

Alke Med

VETERİNER HEKİMİN BİLİMSSEL KAYNAĞI

OCAK / ŞUBAT 2017

SAYI ■ 16

alke®



SÜT İNEKLERİNDE ÜREME HORMONLARI-2

OVİSİNK PROTOKOLÜ (Prof Dr Dursun Ali Dinç'ten alıntı)

İneklerde reproduktif performansı 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 nedenle östrüs tespiti ve hayvanları istenilen zamanda tohumlamasını belirleyen sinkronizasyon yöntemleri mevcuttur.

İneklerde östrüs senkronizasyonu için farklı uygulamalar olmasına karşılık progestagenler ve özellikle prostoglandin (PG) F2 α en sık kullanılan bileşikler olarak günümüze kadar gelmiştir. Ancak, progesteron veya progestagenlerin 14 gün ve daha fazla süreli uygulamaları sonucu optimum östrüs senkronizasyonu sağlanmasına karşılık gebelik oranları oldukça düşük olmaktadır. Kısa ve uzun süreli progesteron uygulamalarından sonra, östrüs siklusunun başlamasındaki gecikmeler, dominant follikülün kalıcı olması veya yaşlı bir oositin ovule olması ile sonuçlanabilmektedir PG'in keşfi ile östrüsler daha kısa sürede kontrol altına alınabilmektedir. PG siklusu kısaltır ve östrüs tespit etkinliğini artırır. PG mevcut CL'un sonlanmasına neden olur, fakat folliküler dalgaların seyrini değiştiremez. Bu sebeple PG uygulama gününe bağlı olarak oluşacak östrüs ve takiben şekillenecek ovulasyon bir haftalık bir süreye yayılabilmektedir. Dolayısıyla PG enjeksiyonu sonrası belirlenen yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları, östrüs gözlenerek yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranlarından daha düşüktür.

İneklerde folliküler gelişim, endokrin etkileşim (FSH/LH), intrafolliküler faktörler ve intraselüler moleküler etki şekilleri ile gerçekleşir. Östrüs siklusunun maksimum seviyede kontrolü için luteolizisin yanı sıra folliküler dalgaların da kontrol altına alınması gerekmektedir. Bilindiği gibi düve ve inekler bireysel olarak her bir östrüs siklusunda 2, 3 hatta 4 adet folliküler gelişim dalgasına sahiptirler. Her bir folliküler dalga 7-11 günlük bir süreyi kapsar İki folliküler gelişim dalgasına sahip ineklerde 1. dalga siklusun 2. gününde (1-3. günler), 2. dalga ise 11. gününde gelişmeye başlar ve ovulasyon 2. dalgadan şekillenir. Üç folliküler gelişim dalgasına sahip ineklerde 1. dalga 2. günde gelişir ve 8-12. günlerde statik hale dönüşür, 12-16. günlerde regrese olur. İkinci dalga 10-11. günde başlar ve 17. günde son bulur. Üçüncü dalga 16. günde başlar ve ovulasyonla sonlanır.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 tohumlamalar ile daha fazla gebelik oranı elde etme üzerine yoğunlaşmıştır. 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. GnRH'ın yanı sıra, senkronizasyon amacıyla daha önceden kullanılan östrojen, progesteron hormonlarından ve prostaglandin'den de yararlanılıp, 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), Corpus luteum'un kontrolü/regresyonu (Prostaglandin F2 α) ve ovulasyonun uyarılması (GnRH, Östradiol, hCG ve LH) şeklinde özetlenebilir. Belirtilen etken maddeler kullanılarak yapılan siklik manipulasyonlar aşağıda bahsi geçen protokoller şeklinde adlandırılmaktadır. 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.

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. İlk kez Wisconsin Üniversitesin de geliştirilmiştir. Laktasyondaki süt inekleri için en popüler senkronizasyon protokolüdür. Diğer tüm protokoller ovsynch protokolünün modifiye şeklidir. Ovsynch ile östrüs gözlenmeden tohumlama zamanı belirlenir. Ovsynch protokolü tohumlama yapılmadan önce GnRH, PG ve GnRH'ın ardışık olarak uygulanmasıdır. GnRH hipofizden LH salınımına neden olur. GnRH enjeksiyonundan 7 saat sonra LH hormonu pik seviyeye ulaşır ve bir pikin süresi 100 dakika sürer . GnRH, siklusun dönemine veya ovaryumlardaki folliküler gelişimin evresine göre ,genç folliküllerin gelişmesini hızlandırır, östrojenin dominant olduğu follikülerde ovulasyon oluşturur ve büyük veya yaşlı follikülleri luteinize eder. Kısaca folliküllerin gelişimini senkronize eder. PG ise luteal regresyonu senkronize eder. GnRH'ın PG'den 6-7 gün önce uygulanması, PG ile senkronizasyona cevabı artırmaktadır. İlk GnRH enjeksiyonu sonrası dominant bir follikül varsa ovulasyon şekillenir. Takiben yeni veya accessory CL oluşur ve yeni bir folliküler dalga gelişmeye başlar. Yeni folliküler dalganın sırasıyla gelişen selektif ve dominant follikül evrelerine ulaşması için genelde bir hafta gerekir. Bu sebeple PG enjeksiyonu ilk GnRH uygulamasından 7 gün sonra yapılmaktadır. PG orijinal CL'u ve ilk GnRH enjeksiyonunu takiben oluşabilen accessory Progesteron seviyesi düşer. Dominant follikül olgunlaşmaya devam eder. PG enjeksiyonundan 2 gün sonra yapılan 2.

GnRH, LH pikinin oluşturur. LH, follikül ve ovumun nihai olgunlaşmasına sebep olarak 24-32 saat sonra ovulasyonu gerçekleştirir. 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. Siklusun 5-10. veya 5-14. günleri arasında uygulandığında fertilitenin arttığı ve gebelik oranının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple ovsynch protokolü öncesinde hayvanlara 14 gün arayla 2 kez PG uygulanması ovsynch'in söz konusu günlerde başlatılmasını sağlamaktadır. Ovsynch protokolünde en güç evre 2. GnRH enjeksiyonundan sonra tohumlamanın (AI) ne zaman yapılacağıdır. İster ovsynch ister co-synch protokolünde 2. GnRH enjeksiyonu ovulasyonu hızlandırarak östrüsün dış belirtilerinin oluşmasını fırsat vermemektedir. Ovulasyon 2. GnRH enjeksiyonundan 24-32 saat sonra şekillenmektedir. 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. Bu sebeple tohumlamaların 2. GnRH enjeksiyonu sonrası daha erken dönemde (en ideal 16. saat) yapılması başarıyı artırmaktadır. Ovsynch protokolü post partum 60-100. günler arasında gebe kalma oranını artırmak için uygulanabilir. Post partum 70. günden önce uygulandığında başarı oranı düşmektedir. Bu sebeple pp 70-76. günlerden sonra uygulanması tavsiye edilmektedir.

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. Düveler için aynı şeyleri söylemek mümkün değildir, hatta uygulanmaması tavsiye edilmektedir. 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 ulaşılabilmektedir.

Co-synch

Ovsynch protokolünün benzeri veya özel bir şeklidir. Besi hayvanları üzerinde çalışan araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir. Co-synch protokolünde sadece 2. GnRH uygulaması aşım veya tohumlama ile birlikte yapılmaktadır. İlk GnRH uygulamasından 7 gün sonra PG enjeksiyonu yapılır, bundan 2 gün sonra GnRH ile birlikte tohumlama yapılır. 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 azalır. Co-Synch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranları, Ovsynch protokolünde 12-18 saat sonra yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları kadar olamayabilir.

Heat-synch (östrus senkronizasyonu)

Ostrogen eskiden beri ovulasyonu sağlamaya yardımcı olmak amacıyla fizyolojik ve patolojik olgularda kullanılmaktadır. Östrojenin başlıca etkisi östrüsün belirtilerini daha çarpıcı olarak oluşturmak ve hipotalamus'tan pik seviyeye ulaşacak dalgalar şeklinde GnRH salınımını sağlamaktır. Heat-Synch, Ovsynch protokolünün benzeridir. Farklılıklar, ikinci GnRH yerine ECP (estradiol cypionate) enjeksiyonu yapılması ve tohumlamaların hem östrüs gözlenerek hem de fixed time gerçekleştirilebilmesidir. Ovsynch ve presynch protokolleri, kistik ovaryumlu ineklerde daha etkili olmasına karşılık, heat-synch normal siklus gösteren ineklerde daha iyi sonuç vermektedir.

Select-synch

Modifiye ovsynch yöntemidir. Select senkronizasyon protokolünde 2. GnRH enjeksiyonu yapılmamakta, östrüs tespiti ve tohumlama birleştirilerek, yalnızca östrüs gösteren inekler tohumlanmaktadır. Bu bakımdan ovulasyondan ziyade bir östrüs senkronizasyon protokolüdür. 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. Siklik ineklerin büyük bir bölümü PG enjeksiyonundan 36-71 saat sonra östrüs gösterir. 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. Basit ve kısa süre içerisinde östrus oluşumuna sebep olan bir yöntemdir. Non siklik ineklerde select-synch ve co-synch protokolü ile aynı oranda gebelik elde edilirken, siklik ineklerde select-synch protokolü ile daha yüksek oranda (%70) gebelik elde edilmiştir.

Modifiye Select-synch Protokol

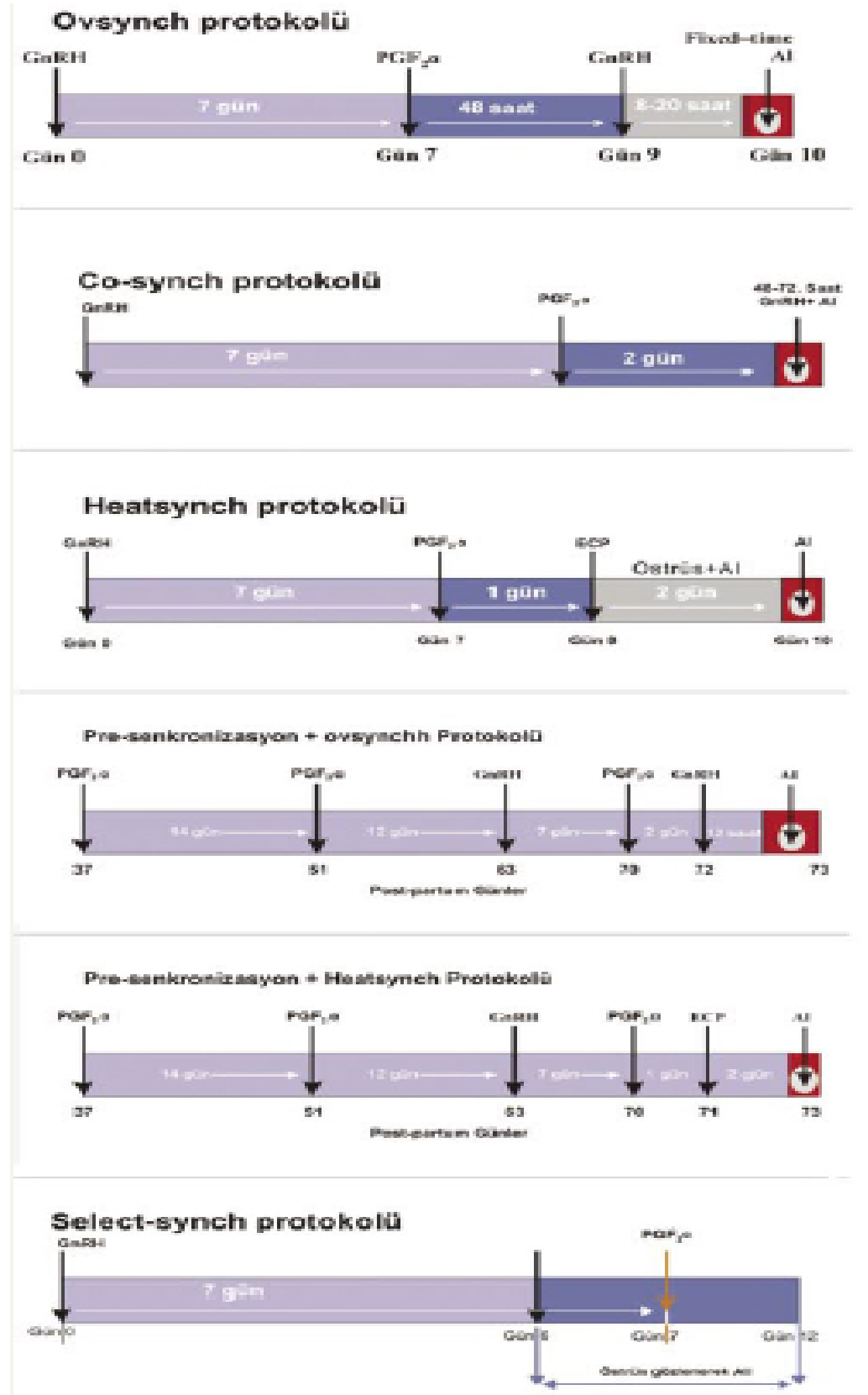
Nonsiklik ineklerde gebelik oranını artırmak için, select-synch protokolündeki uygulamalara progestin ilave edilerek, GnRH ile birlikte aynı gün progestin uygulaması başlatılır. Yedi gün sonra progesteron uygulamasına son verilip aynı anda PG enjekte edilir. Östrüs gözlenerek tohumlama yapılır. Progesteron nonsiklik ineklerde ovaryum üzerine sıçrama diyebileceğimiz ilave uyarımlar başlatmaktadır.

Pre-synch

Presynch, gerçek anlamda ovulasyon senkronizasyon yöntemlerinin (ovsynch, co-synch, heat-synch) uygulanmasına başlamadan önce hayvanların folliküler gelişimin uygun döneminde bulunmasını sağlayan protokoldür. Çünkü sözü edilen programlar, dominant bir follikülün bulunduğu siklusun 5-9. günleri arasında başlatıldığında gebe kalma oranında artışlar sağlanabilmektedir. Presynch, bu yöntemler uygulanmaya başlamadan önce 14 gün arayla 2 kez PG uygulamasıdır. Ancak orijinal presynch protokolünde, ovulasyon senkronizasyon yöntemleri 2. PG uygulamasından 12 gün sonra başlatılmaktadır. Oysa 14 gün sonra başlatılması halinde ilk 4 enjeksiyonlar haftanın aynı adlı gününe isabet edeceğinden programlama daha kolay olmakta ve orijinal presynch uygulaması ile aynı döl verimi sonuçları alınabilmektedir.

Hangi Protokolü Ne Zaman Kullanılır?

Bu soruyu şu şekilde de sorabiliriz; hangi protokol ile en yüksek gebelik oranı elde edilebilir? Bu, uygulama zamanına, protokolda kullanılan ilaçlara, hayvanların sağlık durumuna ve östrüsleri belirleme etkinliğine göre değişebilir. Uygulamalar doğru ve zamanında yapılmalıdır. Kayıtların düzenli olması ve deneyimli AI teknisyeni önem arz eder. Hijyen ve sperma çözdürme kurallarına uyulmalıdır (10). Stres oluşturacak her türlü faktör elimine edilmeli Özellikle ısı stresi GnRH'ın etkisini düşürür. Preovulator follikülden östrojen üretimi azalır, östrüs belirtileri zayıflar ve embriyonik ölüm insidansı artar. Kondisyon orta veya iyi olmalıdır). Hedef çiftleştirmelerde ilk enjeksiyonlar pp 30-40. günlerde başlatılmalı. Sağlıklı ve iyi bir beslenme programı uygulanmalı ve östrüs tespit etkinliği yüksek olmalıdır. Presynch+ovsynch protokolünün, yalnız başına ovsynch protokolünden daha başarılı sonuç verdiği, ovsynch ve heatsynch protokolü ile hemen hemen aynı gebelik oranı elde edildiği bildirilmiştir) Eğer bir işletmede pp gönüllü bekleme süresinden evvel hayvanlar sağlıklı ve siklik iseler ve östrüs tespiti problem teşkil ediyor ise Presynch+Ovsynch veya Presynch+Heatsynch kombinasyonu tercih edilebilir. Östrüs tespiti problem teşkil etmiyor ise modifiye hedef çiftleştirme protokolü uygulanabilir. Anöstrüs probleminin olduğu işletmelerde Ovsynch veya Heatsynch protokolleri yarar sağlar. Progesteron içeren protokoller nonsiklik ineklerde ve düvelerde daha başarılı sonuç verir. Ovsynch, co-synch ve select-synch protokolleri 10 gün içerisinde başlatılıp sonlandırılan protokollerdir. Bu protokoller genelde düveler için tavsiye edilmemektedir. Hedef çiftleştirmeler ve progestagen içeren protokoller düveler için daha başarılı sonuç vermektedir.



Şekil 4.

Bu sebeple ovsynch protokolü öncesinde hayvanlara 14 gün arayla 2 kez PG uygulan-

Hayvanlarda Gebelik Süreleri

Evcil Hayvanlar	Gün	Yaban Hayvanlar	Gün
İnek	279-290	Ayı	210
Köpek	58-70	Deve	410
Eşek	365	Geyik	197-220
At	330-340	Fil	600-660
Keçi	145-155	Aslan	108
Koyun	144-150	Leopar	92-95
Llama	330	Geyik	210-240
Domuz	112-115	Panter	90-93
Chinçilla	110-120	Zurafa	420-450

Reproductif siklus Değerler

Tür	puberte yaşı	siklus tipi	siklus uzunluğu	östrus s	Doğ. sonu ilk östrus z.
İnek	12-15 a	polyöstrus	21 g(18-24)	18 h	60-90 g
At	18 a	sezonal p	21 g	6 gün	4-14 g
Koyun	9	sezonal	16 g	24-48 s	sonraki sezon
Keçi	5 a	sezonal	19	2-3 gün	gelecek sezon

Kaynaklar

1. Prof dr Dursun Ali Dinç, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi Cilt: 77 - Sayı: 2 - Yıl: 2006 59
2. Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, Aali M and Dinn N (2005) Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers:ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. Theriogenology,64, 7,1457-1474.
3. Ax R, Pollard B, McCauley T, Fish D and Faber S (2005) Hormone Options to Increase Pregnancy Rates. Presented at the 108th Annual Meeting, Minnesota Veterinary Medical Association, February 4, 2005.
4. Bartolome JA, Silvestre FT, Artech ACM, Kamimura S, Archbald LF and Thatcher WW (2002) The use of Ovsynch and Heatsynch for resynchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography. J Dairy Sci, 85, Suppl, 1, 99.
5. Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, Swift K, Kelbert D, Archbald LF and Thatcher WW (2004) 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*, 16, 2, 126–127.

6. Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, Swift K, Kelbert D, Archbald LF, Thatcher WW (2005) 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*, 63, 6), 1643-1658.

7. Baumann LE (1988) Monitoring and predicting reproductive performance in dairy herds. Vol I and II. *Dissertation Abstracts International, B-Sciences and Engineering*, 49: 4, 1049.

8. Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA and Wood-Follis SL (2003) Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J Dairy Sci*, 86, 2039-2049.