

İNEKLERDE AZALTI MIŞ DOZDA CLOPROSTENOL UYGULAMALARININ LUTEOLİTİK ETKİSİNİN KLİNİK ÖSTRÜS BELİRTİLERİ VE PLAZMA PROGESTERON DÜZEYLERİ YARDIMIYLA İZLENMESİ

Tevfik Tekeli¹ Melih Aksoy¹ Semin Özsar² Bülent Güven²
Kenan Çoayan¹ Ahmet Semacan¹ Muhammed Alan³

(Monitoring of the luteolytic effect of a reduced dose of cloprostenol applications by estrus signs and plasma progesterone levels in cows.)

Summary: In this study, the effectiveness of a reduced dose of cloprostenol injected by intravulvo-submucosal route was evaluated for estrus induction and luteolysis in cows. The study was carried out on 43 Brown Swiss cows, age ranging 3 to 5 years old. Firstly, all cows were injected 500 mcg of cloprostenol by intramuscular route. On the 11 th. day, cows in the first group (n: 38). Were reinjected 125 mcg of cloprostenol by intravulvo submucosal route and the remaining cows in the second group (n:5) were administered an injection of 500 mcg cloprostenol intramuscularly. Blood samples to determine the plasma progesterone levels were collected on the day of second injection and four days thereafter from 9 and 5 cows in the first and second groups, respectively.

According to the obtained results; estrus rates in first and second groups were 26.3 and 100 %, respectively. On the basis of the 7 cows inseminated in the first group, pregnancy rate was 57.1 %. Progesterone levels of the cows in the first group decreased after the second injection. Although a slight decrease in progesterone levels was monitored in the cows with no luteal regression, it was never below 1 ng/ml. The progesterone levels of the cows in the first group with luteolysis showed a sharp decline compared to the control group.

As a result, application of 125 mcg of cloprostenol injection into vulvar submucosa induced estrus and luteolysis in cows. It was concluded that the higher doses of cloprostenol administrations by intravulvo-submucosal injections may provide better results in cows.

Key words: Cows, Reduced cloprosterol doses, Luteolysis, Progesteron.

Özet: Bu çalışmada, ineklerde intravulvo submucosal olarak enjekte edilen azaltılmış doz cloprostenol'un östrüsleri uyarma oranları ve luteolitik etkinliği araştırıldı. Çalışma 43 baş 3-5 yaşlı İsviçre Esmeri inek üzerinde gerçekleştirildi. Önce tüm ineklere 500 mcg cloprostenol kas içi yolla enjekte edildi. İlk enjeksiyondan 11 gün sonra

birinci gruptaki ineklere (n: 38) 125 mcg cloprostenol intravulvo-submucosal olarak enjekte edildi. İkinci gruptaki ineklerde (kontrol grubu, n: 5) ise 500 mcg cloprostenol enjeksiyonu kas içi yolla tekrarlandı. Enjeksiyon günü ve izleyen 4 gün süresince birinci gruptaki 9 inekten ve ikinci gruptaki tüm ineklerden 24 saat aralarla kan örnekleri alınarak plazma progesteron düzeyleri belirlendi.

Elde edilen bulgulara göre, östrüs oranları birinci ve ikinci gruplar için sırasıyla % 26.3 ve 100 olarak belirlendi. Birinci grupta tohumlanan ineklerden % 57.1 oranında gebelik elde edildi. Birinci grupta progesteron düzeyleri saptanan ineklerde enjeksiyon sonrası dönemde ortalama progesteron düzeylerinde düşüş belirlendi. Bu grupta luteolizis göstermeyen ineklerde progesteron düzeyinde hafif bir düşüş olmasına rağmen 1 ng/ml düzeyinin altına inmedi. Birinci grupta luteolizis şekillenen ineklerde progesteron değerlerindeki düşüşün kontrol grubuna göre daha yavaş bir seyir gösterdiği saptandı.

Sonuç olarak, 125 mcg cloprostenol'un vulva submucosasına enjeksiyon tarzında uygulanmasının ineklerde östrüsleri uyurabildiği ve luteolizisi sağlayabildiği belirlenmiş, kullanılan cloprostenol dozunun yükseltilmesi ile daha başarılı sonuçlar elde edilebileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: İnek, Azaltılmış cloprostenol dozları, Luteolizis, Progesteron,

Giriş

Luteolitik etkiye sahip olan doğal ve sentetik prostaglandinler inek ve düvelerde reproduksiyonla ilgili olarak çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (2, 4, 5, 10, 15, 17). Uygulamalarda çoğunlukla kas içi enjeksiyonlar tercih edilmektedir (15). Geniş bir kullanım sahası bulunmasına rağmen özellikle gelişmekte olan ülkelerde temini güç ve ekonomik yönden pahalı olan prostaglandin analoglarının aynı

1-S.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Rep. Hast. Anabilim Dalı, Konya.

2-T.A.E.K. Lalahan Hayvancılık Nükleer Araştırma Merkezi, Ankara.

3-Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Rep. Hast. Anabilim Dalı, Van.

luteolitik etkiyi oluşturabilecek daha ekonomik ve düşük dozları intrauterin (11), intravenöz (16), intraovarian (14) ve intravulva - submucosal (13) enjeksiyonlar şeklinde çeşitli araştırmacılarca denenmiştir.

Ineklerde uterus içi uygulamalar enfeksiyon ihtimali nedeniyle, doğrudan ovaryuma veya uterus duvarına enjeksiyonlar ise uygulama güçlüğü nedeniyle pratik açıdan fazla değer taşımamaktadır. Son yıllarda özellikle inek ve mandalarda doğal ve sentetik prostaglandinlerin kas içi uygulamalarına göre daha düşük dozları ile luteolitik etki oluşturabilen ve aynı zamanda diğer uygulama yollarına kıyasla daha pratik bir yöntem olan vulva submucosasına enjeksiyon tarzında (ivsm) uygulanması önerilmektedir (1, 12, 13).

Bu çalışmada daha önce benzer yöntem uygulanarak düvelerde yapılan bir çalışmanın devamı olarak ineklerde sentetik bir prostaglandin analogu olan cloprostenol'un önerilen kas içi dozunun 1/4'ü (125 mcg) vulva submucosasına enjekte edilerek luteolitik etkinliğinin klinik östrüs belirtileri ve kan progesteron düzeyleri yardımıyla belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Sunulan çalışma, Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait yaşları 3-5 arasında değişen, en az bir doğum yapmış ve laktasyon döneminde bulunan 43 baş İsveçre Esmeri inek üzerinde gerçekleştirildi.

Çalışma öncesinde hayvanlara uygulanan rektal muayene yardımıyla tüm ineklerin genital kanallarının ve ovaryum fonksiyonlarının normal olduğu ve hayvanların muayene sırasında seksüel siklusun çeşitli evrelerinde buldukları belirlendi. Bu hayvanlar özel olarak işaretlenerek sürekli gözlem altında bulunduruldu. Çalışma süresince hayvanlar kurumun uyguladığı beslenme ve bakım şartları altında tutuldular.

Çalışmanın başlangıcında tüm ineklere buldukları seksüel siklus evresine bakmaksızın önerilen luteolitik doz olan 500 mcg cloprostenol* kas içi yolla enjekte edildi.

İlk enjeksiyonlardan 11 gün sonra tüm ineklere tekrar rektal muayene uygulanarak corpus luteumların gelişimi ve hangi ovaryum üzerinde yer aldıkları kayıt edildi. İkinci enjeksiyonlar uygulanmadan önce inekler iki gruba ayrıldılar.

Birinci Grup: Bu grupta yer alan 38 ineğe ovarumlarındaki corpus luteum'un bulunduğu taraftaki labia vulva'nın submucosasına bir tüberkülin enjektörü yardımıyla cloprostenol'un önerilen kas içi dozunun 1/4'ü (125 mcg) enjekte edildi. Enjeksiyonu izleyen 1-5. günler süresince inekler sabah ve akşam yarımşar saat klinik östrüs belirtileri yönünden izlendiler. Östrüsteki ineklerin belirlenmesinde atlamaya izin verme, diğer hayvanların üzerine atlama, mukus akıntısı, mukus kristalizasyonu ve duldung refleksi göz önünde bulunduruldu.

İkinci Grup (Kontrol): Kontrol grubu olarak seçilen bu gruptaki 5 ineğe ilk enjeksiyondan sonraki 11. günde kas içi uygulamalar için önerilen 500 mcg cloprostenol intramuscular olarak enjekte edildi.

Birinci gruptaki dokuz ve ikinci gruptaki tüm ineklerden ikinci enjeksiyonlardan hemen önce ve enjeksiyonları izleyen dört gün boyunca 24 saat aralıklarla plazma progesteron düzeylerinin araştırılması amacıyla kan örnekleri toplandı. Sabah saatlerinde vena jugularis'ten alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve hormon analizleri yapılmaya kadar -20 °C'da saklandı. Hormon analizleri T.A.E.K. Lalahan Hayvancılık Nükleer Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Plazma progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacıyla RIA tekniğinden yararlanıldı.

İkinci cloprostenol enjeksiyonları öncesinde plazma progesteron düzeyi 1 ng/ml nin üzerinde olmasına rağmen enjeksiyonları izleyen 1-4 gün içerisinde progesteron düzeyleri 0.5 ng/ml nin altına düşen ineklerde luteolizis'in gerçekleştiği kabul edildi. İkinci grupta östrüsteki hayvanların belirlenmesinde birinci grupta dikkate alınan kriterler kullanıldı.

Her iki grupta östrüs gösterdikleri belirlenen inekler rektal muayene ile de doğrulandı. Progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacıyla kan örnekleri toplanan birinci gruba ait 9 ve ikinci gruba

(* Estrumate, Doğu İlaç Fabrikaları.

ait 5 inek dışında kalan ineklerden (n: 29) östrüs gösterdikleri tespit edilenler rekto-vaginal yöntemle tohumlandılar ve izleyen 45-60. günlerde rektal muayene ile gebelik bulguları araştırıldı.

Bulgular

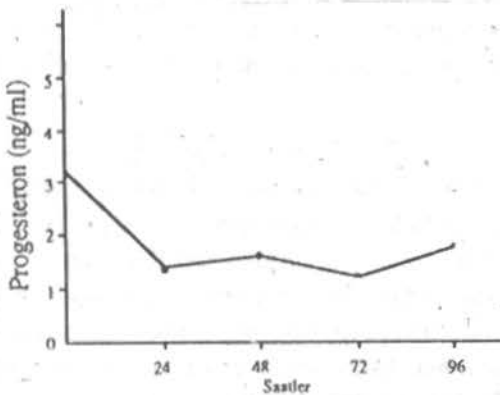
Birinci grupta bulunan 38 hayvana azaltılmış dozdaki ikinci cloprostenol (125 mcg) enjeksiyonu sonrasında 10 ineğin östrüs gösterdiği ve 7 inekte yapılan tohumlamalar sonucunda 4'ünün (% 57.1) gebe kaldığı belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Deney hayvanlarında görülen östrüs oranları ve gebelik sonuçları.

Grup No	Hayvanı Sayısı	Östrüs Gösteren İnek Sayısı	Tohumlanan İnek Sayısı	Gebe Kalan İnek Sayısı
1	38	10 (%26.3)	*	4(%57.1)
2	5	5 (%100.0)	-	-

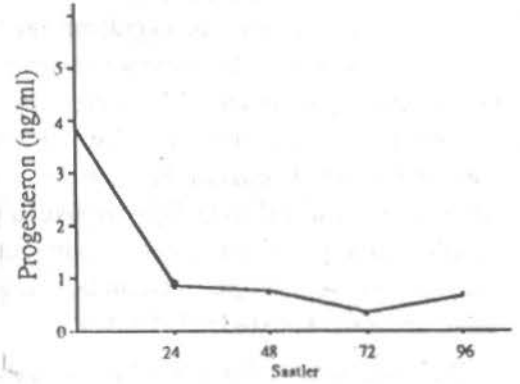
* (Birinci grupta plazma progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacı ile kan örnekleri toplanan ve östrüs gösterdikleri belirlenen 3 inekte tohumlama yapılmamıştır.)

Bu grupta ikinci cloprostenol enjeksiyonundan hemen önce ve enjeksiyonu izleyen dört gün süresince plazma progesteron düzeyleri belirlenen dokuz ineğin dördünde luteolizis olduğu saptanmasına rağmen ancak üç inekte östrüs belirtileri gözlenmiştir. Enjeksiyon sonrası dönemde elde edilen ortalama plazma progesteron düzeyleri Grafik 1. de sunulmuştur.

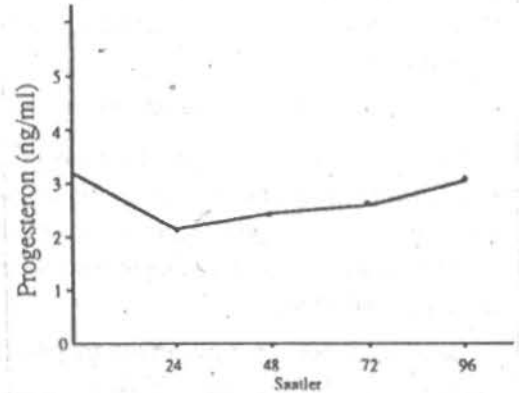


Grafik 1. Birinci grupta progesteron düzeyleri araştırılan ineklerde 125 mcg cloprostenol uygulamasını (ivsm) izleyen dönemde ortalama plazma progesteron düzeyleri (n: 9).

Birinci grupta progesteron düzeyleri belirlenen dokuz inekten enjeksiyon sonrası dönemde luteolizis olduğu saptanan dört inekteki ortalama progesteron düzeyleri Grafik 2.de ve luteolizis şekillenmeyen beş inekteki ortalama progesteron hormonu düzeyleri Grafik 3.te sunulmuştur.



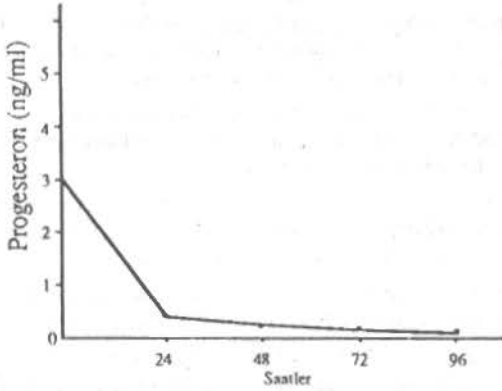
Grafik 2. Birinci grupta progesteron düzeyleri araştırılan ineklerden 125 mcg cloprostenol uygulamasını (ivsm) izleyen dönemde luteolizis oluşanlarda belirlenen ortalama plazma progesteron düzeyleri (n: 4).



Grafik 3. Birinci grupta progesteron düzeyleri araştırılan ineklerden 125 mcg cloprostenol uygulamasını (ivsm) izleyen dönemde luteolizis olmayanlarda belirlenen ortalama plazma progesteron düzeyleri (n: 5).

Kontrol grubu olarak kullanılan ikinci grupta ise ikinci kez cloprostenol enjeksiyonu uygulanan tüm ineklerde östrüs gözlenmiş (Tablo 1) ve ineklerin tamamında luteolizis şekillendiği plazma progesteron düzeyleri yardımıyla belirlenmiştir. Bu gruptaki ineklerde cloprostenol enjeksiyonu öncesi ve izleyen dönemdeki ortalama progesteron dü-

zeyleri Grafik 4.de gösterilmiştir.



Grafik 4. İkinci grupta (Kontrol) 500 mcg cloprostenol enjeksiyonunu izleyen dönemde ortalama progesteron düzeyleri (n: 5)

Tartışma ve Sonuç

Daha önce düvelerde yapılan azaltılmış dozda cloprostenol uygulamalarının devamı olarak gerçekleştirilen bu çalışmada birinci gruptaki tüm hayvanlarda tek bir azaltılmış cloprostenol dozu denenmiş, değişik dozların etkinliklerinin karşılaştırılması yoluna gidilmemiştir.

Horta ve ark. (8) inek ve düvelerde vulva submucosasına enjekte edildiğinde en başarılı sonuçları veren azaltılmış cloprostenol dozunun 125 mcg olduğunu bildirmektedirler. Chauhan ve ark. (1) da inekler üzerinde yaptıkları çalışmada cloprostenol'u 500 mcg dozda kas içi olarak, 250, 125 ve 62.5 mcg lik azaltılmış dozları ise vulva submucosanı enjekte etmişler ve ineklerin sırasıyla % 60, 80, 67.8 ve 18'inin östrüs gösterdiklerini ve gebelik oranlarının ise sırasıyla % 42.8, 40, 41.6 ve 0 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada luteolizis'i ve östrüsü başlatan gebeliği sağlayabilen en ideal cloprostenol dozunun 125 mcg olduğu, ancak bu dozun uygulanmasını takiben sakin kızgınlıkların en fazla görüldüğü belirtilmektedir. Çoyan ve ark. (3) düveler üzerinde yaptıkları çalışmada vulva submucosasına enjekte edilen 125 mcg cloprostenol sonrasında düvelerin tamamının (% 100) östrüs gösterdiklerini bildirmişlerdir. Genel olarak, azaltılmış cloprostenol dozlarının intravulvo-submucosal enjeksiyon şeklinde kullanılması sonucu dü-

velerde ineklere oranla daha yüksek östrüs oranları elde edilebilmektedir (9).

Sunulan çalışmada birinci gruptaki 38 ineğe azaltılmış doz olarak 125 mcg cloprostenol vulva submucosasına enjekte edilmiş ve on ineğin (% 26.3) östrüs gösterdiği, progesteron düzeyleri belirlenen üç inek dışında kalan yedi ineğin tohumlanması sonucu dördünün (% 57.1) gebe kaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen östrüs oranı Chauhan ve ark. (1) nın bildirdikleri orandan düşük olmasına rağmen gebelik oranı daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen düşük östrüs oranının çalışmada kullanılan ineklerdeki suböstrüs olgularının yaygınlığından veya cloprostenol'un enjeksiyon derinliğindeki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Birinci gruptaki dokuz ineğin ortalama plazma progesteron düzeylerinin incelenmesi sonucunda enjeksiyonu izleyen 24. saatte progesteron düzeyinde hafif bir düşmenin olduğu ancak progesteron düzeyinin 1 ng/ml nin üzerinde kaldığı görülmektedir (Grafik 1). Bunun nedeni progesteron düzeyleri incelenen beş inekte luteolizis olgusunun gerçekleşmemesidir (Grafik 3). Ancak bu beş inekte de enjeksiyon sonrası 24. saatte plazma progesteron değerlerinde düşüş izlenmiştir. Bu düşüşün parsiyal luteolizis olgusundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer bulgular Grunert (7) ve Chauhan ve ark. (1) tarafından da bildirilmiştir.

Birinci grupta plazma progesteron düzeyleri yardımıyla luteolizis şekillendiği tespit edilen dört inekten üç tanesinin östrüs belirtileri gösterdiği belirlenmiştir. Östrüs belirtileri göstermeyen bir ineğin ise muhtemelen suböstrüslü olduğu düşünülmektedir. Narasimha Rao ve Venkatramiah (13) yaptıkları çalışmada azaltılmış dozda vulva submucosasına enjekte edilen dinoprost tromethamine'in ineklerin % 71'inde luteolitik etki gösterdiğini ancak gözlenebilen östrüs oranının % 21 olduğunu bildirmişlerdir.

Grafik 2 ve 4'ün karşılaştırılmasından anlaşılacağı gibi azaltılmış ve tam doz cloprostenol enjekte edilen ve luteolizis şekillenen ineklerde progesteron değerlerinin değişimleri farklılık gös-

termiştir. Kontrol grubundaki ineklerde plazma progesteron düzeyleri 24. saatte 0.5 ng/ml düzeyinin altına inerken azaltılmış dozda cloprostenol enjekte edilen ineklerde ancak 72. saatte 0.5 ng/ml düzeyinin altına inmiştir. Benzer bulgular Garcia-Winder ve Gallegos-Sanchez (6) tarafından da bildirilmiştir.

Sonuç olarak, 125 mcg cloprostenol dozunun vulva submucosasına enjeksiyon tarzında uygulanmasının ineklerde östrüsleri ve luteolizis'i uyurabildiği belirlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda düvelerde aynı yöntemle (ivsm), aynı doz cloprostenol (125 mcg) uygulamalarıyla başarılı östrüs oranları (% 100) elde edilmesine rağmen inekler üzerinde yapılan bu çalışmada östrüs oranları düşük olarak (% 26.3) elde edilmiştir. Bu nedenle daha sonraki çalışmalarda dozun yükseltilmesi ile, ekonomik yönden avantajlı görülen bu yöntemle daha başarılı sonuçlara ulaşılabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- 1-Chauhan, F.S., Mgongo, F.O.K., Kessy, B.M. and Gombe, S. (1986) Effects of intravulvo - submucosal cloprostenol injections on hormonal profile and fertility in subestrus cattle. *Theriogenology*, 26, 69-75.
- 2-Cooper, M.J. (1974) Control of oestrus cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. *Vet. Rec.*, 95, 200-203.
- 3-Çoyan, K., Aksoy, M., Alan, M. Işık, K. ve Tekeli, T. (1990) Düvelerde düşük Cloprostenol dozlarının, luteolitik etkisinin vaginal direnç değişimleri ve klinik östrüs belirtileriyle izlenmesi. *L.H.A.E.D.*, 30, 31-39.
- 4-Eddy, R.G. (1983) The use of prostaglandin analogue cloprostenol and the milk progesterone test to control breeding policy in one dairy herd. *Br. Vet. J.*, 139, 104-108.
- 5-Elmore, R.G. (1989) Putting prostaglandin F_{2α} to work in your bovine practice. *Vet. Med.*, November, 1093-1097.
- 6-Garcia-Winder, M.J. and Gallegos-Sanchez, J. (1991) Estrus synchronization in Holstein cows using reduced doses of prostaglandin F_{2α}. *Theriogenology*, 36, 191-199.
- 7-Grunert, E. (1987) Über die Beeinflussung der Gelbkörperfunktion und die Brunstinduktion beim Rind durch PGF_{2α}. *Dtsch. tierarzt. Wschr.*, 94, 466-470.
- 8-Horta, A., Costa, C., Robal - Silva, J. and Rios Wasquez, M.I. (1986) Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. *Theriogenology*, 25, 291-301.
- 9-Larson, L.L. and Ball, P.J.H. (1992) Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a Review. *Theriogenology*, 38, 255-267.
- 10-Lopez Gatus, F. (1989) Effects of cloprostenol human chorionic gonadotrophin and estradiol benzoate treatment on estrus synchronization in dairy cows. *Theriogenology*, 32, 185-195.
- 11-Louis, T.M., Hafs, H.D. and Morrow, D.A. (1972) Estrus and ovulation after uterine PGF_{2α} in cows. *J. Anim. Sci.*, 35, 247-248.
- 12-Narasimha Rao, A.V. and Venkatramiah, P. (1989) Luteolytic effect of a low dose of cloprostenol monitored by changes in vaginal resistance in subestrus buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.*, 21, 149-152.
- 13-Narasimha Rao, A.V. and Venkatramiah, P. (1990) Studies on the effectiveness of a smaller dose of prostaglandin F_{2α} in increasing the reproductive efficiency of Ongole cattle. *Indian Vet. J.*, 67, 528-530.
- 14-Rayos, A.A., Abalos, J.A., Cruz, S.F. and Kanagawa, H. (1990) Induction of estrus in cattle by intraovarian injection of PGF_{2α}. *Theriogenology*, 34, 511-521.
- 15-Seguín, B.E. (1980) Role of prostaglandins in bovine reproduction. *J.A.V.M.A.*, 176, 1178-1181.
- 16-Steiner, H. (1983) Die intravenöse anwendung von prostaglandin F_{2α} zur behandlung von genitalkatarrou und zur verkürzung der zwischen kalbezeit beim rind. *Der Praktische Tierarzt*. 11, 1008-1013.
- 17-Whittier, W.D., Gwazdauskas, F.C. and McGilland, M.L. (1986) Prostaglandin F_{2α} usage in a dairy reproduction program for treatment of unobserved estrus, pyometra and ovarian luteal cysts. *Theriogenology*, 32, 693-704.