

İNEKLERDE POST PARTUM DÖNEMDE PROSTAGLANDİN F_{2α} UYGULAMASININ OVARYUM AKTİVİTESİNE ETKİSİ*

Meltem ŞİRELİ**

Fahri BÖLÜKBAŞI***

The Effects of PGF_{2α} Treatment on Ovarial Activity During The Post Partum Period in Cows.

Summary: This research was carried out in cows in order to investigate the effects of long term and high dosage PGF_{2α} applications and to imitate the post partum period artificially.

Three 2-year-old dairy cows were used in this research. In order to synchronize the oestrus cycles, 2 ml Estrumate was applied to each animal twice with a 11-day interval intramuscularly. Oestrus cycles were evaluated by determining the blood progesterone levels and the most active period of oestrus was found to be about the 9th day of application. Starting on this day, 25 mg PGF_{2α} was injected intramuscularly thrice a day with 8 hour intervals (8.00-16.00-24.00) during the following 10 days. Before each injection, blood samples were taken from jugular vein. After these 10 days, blood sampling was continued with one day intervals, up to the end of next cycle. Plasmas of the blood samples were separated and stored at -20° C.

Plasma oestradiol-17β, progesterone and 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} levels were determined by enzymeimmunoassay method. Progesterone levels which averaged 1.789 0.730 ng/ml in the pre-injection period (period I) dropped to an average of 0.608 0.192 ng/ml in the injection period (period II) and increased to an average of 2.416 0.697 in post-injection period (period III). The difference between period II and period III was found to be significant (p<0.01). The mean oestradiol-17β levels are 2.688 1.097 pg/ml in period I, 1.589 0.502 pg/ml in period II and 2.893 0.861 pg/ml in period III. In addition to these, the mean 15-keto-13,14-dihidro PGF_{2α} values were 2.000 0.632 pmol/ml in period II and 0.291 0.080 pmol/ml in period III (p<0.001). Period I PGF_{2α} value was found to be 0.075 0.030 pmol/ml on the average, hence a considerable difference was obtained compared to period II (p<0.001). The difference between period I and period II 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} average plasma values was statistically significant (p<0.05).

Özet: Bu araştırma, ineklere uzun süreli ve yüksek dozda uygulanan PGF_{2α}'nin etkilerini incelemek ve yapay olarak doğum sonrası dönemi canlandırmak için yapılmıştır.

Araştırmada iki yaşında üç adet süt ineği kullanılmıştır. Araştırmadan önce hayvanların östrus sikluslarının senkronizasyonu amacıyla kas içi 2 cc Estrumate her hayvana 11 gün ara ile iki kez uygulanmıştır. Kan örneklerinde progesteron düzeylerine bakılarak östrus siklusları tespit edilmiş ve östrus'un en aktif dönemi belirlenerek çalışmaya östrusun 9. gününde başlanmıştır. Bu

* Bu çalışma A.Ü. Araştırma Fonu desteğiyle (Proje No: 93 30 00 12) doktora tezi olarak yürütülmüştür.

** Araş. Gör. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

*** Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

günden itibaren 10 gün süreyle ve 8'er saat ara ile günde 3 kez (saat: 8.00-16.00-24.00) 25'er mg $PGF_{2\alpha}$ kas içi verilmiştir. Her enjeksiyondan önce vena jugularisten kan alınmış ve 10 günlük uygulama sonrasında bu hayvanlardan gün aşırı kan örneklerinin toplanmasına bir sonraki siklusun sonuna kadar devam edilmiştir. Elde edilen kanların plazmaları ayrılarak $-20^{\circ}C$ 'de saklanmıştır.

Plazmalarda östradiol-17 β , progesteron ve 15-keto-13, 14-dihidro- $PGF_{2\alpha}$ miktarları enzyeimunoassay yönetimi ile belirlenmiştir. Plazma progesteron düzeyi enjeksiyon öncesi (I. dönem) ortalama 1.789 0.730 ng/ml'den enjeksiyon döneminde (II. dönem) 0.608 0.192 ng/ml'ye düşmüş, III. dönemde ise bu değer 2.416 0.697 ng/ml'ye yükselmiştir. II. dönem ile III. dönem değerleri $p < 0.01$ önem derecesinde farklı bulunmuştur. Östradiol-17 β değerleri I. dönem ortalama 2.688 1.097 pg/ml, II. dönem 1.589 0.502 pg/ml ve III. dönem 2.893 0.861 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten 15-keto-13, 14-dihidro- $PGF_{2\alpha}$ metaboliti ortalama değerleri II. dönemde 2.000 0.632 pmol/ml, III. dönemde ise 0.291 0.080 pmol/ml olarak bulunmuştur ($p < 0.001$). I. dönem değerleri ise ortalama 0.075 0.030 pmol/ml düzeyinde gözlenmiş ve I. dönem ile II. dönem arasında önemli bir fark bulunmuştur ($p < 0.001$). I. dönem ile II. dönem arasında ise 15-keto-13,14-dihidro- $PGF_{2\alpha}$ ortalama plazma değerleri açısından farklılık $p < 0.05$ oranında önemli bulunmuştur.

Giriş

Süt hayvancılığı yetiştirilmesinde post partum dönem, fertilité ile doğrudan ilişkili olduğundan oldukça önemlidir (4). Doğum ile başlayan post partum dönem uterus involüsyonunun tamamlanması, ovaryal siklusun ve normal östrus semptomlarının şekillenmesiyle sona erer (17). Bu dönemde fertilité uterus enfeksiyonları ve ovaryal bozuklukları içeren birçok faktörden etkilenir (2, 7, 27, 32).

Doğum sonrası yeniden gebe kalabilme süresi ortalama 85-100 gün kadar olmasına rağmen (12, 31, 33), kötü bakım koşullarına bağlı olarak uterusu yerleşen mikroorganizmalar ile bu süre uzayabilmekte (13, 16) ve $PGF_{2\alpha}$ salınımı artmakta (13, 14) ve bu da üreme performansını baskılayabilmektedir (16).

İneklerde doğumdan sonra uterus involüsyonunun tamamlanmasına kadar devam eden $PGF_{2\alpha}$ korpus luteumun oluşumuna ve folliküllerin gelişimine etki eder. Bu aşamada kanda progesteron, östradiol-17 β düzeylerindeki değişiklikleri de dikkati çeker. Doğumu takiben progesteron periferal kanda bazal düzeye iner (14.22) ve ilk 14 günlük post partum dönem süresince devam eder (9). Progesteron hormonunun miktarındaki değişiklikler ovaryum aktivitesini açıklayarak, ilk östrusu, ilk ovulasyonu, atılamayan fetal membranları ve anöstrus dönemlerini belirler (11). Doğum sonrası ovaryum aktivitesinin değerlendirilmesinde en yaygın metotlar arasında sayılan kan ve sütte

progesteron miktarının belirlenmesi yoluyla östrus tespitinde %53-77 oranında başarı kaydedildiği bildirilmektedir (38).

Doğumdan sonra yavru zarlarının atılmasıyla hızla düşen östradiol-17 β düzeyi ise ilk seksüel siklusun oluşumuna kadar aynı düzeyini korur (10, 37). Post partumun deneysel olarak oluşturulduğu bir çalışmada progesteron düzeyindeki hızlı düşüşü takiben östradiol-17 β 'da iki yükselme gözlenmiştir (15).

Post partum dönemdeki hormon analizlerinin, özellikle östrus semptomları göstermeyen ineklerin östruslarının tespit edilmesi yanında, üreme organlarının ve patolojik durumlarının belirlenmesinde önemli kriterler olabileceği bildirilmektedir (37).

Bu çalışmada, normal östrus siklusu model olarak alınmış, uzun sürede ve yüksek dozda $PGF_{2\alpha}$ uygulanarak post partum dönemin taklit edilmesi böylece $PGF_{2\alpha}$ 'nın folliküler gelişimi ve korpus luteumun oluşumu üzerindeki etkisi hormonal parametreler yönünden araştırılarak, doğum sonrası ovaryum fizyolojisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırma Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Lalahan Hayvancılık Enstitüsünden sağlanan iki yaşındaki üç adet süt ineği üzerinde yürütüldü.

Araştırmadan önce hayvanların östrus sikluslarının senkronizasyonu amacıyla her üç ineğe kas içi 2 cc Estrumate (sentetik $PGF_{2\alpha}$

DiF) 11 gün ara ile iki kez uygulandı (26). Bu enjeksiyonlardan sonra östrus siklus dönemlerini tespit etmek amacı ile gün aşırı kan örnekleri alındı. Östrusun en aktif olduğu dönem belirlemek için 9. günden itibaren 10 gün süre ile ve günde 8 saat arayla 3 kez (8.00-16.00-24.00) 25'şer mg PGF_{2α} (dinolitik, Upjohn) kas içi verildi (15, 38). Enjeksiyonlardan hemen önce vena jugularisten kan örnekleri alındı. 10 günlük uygulama sonrasında bu hayvanlardan gün aşırı kan örneklerinin toplanmasına bir sonraki östrus siklusunun sonuna kadar devam edildi.

Çalışma süresince vena jugularisten alınan kan örnekleri prostaglandin metabolizasyonunu inhibe etmek ve pıhtılaşmayı önlemek amacıyla içinde prostaglandin stabilatör madde bulunan tüplere alındı, 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek (Hettich) plazmaları ayrıldı ve -20 °C'de saklandı (39). Plazmalarda östradiol-17β, progesteron ve 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} miktarları enzimimmunoassay yöntemi ile belirlendi (18, 19, 29). Sonuçların değerlendirilmesinde "t" testinden yararlanıldı (21).

Bulgular

Bu araştırmada ineklere uzun süreli ve yüksek dozda PGF_{2α}'nın verilmesi ile doğum sonrası dönem hormonal açıdan yapay olarak canlandırıldı. 15-keto-13,14-dihidro-prostaglandin, PGF_{2α}, progesteron ve östradiol-17β hormonlarının arasındaki ilişki ovaryum aktivitesi açısından araştırılıp yüksek dozda verilen PGF_{2α}'nın etkisi incelendi.

Senkronizasyon sonrası değerler çalışmada I. dönem, 25 mg PGF_{2α}'nın 8 saat ara ile günde üç kez uygulandığı 10 günlük zaman aralığı II. dönem ve bu 10 günü takip eden günleri kapsayan period ise III. dönem olarak ifade edilirken, şekillerde bu zaman aralıkları I. dönem (-), III. dönem (+) ve II. dönem işaretli olarak belirlendi. I. dönemdeki değerler kontrol grubu olarak değerlendirildi. Bu dönemde plazma progesteron düzeyi ortalama 1.789 0.730 ng/ml olarak belirlenirken, II. dönemde ortalama değer 0.608 0.192 ng/ml bulundu. Bu iki dönem arasında progesteron düzeyi istatistiksel açıdan önemsiz görüldü. III. dönemde hayvanların ortalama plazma progesteron düzeyi 2.416 0.697 ng/ml olarak gözlemlendi. İstatistiksel açıdan II. ve III. dönem arasında fark anlamlı bulundu (p<0.01). I. ve III. dönem arasında istatistiksel açıdan fark bulunamadı (Tablo 1, Şekil 1).

I., II. ve III. dönem plazma östradiol -17β ortalama düzeyleri sırasıyla 2.688 1.097,

Tablo 1. I., II. ve III. dönem ortalama plazma progesteron değerleri.

Table 1. The mean values of plasma progesterone in the periods of I., II. and III.

PROGESTERON (ng/ml)	
	X SE
I. DÖNEM (n=6)	1.789 0.730
II. DÖNEM (n=10)	0.608 0.192
III. DÖNEM (n= 12)	2.416 0.697

II-III: p<0.01

Tablo 2. I., II. ve III. dönem ortalama plazma östradiol-17β değerleri.

Table 2. The mean values of plasma oestradiol-17β in the periods of I., II. and III.

ÖSTRADIOL-17β (pg/ml)	
	X SE
I. DÖNEM (n= 6)	2.688 1.097
II. DÖNEM (n= 10)	1.589 0.502
III. DÖNEM (n= 12)	2.983 0.861

Tablo 3. I. ve II. ve III. Dönem ortalama plazma 15-keto-13, 14-dihidro PGF_{2α} değerleri.

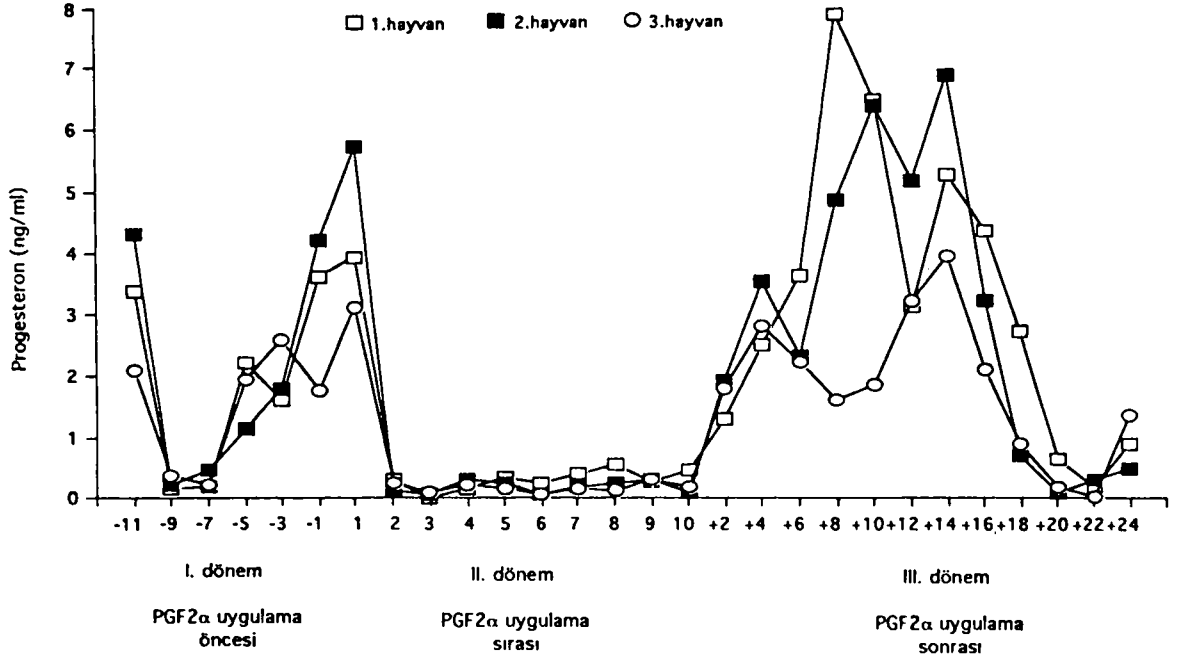
Table 3. The mean values of plasma 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} in the periods of I., II. and III.

15-KETO-13, 14-DİHİDRO-PGF _{2α} (pmol/ml)	
	X SE
I. DÖNEM (n=6)	0.075 0.030
II. DÖNEM (n= 10)	2.000 0.632
III. DÖNEM (n= 12)	0.291 0.080

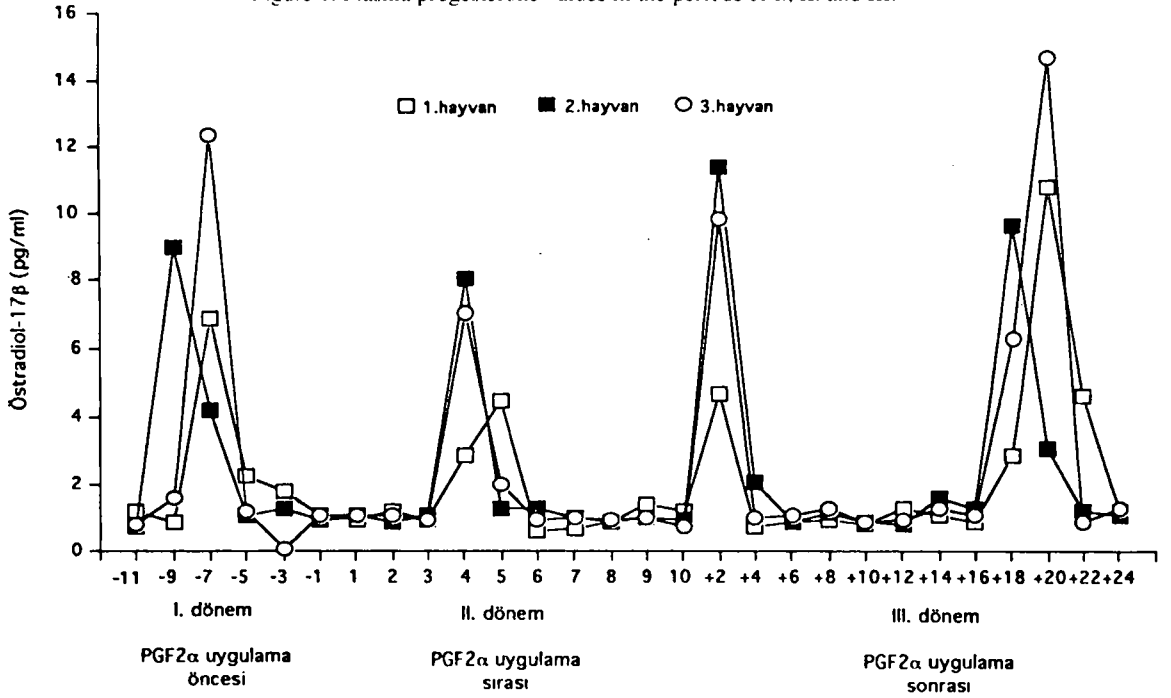
I- II: p<0.001, II-III: p<0.001 ve I-III: p<0.05

1.589 ve 2.983 0.861 pg/ml olarak belirlendi. Her üç dönem arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi (Tablo 2, Şekil 2).

Plazma 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} düzeyi I. dönemde ortalama 0.075 0.030 pmol/ml iken ikinci dönemde 2.000 0.632 pmol/ml olarak saptandı. İki dönem arasında p<0.001 düzeyinde anlamlılık gözlemlendi. III. dönem plazma 15-keto-13, 14-dihidro-prostaglandin F_{2α} değeri 0.291 0.08 pmol/ml olarak belirlendi. II. ve III. dönemler arası fark p<0.001, I. ve III. dönemler arası fark ise p<0.05 düzeyinde belirlemek istatistiksel açıdan önemli bulundu (Tablo 3, Şekil 3).



Şekil 1. I., II. ve III. dönem plazma progesteron değerleri.
Figure 1. Plasma progesterone values in the periods of I., II. and III.

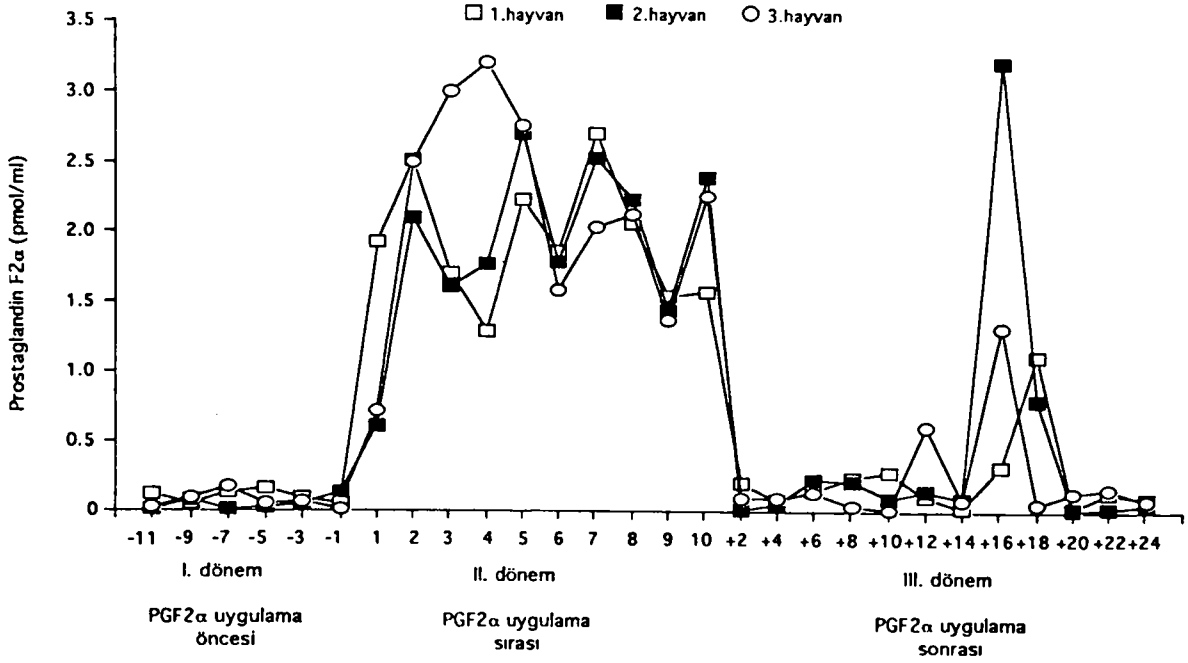


Şekil 2. I., II. ve III. dönem plazma östradiol-17 β değerleri.
Figure 2. Plasma oestradiol-17 β values in the periods of I., II. and III.

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada sağlıklı ineklerde doğum sonrası dönemin hormonal açıdan yapay olarak canlandırılması amaçlanmıştır. Hayvan materyali olarak Kindahl ve ark. (24) ile Maule ve ark.'nın (28) çalışmalarından esinlenerek üç süt

ineği yeterli görülmüştür. 10 gün süreyle günde üç kez (8, 16. ve 24. saatlerde) kas içi uygulanan 25 mg PGF $_{2\alpha}$, Fredriksson ve ark.'nın (15) kullandıkları doza benzerlik göstermektedir. Bu doz korpus luteumun bastırılması açısından Seguin'in (36) uyguladığı dozdan biraz düşük olup, Callahan ve Horstman'inki (5) ile aynıdır.



Şekil 3. I., II. ve III. dönem plazma 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} değerleri.

Figure 3. Plasma 15-keto-13, 14-dihydro-PGF values in the periods of I., II. and III.

Kan örneklerinin değerlendirilmesinde radioimmunoassay yöntemine alternatif olarak geliştirilen enzyeimmunoassay yöntemi, hassaslığı, hızlılığı (6), ekonomik oluşu, radyoaktif özellikte olmaması (30, 34, 40), sonucun okunmasındaki kolaylığı gibi birçok avantajından dolayı çalışmada kullanılmıştır.

Elde edilen progesteron ve 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} metabolitindeki hormonal değişiklikler, doğum sonrası dönemdekilere benzer bulunduğundan, PGF_{2α} uygulama programının başarılı olduğu düşünülmektedir. Aynı benzerliğin östradiol-17β'da olmamasının nedeni, normal doğumda yavruyla birlikte çok fazla miktarda östradiol-17β'nın kaybedilmesi ve bu dönemde plazma östradiol-17β'nın düşük seviyede olmasından kaynaklanmış olabilir, nitekim benzer bulgulara literatürde rastlanmaktadır (35, 37).

Senkronizasyondan sonra PGF_{2α} uygulananıncaya değin üç hayvanın ortalama plazma progesteron değerleri Benmard ve Stevenson'un (2) benzerlik gösterirken, Lemon ve ark.'ninkinden (25) biraz yüksek bulunmuştur.

Benmard ve Stevenson (2), normal östrus siklusundaki hayvanlarda oluşan kızgınlığın, progesteron değerinin 1 ng/ml'yi aşması ile tespit edilebileceğini ifade etmişlerdir. Anılan araştırmacıların verdikleri bu değer, çalışmanın I. döneminde elde edilen ortalama plazma pro-

gesteron düzeyinin altında bulunması (1.789 ng/ml), her üç hayvanda da kızgınlığın şekillenmiş olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte hayvanlarda kızgınlık semptomları hafif ama devamlı olarak şekillenmiştir.

Prostaglandin uygulaması ile yapay olarak canlandırılmaya çalışılan doğum sonrası dönemde (II. Dönem) ortalama plazma progesteron düzeyi, normal doğum sonrasına ait literatürlere benzerlik göstermektedir (3, 8, 20, 23).

I. ve II. dönem arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiş olmasına karşın, I. döneme göre II. dönemde progesteron düzeyindeki aritmetiksel düşüş post partum dönemin canlandırılmış olması açısından anlamlı bulunmuştur.

PGF_{2α} uygulamasının sona ermesi ile plazma progesteron miktarı 20. günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. III. dönemdeki bu değer, I. döneme göre yüksek olmaktadır. Bu durum sürelili ve yüksek dozda uygulanan PGF_{2α}'nın ovaryumda foliküler gelişmeye olumlu bir etkisinin bulunmasının tamamen rastlantılara bağlı olmayacağını düşündürmektedir.

Çalışmada I., II. ve III. döneme ait plazma östradiol-17β miktarında dalgalanmalar meydana gelmiştir. Östradiol-17β miktarındaki bu iniş ve çıkışların foliküler olgunlaşmayla ilgili olduğu sanılmaktadır. Literatürde (15), luteal aktivi-

tenin olmaması ardarda gelen yükselmelerin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır.

PGF_{2α} uygulamasının gerçekleştirildiği II. dönemin dördüncü gününde ve uygulama sonrasındaki (III. dönem) ikinci günde plazma östradiol-17β değerinde her üç hayvanda da belirli bir yükselme gözlemlendi (Şekil 2). Bu üç dönem arasında istatistiksel açıdan fark görülmemesinin nedeni ise plazma östradiol-17β değerlerindeki görülen değişikliklere bağlanmaktadır (15).

Çalışma süresince plazma progesteron düzeyine bakılarak foliküler gelişimin şekillenmediği gözlemlenmiş ve oluşacak foliküllerin yüksek ve sabit dozda kullanılan PGF_{2α} ile inhibe edildiği sonucuna varılmıştır.

I., II. ve III. dönemlere ait plazma 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} değerleri ile plazma progesteron değerleri arasında zıt bir ilişkinin olduğu gözlemlenmiştir. I. dönemde en yüksek değere ulaşan plazma progesteron düzeyine göre plazma 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} metabolit düzeyi oldukça düşük seyrederken, III. dönemde bu ilişkinin tersine döndüğü görülmüştür.

Plazma 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} metaboliti düzeyi II. dönemdeki değeri Welch ve ark.'nın (41), doğumdan sonraki 24. ve 48. saatlerde bulduklarına benzerlik göstermektedir. Auimlamai ve ark. (1) PGF_{2α} düzeyinin doğumdan sonra devamlı olarak küçük değişikliklerle sabit kalarak yükseldiğini ve bu yükselmenin ise normal östrus siklusu gösteren hayvanların luteoliz evresindeki gibi inişli çıkışlı olmadığını bildirmektedir. Çalışmanın I. döneminde üç hayvanda da 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α} değerinin az da olsa iniş ve çıkışlar göstermiş olmasına karşın, II. dönemde bu düzey oldukça yüksek bir noktaya ulaşmış ve bu noktaya bağlı olarak hafif dalgalanmalar göstermiş olmasından dolayı anılan araştırmacıların verilerine benzerlik göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada ineklere uzun süreli ve yüksek dozda verilen PGF_{2α} hayvanlarda III. dönem plazma progesteron düzeyini I. döneme göre yükseltmiştir. Bu durum PGF_{2α}'nın uygulama doz ve süresinin foliküllerin gelişimi ve korpus luteumun oluşumu üzerine olumlu etkisini göstermektedir. II. dönemde uygulanan PGF_{2α} ile doğum sonrası dönem hormonal açıdan canlandırılmıştır. Bu gözlem ise, plazma progesteron düzeyinin II. dönemde PGF_{2α} uygulamasıyla minimum düzeye inmesi-

ne, buna ilaveten de 15-keto-13, 14-dihidro-PGF_{2α}'nın aynı dönemde en yüksek değerlere ulaşmasına ait bulgulara dayanılarak yorumlanmıştır. Ancak doğum sonrası dönemin canlandırıldığı II. dönemde plazma östradiol-17β düzeyindeki dalgalanmalar, doğum sonrasına ait literatürlerde verilen bulgulara benzerlik göstermemiş, bu farklılık da normal doğumda plasenta kaynaklı östradiol-17β'nin kaybedilmesine bağlanmıştır. Dolayısıyla çalışmada böyle bir yitimin söz konusu olmamasından östradiol-17β'deki dalgalanmalar foliküllerin oluşumu ile ilişkili olduğu kanısını uyandırmıştır. Bu yorumumuz Fredriksson ve ark.'nın (15) ineklerde uzun süreli ve yüksek dozda PGF_{2α} uygulamasının korpus luteum oluşumu üzerine etkisinin incelendiği çalışmasındaki düşünce ve yorumları doğrular niteliktedir.

Kaynaklar

1. Auimlamai, S., Kindahl, H., Fredriksson, G. & Edqvist, L.E. (1992). Interrelationship of prostaglandin F_{2α} progesterone and oestrone sulphate in immediate periparturient period in bovine species. Proc 12 th Int Congr Anim Rep, August 23-27, Hague, Netherlands, 2, 831-833.
2. Benmard, M. & Stevenson, J.S. (1985). Gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F_{2α} for post partum dairy cows. J Dairy Sci, 69, 800-811.
3. Blasco, I. & Revilla, R. (1992). Characterization of progesterone profile in post partum beef cows. Proc 12th Int Congr Anim Rep, Hague, Netherlands, 1, 27-29.
4. Britt, J.H. (1975). Early post partum breeding in cows. A review. J Dairy Sci, 58, 266-271.
5. Callahan, C. & Horstman, L.A. (1994). A comparison of two dosages of prostaglandin F_{2α} for the treatment of functional anestrus in dairy cattle. Bovine Pract, 28, 102-105.
6. Cleere, W.F., Gosling, J.P., Morris, M.C., Charleton, M.F., Moloney, B.T., Fottrel, P.F. & Sreenan, J.M. (1984). A high performance, high throughput enzymeimmunoassay for analysis of progesterone in plasma or milk. Irish Vet J, 39, 6-14.
7. Coleman, D.A., Thayne, W.V. & Dailey, R.A. (1985). Factors affecting reproductive performance of dairy cows. J Dairy Sci, 68, 1793-1803.
8. Eldon, J. (1991). Post partum and post conceptional ovarian activity of dairy cows: Evaluation based on progesterone profiles. Acta Vet Scand, 32, 377-386.
9. Eley, D.S., Thatcher, W.W., Head, H.H., Collier, J., Wilcox, C.J. & Call, E.P. (1981). Periparturient and post partum endocrine changes of conceptus and maternal units in Jersey Cows bred for milk yield. J Dairy Sci, 64, 312-320.
10. Erb, R.F., Chew, B.P., Keller, H.F. & Malven, P.V. (1976). Effect of hormonal treatment prior to lactation on hormones in blood plasma, milk, and urine during early lactation. J Dairy Sci, 60, 557.
11. Etherington, W.G., Christie, K.A., Walton, J.S., Leslie, K.E., Wickstrom, S. & Johnson, W.H. (1991). Progesterone profiles in postpartum holstein dairy cows as an aid in the study of retained fetal membranes, pyometra and anestrus. Theriogenology, 35, 731-746.

12. Fagan, J.G. & Roche, J.F. (1988). *Reproductive activity of postpartum dairy cow* 11th Int Congr Anim Rep Artif Insemin, June 26-30, Dublin, Ireland 2, 54.
13. Fredriksson, G., Kindahl, H. & Edqvist, L.E. (1985). Endotoxin-induced prostaglandin release and corpus luteum function in goats. *Anim Reprod Sci*, 8, 109-121.
14. Fredriksson, G., Kindahl, H., Sandsted, K. & Edqvist, L.-E. (1985). *Intrauterine bacterial findings and release of PGF_{2α} in the post partum dairy cow*. *Zbl Vet Med A* 32, 368-380.
15. Fredriksson, G., Kindahl, H., Guerra, L., Lamoth, C. & Larralde, I. (1988). *Influence of continuous high levels of prostaglandin F_{2α} on corpus luteum formation in the cow*. 11th Int Congr Anim Rep Artif Insemin June 26-30, Dublin, Ireland, 2, 161.
16. Fredriksson, G., Aiunlamai, S., Kindahl, H. & Edqvist, L.-E. (1992). *Prostaglandins and endotoxin-related diseases in the bovine species*. Proc 12 th Int Congr Anim Rep August 23-27, Hague, Netherlands, 1, 48-50.
17. Garcia, M. & Larsson, K. (1992). *Clinical findings in post partum cows*. *Nord Vet Med* 34, 255-263.
18. Güven, B. ve Bölükbashi, F. (1989). *Mikrotitrasyon plak enzimimmunoassay (EIA) yöntemiyle ineklerde doğum sonrası süt progesteron düzeylerinin tayini*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 36, 565-582.
19. Güven, B. & Özsar, S. (1993). *Set up enzimimmunoassay for PGFM and its release during the estrus cycle in the angora goat*. 7. World Conference on Animal Production, Edmonton, Alberta, Canada. 2, 151.
20. Gyawu, P. & Pope, G.S. (1990). *Post partum and ovarian function in dairy cows as revealed by concentrations of oestradiol-17β and progesterone in defatted milk*. *Br Vet J*, 146, 194-204.
21. Heperkan, Y. (1981). *Tıpta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları*. A.Ü. Tıp Fak. Yay., 415, Ankara.
22. Inskoop, E.K. (1973). *Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals*. *J Anim Sci*, 36, 1149-1157.
23. Kaker, M.L., Murray, R.D. & Dobson, H. (1984). *Plasma hormone changes in cows during induced or spontaneous calvings and the early post partum period*. *Vet. Rec*, 115, 378-382.
24. Kindahl, H., Edqvist, L.E., Granström, E. & Bane, A. (1976). *The release of prostaglandin F_{2α} as reflected by 15-keto-13, 14-dihydro prostaglandin F_{2α} in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers*. *Prostaglandins*, 11, 871-878.
25. Lemon, M., Pelletier, J., Saumande, J. & Signoret, J.P. (1975). *Peripheral plasma concentrations of progesterone, oestradiol-17β and luteinizing hormone around oestrus in the cow*. *J Reprod Fertil*, 42, 137-140.
26. Lucy, M.C., Gross, T.S. & Thatcher, W.W. (1990). *Effect of intravenous infusion of soybean oil emulsion on plasma concentration of 15-keto-13, 14-dihydro-prostaglandin F_{2α} and ovarian function in cycling holstein heifers*. *Livestock Reproduction in Latin America. Panel proceedings series, International atomic energy agency, Vienna*.
27. Marion, G.B. & Gier, H.T. (1968). *Factors affecting bovine ovarian activity after parturition*. *J Anim Sci*, 27, 1621-1626.
28. Maule, F.M., Davis A.J. & Fleet, I.R. (1983). *Endocrine activity of the mammary gland: Oestrogen and prostaglandin secretion by the cow and sheep mammary glands during lactogenesis*. *Br Vet J*, 139, 171-177.
29. Meyer, H.H.D., Saverwein, H. & Mutayoba, B.M. (1990). *Immunoaffinity chromatography and a biotin streptavidin amplifield enzymeimmunoassay for sensitive and specific estimation of estradiol-17β*. *J Steroid Biochem*, 35, 263-269.
30. Munro, C. & Stanbenfeldt, G. (1984). *Development of microtitre plate enzymeimmunoassay for determination of progesterone*. *J Endocr*, 101, 41-49.
31. Opsomer, G., Coryn, M. & Kruif, A. (1992). *A study of the factors influencing ovarian activity after calving*. Proc 12 th Int Congr Anim Rep, August 23-27, Hague, Netherlands, 1, 90-93.
32. Peter, A.T. & Basu, W.T.K. (1987). *Effects of intrauterine infection on the function of the corpora lutea formed after first post partum ovulations in dairy cows*. *Theriogenology*, 27, 593-609.
33. Peters, A.R. & Lamming, G.F. (1984). *Endocrine changes in the post partum period*. 10th Int Congr Anim Rep Artif Insemin, Urbana-Champaign, 3, 9-16.
34. Prakash, B.S., Madan, M.L. & Singla, S.K. (1990). *Development of a simple, direct, microtitre plate enzymeimmunoassay (EIA) for progesterone determination in whole milk of buffaloes*. *Br Vet J*, 147, 571-576.
35. Reklewska, B.W., Brzozowski, P.J. & Jakubowski, J. (1992). *Hormonal profiles during consecutive stages of parturition in dairy cows*. Proc 12 th Int Congr Anim Rep, August 23-27, Hague, Netherlands 2, 869-871.
36. Seguin, B.F. (1980). *Role of prostaglandins in bovine reproduction*. *JAVMA*, 176, 1178-1181.
37. Serpek, B. (1988). *Retentio secundinarum şekillenen bir inekte doğumdan önce ve sonra plazma progesterone, oestradiol-17β, kortizol ve LH düzeyleri*. *SÜ Vet Fak. Derg.*, 4, 157-167.
38. Silvi, E., Galina, C.S., Porrás, A. & Galina, M.A. (1992). *Evaluation of postpartum ovarian activity by rectal palpation, oestrus deflection and progesterone concentration in dairy cows raised in the dry topics of Mexico*. Proc 12th Int Congr Anim Rep, August 23-27, Hague, Netherlands, 1, 108-110.
39. T.A.E.K. Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Fizyoloji Laboratuvarının 9-13 Mayıs 1994 tarihleri arasında gerçekleştirdiği "Endokrinoloji" de RIA ve EIA'nın uygulanması konulu kurs notları.
40. Van de Wiel, D.F.M. & Koops, W. (1986). *Development and validation of an enzymeimmunoassay for progesterone in bovine milk or blood plasma*. *Anim Reprod Sci*, 10, 201-213.
41. Welch, R.A.S., Tucher, H.A., Oxender, W.D., Porteus, S. & Kirton, K.T. (1975). *Plasma prostaglandin at parturition in cows*. *J Anim Sci*, 41, 386.