** Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous Control of Follicular Wave Emergence in Cattle. *Theriogenology* 1995; 43: 31-40.
- 18.** Yaakub H, Duffy P, O'Callaghan D, Boland MP. Effect of Timing of Oestradiol Benzoate Injection Relative to Gonadotropin Treatment on Superovulatory Response, and on Embryo Yield and Quality in Beef Heifers. *Anim Reprod Sci* 1998; 52: 191-204.
- 19.** Yılmaz B. *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi*. Birinci basım. Feryal Matbaacılık, Ankara, 1999.

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

31. Kojima FN, Chenault JR, Wehrman ME, Bergfeld EG, Cupp AS, Werth LA, Mariscal V, Sanchez T, Kittok RJ, Kinder JE. Melengestrol acetate at greater doses than typically used for estrous synchrony in bovine females does not mimic endogenous progesterone in regulation of secretion of luteinizing hormone and 17 β -estradiol. *Biol Reprod* 1995; 52: 455-463.
32. Kaneko H, Terada T, Taya K, Watanabe G, Sasamoto S, Hasegawa Y, Igarashi M. Ovarian follicular dynamics and concentrations of oestradiol-17 β , progesterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the cow. *Reprod Fertil Dev* 1991; 3: 529-535.
33. Kojima FN, Bergfeld EGM, Wehrman ME, Cupp AS, Fike KE, Mariscal-Aguayo DV, Sanchez-Torres T, Garcia-Winder M, Clopton DT, Roberts AJ, Kinder JE. Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim Reprod Sci* 2003; 77(3): 187-211.
34. Sirois J, Fortune JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 1988; 39: 308-317.
35. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70: 3615-3626.
36. Sirois J, Fortune JE. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 1990; 127: 916-925.
37. Turzillo AM, Fortune JE. Suppression of the secondary FSH surge with bovine follicular fluid is associated with delayed ovarian follicular development in heifers. *J Reprod Fertil* 1990; 89: 643-653.
38. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, Ginther OJ. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil* 1992; 94: 177-188.
39. Rose CM. Novel approaches to synchronize ovulation and improve conception rates to timed-AI in dairy heifers, Master thesis, Mississippi State University Animal and Dairy Science Mississippi, 2002; pp 8-17.
40. Alaçam E. Üremenin Kontrolü. Kitap: Alaçam E (Yazar) Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan Yayınevi, Ankara. ss 71-80.
41. Odde KG. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci.* 1190; 68: 817-830.

- 42.** Alaçam E. Üremenin Kontrolü. Kitap: Alaçam E (Yazar) Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan Yayınevi, Ankara. ss 71-80., Mihm M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cows. *Reprod Dom Anim.* 1999; 34: 277-284.
- 43.** Mihm M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cows. *Reprod Dom Anim.* 1999; 34: 277-284.
- 44.** Graves, WM, Lauren, EM. (Mayıs 2009). Dairy herd synchronization programs. Erişim: [<http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/B1227.htm>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009.
- 45.** Rensis FD. (2001) The control of reproduction in dairy cow. Erişim: [http://www.veterinaribrescia.it/conv/2001/16/De_Rensis.pdf] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
- 46.** Fricke PM (24 Mart 2004). The implementation and evolution of timed artificial insemination protocols for reproductive management of lactating dairy cows. Erişim [http://www.wisc.edu/dysci/uwex/rep_phys/pubs/ImplementationAndEvolutionofTAIProtocols.pdf] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
- 47.** Whittier JC, Geary TW. (2000) Frequently asked questions about synchronizing estrus and ovulation in beef cattle with GnRH. Prepared for Iowa Cooperative Extension CHIPS Beef Breeding Management Seminar, Ames, January 29, 2000.
- 48.** Thatcher WW, Moreira F, Pancarci SM, Bartolome JA Santos JE. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domest Anim Endocrinol* 2002; 23(1-2): 243-254.
- 49.** Bartolome JA, Archbald LF, Morresey P, Hernandez J, Tran T, Kelbert D, Long K, Risco CA, Thatcher WW. Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. *Theriogenology* 2000; 53(3):, 815-825.
- 50.** Grant E (2005). Estrous synchronization programs that help rebreed anestrous cows. Erişim: [<http://www.naab-css.org/education/timing.html>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
- 51.** Yániz JL, Murugavel K, López-Gatius F. Recent developments in oestrous synchronization of postpartum dairy cows with and without ovarian disorders. *Reprod Dom Anim* 2004; 39(2): 86-93.
- 52.** Fricke PM. (2004) Ovsynch, Presynch and the Kitchen-Synch: What's up with Synchronization Protocols? Erişim: [<http://www.wisc.edu/dysci/uwex/brochures/brochures/fricke.pdf>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.

53. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. *Theriogenology* 1995; 52: 1067-1078.
54. Pursley JR, KosorokMR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci* 1997; 80: 301-306.
55. RabieeAR, Lean IJ, StevensonMA. Efficacy of ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: A Meta-Analysis. *J Dairy Sci* 2005; 88: 2754-2770.
56. Palasz A, Garcia A, Gonzales A, Mapletoft RJ. Luteinizing hormone release in the cow: The effect of dose of two commercial gnRH preparations. *Theriogenology* 1989; 31 (1, abst): 237.
57. Kesler DJ and Steckler TL (2002) Synchronization of Estrus with Heatsynch. [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=375>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009.
58. Vasconcelos JLM, Silcox RM, Rosa GC, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999; 52(6): 1067-1078.
59. Moreira F, de la Sota RL, Diaz T, Thatcher WW. Effect of the day of estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J Anim Sci*, 2000; 78: 1568-1576.
60. Thatcher WW, Moreira F and Risco CA (2005) New strategies to increase pregnancy rates. Erişim: [<http://www.naab-css.org/education/Thatcher.html>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
61. Stevenson JS. Synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *Advances in Dairy Technology* 2001; 13: 379-392,
62. Thatcher WW, Bartolome JA, Sozzi A, Silvestre F, Santos JEP. Manipulation of ovarian function for the reproductive management of dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 2004; 28: 111-119.
63. O'Connor ML. (2002) Estrus synchronization programs for the dairy herd. Erişim: [<http://www.das.psu.edu/teamdairy>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.
64. Stevenson JS, Phatak AP. Inseminations at estrus induced by presynchronization before application of synchronized estrus and ovulation. *J Dairy Sci* 2004; 88: 399-405.
65. Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, Aali M, Dinn N. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers:

ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology* 2005; 64(7): 1457-1474.

66. Kesler DJ. (2002) Synchronization of Estrus in Heifers with MGA and PGF2 α . Erişim: [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=341>] Erişim Tarihi: 22 Haziran 2009.

67. Kesler DJ (2002) A New Procedure to Synchronize Estrus in Dairy Heifers: Progesterone Inserts and PGF2 α . Erişim: [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=342>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009.

68. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. Use of intravaginal Progesterone-Releasing Inserts in a synchronization protocol before timed AI and for synchronizing return to estrus in holstein heifers. *J Dairy Sci* 2005; 88: 957-968.

69. Moreira F, Risco C, Pires MFA, Ambrose JD, Drost M, DeLorenzo M, Thatcher WW. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology* 2000; 53: 1305-1319.

70. Foster H., Whittier JC, Burns PD, Breummer J, Field T, Geary TW. Half dose GnRH does not affect pregnancy rates with the Cosynch synchronization protocol. *J Anim Sci* 2001; 79(Suppl 2): 132.

71. Fricke PM, Guenther JN, Wiltbank MC. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 1998; 50(8): 1275-1284.

72. Navanukraw C, Redmer DA, Reynolds RP, Kirsch JD, Grazul-Bilska AT, Fricke PM. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 1551-1557.

73. Lopez FL, Arnold DR, Williamns J, Pancarci MS, Thatcher MJ, Drost M, Thatcher WW. Use of estradiol cypionate for timed insemination. *J Dairy Sci* 2000; 78(Suppl 1): 216.

74. Pancarci MS, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopez FL, Moreira F, Thatcher WW. Use of estradiol cypionate in a Presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002; 85: 122-131.

75. Stevenson JS, Tiffany SM, Lucy MC. Incidence and timing of estrus, LH surge, and ovulation in cows treated with the Ovsynch protocol with estradiol cypionate (ECP) Substituting for GnRH. *J Dairy Sci* 2000; 85(Suppl 1): 99.

- 76.** Bartolome JA, Silvestre FT, Arteche ACM, Kamimura S, Archbald LF, Thatcher WW. The use of Ovsynch and Heatsynch for resynchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography. *J Dairy Sci* 2002; 85(Suppl 1): 99.
- 77.** Lemaster JW, Yelich JV, Kempfer JR, Fullenwider JK, Barnett CL, Fanning MD, Selph JF. Effectiveness of GnRH plus prostaglandin F2 α for estrus synchronization in cattle of *Bos indicus* breeding. *J Anim Sci* 2001; 79(2). 309-316.
- 78.** StevensonJS, ThompsonKE, ForbesWL, Lamb GC, Grieger DM, Corah LR. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2 α with or without timed insemination. *J Anim Sci* 2000; 78: 1747-1758.
- 79.** Keith BR, Leslie KE, Johnson WH, Walton JS. Effect of presynchronization using prostaglandin F2 α and a milk-ejection test on pregnancy rate after the timed artificial insemination protocol, Ovsynch. *Theriogenology* 2005; 63(3): 722-738.
- 80.** Portaluppi MA, Stevenson JS. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variations of the ovsynch protocol. *J Dairy Sci* 2005; 88: 914-921.
- 81.** DeJarnette M, Marshall CE. Effects of Presynchronization using combinations PGF(2 α) and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 2003; 77(1-2): 51-60.
- 82.** Kesler DJ. (2004) Estrus Synchronization with CIDRs. Erişim [<http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=6571>] Erişim tarihi: 22 Haziran 2009
- 83.** Patterson DJ, Kojima FN, Smith MF. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *J Anim Sci* 2003; 81: 166-177.
- 84.** Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA, Wood-Follis SL. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2039-2049.
- 85.** StevensonJS, JohnsonSK, Medina-Britos MA, Richardson-Adams AM, Lamb GC. Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. *J Anim Sci* 2003; 81: 1681-1692.
- 86.** StevensonJS, JohnsonSK, Medina-Britos MA, Richardson-Adams AM, Lamb GC. Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. *J Anim Sci* 2003; 81: 1681-1692.

- 87.** Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, Swift K, Kelbert D, Archbald LF, Thatcher WW. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows using the ovsynch and heatsynch protocols initiated 7 days before pregnancy diagnosis on day 30 by ultrasonography. *Reproduction, Fertility and Development* 2004; 16(2): 126–127.
- 88.** Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, Swift K, Kelbert D, Archbald LF, Thatcher WW. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows III. Administration of GnRH 23 days post AI and ultrasonography for nonpregnancy diagnosis on day 30. *Theriogenology* 2005; 63(6): 1643-1658.
- 89.** Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous Control of Follicular Wave Emergence in Cattle. *Theriogenology* 1995; 43: 31-40., Burke CR, Day ML, Bunt CR, Macmillan KL. Use of a Small Dose of Estradiol Benzoate During Diestrus to Synchronize Development of the Ovulatory Follicle in Cattle. *J. Anim. Sci* 2000; 78 (1): 145-151.
- 90.** DeJarnette JM, Wallace RW, House RB, Salverson RR, Marshall CE. Attenuation of Premature Estrous Behavior in Postpartum Beef Cows Synchronized to Estrus using GnRH and PgF2a *Theriogenology* 2001; 56: 493-501.
- 91.** Macmillan KL, Burke CR. Effects of Oestrous Cycle Control on Reproductive Efficiency. *Anim. Reprod. Sei* 1996; 42: 307-320.
- 92.** Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of Ovulation in Dairy Cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44: 915-923.
- 93.** Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE. Reproductive Performance of Dairy Cows in Various Programmed Breeding Systems Including OvSynch and Combinations of Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin F2 α . *J. Anim. Sci* 1999; 82 (3): 506-515.
- 94.** Rivera GM, Gohi CG, Chaves MA, Ferrero SB, Bo GA. Ovarian Follicular Wave Synchronization and Induction of Ovulation in Postpartum Beef Cows. *Theriogenology* 1998; 49: 1365-1375.
- 95.** Ryan DP, Galvin JA, O'Farrel KJ. Comparison of Oestrus Synshronization Regimens for Lactating Dairy Cows. *Anim. Reprod. Sei* 1999; 56: 153-168.
- 96.** Demirool A, Bozdağ G, Gürgan T. GnRH agonistleri ve antagonistleri: güncel yönleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2006; 13 (2): 135-140.

- 97.** Millar RP. GnRHs and GnRH receptors. *Anim Reprod Sci.* 2005; 88 (1-2): 5-28., Schneider F, Tomek W, Gründker C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology.* 2006; 66 (4): 691-709.
- 98.** Padula AM. GnRH analogues—agonists and antagonists. *Anim Reprod Sci.* 2005; 88 (1-2): 115-126.
- 99.** Peters AR. Veterinary clinical application of GnRH-questions of efficacy. *Anim Reprod Sci* 2005; 88 (1-2):155-167.
- 100.** Herbert CA, Trigg TE. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim Reprod Sci.* 2005; 88 (1-2): 141-153.
- 101.** Martin, R., Schmauber, M., Seidl, S., Schmauder, S., Mansfeld, R. Use of lecorelin in dairy cows to improve the conception rate at first insemination. *Der Praktische Tierarzt.* 2005; 86 (12): 914-918.
- 102.** Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS. Stage of Cycle, Incidence, and Timing of Ovulation, and Pregnancy Rates in Dairy Cattle after Three Timed Breeding Protocols. *J. Dairy Sci.* 2001; 84 (5): 1051-1059.
- 103.** Cirit Ü. Siyah alaca ineklerde PGF₂ α ve GnRH'nın farklı kombinasyonları ile östrus senkronizasyonu çalışmaları, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2002; ss 90
- 104.** Peters AR, Mawhinney I, Drew SB, Ward SJ, Warren MJ, Gordon PJ. Development of a Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin Regimen for Planned Breeding of Dairy Cows. *Veterinary Record* 1999; 145: 516-521.
- 105.** Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci,* 1997; 80: 295-300.
- 106.** Demiral O, Ün M, Abay M, Bekyürek T, Öztürk A. The Effectiveness of Cosynch Protocol in Dairy Heifers and Multiparous Cows. *Turk J Vet Anim Sci.* 2006; 30: 213-217.
- 107.** Cordoba MC, Fricke PM. Evaluation of Two Hormonal Protocols for Synchronization of Ovulation and Timed Insemination in Dairy Cows Managed in Grazing-Based Dairies. *J. Dairy Sci* 2001; 84: 2700-2708.

- 108.** Burke JM, de la Sot RL, risco CA, Staples CR, Schmitt EJP, hatcher WW. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 1996; 79: 1385-1393.
- 109.** Stevenson JS, Kobayashi Y, Shipka MP, Rauchholz KC. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F2 alpha. *J Dairy Sci.* 1996; 79: 402-410.
- 110.** Schmitt EJP, Diaz T, Drost M, Thatchet WW. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist for timed insemination in cattle. *J Anim Sci.* 1996; 74: 1084-1091.
- 111.** Kırbaş M, Çoyan K, Bülbül B, Ataman MB, Köse M, Akman O, Dursun Ş. İnek ve düvelerde luteal akyivitenin ovsynch protokolüne etkisi. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi, 25-28 Ekim 2007, Antalya, Türkiye, ss 142-143.
- 112.** Öztürk A. Postpartum dönemdeki siyah alaca ineklerde ovsynch protokolünden iki gün önce PGF2 alfa ilavesinin östrus siklusu ve fertiliteye etkisi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, ss8