

İNAKTİF OVARYUMLU İNEKLERDE PROGESTAGEN TEDAVİSİYLE BİRLİKTE PMSG veya GnRH UYGULAMALARININ FERTİLİTEYE ETKİSİ

Rıfat SALMANOĞLU*

The effect of the administration of PMSG or GnRH combined with progestagens on fertility in cows with inactive ovaries

Summary: *The objective of the present study was investigated the effect of the PMSG or GnRH hormones combined with intravaginal progesteron sponge on fertility in cows with inactive ovaries.*

In this study, fifty cows detected with inactive ovaries which had been examined twice per rectum with interval 10 days were used as material. These animals were divided into two groups as group A (n=25) and group B (n=25). All cows in group A and B were inserted the intravaginal progesterone sponge (120 mg Fluorogestagene acetate) for 12 days. At the sponge removal, twenty five cows in group A were trated with GnRH (0,0042 mg buserelin acetate, i.m.) and twenty five cows in group B were followed by PMSG enjection (1000 IU, i.m.).

The oestrus response rate in group A and B were %92 and %80 respectively. There was not significantly differentiation among the behavioural estrus rates in both groups ($P > 0,05$). Conception rates after the first two inseminations were %28 and %48 in group A and were %44 and %12 in group B respectively. Four cow s in group B were detected follicular cyst after progesteron and PMSG treatment.

As a result; it has been suggested that progesteron-PMSG or progesteron-GnRH treatment in cows with inactive ovaries could have been suscessfully used and these two treatment protocols had been an effective method on the recovery of the oestrus cycle and the fertility.

Key words: *inactive ovaries, progestagen sponge, PMSG, GnRH, fertility, cows*

Özet: *Bu çalışma inaktif ovaryum sorunu bulunan ineklerde, intravaginal progestagen tedavisiyle ile birlikte PMSG veya GnRH uygulamalarının, fertiliteye etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır.*

On gün ara ile yapılan rektal palpasyonlarda, ovaryumları inaktif toplam 50 baş inek. progestagen (fluorogeston asetat) + PMSG (Grup A; n=25) ve progestagen + GnRH (Grup B; n=25) tedavisi yapılarak gruplandırıldılar. Bütün inekler 10 gün ara ile palpe edilerek ovaryumların, corpus luteum taşımadıkları, küçük oldukları ve östrus belirtilerinin gözlenemediği saptandı. A grubundaki hayvanlarda 12 gün süre ile intravaginal süngerler (120 mg) uygulandı ve uzaklaştırıldıkları gün GnRH enjeksiyonu i.m. yapıldı. B grubunda ise aynı doz ve süre ile progestagen uygulamasını takiben 1000 IU PMSG kas içine enjekte edildi.

A grubundaki inekler %92, B grubundakiler %80 oranında östrus gösterdiler. Elde edilen östrus oranları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). Grup B'deki ineklerden, progesteron ve PMSG tedavisi sonrası 4'ünde folliküler kist saptandı. A grubundaki inekler ilk tohumlamada %28, ikinci tohumlamada %48, B grubundakiler ise sırayla % 44 ve % 12 oranında gebe kaldılar.

Sonuç olarak, inaktif ovaryumlu ineklerde progestagen+ PMSG veya progestagen + GnRH tedavisinin yapılmasının, siklusun başlatılması, östrusların görülmesi ve fertilité üzerine etkili olduğu kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: *Inaktif ovaryum, progestagen, PMSG, GnRH, fertilité, inek*

GİRİŞ

Anöstrus, kısaca seksüel siklusların şekillenmemesi ve östrus belirtilerinin görülmemesi şeklinde tanımlanabilir (1). İneklerde, gebeliğin gecikmesine, doğumlar arası sürenin uzamasına ve verim kaybına yol açan bir sorundur. Bireysel veya sürü çapında karşılaşılabilen bir sorundur. Çoğu kere negatif enerji dengesine veya östrus gözlenmesindeki yetersizliğe bağlıdır. Ayrıca rasyon düzenlenmesindeki hataların yanısıra, yaş, peripartal hastalıklar, süt verimi, emzirme, kistik ovaryumlar, uterusun patolojisi, ahır ve bakım koşullarının kötü olması, olumsuz klima, kalıtsal hastalıklar, bazı kronik hastalıklar ve gerilim faktörleri gibi çeşitli durumlar sonucunda ortaya çıkabilir (1, 3, 6, 8).

Beslenmenin, GnRH sekresyonunun regülasyonu ile pulzatile LH sıklığını etkileyen önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Negatif enerji dengesi olanlarda LH salgısının anılan nedenlerden dolayı baskılandığı, ovulasyonun şekillenmediği ve dominant follikülün boyutunda olumsuz rol oynadığı saptanmıştır (17). Laktasyonla birlikte peripartal hastalıklar söz konusu olduğunda, beslenme depresyona girer. Canlı ağırlıkta azalma ile sonuçlanır. Peripartal hastalıkla karşılaşıldığında öncelikle pozitif bir enerji dengesi yaratılarak, normal ovaryum aktivitesine dönüşüm gerçekleştirilmeye çalışılır. Bunun için sürüde peripartal metabolik hastalıkların yoğunluğunun

azaltılması, anöstrus olgusu yönünden de önemlidir (5, 8, 18).

Hakiki anöstrus olgularında sıklık işlevler hiç başlamamış ve ovaryumlar inaktiftir. Bu olgu çoğu kere dominant folliküllerin (DF) bulunmayışından değil, daha çok gelişimindeki noksanlıktan dolayı şekillenir (17). Anöstrusta bazal düzeyde salınan ve folliküler dalgayı yaratan FSH salgısına, LH yeteri kadar eşlik etmediğinden ve DF'nin duvarındaki etkisi zayıf olduğundan, yeteri kadar LH pulzasyon frekansı yaratılamaz ve ovulasyon şekillenmez (19). Özellikle buzağuların ana yanında bulunması ve emzirme süresinin, opioid bırakımına ve bunun da LH'yı baskı altında tutmasına yol açtığı saptanmıştır (16).

Ovaryumların inaktif olduğu hakiki anöstrus olgularında progestagen uygulamaları önemli bir seçenektir. Ovaryumların inaktif olduğu düşünülecek olursa, GnRH veya PMSG uygulamalarının da, bu organın işlevlerine olumlu katkısı olacaktır (15). Progesteron, endometriumdaki proliferasyon ve sekresyonu, gebeliğin devamını, plasentasyon koşullarının oluşumunu ve sürdürülmesini sağlar. Progesteron yanında, az veya belirgin progesteron etkili bütün doğal ve sentetik maddeler (progestagenler) bu çerçevede değerlendirilmektedirler (10).

Progesteron ile östrusun uyarılması ilk kez Christian ve Casida (1948) tarafından denenmiştir (7). Progestagenlerle birlikte PMSG veya GnRH'nin bir kez kullanımı ile ovaryum fonksiyonları başlatılabilir. Böylece progesteron

ile tedavinin sonunda, uygun LH pulzasyon sıklığı sağlanarak ve östrus indüklenerek DF'ün olgunlaşma ve ovulasyon artışı sağlanabilir. Bu nedenlerle progesteron tedavisinin bir PMSG tedavisi ile birleştirilmesi gerekir. Progesteronla birlikte kullanılacak PMSG miktarı 400-700 IU olursa, artan östrojen düzeyine bağlı olarak anöstruslu ineklerin tedavi sonrası östrus gösterme olasılığı artacaktır (19).

Anöstrustaki etçi ineklerde sadece progesteron veya progesteron + estradiol benzoat tedavisi yapılmış ve ikinci tedavi daha etkili bulunmuştur. Tedavi sonrası oluşan östrus oranı artmış ve corpus luteum'un ömrü normal olarak belirlenmiştir (9).

Postpartum anöstrusun sorun olduğu sürülerde, progesteron tedavi süresinin, tedavi başarısında etkili olduğu, bunun da hayvanda bireysel olarak bulunan progesteron düzeyine bağlı olduğunu belirtilmektedir. Bu progesteron düzeyinin düşürülmesini takiben, tedavi süresinin uzunluğunun ayarlanmasının yararlı olacağı saptanmıştır. Postpartum anöstrusun uzun olduğu sürülerde, progesteron ve PMSG kullanımı ile %68 ovulasyonlu-östrus, %14 östrus'suz-ovulasyon görülürken, %18 oranında ovulasyonun şekillenmediği izlenmiştir. Erken laktasyonda beslenme derecesine bağlı olarak, anöstrusta tedavi sonrası hormon metabolizması, ovaryum aktivitesi ve gebelik oranının, değişebileceği belirtilmiştir (15).

Anöstrus tedavisinde kullanılan progesteronu takiben kullanılan PMSG'nin, etçi ineklerde emzirmeye bağlı olarak oluşan anöstrusta, beslenmenin sağlandığı ortamda, PMSG kullanımının esansiyel olmadığı, progesteron tedavisini takiben PMSG kullanılanlarda %93, kullanılmayanlarda %88 sonuç alındığı saptanmıştır. Gebelik oranın da %58.5 gibi benzer olduğu vurgulanmıştır (14).

Anöstrustaki 855 inekte progesteron tedavisini takiben, farklı PMSG dozlarının, ovulasyonu %77'den %89'a yükselttiği, fakat aynı artışı östrus tanısında ve tohumlamada sağlayamadığı görülmüştür. Anöstrusun uzun sürmesi tedavinin başarısını değiştirmemiştir. Tedavinin başarısının, anöstrusun erken tanısına ve erken tedaviye başlanmasıyla yükseldiği vurgulanmıştır (15).

Bu çalışmada, inaktif ovaryumlu sütçü ineklerde progestagen ile PMSG veya GnRH hormonu kombinasyonları uygulamalarının ovaryum fonksiyonlarının uyarılması ve fertilité üzerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan değişik ırklardan, toplam 50 baş ineğin yaşları 3-8 arasında değişiyordu. Bu inekler postpartum (p.p.) 3 ay veya daha fazla süre geçtiği halde östrus belirtileri göstermemişlerdi. Anılan hayvanlara 10 gün ara ile yapılan rektal muayenede herhangi bir corpus luteum'a rastlanmadı; ovaryumların küçük olduğu ve anılan östrus belirtilerinin gözlenmediği saptandı.

Hayvan materyali progestagen + GnRH (Grup A; n=25) ve progestagen + PMSG (Grup B; n=25) uygulamaları göz önüne alınarak iki gruba ayrıldı. Her iki gruptaki hayvanlara 12 gün süreyle, progestagen içeren süngerlerden (Syncro-Part, 40 mg Fluorogeston asetat. DIF) 3 adet, birbiri ile bağlanarak ve hijyenik kurallara uyularak vaginanın anterioruna, yerleştirildi. Süngerler 12 gün süre ile vaginada bırakıldı. GnRH veya PMSG enjeksiyonları (i.m.) süngerler çıkartılırken yapıldı.

Progestagen + GnRH grubunda (Grup A) yer alan hayvanlara 5 ml Receptal (1 ml içinde 0.004 mg buserelin muadili 0.0042 mg buserelin acetat ve 10 mg benzyl alkol bulunmaktadır) enjekte edildi. Grup B'de yer alan hayvanlara ise, 1000 IU Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (Syncro-Part PMSG, 6000 IU, DIF) enjeksiyonu yapıldı.

Tüm hayvanlarda östruslar günde üç defa izlenerek belirlendi ve östrusların ikinci yarılarında suni tohumlamaları yapıldı. Yine 21 gün sonra östrusları takip edildi. Östrus gösterenler tekrar tohumlandı. Deneme

hayvanları 3. tohumlamaya kadar izlendi. Östrus göstermeyenlere 60 gün sonra rektal muayene yapılarak gebelikleri doğrulandı.

Tablo 1: Çalışma yönteminin uygulanma şeması

Gruplar	Rektal Muayene 10 gün ara ile 2 defa	Progestagen (120mg) İntravaginal (12 gün)	Receptal (0,0042 mg) (i.m.)	PMSG (1000 IU) (i.m.)	RP (60 gün)
Grup-A (n=25) Progestagen + GnRH	+	+	+	-	+
Grup-B (n=25) Progestagen + PMSG	+	+	-	+	+

+ : Uygulama yapıldı.

- : Uygulama yapılmadı.

İki yüzde arası farkın önem kontrolü için, t-testi uygulandı.

BULGULAR

Tablo 2'de de görüleceği gibi, tedavi sonrasında progestagen + GnRH grubundaki (grup A) ineklerin östrus gösterme oranı progestagen + PMSG grubundan (grup B')

daha yüksek olarak bulundu. Uygulama sonunda östrus gösterenlerden ilk tohumlamada A grubunda 7, B grubunda ise 11 hayvan gebe kaldı. Gebe kalma oranı ikinci tohumlamada A grubu lehine gelişti.

Tablo 2: Tüm gruplarda görülen östrus ve gebe kalma sayıları ile oranları

Gruplar	Ö+ (n)	Ö- (n)	Gebe Kalma Sayıları ve Oranları		
			1.T. (n)	2.T. (n)	3.T. (n)
Grup-A (n=25) Progestagen +GnRH	23 (%92)	2 (%8)	7 (%28)	12 (%48)	4 (%16)
Grup-B (n=25) Progestagen +PMSG	20 (%80)	5 (%20)	11 (%44)	3 (%12)	6 (%24)

n : Hayvan sayısı Ö+ : Östrus gösteren Ö- : Östrus göstermeyen

Görülen östrus oranı progestagen + GnRH (grup A) grubunda yüksek bulundu (%92: Tablo 2); progestagen + PMSG grubu (grup B) ise %80 oranında östrus gösterdiler. İlk iki tohumlamada A grubunda gebe kalma oranı %76 iken, B grubunda %56 ile daha düşük bulundu.

Tablo 2'de gösterilen östrusların grup A'da %92 ve grup B'de %80'lik oranların arasındaki farkın yapılan t-testinde önemli olmadıkları belirlendi ($p > 0,05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada kullanılan ineklerde, post-partum ilk östrusun 50 gün içerisinde görülmesi gerekirken, siklik işlevlerin başlamamış olması, alınan anamnezde östrus belirtilerinin hiç görülmemesi, 10 gün ara ile yapılan genital organ muayenesinde ovaryumlarda CL'a rastlanmaması, hakiki anöstrusun varlığı şeklinde yorumlandı. Bu bulgular diğer araştırmacıların tanımları ile paralellik gösteriyordu (3, 5, 12).

Çalışmada kullanılan inekler iki farklı tedavi programına göre seçilerek iki gruba (Grup A ve B) ayrıldı. Grup A'da (n=25) yer alan hayvanlara progestagen + GnRH, grup B'dekilere (n=25) ise progestagen + PMSG uygulamaları yapıldı. Bu çalışmada hakiki anöstrus sorunu bulunanlarda progestagen uygulamaları bitiminde kombine hormonlarla LH pulzasyon sıklığı sağlanarak, östrus indüklenmesi amaçlandı. Progestagen tedavi süresinin 12 gün tutulmasında, tohumlamada sperma kalitesinin bozulmaması amaçlandı (10, 11, 15). Bu süre, diğer yapılan araştırmaların sürelerine bakıldığında paralellik arz etmekteydi (1, 4, 10). Bu çalışmada tedavi süresi, daha kısa olanlarda kullanılan progestagen türevleri arasında farklılık bulunmamakla birlikte, PMSG dozlarında da önemli bir farklılık yoktu (4, 9, 23).

Tedavi sonrası progestagen + GnRH grubunda yer alan hayvanlarda, toplam 23 hayvan (23/25; %92) östrus gösterdi. Progestagen + PMSG grubunda bu oran (20/25) %80 olarak bulundu. Her iki bulunan değer birbirinden önemli değildi ($p > 0,05$). Alınan sonuçlar, hormon uygulamalarının (17, 19) anöstrustaki ineklerde düşük düzeyde ve sıklıkta salınan LH salgısına olumlu olarak etki ettiğini göstermektedir. Nitekim sunulan çalışmada bulunan %92'lik östrus gösterme oranı (Progestagen + GnRH), diğer araştırmacıların bulguları olan %94-95 (22), %100 (2), %90 (23), paralellik göstermektedir. Progestagen + PMSG grubunda bulunan ineklerde bulunan %80'lik oran ise yine diğer yazarların belirlediği kriterlere %87-95 (23), %70-85 (13), %76 (4) uyum gösteriyordu. Bu grupta folliküler gelişmeyi garanti altına alabilmek için 1000 IU PMSG hormonun buna yol açtığı, ancak stresle baskılanan LH yetersizliğinin ovulasyon mekanizmasını aksattığı kanısına varıldı. Progesteronla birlikte kullanılacak PMSG dozunun 400-700 arasında olmasını öneren yazarlar, yüksek dozun yaratacağı problemlerden de bahsetmişlerdir (19). Progestagen + PMSG grubundaki gebe kalma

oranı düşüklüğü, uygulama sonrasında, folliküler kist şekillenen ineklere de bağlı olabilir.

İlk tohumlamalar sonucu gebe kalan hayvan sayısı progestagen + GnRH grubunda 7 olarak (7/25; %28; Tablo 2) düşük bulundu. Bu oran ikinci tohumlamada 12 (12/25; %48) olarak artmıştır. İlk iki tohumlamada progestagen + GnRH grubunda %76'ya yükselirken, progestagen + PMSG grubunda %66'da kalmıştır. Diğer çalışmalarda da ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranı %33, tüm tohumlamalardan elde edilen gebelik oranı %83 gibi değişkenlik arz etmektedir (2). Diğer araştırmacıların %45 (23) ve %47 (21) oranları ile progestagen + PMSG grubunda (Tablo 2) bulunan ilk tohumlamadan elde edilen %44'lük ve Progestagen + GnRH grubundaki ikinci tohumlamadan elde edilen %48'lik değer ile çalışmalardaki bulgular benzerlik göstermektedir.

İnekte inaktif ovaryum sorununun temelinde, östrus görülebilecek ve yeni bir siklusu başlatabilecek LH dalgasının yetersizliği ve takiben düşük düzeyde progesteron üretimi söz konusu olmaktadır. Hala geleneksel yöntemlerin kullanıldığı, ana hayvanların yanında kalan buzağuların da gerek emme ve gerek görsel iletişimle östrusu ve ovulasyonu geciktirdiği düşünülmektedir (20). Keza, bu konuda dengeli beslenme ve postpartum dönemde enerji alınımı ile ilgili sorunlar önemli rol oynamaktadır.

Sonuç olarak, anöstrus sorunu bulunan, inaktif ovaryumlu ineklerde progestagen içeren vaginal süngerlerin, GnRH veya PMSG kombinasyonunun başarılı olarak kullanılabilmesi görülmüştür. Uygulamaların bireysel bakım, beslenme ve çevre koşullarına gösterilecek özenle daha da etkili olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Alaçam, E. (1997) *İnekte infertilite sorunu*. 269-295. In: E. Alaçam (Ed.): *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite*. Medisan Yayınları, Ankara.
2. Alaçam, E., Tekeli, T., Çoyan, K. ve Işık, K. (1993) *İnaktif ovaryumlu düvelerde fluorogestone asetat (FGA) ve gebe kısrak serum gonadotropini (PMSG) ile sağtım girişimleri*. Hayv Araş Derg, 3(2): 110-112.

3. Barlett, P. C., Kirk, J., Coe, P., Marteniuk, J. and Mather, E. C. (1987) *Descriptive epidemiology of anestrus in Michigan Holstein-Frisian cattle*. Theriogenology, 27(3): 459-476.
4. Broadbent, P. J., Tragaskes, L. D., Dolman, D. F., Franklin, M. F. and Jones, R. L. (1993) *Synchronization of estrus in embryo transfer recipients after using a combination of PRID or CIDR-B plus PGF α* . Theriogenology, 39(5): 1055-1065.
5. Butler, W. R., Everett, R. W. and Coppock, C. E. (1981) *The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows*. J Anim Sci, 53: 742-748.
6. Chauhan, F. S., Mgongo, F. O. K. and Kessy, B. M. (1984) *Recent advances in hormonal therapy of bovine reproductive disorders: a review*. Vet Bull, 54(12): 991.
7. Christian, R. E. and Casida, L. E. (1948) *The effects of progesterone in altering the estrus cycle of the cow*. J Anim Sci, 7: 540.
8. Ferry, J. *Clinical Management of Anestrus*, 285-289. In: R. S. Younquist. W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Sydney, Tokyo.
9. Fike, K. E., Day, M. L., Inskip, E. K., Kinder, J. E., Lewis, P. E., Short, R. E. and Hafs, H. D. (1997) *Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrus when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate*. J Anim Sci, 75: 2009-2015.
10. Grunert, E. (1982) *Grundlagen der Hormontherapie*. 217-237. In: E. Grunert and M. Berchtold (Ed.): *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
11. Jöchle, W. (1972) *Pharmacological aspects of the control of the cycle in domestic animals*. 7th Int. Congress and Animal Reprod. and AI, Munich, vol. 1: 97-124.
12. Macmillan, K. L. and Asher, G. W. (1990) *Developments in artificial insemination and controlled breeding in dairy cattle and deer in New Zealand*. Proc N Z Soc Anim Prod, 50: 123-133.
13. Macmillan, K. L. and Day, A. M. (1987) *Treating the non-cycling cow*. Proc. Ruakura Farm. Conf., 39: 65-68.
14. Macmillan, K. L. and Macmillan, K. L. (1989) *CIDR-B for managed reproduction in beef cows and heifers*. Proc NZ Soc Anim Prod, 49: 85-89.
15. Macmillan, K. L. and Peterson, A. J. (1993) *A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus*. Anim Reprod Sci, 33 (1-4): 1-25.
16. Myers, T. R., Myers, D. A., Gregg, D. W. and Moss, G. E. (1989) *Endogenous opioid suppression of release of luteinizing hormone during suckling in postpartum anestrus beef cows*. Domest Anim Endocrinol, 6: 183-190.
17. Murphy, M. G., Enright, W. J., Crowe, M. A., McConnell, K., Spicer, L. J., Boland, M. P. and Roche, J. F. (1991) *Effects of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers*. J Reprod Fertil, 92: 333-338.
18. Nakao, T., Moriyoshi, M. and Kawata, K. (1992) *The effect of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on subsequent reproductive performance in high and medium producing dairy cows*. Theriogenology, 37(2): 341-349.
19. Roche, J. F. and Diskin, M. G. (1996) *Physiology and practice of induction and control of oestrus in cattle*. XIX World Buiatrics Congress. Proceedings vol. 1, Edinburgh. 8-12 July, 157-163.
20. Senger, P. L. (1994) *The estrus detection problem: new concepts, technologies and possibilities*. J Dairy Sci, 77(1): 2745-2753.
21. Tibary, A., Boukhlig, R., Lahlou-Kassi, A., Haddada, B. and Nakro, M. (1992) *Reproductive patterns of Santa Gertrudis after synchronization of estrus*. Theriogenology, 37(2): 389-393.
22. Tregaskes, L. D., Broadbent, P. J., Dolman, D. F., Grimmer, S. P. and Franklin, M. F. (1994) *Evaluation of Crestar, a synthetic progestogen regime, for synchronising oestrus in maiden heifers used as recipients of embryo transfers*. Vet Rec, 134 (4): 92-94.
23. Xu, Z. Z. and Burton, L. J. (1997) *Reproductive performance of post-partum anoestrus dairy cows treated with progesterone and oestradiol benzoate*. New Zealand Vet J, 45: 213-214.