

**DÜVELERDE DÜŞÜK CLOPROSTENOL DOZLARININ
LUTEOLİTİK ETKİSİNİN VAGİNAL DİRENÇ DEĞİŐİMLERİ
VE KLİNİK ÖSTRUS BELİRTİLERİYLE İZLENMESİ**

**(Luteolytic Effect of Reduced Dose Of Cloprostenol
Monitored By Changes In Vaginal Resistance And
Clinical Signs Of Estrus In Heifers)**

**Kenan ÇOYAN(*) Melih AKSOY(*) Muhammed ALAN(*)
Kürőat IŐIK(**) Tevfik TEKELİ(*)**

SUMMARY

The administration of cloprostenol by intravulvosubmucous (i.v.s.m) injection at 1/4 of the dose usually given by intramuscular injection was tested in dairy heifers for luteolysis and estrus induction. Two injections of cloprostenol were administrated 11 days apart to the heifers. The first intramuscular injection of cloprostenol were applied in heifers at the usual dose of 500 mcg. On 11 th day after the first cloprostenol injection, heifers were examined for palpable corpus luteum by rectal palpation. All heifers diagnosed with palpable corpus luteum were treated with intravulvosubmucous injection of 125 mcg. cloprostenol into the labia ipsilateral to the corpus luteum bearing ovary. Observation for signs of estrus and probin2 with "Estron" were done daily for 4 days following the treatment. The percentage of heifers in estrus 48-72 hours following the treatment was 100 %, At the 71 % of animals, the minimal resistance values was also recorded at the same time with behavioural estrus. A total of 17 heifers were artificially inseminated and 29.41 % conceived.

We concluded that intravulvosubmucous iniectons of cloprostenol at the dosage of 125 mcg causes luteolysis, induces estrus and establishes fertility.

(*) S. Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, KONYA
(**) Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsü, KONYA

ÖZET

Bu çalışmada, kas içi olarak uygulanan cloprostenol dozunun 1/4'nün luteolizis ve östrusun sağlanması için kullanılabilirliği, vaginal direnç ölçümleri ve klinik östrus belirtilerinin izlenmesiyle saptanmaya çalışıldı. Bu amaçla düvelere 11 gün arayla 2 cloprostenol enjeksiyonu yapıldı. İlk cloprostenol enjeksiyonu normal dozda (500 mcg), kas içi uygulandı. Birinci eneksiyondan 11 gün sonra rektal palpasyonla ovaryumlar muayene edilerek corpus luteumlar kaydedildi. Corpus luteum saptanan bütün düvelere aynı taraftaki vulva dudağından submucosal olarak 125 mcg cloprostenol enjekte edildi. Enjeksiyonu izleyen 4 gün boyunca östrüs belirtileri gözlemlendi ve "Estron" ile vaginal direnç değişiklikleri kaydedildi. Enjeksiyonu izleyen 48-72. saatlerde düvelerin tamamı (% 100) östrus gösterdi ve bu dönemdeki vaginal direnç değerlerinin de hayvanların % 71 'inde en düşük düzeyde olduğu belirlendi. Östrus gösteren düvelere sun'i tohumlama uygulandı. Altıncı hafta sonunda yapılan rektal palpasyonda gebelik oranı % 29.41 olarak saptandı.

Sonuç olarak, corpus luteum bulunan taraftaki vulva mucosası içine uygulanan 125 mcg. cloprostenol'un luteolizis, östrus'un uyarılması ve gebeliğin oluşturulması için yeterli ve uygun olduğu kanısına varılmıştır.

GİRİŞ

Prostaglandin F₂ x (PGF₂ α) ve analoglarının güçlü bir luteolitik etkiye sahip olduğu anlaşıldıktan sonra, özellikle inek ve düvelerde reproduksiyon alanında çok çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. (4, 6, 7, 11, 16, 20, 21). Genellikle PGF₂ α ve analoglarının yaygın olarak kullanılan kas içi uygulamaları yüksek dozlara gereksinim göstermesine rağmen daha çok uygulama kolaylığı nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak daha düşük dozlarda uygulandığı takdirde de aynı luteolitik etkiyi oluşturabilen diğer uygulama yolları bazı araştırmacılar tarafından denenmiştir (1, 3, 4, 9, 10, 12, 13, 18, 19). Uterus içine damla veya uterus duvarına enjeksiyon tarzında uygulandığında prostaglandin dozunun kas içi uygulanan doza kıyasla önemli ölçüde azaldığı bildirilmektedir (10, 12, 19). İneklerde uterus içi uygulamaların uterusun enfekte olma ihtimali uterus duvarına enjeksiyon ise uygulama güçlüğü nedeniyle fazla pratik olarak görülmemektedir.

PGF₂ α ve analogları son yıllarda farklı ve daha pratik bir yöntem olan vulva submucosasına enjeksiyon tarzında (i.v.s.m., intravulvosubmucosal) kullanılmaktadır. Bu yolla, kas içi olarak uygulanan dozun çok daha düşük oranları vulvanın submucosası içerisine verildiğinde luteolitik etki oluşturmakta ve ayrıca uygulamaya bağlı olarak herhangi lokal ve organik bir yan etkiye neden olmamaktadır (3, 5, 9, 13).

Bu çalışmada, özellikle sürülerde yapılacak sinkronizasyon ve kontrollü üreme programlarında ve reproduktif amaçlı her türlü uygulamada maliyeti azaltacağı düşünülerek, sentetik bir prostastaglandin F2 α analogu olan cloprostenol'un kas içi dozunun (500 mcg) 1/4 oranında azaltılarak (125 mcg) düvelerde vulvanın submucosası içerisine uygulanarak luteolitik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada; Konya Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsüne ait, 1 adet 5, 1 adet 3 ve 15 adedide 2 yaşlı olmak üzere toplan 17 adet İsviçre Esmeri düve üzerinde yapıldı. Çalışmada kullanılan hayvanlar, daha önceden östrus gösterdikleri saptanmış ve rektal palpasyonda genital organların muayenesi ile sıklık aktivite gösterdikleri belirlenen düveler arasından seçildi.

Çalışmada tüm hayvanları senkronize etmek ve diöstrus dönemine getirmek için önce normal dozda 500 mcg cloprostenol kas içi yolla enjekte edildi. Onbir gün sonra yapılan rektal palpasyon ile tüm genital organlar muayene edilerek düvelerin diöstrusta olduklarından emin olunduktan sonra her bir düvenin corpus luteumunun hangi taraftaki ovaryum üzerinde bulunduğu belirlendi ve işaretlendi. Aynı gün kas içi uygulanan normal luteolitik dozun (500 mcg) 1/4' ü (125 mcg) corpus luteumun bulunduğu taraftaki vulvanın submucosası içerisine bir tüberkülin enjektörü yardımıyla enjekte edildi. Bu arada enjeksiyon günü de dahil olmak üzere 96. saate kadar 24 saat ara ile her gün bütün düvelere elektronik prob uygulanarak ("Estron": Animaltek, Inc., USA) vaginal dirençleri ölçüldü. Östrusta olduğu saptanan düveler birbirini izleyen 2 gün arka arkaya 2 defa tohumlanarak 6 hafta sonra rektal muayene ile kontrol edildi ve gebe olanlar belirlendi. Klinik olarak östrus belirlenmesinde altta durma, diğer hayvanların üzerine atlama, mucus akıntısı, mucus kristalizasyonu ve duldung refleksi gibi kriterler gözönünde bulunduruldu.

BULGULAR

Sonuçlar, Tablo 1, 2, 3 ve Grafik 1 ' de sunulmuştur.

Tablo 1 de de görüldüğü gibi 1/4 oranında azaltılmış 125 mcg cloprostenol'un vulvasubmucosası içerisine uygulanması sonucunda 17 adet düvenin tamamının östrus gösterdiği tespit edilmiş ve tohumlanan 17 adet düvenin 5 adedi (% 29.41) gebe kalmıştır.

Altta durma, diğer hayvanların üzerine atlama, mucus akıntısı, mucusun kristalize olması duldung refleksinin kontrolü ile gözleme dayalı olarak yapılan östrüs kontrollerinde cloprostenol'un vulva submucosasına enjeksiyonunu izleyen 48. saatte 9, 72. saatte 8 adedi olmak üzere çalışmada kullanılan düvelerin 17'sinde (% 100) östrüs göstermişlerdir. 24 saat ara ile alınan en düşük vaginal direnç değerleride 17 düvenin 12'sinde östrüsün klinik belirtileri ile paralellik göstermiş ve bu yöntemle östrüs tayininde doğruluk oranı % 71 olarak bulunmuştur.

Tablo 1. Vulva submucosası içerisine 125 mcg. dozda enjekte edilen cloprostenol'un düvelerin östrüs ve fertilitesi üzerine etkileri.

Tedavi	Düve No.	Östrüs Gösteren Düve* (%)	Gebe düve/Tohuml. Düve (%)
125 Mcg. Cloprostenol	17	17(100)	5/17 (29.41)

* Östrüsler klinik bulgulara göre değerlendirilmiştir.

Tablo 2. 125 Mcg. cloprostenol enjeksiyonu izleyen dönemde östrüs gösteren düvelerin saptanması.

Düve No.	Östrüs saptama yöntemi	Östrüsün gözlemlendiği saatler					Doğruluk Oranı (%)
		0	24	48	72	96	
	Klinik*	-	-	9	8	-	17/17 (100.0)
	Vaginal Direnç**	-	-	8	4	-	12/17 (71.0)

* Östrüsteki hayvanlar altta durma, diğer hayvanların üzerine atlama, mucus akıntısı, mucus kristalizasyonu ve duldung refleksi gibi kriterlere göre değerlendirilmiştir.

** Enjeksiyonu izleyen dönemde, vaginal direncin en düşük ölçüldüğü dönem östrüs olarak değerlendirilmiştir.

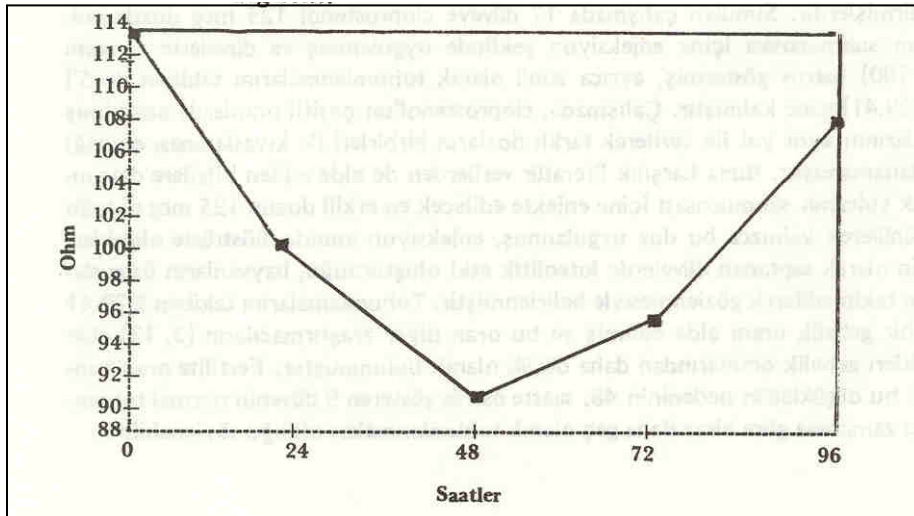
Enjeksiyon günü ve daha sonraki 24, 48, 72 ve 96. saatlerde vaginal direnç ölçümleri yapılan düvelerin toplam değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 3' te sunulmuş ve eğrisi Grafik 1 'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Enjeksiyonu izleyen dönemde toplam vaginal direnç ölçümlerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları.

	Enjeksiyonu izleyen Saatler				
	0	24	48	72	96
Ortalama Değer	113.65	99.65	89.70	92.18	108.21
±	±	±	±	±	±
Standart Sapma	3.97	3.14	3.76	2.94	5.27
Düve Sayısı (n)	17	17	17	17	14

Grafik 1' de de görüldüğü gibi, ortalama en düşük vaginal direnç değerleri Östrüslerin gözlemlenmesiyle saptandığı 48 ve 72. saatlerde elde edilmiştir. Enjeksiyondan önceki vaginal direnç değerleri 113.65 ± 3.97 ohm olarak tespit edildi. Doksanaltıncı saatteki 108.21 ± 5.27 ohm değerine tekrar yükselmeden önce 24, 48 ve 72. saatlerde sırasıyla 99.65 ± 3.14, 89.71 ± 3.76 ve 92.18 ± 5.27 ohm değerlerine düştüğü gözlemlendi.

Grafik 1. PG enjeksiyonunu izleyen saatlerde, ortalama vaginal direnç değerleri.



TARTIŞMA VE SONUÇ

Luteolitik etki oluşturmak amacıyla, PGF2 α ve analogları normal dozda ve klasik uygulama şekli olan kas içi uygulamalarının yanısıra daha düşük dozlarda da aynı etkiyi sağlayan damar içi, uterus içi, uterus duvarına enjeksiyon ya da vulvanın submucosasına enjeksiyon şeklinde uygulanabilmektedir. Bunların arasında en etkin, minimal dozlarda uygulandığında luteolizis oluşturabilen, komplikasyonsuz ve en kolay uygulanabileni vulvanın submucosasına enjeksiyon şeklinde olanıdır.

Chaugan ve arkadaşları (3), suböstrüslü inekler üzerinde yaptıkları çalışmada, cloprostenol'u kas içi olarak 500 mcg ve 250, 125 ve 62.5 mcg azaltılmış doz halinde vulva submucosasına uygulamışlar ve ineklerin sırası ile % 60.0, % 80.0, % 67.8 ve 18.0'inin östrüs gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Tohumlanan bu ineklerin kas içi cloprostenol uygulanan grupta % 42.8'nin, 250 mcg ve 125 mcg dozda vulvasubmucosasına uygulandığında da % 40.0 ve % 41.6' sının gebe kaldığını, buna karşılık aynı yol ile 62.5 mcg dozda uygulandığında hiçbir ineğin gebe kalmadığını göstermişler ve 125 mcg. dozdaki cloprostenol'un vulvasubmucosal uygulamasının luteolizise yol açan, östrüsü başlatan ve gebeliği sağlayabilen en etkili ve ideal doz olduğunu ifade etmişlerdir. Horta ve arkadaşları (9), da inek ve düvelerde luteolitik, etki östrüs ve fertilitiyi olumsuz olarak etkilemeksizin, vulva submucosası içine enjekte edilebilecek en etkili dozun 125 mcg olduğunu bildirmişlerdir. Narasimha Rao ve arkadaşları (13)' da mandalarda yine cloprostenol'u denemişler, corpus luteum'un el ile enüklasyonu, 500 mcg kas içi ve 100 mcg vulva submucosası içine enjeksiyon tarzında yapılan uygulamalar sonucunda, östrüs ve gebelik oranlarının üç grup arasında belirgin bir farklılık göstermediğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada 17 düveye cloprostenol 125 mcg dozda vulvanın submucosası içine enjeksiyon şeklinde uygulanmış ve düvelerin tamamı (% 100) östrüs göstermiş, ayrıca sun'i olarak tohumlanmalarını takiben de 5'i (% 29.41) gebe kalmıştır. Çalışmada, cloprostenol'un çeşitli oranlarda azaltılmış dozlarının aynı yol ile verilerek farklı dozların birbirleri ile kıyaslanması olanağı sağlanamamıştır. Buna karşılık literatür verilerden de elde edilen bilgilere dayanılarak vulvanın submucosası içine enjekte edilecek en etkili dozun 125 mcg olduğu düşünülerek yalnızca bu doz uygulanmış, enjeksiyon anında diöstrüste oldukları kesin olarak saptanan düvelerde luteolitik etki oluşturduğu, hayvanların östrüslerinin takip edilerek gözlenmesiyle belirlenmiştir. Tohumlamalarını takiben % 29.41 lik bir gebelik oranı elde edilmiş ve bu oran diğer araştırmacıların (3, 13) elde ettikleri gebelik oranlarından daha düşük olarak bulunmuştur. Fertilitite oranlarındaki bu düşüklüğün nedeninin 48. saatte östrüs gösteren 9 düvenin normal tohumlama zamanına göre biraz daha geç olarak tohumlanmaları olduğu söylenebilir.

Cordova ve arkadaşları (5) da, minimal dozda etkili olan prostaglandin dozunun, ancak corpus luteum'un bulunduğu taraftaki (ipsilateral) vulvanın submucosasına enjekte edildiğinde etkili olabileceğini bildirmişler ve prostaglandin'in etkinliğini artıran faktörün aynı taraftaki vulva submucosası ve ovaryum arasındaki özel bir geçiş yolu olabileceğini düşünmüşlerdir. Sunulan çalışmada eneksiyonlar, corpus luteum'un bulunduğu taraftan yapılmış ve düvelerin tamamının östrüs gösterdikleri saptanmış, corpus luteum'un bulunduğu tarafın ters (Contralateral) tarafından vulva submucosası içine enjeksiyonlar denenmesine rağmen prostaglandinlerin lokal etkili oldukları düşünülerek, başarılı sonuçların alınabilmesi için enjeksiyonların her zaman corpus luteum'un bulunduğu taraftaki vulvanın submucosası içine yapılmasının daha yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Cervico-vaginal mucus miktarı ve iyon kompozisyonundaki değişikliklerin saptanması östrusun belirlenmesinde yardımcı olabilmektedir. Östrüs sırasında vaginal mucus direncinin azaldığı bildirilmektedir (17). Mucus direnç testleri ile yapılan östrus tayini; progesteron testi, gözle östrüs takibi ve boya maddeleriyle yapılan östrus tayininde elde edilen bulgularla tam bir paralellik göstermektedir. Klinik olarak östrus tayini ile elde edilen gebelik oranları ile vaginal direnç değerlerine bakılarak tohumlanan ineklerin gebelik oranlarının birbirine çok yakın oldukları bildirilmektedir (15).

Heckman ve arkadaşları (8) yaptıkları çalışmada 29 düvenin % 77'sinde vaginal direnç değerlerinin östrusta en düşük olduğu ve gözleme dayalı olarak tayin edilen östrus oranlarıyla uyum içinde olduklarını bildirmişlerdir. Vaginal direncin proöstrus, östrus ve metöstrus dönemlerinde diöstrus dönemine göre % 30 azalacağını ve hakiki östrusu belirlemede etkili olamayacağı da bazı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (2). Çalışmada, vaginal direnç ölçümleri ile, en düşük değerlerinin alındığı gün hayvanların östrüsta oldukları yapılan gözlemlerle de doğrulanmış ve 17 düvenin 12'sinin östrüsleri % 71 lik bir doğruluk oranı ile bu yöntemle tespit edilebilmiştir. Bu oran Heckman ve arkadaşları (8)'nin elde ettiği % 77 lik doğruluk oranından biraz düşük olarak bulunmuştur. (Tablo 2). Peters (14), vaginal direnç ölçümlerinin östrusu kesin olarak belirlemede kullanılamayacağını ancak siklus döneminin önceden bilindiği durumlarda östrusun belirlenmesinde yararlı olabileceğini bildirmektedir. Çalışmada, bütün düvelerin en düşük vaginal direnç ortalamaları östrüslerin klinik olarak saptandığı 48 ve 72. saatlerde elde edilmiştir (Tablo 3, Grafik 1). Bu nedenle biz de vaginal direnç ölçümlerinin, siklusun durumunun önceden bilindiği durumlarda östrusun belirlenmesinde yararlı olabileceği kanısındayız.

Cloprostenol'un vulva submucosası içine enjekte edilmesi için özel bir ustalık ve beceriye gerek yoktur ve etkisinde herhangi bir azalma olmaksızın dozun azalmasını sağlayarak ekonomiye katkı sağlayabilmektedir. Bu durum, Senkroni-

zasyon programlarında, özellikle cloprostenol'ün pahalı ve bulunmasının güç olduğu ülkelerde maliyeti en aza indirmede yararlı olmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada, cloprostenol'ün normal kas içi uygulanan dozunun (500 mcg) 1/4 oranında azaltılarak 125 mcg dozda corpus luteum'un bulunduğu taraftaki vulva dudağının submucosası içine enjeksiyonuyla düvelerde lüteolizise neden olduğu, östrusları başlattığı, gebeliği sağladığı ve bu yolla kullanımının etkili ve son derece ekonomik olacağı kanısına varılmıştır.

LİTERATÜR LİSTESİ

1. BOSTEDT, H. (1985): Schwierige östrusterminierung nach PGF_{2α} - gabe beim rind. Tierärztliche Praxis, 13, 5, 311.
2. CARTER, P.D. and DUFTY, J.H. (1980): Assesment of vaginal impedance measurements as an indicator of oestrus in cattle. Australian Veterinary Journal, 56, 321-323.
3. Chauhan, F.S., MGONGO, F.O.K., KESSY, B.M. and GOMBE, S. (1986): Effects of intravulvo-submucosal cloprostenol injecicnson hormonal profiles and fertility in subestrous cattle, Theriogenology, 26, 1 , 69, 75.
4. COOPER, M.J. (1974): Control of oestrous cycles of heifers with a synthetic prostaelandin analogue. Vet. Rec. , 95, 200, 203.
5. CORDOVA, S.A., JİMENEZ, F.K, and VİLLA-GODOY, A. (1990): Intravulvo-submucosal injections of luprostiol may reach corpora lutea by a local, unilateral pathway in cattle, Theriogenology, 33, 1, 207.
6. EDDY, R.G. (1983): The use of the prostaglandin analogue cloprostenol and the milk progesterone test to control breeding policy in one dairy herd. Br. Vet., J., 139, 104 -108.
7. ELMORE, R.G. (1989): Putting prostaglandin F_{2 α} to work in your bovine practice. Veterinary Medicine, November, 1093 -1097.
8. HECKMAN, G.S., KATZ, L.S., FOOTE, R.H., OLTENACU, E.A.B, SCOTT, N.R. and MARSHALL, R.A. (1979): Estrous cycle patterns in cattle monitored by electrical resistance and milk progesterone. Dairy Sci. 62, 64 -68.
9. HORTA, A.E.M, COSTA, C.M.S.G., ROBALO SİLVA, J. and RİOS WASOUEZ, M.I. (1986): Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. Theriogenology, 25, 2, 291 -301.
10. INSKEEP, E.K. (1973): Potential uses of prostaglandins in control of domestic animals., J. Anim Sci., 36, 1149 -1157.

11. LOPEZ GATIUS, F. (1989): Effects of cloprostenol, human chorionic gonadotrophin and estradiol benzoate treatment on estrus synchronization in dairy cows. *Theriogenology*, 32, 2, 185 -195.
12. LOUIS, T.M., HAFS, H.D. and MORROW, D.A. (1974): Intrauterine administration of prostaglandin F₂ α in cows; Progesterone, estrogen, LH, estrus and ovulation, *J. Snim Sci.*, 37, 347 -353
13. NARASHIMA RAO, A. V. and VENKATRAMAIAH. (1989): Luteolytic effect of a low dose of cloprostenol monitored by changes in vaginal resistance in subetrous buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.*, 21, 149 -152.
14. PETERS, A.R. (1989): Changes in electrical resistance of the vaginal mucosa in prostaglandin ftreated cows. *Vet. Rec.*, 505 -507.
15. ROBERTS, S.J. (1986): "Veterinar.v Obstetrics And Genital Diseases" (Theriogenology). Third Edition. Published by outhur. Ithaca. New York.
16. SEGUIN, B.E. (1980): Role of prostaglandins in bovine reproduction. *JAVMA*.176,10(2),1178 -1181.
17. SMITH, R.D. (1986): Estrus Detection. In "Current Therapy in Theriogenology 2". Edited by D.A. Morrow. 153 -158. W.B. Saunders Company, Philedieiphia.
18. STEINER, H. (1983): Die intravenöse anwendung von prostaglandin F₂ α zur behandlung von genitalkatarren und zur verkürzung der zwischen kalbezeit beim rind. *Der Praktische Tierarzt*. 11, 1008 -1013.
19. TERVIT, R., ROWSON, L.E. and BRAND, R. (1973): Synchronization of oestrus in cattle using a prostaglandin F₂ α analogue (ICI 79939). *J. Reprod Fertil.* 34, 179 -181.
20. WENKOFF, M. and CROWE- SWORDS, P.R. (1983): The management of prostaglandin-controlled breeding programs in beef cattle. A five year study. *Can. Vet. J.*, 24,50 -53.
21. WHITTIER W.D., GWAZDAUSKAS, F.C. and McGILLIARD. M.L. (1989): Prostaglandin F₂ α usage in a dairy reproduction program for treatment of unobserved estrus, pyometra and ovarian luteal cysts. *Theriogenology*, 32, 4, 693 -704.