

**T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HOLSTEIN İRKİ İNEKLERDE SUNİ TOHUMLAMA SONRASI  
FARKLI GÜNLERDE ENDOMETRİYAL EKOTEKSTÜRÜN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Arş. Gör. Orçun CANNAZİK**

**Danışman**

**Prof. Dr. Bülent POLAT**

**Ortak Danışman**

**Doç. Dr. Duygu KAYA**

**DOĞUM ve JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARS – 2017**

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HOLSTEIN İRKİ İNEKLERDE SUNİ TOHUMLAMA SONRASI**  
**FARKLI GÜNLERDE ENDOMETRİYAL EKOTEKSTÜRÜN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Arş. Gör. Orçun CANNAZİK**  
**Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**Danışman**

**Prof. Dr. Bülent POLAT**

**Ortak Danışman**

**Doç. Dr. Duygu KAYA**

**KARS – 2017**

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Araş. Gör. Orçun CANNAZİK tarafından hazırlanmış olan “**Holstein Irkı İneklerde Suni Tohumlama Sonrası Farklı Günlerde Endometriyal Ekotekstürün Değerlendirilmesi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy **birliği**..... ile **kabul**..... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/12/2017

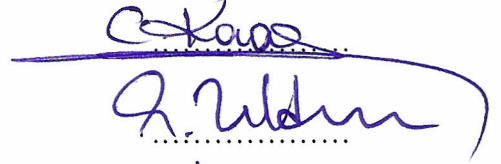
**Adı-Soyadı**

**İmza**

Başkan: Prof. Dr. Kutlay GÜRBULAK




Üye: Prof. Dr. Cihan KAÇAR



Üye: Prof. Dr. Savaş YILDIZ



Üye: Prof. Dr. Bülent POLAT



Üye: Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../..... /..... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Doç. Dr. Duygu KAYA**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Sürdürülebilir süt sığırcılığı için reproduktif verimlilik en önemli faktörlerden birisidir. Reproduktif verimlilik üzerine çevresel ve genetik birçok faktör etki etmektedir. Genetik faktörlerin düzeltilmesi oldukça güçken, çevresel faktörlere müdahale etme imkanı daha fazladır. Reproduktif verimliliğin belirlenmesinde fertilité parametreleri kullanılır. Bir sürüde fertilité parametrelerinin düzeltilmesi ile reproduktif verimlilik de artırılmış olur.

Doğum gebe kalma aralığı ve sürüdeki gebelik oranı başlıca değerlendirilen fertilité parametreleridir. Doğum gebe kalma aralığının uzaması reproduktif verimliliğin düşmesine ve böylece üretim karlılığının azalmasına neden olmaktadır. Sürüdeki gebelik oranının düşmesi ise sürü geleceğinin ve sürdürülebilirliğinin tehlikeye girmesine yol açar.

Doğum gebe kalma aralığını istenilen düzeyde tutabilmek için tohumlama sonrası erken dönemde gebe olmayan ineklerin belirlenmesi ve bu ineklere hormonal uygulamalar ile müdahale edilmesi ve yeniden tohumlamaya uygun hale getirilmesi sürü yönetiminde uygulanan başlıca stratejilerdir.

Gebeliğin erken dönemde belirlenmesi için hormon ölçümlerinden, protein yapılı belirteçlerin kullanılmasından (protein B) ve ultrasonografi gibi birçok yöntemden faydalanılmaktadır. Son yıllarda bilgisayar destekli görüntü analiz sistemlerinin kullanılmaya başlanması ile daha objektif sonuçlar alınmaya çalışılmaktadır.

Bilgisayar destekli görüntü analizlerinin kullanılmasıyla elde edilen görsel veriler sayısal değerlere çevrilmekte ve sübjektif değerlendirmelerden uzaklaşmaktadır.

Sunulan çalışma bu fikir üzerine oturtulmuş ve tohumlama sonrası uterus endometriyumunda meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiş, gebelik muayenesi ardından veriler retrospektif olarak kıyaslanmıştır. Elde edilecek veriler sayesinde işletmelerde reproduktif verimliliğin yükseltilebileceği, böylece karlılığın da artırılabilceği düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimi sürecimde bana her anlamda destek olan, bilgi ve tecrübeleriyle hayatımın her döneminde bana ışık tutan, tez çalışmamda da bana maddi manevi desteğini esirgemeyen danışmanım Sayın Prof.Dr. Bülent POLAT'a,

Eğitimim süresince beni destekleyen ve katkı sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Armağan ÇOLAK ve Sayın Doç.Dr. Mehmet CENGİZ'e,

Ayrıca her zaman desteklerini hissettiğim danışmanım Sayın Doç.Dr. Duygu KAYA'ya ve Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim üyeleri değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Cihan KAÇAR, Sayın Prof.Dr. Hasan ORAL'a,

Doktora öğrenimim boyunca her zaman yardım aldığım Sayın Yrd.Doç.Dr. Semra KAYA ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Mushap KURU'ya

Doktora tez çalışmam için bana çiftliklerini açan Er-Palan Hayvancılık A.Ş. yöneticileri ve çalışanlarına,

Tezimin analizlerinde yardım aldığım Sayın Araş.Gör.Dr. Seçkin SALAR'a,

Hayatımın her anında sürekli yanımda olan değerli anneme ve babama, hayatıma girdiği andan itibaren beni sürekli destekleyen değerli eşim Nida CANNAZİK'e de teşekkür eder, saygı ve sevgilerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>Kısaltmalar ve Simgeler .....</b>	<b>VI</b>
<b>Şekiller Dizini .....</b>	<b>VIII</b>
<b>Resimler Dizini .....</b>	<b>IX</b>
<b>Tablolar Dizini.....</b>	<b>X</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>XI</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>XII</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
2.1. Reprodüktif Performans .....	2
2.1.1. Reprodüktif Performansı Etkileyen Faktörler .....	2
2.1.2. Reprodüktif Performansın Azalması.....	5
2.1.3. Reprodüktif Performansın Düzenlenmesine Yönelik Uygulamalar .....	6
2.2. Uterusun Histolojik ve Fonksiyonel Özellikleri .....	6
2.2.1. Uterusun Histolojik Yapısı.....	6
2.2.2.Uterusun Fonksiyonel Yapısı.....	7
2.2.3.İneklerde Seksüel Siklusun Hormonal Düzeni .....	7
2.2.4.Hormonların Dişi Genital Organları Üzerine Etkisi .....	8
2.3. Erken Embriyonik Dönem .....	10
2.3.1. Gebelik Fizyolojisi .....	11
2.3.1.Gebeliğin Anne Tarafından Tanınması.....	12

2.3.2. Erken Embriyonik Dönemde Uterus Yapısında Meydana Gelen Değişimler ..	16
2.4. Gebeliğin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler .....	17
2.4.1. Rektal Palpasyon .....	18
2.4.2. Kan ve Süt Progesteron Konsantrasyonu .....	18
2.4.3. Gebelik Spesifik Proteinler .....	19
2.4.4. İnterferon – tau .....	19
2.4.5. Vajinal Direnç .....	20
2.4.6. Östron Sülfat Konsantrasyonu .....	20
2.4.7. Erken Konsepsiyon Faktörü .....	20
2.4.8. Transrektal Ultrasonografi .....	21
2.4.8.1. Ultrasonografinin Çalışma Prensibi .....	23
2.4.8.2. Ultrasonografinin Genital Organların Muayenesinde Kullanılması .....	24
2.4.8.3. Transrektal Ultrasonografinin Gebelikte Kullanımı .....	25
2.4.8.4. Bilgisayar Destekli Görüntü Analizleri .....	28
<b>3. MATERYAL ve METOT .....</b>	<b>33</b>
3.1. Materyal .....	33
3.1.1. Hayvan Materyali .....	33
3.2. Metot .....	33
3.2.1. Uterus Sağlığının Belirlenmesi .....	33
3.2.2. Suni Tohumlama .....	34
3.2.3. Ultrasonografi ve Dijital Görüntülerin Alınması .....	35

3.2.4. Ekotekstür Analizleri .....	38
3.2.4.1. Bilgisayar Destekli Görüntü Analiz Programlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametreler .....	38
3.2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi .....	40
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>42</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>62</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>64</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>74</b>



**Kısaltmalar ve Simgeler**

<b>%</b>	Yüzde
<b>BMP</b>	Bitmap
<b>KL</b>	Korpus Luteum
<b>cm</b>	Santimetre
<b>CON</b>	Contrast
<b>dB</b>	Desibel
<b>E<sub>2</sub></b>	Östradiol
<b>Freq</b>	Frekans
<b>GnRH</b>	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
<b>GR</b>	Gradient
<b>GrMean</b>	Ortalama Gradient Değer
<b>GSA</b>	Gri Skala Analizi
<b>HOM</b>	Homojenite
<b>IFN<math>\tau</math></b>	İnterferon-tau
<b>IGF-I</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I
<b>ISG</b>	İnterferon-Uyarıcı Genler
<b>IVF</b>	İnvitro Fertilizasyon
<b>JPEG</b>	Birleşik Fotoğraf Uzmanları Grubu
<b>LH</b>	Luteinleştirici Hormon
<b>LIF</b>	Lösemi Önleyici Faktör
<b>M-CSF</b>	Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
<b>MGL</b>	Ortalama Gri Değer
<b>MHC</b>	Major Doku Uyuşum Kompleksi
<b>MHz</b>	Mega Hertz
<b>mm</b>	Milimetre
<b>MY</b>	Metabolik Yük
<b>NEB</b>	Negatif Enerji Dengesi
<b>NEFA</b>	Doymamış Yağ Asitleri
<b>OD</b>	Optik Dansite
<b>P<sub>4</sub></b>	Progesteron

## VII

<b>PAG</b>	Gebelik İlişkili Glikoprotein
<b>PAG-1</b>	Gebelik İlişkili Glikoprotein-1
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	Prostaglandin F2 alfa
<b>PP</b>	Postpartum
<b>PR</b>	Progesteron Reseptör
<b>PSP</b>	Gebeliğe Özgü Proteinler
<b>PSP-B</b>	Gebeliğe Özgü Protein-B
<b>ROI</b>	İlgili Bölge (Regions Of Interests)
<b>THI</b>	Sıcaklık Nem İndeksi
<b>RP</b>	Rektal Palpasyon
<b>TRUSG</b>	Transrektal Ultrasonografi
<b>USG</b>	Ultrasonografi
<b>VKS</b>	Vücut Kondüsyon Skoru

**Şekiller Dizini**

**Şekil 1.** Tohumlama sonrası günlere göre MGL parametresindeki değişiklikler ..... 44

**Şekil 2.** Tohumlama sonrası günlere göre HOM parametresindeki değişiklikler ..... 45

**Şekil 3.** Tohumlama sonrası günlere göre CON parametresindeki değişiklikler ..... 46

**Şekil 4.** Tohumlama sonrası 4. günde MGL için duyarlılık ve özgüllük değerleri ... 49

**Şekil 5.** Tohumlama sonrası 4. günde HOM için duyarlılık ve özgüllük değerleri ... 51

**Şekil 6.** Tohumlama sonrası 4. günde CON için duyarlılık ve özgüllük değerleri.... 52



**Resimler Dizini**

<b>Resim 1.</b> Uterusun histolojik ve ultrasonografik görüntüsü .....	7
<b>Resim 2.</b> Seksüel siklusun hormonal düzeni .....	8
<b>Resim 3.</b> Epiteliyokoriyal tip plasenta.....	15
<b>Resim 4.</b> Subklinik endometritisleri belirlemek amacıyla kullanılan endoservikal fırçalar .....	34
<b>Resim 5.</b> Çalışmada kullanılan ultrasonografi cihazı .....	35
<b>Resim 6.</b> Uterustan görüntü alınan bölge .....	36
<b>Resim 7.</b> Gebe ve gebe olmayan uterusun 0. gün USG görüntüsü.....	36
<b>Resim 8.</b> Gebe ve gebe olmayan uterusun 4. gün USG görüntüsü.....	37
<b>Resim 9.</b> Gebe ve gebe olmayan uterusun 12. gün USG görüntüsü.....	37
<b>Resim 10.</b> Gebe ve gebe olmayan uterusun 16. gün USG görüntüsü.....	37
<b>Resim 11.</b> Gebe ve gebe olmayan uterusun 18. gün USG görüntüsü.....	38
<b>Resim 12.</b> Gebe ve gebe olmayan uterusun 21. gün USG görüntüsü.....	38
<b>Resim 13.</b> ROI alanlarının belirlenmesi. ....	39
<b>Resim 14.</b> Bs2000Pro programında ultrasonografik görüntülerin analizi. ....	40

**Tablolar Dizini**

<b>Tablo 1.</b> Erken embriyonik dönemde gerçekleşen olaylar .....	11
<b>Tablo 2.</b> Kullanılan spermanın özellikleri .....	35
<b>Tablo 3.</b> Gebe ve gebe kalmayan ineklerde ölçüm günlerine bağlı ekotektür parametrelerinin değişimi.....	43
<b>Tablo 4.</b> Tüm inekler, gebe ve gebe olmayan ineklerin tohumlama sonrası 4. gündeki ekotektür parametreleri arasındaki ilişki .....	47
<b>Tablo 5.</b> Tohumlama sonrası 4. gün için duyarlılık ve özgüllük testi .....	48
<b>Tablo 6.</b> Tohumlama sonrası 4. günde farklı MGL cut-off değerlerinde duyarlılık ve özgüllük değişimi .....	50
<b>Tablo 7.</b> Tohumlama sonrası 4. günde farklı HOM cut-off değerlerinde duyarlılık ve özgüllük değişimi .....	51
<b>Tablo 8.</b> Tohumlama sonrası 4. günde farklı CON cut-off değerlerinde duyarlılık ve özgüllük değişimi .....	53

**ÖZET**

Yapılan çalışmada doğum yapmış Holstein ırkı ineklerde tohumlama sonrası farklı günlerde endometriyal ekotekstür değişikliklerinin incelenmesi amaçlandı. Özel bir işletmede bulunan 1. laktasyonundaki 49 adet inek çalışmaya dahil edildi. Çalışmada kullanılan inekler postpartum 60. günden itibaren subklinik ve klinik endometritis yönünden değerlendirildi. Klinik endometritis için akıntı muayenesi yapılırken, subklinik enfeksiyonların teşhisi için sitobraş örnekleme yapıldı. Anormal akıntı klinik endometritis olarak değerlendirilirken,  $> \%5$  nötrofil-lökosit veya lenfosit varlığı subklinik endometritis olarak değerlendirildi ve bu inekler çalışmadan çıkarıldı. Klinik ve subklinik endometritis yönünden sağlıklı olduğu belirlenen inekler çalışmaya dahil edildi ve izleyen ilk östrusta tohumlandı. Tohumlama yapılan ineklerden tohumlama günü (0. gün), tohumlama sonrası 4, 12, 16, 18 ve 21. günlerde ultrason görüntüleri alındı. Alınan görüntüler bilgisayar destekli görüntü analiz programında (BS200 Pro<sup>®</sup>) değerlendirildi. Gebe ve gebe olmayan hayvanların uterus endometriyumunun ekotekstür parametrelerindeki değişimleri incelendi. İncelemeler sonucunda ortalama gri değer ( $P<0,0001$ ) ve kontrast ( $P<0,005$ ) parametreleri gebe olan ineklerde gebe olmayanlara oranla daha yüksek bulundu. Özellikle tohumlama sonrası 4. günde MGL ve HOM değerleri istatistiksel olarak gebe ve gebe olmayan hayvanlarda farklı bulundu. Ayrıca gebe olan ineklerde MGL değeri gebe olmayanlara oranla daha yüksek olarak belirlendi. Sonuç olarak ineklerde tohumlama sonrası 4. günde yapılan ultrasonografik muayeneyle elde edilen görüntülerin bilgisayar destekli görüntü analiz programları ile değerlendirilmesi sonucunda gebe olmayan ineklerin belirlenebileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ekotekstür, İnek, Ultrasonografi, Uterus, Seksüel Süklus

## EVALUATION OF ENDOMETRIAL ECHOTEXTURE ON DIFFERENT DAYS AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION IN HOLSTEIN COWS

### SUMMARY

The purpose of this study was to investigate the changes of endometrial echotexture on different days after insemination in primiparous Holstein cows. A total 49 cows in their 1st lactation were included in the study which were located on a private farm. Cows used in this study were started to be evaluated for subclinical and clinical endometritis from postpartum day 60. Vaginal discharge examination was performed for clinical endometritis, whereas, cytobrush technique was used for the diagnosis of subclinical endometritis. While presence of abnormal discharge was considered as clinical endometritis, presence of  $> 5\%$  neutrophil-leukocyte or lymphocyte was regarded as subclinical endometritis and these cows were removed from the study. Cows determined to be free from clinical and subclinical endometritis were included in the study and inseminated at the first following estrus. Ultrasound images were taken from the inseminated cows on the day of insemination (day 0) and the day 4, 12, 16, 18 and 21 after insemination. The images were evaluated by a computer-assisted image analysis program (BS200 Pro®). Changes in the echotextural parameters of uterine endometrium of pregnant and non-pregnant cows were examined. As a result, mean gray values ( $P < 0.0001$ ) and contrast ( $P < 0.005$ ) parameters were higher in pregnant cows than in non-pregnant cows. Especially at 4th day of insemination MGL and HOM values were statistically different between pregnant and non-pregnant cows. In addition, MGL values of pregnant cows were higher than those of non-pregnant cows.

**Key words:** Cattle, Echotexture, Ultrasonography, Uterine, Sexual Cycle

## 1. GİRİŞ

Sürdürülebilir süt inekçiliğinde reproduktif performans kritik önem taşımaktadır. Süt inekçiliği işletmelerinin ekonomik çıktıları üzerinde, süt fiyatları, üretim maliyetleri, süt üretim miktarı, reproduktif verimlilik, genel sürü sağlığı ve ineklerin yaşam süresinin uzunluğu etkili olmaktadır. Son yıllarda yapılan genetik seleksiyonlar süt üretimi ve bileşenleri üzerine yoğunlaşmıştır (Lucy 2001a, Windig ve ark. 2006, Bicalho ve ark. 2014). Süt üretimindeki genetik kazanım, suni tohumlamayla, progeny testleriyle ve dünya genelinde seçilmiş boğaların kullanılmasıyla her yıl % 1,5 oranında artmaktadır (Sørensen ve ark. 2007). Süt verimi ile fertilitate arasında negatif bir ilişki olduğu için süt verimi artarken fertilitate azalmakta bunun sonucunda da reproduktif verimlilikte kayıplar şekillenmektedir (Lucy 2001b, Windig ve ark. 2006, Bicalho ve ark. 2014).

Reproduktif performansın en önemli ölçütü sürü fertilitate oranıdır. Fertilitate, genetik ve daha çok çevresel faktörlerden etkilenmektedir. (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008, Dash ve ark. 2016). Fertilitate düzeyi ile süt verimi arasında kurulacak denge, süt inekçiliğinde karlılığı artıracak en önemli unsurdur. Son yıllarda yapılan birçok çalışma karlılığın artırılmasını hedeflemektedir (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008, Thiruvankadan ve ark. 2010).

Sürü fertilitate düzeyini artırmak amacıyla kullanılan yöntemlerin başında doğum gebe kalma aralığının optimal zamana çekilmesi gerekmektedir. Üreme programlarının verimliliğini artırmak amacıyla gebe ve gebe olmayan inekler mümkün olduğunca erken dönemde belirlenmelidir (Romano ve Larson 2010). Erken dönemde gebe olmayan hayvanların belirlenmesi ve sonrasında uygun hormonal senkronizasyon programlarının kullanılmasıyla, hayvanlar kısa sürede tekrar tohumlanarak doğum gebe kalma aralığının kısaltılması sağlanabilmektedir (Caraviello ve ark. 2006, Miller ve ark. 2007).



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Reprodüktif Performans**

Reprodüktif performans başlıca, doğum – gebe kalma aralığı, iki doğum arası süre, gebelik başına düşen tohumlama sayısı ve doğum – ilk tohumlama arası geçen süre gibi fertilité parametreleriyle belirlenen ve hayvancılık işletmelerinin karlılığını etkileyen önemli faktörlerden birisidir (Grohn ve Rajala-Schultz 2000, Wiltbank ve ark. 2016).

Sürü sağlığı üreme programlarının temel amacı, yaşam boyu süt üretimini sağlamak için sağlıklı ineklerden 12 – 14 ayda bir buzağı alınmasıdır. Bu bağlamda inekler doğum sonrası 85 – 145 gün içerisinde tekrar gebe kalmalıdır. Süt işletmelerinin reprodüktif yönetiminde gönüllü bekleme süresi sonunda hayvanın tohumlanması ve gebelik tanısının erken konulması gibi iki önemli adımı vardır. Tohumlama sonrası beklenen muhtemel östrüstan önce gebe olmayan hayvanların tanısının konulması yönetsel kararların erkenden alınmasını, böylelikle ineklerde açık gün süresinin azaltılmasını ve daha karlı buzağılama aralığının elde edilmesini sağlar (Romano ve ark. 2006).

#### **2.1.1. Reprodüktif Performansı Etkileyen Faktörler**

Reprodüktif performans; edinsel ve doğmasal bozukluklardan, embriyonik ve fetal gelişimden, sonuç olarak da buzağının yaşama kabiliyetinden etkilenmektedir (Moreira ve ark. 2000, Veerkamp ve ark. 2000, Windig ve ark. 2005). Enerji dengesi, süt verimi, vücut kondisyon skoru (VKS), hastalıklar, hormonal durum, çevresel faktörler ve reprodüktif yönetim (östrüslerin saptanması) gibi birçok faktör fertilité problemlerine yol açarak reprodüktif performansını etkilemektedir (Grohn ve Rajala-Schultz 2000, Santos ve ark. 2004, Caraviello ve ark. 2006). Bu faktörlerin yanı sıra bazı sürülerdeki yüksek orandaki gebelik kayıpları da reprodüktif performansın azalmasına yol açmaktadır (Wiltbank ve ark. 2016).

Fertilité, genetik ve çevrenin tartışmasız olarak etkilediği, reprodüktif verimliliğin en önemli ve karmaşık ölçütlerinden birisidir (Rodriguez-Martinez ve

ark. 2008). Fertilite, genetik, beslenme, hormonal, fizyopatolojik, yönetimsel ve çevresel faktörlerin etkisi altındadır. Süt hayvanlarındaki fertilite özellikleri çok düşük kalıtsal değerlere sahip olduğu için fertilite varyasyonlarının çoğu genetik olmayan veya çevresel faktörler tarafından belirlenmektedir. Çevresel faktörler arasında hava sıcaklığı, bağıl nem, güneş radyasyonu, atmosferik basınç ve rüzgar hızı gelmektedir. (Thiruvankadan ve ark. 2010, Dash ve ark. 2016).

Süt inekçiliği sürülerinde buzağılama aralığı fertilite oranının genel olarak değerlendirilmesinde kullanılır. Bu parametre, açık gün sayısı olarak da ifade edilen doğum tekrar gebe kalma zamanı arasındaki sreden etkilenir (Pieterse ve ark. 1990). Gebeliğin tohumlama sonrası erken teğhis edilmesi, ineklerde üremenin etkili bir şekilde yönetilmesi için hayati önem taşımaktadır. Üreme sağlığı programlarının etkisini artırmak için de gebe ve gebe olmayan hayvanlar tohumlama sonrası en kısa sürede belirlenmelidir (Romano ve Larson 2010).

Sıcaklık stresi süt inekçiliğinde reproduktif verimliliği olumsuz etkileyen çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkar (Ravagnolo ve Misztal 2002). Sıcaklık stresinin bu negatif etkisi sıcaklık nem indeksi (THI) ile hesaplanabilmektedir. Bu indeks hem sıcaklığı, hem de nem oranını içeren bir değerdir (Dash ve ark. 2016). Sığırların THI ile üreme özellikleri arasında negatif bir ilişki vardır ve THI eşik seviyesini geçtiğinde hayvanlarda ısı stresinin olumsuz etkileri görülmeye başlar. Laktasyondaki stu ineklerde THI 72-73'n üzerine çıktığında, gebelik oranlarında düşüşler ortaya çıkar (Schüller ve ark. 2014).

Laktasyonun ilk haftalarında, özellikle yüksek süt verimine sahip olan süt ineklerinde, süt ile kaybedilen enerji rasyon ile karşılanamadığı zaman, negatif enerji dengesi (NEB) şekillenir.

Süt sentez ve sekresyonu ile harcanan enerjinin vücut rezervlerini kullanarak tamamlanması ile şekillenen metabolik yk (MY), NEB'e neden olur. Gelişen bu NEB ise laktasyondaki yüksek süt veren ineklerde fertiliteye zarar veren metabolik olaylara yol açar (Knight ve ark. 2000).

Süt sığırlarında doğum sonrası negatif enerji dengesine bağlı lipit mobilizasyonu, oositlerde lipit birikimine, yangısal değişikliklerin artmasına ve embriyonun hayatta kalma şansının azalmasına yol açar (Wathes ve ark. 2012).

Negatif enerji dengesinin oluşmasıyla GnRH ve LH'nin sentez ve sekresyonu azalır. Buna bağlı olarak östrojen ( $E_2$ ) üretimi azalır veya durur, LH salınım sıklığı azalır ve ovulasyon ya şekillenmez ya da geç şekillenir. Bu durumlara bağlı olarak östrus belirtileri azalır, oosit kalitesi düşer, fertilizasyon bozuklukları gelişir, erken embriyonik ölümler olur ve östrus siklusu kısılır veya anöstrus durumu meydana gelir (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008).

Negatif enerji dengesi gelişen hayvanlarda oluşan diğer birtakım bozukluklar da dolaylı olarak fertilitiyi etkilemektedir. Glikoz, insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I)'de meydana gelen azalmalar sonucunda yağ doku yıkımlanması şekillenir, böylece VKS azalır ve bir takım metabolik bozukluklar (hipokalsemi, asidoz, ketozis ve yağlı karaciğer sendromu gibi) meydana gelir. Bunların yanı sıra kan üre, beta-hidroksi bütirat, doymamış yağ asitleri (NEFA) ve triasilgliserol seviyeleri artar. Bu durumların gelişmesine bağlı olarak karaciğer, endometriyum (embriyo gelişimi için elverişsiz hale gelir) ve bağışıklık sistemi (endometritis ve plasental retensiyona karşı yatkınlık artar) fonksiyonları azalır (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008).

Metabolik yük sonucunda artan karaciğer metabolit oranı östradiol ( $E_2$ ) ve progesteron ( $P_4$ ) yıkımlanmasının artmasına, bu da dolaşımdaki östrodiol ve  $P_4$  oranının azalmasına neden olur. Böylelikle östrus belirtileri azalır veya kaybolur, fertilizasyon sorunları şekillenir ve erken embriyonik ölümler meydana gelir (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008).

Negatif enerji dengesi varlığında gelişen tüm bu olayların sonucunda da Repeat breeder oranında artma, gebelik ve buzağılama oranında azalma, buzağılama aralığında atma meydana gelirken ekonomik kayıplar ve hayvan refahında da azalma şekillenir (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008).

Son yıllarda Holstein ırkı ineklerde süt veriminin artmasıyla, bu ırkı yoğun şekilde kullanan ülkelerde buzağılama gebe kalma aralığının uzadığı belirtilmiştir (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008).

Hastalıkların ve metabolik bozuklukların süt miktarında azalmaya neden olduğu açıkça görülmektedir, fakat süt verimindeki artışların da hastalıkların ve metabolik bozuklukların görülme oranını artırdığı belirtilmektedir (Grohn ve Rajala-Schultz 2000). Erken laktasyondaki süt ineklerinde gözlenen hastalıklar sadece fertilizasyon oranını değil, aynı zamanda embriyo kalitesini de düşürür. Hastalık şekillenen laktasyondaki inekler hem kilo kaybederler hem de VKS'leri düşer (Wiltbank ve ark. 2016).

### **2.1.2. Reprodüktif Performansın Azalması**

Reprodüktif performansın azalması, üreme bozuklukları nedeniyle zamanla süt veriminin düşmesine, ineğin üretim ömrünün azalmasına ve sonuçta sürüden çıkarılmasına neden olur. Hayvanların sürüden çıkarılması birçok nedeni içeren ekonomik gerekçelerle ilişkili bir olaydır. Sürüden çıkarma işlemi istemsiz (ölüm, akut hastalıklar ve infertilite gibi) ve istemli (verim düşüklüğü gibi) eliminasyon nedenleriyle yapılır. İstemsiz eliminasyonun en önemli nedeni reprodüktif sorunlardır. Ancak eliminasyon kararı verilirken; parite, süt verimi, laktasyon dönemi, hastalıklar ve gebelik durumu olmak üzere en az beş önemli kriter üzerinde değerlendirme yapılır (Grohn ve Rajala-Schultz 2000). Son 25 – 35 yıllık süreçte bu kriterlerde yaşanan problemlerdeki artışlar reprodüktif performansın azalmasına ve birim hayvan başına düşen süt üretiminde ciddi maliyet artışlarına neden olmaktadır (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008).

Süt verimi ve doğan buzağı sayısında azalmaya bağlı olarak, sürüde eliminasyon oranı artar ve reprodüktif verimlilik düşer. Sonuç olarak da sütçü işletmelerin karlılığı sürdürülemez hale gelir. Bu nedenle reprodüktif verimliliğini artırmak için üreme problemlerini en aza indirmek gerekmektedir (Grohn ve Rajala-Schultz 2000).

### **2.1.3. Reprodüktif Performansın Düzenlenmesine Yönelik Uygulamalar**

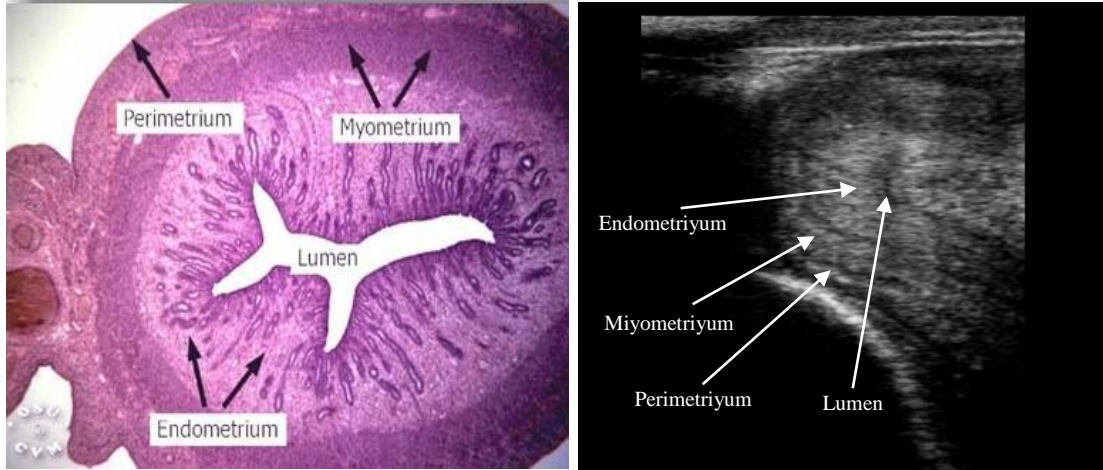
Süt inekçiliği işletmelerinde doğum – gebe kalma aralığını azaltmak amacıyla, östrus ve ovulasyonun senkronizasyonu ve resenkronizasyonu stratejileri geliştirilmiştir (Caraviello ve ark. 2006, Miller ve ark. 2007). Ayrıca çapraz melezlemeler yapılarak süt verimi, fertilité ve reprodüktif yaşamın iyileştirilmesi amaçlanmıştır (Knob ve ark. 2016). Yapılan bazı melezleme çalışmaları sonucunda, yüksek ekonomik geri dönüşler alınmış, reprodüktif verimlilikte artışlar gözlenmiş, buzağılama gebe kalma aralığı kısalmış ve gebelik oranı artırılmıştır (Lopez-Villalobos ve ark. 2000, Auldist ve ark. 2007, Heins ve ark. 2008, Knob ve ark. 2016).

Östrus senkronizasyonu veya sabit zamanlı tohumlama gibi kontrollü reprodüktif yönetim programlarının uygulanmasıyla buzağılama – ilk tohumlama aralığı kontrol edilerek açık gün süresi azaltılabilir (Tenhagen ve ark. 2004). Bu amaçla resenkronizasyon uygulamaları da kullanılmaktadır. Resenkronizasyon uygulamaları tamamlanmadan önce gebelik muayenesinin yapılması gerekmektedir. Tohumlamadan sonra gebe olmayan hayvanların erken dönemde belirlenmesi, bu hayvanların tekrar senkronize edilmesini ve daha kısa sürede gebe kalmalarını sağlamaktadır (Green ve ark. 2010).

## **2.2. Uterusun Histolojik ve Fonksiyonel Özellikleri**

### **2.2.1. Uterusun Histolojik Yapısı**

Uterus duvarı, endometriyum ve miyometriyum olarak iki fonksiyonel ve perimetriyum olarak da bir serozal kattan oluşur (Benbia ve ark. 2013, Espejel ve Medrano 2017). Mukozal bir yapı olan endometriyum östrus siklusunun her bir döneminde ve gebelikteki hormonal uyarımlarla sürekli bir değişim halindedir (Espejel ve Medrano 2017). Ruminantlarda endometriyum luminal ve glandular epitel olmak üzere iki tip epitel hücre katı, yoğun fibroblast bölgesi (stratum compactum) ve bu tabakanın içerisine gömüldüğü kan damarları ve immun sistem hücrelerini içeren daha gevşek ve derin bir bölgeden (stratum spongiosum) oluşur (Benbia ve ark. 2013).



**Resim 1.** Uterusun histolojik ve ultrasonografik görüntüsü (Ownby 2002).

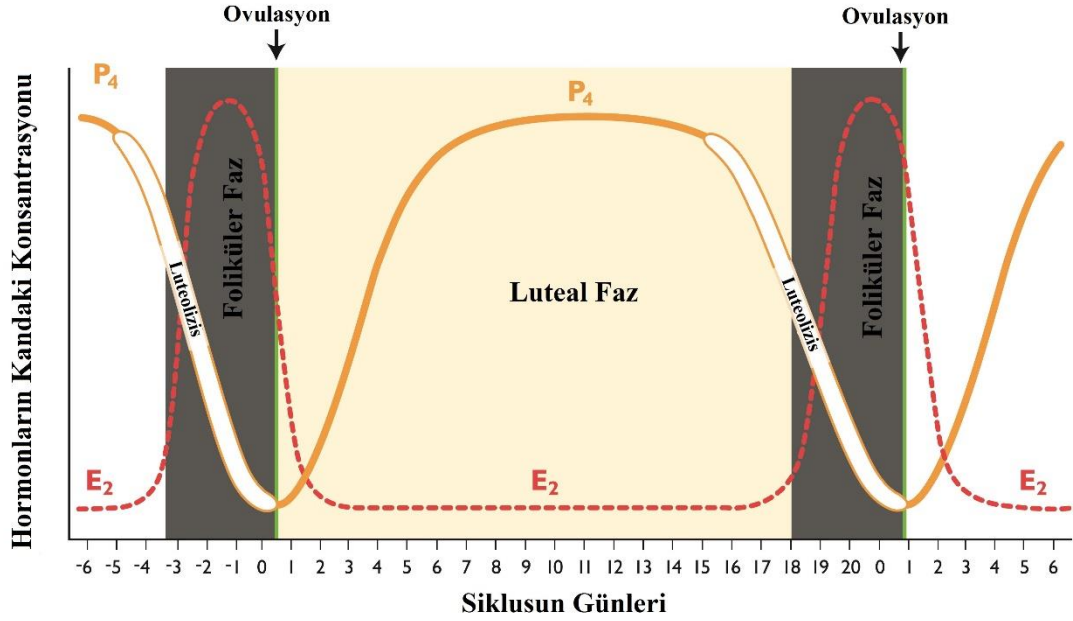
### 2.2.2. Uterusun Fonksiyonel Yapısı

Uterus, Müller kanalından gelişen içi boş kassel bir organdır. Uterusun, embriyo ve fötusun gelişebilmesi için uygun ortamın sağlanması, doğum sırasında kontraksiyonlarının artarak buzağı çıkarılması ve plasentanın atılmasına yardımcı olması, endometriyumdan  $PGF_{2\alpha}$  salgılanması gibi birçok reproduktif fonksiyonu vardır (Senger 1997, Espejel ve Medrano 2017).

### 2.2.3. İneklerde Seksüel Siklusun Hormonal Düzeni

Östrus siklusu, bir kızgınlıkla başlayan ve diğer bir kızgınlıkla biten, bir dizi reproduktif olayı içerir. Bu süreç, dişilere çiftleşmeleri ve gebe kalabilmeleri için olanak sağlar. Çiftleşme siklusun erken dönemlerinde, genellikle ovulasyonun hemen öncesinde gerçekleşir. Eğer gebelik şekillenmezse, siklus yeniden başlar ve dişiye tekrar çiftleşmesi için olanak sağlar. Gebelik şekillendiği takdirde dişi doğum, laktasyon ve involüsyonla sonuçlanacak olan bir döneme girer (Senger 1997).

Östrus siklusu foliküler ve lueal faz olarak ikiye ayrılır. Foliküler faz korpus luteum'un (KL) regresyonundan ovulasyona kadar geçen dönemdir. Bu fazda ovaryumdaki primer yapı büyüyen dominant folikül ve primer hormon ise östrojendir. Luteal faz ise ovulasyondan KL'nin regresyonuna kadar olan periyodu kapsar. Bu fazda ise ovaryum üzerindeki dominant yapı KL ve primer hormon ise progesterondur ( $P_4$ ) (Senger 1997).



**Resim 2.** Seksüel siklusun hormonal düzeni (Senger 1997).

Östrus siklusu östrus (0.gün), metöstrus (1-3.gün), diöstrus (4-18.gün) ve proöstrus (19. günden kızgınlık belirtileri başlayana kadar) olmak üzere dört döneme ayrılır (Senger 1997, Youngquist ve Threlfall 2006). Proöstrus döneminde foliküller ovulasyon için gelişir, östrus başlangıcı ve çiftleşme için dişi genital sistemi hazırlanır. Östrus dönemi boyunca  $E_2$  dominant hormondur. Bu hormon hem kızgınlık davranışlarını düzenler, hem de genital kanaldaki önemli fizyolojik değişiklikleri sağlar. Metöstrus dönemi ovulasyon ve KL formasyonu arasındaki dönemdir. Bu dönemde  $E_2$  ve  $P_4$  nispeten düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Siklusun en uzun dönemi olan diöstrus döneminde fonksiyonel bir KL bulunur,  $P_4$  yüksek seviyede seyrederek ve lüteolizis ile son bulur. Yüksek  $P_4$  konsantrasyonunun endometriyuma tutunması ve erken embriyonik gelişim için uterusu uygun ortamı hazırlanmasını sağlar (Senger 1997).

#### 2.2.4. Hormonların Dişi Genital Organları Üzerine Etkisi

Östrojenlerin birincil hedefi genital kanal dokularıdır. Genital kanalın mukozal epiteli hedef organa bağlı olarak östrojene farklı cevap verir (Senger 1997). Östrojen vagina, serviks, uterus ve ovidukt hücrelerinde sıvı birikimine neden olur. Böylece bütün kanal rektal palpasyonda dolgun hissedilir. Gelişen ödem sonucunda

servikal açılma şekillenir (Ball ve Peters 2008). Östrojen uterus bezlerinde ise büyümeyi başlatır (Senger 1997).

Kanda  $E_2$  miktarındaki artışa bağlı olarak foliküler faz boyunca mukozal proliferasyon uyarılır ve  $P_4$  reseptörleri sentezlenir. Bu dönemde miyometriyumun longitudinal ve sirküler kas tabakalarının kalınlığında artış olur. Foliküler fazda epitelyal kalınlık luteal faza göre daha fazladır. Korpus luteumun olmadığı bu dönemde endometriyumda damarlaşma oldukça yoğunlaşır. Bu şekilde  $E_2$ , uterusu  $P_4$ 'ün baskın olacağı luteal faza hazırlamış olur. Endometriyal bez yoğunluğu ise luteal faz sırasında lamina propriyumdaki ödemin azalmasına bağlı olarak artar. Uterusun bu siklik düzenlenmesi embriyonun implantasyonu ve başarılı bir gebelik için uygun ortamın oluşmasını sağlar (Ohtani ve ark. 1993, Wang ve ark. 2007, Benbia ve ark. 2013, Espejel ve Medrano 2017).

Östrojenlerin en önemli etkilerinden biri de dış genital kanaldaki tüm organlara kan akımını artırmaktır. Artan bu kan akımı tüm genital kanal boyunca sekresyonu uyarır. Ayrıca bu sekresyon artışı ve hipereminin önemli bir rolü de üreme kanalı içerisine özellikle lökosit gibi büyük hücrelerin geçişini kolaylaştırarak tohumlama sırasında gelişebilecek enfeksiyonlara karşı koruma sağlamaktır. Östrusun tanımlayıcı özelliklerinden biri de dış genital kanaldaki ödemdir. Östrojen genital kanalın tüm bölgelerindeki kaslarda motilite ve tonus artışına neden olur (Senger 1997, Ball ve Peters 2008). Özellikle düvelerde östrustan sonraki ikinci günde östrojen konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak uterus içerisinde bulunan sekresyonlar ve diapedez yoluyla oluşan kanamalar vulva yolu ile dışarı atılır. Bu kanla karışık akıntıya ise metöstrus kanaması denir (Ball ve Peters 2008).

Progesteronun başlıca hedef dokuları hipotalamus, uterus ve meme bezleridir. Uterusta endometriyum ve miyometriyuma etki etmektedir. Progesteron, embriyonun büyümesi, gelişmesi, yaşamını devam ettirebilmesi için uterus içi birçok olayı düzenler (Spencer ve Bazer 2004). Progesteron endometriyal bezlerde maksimum salgılamayı uyarır, embriyonun gelişiminde ve interferon – tau ( $IFN\tau$ ) üretiminde önemli rol oynar (Senger 1997, Morris ve Diskin 2008). Endometriyal bezlerden salgılanan ürünler, uterus lümenine geçtikten sonra serbestçe yüzen konseptus için uygun ortam hazırlar (Senger 1997). Bununla birlikte  $P_4$ , stromal veya endometriyal



P<sub>4</sub> reseptörlerine bağlanarak, protein üretimi için (retinol bağlayıcı protein ve folat bağlayıcı protein) gen ekspresyonunda değişikliklerin şekillenmesi, iyon, aminoasit ve metabolitlerin uterus endometriyumuna geçişi için permeabilitenin artması gibi birçok olguyu başlatmaktadır (Revelli ve ark. 1998, Duras ve ark. 2005). Ayrıca steroid hormonlar uterus ve ovidukta salgı aktivitesini düzenler. Progesteronun önemli bir baskılayıcı rolü de miyometriyal kontraksiyonları azaltmasıdır (Senger 1997).

Uterus endometriyumu, erken konseptus ile maternal bağın kurulmasında ve gebeliğin devamının sağlanmasında önemli rol oynar. Uterusta gebelikle ilişkili olarak şekillenen bu değişiklikler steroid hormonlar, sitokinler, büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri tarafından düzenlenir. Bu faktörler, uterus lümen epitelinin gelişmekte olan konseptusa duyarlılığının artmasını sağlar. Ayrıca bu faktörler, semi-allograf konseptusun maternal bağışıklık sisteminden korunması ve embriyoların beslenmesi için gerekli olan histiyotrof salgıların bileşimini oluşturur ve uterus glandular epitelinin fonksiyonlarının düzenlenmesinde anahtar rol oynar (Spencer ve ark. 2008b).

### **2.3.Erken Embriyonik Dönem**

İneklerde erken embriyonik dönemin tohumlama sonrası ortalama 42 gün sürdüğü kabul edilmektedir. Bu dönem fertilizasyonla başlayıp, implantasyonla sonuçlanan bir dizi olayı kapsamaktadır (Balhara ve ark. 2013). Bu değişimler tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Erken embriyonik dönemde gerçekleşen olaylar (Morris ve Diskin 2008).

Gebelik günü	Olaylar
0 – 1. gün	Fertilizasyon, ovidukta tek hücreli embriyo
2. gün	Ovidukta erken bölünmeler (8 hücreli safhaya kadar),embriyonik genom aktivasyonu
4 – 5. gün	Embriyonun uterusu inışı
5 – 6. gün	16 – 32 zona ile kaplı embriyodan, kompakt morula aşamasına geçiş
7 – 8. gün	Embriyonik hücre farklılaşmasıyla blastosel oluşumu
9 – 10. gün	Zona pellusidanın yırtılması ve blastosit çıkışı
11 – 15. gün	Blastosistin tubuler formdan flamentöz yapıya dönüşmesi
16 – 19. gün	Gebeliğin anne tarafından tanınması
19 – 20. gün	İmplantasyon başlangıcı
21. gün	Karunkul – kotiledon görülmesi
22 – 41. gün	İmplantasyon süreci
42. gün	İmplantasyonun tamamlanması

### 2.3.1. Gebelik Fizyolojisi

Ruminantlarda gebelik, konseptus aşaması ile başlar ve gebeliğin tanınması sinyalleri, implantasyon ve plasentasyonu içerir (Spencer ve ark. 2004, Spencer ve ark. 2008b). Morula safhasındaki embriyo çiftleşme sonrası 4 – 5. günlerde uterusu iner, iç hücre kitlesi ve blastoseli ya da tek katlı trofoektoderm ile çevrili santral boşluğu içeren blastokisti oluşturur. Zona pellusidanın yırtılması sonrası (8 – 10. günler) blastokist tubuler veya ovoid bir şekil alır ve konseptus (embriyo/fötüs ve bunlarla ilişkili embriyonik membranlar) olarak adlandırılır (Hue ve ark. 2012). On birinci günde yaklaşık 1 cm olan ovoid konseptus 12. günde uzamaya başlar ve 10 – 15 cm'lik veya daha uzun flamentöz bir yapı oluşturarak KL ile aynı taraftaki kornu uterusunun tüm uzunluğunu kaplar. On altıncı günden sonra uzayan konseptus implantasyon ve plasenta oluşum sürecini başlatır. Trofoektodermin uzunluğunun ve ağırlığının artışı, ekstra embriyonik zar farklılaşmasının başlaması (embriyonun gastrulasyonu, sarı kese ve allantoyisin oluşumu) embriyonik yaşam ve fonksiyonel bir plasenta oluşumu için önemlidir (Filant ve Spencer 2014).

Ruminantlarda implantasyon, yırtılmış embriyonun büyümesi, tutunması ve trofoektodermden uterus lümen epiteline adezyonunu içeren uzun bir süreçtir (Gharib-Hamrouche ve ark. 1993, Chavatte-Palmer ve Guillomot 2007). Uterusa

gelen embriyo morula safhasından farklılaşarak fötusun oluşacağı iç hücre kitlesi içeren blastokiste ve plasentayı oluşturacak olan trofoektoderm hücrelerine dönüşene kadar bölünmeler gerçekleşir (Forde ve ark. 2011b).

Konseptusun çatlama sonrası büyümesi endometriyal bezler tarafından histiyotrof faktörler tarafından düzenlenir (Forde ve ark. 2011b).

Fertilizasyon ve embriyonik dönemin ilk 3 günündeki gelişim, kornu uteri ile karşılaştırıldığında, amino asitler, enerji substratları ve iyon konsantrasyonları açısından benzersiz bir ortam sağlayan ovidukta meydana gelir (Hugentobler ve ark. 2007a, Hugentobler ve ark. 2007b, Hugentobler ve ark. 2008). Bu dönemde ruminant embriyoları ile ovidukt-uterus arasında yerleşmeyle sonuçlanacak olan bir iletişim vardır (Maillo ve ark. 2015). Uterusa inen embriyoya histiyotrof destek devam eder. Uterusta bulunan histiyotrof, çeşitli iyonlar, aminoasitler, proteinler, lipitler, endometriyal epitelden uterus lümenine geçiş yapan bir takım maddeler, lüminal ve glandular epitelden sentezlenen özel salgı ürünlerinden oluşan kompleks bir yapıya sahiptir (Bazer 1975, Spencer ve ark. 2008a). Ovaryumdan salgılanan P<sub>4</sub> özellikle endometriyal lüminal ve/veya glandular epiteldeki bir takım gen ekspresyonunu uyarır. Bu genler daha sonra konseptustan (IFN $\tau$ , prostaglandinler ve kortizol) ve endometriyumun kendisinden (prostaglandinler, kortizol) salgılanan faktörler ile uyarılır (Bazer ve ark. 2010, Dorniak ve ark. 2013). Bu hormonlar ve faktörler ile düzenlenen genler ve fonksiyonlar, konseptusun uzaması için gerekli olan histiyotrofik ortamdaki özel değişiklikleri uyarır. Uzayan konseptus 16. günden sonra implantasyon ve plasantasyon sürecini başlatır. Konseptusun uzaması trofoektodermin boyutunda artış, embriyonun gastrulasyonu, embriyonik yaşam ve fonksiyonel plasenta oluşumu için gerekli olan sarı kese ve allantoyisin meydana gelmesi ile karakterizedir (Filant ve Spencer 2014).

### **2.3.1. Gebeliğin Anne Tarafından Tanınması**

Gebeliğin peri-implantasyon dönemi boyunca şekillenen endometriyal gen ekspresyonu maternal P<sub>4</sub> ve konseptus tarafından salgılanan IFN $\tau$  tarafından ayrı ayrı veya birlikte düzenlenir (Gray ve ark. 2006). İneklerde gebeliğin anne tarafından tanınması 16 – 19. günler arasında olur. Konseptus trofoektoderminden salgılanan

IFN $\tau$ , uterus endometriyumundan luteolitik PGF $_{2\alpha}$  salgısını durdurur (Forde ve ark. 2011b).

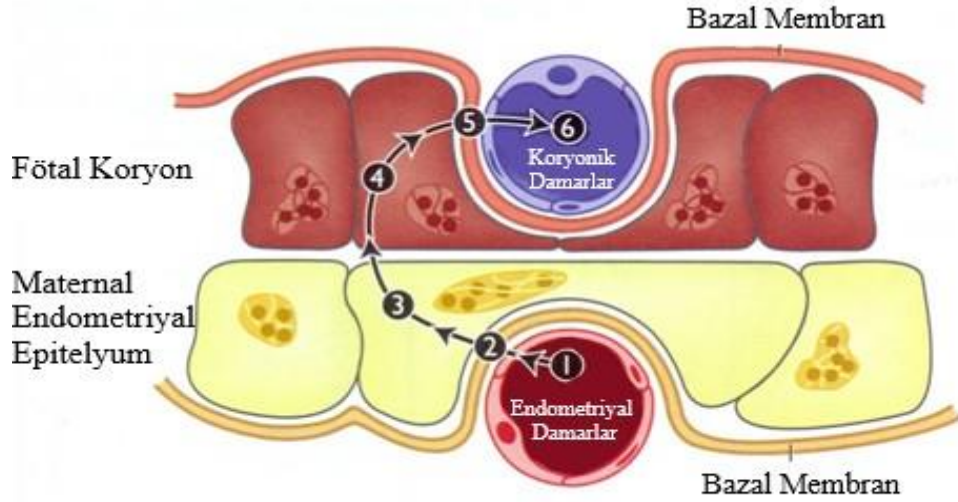
Gebelik şekillenmeyen ineklerde östrus siklusunun 16 – 19. günleri arasında KL’de spontan regresyon başlar. Bu durum bazal P $_4$  konsantrasyonlarında düşüş ve bazal LH konsantrasyonlarında artış ile karakterizedir. İneklerin KL’lerinde yüksek seviyede oksitosin bulunur ve östrus siklusunun luteal fazında P $_4$  ile birlikte aralıklı olarak salgılanır (Schallenberger ve ark. 1984). Uterustan aralıklı olarak salgılanan PGF $_{2\alpha}$  ruminantlarda KL regresyonuna neden olur. Nörohipofiz ve/veya KL’den aralıklı olarak salgılanan oksitosin uterustan PGF $_{2\alpha}$  salgılanmasına yol açar. İlk PGF $_{2\alpha}$  salınımının KL ve nörohipofizden oksitosin salınımını uyardığı düşünülmektedir, ancak başlangıçtaki PGF $_{2\alpha}$  salınımını uyaran faktör bilinmemektedir (Miyamoto ve ark. 2000).

Tohumlama sonrası 8 – 21. günler içerisinde ya normal luteolizis ya da 16 – 19. günler arasında gebeliğin anne tarafından tanınması şekillenir. Gebeliğin ortalama 9 – 10. günlerinde zona pellusida ayrılır. Gebeliğin 14 – 16. günleri arasında konseptus büyür, kısmen trofoblastik hücreler gelişir ve gebeliğin anne tarafından tanınması sürecinde KL varlığını sürdürür. Bu dönemde konseptus, uterus ve ovaryum arasında yetersiz bir iletişim olursa KL varlığında bozulmalar sonucunda kandaki P $_4$  miktarının düşmesiyle gebelik kaybı şekillenir. Bu dönemdeki gebelik kayıplarında luteolizis zamanında gerçekleşemez ve genellikle bir sonraki siklusun başlangıcı 25 – 30. günlere sarkar (Forde ve ark. 2011b, Forde ve ark. 2015, Wiltbank ve ark. 2016).

Tohumlama sonrası 8 – 21. günlerde embriyo zona pellusidadan ayrılır ve trofoblastik büyümeyle birlikte yaklaşık 2 haftalık serbest yüzme dönemine girer ki bu olaylar embriyo ve plasenta gelişimi ile sonuçlanır. Trofoblast/embriyo 0,15 mm çaplı bir blastokistten 40 cm’ den daha uzun bir yapıya dönüşür ve her iki kornuya ulaşan trofoblastik dokuları içerir. Bu büyüme ve hücresel farklılaşma tamamen histiyotroftan embriyo/trofoblast hücrelerine besin transportu ile sağlanır. Bu dönemin sonuna yakın amnion, sarı kese ve embriyonun dolaşım sisteminin gelişmesiyle koryovitellin tip bir beslenmeye geçiş olur (Wiltbank ve ark. 2016).

Embriyo, gebeliğin devamı için gerekli olan yüksek P<sub>4</sub> üretimini sağlayan KL'nin varlığını sürdürmesi için maternal dolaşıma bir sinyal gönderir (Wiltbank ve ark. 2016). Embriyonun uygun bir şekilde büyümesi için konseptus ve maternal sistem arasında karmaşık bir etkileşim olması gerekmektedir (Hue ve ark. 2012). Konseptusun salgıladığı lokal düzenleyici faktörlerin en belirgin olanı IFN $\tau$ 'dir. Bu faktör uterus hücrelerini uyararak büyüme faktörlerinin, embriyonik beslenme ve büyüme için histiyotrofu uygun hale getiren besinlerin üretimi ve/veya transportunu sağlayarak uterus endometriyumunu düzenler (Filant ve Spencer 2014). Maternal açıdan uterus fonksiyonlarını ve histiyotrofu dolaşımdaki P<sub>4</sub> konsantrasyonu düzenler. Erken luteal fazda dolaşımdaki suboptimal P<sub>4</sub> seviyeleri, uterus endometriyum hücrelerinde gen ekspresyonundaki değişime, suboptimal embriyo gelişimine ve gebelik başarısının azalmasına neden olabilir (Forde ve ark. 2011a, Bridges ve ark. 2013). Örneğin, tohumlama sonrası 3 – 7. günler arasında dolaşımdaki P<sub>4</sub> seviyesindeki artış, 7 – 15. günlerdeki uterus proteomlarının ve 14. gündeki embriyo büyüklüğünün artmasını sağlar (Forde ve ark. 2009).

Gebe ineklerde siklusu uzatmak ve uterus endometriyal hücrelerindeki programlanmayı değiştirmek için 16. günden itibaren embriyodan sinyaller gelmelidir. Bu kritik dönem boyunca uterus lümeni veya sistemik dolaşıma enjekte edilen IFN $\tau$ , KL yaşamını uzatabilmektedir. İneklerde trofoblastik sinyallerle IFN $\tau$  üretilmesiyle, gebelikte gerekli olan dolaşımdaki yüksek P<sub>4</sub> konsantrasyonunun devamlılığı için, endometriyal hücrelerde ve KL'de bir takım değişikliklerin şekillenmesi sağlanır (Wiltbank ve ark. 2016).



**Resim 3.** Epiteliyokoriyal tip plasenta, 1. endometriyal damarlar, 2. endometriyal hücreler, 3. koryonik epitelyum, 4. koryonik hücreler ve 5. koryonik damarlar (Senger 1997).

Genellikle morfolojik olarak farklılaşmış çift çekirdekli dev hücreler ilk olarak 17. günde izlenir (Wiltbank ve ark. 2016). İmmünolojik açıdan, bu hücreler ve yeni oluşan konseptus uterus için yabancıdır ve bunlara karşı oluşabilecek normal immünolojik cevabı baskılamak için özel mekanizmalar oluşur. Normalde immün cevap, yabancı antijenik peptitlere karşı major histokompatibilite kompleksi (MHC) moleküllerini kullanarak sitotoksik T lenfositlerinin yabancı hücreleri öldürmesini sağlar (Choi ve ark. 2003). Gelişimin kritik aşamalarında MHC sınıf 1 moleküllerinin ekspresyonunun azalmasıyla trofoblast embriyoyu yıkımdan korur (Ramsoondar ve ark. 1999). Ancak endometriyal MHC ekspresyonu glandular epitel ve endometriyal stromayla sınırlıdır, trofoblasta komşu luminal epitelde endometriyal MHC bulunmamaktadır (Choi ve ark. 2003). Bu büyüme dönemi boyunca embriyo ve endometriyumda bol miktarda bulunan IFN $\tau$ , P $_4$ , maternal T düzenleyici hücreler ve kortizol ile MHC ekspresyonu arasındaki ilişki gebe ineklerde embriyo ve plasentanın immünolojik korunmasından kısmen sorumlu olabilir (Dorniak ve ark. 2013, Brooks ve ark. 2014). Ayrıca endometriyumdan salgılanan proteinler, özellikle SerpinA 14, P $_4$ 'ün embriyonik/fötal allograft üzerindeki koruyucu özelliğini düzenlemektedir (Padua ve Hansen 2010).

### 2.3.2. Erken Embriyonik Dönemde Uterus Yapısında Meydana Gelen Değişimler

Gebeliğin ilk birkaç gününde plazma ve süt P<sub>4</sub> konsantrasyonu gebe olmayan ineklerin erken luteal fazına benzer şekilde seyrederek (Ball ve Peters 2008).

Sığırlarda gebe uterus kornusunun interplasental duvarının, diğer birçok önemli fonksiyonunun yanında, gebelik boyunca uterus sütü salgılamak, gerilme gücü ve mekanik denge sağlamak, doğum zamanı fötusun itilmesi olmak üzere üç temel görevi vardır (Albers ve ark. 2015). Bu gereksinimleri karşılamak amacıyla uterus, en azından gebeliğin erken dönemlerinde büyüyen fötusun beslenmesi için gerekli olan endometriyal bezlerin gelişimini sağlar (Gray ve ark. 2006, Albers ve ark. 2015). Gebelik boyunca büyüyen fötüs eş zamanlı olarak uterusu genişlemeye ve gerilmenin artmasına, bunlara paralel olarak da uterusun büyümesine neden olur (Albers ve ark. 2015).

Uterus endometriyumu hem luminal epitel hücreleri, superfisiyal ve derin glandular epitel hücreleri hem de fibroblast benzeri stromal hücreleri içeren kompleks bir dokudur. Endometriyumu oluşturan bu farklı hücre tipleri endometriyal sekresyonlarla büyüme sürecinde rol oynarlar. Aslında bu değişiklikler birçok embriyonik kayıpların olduğu preimplantasyon döneminde başarılı bir gebeliğin oluşabilmesi için kritik öneme sahiptir, bu değişiklikleri düzenleyen, KL'den salgılan P<sub>4</sub> ve konseptus tarafından üretilen IFN $\tau$ 'dir (Diskin ve Morris 2008, Forde ve Lonergan 2012).

Hematopoetik sitokinlerin bir üyesi olan Lösemi önleyici faktör (LIF), ovulasyon zamanında ve gebeliğin 4. gününde fare uterusunda yüksek miktarda bulunur. Ayrıca menstrüal siklusun orta ya da geç salgı fazında normal insan endometriyumunun glandular epitelinde ve gebeliğin ilk üçte birlik kısmında insan desiduasının glandular ve stromal hücrelerinde de sentezlenir. Lösemi önleyici faktör geni olmayan farelerde implantasyon gerçekleşmediği için gebelik devam etmez (Oshima ve ark. 2003).

Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) hematopoetik kök hücrelerin makrofajlara dönüşmesi ve çoğalmasını sağlar. Makrofaj koloni uyarıcı faktör salgısı fare uterusunda ilk olarak gebeliğin 8,5. gününde saptanmıştır. İnsan endometriyal, desidual ve plasental dokularında M-CSF mRNA'sı sentezlendiği ve immunoreaktif M-CSF elde edildiği gösterilmiştir. Ayrıca gebeliğin 29. gününden sonuna kadar inek trofoblastında M-CSF reseptör benzeri proteinin sentezi saptanmış, M-CSF reseptörüne karşı kullanılan monoklonal bir antikor ile gebeliğin 7. ve 14. günlerinde inek konseptus oranının azaldığı gözlenmiştir (Oshima ve ark. 2003).

Yukarıdaki sonuçlara göre LIF ve M-CSF inek gebeliğinde önemli bir rol oynamaktadır (Oshima ve ark. 2003). İnek embriyo ve plasentasından LIF ve LIF reseptörleri elde edilmiştir (Eckert ve Niemann 1998). Yapılan bir çalışmada, kültür ortamına 5 – 10. günler arasında sığırların LIF'inin eklenmesi durumunda, sığırlarda in-vitro fertilizasyon (IVF) ile üretilen embriyoların trofoektoderminin hücre sayısını artırdığı belirtilmiştir (Yamanaka ve ark. 2001). İneklerde gebeliğin 16 – 140. günleri arasında değişik zamanlarda yapılan örneklemelerin tamamında LIF ve M-CSF gözlenmiştir (Oshima ve ark. 2003).

Herhangi bir hücreler arası iletişimin oluşmasından önce embriyo ve uterus endometriyumundan (histiyotrof) üretilen salgılar konseptusun gelişimini desteklemek amacıyla karşılıklı etkileşim gösterirler. İmplantasyon genetik olarak farklı iki dokunun apikal plazma zarları arasındaki birleşme ile başlar (embriyo ve uterus epiteli). Evcil hayvanların preimplantasyon periyodu (uterusun prereseptif safhası) embriyonun uterusu ulaşımı nedeniyle daha uzundur. Preimplantasyon periyodu embriyonun migrasyonu, endometriyal bez salgısı ve annenin gebeliği tanınması için oluşan konseptus uyarısı ile karakterizedir. Evcil hayvanlarda trofoblast ekstraembriyonik mezoderm tabakası ile uterus epiteline basitçe tutunur, yani maternal dokunun fetal doku tarafından invazyonu yoktur ve konseptus gebelik boyunca uterus lümeninde kalır (Bowen ve Burghardt 2000).

#### **2.4. Gebeliğin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler**

Bir süt sığırcılığı işletmesinin karlılığını artırmak için başta gelen yöntemlerden birisi gebeliklerin erken teşhisidir. Sütçü veya etçi işletmelerde



ineklerin gebe kalmaları, istenilen ürünün (süt veya buzağı) elde edilmesi için zorunludur (Mccaughey 1981). Erken embriyonik dönem ve kısmen de geç embriyonik dönem boyunca şekillenen gebelik kayıpları gebeliğin değerlendirilmesinde meydana gelen kayıplardan daha fazladır (Romano ve ark. 2006).

İneklerde pratik olarak erken gebelik tanısı için en sık kullanılan yöntemler rektal palpasyon (RP) ve transrektal ultrasonografidir (TRUSG) (Romano ve ark. 2006, Romano ve Larson 2010). Ayrıca kan veya süt örneklerinden  $P_4$ , gebeliğe özgü proteinler (PSP), erken gebelik faktörü (ECF), östron sülfat,  $IFN\tau$  ve vaginal direncin belirlenmesiyle de gebelik tespit edilebilir (Mccaughey 1981, Balhara ve ark. 2013).

#### **2.4.1. Rektal Palpasyon**

Transrektal palpasyon, veteriner hekimler tarafından ineklerde hem genital organ muayenesi hem de gebelik tanısı için en sık başvurulan yöntemdir. Bu yöntemle gebelik, tohumlama sonrası en erken 35. günde belirlenebilir. Transrektal palpasyonla yapılan muayenelerin kazara veya iatrojenik olarak fötal/embriyonik ölümlere yol açabileceği bilinmektedir. Bunun yanında, embriyo/fötal canlılık üzerine erken gebelik teşhisi için TRP'nin potansiyel zararlı etkileri hakkında çelişkili bilgiler mevcuttur (Romano ve ark. 2007). Bu dönemde veteriner hekim koryo-allantoyik zarların kaymasını ve amniyon kesesini hissedebilir. Bu yöntemin başarısı uygulama yapan kişiye ve uygulama kriterlerine bağlı olarak oldukça değişkenlik göstermektedir (Pieterse ve ark. 1990).

#### **2.4.2. Kan ve Süt Progesteron Konsantrasyonu**

Progesteron ölçümleri, kanda veya sütte tohumlama sonrası 21 – 24. günlerde yapılabilir. Ancak yüksek  $P_4$  düzeyi her zaman gebeliği göstermez. Progesteron konsantrasyonu gebeliğin yanında, luteal kist olgularında, uzayan östrus siklusunda, luteal fazda ve pyometra olgularında da ( $> 2\text{ng/ml}$ ) yüksek seyretmektedir. Progesteron ölçümü ile yanlış pozitif sonuçlar alınmasına rağmen, yanlış negatif sonuçlar gözlenmediği için gebe olmayan hayvanları belirlemede gebeleri belirlemeye oranla daha iyi bir belirteçtir (Romano ve ark. 2007). Eğer tohumlama

sonrası 21 – 24. günlerde yapılan ölçümlerde P<sub>4</sub> seviyesi 6 – 8 ng/ml civarında ise inekler gebe olarak değerlendirilebilir. Ancak gebe olmayan ineklerde bu değerler 0,5 ng/ml veya daha düşük olarak gözlenmektedir (Romano ve ark. 2006, Öcal ve ark. 2015).

### 2.4.3. Gebelik Spesifik Proteinler

İnek plasentasındaki çift çekirdekli trofoblastik hücrelerden sentezlenen glikoproteinlerden olan gebelik spesifik proteinler, gebelik tanısında kullanılabilirler (Butler ve ark. 1982, Humblot ve ark. 1988, Romano ve Larson 2010). Gebelik spesifik proteinler, aspartik proteinaz ailesine mensup plasental antijenlerden oluşmaktadır. Bunların arasında gebelik spesifik protein B (PSP-B), inek gebelikle ilişkili glikoprotein (PAG) veya PAG-1 ve gebelik serum proteini-60 vardır (Butler ve ark. 1982, Xie ve ark. 1991). Gebelik spesifik protein B, gebe ineklerin plazmasında tohumlama sonrası 15 ve 22. günler arasında saptanır (Butler ve ark. 1982). Bu proteinlerin konsantrasyonlarının değişken olması nedeniyle bu testin kullanımını ancak konsepsiyondan 30 gün sonrasında tutarlı sonuçlar vermektedir (Humblot ve ark. 1988). Gebelikle ilişkili protein testi buzağılamadan 70 – 100 gün sonra kullanılmalıdır (Romano ve Larson 2010). Çünkü postpartum (PP) ilk 70 – 100 gündeki ineklerde yüksek periferik konsantrasyonlar hala devam etmektedir. Ayrıca gebelik kaybı durumlarında da PSP-B ve/veya PAG seviyeleri gebe ineklerle benzer şekilde seyreder (Romano ve ark. 2006, Romano ve Larson 2010).

### 2.4.4. İnterferon – tau

Ruminant trofoblastı tarafından gebeliğin 14. gününde üreilmeye başlayan ve iyi karakterize edilmiş bir protein olan IFN $\tau$ , tohumlama sonrası 18. günden önce kimyasal gebelik teshişi için iyi bir adaydır (Green ve ark. 2010). Bazı IFN $\tau$ 'ler çok düşük konsantrasyonlarda uterustan dolaşıma geçerler (Oliveira ve ark. 2008, Bott ve ark. 2010). Bu nedenle kan gebelik testlerinde IFN $\tau$ 'lerin kullanımını önerilmektedir. Alternatif olarak dolaşımdaki lökositlerin IFN $\tau$ 'ye verdiği yanıt ölçülebilir. Lökositlerin IFN $\tau$ 'ye verdiği yanıt sonucunda interferon-uyarıcı genler (ISG) eksprese olur. Süt sığırlarında gebelik tespiti amacıyla ISG yakın zamanda kullanım alanı bulmuştur (Han ve ark. 2006, Gifford ve ark. 2007). Gebe ineklerde tohumlama

sonrası 18. ve 20. günlerde alınan periferik kandaki ISG'de, 0. güne (tohumlama gününe) oranla artış gözlenmiştir (Gifford ve ark. 2007, Green ve ark. 2010).

#### **2.4.5. Vajinal Direnç**

Vajinal direncin belirlenmesi ile yapılan gebelik muayenelerinde, tohumlama sonrası 21. günde yapılan ölçümler sonucunda ineklerde gebelik tespiti yapılabilmektedir (McCaughey 1981).

#### **2.4.6. Östron Sülfat Konsantrasyonu**

Östron sülfat, yoğun olarak inek plasentomlarında bulunan östrojenin konjuge steroid ürünüdür. Östron sülfat, ineklerde tohumlama sonrası 52. günden gebeliğin sonuna kadar fetal sıvılarda ve maternal periferik plazmada ölçülebilir miktarda tespit edilen ana östrojendir (Eley ve ark. 1979, Robertson ve King 1979). Östron sülfat konsantrasyonu tohumlama sonrası 60. günde yükselmeye başlar ve ortalama 150. gün civarında sabitlenir. Ancak gebelik tanısı amacıyla gebeliğin 100. gününden sonra kullanılabilmesi nedeniyle, geç dönem gebelik tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca östron sülfat genetik, kilo, parite ve çevresel şartlardan etkilendiği için plazma ve sütte gebelik tanısı için ideal bir belirteç değildir (Balhara ve ark. 2013).

#### **2.4.7. Erken Konsepsiyon Faktörü**

Erken gebelik faktörü (EPF) olarak da bilinen erken konsepsiyon faktörü (ECF), fertilizasyon sonrası 6 – 24. saatlerde tespit edilebilen ve embriyonun ölümü veya abortu sonrasında 24 – 48 saat içerisinde kaybolan, gebeliğin üçte ikisine kadar da plazmada varlığını sürdüren, tüm gebe memelilerde bulunan bir proteindir (Cavanagh 1996, Balhara ve ark. 2013). Erken gebelik faktörü pozitif bir fertilizasyon ve başarılı bir konsepsiyonu belirlemek için en erken kullanılacak serum parametresi olarak düşünülmektedir. İlk olarak gebe farelerde bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir. Erken gebelik faktörü gebeliğin erken dönemlerinde salgılanmasına rağmen, tümör ve dönüştürülmüş hücre hatları gibi plasental olmayan kaynaklardan da salgılandığı için gebelik spesifik değildir; bu da yanlış pozitif sonuçların alınmasına neden olabilir. Modern biyosistemlerin ortaya

çıkışı ile EPF düzeylerindeki değişimlerin tespit edilebileceği ve gebeliğin çok erken dönemde belirlenebileceği düşünölmektedir (Balhara ve ark. 2013).

#### **2.4.8. Transrektal Ultrasonografi**

Son yıllarda erken gebelik tanısı için kullanılan TRUSG'nin doğruluk oranı oldukça yüksektir (Romano ve ark. 2006). Ultrasonografinin güvenilir bir yöntem olması nedeniyle, embriyonun ya da fötusun canlılığını olumsuz etkilememektedir (Miller 2008). Ancak geç embriyonik dönemde teşhislerin yapılabilmesi, yapılan teşhislerin doğruluk oranının zamana bağlı olarak artması ve uygulayıcının tecrübesinin doğruluk oranını etkilemesi bu yöntemin sınırlayıcı özelliklerindedir.

Doksan yıl kadar önce megahertz frekans aralığında ultrasonik dalgalar bulunduğunda, bu yeni penetre edebilen enerji, terapötik uygulamalar için ilgi uyandırmıştır. Sürekli ultrason dalgası üreten basit avuç içi aplikatörler 1965 yılında geliştirilmiştir ve fizik tedavi alanında hala yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Yüksek güçlü cihazlar beyin cerrahisinde veya başka alanlarda kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Tanı amacıyla geliştirilen USG cihazları tek dalgalı pulse-eco A-mod ve kalp gibi dokuların hareketini gösterebilen M-mod şeklinde kullanım alanı bulmuştur. Daha sonrasında obstetrik tanı için fötusun görüntülenmesine yönelik 2 boyutlu USG cihazları üreilmeye başlanmıştır. Başlarda, x-ray kullanımı ile gelişen olumsuz etkilere benzer şekilde tehlikeli etkilerinin olabileceği düşünöldüğü için tanısal kullanımdaki potansiyel riskleri belirlemek amacıyla birçok laboratuvarıda USG'nin biyolojik etkileri çalışılmış ve tıptaki kullanımı giderek artmıştır (Miller 2008).

Gerçek zamanlı ultrasonografik görüntüleme reproduktif amaçla, üreme organlarının ve dokularının iç ve dış anatomisini doğrudan görüntüleme ve reproduktif olayların karakterize edilmesi için kullanılan noninvaziv bir yöntemdir. Üreme organlarında sık ve tekrar eden ultrasonografi uygulamaları ile dokulardaki ve dokular arasındaki ilişkiler belirlenebilir (Griffin ve Ginther 1992).

Veteriner reproduktif alanda USG ilk olarak 1980 yılında kısıraklarda kullanım alanı bulmuş ve daha sonra ineklerle birlikte diğer çiftlik hayvanlarında da

yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Polat ve ark. 2015). Ultrasonografi veteriner pratikte, hem ovaryum kistlerinin, enfeksiyonların ve tümörlerin tanısını, hem de erken dönem gebeliklerin, ovaryumdaki foliküler dinamiğin ve tahmini ovulasyon zamanının belirlenmesini içeren üreme sistemindeki fizyolojik ve patolojik değişiklikleri değerlendirmek için rutin olarak kullanılan değerli bir yöntemdir (Ginther 2014). Bu şekilde kullanımlarının yanında ultrasonografi teknolojisinin süt sığırcılığı endüstrisine erken uyum sağlamasıyla transvaginal foliküler aspirasyon ve oosit toplama işlemleri kurgulanmıştır, ayrıca ultrasonografi embriyo transferi işlemleri için de tamamlayıcı bir teknoloji olmuştur (Fricke 2002).

Orijinal analog görüntüleme yöntemlerinden, dijital 2 boyutlu ve üç boyutlu görüntülemeye, hatta dört boyutlu hareketli görüntülemeye geçilmiştir. Ancak, dokuların içerisine ultrason dalgaları gönderip, dokuların anatomik yapılarına göre görüntü alma gibi temel görüntüleme ilkeleri aynı kalmıştır (Miller 2008).

Doppler ultrasonografi tekniğinde prob yardımıyla gönderilen ses dalgaları ile yansıyan ses dalgaları arasındaki frekans farkı doppler kayması olarak adlandırılır (Ginther ve D 2004, Herzog ve Bollwein 2007). Hareket eden yapı proba yaklaştığında ses frekansında artma ve uzaklaştığında ise frekansta azalma şekillenmektedir. Bu etkiler genellikle kan akım hızının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Herzog ve Bollwein 2007, Medan ve Abd El-Aty 2010).

Transrektal Doppler ultrasonografi büyük hayvan üreme çalışmalarında ilk olarak Almanya'da 1998 yılında atlarda ve 2000 yılında ineklerde kullanılmaya başlanmıştır (Bollwein ve ark. 1998, Bollwein ve ark. 2000). İneklerde Doppler ultrasonografi birçok farklı reproduktif alanda (ovaryum kisti olguları, ovaryum ve uterus kan akımının değerlendirilmesi, diöstrusta ve gebelik sürecinde, peri ve postpartum dönemde *Arteria uterinanın* değerlendirilmesi) kullanılabilir (Bollwein ve ark. 2000, Bollwein ve ark. 2002, Herzog ve Bollwein 2007, Kaya ve ark. 2017).

### 2.4.8.1. Ultrasonografinin Çalışma Prensibi

Ultrasonografinin çalışma prensibi, ses dalgalarının değişik yoğunluktaki dokular içerisinde farklı miktarda ilerlemesi ve yansması prensibine dayanır (Griffin ve Ginther 1992, Pierson ve Adams 1995). Ses dalgaları ultrasonografi probu içerisinde bulunan özel kristallerin (piezoelektrik kristalleri) elektrik akımı ile titreşmesiyle oluşur. Ses dalgaları, probun açısının değiştirilmesi ve hareket ettirilmesi ile ilgili dokular içinden yönlendirilir (Griffin ve Ginther 1992). Dokulardan yansıyan ses dalgaları prob tarafından yakalanır, elektrik akımlarına dönüştürülür. Görüntü yansıyan ses dalgalarının yerleşimine ve gücüne bağlı olarak gri tonlarında (hipoekoik) doku kesitleri halinde ultrasonografi ekranına görüntüler iki boyutlu olarak yansıtılır. Ses dalgaları sıvı karakterdeki yapılardan yansımaz ve ekranda siyah (anekoik) olarak görülür. Sert yapılar ise gönderilen ses dalgalarının büyük bir kısmını yansıttıkları için açık gri ya da beyaz (hiperekoik) tonlarında görünürler. Diğer yumuşak dokular ve üreme kanalının içerikleri ise akustik dirençlerine bağlı olarak grinin farklı tonlarında görülürler (Griffin ve Ginther 1992, Pierson ve Adams 1995, Ribadu ve Nakao 1999, Cengiz ve ark. 2014).

Ultrasonografik görüntü video ekranında pikseller dizisi veya resim elemanları şeklinde görülür. Yüzlerce pikselin birleşmesi sonucunda görüntü oluşur. Her bir piksel dokuların yoğunluğuna göre beyazdan siyaha kadar 256 farklı gri tonunda oluşur (Pierson ve Adams 1995, Ribadu ve Nakao 1999). Ekojenite, B mod ultrasonografi kullanılarak doku ve organların histolojik yapılarına göre oluşan görüntülerin yoğunluğunu tanımlanması amacıyla kullanılan değerli bir parametredir. Ekojenite ya bir skor sistemine ya da operatörün öznel gözlemlerine dayanır, fakat insan gözüyle grinin ancak 18-20 farklı tonu ayırt edilebildiğinden ekojenite parametreleri detaylı olarak değerlendirilemez. Bu nedenle alternatif olarak, bilgisayar destekli piksel miktarının tespit edildiği görüntü artırma ve analiz algoritmaları, gri skala analizleri (GSA) kullanılmaktadır. Böylece daha nesnel bir uygulama yapılabilmektedir (Pierson ve Adams 1995, Kauffold ve ark. 2010, Cengiz ve ark. 2014). Yapılan birçok çalışmada bilgisayar destekli yazılımlar B-Mod görüntülerin ekotekstürel analizlerinin nesnel olarak incelenmesinde kullanılmaktadır (Schmauder ve ark. 2008).

Sığır genital sisteminin incelenmesinde yaygın olarak gerçek zamanlı B mod ultrasonografi kullanılmaktadır. B mod ultrasonografide görüntüler iki boyutlu olarak gösterilir, görüntünün parlaklığı ise proba dönen ses dalgalarının miktarı ile belirlenir. Gerçek zamanlı görüntüleme ise incelenen dokudaki hareketi olduğu anda görüntüye yansıtma kabiliyetini ifade eder. Çoğu ultrasonografi cihazı, genital organların iki boyutlu ölçümlerine izin vermektedir (Schmauder ve ark. 2008). Ultrasonografinin en önemli avantajlarından biri tamamen invaziv olmasıdır. Bu nedenle hayvanların üreme kanalları ile konseptus üzerine herhangi bir negatif etkisi olmadan veya üreme potansiyellerini bozmadan defalarca inceleme imkanı sunmasıdır. Bunlarla beraber ultrasonografi eşliğinde amnio – allantosentez, ovum pick up, transvaginal folikülosentez gibi ileri üreme tekniklerini içeren uygulamalar da yapılabilmektedir (Ribadu ve Nakao 1999).

#### **2.4.8.2. Ultrasonografinin Genital Organların Muayenesinde Kullanılması**

Büyük hayvanlarda üreme organlarının ultrasonografik muayenesi için en yaygın kullanılan yaklaşım transrektal uygulamadır. Rektal duvarın reproduktif kanala yakın olması nedeniyle transrektal taramada, yüksek frekanslı problemlerin kullanımı detaylı görüntüler elde edilmesini sağlar (Griffin ve Ginther 1992). Bu amaçla daha çok linear problemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte ovum pick up ve folikül ablasyonu gibi özel transvaginal uygulamalar için sektör problemler de kullanılabilir (Fricke 2002). Reproduktif ultrasonografide en çok 5 – 7,5 MHz aralığındaki linear problemler kullanılmasına rağmen çoğu veteriner USG cihazı değişik frekanslı problemler ile uyumludur. Prob ve frekansın seçimi incelenecek dokunun büyüklüğü ve konumuna göre belirlenmektedir (Griffin ve Ginther 1992). Ses dalgalarının dokuya penetrasyon derinliği ve görüntünün çözünürlüğü problemlerin frekansıyla ters orantılıdır. Dolayısıyla 5 MHz'lik bir prob daha derin doku penetrasyonu sağlarken elde edilen görüntünün ayrıntısı daha azdır, bunun yanında 7,5 MHz'lik problemlerin doku penetrasyonu daha düşük olmasına rağmen alınan görüntü kalitesi daha iyidir. Rutin reproduktif incelemelerde inekler için 5 MHz'lik problemler USG cihazları daha kullanışlıdır. Ancak gelişen foliküller gibi ovaryumdaki küçük yapılar 7,5 MHz'lik problemlerle daha iyi görüntülenir (Fricke 2002).

Ultrasonografi kullanılarak uterusun katlarını (perimetriyum, myometriyum ve endometriyum) ve bu katlardaki morfolojik değişiklikleri ayırt etmek mümkündür (Hermes ve ark. 2000, Schmauder ve ark. 2008). Uterusun ultrasonografik görüntüsü kornu uterilerin her bir katmanında farklı ekotekstürel yapılar şeklinde görülür (Ribadu ve Nakao 1999). Perimetriyum, korpus ve kornu uteri çevreleyen diğer doku ve organlardan açıkça ayıran yüksek ekojenik bir çizgiye sahiptir. Endometriyum, düzgün ve düşük ekojenik özellik gösteren miyometriyum ile çevrili olarak merkezde yer alır (Hermes ve ark. 2000). Ultrasonografik ölçümler siklus boyunca endometriyumdaki morfolojik değişimleri gözlemek için kullanılır (Küçükaslan ve ark. 2014). Uterus ekotekstürü o dönemde hangi hormonun (östrojen veya progesteron) baskın olduğuna bağlı olarak değişkenlik gösterir (Griffin ve Ginther 1992). İneklerde foliküler evrede, uterusun ultrasonografik incelemelerinde, ovulasyonun hemen öncesinde görülen gri bölgeler endometriyumdaki yoğun ödem nedeniyle uterus ekotekstürünün karakteristik olarak koyu ve heterojen yapıda görülmesine neden olurken, luteal evrede görüntü daha homojen bir yapıdadır (Griffin ve Ginther 1992, Bonafos ve ark. 1995, Ribadu ve Nakao 1999, Scully ve ark. 2015). Kornu uteriler foliküler evrede maksimum kıvrımlıyken, luteal evrede daha az kıvrımlıdır (Ribadu ve Nakao 1999).

#### **2.4.8.3. Transrektal Ultrasonografinin Gebelikte Kullanımı**

Transrektal ultrasonografi, gebelik tanısı amacıyla en erken tohumlama sonrası 25 – 26. günde uygulanabilmektedir. Ultrasonografik muayene detaylı bilgiler vermesi nedeniyle transrektal palpasyon ile kıyaslandığında daha erken tanı avantajı sağlar. Canlılık, ikizlik, gebelik yaşı tespit edilebilir ve yanlış tanı oranı azalır (Romano ve ark. 2006, Romano ve Larson 2010). Ayrıca ultrasonografi ile gebe genital kanala direkt fiziksel bir müdahaleye gerek yoktur. Bu sayede embriyonik mortalite oranı oldukça azalmaktadır (Ribadu ve Nakao 1999). Uterus ve KL'nin ultrasonografik yapısı erken gebelik teşhisi için önemli kriterler olarak değerlendirilmiştir. Pratik olarak gebelik tanısı için embriyonun uterusu girmesi de gerekmektedir. Ultrasonografi ile gebeliğin 55 – 70. günlerinde cinsiyet tespiti de yapılabilmektedir. Ultrasonografi ile ovaryumlardaki kist veya diğer anormallikler de doğru bir şekilde tespit edilebilmektedir (Scully ve ark. 2014).



Tohumlama sonrası, gebe olmayan hayvanların erken belirlenmesi reproduktif verimlilik için önemlidir. Düvelerde tohumlama sonrası 16. günden önce uterus lümeninde sıvı gözlenmesine dayanılarak yapılan gebelik muayenesi güvenilir değildir. Uterus lümeninde az miktarda sıvı toplanması östrus sonrası 10. günden sonra gözlenir, ancak yalnızca sıvıya dayanan tanı doğruluğu ancak 20. günde % 100'e yaklaşır (Fricke 2002). Obstetrik ultrasonografi, fötusun gelişimini izlemek için bir araçtır. Gebeliğin ilk dönemlerinde kalp atımı fötal canlılık için en önemli kriterdir. Sonraki dönemlerde gebeliğin dönemi belirlenebilir ve fötusun gelişimi takip edilebilir (Miller 2008).

Gebelik kayıpları reproduktif verimliliği olumsuz etkiler. Günümüzde laktasyondaki ineklerde erken embriyonik kayıpları tamamen ortadan kaldırmak mümkün değildir. Fakat ultrasonografi ile erken embriyonik ölümlerin belirlenmesini takiben reproduktif biyoteknolojiler kullanılarak tohumlama gebe kalma aralığı kısaltılabilir (Fricke 2002).

Linear probalar, sıralı olarak dizilmiş bir dizi piezoelektrik kristalden oluşur. Bu kristaller yüksek frekanslı ses dalgaları yayarlar. Linear probaların bu yapılandırılmaları sonucunda ekranda dikdörtgen şeklinde bir görüntü oluşur (Fricke 2002). Gerçek zamanlı ultrasonografi incelemelerinin video şeklinde kaydedilebilmesi ile üreme organlarının dinamiklerinin (ovulasyon, uterus kontraksiyonları) ve hareketi belirlenebilen fötal/embriyonik yapıların (fötal kalp atımı ve embriyonik hareketler) detaylı incelenmesi sağlanabilir (Griffin ve Ginther 1992).

Sütçü işletmelerin verimliliği açısından gebelik teşhisi sıkça kullanılmaktadır. Orta ve yüksek verimli sürülerde erken embriyonik ölüm oranı sırasıyla %40 ve %50 civarındadır. Bu ölümlerin yarısından fazlası çiftleşme sonrası 16. günden sonra gözlenmektedir. Bazı araştırmacılar da yüksek süt verimi olan hayvanlarda ölümlerin yoğun olarak 8. günden önce olduğunu vurgulamaktadır. Tüm tohumlamaya uygun ineklerin gönüllü bekleme süresi sonunda tohumlanmaları üreme verimliliği açısından oldukça önemlidir. Gebe olmayan ineklerin erken teşhis edilmesi doğum gebe kalma aralığına direkt etki etmektedir (Scully ve ark. 2014).

Erken dönemde (tohumlama sonrası 42. güne kadar) gebelik teşhisi ultrasonografi yardımıyla anında ve kolayca yapılabilir. Ayrıca ovaryum ve uterusu dair birçok inceleme de ultrasonografi yardımıyla kolaylıkla yapılabilmekte, patolojiler hızlı bir şekilde tespit edilerek tedavi imkanı da doğmaktadır (Ribadu ve Nakao 1999).

Sığırlarda gebeliğin erken ve hızlı tanımlanması üreme verimliliğinin yüksek seviyede devam etmesi için önemlidir. Erken dönemde gebelik teşhisi, ultrasonografide, nonekoik dokuların varlığının veya uterus lumenindeki çizginin görülmesiyle yapılabilir, fakat bu durum daha sonra nonekoik alanın kademeli olarak uzaması ve sonrasında embriyonun görülmesiyle de desteklenmelidir (Ribadu ve Nakao 1999).

Erken gebelik döneminde gözlenen düşük seyirli ekotekstür değeri, kandaki P<sub>4</sub> düzeyi yüksekken görülen endometriyal ödemin eksikliğine bağlı olarak şekillenmektedir. İneklerde ekotekstür ile belirlenen endometriyal ödemin derecesi, ovulasyon sonrası azalarak minimal düzeyine ulaşır ve erken gebelik boyunca düşük kalır (Bonafos ve ark. 1995).

Diğer birçok tanı tekniklerinde olduğu gibi TRUSG'nin gebelik tanısı için erken kullanımı ile ilgili olarak güvenli ve doğru olması gibi iki temel kaygı vardır. Ancak transrektal ultrasonografinin embriyonik veya fetal viabiliteye herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Kahn 1992, Baxter ve Ward 1997). Gebe olmayan hayvanların tanısının doğruluğunu artırmak amacıyla yanlış negatif sonuçları en aza indirecek, yüksek doğrulukta negatif öngörü değerine sahip bir uygulama gereklidir. Sonuç olarak gebe olmayan hayvanların tanısı güvenle yapılabildiği takdirde hızlı bir karar verilerek, tekrar tohumlama ya da sürüden çıkarma seçenekleri uygulanabilir (Romano ve ark. 2006).

Tohumlama sonrası 25. veya 26. günlerde yapılan TRUSG muayenesinde doğru negatif sonuçlar alınmıştır. Pratikte dişilere yanlış negatif tanı konulması halinde, PGF<sub>2α</sub> uygulaması yapılabilir ve bu da abortus şekillenmesine neden olabilir (Romano ve ark. 2006).

Transrektal ultrasonografiyle gebelik tanısında maksimum duyarlılık ve doğru negatif değer elde etmek için, tohumlama sonrası en uygun günü belirlemek için çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarındaki en önemli sorunlardan birisi de eş zamanlı karşılaştırma sağlayacak herhangi bir standart bulunmamasıdır. Bu amaçla kan ve sütte 21 – 24. günler arasında P<sub>4</sub> bakılabilir. Bu test yüksek duyarlılığa ve negatif öngörü değerine sahiptir. Yüksek oranda yanlış pozitif sonuç vermesine rağmen gebe olmayan hayvanların tanısında ise en iyi göstergedir (Romano ve ark. 2006). Gebeliğe özgü protein testi de kullanılabilir. Bu yöntemlerden biridir ancak bu test de buzağılamadan sonraki ilk 70 – 100 gün içinde yanlış pozitif sonuçlar vermektedir (Romano ve Larson 2010). Bu test yüksek miktarda duyarlılık ve negatif öngörü değerine sahiptir. Tohumlama sonrası 37. veya 38. günlerde PSP-B veya 33., 44. veya 45. günlerde PAG'lere bakılabilmektedir. Ayrıca embriyonik veya fetal ölüm olduğunda PSP konsantrasyonu gebelikteki konsantrasyonuna benzer şekilde yüksek seyretmektedir (Romano ve ark. 2006, Romano ve Larson 2010). Transrektal ultrasonografi sonuçlarının doğrulaması buzağılama ile kontrol edilebilir. Ancak bu durumda da TRUSG ile buzağılama arasında çok uzun zaman geçeceğinden ve bu süreç erken embriyonik ölüm, abort gibi birçok faktörden etkilenebileceği için eş zamanlı karşılaştırma yapmak oldukça zor olacaktır (Romano 2004).

Transrektal ultrasonografi maksimum duyarlılığı ve doğru negatif teşhisi düvelerde en erken 26. günde, ineklerde ise 29. günde yapılabilmektedir (Romano ve ark. 2006).

#### **2.4.8.4. Bilgisayar Destekli Görüntü Analizleri**

Veteriner hekimliği alanında ekostrüktür analizleri tanı amacıyla uygulanma alanı bulmuştur (Pierson ve Ginther 1987). Son yıllarda görüntüleme teknolojilerindeki gelişimlere bağlı olarak reproduktif ultrasonografi araştırmalarında da kullanılabilir olan birçok dijital görüntü işleme ve analiz sistemleri geliştirilmiş ve görüntülerin matematiksel olarak ilişkilendirilmesi sağlanmıştır. Bu sayede geçmişte sadece resimler üzerinden görsel analizler yapılabilmekteyken, günümüzde bilgisayar destekli görüntü analiz sistemleri pratikte yerini almıştır (Griffin ve Ginther 1992, Bonafos ve ark. 1995, Küçükaslan 2010).

Uterusun ekostrüktürel yapısını değerlendirmek amacıyla geçmişte yapılan çalışmalarda, homojenite, heterojenite ve üç değişik ödem derecesi belirlenmiş bu parametreler siklus dönemine göre sıralanmıştır. Buna göre; diöstrusta 1. derece ödem gözlenmiş ve homojen bir tekstürel yapı izlenmiştir, metöstrus döneminde ise heterojen bir tekstür ve 2. derecede ödem gözlenmiştir, östrus döneminde ise 3. derece ödemle birlikte heterojen tekstürel yapı belirlenmiştir. Araştırmacılar, uterusun gri tonunu değerlendirmek için de basit bir resim kartı kullanılmış ve sekiz değişik ton göz önünde bulundurularak (0 = siyah, 7 = beyaz) ölçümler yapılmıştır. Resimlerde gri tonlarının oransal olarak fazla olduğu durumda uterus heterojen olarak değerlendirilmiştir. Hem ekostrüktürün öznel değerlendirilmesi hem de uterusun renk açıklığına bağlı siklusta görülen değişiklikler bu çalışmaların ilk denemeleri olmuştur. Çalışmanın sonucunda göre ovulasyondan 4-5 gün önce uterusun heterojen bir yapıda olduğu ve ovulasyona yaklaşıldıkça homojenitenin arttığını görülmüştür (Pierson ve Ginther (1987).

Son yıllarda veteriner doğum ve jinekoloji alanında bilgisayar destekli görüntü analiz programlarının kullanımı artmıştır. Bu çalışmalarda görüntü ve analiz sistemlerindeki teknolojik gelişmeler veteriner hekimlikte, konseptusun uterus içerisinde göç etmesi, ovulasyon, embriyonik ve plasental gelişim sırasında endometriyumun damarlaşması, fötal cinsiyetin belirlenmesi, siklus ve implantasyon sırasındaki endometriyal ekotekstür değişiklikleri gibi birçok konunun anlaşılmasına ışık tutmuştur (Kot ve Ginther 1999, Honnens ve ark. 2008, Schmauder ve ark. 2008, Kauffold ve ark. 2010, Cengiz ve ark. 2014, Ginther 2014, Cengiz ve ark. 2017). İneklerde ve kısıraklarda siklik endometriyal ekotekstür değişikliklerinin ovaryum hormonlarının periferel kandaki konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ginther 1998, Schmauder ve ark. 2008, Scully ve ark. 2015). Bilgisayar destekli görüntü analiz programları ile domuzlarda (Kauffold ve ark. 2010), keçilerde (Cengiz ve ark. 2014), Avrupa karacalarında (Hermes ve ark. 2000) ve ineklerde gebelik durumu belirlenmeye çalışılmıştır (Bertmann 2005, Cengiz ve ark. 2017). B mod ultrasonografi domuzlarda da genital organların ekotekstürel değişikliklerinin incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Pierson ve Adams 1995).

Bilgisayar destekli görüntü analiz programları kullanılarak, ineklerde ovulasyonun dinamiğini ölçmek, subklinik endometritisi tespit etmek ve endometritis tedavisini değerlendirmek amacıyla da çalışmalar yapılmıştır (Tom ve ark. 1998, Kucukaslan ve ark. 2014, Polat ve ark. 2015). Ayrıca koyunlarda, KL'nin yapısıyla üretilen P<sub>4</sub> miktarı arasında ilişki olup olmadığını ve keçilerde siklusun değişik dönemlerinde luteal fonksiyonları belirlemek için de bu programlardan yararlanılmaktadır (Davies ve ark. 2006, Arashiro ve ark. 2010). Bu programlar sayesinde kısıraklarda ovulasyon zamanını belirlemek amacıyla preovulator folikül duvarının ekotekstüründeki değişimler incelenmiştir (Chan ve ark. 2003). Kısıraklarda uygun çiftleşme zamanını belirlenmek için folikül çapıyla ekotekstür değişiklikleri arasındaki ilişki bilgisayar destekli görüntü analiz programlarınca değerlendirilmiştir (Gastal ve ark. 1998, Gastal ve ark. 1999). Görüntü analiz programları, köpeklerde ovaryum ekotekstürü ile P<sub>4</sub> konsantrasyonu arasındaki ilişkinin tespit edilmesi ve meme tümörlerinde tümörün karakterinin belirlenmesi alanlarında yer bulmuştur (Mulazimoglu ve ark. 2016, Erdoğan ve ark. 2017).

Schmauder ve ark. (2008)'na göre reproduktif hormonlar olan E<sub>2</sub> ve P<sub>4</sub>, birçok hayvan türünde endometriyal ödeme bağlı olarak, uterus ekotekstürü üzerine etki eden önemli faktörlerdir. Metöstrus ve diöstrus boyunca plazma P<sub>4</sub> seviyesi ile ekojenite, dolayısıyla da homojenite arasında önemli ilişki vardır. Ancak siklus boyunca P<sub>4</sub> ve ekojenite parametrelerindeki değişikliklere bakıldığında bir benzerlik görülememiştir. Ekojenite ve homojenite siklusun 4 – 13. günleri arasında sabit kalırken P<sub>4</sub> değeri sürekli artmaktadır. Bu nedenle, elde edilen korelasyon değerlerinin muhtemelen P<sub>4</sub> seviyelerinin östrojen seviyeleri ile ters orantılı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ekotekstürel parametrelerin değerlendirilmesi için ultrasonografik inceleme sırasında dondurulan görüntüler dijital ortamda kaydedilerek bilgisayar ortamına aktarılmaktadır. Seçilen inceleme alanları (ROI) için ekotekstür analizinde bazı parametreler kullanılmaktadır. En sık kullanılan parametreler gradient, kontrast, homojenite ve ortalama gri değerdir (Küçükcaslan ve ark. 2014).

*Gradient (GR)*; komşu piksellerin gri değerlerindeki farklılıkları başka bir deyişle mikrotekstürünü tanımlar. Gradient değeri 0 ise görüntü tümüyle homojendir (Raeth ve ark. 1985).

$$GrMean = \frac{1}{N} \times \sum_{(x,y) \in ROI} G(x,y)$$

[GrMean: Ortalama Gradient Değer, N: seçilen inceleme alanındaki toplam piksel sayısı, G(x,y): (x,y) bölümündeki gradient, x,y: sırasıyla yatay ve dikey eksen]

*Homojenite (HOM)*; belirlenen matriksteki komşu piksellerin gri değer kombinasyonlarının aynı olmasını, örneğin mikro ya da makrotekstürde olmasını tanımlar. Homojenite değerleri 0 – 1 arasında değişmektedir (Lefebvre ve ark. 2000).

$$HOM = \sum_{(i,j)} p(i,j)^2$$

[HOM: homojenite, i,j: sırasıyla yatay ve dikey eksen, p(j,i): bölgedeki ortak oluşum matrisi]

*Contrast (CON)*; seçilen inceleme alanlarındaki büyük gri değer farklılıklarının toplam ölçümüdür ve görüntünün makrotekstürü hakkında bilgi verir (Lefebvre ve ark. 2000).

$$CON = \sum_{(i,j) \in ROI} (i,j)^2 \times p(i,j)$$

[CON: kontrast, i,j: sırasıyla yatay ve dikey eksen, p(j,i): bölgedeki ortak oluşum matrisi]

*Ortalama Gri Değer (MGL)*; görüntüdeki tüm piksellerin aritmetik ortalama olarak gri değeridir ve görüntünün parlaklığını tanımlar. Ortalama gri değer 0 – 255 arasında değişir (Raeth ve ark. 1985).

$$\mu_g = \frac{1}{N} \times \sum_{(x,y)} g_{xy}$$

[ $\mu_g$ : ortalama gri değer (0 – 255), N: piksel olarak ROI alanının büyüklüğü, x,y: yatay x, dikey y ekseni,  $g_{xy}$ : pikseldeki gri seviyesi]

Optik yoğunluklu görüntü analizleri, genel olarak hem insan hem de veteriner hekimliğinde ortopedik tanıda kullanılan dijital görüntülerdeki piksel yoğunluğuna dayanan diğer bir nicel metottur. Bu yöntemle erken gebelik döneminde ve siklusta ineklerde endometriyal ve luteal değişiklikler belirlenebilmektedir (Cengiz ve ark. 2017).

Bilgisayar görüntü analizi ve neural modelleme daha çok ziraat mühendisliğinde sorunları çözmek amacıyla kullanılmakla birlikte, ineklerde KL'nin ovaryum üzerindeki konumunu (ovaryum yüzeyinde veya parankim doku içerisine gömülü) belirlemek ve böylece KL sınıflandırması yapmak amacıyla da kullanılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda neural aę yöntemi ovaryumun ultrasonografik görüntülerinin sınıflandırılmasında kullanılabilecek bir yöntem olarak bulunmuştur (Grna ve ark. 2016).

Sunulan bu çalışmada, bir doğum yapmış ve herhangi bir uterus enfeksiyonu gözlenmeyen Holstein ırkı ineklerde tohumlama gününde ve takip eden dönemde belirlenen günlerde uygulanan ultrasonografik incelemeler sonrasında elde edilen uterus endometriyumunun dijital görüntülerinin bilgisayar destekli görüntü analiz programı ile değerlendirilerek ekotekstür parametrelerindeki değişimlere göre gebe olmayan ineklerin erken dönemde belirlenmesi amaçlanmıştır.

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Hayvan Materyali**

Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığınca verilen onay (Atatürk Üniversitesi HADYEK 2015 – Toplantı: 8, Karar No: 159) sonrasında çalışma Erzurum ili Aşkale ilçesi Kandilli beldesinde bulunan özel bir çiftlikte (Erpalan Organik Hayvancılık Gıda İnş. San. Taah. Tic. San. A.Ş.) yürütüldü. Çalışmada 1. laktasyonundaki, 3 yaşlı, aynı bakım ve besleme şartlarında barındırılan, ortalama 18 litre günlük süt verimi olan 49 (33 gebe ve 16 gebe olmayan) adet Holstein ırkı inek kullanıldı.

Doğum sırasında ve sonrasında herhangi bir problem (güç doğum, retentio sekundinarum, yırtık vb.) yaşamamış, uterus enfeksiyonları yönünden klinik ve sitopatolojik bulgu vermeyen inekler çalışmaya dahil edildi. İnekler postpartum 90 – 150. günler arasında en çok iki servis periyodu takip edildi. Üç ve sonrası servislerde gebe kalanlar ve/veya kalmayan inekler problemliler olarak değerlendirildi ve çalışmadan çıkarıldı. İneklerin gebelikleri tohumlama sonrası 35. günde yapılan ultrasonografik muayenelerde fötusun görülmesiyle kesinleştirildi.

#### **3.2. Metot**

##### **3.2.1. Uterus Sağlığının Belirlenmesi**

Çalışmaya alınacak inekler doğum sonrası 60. günden itibaren klinik ve subklinik endometritis yönünden değerlendirmeye alındı. Klinik endometritis tanısı için kötü kokulu ve irinli anormal vulva akıntısı gözlenen inekler transrektal muayene ile uterusun dolgunluğu ve transrektal ultrasonografi ile uterus lümeninde sıvı birikimi yönünden değerlendirildi.

Subklinik endometritisleri belirlemek amacıyla endoservikal fırçalar (Plastimed<sup>®</sup>, İstanbul, Türkiye) kullanılarak endometriyal sitoloji örnekleri alındı (Kasimanickam ve ark. 2004). Serviks uteriye geçebilmek için fırçalar uç uca eklendi. Kateterizasyon öncesinde perivulvar alan kontaminasyonu önlemek için



iyice temizlendi. Daha sonra metal bir uterus katateri üzerine fırçaların boyuna uygun olarak kesilmiş olan plastik suni tohumlama kılıfları geçirildi. Serviks uteri geçildikten sonra metal kateter çıkarılarak endoservikal fırça içerisinden ilerletilerek kornu veya korpus uteriden endometriyal sitoloji örnekleri alındı. Alınan örnekler lam üzerine sürülerek kurutuldu ve boyama öncesinde 5 dakika süreyle metanol ile fikse edildi. Fikse edilen örnekler Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri tarafından Giemsa boyama ile boyandı ve ışık mikroskopunda Polat ve ark. (2015)'e göre değerlendirildi. Bu değerlendirmede > %5 nötrofil-lökosit gözlenenler akut, %5 nötrofil lökosit ve lenfosit gözlenenler subakut, > %5 lenfosit tespit edilenler ise kronik olarak değerlendirildi (Schlafer ve Miller 2007). Subklinik ve klinik enfeksiyon gözlenen inekler çalışmadan çıkarıldı. Uterus enfeksiyonları yönünden sağlıklı olan inekler çalışmaya dahil edildi.



**Resim 4.** Subklinik endometritisleri belirlemek amacıyla kullanılan endoservikal fırçalar

### 3.2.2. Suni Tohumlama

Tüm hayvanlarda östrus takibi Sürü Yönetim Sistemi (NEDAP® Livestock Management, Hollanda) ile yapıldı. Östrusun belirlenmesini takiben 12 saat sonra suni tohumlama uygulaması yapıldı. Tohumlama yapılırken graaf folikülünün bulunduğu kornular tercih edildi. Tohumlamalarda Hostein ırkı boğa spermı (14HO04042 Razy, Atafen®, Türkiye) kullanıldı. Spermalar tohumlama öncesinde 37 °C'de su banyosunda 30 saniye çözdürülerek rektovaginal yolla kornu uteriye bırakıldı. Uygulamalarda bir örnekliliğin sağlanabilmesi amacıyla tohumlamalar aynı Veteriner Hekim tarafından yapıldı.

**Tablo 2.** Kullanılan spermanın özellikleri

Spermatozoonun motilitesi (%)	65
Spermatozoon yoğunluğu ( $\times 10^6$ / payet)	3,6
Akrozomal bozukluk (%)	4
Diğer morfolojik bozukluklar (%)	12
Toplam morfolojik bozukluklar (%)	16
Toplam motil spermatozoon ( $\times 10^6$ / payet)	3

### 3.2.3. Ultrasonografi ve Dijital Görüntülerin Alınması

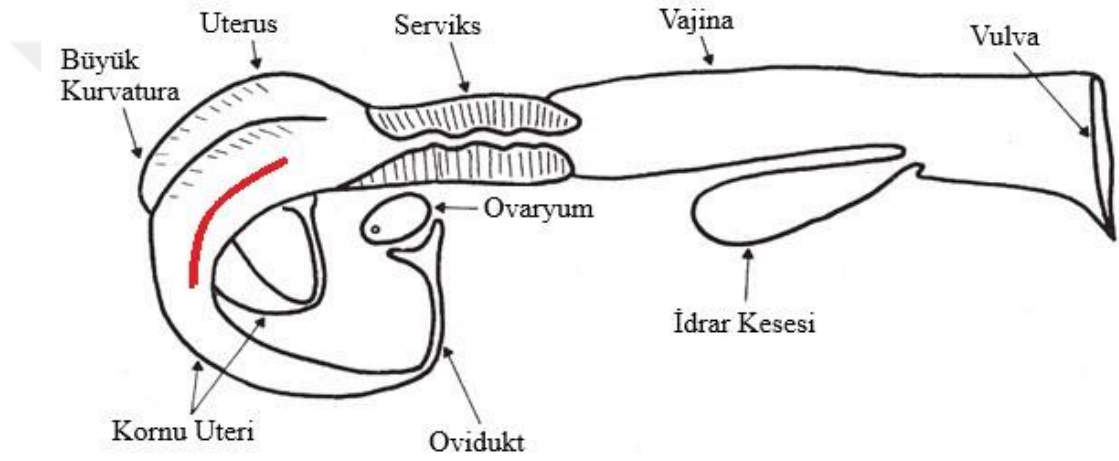
Örnekleme için gerçek zamanlı, B-mod transrektal ultrasonografi cihazı (HASVET 838, Hasvet Veteriner Hizmetleri Tarım ve Hayvancılık Ltd.Şti. Türkiye) kullanıldı. Alınacak dijital görüntüler için her muayenede ayarları sabitlenmiş (MI  $\leq$  0,83, Ferq: 9,0 MHz, Depth 7,9 cm, B Gain 70 dB) aynı ultrasonografi cihazı



kullanıldı. Görüntülerin detaylarını arttırmak için 9,0 MHz'lik prob kullanıldı.

**Resim 5.** Çalışmada kullanılan ultrasonografi cihazı (HASVET 838).

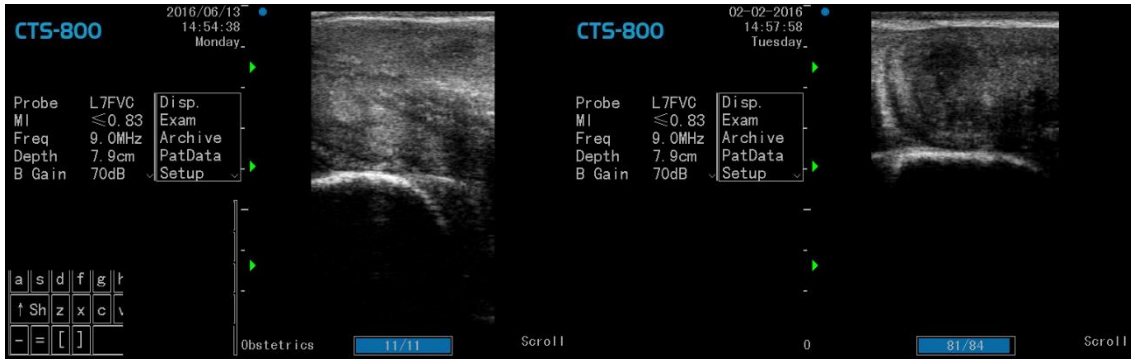
Görüntüler kornu uterinin büyük kurvatura bölgesinden, kesitsel olarak, tohumlama günü (0. gün), tohumlama sonrası 4, 12, 16, 18 ve 21. günlerde toplandı. Görüntüler cihaz üzerinden bir belleğe JPEG (Joint Photographer Expert Group, Birleşik Fotoğraf Uzmanları Grubu tarafından oluşturulmuş kayıplı fotoğraf sıkıştırma yöntemi) formatında kaydedildi. Her uygulamada uterustan en az 3 görüntü kaydedildi. Kaydedilen görüntüler daha sonra bilgisayar ortamına aktarıldı. Yapılan bu uygulamalar görüntülerin standardizasyonunu sağlamak amacıyla hep aynı kişi tarafından tekrarlandı.



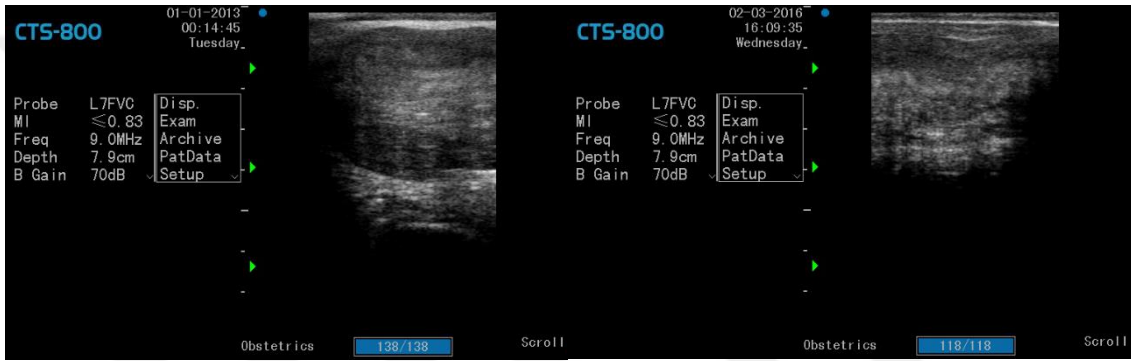
**Resim 6.** Uterustan görüntü alınan bölge (Turner 2014).



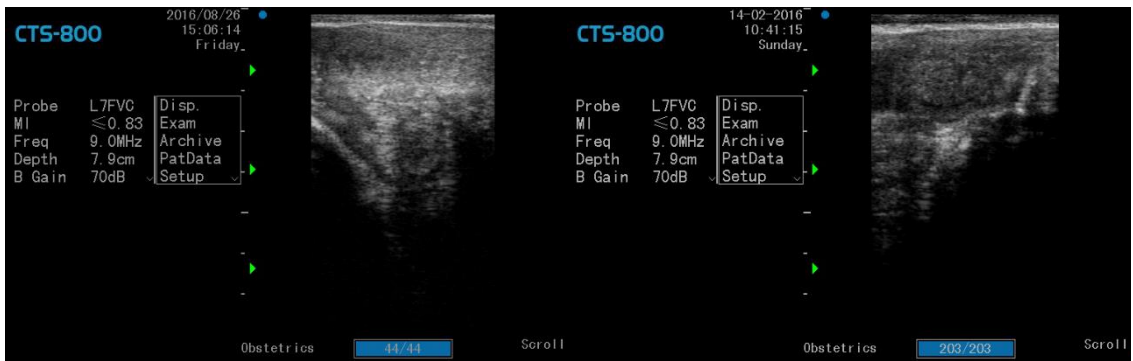
**Resim 7.** Gebe ve gebe olmayan uterusun 0. gün USG görüntüsü



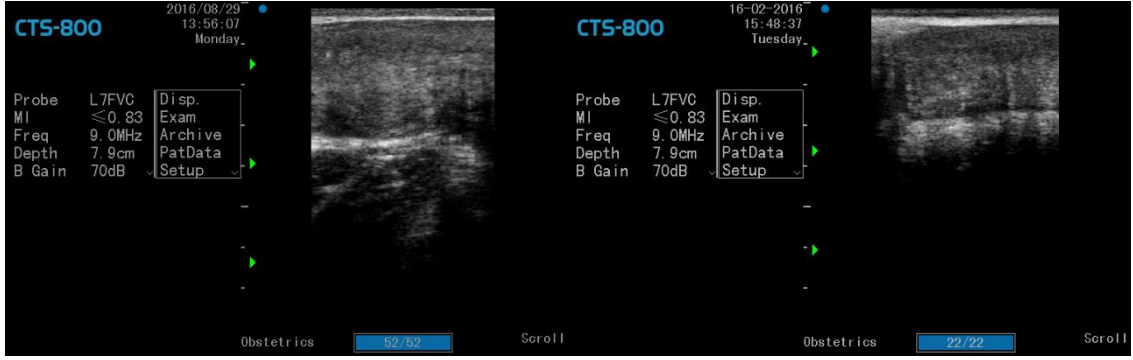
**Resim 8.** Gebe ve gebe olmayan uterusun 4. gün USG görüntüsü



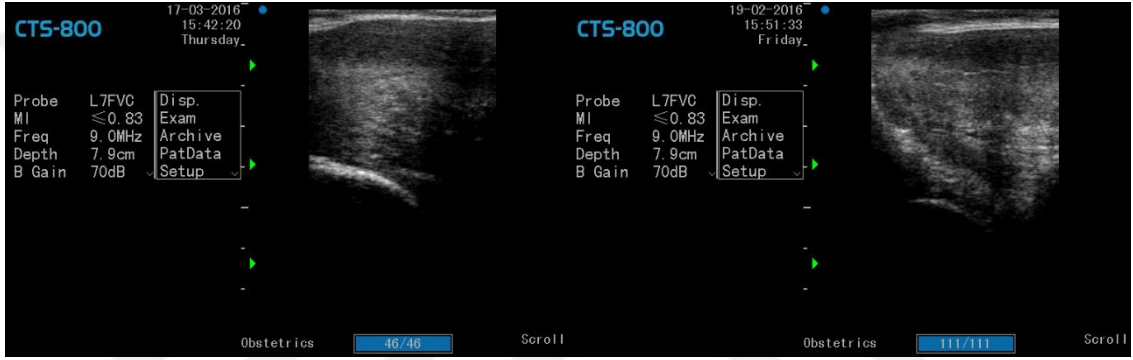
**Resim 9.** Gebe ve gebe olmayan uterusun 12. gün USG görüntüsü



**Resim 10.** Gebe ve gebe olmayan uterusun 16. gün USG görüntüsü



**Resim 11.** Gebe ve gebe olmayan uterusun 18. gün USG görüntüsü



**Resim 12.** Gebe ve gebe olmayan uterusun 21. gün USG görüntüsü

### 3.2.4. Ekotekstür Analizleri

Endometriyumun ekotekstür analizlerini yapmak üzere toplanan görüntüler JPEG formatından sıkıştırılmamış olan BMP (bitmap) formatına dönüştürüldü. (Bitmap, bilgisayar ekranında bir resmi görüntülemek için gereken tüm renk bilgilerinin ekranı oluşturan her piksel için renk bilgilerinin verildiği resim formatlarına verilen genel addır.) Görüntü analizleri özel olarak geliştirilen bilgisayar yazılımı ile (BS200 Pro® Görüntü İşleme ve Analiz Yazılımı, BAB, Ankara, Türkiye) yapıldı.

#### 3.2.4.1. Bilgisayar Destekli Görüntü Analiz Programlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametreler

Analizler her bir görüntüleme bölgesinde dört adet "İlgili Alan" (regions of interests, ROI,  $24 \times 24$  piksel) tespit edilerek, ortalama gri değer (MGL), homojenite (HOM) ve kontrast (CON) parametreleri yönünden değerlendirilmek için uygulandı. İlgili alanlar sadece endometriyumu kapsayacak şekilde seçildi. Myometriyum, artefakt ve varsa sıvı birikimlerinin alınmamasına dikkat edildi (Cengiz ve ark.



2014).

**Resim 13.** ROI alanlarının belirlenmesi.

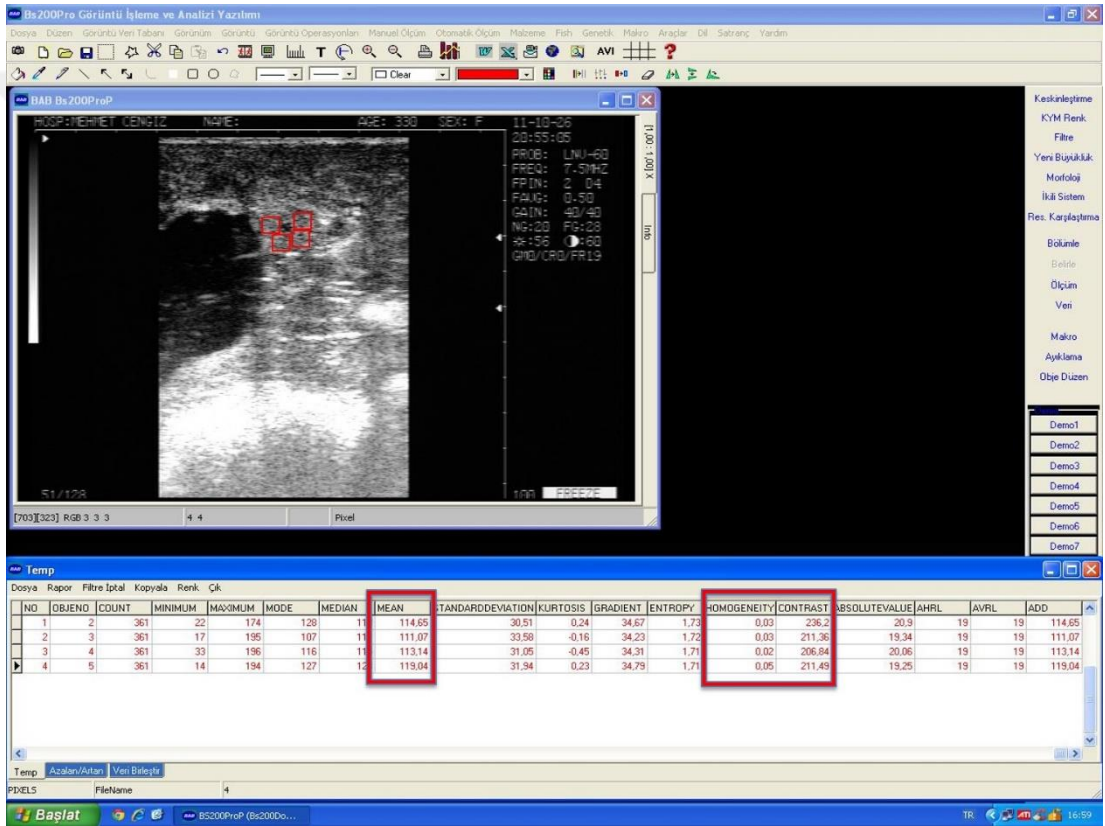
*Homojenite;* ultrasonografi görüntülerinde belirlenen ROI'lar da bir örnekliliğin düzeyini ifade eder (Garra ve ark. 1993, Lefebvre ve ark. 2000). Homojenite değeri 0 ve 1 arasındadır. Bir görüntüde az miktarda gri değer kombinasyonu var ve bunlar ortalama olarak eşit şekilde dağılım gösteriyorsa homojenite değeri yüksektir. Homojenite değerinin 1 olduğu durumlarda, görüntü tam anlamıyla homojendir. Buna karşılık bir ultrasonografik görüntüde birçok gri değer kombinasyonu var ve bunlar düzensiz bir şekilde dağılmışlarsa o zaman homojenite değeri çok düşüktür (Raeth ve ark. 1985).

*Kontrast;* ultrasonografi görüntülerinde belirlenmiş olan ROI'da değişik gri değer derecelerinin yoğunluk değişimlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu



parametre bir ultrasonografi görüntüsünün makro yapısına dair en fazla bilgiyi içermektedir (Lefebvre ve ark. 2000).

*Ortalama gri değer;* ultrasonografi görüntülerindeki ROI alanındaki tüm piksellerin gri değerlerinin aritmetik ortalamasıdır. Gri değer bir resmi oluşturan piksellerin açıklık veya koyuluğunu ifade eder ve değeri 0= siyah ile 255=beyaz arasında değişmektedir. Seçilen inceleme alanına dair genel bir bilgi verir. Ayrıca ultrasonografi görüntüsünün tüm kontrastına dair bilgilere de ulaşılır (Raeth ve ark. 1985).



**Resim 14.** Bs2000Pro programında ultrasonografik görüntülerin analizi.

### 3.2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Ultrasonografi ölçümlerinde ortalama gri değer, homojenite ve kontrast parametreleri belirlendi. Veriler 2-yönlü varyans analizine tabi tutuldu. Gebelik durumu (gebe/gebe değil) ve tohumlamayı izleyen gün bağımsız değişkenleri ile bunlar arasındaki etkileşim istatistiksel modelin ana faktörlerini oluşturdu (Proc. GLM). İstatistiksel analizde SAS (2002) paket programı kullanıldı. Tüm hayvanlar

(n = 49), gebe inekler (n = 33) ve gebe olmayan (n = 16) ineklerde ortalama gri değer, homojenite ve kontrast değerleri arasındaki ilişkiler Pearson's korelasyon katsayıları ile belirlendi (Proc. Corr). Gebe olmayan ineklerin erken dönemde tespitine yönelik (gün 4) USG parametrelerinin özgüllük ve duyarlılık belirlemek amacıyla ROC eğrisi analizi yapıldı (MedCalc, version, 16.1, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium). İstatistiksel farklılıklar ve nemlilik  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı kabul edildi.





#### 4. BULGULAR

Gebe kalan ineklerde (n = 33) MGL (74,04 - 64,19; P < 0,0001) ve CON değeri (56,46 - 52,95, P < 0,005) gebe kalmayanlardan (n = 16) daha yüksek bulundu. Ancak HOM değerleri gebe kalan ve kalmayan ineklerde benzer bulundu (P < 0,07) (Tablo 3).

Tohumlama sonrası siklus günleri gebe kalan ve kalmayan ineklerde ortak olarak değerlendirildiğinde USG parametrelerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi. Ortalama gri değer ve CON parametreleri benzer şekilde 0 – 4. günler arasında artma eğilimi gösterirken, 4 – 12. günler arasında azalmıştır. Daha sonra 12 – 16. günler ve 18 – 21. günler arasında artma eğilimi gözlenmiş, 16 – 18. günler arasında ise azalma şekillenmiştir. Homojenite değeri ise 0 – 4. günler arasında azalma eğilimi göstermiş, 4 – 18. günler arasında benzer seyretmiş ve 18 – 21. günler arasında düşme eğilimine girmiştir (Tablo 3).

Gerek gebe kalan, gerekse gebe kalmayan ineklerde tohumlama sonrasında USG parametrelerindeki değişim eğilimleri genel anlamda farklı bulunmadı (Tablo 3).

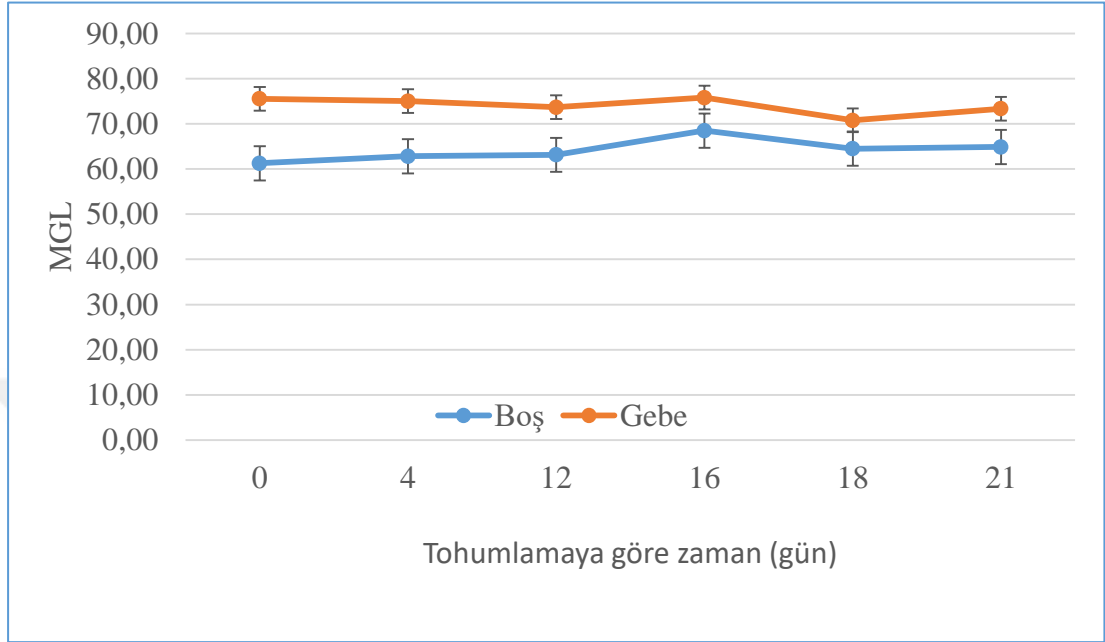
**Tablo 3.** Gebe (n=33) ve gebe kalmayan (n=16) ineklerde ölçüm günlerine bağlı ekotektür parametrelerinin değişimi (MGL: Ortalama Gri Değer, HOM: Homojenite, CON: Kontrast)

Etki Faktörü		MGL	HOM	CON
<b>I. Reprodüktif Durum</b>	Gebe Değil	64,19±1,54*	0,081±0,001	52,95±1,02*
	Gebe	74,04±1,07*	0,079±0,001	56,46±0,71*
<b>p-değeri</b>		<b>0,0001</b>	<b>0,07</b>	<b>0,005</b>
<b>II. Gün</b>	Gün 0	68,42±2,35	0,081±0,001	54,87±1,56
	Gün 4	68,93±2,28	0,080±0,001	54,93±1,51
	Gün 12	68,41±2,28	0,080±0,001	53,91±1,51
	Gün 16	72,15±2,28	0,080±0,001	54,95±1,51
	Gün 18	67,64±2,28	0,080±0,001	54,30±1,51
	Gün 21	69,12±2,33	0,079±0,001	55,27±1,55
<b>p-değeri</b>		<b>0,79</b>	<b>0,89</b>	<b>0,99</b>
<b>III. Reprodüktif Durum x Gün Ekileşimi</b>	Gebe Değil – Gün 0	61,28±3,86	0,083±0,002	52,17±2,56
	Gebe Değil – Gün 4	62,83±3,74	0,082±0,002	51,68±2,48
	Gebe Değil – Gün 12	63,15±3,74	0,082±0,002	50,52±2,48
	Gebe Değil – Gün 16	68,50±3,74	0,080±0,002	54,37±2,48
	Gebe Değil – Gün 18	64,51±3,74	0,079±0,002	54,42±2,48
	Gebe Değil – Gün 21	64,89±3,86	0,079±0,002	54,53±2,56
	Gebe-Gün 0	75,55±2,69	0,079±0,001	57,58±1,78
	Gebe-Gün 4	75,04±2,60	0,079±0,001	58,17±1,73
	Gebe-Gün 12	73,68±2,60	0,078±0,001	57,30±1,73
	Gebe-Gün 16	75,80±2,60	0,080±0,001	55,53±1,73
	Gebe-Gün 18	70,78±2,60	0,080±0,001	54,17±1,73
	Gebe-Gün 21	73,35±2,60	0,079±0,001	56,02±1,73
	<b>p-değeri</b>		<b>0,82</b>	<b>0,43</b>

(\*: İstatistiksel olarak önemli)

Gebe kalan ve kalmayan inekler tohumlama sonrası günlerde ayrı ayrı değerlendirildiklerinde MGL parametresi gebe kalan ineklerde 0 – 12. günler arasında düşme eğilimi gösterirken, gebe kalmayan ineklerde aynı dönemler içerisinde artma eğilimi göstermektedir. Gebe kalmayan ineklerdeki bu artma eğilimi 12 – 16. günler arasında da devam etti, daha sonra 16 – 18. günler arasında düşüş gözlemlendi ve 18 – 21. günler arasında tekrar arttı. Gebe kalan ineklerde ise 12 – 16. günlerde artma eğilimi, 16 – 18. günlerde azalma ve 18 – 21. günlerde tekrar artma eğiliminde olduğu saptandı (Şekil 1).

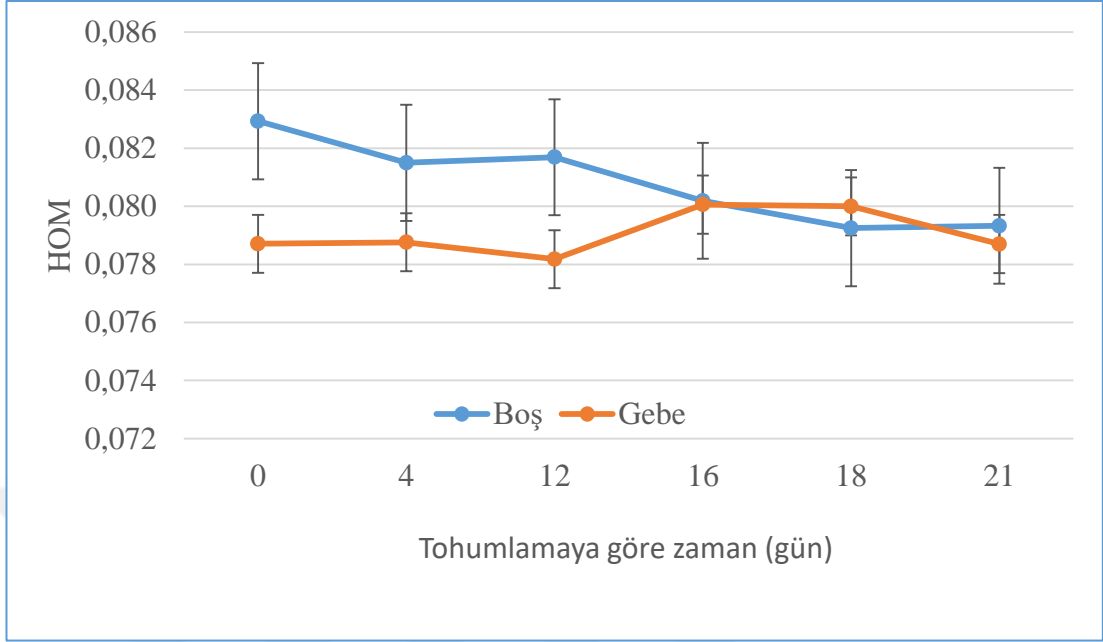
Tohumlama sonrası tüm günlerde gebe kalan inekler, gebe kalmayan ineklerle karşılaştırıldığında MGL parametresinin daha yüksek olduğu gözlemlendi (Şekil 1).



**Şekil 1.** Tohumlama sonrası günlere göre MGL (Ortalama Gri Değer) parametresindeki değişiklikler

Homojenite parametresi tohumlama sonrası farklı günlerde gebe kalan ve kalmayan ineklerde ayrı ayrı değerlendirildiğinde, gebe kalan ineklerde 0 – 4. günler arasında benzer olarak seyrettiği, 4 – 12. günler arasında azalma eğiliminde olduğu, 12 – 16. günler arasında artıma eğilimi gösterdiği, 16 – 18. günler arasında benzer seyreterek, 18 – 21. günler arasında ise azalma eğilimine girdiği gözlemlendi. Bu parametrenin seyri gebe kalmayan ineklerde 0 – 4. günler arasında düşme eğilimi gösterirken, 4 – 12. günler arasında sabit kaldığı, daha sonra 12 – 18. günler arasında azaldığı ve 18 – 21. günler arasında benzer olarak seyrettiği belirlendi (Şekil 2).

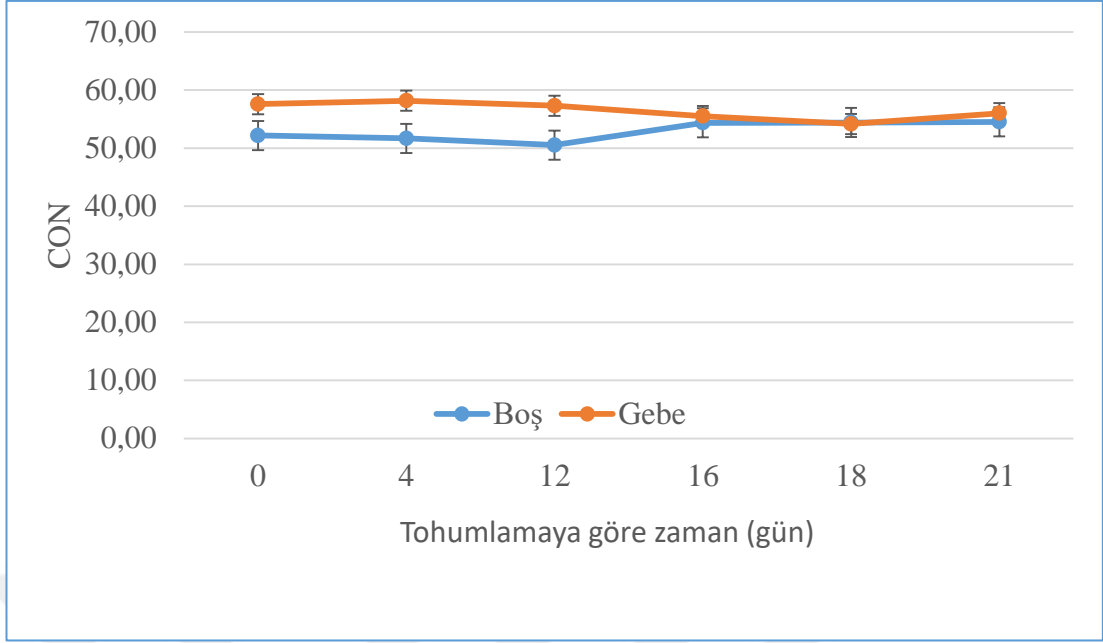
Homojenite değerinin gebe kalan ineklerde tohumlama sonrası 0 – 16. günler arasında gebe kalmayan ineklerdekinden daha düşük olduğu gözlemlendi. Tohumlama sonrası 16. günde gebe kalan ve kalmayan ineklerde HOM değerleri benzer seyrederken 18. günde gebe kalan ineklerde HOM değeri gebe kalmayanlara oranla yükseldi ve 21. günde tekrar gebe kalmayan ineklerdeki değerin altına düştü (Şekil 2).



**Şekil 2.** Tohumlama sonrası günlere göre HOM (Homojenite) parametresindeki değişiklikler

Kontrast değerlerinin gebe kalan ve kalmayan ineklerdeki tohumlama sonrası farklı günlerdeki değişimleri incelendiğinde ise gebe kalan ineklerde 0 – 4. günler arasında artma eğilimi gözlenirken, 4 – 18. günler arasında azaldığı ve 18 – 21. günler arasında tekrar artış eğilimi gösterdiği saptandı. Gebe kalmayan ineklerde ise CON değerleri 0 – 12. günler arasında azalma eğilimi gösterirken, 12 – 21. günler arasında artış eğiliminde olduğu gözlemlendi (Şekil 3).

Kontrast değerleri gebe olan ineklerde tohumlama sonrası 0 – 16. günler arasında gebe olmayan ineklerle kıyaslandığında yüksek, 16 – 21. günler arasında ise benzer şekilde seyrettiği tespit edildi (Şekil 3).



**Şekil 3.** Tohumlama sonrası günlere göre CON (Kontrast) parametresindeki değişiklikler

Gebe kalan ve kalmayan ineklerde USG parametreleri günlere göre ayrıştırlarak bakıldığında tohumlamadan 4 gün sonra gebe kalmayan ineklerde MGL (Şekil 1) ve kontrast değerinin (Şekil 3) gebe kalanlardan daha düşük, homojenite değerinin (Şekil 2) ise gebe kalan ineklerde, gebe kalmayanlara kıyasla daha düşük olduğu gözlemlendi.

Tüm inekler ortak olarak değerlendirildiklerinde MGL parametresi HOM ile negatif ( $r = -0,63$ ) ve CON ile pozitif ( $r = 0,60$ ) ilişkili bulundu (Tablo 4). Gebe kalan ve kalmayan ineklerde MGL, HOM ile negatif ( $r = -0,59/-0,69$ ), CON değeri ile pozitif ( $r = 0,55/0,66$ ) ilişkili bulundu. Homojenite değeri gebe kalan ve kalmayan ineklerde CON değeri ile negatif ( $r = -0,88/-0,89$ ) ilişkiliydi (Tablo 4).

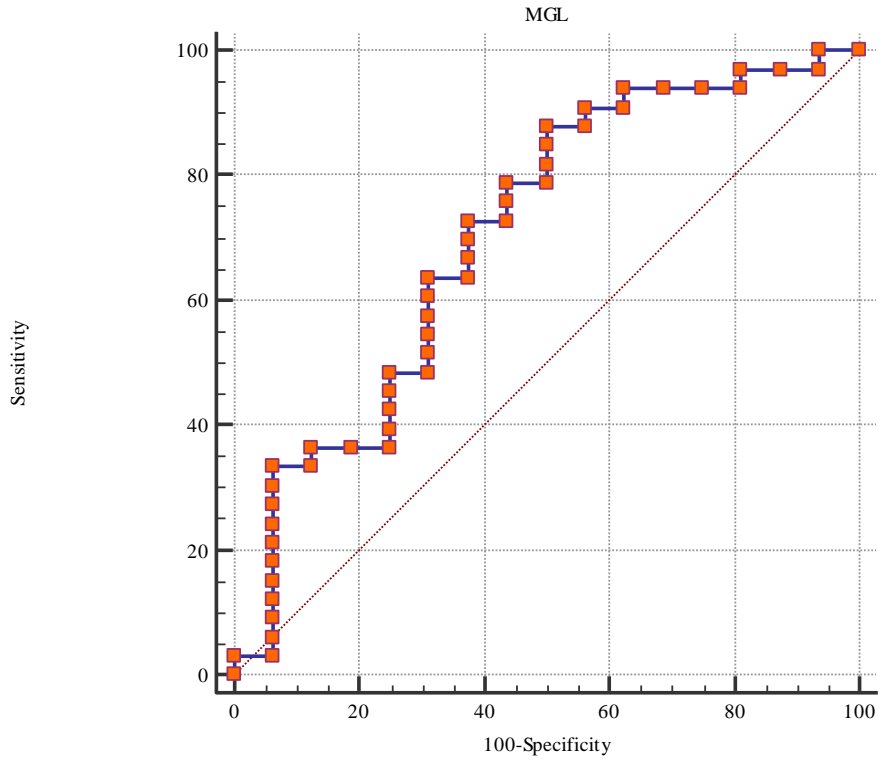
**Tablo 4.** Tüm inekler (n = 49), gebe (n = 33) ve gebe olmayan (n = 16) ineklerin tohumlama sonrası 4. gündeki ekotekstür parametreleri arasındaki ilişki (MGL: Ortalama Gri Değer, HOM: Homojenite, CON: Kontrast)

		<b>MGL</b>	<b>HOM</b>	<b>CON</b>
<b>Tüm İnekler</b>	<b>MGL</b>	1,00	-0,63	0,60
	<b>HOM</b>		1,00	-0,89
	<b>CON</b>			1,00
<b>Gebe Değil</b>	<b>MGL</b>	1,00	-0,69	0,66
	<b>HOM</b>		1,00	-0,89
	<b>CON</b>			1,00
<b>Gebe</b>	<b>MGL</b>	1,00	-0,59	0,55
	<b>HOM</b>		1,00	-0,88
	<b>CON</b>			1,00

Gebeliğin belirlenmesinde, tohumlamadan 4 gün sonra ortalama gri değer ( $>57,11$ ; Şekil 4), homojenite ( $\leq 0,083$ ; Şekil 5) ve kontrast ( $>47,59$ ; Şekil 6) eşik sınırlarında bulundu. Duyarlılık ve özgüllük değerleri ortalama gri değerde % 87,90 / % 50,00, homojenitede % 81,80 / % 43,80 ve kontrastta % 84,8 / % 50,00 olarak belirlendi (Tablo 5).

**Tablo 5.** Tohumlama sonrası 4. gün için duyarlılık ve özgüllük testi (MGL: Ortalama Gri Değer, HOM: Homojenite, CON: Kontrast)

Değişken	Parametre					İstatistik			
	Cut-Off	Duyarlılık	Özgüllük	+LR	-LR	Youden index J	Auc Mean±SE (%95 CI)	z	p
<b>MGL</b>	>57,11	87,9 (71,8-96,6)	50,0 (24,7-75,3)	1,76	0,24	0,38	0,70±0,08 (0,56-0,83)	2,40	0,02
<b>HOM</b>	≤0,083	81,8 (64,5-93,0)	43,8 (19,8-70,1)	1,45	0,42	0,26	0,60±0,09 (0,45-0,73)	1,04	0,30
<b>CON</b>	>47,59	84,8 (68,1-94,9)	50,0 (24,7-75,3)	1,70	0,30	0,35	0,67±0,08 (0,52-0,79)	1,94	0,05

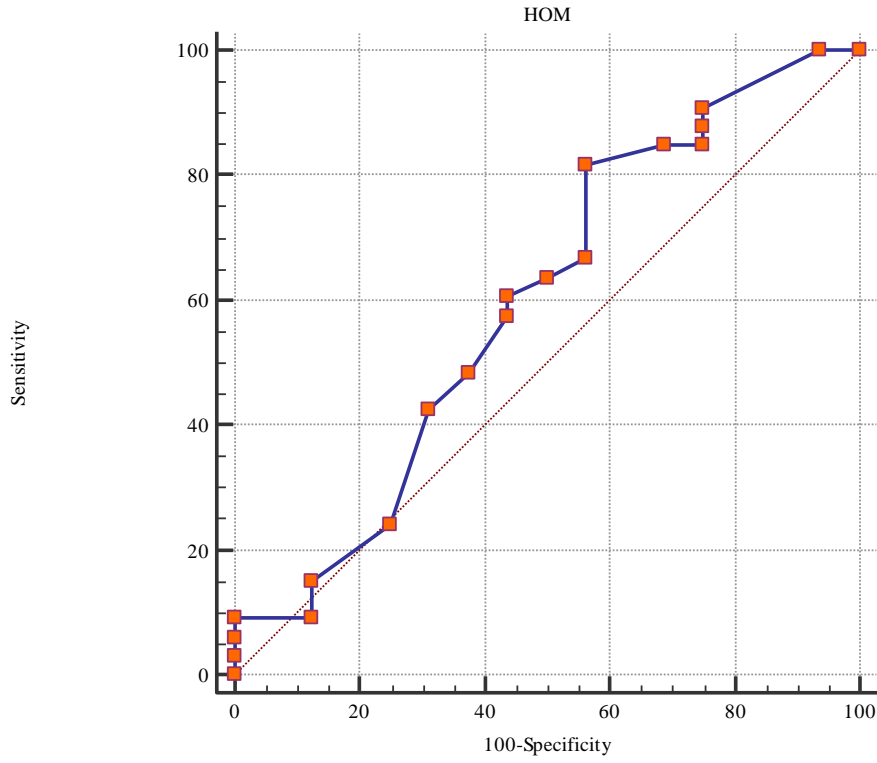


Şekil 4. Tohumlama sonrası 4. günde MGL (Ortalama Gri Değer) için duyarlılık ve özgüllük değerleri



**Tablo 6.** Tohumlama sonrası 4. günde farklı MGL (Ortalama Gri Değer) cut-off değerlerinde duyarlılık ve özgüllük değişimi

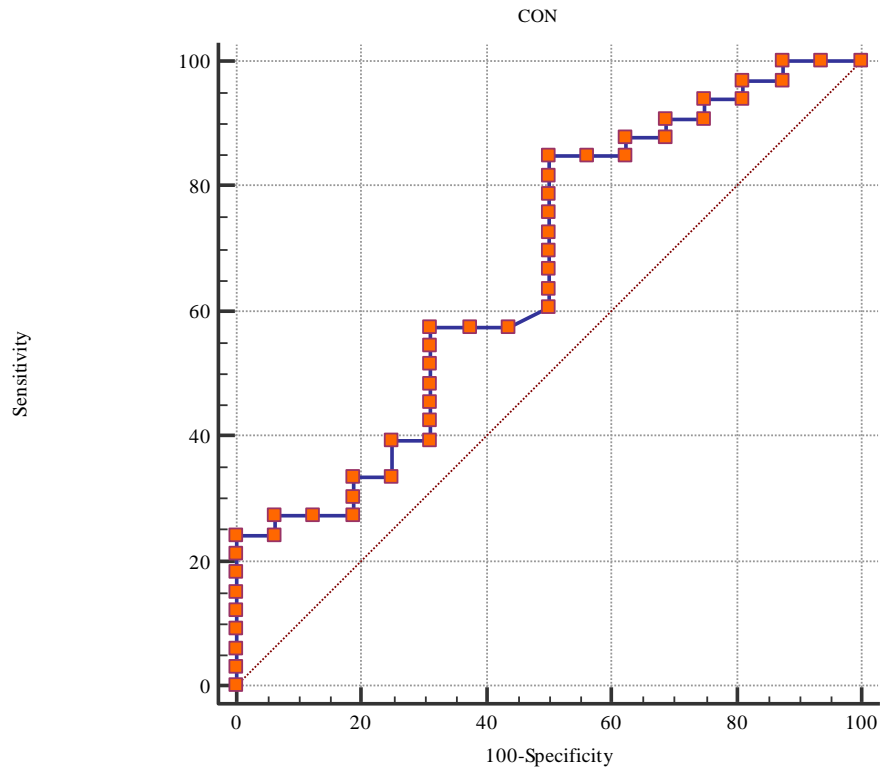
<b>Kriter</b>	<b>Duyarlılık</b>	<b>95% CI</b>	<b>Özgüllük</b>	<b>95% CI</b>	<b>+LR</b>	<b>-LR</b>
≥39,32	100,00	89,4 - 100,0	0,00	0,0 - 20,6	1,00	
>39,32	100,00	89,4 - 100,0	6,25	0,2 - 30,2	1,07	0,00
>43,29	96,97	84,2 - 99,9	6,25	0,2 - 30,2	1,03	0,48
>47,35	96,97	84,2 - 99,9	18,75	4,0 - 45,6	1,19	0,16
>48,07	93,94	79,8 - 99,3	18,75	4,0 - 45,6	1,16	0,32
>51,2	93,94	79,8 - 99,3	37,50	15,2 - 64,6	1,50	0,16
>53,84	90,91	75,7 - 98,1	37,50	15,2 - 64,6	1,45	0,24
>54,44	90,91	75,7 - 98,1	43,75	19,8 - 70,1	1,62	0,21
>57,01	87,88	71,8 - 96,6	43,75	19,8 - 70,1	1,56	0,28
>57,11	87,88	71,8 - 96,6	50,00	24,7 - 75,3	1,76	0,24
>65,53	78,79	61,1 - 91,0	50,00	24,7 - 75,3	1,58	0,42
>65,79	78,79	61,1 - 91,0	56,25	29,9 - 80,2	1,80	0,38
>66,32	72,73	54,5 - 86,7	56,25	29,9 - 80,2	1,66	0,48
>67,2	72,73	54,5 - 86,7	62,50	35,4 - 84,8	1,94	0,44
>67,77	63,64	45,1 - 79,6	62,50	35,4 - 84,8	1,70	0,58
>68,22	63,64	45,1 - 79,6	68,75	41,3 - 89,0	2,04	0,53
>71,48	48,48	30,8 - 66,5	68,75	41,3 - 89,0	1,55	0,75
>72,06	48,48	30,8 - 66,5	75,00	47,6 - 92,7	1,94	0,69
>75,09	36,36	20,4 - 54,9	75,00	47,6 - 92,7	1,45	0,85
>76,92	36,36	20,4 - 54,9	87,50	61,7 - 98,4	2,91	0,73
>78,03	33,33	18,0 - 51,8	87,50	61,7 - 98,4	2,67	0,76
>79,34	33,33	18,0 - 51,8	93,75	69,8 - 99,8	5,33	0,71
>104,72	3,03	0,08 - 15,8	93,75	69,8 - 99,8	0,48	1,03
>106,09	3,03	0,08 - 15,8	100,00	79,4 - 100,0		0,97
>108,62	0,00	0,0 - 10,6	100,00	79,4 - 100,0		1,00



**Şekil 5.** Tohumlama sonrası 4. günde HOM (Homojenite) için duyarlılık ve özgüllük değerleri

**Tablo 7.** Tohumlama sonrası 4. günde farklı HOM (Homojenite) cut-off değerlerinde duyarlılık ve özgüllük değişimi

Kriter	Duyarlılık	95% CI	Özgüllük	95% CI	+LR	-LR
<0,063	0,00	0,0 - 10,6	100,00	79,4 - 100,0		1,00
≤0,072	9,09	1,9 - 24,3	100,00	79,4 - 100,0		0,91
≤0,073	9,09	1,9 - 24,3	87,50	61,7 - 98,4	0,73	1,04
≤0,074	15,15	5,1 - 31,9	87,50	61,7 - 98,4	1,21	0,97
≤0,075	24,24	11,1 - 42,3	75,00	47,6 - 92,7	0,97	1,01
≤0,076	42,42	25,5 - 60,8	68,75	41,3 - 89,0	1,36	0,84
≤0,077	48,48	30,8 - 66,5	62,50	35,4 - 84,8	1,29	0,82
≤0,078	57,58	39,2 - 74,5	56,25	29,9 - 80,2	1,32	0,75
≤0,079	60,61	42,1 - 77,1	56,25	29,9 - 80,2	1,39	0,70
≤0,08	63,64	45,1 - 79,6	50,00	24,7 - 75,3	1,27	0,73
≤0,081	66,67	48,2 - 82,0	43,75	19,8 - 70,1	1,19	0,76
≤0,083	81,82	64,5 - 93,0	43,75	19,8 - 70,1	1,45	0,42
≤0,084	84,85	68,1 - 94,9	31,25	11,0 - 58,7	1,23	0,48
≤0,085	84,85	68,1 - 94,9	25,00	7,3 - 52,4	1,13	0,61
≤0,087	90,91	75,7 - 98,1	25,00	7,3 - 52,4	1,21	0,36
≤0,088	100,00	89,4 - 100,0	6,25	0,2 - 30,2	1,07	0,00
≤0,099	100,00	89,4 - 100,0	0,00	0,0 - 20,6	1,00	



Şekil 6. Tohumlama sonrası 4. günde CON (Kontrast) için duyarlılık ve özgüllük değerleri

**Tablo 8.** Tohumlama sonrası 4. günde farklı CON (Kontrast) cut-off değerlerinde duyarlılık ve özgüllük değişimi

<b>Kriter</b>	<b>Duyarlılık</b>	<b>95% CI</b>	<b>Özgüllük</b>	<b>95% CI</b>	<b>+LR</b>	<b>-LR</b>
≥35,45	100,00	89,4 - 100,0	0,00	0,0 - 20,6	1,00	
>37,26	100,00	89,4 - 100,0	12,50	1,6 - 38,3	1,14	0,00
>44,32	96,97	84,2 - 99,9	12,50	1,6 - 38,3	1,11	0,24
>44,39	96,97	84,2 - 99,9	18,75	4,0 - 45,6	1,19	0,16
>44,43	93,94	79,8 - 99,3	18,75	4,0 - 45,6	1,16	0,32
>44,78	93,94	79,8 - 99,3	25,00	7,3 - 52,4	1,25	0,24
>45,39	90,91	75,7 - 98,1	25,00	7,3 - 52,4	1,21	0,36
>45,56	90,91	75,7 - 98,1	31,25	11,0 - 58,7	1,32	0,29
>45,92	87,88	71,8 - 96,6	31,25	11,0 - 58,7	1,28	0,39
>46,67	87,88	71,8 - 96,6	37,50	15,2 - 64,6	1,41	0,32
>46,71	84,85	68,1 - 94,9	37,50	15,2 - 64,6	1,36	0,40
>47,59	84,85	68,1 - 94,9	50,00	24,7 - 75,3	1,70	0,30
>54,06	60,61	42,1 - 77,1	50,00	24,7 - 75,3	1,21	0,79
>55,47	57,58	39,2 - 74,5	56,25	29,9 - 80,2	1,32	0,75
>57,42	57,58	39,2 - 74,5	68,75	41,3 - 89,0	1,84	0,62
>58,74	39,39	22,9 - 57,9	68,75	41,3 - 89,0	1,26	0,88
>59,52	39,39	22,9 - 57,9	75,00	47,6 - 92,7	1,58	0,81
>59,74	33,33	18,0 - 51,8	75,00	47,6 - 92,7	1,33	0,89
>59,95	33,33	18,0 - 51,8	81,25	54,4 - 96,0	1,78	0,82
>61,2	27,27	13,3 - 45,5	81,25	54,4 - 96,0	1,45	0,90
>62,99	27,27	13,3 - 45,5	93,75	69,8 - 99,8	4,36	0,78
>63,83	24,24	11,1 - 42,3	93,75	69,8 - 99,8	3,88	0,81
>65,38	24,24	11,1 - 42,3	100,00	79,4 - 100,0		0,76
>88,18	0,00	0,0 - 10,6	100,00	79,4 - 100,0		1,00

## 5. TARTIŞMA

Reprodüktif verimliliğin en önemli ölçütlerinden biri olan fertilitate, genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altındadır (Rodriguez-Martinez ve ark. 2008). Fertilitate, iki buzağılama arası geçen süre ile ifade edildiği için buzağılama gebe kalma aralığının çiftlik şartlarına göre uygun süreler içerisinde tutulması fertilitateyi artırmanın en iyi yoludur (Pieterse ve ark. 1990).

İneklerde kontrollü reprodüktif yönetim programları ile buzağılama gebe kalma aralığı kısaltılabilmektedir (Tenhagen ve ark. 2004). Bu amaçla kullanılan senkronizasyon yöntemlerinde genellikle PGF<sub>2α</sub> tercih edildiği için abortları önlemek amacıyla uygulama öncesinde gebe olmayan hayvanların tanısı tohumlamadan sonra kısa bir süre içerisinde konulabilmelidir (Green ve ark. 2010). Bu amaçla erken dönemde gebe olmayan hayvanların ayrımının yapılabilmesi için birçok yöntem geliştirilmiştir.

İneklerde gebelik tanısı için transrektal ultrasonografinin doğruluğu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak sadece ultrasonografi ile tohumlama sonrası en erken 25 – 26. günde gebelik tanısı yapılabilmektedir (Green ve ark. 2010). Bu nedenle çiftlik hayvanlarında verimlilik açısından erken dönemlerde gebe olmayan hayvanların belirlenmesi için alternatif metotlar bulma ihtiyacı artmıştır.

Gebe olmayan hayvanların erken dönemde belirlenmesi reprodüktif verimlilik açısından önem taşımaktadır. Bu amaçla teknolojik gelişmelerin daha az olduğu dönemlerde ultrasonografik görüntüler daha çok görsel olarak değerlendirilmekteydi (Kastelic ve ark. 1989, Bonafos ve ark. 1995). Ancak bu değerlendirmeler gözlemcilere göre değişiklik gösterebileceği için teknolojik ilerlemeler sonucu bilgisayar programları vasıtasıyla değerlendirme yapılmaya başlanmıştır.

Tohumlama sonrası erken dönemde ineklerde endometriyal ekotekstür parametrelerinin değerlendirilmesi ile gebelik tanısı koymak ve uterus endometriyumundaki değişiklikleri değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmalarda hem gözlem ile derecelendirme hem de bilgisayar destekli görüntü analiz programları kullanılmıştır (Kastelic ve ark. 1989, Bonafos ve ark. 1995, Bertmann

2005, de Ramos ve ark. 2010, Scully ve ark. 2014, Scully ve ark. 2015, Cengiz ve ark. 2017).

Bilgisayar destekli görüntü analiz programlarının kullanımıyla ekotekstür parametreleri sayısal değerlerle ifade edilmeye başlamış ve böylelikle daha nicel sonuçlar toplanmıştır. Bu gelişmeler sonucunda bilgisayar destekli görüntü analizleri veteriner hekimlikte de kullanım alanı bulmuştur. Birçok hayvan türünde (inek, keçi, domuz, geyik) gebeliğin erken dönemde belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda ultrasonografik görüntüler bilgisayar programları ile değerlendirilmeye çalışılmıştır (Hermes ve ark. 2000, Kauffold ve ark. 2010, Cengiz ve ark. 2014, Scully ve ark. 2014, Scully ve ark. 2015, Cengiz ve ark. 2017).

Östrus siklusu boyunca uterus endometriyumunda meydana gelen değişimleri incelemek amacıyla yapılmış olan çalışmalarda siklusun farklı günlerinde endometriyal ekotekstür parametrelerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir (Schmauder ve ark. 2008, Scully ve ark. 2015).

Schmauder ve ark. (2008) yapmış oldukları çalışmada endometriyal ekotekstürü belirlemek amacıyla MGL ve HOM değerlerindeki değişimleri incelemişler, ortalama gri değerini 4 – 13. günler arasında yüksek seyrettiğini ( $105 \pm 1,5$ ) ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde, sunulan çalışmada da gebe olmayan ineklerde MGL değeri tohumlama gününden itibaren artış göstermiştir. Ancak Schmauder ve ark. (2008)'den farklı olarak, bu araştırmacıların bildirdiği 13. günden itibaren başlayan belirgin düşüş sunulan çalışmada gözlenmemiştir, yükselme eğilimi 16. güne kadar devam etmiş ve daha sonra düşme eğilimi göstermiştir.

Homojenite değerleri göz önüne alındığında, sunulan çalışmaya benzer şekilde Scully ve ark. (2015) 4 – 12. günleri arasında düşme eğilimi tespit etmişlerdir. Schmauder ve ark. (2008) 4. günden sonra, sunulan çalışma ve Scully ve ark. (2015)'in aksine HOM değerlerinde yükselme eğilimi olduğunu belirtmişlerdir. Ortaya çıkan bu farklılığın tohumlanmış ve gebe kalmamış hayvanlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu dönemde blastokist küresel bir formdan tubuler konseptus haline dönüşerek KL ile aynı tarafta yer alan kornu uterinin orta kısmına göç eder. Endometriyumun luminal epitelinde bulunan anti-

adhesiv musin 1 (MUC 1) trofoektodermin ve integrin gibi adhesiv reseptörlerin bağlanmasını engeller. Endometriyal luminal ve glandular epitelden P4 etkisi altında salgılanan histiyotrof gelişen blastokistleri beslemektedir (Spencer ve ark. 2007). Tüm bu olaylar gebe kalmamış ineklerde HOM değerlerinde görülen değişimler 9 – 11. günlerde uterusda meydana gelen preimplantasyon olaylarının bir sonucu olabileceği konusunda akla getirmektedir.

Sunulan çalışmada ortalama gri değer, homojenite ile negatif ve kontrast ile pozitif ilişkili bulundu. Bunun yanında homojenite ve kontrast arasında da negatif bir ilişki gözlemlendi. Bu sonuçlara benzer şekilde Schmauder ve ark. (2008) ortalama gri değer ile homojenite arasında negatif bir ilişki tespit etmişler, Scully ve ark. (2015) da homojenite ile kontrast arasında negatif bir ilişki bulmuşlardır. Bu negatif ilişkinin endometriyal ödem miktarındaki değişikliklerle ilgili olabileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda da endometriyal ödemde azalmanın intrasellüler sıvıda da azalmaya neden olduğu bu sayede ekojenitede artmaya neden olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ekojenitedeki artışa bağlı olarak homojenitede azalmanın şekillendiğini belirtmiştir (Ginther 1998, Schmauder ve ark. 2008).

Östrus siklusunun farklı dönemlerinde endometriyumda ödeme bağlı değişiklikler olmaktadır. Bu ödem sonucu intrasellüler sıvı miktarı da değişmektedir. İntrasellüler sıvıların hipoekoik karakterde olması nedeniyle ödemin arttığı dönemlerde tüm endometriyumun ekojenitesinde bir azalma meydana gelmektedir. Diöstrus döneminde intrasellüler sıvı miktarının düşmesi ile hücre yoğunluğu artacak ve uterus bezleri daha kompakt bir yapıda olacaktır (Ohtani ve ark. 1993). Sunulan çalışmaya benzer şekilde ovulasyon sonrası elde edilen yüksek ortalama gri değer ve düşük homojenite değerlerini bu histomorfolojik değişikliklere bağlı olabileceği belirtilmiştir (Ginther 1998).

Gözleme dayalı ekotekstür değerlendirmesi amacıyla yapılan çalışmalarda (Kastelic ve ark. 1989, Bonafos ve ark. 1995) sunulan çalışmayla benzer sonuçlar alınmıştır. Yapılmış olan iki çalışmada da benzer şekilde gebe ve gebe olmayan hayvanlarda homojenite değişimine dayalı gözlemlerle uterus ekotekstürü değerlendirilmeye çalışılmıştır. Çalışmalarda 10 – 14. günler arasında yapılmış olan değerlendirmelerde, sunulan çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde gebe ve

gebe olmayan ineklerde ekotekstür değerlerinin birbirine yakın seyrettiği gözlemlenmiştir. Kastelic ve ark. (1989) tohumlama sonrası 14. günden, Bonafos ve ark. (1995) ise 16. günden sonra gebe olmayan hayvanlarda homojenitenin gebe olanlara oranla daha hızlı bir şekilde azaldığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada ise bu azalma eğiliminin gebe hayvanlarda gebe olmayanlara kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tespit edilen bu farklılığın, diğer çalışmalarda gözlem sırasında endometriyal katın tam olarak değerlendirilememesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte sunulan çalışmadan farklı olarak Bonafos ve ark. (1995) gebe ve gebe olmayan hayvanlarda tohumlama sonrasında 4. güne kadar homojenitede artış eğilimi olduğunu, 4 – 16. günler arasında ise önemli bir değişim olmadığını belirlemişlerdir.

Bonafos ve ark. (1995) elde ettikleri sonuçların siklus boyunca ve erken gebelik döneminde şekillenen endometriyal ödem değişiklikleri sonucunda oluşmuş olabileceğini belirtmişlerdir.

Uterus endometriyumu gebeliğin oluşması ve devamlılığı için maternal doku ve konseptus arasındaki erken iletişimin sağlanmasında merkezi bir rol alır. Uterus epitelinde, steroid hormonlar, sitokinler, büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri tarafından düzenlenen dinamik değişimler olur. Bu faktörler, uterus luminal epitelyumunun gelişmekte olan konseptusa karşı duyarlılığını sağlamaya yardımcı olur. Ayrıca histiyotrof sekresyonu ile stromal hücreler için gerekli olan uterusun glandular epitelyumunun farklı işlevlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Forde ve ark. 2011b).

Gebelikte, özellikle konsepsiyon bölgelerinde, plazma P<sub>4</sub> konsantrasyonuna bağlı damarlaşma ve kan akımındaki belirgin artış uterusu gevşemeye neden olur, bunun sonucunda ise HOM düşüş ve CON'ta da artış şekillenebilir (Schmauder ve ark. 2008, Cengiz ve ark. 2014).

Sunulan çalışmaya benzer şekilde Cengiz ve ark. (2017) yapmış oldukları çalışmada bilgisayar destekli görüntü analiz programlarının (erken endometriyal OD değerleri) implantasyon sürecinin başlangıcının değerlendirilmesi için kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yürütülen çalışmada tohumlama sonrası 4. günde



MGL'nin gebe olan ineklerde gebe olmayanlara kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sunulan çalışmada kan veya sütte P<sub>4</sub> ölçümü yapılmamış olmasına rağmen MGL parametresindeki bu yüksekliğin süt P<sub>4</sub> konsantrasyonuna bağlı olabileceği düşünülmektedir. Progesteron, embriyonun büyümesi, gelişmesi ve yaşayabilirliğini etkileyen uterus içi birçok moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik etkileşimi kontrol eder (Spencer ve Bazer 2004). Progesteron, uterus sekresyonunun miktarının değişiminde, embriyo gelişiminde ve embriyonun IFN $\tau$  üretiminde önemli bir rol oynar (Morris ve Diskin 2008). Bunlarla birlikte P<sub>4</sub>, stroma veya endometriyal P<sub>4</sub> reseptörlerine bağlanarak, protein üretimi için (retinol bağlayıcı protein ve folat bağlayıcı protein) gen ekspresyonunda değişikliklerin olması ve iyon, aminoasit, metabolitlerin uterus endometriyumuna geçişi için permeabilitenin artması gibi birçok olay zincirini başlatmaktadır (Revelli ve ark. 1998, Duras ve ark. 2005). Ayrıca steroid hormonlar uterus ve oviduktteki salgı aktivitesini düzenlerler. Stronge ve ark. (2005) tohumlama sonrası 4. günde süt P<sub>4</sub> konsantrasyonu ile embriyo yaşama ihtimali arasında negatif ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Tohumlama sonrası 4. günde yüksek P<sub>4</sub> konsantrasyonunun ilerlemiş veya asenkron uterus ortamı oluşmasına ve embriyonun yaşama ihtimalinin azalmasına neden olduğu belirtilmiştir.

Bu sonuçlara paralel olarak Cengiz ve ark. (2017)'da tohumlama sonrası 4. günde OD değerlerinin gebe olan ineklerde daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu dönemde meydana gelen ekotektür değişikliklerinin östrojen konsantrasyonunun azalması ile östrusun bitişine ve endometriyal katta metöstrus kanaması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu dönemde başarılı bir fertilizasyonun sağlanması durumunda embriyonik gelişim de başlar (Cengiz ve ark. 2017).

Bertmann (2005) yapmış olduğu çalışmada uterus endometriyumundaki homojenite değişikliklerinin sunulan çalışmaya benzer şekilde gebeliğin 5. gününde istatistiksel açıdan önemli bulmuştur.

Sunulan çalışmada da Cengiz ve ark. (2017) ve Bertmann (2005)'in çalışmalarına benzer şekilde tohumlama sonrası 4. günde yapılan duyarlılık ve özgüllük testleri sonucunda MGL, HOM ve CON değerlerinin gebe olmayan ineklerin tespitinde % 80'in üzerinde duyarlılığa sahip olduğu belirlendi.

Bertmann (2005)'da yürütmüş olduğu çalışmada gebeliğin 11. gününde blastosistin uzamaya başlamasıyla gri değerlerde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Daha sonra 11. gün ile 13. gün arasında da gri değerlerde istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p<0,05$ ) saptamıştır. Endometriyumun gri tonlarındaki bu değişimlerin glandular yapılarıdaki sekretorik veziküllerin artışına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca embriyo kaynaklı östrojen sentezine bağlı olarak artan vezikül sayısı ile intraluminal protein konsantrasyonlarında da artışlar gözlenmektedir. Bu değişimlere paralel olarak Cengiz ve ark. (2017) yapmış oldukları çalışmada OD değerlerinde 4 – 12. günler arasında düşme eğilimi saptamışlardır.

Sunulan tez çalışmasında tohumlama sonrası 4 – 12. günler arasında gebe hayvanlarda MGL'nin düşme eğilimi gösterdiği belirlendi. Bu düşme eğiliminin Hue ve ark. (2012)'nin belirttiği şekilde embriyonun fertilizasyon sonrası 4 – 5. günlerde oviduktan uterusu inmesi ve 8 – 10. günlerde zona pellusidadan sıyrılarak konseptus formunu almasıyla ilişkili olduğu düşünüldü. Ayrıca Kimmins ve MacLaren (2001)'nin de belirttiği gibi, gebeliğin 3 – 6. günlerinde uterus endometriyumundaki luminal epitelyumda artan  $P_4$  reseptör ekspresyonunun da ekotekstürü değiştirebileceği düşünülmektedir. Stronge ve ark. (2005) tohumlama sonrası 5 – 7. günlerde süt  $P_4$  konsantrasyonu ile embriyonun hayatta kalabilmesi arasında güçlü bir ilişkinin olduğunu belirtmişlerdir. Embriyo yaşayabilirliğinin en yüksek oranda olması için süt  $P_4$  konsantrasyonunun 5. günde 7,4 ng/ml, ortalama günde 4,7 ng/ml'lik bir artış göstererek 6 günde 13,2 ng/ml ve 7. günde 16,8 ng/ml olması beklenmektedir. Progesteronun uterus üzerine olan etkileri göz önüne alındığında sunulan çalışmada gebe ineklerde meydana gelen ekotekstür parametrelerindeki değişikliklerin bu çalışmaların sonuçlarıyla paralel olacağı düşünüldü.

Kauffold ve ark. (2005)'nin yapmış oldukları çalışmada sunulan çalışmaya benzer şekilde domuzlarda da ovulasyon sonrası 12. gündeki gebe hayvanların ultrasonografi görüntülerindeki gri değerlerde azalma ve sıklık hayvanlarda ise artma eğilimi tespit etmişlerdir. Bu değişimlerin sebebi tohumlama sonrası 11 – 12. günlerde domuz embriyoları tarafından salgılamaya başlayan  $E_2$ 'nin gebeliğin anne tarafından tanınması için gerekli olan en önemli sinyal olmasıdır. Tohumlama sonrası 11 – 12. günlerde yüksek olan intrauterin  $E_2$  seviyesi 13 – 14. günlerde azalırken 14.

günden sonra tekrar artmaya başlar. Buna bağlı olarak da endometriyumdaki östrojen reseptör sayısı 12. günde yükselir. Ayrıca domuzlarda tohumlama sonrası 12. günde uterus damarlarındaki genişlemeye bağlı olarak intrauterin sıvı miktarında artış ve ekojenitede ise azalma gözlenmektedir (Kauffold ve ark. 2005).

Yapılan çalışmada homojenite değerleri kıyaslandığında 4 – 12. günler arasında istatistiksel olarak farklılık olmamasına karşın, düşme eğilimi göstermektedir. Elde edilen sonuçlar Scully ve ark. (2015) 'nın sonuçlarıyla benzerlik göstermesine karşın, Bertmann (2005)'in elde ettiği bulgularda ise HOM değerlerinde yükselme eğilimi gözlenmiştir.

Sunulan tez çalışmasında MGL gebeliğin 16. gününde gebe olmayan hayvanlara oranla yüksek bulunmuştur. Gebeliğin anne tarafından tanındığı bu günlerde birçok biyolojik olaya bağlı olarak ekotekstür parametrelerinin de değişiklik göstermiş olabileceği düşünülmektedir.

Benzer şekilde Cengiz ve ark. (2017) yapmış oldukları çalışmalarında ineklerde tohumlama sonrası 15. günde OD değerlerinde, Cengiz ve ark. (2014) keçilerde de 17. günde, MGL değerinin arttığını belirtmiştir. Ekotekstürel parametrelerdeki bu artışların endometriyal bezlerden IFN $\tau$ , plasental laktojen, ve büyüme hormonu gibi maddelerin salgılanmasına (Spencer ve ark. 1999, Spencer ve ark. 2006), gebeliğin anne tarafından tanınması ve implantasyon sürecine (Spencer ve Bazer 2004), sinsityal plakların oluşmasına (Wooding ve ark. 1993) bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan çalışmada tohumlama sonrası 18 – 21. günler arasında HOM ve CON değerleri yönünden gebe ve gebe olmayan hayvanlar ile günler arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmedi. Benzer şekilde Scully ve ark. (2014), Scully ve ark. (2015)'nin HOM ve CON değerleri arasında istatistiksel farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Sunulan çalışmada 18 – 21. günler arasında MGL oranında gebe ve gebe olmayan hayvanlarda istatistiksel bir fark gözlenmedi. Ancak Cengiz ve ark. (2017)'nin yaptıkları çalışmada gebe ineklerde OD değerlerinde düşme eğilimi

dikkati çekmiştir. Bu farklılığın kullanılan OD programının daha hassas sonuçlar vermiş olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sunulan çalışmaya benzer şekilde Scully ve ark. (2015) tohumlama sonrası 16 ve 18. günlerde alınan ultrasonografik görüntüler uterus HOM açısından gebe ve gebe olmayan ineklerde farklılık olmadığı ( $p>0,05$ ) gözlemlenmiştir. Ancak CON değeri bu günlerde gebe düvelerde gebe olmayan düvelere göre fazla olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Gebe olmayan ve siklik düvelerde  $P_4$  seviyeleri 16. günden 18. güne kadar gebe düvelere oranla daha düşük seyretmiştir. Korpus luteum doku alanının ekotekstüründe de gebe, gebe olmayan ve siklik hayvanlar arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Sonuç olarak 16. günden itibaren gebe düvelerle karşılaştırıldığında gebe olmayan ve siklik düvelerde  $P_4$  konsantrasyonlarında farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Scully ve ark. 2015).

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ultrasonografik görüntülerden elde edilen ekotekstür parametreleri değerlendirildiğinde, MGL ve CON parametrelerinin tohumlamadan sonraki 4. günde gebe olan ineklerde, gebe olmayan ineklere göre daha yüksek seyrettiği ve HOM değerinin ise aynı günde gebe olmayan ineklerde gebe olanlara oranla belirgin olarak daha yüksek olduğu belirlendi.

Tohumlama sonrası 4. günde elde edilen veriler için yapılan duyarlılık ve özgüllük testi sonuçlarında göre MGL 57,11'den büyük, HOM 0,083'ten küçük ve CON değeri de 47,59'dan büyük olan ineklerin gebe olma ihtimalinin yüksek olabileceği (duyarlılık oranı sırasıyla 87,9/81,8 ve 84,8) kanısına varıldı.

İneklerde tohumlama sonrasında 4. günde alınan ultrasonografik görüntülerin bilgisayar destekli görüntü analiz programlarında değerlendirilmesi sonucunda MGL, HOM ve CON parametrelerinin durumuna göre gebe olmayan hayvanların belirlenebileceği düşünüldü.

Benzer şekilde yapılması planlanan çalışmalarda kan ve/veya sütte P<sub>4</sub> konsantrasyonunun da ekotekstür parametreleriyle birlikte değerlendirilmesiyle daha kesin sonuçlar elde edilebilmesini sağlayacaktır. Ekotekstürel analizlerin yapılabilmesi için ayrı bir bilgisayar programının gerekmesi yöntemin en önemli dezavantajıdır. Bu bağlamda ultrasonografi cihazlarına, ekotekstür analiz yazılımlarının eklenmesi halinde gebe olmayan ineklerin tespitinin daha hızlı olabileceği düşünülmektedir.

İneklerde yapılacak embriyo nakli işlemleri için taşıyıcı ineklerin uterus durumunun belirlenmesi amacıyla senkronizasyon sonrası 4. günde yapılacak ultrasonografi uygulamaları ile elde edilecek görüntülerde ekotekstür analizlerinin yapılması sonucunda hayvanları nakil için uygunluğunu belirlenebileceği kanısına varılmıştır. Böylece özellikle dondurulmuş embriyoların nakledilmesi sırasında gereksiz embriyo harcanmasından kaçınılarak karlılığın artırılabilceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak sunulan çalışmanın bulguları eşliğinde endometriyal ekotekstür parametrelerinin, uterusun gebelik için uygun bir ortama sahip olup olmadığı konusunda fikir verebileceği düşünülmektedir.



**KAYNAKLAR**

- Albers RM, Schnapper A, Beyerbach M, Boos A: Quantitative morphological changes in the interplacentomal wall of the gravid uterine horn of cattle during pregnancy. *Reprod Biol Endocrin*, 13(1):32, 2015.
- Arashiro E, Fonseca J, Siqueira L, Fernandes C, Brandao F, Oba E, Viana J: Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small Ruminant Research*, 94(1):176-179, 2010.
- Auldish MJ, Pyman MFS, Grainger C, Macmillan KL: Comparative Reproductive Performance and Early Lactation Productivity of Jersey × Holstein Cows in Predominantly Holstein Herds in a Pasture-Based Dairying System. *J Dairy Sci*, 90(10):4856-4862, 2007.
- Balhara AK, Gupta M, Singh S, Mohanty AK, Singh I: Early pregnancy diagnosis in bovines: current status and future directions. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Ball PJ, Peters AR: *Reproduction in cattle*. Blackwell, Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK, 2008.
- Baxter SJ, Ward WR: Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner. *Vet Rec*, 140(11):287-288, 1997.
- Bazer FW: Uterine protein secretions: relationship to development of the conceptus. *J Anim Sci*, 41, 1975.
- Bazer FW, Wu G, Spencer TE, Johnson GA, Burghardt RC, Bayless K: Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Mol Hum Reprod*, 16, 2010.
- Benbia S, Yahia M, Boutelis S, Cennaf A: Evaluation of the cytology and histology of uterus and cervix as predictors of estrous stages in ewes and dairy cows. In: *International Conference on Biology and Biomedicine*, 2013.
- Bertmann J.. Untersuchungen über den uterinen blutfluss und die endometriale echostruktur während der frühgravidität des rindes unter berücksichtigung der stickstoffmonoxid-synthase-mRNA-expression. *Doktora Tezi, Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians Universität München*, 2005
- Bicalho RC, Foditsch C, Gilbert R, Oikonomou G: The effect of sire predicted transmitting ability for production traits on fertility, survivability, and health of Holstein dairy cows. *Theriogenology*, 81(2):257-265, 2014.
- Bollwein H, Baumgartner U, Stolla R: Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. *Theriogenology*, 57(8):2053-2061, 2002.
- Bollwein H, Maierl J, Mayer R, Stolla R: Transrectal color doppler sonography of the A. uterina in cyclic mares. *Theriogenology*, 49(8):1483-1488, 1998.
- Bollwein H, Meyer H, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R: Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology*, 53(8):1541-1552, 2000.
- Bonafos L, Kot K, Ginther O: Physical characteristics of the uterus during the bovine estrous cycle and early pregnancy. *Theriogenology*, 43(4):713-721, 1995.

- Bott RC, Ashley RL, Henkes LE, Antoniazzi AQ, Bruemmer JE, Niswender GD, Bazer FW, Spencer TE, Smirnova NP, Anthony RV, Hansen TR: Uterine Vein Infusion of Interferon Tau (IFNT) Extends Luteal Life Span in Ewes. *Biol Reprod*, 82(4):725-735, 2010.
- Bowen JA, Burghardt RC: Cellular mechanisms of implantation in domestic farm animals. In: *Seminars in cell & developmental biology*, p 93-104. 2000.
- Bridges GA, Day ML, Geary TW, Cruppe LH: Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *J Anim Sci*, 91(7):3002-3013, 2013.
- Brooks K, Burns G, Spencer TE: Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. *J Anim Sci Biotechnol*, 5(1):53, 2014.
- Butler J, Hamilton W, Sasser R, Ruder C, Hass G, Williams R: Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol Reprod*, 26(5):925-933, 1982.
- Caraviello DZ, Weigel KA, Fricke PM, Wiltbank MC, Florent MJ, Cook NB, Nordlund KV, Zwald NR, Rawson CL: Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. *J Dairy Sci*, 89(12):4723-4735, 2006.
- Cavanagh AC: Identification of early pregnancy factor as chaperonin 10: implications for understanding its role. *Rev Reprod*, 1(1):28-32, 1996.
- Cengiz M, Çolak A, Hayırlı A, Cannazik O: Optical density changes in ultrasonographic images of the endometrium and corpus luteum in pregnant and cyclic cows. *Turk J Vet Anim Sci*, 41(1):18-24, 2017.
- Cengiz M, Kanca H, Salar S, Baştan A, Küçükbaşlan İ, Alkan H, Karakaş K, Yüksel O, Hayırlı A: Endometrial echotexture parameters in Turkish Saanen Goats (Akkeci) during oestrus and early pregnancy. *Anim Reprod Sci*, 146(1-2):27-33, 2014.
- Chan JPW, Huang TH, Chuang ST, Cheng FP, Fung HP, Chen CL, Mao CL: Quantitative echotexture analysis for prediction of ovulation in mares. *J Equine Vet Sci*, 23(9):397-402, 2003.
- Chavatte-Palmer P, Guillomot M: Comparative implantation and placentation. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 64(3):166-174, 2007.
- Choi Y, Johnson GA, Spencer TE, Bazer FW: Pregnancy and interferon tau regulate major histocompatibility complex class I and  $\beta$ 2-microglobulin expression in the ovine uterus. *Biol Reprod*, 68(5):1703-1710, 2003.
- Dash S, Chakravarty A, Singh A, Upadhyay A, Singh M, Yousuf S: Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review. *Vet World*, 9(3):235, 2016.
- Davies K, Bartlewski P, Pierson R, Rawlings N: Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: a comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Anim Reprod Sci*, 96(1):165-175, 2006.
- de Ramos MS, Torres EB, Rayos AA, Acorda JA, Valdez CA: Uterine and embryonic changes from days 20 to 90 of gestation observed through ultrasonography in locally raised holstein-sahiwal dairy cows (Abstract). *Philippine Journal of Veterinary Medicine* 47(1) 2010.
- Diskin M, Morris D: Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim*, 43(2):260-267, 2008.



- Dorniak P, Welsh JTH, Bazer FW, Spencer TE: Cortisol and interferon tau regulation of endometrial function and conceptus development in female sheep. *Endocrinology*, 154(2):931-941, 2013.
- Duras M, Mlynarczuk J, Kotwica J: Non-genomic effect of steroids on oxytocin-stimulated intracellular mobilization of calcium and on prostaglandin F2 $\alpha$  and E2 secretion from bovine endometrial cells. *Prostag Oth Lipid M*, 76(1):105-116. 2005.
- Eckert J, Niemann H: mRNA expression of leukaemia inhibitory factor (LIF) and its receptor subunits glycoprotein 130 and LIF-receptor-beta in bovine embryos derived in vitro or in vivo. *Molecular Human Reproduction*, 4(10):957-965, 1998.
- Eley R, Thatcher W, Bazer F: Luteolytic effect of oestrone sulphate on cyclic beef heifers. *J Reprod Fertil*, 55(1):191-193, 1979.
- Erdoğan G, Küçük N, Kanca H, Aksoy M: In vivo and in vitro assessment of ovarian echotexture through computer assisted real time ultrasonography in bitches. *Ankara Üniv Vet Fak*, 64(3):171-176, 2017.
- Espejel MC, Medrano A: Histological cyclic endometrial changes in dairy cows: an overview. *Dairy Vet Sci*, 2(1):3. 2017.
- Filant J, Spencer TE: Uterine glands: biological roles in conceptus implantation, uterine receptivity, and decidualization. *The International journal of developmental biology*, 58:107, 2014.
- Forde N, Bazer FW, Spencer TE, Lonergan P: 'Conceptualizing' the endometrium: Identification of Conceptus-derived proteins during early pregnancy in cattle. *Biol Reprod*, 92(6):156, 2015.
- Forde N, Beltman ME, Duffy GB, Duffy P, Mehta JP, Ó'Gaora P, Roche JF, Lonergan P, Crowe MA: Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biol Reprod*, 84(2):266-278, 2011a.
- Forde N, Carter F, Fair T, Crowe MA, Evans ACO, Spencer TE, Bazer FW, McBride R, Boland MP, O'Gaora P, Lonergan P, Roche JF: Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biol Reprod*, 81(4):784-794, 2009.
- Forde N, Carter F, Spencer T, Bazer F, Sandra O, Mansouri-Attia N, Okumu L, McGettigan P, Mehta J, McBride R. Conceptus-induced changes in the endometrial transcriptome: how soon does the cow know she is pregnant? *Biol Reprod*, 85(1):144-156, 2011b.
- Forde N, Lonergan P: Transcriptomic analysis of the bovine endometrium: what is required to establish uterine receptivity to implantation in cattle? *J Reprod Dev*, 58: 189-195, 2012.
- Fricke P. Scanning the future—Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85(8):1918-1926, 2002.
- Garra BS, Krasner BH, Horii SC, Ascher S, Mun SK, Zeman RK: Improving the distinction between benign and malignant breast lesions: the value of sonographic texture analysis. *Ultrasonic Imaging* 15(4):267-285, 1993.
- Gastal E, Donadeu F, Gastal M, Ginther O: Echotextural changes in the follicular wall during follicle deviation in mares. *Theriogenology*, 52(5):803-814, 1999.
- Gastal EL, Gastal MO, Ginther OJ: The suitability of echotexture characteristics of the follicular wall for identifying the optimal breeding day in mares. *Theriogenology*, 50(7):1025-1038, 1998.

- Gharib-Hamrouche N, Chene N, Guillomot M, Martal J: Localization and characterization of EGF/TGF- $\alpha$  receptors on peri-implantation trophoblast in sheep. *J Reprod Fertil*, 98(2):385-392, 1993.
- Gifford C, Racicot K, Clark D, Austin K, Hansen T, Lucy M, Davies C, Ott T: Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. *J Dairy Sci*, 90(1):274-280, 2007.
- Ginther O, Utt MD: Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *J Equine Vet Sci*, 24(12):516-526, 2004.
- Ginther O J: Ultrasonic imaging and animal reproduction. Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin. p. 105–128. 1998.
- Ginther OJ: How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology*, 81(1):112-125, 2014.
- Górna K, Zaborowicz M, Jaśkowski BM, Idziaszek P, Okoń P, Boniecki P, Przybył J: Use of neuron image analysis to build classification model of corpora lutea of domestic cattle. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 61(3): 162-166, 2016.
- Gray CA, Abbey CA, Beremand PD, Choi Y, Farmer JL, Adelson DL, Thomas TL, Bazer FW, Spencer TE: Identification of endometrial genes regulated by early pregnancy, progesterone, and interferon tau in the ovine uterus. *Biol Reprod*, 74(2):383-394, 2006.
- Green JC, Okamura CS, Poock SE, Lucy M. C: Measurement of interferon-tau (IFN- $\tau$ ) stimulated gene expression in blood leukocytes for pregnancy diagnosis within 18–20d after insemination in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*, 121(1):24-33, 2010.
- Griffin P, Ginther O: Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J Anim Sci*, 70(3):953-972, 1992.
- Grohn YT, Rajala-Schultz PJ: Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 60:605-614, 2000.
- Han H, Austin KJ, Rempel LA, Hansen TR: Low blood ISG15 mRNA and progesterone levels are predictive of non-pregnant dairy cows. *J Endocrinol*, 191(2):505-512, 2006.
- Heins B, Hansen L, Seykora A, Johnson D, Linn J, Romano J, Hazel A: Crossbreds of Jersey $\times$  Holstein compared with pure Holsteins for production, fertility, and body and udder measurements during first lactation. *J Dairy Sci*, 91(3):1270-1278, 2008.
- Hermes R, Hildebrandt TB, Göritz F, Jewgenow K, Lengwinat T, Hofmann RR: Ultrasonography of the ovaries and uterus and grey scale analysis of the endometrium during embryonic diapause in European roe deer. *Acta Theriol*, 45(4):559-572, 2000.
- Herzog K, Bollwein H: Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reprod Domest Anim*, 42(s2):51-58, 2007.
- Honnens A, Voss C, Herzog K, Niemann H, Rath D, Bollwein H. Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. *Theriogenology*, 70(7):1048-1056, 2008.
- Hue I, Degrelle SA, Turenne N: Conceptus elongation in cattle: Genes, models and questions. *Anim Reprod Sci*, 134(1):19-28, 2012.

- Hugentobler SA, Diskin MG, Leese HJ, Humpherson PG, Watson T, Sreenan JM, Morris DG: Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma during the estrous cycle in the bovine. *Mol Reprod Dev*, 74(4):445-454, 2007a.
- Hugentobler SA, Humpherson PG, Leese HJ, Sreenan JM, Morris DG: Energy substrates in bovine oviduct and uterine fluid and blood plasma during the oestrous cycle. *Mol Reprod Dev*, 75(3):496-503, 2008.
- Hugentobler SA, Morris DG, Sreenan JM, Diskin MG: Ion concentrations in oviduct and uterine fluid and blood serum during the estrous cycle in the bovine. *Theriogenology*, 68(4):538-548, 2007b.
- Humblot P, Camous S, Martal J, Charlery J, Jeanguyot N, Thibier M, Sasser R: Pregnancy-specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J Reprod Fertil*, 83(1):215-223, 1988.
- Kähn W: Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction. *Anim Reprod Sci*, 28(1-4):1-10, 1992.
- Kasimanickam R, Duffield T, Foster R, Gartley C, Leslie K, Walton J, Johnson W: Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1):9-23, 2004.
- Kastelic J, Curran S, Ginther O: Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology*, 31(4):813-820, 1989.
- Kauffold J, Richter A, Sobiraj A: Investigations into the appropriateness of the ultrasonographically ascertained uterine weight and the uterine echotexture for the prognosis of fertility in the female pig. *Tieraerztl Prax G N*, 33(3):175-180, 2005.
- Kauffold J, von dem Bussche B, Failing K, Wehrend A, Wendt M: Use of B-mode ultrasound and grey-scale analysis to study uterine echogenicity in the pig. *J Reprod Develop*, 56(4):444-448, 2010.
- Kaya S, Kaçar C, Polat B, Çolak A, Kaya D, Gürcan İS, Bollwein H, Aslan S: Association of luteal blood flow with follicular size, serum estrogen and progesterone concentrations, and the inducibility of luteolysis by PGF<sub>2</sub> $\alpha$  in dairy cows. *Theriogenology*, 87:167-172, 2017.
- Kimmins S, MacLaren L: Oestrous cycle and pregnancy effects on the distribution of oestrogen and progesterone receptors in bovine endometrium. *Placenta*, 22(8-9):742-748, 2001.
- Knight C, Beever D, Sorensen A: Metabolic loads to be expected from different genotypes under different systems. *Bsas Occasional Publication*, 27-36, 2000.
- Knob DA, Alessio DRM, Neto AT, Mozzaquatro FD: Reproductive performance and survival of Holstein and Holstein x Simmental crossbred cows. *Trop Anim Health Pro*, 48(7):1409-1413, 2016.
- Kot K, Ginther O: Ultrasonic characterization of ovulatory follicular evacuation and luteal development in heifers. *J Reprod Fertil*, 115(1):39-43, 1999.
- Küçükaslan İ: Kronik endometritisli ineklerde lotagen® uygulaması sonrası endometriyumdaki ekostrüktür değişikliklerinin belirlenmesi. *Doktora, Ankara Üniversitesi, Ankara*. 2010.
- Küçükaslan İ, Kaya D, Emre B, Bollwein H, Özyurtlu N, Mülazımoğlu SB, Aslan S: Evaluation of endometrial echotexture and cervical cytology in cows during and after treatment of endometritis. *Tieraerztl Prax G N*, 42(6):343-350, 2014.

- Lefebvre F, Meunier M, Thibault F, Laugier P, Berger G: Computerized ultrasound B-scan characterization of breast nodules. *Ultrasound Med Biol* 26(9):1421-1428, 2000.
- Lopez-Villalobos N, Garrick DJ, Blair HT, Holmes C W: Possible effects of 25 years of selection and crossbreeding on the genetic merit and productivity of New Zealand dairy cattle. *J Dairy Sci*, 83(1):154-163, 2000.
- Lucy MC: ADSA Foundation Scholar Award - Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J Dairy Sci*, 84(6):1277-1293, 2001a.
- Lucy MC: Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci*, 84(6):1277-1293, 2001b.
- Maillo V, Gaora PÓ, Forde N, Besenfelder U, Havlicek V, Burns GW, Spencer TE, Gutierrez-Adan A, Lonergan P, Rizos D: Oviduct-embryo interactions in cattle: two-way traffic or a one-way street. *Biol Reprod*, 92(6):144, 2015.
- Mccaughey WJ: Pregnancy Diagnosis in Cattle by Measuring Vaginal Electrical-Resistance. *Vet Res Commun*, 5(1):85-90, 1981.
- Medan MS, Abd El-Aty AM: Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. *J Adv Res*, 1(2):123-128, 2010.
- Miller DL: Safety assurance in obstetrical ultrasound. In: *Seminars in Ultrasound, CT and MRI*. p 156-164. 2008.
- Miller RH, Norman HD, Kuhn MT, Clay JS, Hutchison JL: Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. *J Dairy Sci*, 90(3):1594-1606, 2007.
- Miyamoto Y, Skarzynski DJ, Okuda K: Is tumor necrosis factor  $\alpha$  a trigger for the initiation of endometrial prostaglandin f<sub>2</sub> $\alpha$  release at luteolysis in cattle? *Biol Reprod*, 62(5):1109-1115, 2000.
- Moreira FC, Risco C, Pires M, Ambrose D, Drost M, DeLorenzo M, Thatcher WW: The Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology*, 53 (6): 1305-1319, 2000.
- Morris D, M Diskin: Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*, 2(8):1112-1119, 2008.
- Mülazımoğlu SB, Beceriklisoy HB, Schafer-Somi S, Kaya M, Bumin A, Özenc E, Gültiken N, Kanca H, Günen MZ, Kutsal O, Emre B, Evangelos K, Aslan S: B-mode echotexture analysis and color doppler sonography in canine mammary tumors. *Kafkas Univ Vet Fak*, 22(6):961-969, 2016.
- Ohtani S, Okuda K, Nishimura K, Mohri S: Histological changes in bovine endometrium during the estrous cycle. *Theriogenology*, 39(5):1033-1042. 1993.
- Oliveira JOF, Henkes LE, Ashley RL, Purcell SH, Smirnova NP, Veeramachaneni DNR, Anthony RV, Hansen TR: Expression of interferon (IFN)-stimulated genes in extrauterine tissues during early pregnancy in sheep is the consequence of endocrine IFN- $\tau$  release from the uterine vein. *Endocrinology*, 149(3):1252-1259, 2008.
- Oshima K, Watanabe H, Yoshihara K, Kojima T, Dochi O, Takenouchi N, Fukushima M, Komatsu M: Gene expression of leukemia inhibitory factor (LIF) and macrophage colony stimulating factor (M-CSF) in bovine endometrium during early pregnancy. *Theriogenology*, 60(7):1217-1226, 2003.

- Ownby C. Gross Anatomy. 2002.  
<https://instruction.cvhs.okstate.edu/Histology/HistologyReference/HRFemaleRS.htm>.  
 22.09.2017
- Öcal H, Doğan H, Saat N, Aydın M: Progesteron, progestinler ve antiprogestinler. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 1(2):60-86, 2015.
- Padua MB, Hansen PJ: Evolution and function of the uterine serpins (SERPINA14). *Am J Reprod Immunol*, 64(4):265-274, 2010.
- Pierson R, Adams G: Computer-assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: strange bedfellows. *Theriogenology*, 43(1):105-112, 1995.
- Pierson R, Ginther O: Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *J Am vet med Assoc*, 190(8):995-1001, 1987.
- Pieterse M, Szenci O, Willemse A, Bajcsy C, Dieleman S, Taverne M: Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, 33(3):697-707, 1990.
- Polat B, Cengiz M, Cannazik O, Çolak A, Oruç E, Altun S, Salar S, Bastan A: Endometrial echotexture variables in postpartum cows with subclinical endometritis. *Anim Reprod Sci*, 155:50-55, 2015.
- Raeth U, Schlaps D, Limberg B, Zuna I, Lorenz A, Van Kaick G, Lorenz WJ, Kommerell B: Diagnostic accuracy of computerized B-scan texture analysis and conventional ultrasonography in diffuse parenchymal and malignant liver disease. *J Clin Ultrasound*, 13(2):87-99, 1985.
- Ramsoondar JJ, Christopherson RJ, Guilbert LJ, Dixon WT, Ghahary A, Ellis S, Wegmann TG, Piedrahita JA: Lack of class I major histocompatibility antigens on trophoblast of periimplantation blastocysts and term placenta in the pig. *Bio Reprod*, 60(2):387-397, 1999.
- Ravagnolo O, Misztal I: Effect of heat stress on nonreturn rate in Holsteins: fixed-model analyses. *J Dairy Sci*, 85(11):3101-3106, 2002.
- Revelli A, Massobrio M, Tesarik J: Nongenomic actions of steroid hormones in reproductive tissues. *Endoc Rev*, 19(1):3-17, 1998.
- Ribadu AY, Nakao T: Bovine reproductive ultrasonography: a review. *J Reprod Develop*, 45(1):13-28, 1999.
- Robertson H, King G: Conjugated and unconjugated oestrogens in fetal and maternal fluids of the cow throughout pregnancy. *J Reprod Fertil*, 55(2):463-470, 1979.
- Rodriguez-Martinez H, Hultgren J, Båge R, Bergqvist A, Svensson C, Bergsten C, Lidfors L, Gunnarsson S, Algers B, Emanuelson U: Reproductive performance in high-producing dairy cows: can we sustain it under current practice. *IVIS Reviews in veterinary Medicine*, 1-23, 2008.
- Romano JE: Early pregnancy diagnosis and embryo/fetus mortality in cattle, Texas A&M University. 2004.
- Romano JE, Larson JE: Accuracy of pregnancy specific protein-B test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Theriogenology*, 74(6):932-939, 2010.

- Romano JE, Thompson JA, Forrest DW, Westhusin ME, Tomaszewski MA, Kraemer DC: Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology*, 66(4):1034-1041, 2006.
- Romano JE, Thompson JA, Kraemer DC, Westhusin ME, Forrest DW, Tomaszewski MA: Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. *Theriogenology*, 67(3):486-493, 2007.
- Santos JEP, Juchem SO, Aoki Cerri R, Galvão K, Chebel R, Thatcher WW, Dei CS, Bilby C: Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, 87 (4): 868-881, 2004.
- SAS S: User's Guide: Statistics (Version 9th.) Statistical Analysis System Institute Inc. Cary, NC, USA, 2002.
- Schallenberger E, Schams D, Bullermann B, Walters D: Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during prostaglandin-induced regression of the corpus luteum in the cow. *J Reprod Fertil*, 71(2):493-501, 1984.
- Schlafer D, Miller R: Female genital system. In: M. Maxie, editor, Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals. Elsevier Saunders Ltd. p. 466 - 470, 2007.
- Schmauder S, Weber F, Kiossis E, Bollwein H: Cyclic changes in endometrial echotexture of cows using a computer-assisted program for the analysis of first- and second-order grey level statistics of B-Mode ultrasound images. *Anim Reprod Sci*, 106(1-2):153-161, 2008.
- Schüller LK, Burfeind O, Heuwieser W: Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology*, 81(8):1050-1057, 2014.
- Scully S, Butler S, Kelly A, Evans A, Lonergan P, Crowe M: Early pregnancy diagnosis on days 18 to 21 postinsemination using high-resolution imaging in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 97(6):3542-3557, 2014.
- Scully S, Evans ACO, Carter F, Duffy R, Lonergan P, Crowe MA: Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. *Theriogenology*, 83(3):449-458, 2015.
- Senger PL: Pathways to pregnancy and parturition. Current Conceptions, Inc., 1615 NE Eastgate Blvd. 1997.
- Sørensen AC, Lawlor T, Ruiz F: A survey on fertility on the Holstein populations of the world. In: Proceeding of International Conference: Fertility in Dairy Cows Bridging the Gaps, 2007.
- Spencer TE, Bazer FW: Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*, 2:49, 2004
- Spencer TE, Gray A, Johnson GA, Taylor KM, Gertler A, Gootwine E, Ott TL, Bazer FW: Effects of recombinant ovine interferon tau, placental lactogen, and growth hormone on the ovine uterus. *Biol Reprod*, 61(6):1409-1418, 1999.
- Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, Burghardt RC: Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*, 128(6):657-668, 2004.
- Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, Burghardt RC, Palmarini M: Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reprod Fert Develop*, 19(1):65-78, 2006.

- Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, Burghardt RC, Palmarini M: Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reprod Fertil Dev*, 19 (1): 65-78, 192007.
- Spencer TE, Sandra O, Wolf E: Genes involved in conceptus-endometrial interactions in ruminants: insights from reductionism and thoughts on holistic approaches. *Reproduction*, 135, 2008a.
- Spencer TE, Sandra O, Wolf E: Genes involved in conceptus–endometrial interactions in ruminants: insights from reductionism and thoughts on holistic approaches. *Reproduction*, 135(2):165-179. 2008b.
- Stronge A, Sreenan J, Diskin M, Mee J, Kenny D, Morris D: Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, 64(5):1212-1224, 2005.
- Tenhagen BA, Drillich M, Surholt R, Heuwieser W: Comparison of timed AI after synchronized ovulation to AI at estrus: Reproductive and economic considerations. *J Dairy Sci*, 87(1):85-94, 2004.
- Thiruvenkadan A, Panneerselvam S, Rajendran R, Murali N: Analysis on the productive and reproductive traits of Murrah buffalo cows maintained in the coastal region of India. *Applied Animal Husbandry and Rural Development*, 3(1):1-5, 2010.
- Tom JW, Pierson RA, Adams GP: Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology*, 49(7):1345-1352, 1998.
- Turner JL: Reproductive tract anatomy and physiology of the cow. New Mexico State University, Cooperative Extension Service, College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences. 2014.
- Veerkamp R, Oldenbroek JK, Van Der Gaast HJ, Van der Werf JH: Genetic correlation between days until start of luteal activity and milk yield, energy balance, and live weights. *J Dairy Sci*, 83 (3): 577-583, 2000.
- Wang C, Robinson R, Flint A, Mann G: Quantitative analysis of changes in endometrial gland morphology during the bovine oestrous cycle and their association with progesterone levels. *Reproduction*, 134(2):365-371, 2007.
- Wathes DC, Clempson AM, Pollott GE: Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. *Reprod Fert Develop*, 25(1):48-61, 2012.
- Wiltbank MC, Baez GM, Garcia-Guerra A, Toledo MZ, Monteiro PLJ, Melo LF, Ochoa JC, Santos JEP, Sartori R: Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 86(1):239-253, 2016.
- Windig J, Calus M, Veerkamp R: Influence of herd environment on health and fertility and their relationship with milk production. *J Dairy Sci*, 88 (1): 335-347, 2005.
- Windig JJ, Calus MPL, Beerda B, Veerkamp RF: Genetic correlations between milk production and health and fertility depending on herd environment. *J Dairy Sci*, 89(5):1765-1775, 2006.
- Wooding F, Hobbs T, Morgan G, Heap R, Flint A: Cellular dynamics of growth in sheep and goat synepitheliochorial placentomes: an autoradiographic study. *J Reprod Fert*, 98(1):275-283, 1993.
- Xie S, Low BG, Nagel RJ, Kramer KK, Anthony RV, Zoli AP, Beckers JF, Roberts RM: Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive

members of the aspartic proteinase family. Proc Natl Acad Sci U S A, 88(22):10247-10251, 1991.

Yamanaka M, Amano T, Kudo T: Effect of the presence period of bovine leukemia inhibitory factor in culture medium on the development of in vitro fertilized bovine embryos. Nihon Chikusan Gakk, 72(4):285-290, 2001.

Youngquist RS, Threlfall WR: Current Therapy in Large Animal Theriogenology-E-Book. Elsevier Health Sciences. 2006.





## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı Orçun  
Soyadı CANNAZİK  
Doğum Yeri Erzurum  
Doğum Tarihi 19.09.1986  
Adres Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji  
Anabilim Dalı  
Tel 0442 231 71 40  
e-posta Adresi ocannazik@atauni.edu.tr

### II- Eğitim Bilgileri

İlkokul Atatürk İlkokulu 1992 – 1997  
Ortaokul Erzurum Anadolu Lisesi 1997 – 2001  
Lise Erzurum Anadolu Lisesi 2001 – 2004  
Üniversite Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 2005 – 2010

### III- Bilimsel İlgi Alanları

#### Yayınlar

1. **Cannazik, O.**, Polat, B.: Kök hücre ve veteriner hekimlikte uygulama alanları. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 9(3): 198-205, 2014.
2. Polat, B., Çolak, A., Cengiz, M., **Cannazik, O.**, HAYIRLI A.: Breed, parity, and cycle season effects on life-time reproduction in bitches: a retrospective study. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 39 (5): 543-549, 2015.
3. Polat, B., Cengiz, M., Çolak, A., **Cannazik, O.**: Comparison of intrauterine ozone and rifaximine treatment in cows with subclinical endometritis. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 21 (5): 773-776, 2015.

4. Polat, B., Cengiz, M., **Cannazik, O.**, Çolak, A., Oruç, E., Altun, S., Salar S., Baştan, A.: Endometrial echotexture variables in postpartum cows with subclinical endometritis. *Anim. Reprod. Sci.* 155: 50–55, 2015.
5. **Cannazik, O.**, Polat, B.: İneklerde Postpartum Dönemde Endometritisin Sınıflandırılması ve Tanımlanmasında Kullanılan Muayene Yöntemleri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 10(3): 198-204, 2015.
6. Cengiz, M., Kaynar, Ö., **Cannazik O.**, İleriturk, M., Cengiz, S., Hayırlı, A.: Sampling factors causing variability in milk constituents in early lactation cows. *Veterinari Medicina.* 60 (1): 6–15, 2015.
7. Oruç, E., Sağlam Y.S., Polat, B., Cengiz M., Çolak A., Altun, S., **Cannazik, O.**, Terim Kapakin K.A.: The evaluation of endometrial cytology in cows with acute and chronic endometritis. *Veterinarski Arhiv* 85 (2): 131-140, 2015.
8. Cengiz, M., Çolak, A., Hayırlı, A. **Cannazik, O.**: Optical density changes in ultrasonographic images of the endometrium and corpus luteum in pregnant and cyclic cows. *Turkish Journal of Veterinary Sciences.* 41: 18-24, 2017.

### Sözlü Sunumlar

1. **Cannazik O.**, Polat B., Cengiz M., Çolak A., Oruc E., Altun S., Salar S., Bastan A., Şaki L.: Postpartum subklinik endometritisli ineklerde endometrial ekotekstür değişiklikleri. *Türk Veteriner Jinekoloji Derneği VI. Ulusal Kongresi.* 15 – 18 Ekim 2015.
2. Cengiz, M., Çolak, A., Hayırlı, A., **Cannazik, O.**: Gebe ve siklik ineklerde endometriyum ve Korpus Luteumun ultrason görüntülerinde optik dansite değişiklikleri. *Türk Veteriner Jinekoloji Derneği VI. Ulusal Kongresi.* 15 – 18 Ekim 2015.
3. Polat B., Cengiz M., Çolak A., **Cannazik O.**, Şaki L.: Subklinik endometritisli ineklerde intrauterin ozon ve rifaksimin tedavisinin karşılaştırılması. *Türk Veteriner Jinekoloji Derneği VI. Ulusal Kongresi.* 15 – 18 Ekim 2015.

4. Okur, D.T., **Cannazik, O.**, İskender, A.T., Cebeci, A.İ., Cengiz M.: İneklerde postpartum dönemde bakteriyel eliminasyonun fertiliteye etkileri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.
5. Asghar, Chacher, M.F., **Cannazik, O.**, Cengiz M.: Postpartum dönemdeki sütü ineklerde mineral maddelerin fertilité üzerine etkisi: Derleme. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.

#### Poster Sunumları

1. Çolak A., Polat B., Cengiz S., **Cannazik O.**, Adıgüzel M.C.: Relation between bacteria and somatic cell count in cows milk. Days of veterinary medicine. 09 – 11 September 2011.
2. **Cannazik O.**, Cengiz M., Oruç E., Altun S., Doğan E. Siyah alaca bir buzağıda disefalus olgusu. Poster Sunum. V. Veteriner Doğum ve Jinekoloji Kongresi. 31 Ekim – 3 Kasım 2013.
3. Boyacı, D.T., Asghar, Chacher, M.F., **Cannazik, O.**, Çomaklı, S., Bolat, İ.: Bir tavşanda meme tümörü olgusu. VI. Veteriner Doğum ve Jinekoloji Kongresi. 15 – 18 Ekim 2017.
4. Polat, B., **Cannazik, O.**, Çolak A., Sağlam Y.S.: Endometriyal sitoloji ile ineklerde akut ve kronik endometritisin belirlenmesi. VI. Veteriner Doğum ve Jinekoloji Kongresi. 15 – 18 Ekim 2017.
5. İskender, A.T., **Cannazik, O.**, Okur, Asghar, Chacher, M.F., Çolak A.: Kedilerde östrus baskılamada progestagen ya da melatonin. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.
6. Okur, D.T., **Cannazik, O.**, İskender, A.T., Tohumcu, V., Çolak A.: Köpeklerde fetal yaşın ultrasonografik ölçümlerle belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.

7. **Cannazik, O.**, Okur, D.T., Asghar, Chacher, M.F., Altun, S., Çomaklı, S.: Bir köpekte transmissible venereal tümör olgusu. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.
8. **Cannazik, O.**, Okur, D.T., İskender, A.T., Polat, B.: İneklerde postpartum dönemdeki uterus enfeksiyonlarının tanısında kullanılan muayene yöntemleri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.
9. **Cannazik, O.**, İskender, A.T., Okur, D.T., Polat, B.: Veteriner hekimlikte kök hücre tedavisi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.
10. Tohumcu, V., Asghar, Chacher, M.F., Okur, D.T., İskender, A.T., **Cannazik, O.**, Cengiz, M.: Gebelik ilişkili glikoprotein (PAG) ölçümüne dayalı gebelik testlerinin reproduktif yönetimdeki yeri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi I. Uluslararası Katılımlı Öğrenci Kongresi. 18 – 20 Ekim 2017.