

SIĞIR EMBRİYO TRANSFERİNDE HORMON KULANIMI**(DERLEME)****(Using Hormon in Cattle Embryo Transfer)****(A Review)****Numan AKYOL¹**

1. Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Lalahan/ANKARA

ÖZET

Embriyo transferinde asıl hedef yüksek genotipik ve fenotipik kapasiteye sahip dişi hayvanlardan (donor) elde edilen yavru miktarını artırmaktan ibarettir. Embriyo transferi sayesinde hayvancılık endüstrisinde hayvansal kalite ve kazanç artmaktadır.

Bir dişi buzağı doğduğu zaman ovaryumlarında çoğunlukla 75.000`ten 300.000`e kadar değişebilen sayıda primordial follükül barındırmaktadır. Doğal olarak ineklerden hayatları boyunca 7-8 yavru almak mümkündür ancak süperovulasyon sayesinde her uygulamada birden fazla embriyo toplanıp aynı dönemde bir o kadar yavru almak imkan dahilindedir. Sonuç olarak, süperovulasyon embriyo transferinde önemli bir rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler : Embriyo Transferi, Hormon, Süperovulasyon.

SUMMARY

The main goal of farm animal embryo transfer is to produce superior offspring via the uterus into which embryos are transferred from donors having excellent genes, strong constitutions and superior traits. Embryo transfer rapidly improves animal quality, increasing benefits in livestock industry.

A cow may, for instance, bear seven or eight calves at most even though it has to 75.000 to 300.000, primordial follicles in the ovaries soon after birth. Superovulation enables a donor cow to have more than one embryo at a time, and these embryos are transferred to recipient to produce seven or eight calves. As a result superovulation plays a major role in embryo transfer.

Key Words : Embryo Transfer, Hormon, Superovulation.

GİRİŞ

Hayvancılık alanında modern teknolojilerden faydalanarak verimi artırmak ve kısa sürede istenen zamanda ve sayıda üstün nitelikli yavrular elde edebilmek için, suni tohumlama, seksüel siklus sinkronizasyonu, embriyo nakli ve embriyoların dondurulması, ikizlik oranının artırılması, embriyoda veya spermada cinsiyet tayini gibi bir takım yöntemler gittikçe yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. İster birim hayvan başına verimi artırmak, ister mevcut hayvanların verimlerini koruyup sürekliliğini sağlamak konusunda olsun

uygulanan bu biyolojik yöntemlerin ana amacı üstün erkek ya da dişi genotipinin yaygınlaştırılmasıdır.

Gonadotropinlerle süperovulasyon oluşturulması

Süperovulasyon oluşturmak amacıyla, APG (anterior pituitary gonadotropin), PMSG=eCG (Pregnant mare serum gonadotropin-Equine chorionik gonadotropin), hCG (human chorionic gonadotropin) ve hMG (human menopozal gonadotropin) gibi hormonlar kullanılır (Tablo1,2)(1,2,3,4,5).

Tablo 1. Süperovulasyonda kullanılan hormonlar (Mori, 1999)

<i>Hormon adı</i>	<i>Kısa yazılışı</i>	<i>Elde edildiği yer</i>	<i>Fonksiyonu</i>
Folikül uyarıcı hormon	FSH	Hipofiz bezi	Foliküler büyüme uyarımı
Gebe kısrağ serum gonadotropini	PMSG=eCG	Gebe kısrağ kan serumu	Birinci derecede FSH ikinci derecede LH
İnsan korionik gonadotropini	HCG	Gebe kadın idrarı	Birinci derecede LH ikinci derecede FSH
İnsan menapozal gonadotropini	hMG	Menapoz sonrası kadın idrarı	Birinci derecede FSH ikinci derecede LH

Tablo 2. Süperovulasyonda kullanılan bazı hormonların kimyasal yapıları (Mori, 1999)

<i>Hormon</i>	<i>Biyokimyasal yapı</i>	<i>Molekül ağırlığı (Dalton)</i>
FSH	Glikoprotein	29.000-35.000
LH	Glikoprotein	29.000
PMSG(eCG)	Glikoprotein	53.000-68.000
hCG	Glikoprotein	36.700-40.000

Hayvanların süperovulasyona verecekleri cevap, ırka, yaşa, genel kondisyona, hormon tipine, uygulama şekline, iklime, beslenmeye ve çevresel koşullara az yada çok bağlıdır. Genel olarak sütçü ineklerin süperovulasyon uygulamalarına cevabı etçi ırklardan daha düşüktür. Holstein'lere göre diğer sığır ırkları süperovulasyona daha iyi cevap vermektedirler. 10 yaşından sonra ineklerde süperovulasyona verilen cevap da düşmektedir(2,4). Bu yüzden daha çok sıklık geçmiş bilinen düveler tercih edilmektedir.

Süperovulasyon

Süperovulasyon, embriyo transferinin en önemli aşamalarından biridir. Donör olarak kullanılan dişi hayvanlara ekzojen hormon enjeksiyonu yapılarak ovaryumlarında çok sayıda follikül gelişiminin sağlanması ve ovulasyon oluşturulması şeklinde tanımlanır.

Süperovulasyon oluşturmak amacıyla ekzojen gonadotropin uygulaması yapılır. Süperovulasyon ineklerde ilk kez 1940 yılında Casida ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (5). Ancak, süperovulasyon amacıyla yapılan hormon uygulamalarına

ovaryumun cevabının tam ve güvenilir olmaması nedeniyle süperovulasyon bugün dahi embriyo transfer teknolojisinin büyük sorunlarından birini oluşturmaktadır (2,4,5). Ayrıca türlerin süperovulasyon uygulamalarına cevapları da oldukça farklıdır. Örneğin atların bahsi geçen hormon uygulamasına cevabı oldukça düşükken inekler iyi sayılacak bir oranda cevap geliştirirler.

Genellikle ineklerin süperovulasyonunda iki hormon kullanılır. Bunlar FSH veya PMSG'dir. Daha az olarak ta hMG kullanılmaktadır. PMSG'nin kullanım avantajları, FSH'tan daha ucuz ve kolay temin edilebilir olması, tek uygulamanın yeterli olmasıdır. Dezavantajları ise elde edilen embriyo sayısında ve kalitesinde geniş bir varyasyon olması ve uygulamadan sonra rezidülerinin sorun oluşturmasıdır.

Süperovulasyon Amacıyla Kullanılan Hormonlar ve Kullanım Tarzları

1.FSH :Bu hormona follikül stimüle edici hormon, follikül uyarıcı hormon da denir ve ön hipofizdeki gonadotrop hücrelerde oluşur. Büyük molekülü bir glikoprotein olan

SİĞİR EMBRİYO TRANSFERİNDE HORMON KULLANIMI

folikül uyarıcı hormon, %32 oranında karbonhidrat içerir. Moleküldeki aminoasitlerin her biri birer peptit zincirinden oluşan iki alt birim halinde düzenlenmiştir. Bunlara alfa ve beta alt birimleri denir. Alfa alt birimlerinde 92 aminoasit, beta alt birimlerinde ise 118 aminoasit bulunmaktadır.

FSH, follüküllerin gelişimi ve antrum oluşumu için gereklidir. FSH, gelişen follüküllerin teka interna ve granuloza hücrelerinden başta β -östradiol olmak üzere östrojenlerin salınımını uyarır. Follüküllerin östrojen salabilmesi için FSH ve LH birlikte etkilidir. FSH ve LH ovulasyona dek sinerjik olarak etki gösterir. Östrojen hormonu follüküllerin gelişiminde FSH'ya yardım eder. Östrojen düzeyi kanda yükseldikçe FSH salınımı azalır ve LH etkin duruma geçer (7).

FSH genellikle at, domuz ve koyunlardan elde edilen bir hipofiz gonadotropinidir. Uygulama dozları ineğin canlı ağırlığına bağlı olarak 25mg ile 50 mg arasındadır (Tablo 3). FSH yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir bu bakımdan tekrarlanan dozlar halinde uygulanması gerekir. FSH'ın biyolojik yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle sabah akşam devam eden uygulamaları yapılmaktadır. Bu şekilde uygulama araştırmalara göre en uygun sonucu vermektedir (Tablo4 ve 5). Araştırmacılar aynı zamanda aynı doz FSH uygulaması ile azalan dozları da mukayese etmişler ve azalan dozların daha iyi sonuç verdiğini görmüşlerdir (Tablo 6).

Tablo 3. FSH dozları ile ovulasyon oranları arası ilişki (Mori, 1999)

<i>FSH dozu</i>	<i>Ortalama ovulasyon sayısı</i>	<i>Kaynak</i>
25.0 mg	13.0	Bellows ve ark. (1969)
12.5 mg	4.0	Hafez ve ark. (1965)
12.5 mg	4.0	Bellows ve ark. (1969)
12.5 mg	1.75-1.82	Wildt ve ark. (1975)
12.0 mg	3.4-5.0	Laster (1975)
12.0 mg	1.6	Kosugiyama (1978)
10.0 mg	1.4-2.7	Raynolds ve ark. (1970)
10.0 mg	1.5-2.1	Smith ve ark. (1973)
6.25 mg	2.2	Bellows ve ark. (1969)

Tablo 4. Bazı hormonların yarılanma ömürleri (Mori, 1999)

<i>Hormon</i>	<i>Yarılanma ömrü</i>
FSH	110 dak
LH	30 dak
PMSG	40-50 saat

Tablo 5. FSH'ın değişik dönemler halinde uygulanmaları (Mori, 1999)

<i>FSH uygulaması</i>	<i>İnek sayısı</i>	<i>Ortalama korpus luteum sayısı</i>	<i>Ortalama toplam embriyo sayısı</i>	<i>Ortalama nakledilebilir embriyo sayısı</i>
3 kez /Gün	12	9.3±4.1 ^a	5.6±4.8 ^a	4.1±4.4 ^a
2 kez /Gün	12	9.9±4.0 ^a	5.7±4.3 ^a	4.3±3.2 ^a
1 kez /Gün	12	7.6±5.3 ^a	4.4±4.5 ^{a,b}	2.3±3.3 ^{a,b}
2 günde bir kez	10	2.5±3.3 ^b	1.0±2.3 ^c	0.6±1.4 ^b

a-b P<0.01; b-c P<0.05; b-d P<0.10

Tablo 6. FSH'nin azalan dozları ve değişmeyen dozlar halinde uygulanması (Mori, 1999)

Uygulama tarzı (mg)	İnek sayısı	Ortalama korpus luteum sayısı	Ortalama toplam embriyo sayısı	Ortalama nakledilebilir embriyo sayısı
4:4, 4:4, 4:4, 4:4*	14	8.9±5.2	5.6±4.3	2.6±3.7
6:6, 5:5, 3:3, 2:2*	13	15.6±10.6	13.4±11.5	5.5±6.7

* Sabah ve akşam dört günlük uygulama tarzı

Araştırmalar göstermiştir ki, diğer süperovulasyon uygulamalarında olduğu gibi FSH uygulamalarında da, başlangıç olarak östrus siklusunun 9-14. günleri en uygun zamandır. Çalışmalarda 6. siklus gününe değin çok erken olduğu yani 2, 3, 4, 5 ve 6. günlerdeki hormon uygulamalarında istenilen sonucun alınmadığı ancak 9 ve 14. günler arasında yapılan hormon uygulamalarında en iyi cevabın şekillendiği görülmüştür. Bu araştırma sonuçlarına göre, 9 ve 14. günler

arasında gerçekleştirilen süperovulasyon uygulamalarında toplanan embriyo sayısı ve kalitesi bakımından bir fark olmadığı ortaya konulmuştur (2,4,5). Kısaca süperovulasyon amacıyla 9 ve 14. günler arasında herhangi bir günde uygulamaya başlanabilmektedir. Bu günlerde hormonun etkili olmasının nedeni, hem olgun bir korpus luteum varlığı ve hem de folliküler dalgalanmanın süperovulasyon için en uygun durumda olmasındandır.

Tablo 7. Farklı FSH/LH düzeyleri ile farklı ırkların süperovulasyon sonuçları (Mori, 1999)

FSH/LH	İrk	İnek sayısı	Ortalama korpus luteum sayısı	Ortalama toplam embriyo sayısı	Ortalama nakledilebilir embriyo sayısı
½	Siyah Alaca	14	5.1	3.8	2.2
	Şarole	12	13.5	12.5	6.5
6	Siyah Alaca	19	12.3	11.1	5.6
	Şarole	12	6.8	4.6	2.4

Dünya piyasasında FSH/LH oranları farklı düzeyde olan, FSH preparatları mevcut olup bunların inekler üzerine süperovulasyon yapıcı etkileri farklı düzeydedir (4). Genellikle LH içermeyen FSH preparatları ineklerin süperovulasyonunda tercih edilir durumdadır. Bununla birlikte LH bazı ırklar üzerine süperovulasyon yaptırma özelliği açısından daha uygun bulunmaktadır.

Dünyada embriyo transferi çalışmalarında çeşitli FSH preparatları kullanılmakta bunlar da değişen oranlarda LH etkisi de göstermektedir. Ancak son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte saf FSH preparatları (Rekombinant-FSH) ya da minimum LH içeren FSH preparatları elde

edilir hale gelmiştir. Bahsedilen rekombinant FSH ile iyi sonuç alınır olmasına rağmen bunların maliyeti oldukça yüksektir (4).

2. PMSG : PMSG, gebe kısrak serum gonadotropini olarak bilinir ancak son zamanlarda terminolojide daha çok eCG olarak anılmaktadır. Gebe kısrakların serumlarından elde edilen plasenta kaynaklı bir gonadotropindir. Kısraklarda endometriumun fincan biçimindeki çukurlarından gebeliğin 40 ve 50. günleri arasında PMSG salınır. Kanda 60-80. günlerde en yüksek düzeye ulaşır. 120-150. günlerde azalarak 150. günden sonra tamamen kaybolur (7). Daha çok FSH benzeri etkileri olup bunun yanı sıra LH benzeri etki de gösterir.

SİĞİR EMBRİYO TRANSFERİNDE HORMON KULLANIMI

PMSG ineklerde, 2000IU ile 4000IU arasında değişen miktarlarda kullanılır. Yarılanma ömrü uzun olduğundan tek doz olarak uygulanması yeterli gelmektedir. Tek doz uygulama ile ineklerde oluşabilecek enjeksiyon stresi de önlenmiş ve iş yoğunluğu azaltılmış olacaktır. Ancak yarılanma ömrü uzun olması sebebiyle süperovulasyondan sonra bile ovaryumda büyük folliküller kalabilmektedir. Bahsi geçen bu folliküllerden salınan östrojen toplanan embriyo sayısına olumsuz etki yapabilmektedir.

Erken embriyonik gelişim döneminde kan östradiol seviyesinin toplanan embriyo sayı ve kalitesi üzerine çok fazla olumsuz etkisi bulunmazken geç gelişim aşamasındaki embriyolar üzerine çekirdek anomalileri oluşturması açısından bazı olumsuz etkileri söz konusu olmaktadır. Bu olumsuz durum anti-PMSG preparatları kullanılarak giderilebilir (4,5).

Tablo 8. hMG ile süperovulasyon sonuçları (Mori, 1999)

Uygulama	İnek sayısı	Ortalama toplam embriyo sayısı	Ortalama fertilize embriyo sayısı	Ortalama nakledilebilir embriyo sayısı	Nakledilebilir embriyo oranı (%)
hMG(2/1)*	10	15.4±2.9	6.2±1.7	2.5±0.7	16
hMG(1/1)*	9	14.3±1.8	11.1±1.5	7.3±1.5	53
hMG(1/2)*	8	3.8±1.5	3.3±1.4	2.9±1.5	76
hMG(1/4)*	9	1.3±0.5	1.1±0.5	1.0±0.4	77
FSH-P	9	22.8±3.3	16.1±3.4	11.0±3.2	48

* FSH /LH oranını ifade etmektedir

Bazı araştırmacılar az sayıda hayvan üzerinde yaptıkları çalışmalarda süperovulasyona cevabın PMSG uygulaması gibi çıktığını belirtmişlerdir. Fakat hMG'nin yüksek dozlarında bile ovule olmayan follikül sayısının önemli oranda fazla olduğunu ifade etmişlerdir (4).

3. hMG : Pubertaya erişen bir dişide, gonadotropik hormonların etkisi ile follikül gelişimi olur ve gelişen bu folliküllerden salınan östrojenin kandaki miktarı artar. Artan östrojen miktarına bağlı olarak ise FSH ve LH salınımı baskılanarak kandaki düzeyleri azalır. Ancak menapoz sonrası gelişecek follikül kalmadığından östrojen salınımı da önemli ölçüde düşer ve FSH ve LH salınımı baskılanmadığından, kandaki dolayısıyla idrarla çıkarılan miktarları 4-10 katı kadar artar (7). Bu düşünceden yola çıkarak menapoz sonrasındaki bir kadının idrarından elde edilen gonadotropinlerin süperovulasyon amacıyla kullanılabilirliği düşünülmüş ve bu hormona da hMG adı verilmiştir. hMG kullanılarak yapılan süperovulasyon çalışmalarında FSH veya PMSG gibi olumlu ve yeterli sonuç alınamamıştır.

4. Ovulasyonun uyarılması için hCG veya LH kullanımı :

hCG, gebe kadınların plasentalarının korion villuslarındaki sinsitiotrofoblast hücrelerden salınmaktadır. hCG alfa ve beta alt birimlerinden oluşmuş, % 31 oranında şeker içeren bir glikoproteindir.

hCG bütün gebelik süresi içinde kana verilir ve döllenmeyi izleyen üç-dört hafta içerisinde de idrarla çıkarılmaya başlar.

Gebeliğin 70. gününde ise en yüksek değere ulaşır daha sonra doğuma kadar gittikçe azalır (7). Daha çok LH etkisi olduğundan luteotrop etkidedir ve FSH benzeri etkisi azdır. Folliküllerin gelişmesine ve ovulasyona katkıda bulunur. Menstruel korpus luteumların gebelik korpus luteumuna dönüşmelerini ve bunların gebelik süresince gereği kadar yerlerinde kalmalarını temin eder. Süperovulasyon uygulanan ineklerde ovulasyonlar 24-48 saat hatta daha geniş bir zaman aralığına yayılmakta bu da ovumların fertilizasyonunda sorun oluşturmaktadır. Bu sorunu ortadan kaldırmak amacıyla östrusun başlangıcında 2500-5000 IU hCG intravenöz enjeksiyonu faydalıdır (1).

LH, luteinleştirici hormon ya da erkeklerde ICSH (Interstisyel hücre stimüle edici hormon) olarak bilinir ve ön hipofizdeki gonadotrop hücrelerde oluşur ve salınır. LH'da FSH gibi glikoprotein yapısında büyük molekülü bir hormondur. İneklerde normal olarak LH pikinden 24 saat sonra ovulasyon gerçekleşir. Kandaki LH konsantrasyonu bu pikin ardından yine hızlı bir şekilde düşer. FSH gibi salınımında GnRH rol oynamaktadır. Kabaca dişilerde folliküllerin gelişimi ve olgunlaşmasında rol oynamaktadır. Bu etkinin gerçekleşmesi için de önceden FSH etkisi ile folliküllerin uyarılması gerekir. Luteinleştirici hormon olgun follikülün ovulasyonunu sağlar. Nitekim plazmada LH düzeyi ovulasyondan hemen önce doruk noktasına ulaştığı için, luteinleştirici hormon ovulasyonu başlatıcı uyarı olarak kabul edilmektedir. Bu hormonun asıl ismini almasını sağlayan ise onun luteinleştirici etkisidir. Yani korpus luteum oluşumunu sağlayan yonüdür.

Gerek hCG ve gerekse LH ovulasyonun uyarılması amacıyla önceden kullanılmaktaydı ve bazı araştırmacılar elde edilen embriyo sayı ve kalitesini artırdığını bildirmişlerse de (6), artık kullanımı terk edilmiştir. Zira östrusun indüklenmesi amacıyla prostaglandin uygulamasını takiben ön hipofizden yeterli düzeyde endojen LH salındığı belirlenmiştir (4).

5.Süperovulatör Hormonlarla Birlikte Kullanılan Hormonlar

GnRH: hCG'nin endike olduğu durumlarda kullanılmakla birlikte artık yukarıda açıklanan sebepten dolayı kullanımı pratik bulunmamaktadır.

Östradiol 17-β: Süperovulasyon amacıyla hormon uygulanan ineklerde zaman zaman östrus zayıf olarak gözlenmektedir. Bu nedenle 10mg östradiol 17-β beklenen östrus tan bir gün önce hayvana enjekte edilir (1).

Prostaglandinler: Prostaglandinler tam anlamıyla hormon olmamakla birlikte, etkisini yerel hormonlar gibi salındıkları dokularda ya da bu dokuların yakınında gösteren maddelerdir. Önceleri yalnız prostattan salındığı sanılarak bu maddelere prostaglandin adı verilmiştir. Memelilerin hemen hemen bütün dokularında oluşmasına rağmen bu isimle anılmaya devam edilmektedir. Organizmada üç, dört ya da beş çift bağ içeren 20 karbonlu doymamış yağ asitlerinden türeler. Yapılarındaki siklopentan halkasındaki farklılıklara göre A,B,C,D,E,F ve İ gibi ana sınıflara ayrılırlar ve birincil grupta olanlardan en önemlileri ise E ve F sınıfı prostaglandinlerdir (7). Prostaglandinler sınıfına göre uterusun çeşitli kısımlarının kasılmasına ya da gevşemesine sebep olurlar. Özellikle PGF_{2α} gebelik ve gebeliğin

SİĞİR EMBRİYO TRANSFERİNDE HORMON KULLANIMI

olmadığı durumlarda uterus düz kaslarının kasılmasına sebep olur. Ayrıca $PGF_{2\alpha}$ ovulasyondan önce follüküler sıvıda bolca bulunmakta ve ovulasyonda etkili olduğu kabul edilmektedir. Bunun yanında gebe olmayan ineklerde uterusu oluşturulan $PGF_{2\alpha}$, ovaryum ve korpus luteumun kan damarlarını büzer ve oluşan iskemi vasıtasıyla korpus luteumun yapısal ve işlevsel olarak gerilemesini temin eder.

Embriyo transfer teknolojisindeki en büyük gelişme, güçlü luteolitik etkiye sahip prostaglandinlerin bu sahada kullanılmaya başlaması olmuştur. Doğal ya da sentetik prostaglandinler verici hayvanlarda süperovulasyonun etkinliğini artırmak, alıcı ve verici hayvanlar arasında seksüel sinkronizasyonu sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. $PGF_{2\alpha}$ diöstrus evresindeki hayvanlarda tek enjeksiyon, grup halindeki ise 9-11 gün arayla çift enjeksiyon şeklinde uygulanarak seksüel siklusların sinkronize edilmesi sağlanır (1,4,5). Doğal prostaglandinler yanında günümüzde, *Dinoprost*, *Cloprostenol*, *Tiaprost* ve *Liprositol* gibi sentetik türevleri daha yaygın olarak kullanılmaktadır (1).

İneklerin süperovulasyonunda FSH veya PMSG uygulamasını takip eden 48. saatte

prostaglandin enjeksiyonu yapılır. Doğal prostaglandinler günlük 30 mg, sabah ve öğleden sonra olmak üzere iki kez; analoglarının ise günlük tek doz enjeksiyonu yeterli olmaktadır. Prostaglandin uygulamasını takip eden 42-48. saatlerde östrus başlanmaktadır. Östrus başlangıcından sonraki 10-24. saatlerde tohumlama yapılır.

Anti-PMSG: Hindi, tavşan, koyun ve keçi gibi hayvanlardan elde edilebilmekte ve PMSG rezidülerinin serumdaki varlığının ortadan kaldırılması amacıyla kullanılmaktadır (2,4,5). Süperovulasyon için PMSG kullanılan ineklerde rezidüel PMSG transfer edilebilir embriyoların miktarını olumsuz olarak etkilemektedir. Bu nedenle PMSG uygulanan ineklerde rezidüel PMSG'yi nötralize etmek amacıyla östrus başlangıcından 18-24 saat sonra anti-PMSG verilebilir. Ovulasyon öncesi LH yükselmesinden çok kısa süre sonra anti-PMSG verilerek ovulasyon ve transfer edilebilir embriyo sayısında artış sağlanmaktadır (2,4,5). Ayrıca anti-PMSG uygulamaları ile büyük follükül ve kist rastlantıları da önemli ölçüde azalmaktadır. Araştırmalar anti-PMSG kullanımının olumlu sonuçlar verdiği yönündedir (2).

Tablo 9. PMSG ve anti-PMSG kullanılan ineklerden alınan sonuçlar (Mori, 1999)

<i>PMSG(IU)</i>	<i>Anti-PMSG(IU)</i>	<i>İnek sayısı</i>	<i>Ortalama toplam embriyo sayısı</i>	<i>Ort. fertilize embriyo sayısı</i>	<i>Ort. nakledilebilir embriyo sayısı</i>
1500	0	12	2.8±0.8	1.7±0.7	0.4±0.7
1500	1500	10	5.3±1.1	3.5±1.0	2.4±0.8
3000	0	10	2.2±1.1	0.9±0.6	0.3±0.3
3000	3000	11	10.1±1.2	6.2±1.1	3.2±1.0
4500	0	10	5.1±2.4	1.2±1.3	0.6±0.5
4500	4500	11	5.8±1.3	2.1±0.8	0.6±0.3

Tablo 10. Anti-PMSG uygulama zamanlarına göre elde edilen bulgular (Mori, 1999)

Gruplar	İnek sayısı	Ort. ovulasyon sayısı	Ortalama toplam embriyo sayısı	Toplanan embriyo oranı (%)	Ort. nakledil. embriyo sayısı	Nakledilebilir embriyo oranı (%)
Kontrol*	11	10.8±5.8	7.2±5.9	66.7	3.5±4.4	48.6
12 saat sonra**	11	9.5±6.8	7.7±6.3	81.3	5.6±6.4	72.7
24 saat sonra**	12	9.8±6.7	7.8±6.7	79.6	5.3±4.5	68.9

* Anti-PMSG uygulanmayan grup ** Östrus başlangıç zamanı dikkate alınmıştır

Tablo 11. Verici ineklerde FSH ile 12 kez yapılan süperovulasyondan elde edilen sonuçlar (Wilson, 1988)

Uterus yıkanması	Aralık (gün)	Toplam embriyo (adet)	UFO sayısı (Unfertilize ova)	Ort. dejenere embriyo sayısı	Ort. nakledilebilir embriyo sayısı
1	-	11.3	3.6	1.3	6.4
2	65.8±2.7	12.5	3.1	2.1	7.3
3	59.2±2.2	11.7	3.0	1.0	7.7
4	61.1±2.3	11.9	3.2	1.7	7.0
5	66.9±10.5	10.0	2.5	1.3	6.2
6	58.6±3.4	9.6	2.6	1.3	5.7
7	57.5±2.6	9.7	1.5	1.5	6.7
8	72.7±15.2	10.9	2.8	1.4	6.7
9	59.3±2.5	11.2	3.2	1.7	6.3
10	73.2±12.3	11.0	2.9	1.4	6.7
11	82.9±18.7	8.0	2.3	0.9	4.9
12	69.9±5.0	10.0	2.3	1.7	6.0

Süperovulasyon tekrarları

İneklerde tekrarlanan süperovulasyonlarda genellikle elde edilen embriyo sayısı düşmektedir. Bir başka deyişle süperovulasyonun tekrarlama sıklığı arttıkça embriyo elde etme şansı azalmaktadır. Bu bakımdan süperovulasyonlar arasında belirli bir zaman dilimi olması gerekmektedir. Kısa aralıklarla süperovulasyon yapılması istenen bir durum değildir. Yapılan çalışmalarda bu aralığın 40 gün ve daha üzerinde olması durumunda elde edilen embriyo sayı ve kalitesinin olumsuz yönde etkilenmediği gözlenmiştir (2,4,5).

Foliküler dalgalanma ve süperovulasyon

Luteal fazda 2 veya 3 bazan 4 folliküler dalgalanma şekillenir yani bir grup follikül

olgunlaşmak için atağa kalkar. Follikül olgunlaşması amacıyla birden fazla follikül büyümeye başlar ve bunların çapı 4 ila 5 mm civarına kadar artar. Bu aşamadan sonra bu folliküllerden yalnız biri hızla gelişerek büyüklük açısından diğerlerinin önüne geçer. Bu folliküle dominant follikül adı da verilir. Dominant follikül bu aşamada diğerlerinin gelişimini engeller ve yalnız başına gelişimine devam eder (4).

Süperovulasyon çalışmalarında da dominant follikül varlığında diğerlerinin gelişimi engellendiğinden elde edilen embriyo sayısı az olmaktadır. Dominant follikül oluşmadan yapılan süperovulasyon çalışmalarında bu durum görülmez.

Gestagenlerin (Doğal & Sentetik Progesteron) Kullanımı

Progesteron, 21 karbon atomu içeren steroid yapıda bir hormondur. Üretimi LH'nın denetimi altında gerçekleşir. Gebeliğin devamlılığı için gerekli bir hormon olup gebelik süresince kanda bol miktarda bulunur. Başlıca işlevi, östrojenlerin uterusu başlattığı değişimlerin sürekliliğini sağlamak ve uterusu döllenmiş yumurtanın yerleşmesi ve beslenmesi için hazır hale getirmektir. Uterusu gevşetir ve kasılmaları azaltır. Progesteron, hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormon salınımını kısıtlayarak ön hipofizden FSH ve LH salınımını azaltır. Gebelik

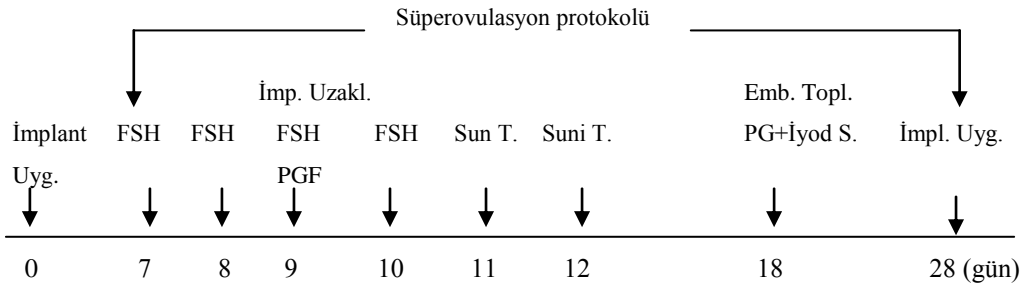
süresince ovu-lasyon olmaması LH'nın salınımındaki azalmayla açıklanır (7).

Progesteronik preparatlar kullanılarak süperovulasyon aralıklarını kısaltmak mümkün olmaktadır. Bunda iki asıl amaç şunlardır;

-Endokrinolojik yapıyı luteal fazdakine eşdeğer hale getirerek dominant follikül oluşumunun engellenmesi.

-Progesteronik preparatların prostaglandinlerle birlikte kullanımı ile elde edilen iyi kalite embriyo sayısının artırılması.

Bu amaçla PRID veya implantlar kullanılabilir. İmplantlarla yapılan bir süperovulasyon şeması aşağıda verilmiştir.



Şekil 1. Synchro-Mate ile tekrarlayan süperovulasyon uygulamaları

Bu şekilde bir uygulama ile 28 günde bir süperovulasyona başlanabilmektedir. Bahsi geçen uygulamada elde edilen sonuçlar standart süperovulasyon uygulamalarında elde edilenler gibidir (4). Bu uygulama tarzına göre; İmplant uygulamasının 7. gününde azalan

dozlarda FSH enjeksiyonlarına başlanmakta, 9. gün prostaglandin verilmekte ve embriyo toplandıktan sonra uterusu iyot solüsyonu verilerek tekrar prostaglandin enjeksiyonu yapılmaktadır.

Tablo 12. İneklerde Sinchro-Mate ile tekrarlayan süperovulasyon sonuçları (Mori, 1999)

Uterus yıkaması	Topl. embriyo sayısı	Nakledilebilir embriyo sayısı ve oranı (%)	İyi kalite embriyo sayısı ve oranı (%)
1	14	9(64.3)	1(11.1)
2	19	13(68.4)	6(46.2)
3	20	8(40.0)	4(50.0)
4	21	0(0.0)	-(-)
5	39	20(51.3)	11(55.0)
6	40	17(42.5)	8(47.1)
7	52	1(1.9)	0(0.0)
8	53	43(81.1)	24(55.8)
9	69	47(68.1)	17(36.2)
10	79	38(48.1)	15(39.5)
11	91	55(60.4)	25(45.5)

İnhibin

Dört farklı çalışma grubu tarafından 1985 yılında inek folliküler sıvısında inhibin adı verilen bir madde bulunmuştur. Bunun enjeksiyonu durumunda hipofizden FSH salınımının inhibe edildiği ve serum FSH düzeyinin hızla düştüğü görülmüştür. Böylece inhibinin FSH salınımı ve üretimindeki ayarlama etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bilgiler ışığında Anti-inhibin kullanımı ile küçük ve orta büyüklükteki folliküllerin gelişiminin sağlanması ve süperovulasyon etkinliğinin artırılmasına yönelik bazı çalışmalar mevcuttur.

Sonuç

1970' li yıllardan beri uygulanagelmekte olan ve 20 yıldır embriyo transfer teknolojisinin ayrılmaz bir parçası olan süperovulasyon metodu sayesinde birim hayvan başına alınan embriyo sayısı günden güne artırılmaya çalışıldı ve artık hormon uygulamalarıyla yapılabilecek olanlar net olarak ortaya konuldu. Bu aşamadan sonra, mevcut ovaryum potansiyelini farklı yöntemler kullanarak (OPU, IVM ve IVF) mümkün olduğunca çok kullanabilme ya da elde edilen embriyolardan daha fazla yararlanabilme imkanları (İdentikal ikizlik, Embriyoda cinsiyet tayini) yoğun olarak araştırılmaktadır. Günümüzde süperovulasyon, embriyo transfer teknolojisinin; embriyo

transfer teknolojisi de hayvan ıslahının vazgeçilmez unsurları olma yolunda birer metot durumundadır.

KAYNAKLAR

1. **Alaçam E. (1994)** *Reproduktif Hormonların Klinikte Uygulanmaları. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Sun`i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite.* Ed. E. Alaçam Birinci baskı, 37-49 Dizgievi, Konya.
2. **Boland MP, Goulding D, Roche JF (1991)** *Alternative Gonadotrophins For Superovulation in Cattle.* Theriogenology, vol:35, no:1;5-17.
3. **Bruce, D ve ark. (1984)** *Variability in Gonadotrophin Preparations as a Factor in The Superovulatory Response.* Theriogenology, vol:21,no:1; 117-125.
4. **Mori, J. (1999)** *Textbook on Advances Farm Animal Embryo Transfer Hormone Research.* JICA, Japan.
5. **Kanagawa H, Shimohira I ve Saitoh N. (1995)** *Manual of Bovine Embryo Transfer.* National Livestock Breeding Center MAFF, JICA- JAPAN.
6. **Takahashi, Y, Kanagawa, H. (1984)** *Effects of LH-RH Analogue on the Ovulation Rate and Embryo Quality in Heifers Superovulated With PMSG and PGF₂α.* Jpn. J. Vet. Res. 32, 183-189.
7. **Yılmaz, B. (1999)** *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi.* Feryal matbaacılık, Ankara