



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**İNEKLERDE OVARYUMLARIN FOLLİKÜLER
KİSTİK DEJENERASYONLARININ
ETİYOPATOGENEZİNDE
FOLLİKÜL İÇİ BAZI BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN
(GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I, IGF-II)
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

İbrahim Mert POLAT

**DOĞUM ve JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. M.Rifat VURAL**

2012- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNEKLERDE OVARYUMLARIN FOLLİKÜLER
KİSTİK DEJENERASYONLARININ
ETİYOPATOGENEZİNDE
FOLLİKÜL İÇİ BAZI BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN
(GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I, IGF-II)
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

İbrahim Mert POLAT

**DOĞUM ve JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. M.Rifat VURAL**

2012 ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Doğum ve Jinekoloji Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma , aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 28. 11. 2012



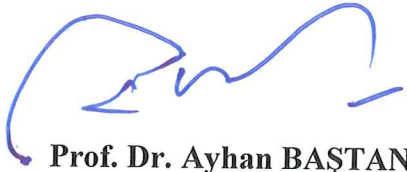
Prof . Dr. Şükrü KÜPLÜLÜ
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Arif ALTINTAŞ
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Rifat VURAL
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. Hakan KALENDER
Kırıkkale Üniversitesi

ÖNSÖZ

Süt ineği yetiştiriciliği dünyada olduğu gibi ülkemiz ekonomisi açısından da önem taşımaktadır. Süt ineğinin ekonomik katma değeri, laktasyon süresince inekten alınan süt ve her yıl alınması hedeflenen buzağı eldesidir. Bu iki temel fertilitite ve verim parametresine ulaşabilmenin yegane yolu ise ineğin doğum sonrası sağlıklı bir puerperal dönem geçirmesidir. Ekonomik ve fizyolojik sınırlar çerçevesinde gerçekleşmesi beklenen en önemli fertilitite parametresi ise doğum-tekrar gebe kalma aralığıdır. İneğin fertilititesinin bu parametreye en kısa ve sağlıklı koşullar altında ulaşabilmesini sağlamak veteriner hekimliğin önemli görevleri arasındadır. Doğum anı ve laktasyon ile başlayan, postpartum dönemi etkileyen bir dizi karmaşık ve birbiri ile yakın ilişkili çok sayıda faktör vardır. Postpartum süreçte sağlıklı östrusların ve düzenli ovaryum aktivitesinin başlamasını sağlayan faktörler dizisinin başında, ineğin genel metabolik durumu, uterus sağlığı ve düzenli ovulasyonların gerçekleşmesi gelmektedir. Postpartum sürece ve fertilitite parametrelerine etki eden ve günümüzde etiyolojisi henüz tam olarak açıklanamamış ovaryumların folliküler kistleri anovulatör yapılardır ve bu oluşumlar ovaryumda kalıcı halde varlıklarını sürdürerek doğum-yeniden gebe kalma aralığını uzatırlar. Kistik yapıların ortaya çıkış sürecinde postpartum dönemde anılan karmaşık ilişkilerin başında gelen ovaryum içi ve dışı düzenleyici mekanizmaları ve bunlara etki eden faktörlerin önemini özümsemek, siklik düzen içerisinde hipotalamus-hipofiz ve gonadal eksenindeki etkileşimleri ve ovaryum içi faktörleri açıklamak, kistik yapıların etiopatogenezlerinin ortaya konması adına önemli bir adım olacaktır.

Sunulan doktora tez çalışmasının planlanması ve yürütülmesine öncülük eden ve doktora eğitimim sırasında her zaman bana destek olan danışmanım Prof. Dr. Rifat VURAL'a, çalışma ve tez yazım süresince engin bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Şükrü KÜPLÜLÜ'ye, akademik hayatımın devam edebilmesi için bana doktora imkanı veren Doğum ve Jinekoloji Anabilim dalı öğretim üyelerine, çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için gerekli olan laboratuvar imkanlarını sunan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hilal KARAGÜL'e, tezin yazım aşamasında bilimsel katkıları ile bana destek olan Prof. Dr. Arif ALTINTAŞ'a, laboratuvar çalışmaları sırasında bilgilerini, desteğini ve dostluğunu esirgemeyen Dr. Mert PEKCAN'a, tez materyalinin sağlanması ve çalışmanın yürütülmesinde çiftlik imkanlarından faydalanmamı sağlayan değerli meslek büyüğüm Dr. Can BAKLACI'ya, lisans öğrenimim sırasında evcil hayvan reproduksiyonuna yönelmemi sağlayan ve bana bu yolda destek olan Doç. Dr. Hakan KALENDER'e, doktora eğitimim sırasında her zaman yanımda olan ve fedakarlıklarını esirgemeyen anneme ve sevgili eşim Evşen POLAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu doktora tezi, yanımda olamasa da, varlığını her an hissettiğim, rahmetli babam Merih POLAT'a adanmıştır.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
Resimler	x
1. GİRİŞ	1
1.1 İneklerde Doğum Sonrası Reprodüktif Dinamikler	1
1.2 Postpartum Süreçte Uterusun İnvolüsyonu, Sağlığı ve İmmunitesi	1
1.3 Süt İneklerinde Postpartum Süreçte Folliküler Dinamik ve Östrus Aktivitesi	8
1.4 Postpartum Dönemde Ovaryum Aktivitesi ve Folliküler Gelişimi Etkileyen Faktörler	11
1.5 Erken Postpartum Dönemde LH Salınım Sıklığını Etkileyen Faktörler	13
1.6 Preovulatör ve Dominant Follikülün Seçimi	15
1.7 Folliküler Sıvının Yapısı ve Fonksiyonu	18
1.8 Süt İneklerinde Ovaryumların Folliküler Kistleri	19
1.9 Kist Oluşum Hipotezleri	20
1.10 Folliküler Kistlerin Etiyolojisi	21
1.2.1 Transforming Growth Factor Beta Ailesi Proteinleri ve Ovaryumlardaki Etkileri	22
1.2.2 Büyüme ve Farklaşma Faktörü-9 (Growth and Differentiation Factor-9, GDF-9)	25
1.3 GATA Transkripsiyon Ailesi Proteinleri ve Ovaryum Fonksiyonlarındaki Rolü	26
1.4 İnsulin Benzeri Büyüme Faktörleri (Insulin Like Growth Factors)	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	33
2.1 Gereç	33

2.2	Yöntem	34
3.	BULGULAR	41
3.1	Postpartum Süreçte Serviks ve Korni Uteri İnvolüsyonu ve Ovaryum Folliküler Aktivite Bulguları	41
3.2	Kist ve Kontrol Gruplarında Postpartum Süreçte Vaginal Akıntı Bulguları ve Akıntı Skorları	66
3.3	Kist ve Kontrol Gruplarında Süt Verimleri Bulguları	69
3.4	Kist ve Kontrol Gruplarında İntrafolliküler IGF-I ve IGF-II Bulguları	70
3.5	Follikül Sıvısında GDF-9, GATA-4 ve GATA-6 Proteinlerinin Western Blot Bulguları ve Bantların Dansitometrik Olarak Değerlendirilmesi	70
4.	TARTIŞMA	76
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	88
	ÖZET	90
	SUMMARY	91
	KAYNAKLAR	92
	ÖZGEÇMİŞ	105

SİMGELER ve KISALTMALAR

$\bar{x} \pm S \bar{x}$	Ortalama ve Standart Hata
>	Büyüktür
<	Küçüktür
α	Alfa
β	Beta
®	Registered Mark
°C	Santigrad Derece
β -HBA	Beta Hidroksi Butirik Asit
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
AMH	Anti Mullerian Hormon
ATP	Adenozin Trifosfat
BMP	Bone Morphogenetic Protein
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
cm	Santimetre
DNA	Deoksiribonükleik Asit
E ₂	Östrojen
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon
G	Gauge
GDF-9	Büyüme ve Farklılaşma Faktörü-9
GH	Büyüme Hormonu
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
HCl	Hidroklorik Asit
Ig	İmmunglobulin
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGFBP	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Proteinini
IL	İnterlökin
L	Litre
LH	Lüteinleştirici Hormon
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
KL	Korpus Luteum
mA	Miliamper
MHz	Megahertz
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ng	Nanogram
nm	Nanometre

OPU	Ovum Pick Up
P₄	Progesteron
PGF₂α	Prostaglandin F ₂ Alfa
PK	Protein Kinaz
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Electroforezis
TBST	Tris Tamponlu Tuz-Tween
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNFα	Tümör Nekrosis Factor Alfa
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
VKS	Vücut Kondisyon Skoru

ŞEKİLLER

Şekil 1.1	Bazı TGF-Beta ailesi proteinlerinin ovaryum dokusundaki lokalizasyonları	24
Şekil 1.2	GATA proteinlerinin gonadal etkileşim yolları	27
Şekil 1.3	Folikülogenezis ve ovulasyon sürecinde IGF sisteminin görevleri	31
Şekil 1.4	İneklerde reproduktif eksende IGF-I'in etkileri	31
Şekil 2.1	Foliküler sıvı aspirasyonu demonstrasyonu	36
Şekil 3.1	Postpartum günlerde gebe kornu uteri involüsyon eğrisi	43
Şekil 3.2	Postpartum günlerde serviks uteri involüsyon eğrisi	43
Şekil 3.3	Postpartum 24. günde 2,5 cm ve üzeri çapta folliküllere sahip olgularda kistik yapıların gelişimi	56
Şekil 3.4	Postpartum 24. günde 2,5 cm ve daha düşük çaptaki folliküllere sahip olgularda kistik yapıların gelişimi	56
Şekil 3.5	Kist grubunda postpartum 24. günde çapı 2,5 cm üzerinde olan folliküler yapıların gelişim eğrileri	57
Şekil 3.6	Kist grubunda postpartum 24. günde çapı 2,5 cm 'nin altında olan folliküler yapıların gelişim eğrileri	58
Şekil 3.7	Farklı muayene günlerinde kist ve kontrol gruplarında follikül çapı değişimleri	65
Şekil 3.8	Kist grubunda posptartum süreçte vaginal akıntı bulguları	68
Şekil 3.9	Kontrol grubunda posptartum süreçte vaginal akıntı bulguları	68
Şekil 3.10	Kist ve kontrol gruplarında ortalama süt verimi değişimleri	69
Şekil 3.11	İntrafolliküler IGF-I düzeyleri	70
Şekil 3.12	Kist ve kontrol gruplarında GDF-9' a ait dansitometrik ölçüm bulguları	72
Şekil 3.13	Kist ve kontrol gruplarında GATA-4'ya ait dansitometrik ölçüm bulguları	73
Şekil 3.14	Kist ve kontrol gruplarında GATA-6'ya ait dansitometrik ölçüm bulguları	75

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1	GATA faktörlerinin steroidogenik dokularda potansiyel hedef genleri ve görevleri	28
Çizelge 2.1	Elektroforez ve western blot işlemlerinde kullanılan çözeltiler ve içerikleri	37
Çizelge 2.2	Western blot analizlerinde kullanılan primer ve sekonder antikorlar ve sulandırma oranları	38
Çizelge 3.1	Kornu uteri ve serviksin ultrasonografik ölçüm bulguları	42
Çizelge 3.2	Kist grubu postpartum 14. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	49
Çizelge 3.3	Kontrol grubu postpartum 14. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	49
Çizelge 3.4	Kist grubu postpartum 24. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	52
Çizelge 3.5	Kontrol grubu postpartum 24. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	53
Çizelge 3.6	Kist grubu postpartum 34. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	55
Çizelge 3.7	Kontrol grubu postpartum 34. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	59
Çizelge 3.8	Kist grubu postpartum 44. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	61
Çizelge 3.9	Kontrol grubu postpartum 44. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	62
Çizelge 3.10	Kist grubu postpartum 54. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	63
Çizelge 3.11	Kontrol grubu postpartum 54. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları	64
Çizelge 3.12	Postpartum süreçte kist ve kontrol grupları ortalama follikül sayıları	65
Çizelge 3.13	Kist ve kontrol gruplarında postpartum süreçte vaginal akıntı karakterleri ve skorları	66
Çizelge 3.14	Kist ve kontrol gruplarında postpartum süreçte süt verimi ortalamaları	69

RESİMLER

Resim 2.1	Vaginal akıntı skorlarının değerlendirmesinde kullanılan referans bulgular	35
Resim 3.1	Postpartum günlerde kist grubunda (olgu1) serviks uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları	44
Resim 3.2	Postpartum günlerde kontrol grubunda (olgu 3) serviks uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları	45
Resim 3.3	Postpartum günlerde kist grubunda (olgu 10) kornu uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları	46
Resim 3.4	Postpartum günlerde kontrol grubunda (olgu 7) kornu uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları	47
Resim 3.5	Postpartum 14. günde kist grubunda, ovaryumlarda belirlenen bazı yapılar	50
Resim 3.6	Postpartum 14. günde kontrol grubunda, ovaryumlarda belirlenen bazı yapılar	51
Resim 3.7	Postpartum 24. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı folliküler gelişimler	54
Resim 3.8	Postpartum 34. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı gelişimler	60
Resim 3.9	Postpartum 44. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı gelişimler	62
Resim 3.10	Postpartum 54. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı gelişimler	64
Resim 3.11	Kist ve kontrol gruplarında GDF-9 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 1-5; kontrol grubu: Olgu 1-5)	71
Resim 3.12	Kist ve kontrol gruplarında GDF-9 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 6-10; kontrol grubu: Olgu 6-10)	71
Resim 3.13	Kist ve kontrol gruplarında GATA-4 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 1-5; kontrol grubu: Olgu 1-5)	72
Resim 3.14	Kist ve kontrol gruplarında GATA-4 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 6-10; kontrol grubu: Olgu 6-10)	73
Resim 3.15	Kist ve kontrol gruplarında GATA-6 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 1-5; kontrol grubu: Olgu 1-5)	74
Resim 3.16	Kist ve kontrol gruplarında GATA-6 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 6-10; kontrol grubu: Olgu 6-10)	74

1. GİRİŞ

1.1. İneklerde Doğum Sonrası Reprodüktif Dinamikler

Puerperal dönem, doğum sonrası genital sistemin anatomik (yavru zarlarının atılması, uterus ve serviksin anatomik involüsyonu), histolojik (endometriyal rejenerasyon) ve fonksiyonel yönden (bakteriyel bulaşmanın yok edilmesi, ovaryum siklik aktivitesi ve folliküler dinamik) gebelik öncesi durumuna dönmesi için gereken süreçtir (Hafez, 1987; Kindahl ve ark., 1999). Puerperal periyod, erken, orta ve geç olmak üzere üç evreye ayrılır. Doğum anı ile başlayan ve ovaryumların gonadotropinlere cevap vermesine kadar geçen evre erken (ortalama doğum-postpartum ilk 14 günlük süreç), postpartum süreçte ilk ovulasyon ve luteal yapının oluşması; dolayısıyla ovaryumların gonadotropinlere verdiği yanıtın daha da arttığı dönem orta, postpartum ilk ovulasyon ile endometriyal rejenerasyonun tamamlandığı zamana kadar geçen süre ise geç puerperal dönem olarak sınıflandırılır (Arthur ve ark., 1982; Hoedemarker, 1998). Postpartum sürecin her evresi inek fertilitesi için önemli olmakla birlikte özellikle endokrinolojik sorunların yaşanabileceği orta puerperal dönem, ovaryum fonksiyonlarının siklik süreçteki gibi devam edebilmesi açısından önemlidir.

1.2. Postpartum Süreçte Uterusun İnvolüsyonu, Sağlığı ve İmmunitesi

Tanım olarak uterusun involüsyonu, gebelik süresince buzağı büyüklüğü ve plasental yapının varlığı ile hacmen ve fonksiyonel olarak değişen kornu, korpus ve serviks uterinin gebelik öncesi konumuna dönme sürecidir. İnvolüsyon, anatomik ve histolojik olarak iki aşamada gerçekleşirken, bu süreci etkileyen ve postpartum dönemde birbirleri ile bir bütün olarak çalışan mekanizmalara dikkat çekmek gerekir.

Anatomik involüsyonun büyük bir kısmının tamamlanması postpartum ilk birkaç günde güçlü myometriyal kasılmalar ile hızlı bir şekilde gerçekleşirken, uterusun tamamen apertura pelvis kranialis kaidesine yerleşme süresi postpartum 20-25. günlere kadar ulaşabilmektedir. İlk birkaç günlük süreçte uterusta bulunan fötomaternal sıvılar, plasenta ve diğer sıvılar (kan, mukus gibi) uterus kasılmaları ile mekanik olarak dışarı atılır. Anatomik involüsyonun gerçekleşmesinde en önemli faktörler, oksitosin (postpartum ilk 10-12 saatlik yüksek kontraktıl etki) ve prostaglandin F₂ alfa (PGF₂α) salınımlarıdır. Süt ineklerinde uterusun involüsyonun tamamlanması postpartum 26-52. günler arasında şekillenirken, etçi ırklarda 37-56. günlerde meydana gelmektedir. Yirmi ve yirmibeşinci günlerden sonra meydana gelen değişiklikler morfolojik olarak çok fark edilememektedir (Noakes, 2001).

Uterusun boyutları postpartum 4-9. günler arasında yavaş yavaş azalır. Bu dönemde gebelik geçirmiş kornunun çapı, normal postpartum süreç geçiren ineklerde 12-14 cm arasında değişmektedir. Sağlıklı hayvanlarda uterus kornularının çapı postpartum 25-30. günlerde 3-4 cm'ye gerilerken servikal çap postpartum 40. günde 5 cm'nin altındadır. Ancak serviks ve uterus involüsyonunun tamamlanması histolojik involüsyonun da tamamlanmasıyla birlikte yaklaşık postpartum 40-50. günleri bulur (Leslie, 1983).

LeBlanc (2008), uterus ve serviksin anatomik involüsyonunun birçok faktöre bağlı olarak değişim gösterdiğini belirtmektedir. Uterusun histolojik olarak involüsyonu ise daha uzun zaman almakta, 42-50. gün civarını bulmaktadır. Bununla birlikte uterus involüsyonu yaş, ırk, beslenme ve diğer bazı faktörlerden etkilenebilir ve bu nedenle involüsyondaki gecikme uterus enfeksiyonları için spesifik bir gösterge değildir (Fonseca ve ark., 1983).

Serviksin involüsyonu, uterustan daha yavaş gerçekleşir (Leslie, 1983; Noakes, 2001; Le Blanc, 2008). İneklerde normal postpartum süreçte serviks doğumdan bir

hafta sonra daralır. Doğumdan sonraki ilk üç gün içinde serviks bir elin sığabileceği düzeyde açıkken, postpartum yaklaşık 4-6. günde bu açıklık iki parmağın girebileceği düzeye geriler (Leslie, 1983; Noakes, 2001; Sheldon ve Dobson, 2004). Gier ve Marion (1968), serviksin ortalama eksternal çapını postpartum 2. günde 15 cm, 10. günde 9-11 cm, 30. günde 7-8 cm, 60. günde 5-6 cm olarak belirlemiştir.

İnek serviksi mukozal kıvrımlardan oluşan geçilmesi zor bir bariyerdir. Serviko-vaginal mukus ta mikroorganizmalara karşı fiziksel bir bariyer görevi görür. Sirküler ve longitudinal uterus kas katmanları bu fiziksel bariyere eşlik etmektedir (Bondurant, 1999). Doğum sırasındaki serviks dilatasyonu bakterilerin uterusu girmesine izin vermektedir. Postpartum 21 gün boyunca serviks klinik olarak dilate halde kalmasa da uterusu mikroorganizma invazyonlarına %90 oranında geçiş sağlamaktadır (Sheldon ve ark., 2006).

Postpartum 7 hafta boyunca uterus bakteriyel florası bulaşmaya ve etkene göre dalgalanmalar gösterir. Bu sürenin sonunda bakteriyel yükün ancak %9 oranında ortadan kaldırılmasının yapılabildiği bildirilmektedir (Sheldon ve ark., 2002). Devam eden bakteriyel kontaminasyon patolojik değişimlere ve yangısal yanıtın devam etmesine neden olarak uterus involusyonunun gecikmesine ve fertilité parametrelerinde ciddi aksamalara neden olmaktadır. Bakterilerin tipi ve kolonizasyonu enfeksiyonun şiddetini etkiler. Örneğin; *Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Prevotella* türleri birbirleriyle sinerjik etki göstererek daha şiddetli ve inatçı enfeksiyonlara neden olurlar (Sheldon ve ark., 2006).

Fusobacterium necrophorum uterus dokusuna invaze olur ve lökositik toksin üreterek fagositozu engeller. *Actinomyces pyogenes*; bu lökositik toksinle korunmak suretiyle büyüme faktörlerini ve katalaz üretimini artırarak *Fusobacterium*

necrophorum 'un gelişimi daha da hızlandırır (Williams ve ark., 2005). Vaginal akıntının şekli, yapısı ve kokusu; karışık irinli olmakla beraber bakterinin türüne ve bakteri yüküne göre değişiklik gösterir. Williams ve arkadaşları bir çalışmada (2005); *Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Proteus* türlerinin purulent veya mukopurulent vaginal akıntılardan sorumlu olduğu, *Escherichia coli* ve *Mannheimia haemolytica* etkenlerinin ise klinik olarak kötü kokulu akıntılardan izole edildiğini bildirmişlerdir (Williams ve ark., 2001).

Doğum sonrası uterustaki doku hasarı ve yangı sonrasında hepatositlerden çok hızlı bir şekilde akut faz proteinleri salınır. Kanda hızla artan oranlardaki bu proteinler postpartum 14. gün civarı bazal seviyelerine döner. Akut faz proteinleri yangısal reaksiyonlar sonucunda şekillenen doku yıkımının rejenerasyonunu hızlandırır (Sheldon ve ark., 2001). Postpartum 30 gün içinde uterus ve serviks uteri tam olarak involusyonunu tamamlar. Yeni doku modeli ve doku yenilenmesi artan hidroksipirolin ve PGF₂ alfa (PGF_{2α}) metabolitleri sayesinde gerçekleşir (Moraitis ve ark., 2004).

Plazminojen aktivatörleri, (plazminojeni plazmine çeviren) yangısal işlem süresince önemli rol oynarlar. Plazminojenler kan plazmasında yüksek miktarda bulunurlar ve yangısal yanıtın şiddetine göre inek uterusunda hızla artarlar (Moraitis ve ark., 2004). Postpartum 2. haftada, serum alfa-1 acid glikoprotein (orosomucoid) miktarı ineklerde azdır. Orosomucoidin Gram negatif etkenlere ve diğer toksik etkenlere karşı uterusu koruyucu etkisi vardır (Cairolı ve ark., 2006).

Uterus immunitesi hormonal değişimler ile paralel seyreder. Uterus enfeksiyonlarının şekillenmesinde ve bunların uzaklaştırılmasında steroid hormonların etkisi tartışılmazdır. Ancak bu etki siklusun değişik dönemlerinde farklı etkinliklerle kendini gösterir (Lewis ve Wulster-Radcliffe, 2006).

İnek uterusu östrusa evresinde diöstrus dönemine göre bakteriyel enfeksiyonlara karşı daha duyarlıdır (Sheldon ve Dobson, 2004). Östradiol'ün intrauterin kullanımı sonrası uterusun anaerobik bakterilerce kontaminasyonunda belirgin bir artış olduğu bildirilmiştir (Sheldon ve ark., 2002). Periparturient periyotta yüksek östradiol 17 β (E₂) derişiminde nötrofil fonksiyonları deprese olmaktadır (Lamote ve ark., 2006). Chacin ve ark. ise (1990), uterus polimorf nükleer lökositlerinin yüksek östrojen konsantrasyonundan etkilenmediğini ileri sürmüşlerdir. İn-vitro çalışmalar östradiol 17 β 'nın kemotaksisi, fagositozisi ve lökosit yaşamını olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Postpartum periyotta polimorf nükleer lökosit fonksiyonlarının olumsuz yönde etkilenmesi östradiol 17 β ve progesteron dalgalanmalarına bağlanmaktadır. Doğuma yakın zamandaki ve doğum sırasındaki bu dalgalanmalar östrojen reseptör ekspresyonunu etkilemektedir (Lamote ve ark., 2006).

Progesteronun ineklerde uterus enfeksiyonlarına predispozisyonu arttırdığı bilinmektedir (Lewis, 2003). İnek uterusu luteal yapının ve yüksek progesteron hormonu varlığında *Escherichia coli* ve *Actinomyces pyogenes* enfeksiyonlarına daha duyarlıdır (Del Vecchio ve ark., 1994). Östrojenin hakim olduğu folliküler evrede ise uterus enfeksiyonlara daha dirençlidir (Battaglia ve ark., 2000; Seals ve ark., 2003). Luteal dönemdeki progesteron, uterus immun fonksiyonlarını negatif yönde etkiler. Bu etki prostaglandin ve lökotrienler gibi ökosanoidlerin sentezinin down-regülasyonunu hızlandırarak gerçekleşir (Lewis, 2003; Herath ve ark., 2007). Luteal yapının gelişmesi ve progesteron derişiminin artmaya başlamasıyla uterus PGF₂ α derişimi bazal seviyelerin altına düşer ve enfeksiyonlara yatkınlık artar (Seals ve ark., 2003). Progesteronun periferik kan lökosit proliferasyonunu baskıladığı da bilinmektedir (Lewis, 2003). Ek olarak progesteron proinflatuar moleküllerin aktivitesini azaltır ancak prostaglandin sentez aktivitesini artırır; özellikle de prostaglandin E₂ artışı sonucunda da uterus enfeksiyonu riski artar. Ters etki olarak da anılan ökosanoidler progesteronun etkilerini önleyerek immun fonksiyonun yükseltgenmesine neden olurlar (Seals ve ark., 2003).

PGF₂ α 'nın nötrofil kemotaksisini arttırdığı belirtilmiştir. Artan kemotaksis sonrası nötrofillerin rastgele göçü artar ve antikor bağımlı olmayan hücre ilişkili sitotoksosite artar (Lewis, 2003). Postpartum sağlıklı ineklere oranla endometritisli ineklerde düşük PGF₂ α konsantrasyonu belirlenmiştir (Herath ve ark., 2007). Bu mekanizmalar hala tam olarak açıklanamasa da, endometritisli ineklerde PGF₂ α tedavisi güncelliğini korumaktadır.

Prepartum periyot sırasında kortizol seviyelerindeki yükselme periferik lökositöze neden olur. Sonrasında ise postpartum 1. haftada periferik lökopeni şekillenir. Bunun sebebi postpartum dönemde nötrofillerin uterusu doğru göçüdür. Diğer hücrelerel komponentlerden olan lenfositler, eozinofiller, mast hücreleri ve makrofajlar da uterusu mobilize olarak aktif halde bulunurlar (Lewis, 2003).

Postpartum dönemde uterus enfeksiyonlarının temizlenmesinde immunglobulinlerin uterusu doğru aktif ve pasif diffuzyonu önemli bir rol oynar. Endometriyal hücrelerde bulunan ve enfeksiyonun eliminasyonunda önemli bir paya sahip Toll Like Reseptörler sinyaller göndermek suretiyle Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF α) ve nitrik oksit (NO) üretimini arttırarak enfeksiyona karşı immun yanıtın düzenlenmesinde görev alırlar (Herath ve ark., 2007).

Periparturient dönemdeki sitokinlerden interlökinler (IL), özellikle de IL-1, IL-6 ve TNF α yüksek seviyelerde üretilir. Özellikle TNF α ; PGF₂ α üretimini arttırarak uterus kasılmalarının yokluğunda myometriyumu uyarır. Örneğin PGF₂ α üretimi önemli ölçüde artarsa uterusun immun savunması da aynı paralellikle artar ve progesteronun immun baskılama özelliği ortadan kalkar (Herath ve ark., 2007). Östrojenin artışında ise progesteron seviyesi düşer, PGF₂ α miktarı artar. Bu süreçte endometriyal lökotrienler de yükselir. PGF₂ α , proinflamatuvar bir moleküldür ve sitokinlerin üretimini arttırarak lenfosit fonksiyonunu ve fagositozu hızlandırır (Lamote ve ark., 2006). Sonuç olarak, oldukça karmaşık ve birbiriyle ilişkili olan

immunolojik olaylar zincirinde inek uterusu, postpartum dönemdeki fiziksel bariyerlerin aksamasından dolayı enfeksiyon riski altında kalır.

Normal doğumu takiben sağlıklı bir puerperal dönemde 10-15 gün içinde inek uterusunda bakterilerin büyük bir kısmı elimine edilmeye çalışılır. Doğum sırasında uterus nötrofilleri, yayılmaya çalışan bakterilere karşı ilk savunmayı yaparlar. Normal doğumu takiben ineklerde periferik kan nötrofillerinin fagositik kapasitesi artarken, etken öldürme ve oksidatif alevlenme kapasiteleri doğum sırasında azalmaktadır. Bu aktiviteler postpartum 1 hafta içinde tekrar artarak olası spontan uterus enfeksiyonları önlenmiş olur (Lewis, 2003).

Postpartum süreçte vaginal akıntının koku ve karakteri skorlanarak olası endometritislerin klinik skoru yapılabilmektedir (Williams ve ark., 2005). Vaginal mukus; koku, miktar ve irin miktarına göre değerlendirilmektedir.

Mukus karakter skorlaması şu şekilde yapılmaktadır. Skor 0; temiz ve şeffaf mukus, skor 1; temiz mukus ancak beyaz irin odaklarının bulunması, 2; < 50 ml eksudat $\leq$ %50 beyaz irin içermekte, 3; > 50 ml eksudat $\geq$ %50 beyaz ya da kanlı irin içermekte. Koku yönünden ise 0; kokusuz, 3 ise kötü kokulu olarak sınıflandırılmaktadır. Akıntının skorlanması yöntemi uterus patojenlerinin varlığını ve semikantitatif olarak yükünü belirtmekte ancak fırsatçı ya da potansiyel patojen olarak bilgi vermemektedir. Vaginal mukusta kötü kokunun varlığı uterus patojen yoğunluğunun fazla olduğunu göstermektedir (Sheldon ve Dobson, 2004). Endometritis klinik skoru prognoz hakkında da fikir vermektedir. İki haftalık periyot içindeki endometritis tedavisinde başarı oranı eğer vaginal mukus kötü kokulu ve prulent karakterde ise %44, akıntı içinde irin odakları varsa %78'dir (Sheldon ve Dobson, 2004; Williams ve ark., 2005).

1.3. Süt İneklerinde Postpartum Süreçte Folliküler Dinamik ve Östrus Aktivitesi

İneklerin ovaryumu doğum sonrasında kısa bir dinlenme periyodundan sonra tekrar siklik faaliyete başlar. Gebelik süresince korpus luteum ve plasenta tarafından salgılanan progesteron, olumsuz başa tepki ile adenohipofizden gonadotropik hormonların salınımını engeller. Gebelik süresince ovaryumlardan birinde iyi gelişmiş korpus luteum olmasına rağmen, aynı anda her iki ovaryum üzerinde de güçlükle farkedilebilen küçük folliküller bulunur. Buna göre gebelik sırasında inek ovaryumu folliküler gelişme açısından tamamen durgun değildir (Sakaguchi, 2011; Forde ve ark., 2011). Prepartum 6. haftada fötoplasental yapının biyosentezi ile plazma östrojen seviyesi artmaya başlar. Periparturient süreçte östrojenler (özellikle östron) pik seviyeye ulaşır (Goff ve Horst, 1997). Progesteron seviyesi doğumdan önceki 48 saat içinde hızla azalır ve erken postpartum dönem boyunca 0,5 ng/ml'den düşük seviyede kalır (Garcia, 1982). Plazma östrojen seviyesi gebeliğin sonunda ve doğum sırasında normal östrus siklusunda olandan daha fazladır. Doğumdan sonra plazma östrojen seviyesi, normal östrus siklusuna göre daha düşüktür (Goff ve Horst, 1997).

Doğumla birlikte plasental ve luteal progesteron kaynağının ortadan kalkması ve doğum sonrası östrojenin bazal seviyeye düşmesi sonucu ovaryum gonadotropik etkiye açık hale gelir. Fakat erken postpartum dönemde, adenohipofiz gonadotropin salıverici hormona (GnRH) duyarsız olduğundan doğumdan hemen sonra ovaryumda büyük çapa ulaşan folliküller gelişme gözlenmez. Gebelik korpus luteumu hızla gerileyerek postpartum 14. güne kadar ovaryum üzerinde küçük bir çıkıntı şeklinde palpe edilebilmektedir. Gebelik korpus luteumu ovaryum fonksiyonunu ve uterus involüsyonunu etkilemez. Ovaryum üzerinde yaklaşık 14. güne kadar palpe edilebilen gebelik korpus luteumundan progesteron üretimi olmaz (Garcia, 1982; Leslie, 1983).

Postpartum ilk östrüstan önce progesteronda hafif bir yükselme vardır. Bu yükselmenin daha önce gelişen folliküllerin luteinizasyonundan ileri geldiği düşünülmektedir. İlk postpartum luteal evrede plazma progesteron seviyesi daha sonrakilere göre düşüktür ve bu luteal evrenin süresi farklılıklar gösterir. Genellikle ilk ovulasyondan sonra şekillenen korpus luteum kısa ömürlüdür ve hacmi izleyen siklustakilerden küçüktür. Bu nedenle ineklerde ilk luteal evre genellikle kısa sürer ve östruslar arası süre 15-16 gün kadardır (Garcia, 1982). Bu dönemde yetersiz lüteinleştirici hormon (LH) salınımına bağlı olarak, luteal dokunun yeterince gelişmemesi ve uterusu bulan bakterilerin uyardığı $PGF_2\alpha$ salgısının sebep olduğu erken luteolizisin, siklusun kısa sürmesine yol açtığı düşünülmektedir (Roche ve ark., 1999).

Postpartum süreçteki endokrinolojik ölçümlerde, GnRH'nın normal siklus düzeyinin üzerinde, follikül stimüle edici hormonun (FSH) postpartum 4-5. günden itibaren dalgalı salgılanmalar göstermesine rağmen, LH'nın bazal seviyede seyrettiği bildirilmektedir (Adams ve ark., 2008).

Postpartum 5-6. günden itibaren, ovaryumlarda 2-8 mm çapında folliküler gelişimler FSH'nın salınım artışına bağlı olarak görülmekle birlikte, bu folliküler dalgada dominant follikülün farklılaşmaması, LH'nın salınım sıklığının ve miktarının düşük olmasına bağlanmaktadır. Luteinleştirici hormon, postpartum 10. güne kadar aralıklı salınım göstererek artar. Periyodik LH salınımı ovaryumdaki siklik değişikliklerin başlaması için gerekli görülmektedir. Luteinleştirici hormon postpartum 30-40. güne kadar ovulasyonu uyarmak için gerekli olan düzeye ulaşır (Williams, 1990). Çünkü, LH hormonu ovaryumda androjenin östrojene dönüşümünü diğer bir deyişle de, intrafolliküler östrojen miktarını arttırmaktadır (Mihm ve Evans, 2008).

Plazma östradiol-17 β derişimi postpartum 1, 2 ve 3-6. günlerde azalmakta, 7-10. günlerde ise artmaktadır. Erken postpartum dönemde gelişen folliküllerden dolayı östrojenin plazma derişimi artar. Bu artış, büyük olasılıkla preovulator LH pikini uyarmaktadır. İneklerde preovulator LH pikinin uyarılmasında, östradiol-17 β ve GnRH'nın etkisi vardır. Özellikle östradiol-17 β önemli rol oynar. Bu teoriden dolayı, ineklerde LH salınımında ovaryumun önemli etkisi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca giderek artan östrojen derişimi, LH'nın hipofizden salgılanmasının yanı sıra üretimini durdurucu etki de yapabilir. Bu etki ileri gebe ve kistik ovaryumlu (folliküler kist) hayvanlarda görülmektedir (Leslie, 1983; Wiltbank ve ark., 2002).

İneklerde doğum öncesi ve sonrasında hipofizin GnRH hormonuna yanıtının belirlenmeye çalışıldığı çalışmalarda doğumdan 5 hafta önce ve 8-10 gün sonrasına kadar GnRH enjeksiyonlarına yanıtızsız kaldığı saptanmıştır. Buna karşılık östrojen ve progesteron kombinasyonunun kullanılmasıyla postpartum 2. günde deneysel olarak LH yanıtı oluşturulmuştur. Elde edilen sonuçlar, östrojenin hipofize geriye tepkisini desteklemektedir. Aynı şekilde, bu değişikliklerin görülmesi için ovaryumda olgun bir follikülün bulunması gereklidir. Erken postpartum dönemde ekzojen GnRH uygulamalarının ovulasyon ile sonuçlanabilmesi için ovaryum üzerinde 10 mm'nin üzerinde follikülün bulunması gerektiği vurgulanmaktadır (Roche ve ark., 1999). Postpartum dönemde endojen GnRH salgısı doğal ritmindedir; fakat, hipofiz bezine GnRH uyarımının sıklığı, FSH ve LH salınımını düzenlemede çok önemlidir. Düşük frekanslar FSH'nın, yüksek frekanslar ise LH'nın artmasına neden olmaktadır (Stock ve ark., 1996).

Adenohipofizin GnRH'a cevabındaki yetersizlikler, gonadotropinlerin düşük düzeyde salınması veya hiç salınmaması sonucu, ovaryumlar inaktif bir halde olabilir. Bu durum çoğunlukla yüksek süt verimli ineklerde ve yavrusunu emziren ineklerde görülür. Özellikle yüksek süt verimli ineklerde, gonadotropinlerin yetersiz salgılanmasına bağlı olarak, doğum sonrası dönemde ovaryumlarda kistik yapıların şekillenmesi sıkça rastlanan bir bozukluktur (Crowe, 2008).

1.4. Postpartum Dönemde Ovaryum Aktivitesi ve Folliküler Gelişimi Etkileyen Faktörler

Postpartum ilk ovulasyon aralığını belirleyen faktörler; metabolik hastalıklar, doğum sonrası düşük negatif enerji dengesi, vücut kondisyonunun zayıflığı (VKS), laktasyon veya emzirme, ortamda erkeğin varlığı, yavrunun anneden ayrılması, doğum mevsimi, stres, çiftleşme yaşı, uterus patolojileri, güç doğum, puerperal enfeksiyonlar ve kronik hastalıklardır (Mihm ve Evans, 2008).

Doğumdan ilk östrusa kadar geçen süre, uterus ile ilgili primer bir sorun veya sekonder sistemik bir hastalığa bağlı olarak uzayabilmektedir. Güç doğum, metritis, retensiyo sekundinarum ve mastitis gibi hayvanda kilo kaybına, kronik zayıflamaya neden olan her türlü periparturient sorunlar doğum sonrası ovaryumlarda folliküler aktivitenin şekillenmesini geciktirir veya uzun süreli anöstruslara neden olur (Fourichon ve ark., 2000; Seegers ve ark., 2003).

Gebeliğin son dönemi ve doğum sonrası kötü, yetersiz beslenme ve yoğun kilo kaybı siklik aktivitenin başlamasını geciktirir. Doğum sonrasında laktasyona giren, yüksek süt verimli ineklerde süt veriminin en yüksek olduğu dönemde, yeterli oranda enerji alınamadığı durumlarda, sütle kaybedilen enerji karşılanılamaz, negatif enerji dengesi oluşur ve östrus sikluslarının yeniden başlamasında gecikme görülür (Loeffler ve ark., 1999).

Beslenmedeki yetersizlikler, özellikle enerji açığı, gonadotropik salınımın aksamasına neden olarak siklusu geciktirir. Doğum öncesi ve doğum sonrası vücut kondisyon skorunun (VKS) düşük olması FSH salınımını çok fazla etkilememekte, asıl etkilenme dominant follikülün olgunlaşmasında ve LH salınım sıklığının azalmasında olmaktadır. Yüksek enerji dengesinin follikülün gelişimine olumlu

etkisi vardır. Postpartum dönemde enerjisi yüksek rasyonlar verilerek ilk ovulasyon erkene alınabilir (Kawashima ve ark., 2012). Postpartum ovaryum aktivitesinin başlaması için LH salınımının tekrar başlaması gereklidir. Negatif enerji dengesi düzeldiğinde veya pozitif yöne kaydığında LH salınımı başlar. Bundan sonra enerji dengesi pozitifeye kayar ve ovulasyon şekillenir (Wiltbank ve ark., 2002). Negatif enerji dengesi; insülin düzeyini, glukozu, insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) miktarını belki de intrafolliküler IGF-I miktarını, dominant follikülün yarıçapını ve bu nedenle östrojen üretimini ve LH salınım frekansını azaltır (Roche ve ark., 2000).

İneklerde, rasyonun follikül gelişimi üzerine etkisinin diğer faktörlere oranla düşük olduğu ve ovulasyondan sonra yüksek enerjili rasyonlar verilerek follikül sayısının artırılmayacağı ifade edilmiştir (Butler, 2000). Bununla birlikte; gebelik döneminde dengesiz ve fazla beslenme sonucu aşırı kilo almış yağlı ineklerde, laktasyon başlangıcında vücudun gereksinimi olan enerjinin kaynağı olarak vücut yağlarının kullanılması; yağlı karaciğer sendromu, ketozis ve benzeri metabolik sorunlar ortaya çıkarak fertilité parametrelerini olumsuz etkileyebilmektedir (Grummer ve ark., 2010).

Postpartum dönemde zayıflama sürecine girmiş olan ineklerde, vücut yağlarının lipolizi esnasında, progesteron biyosentezi de artarak hipotalamo-hipofiz eksenini baskılanır ve ovaryum aktivitesinin başlamasını gecikebilir (Butler, 2000).

1.5. Erken Postpartum Dönemde LH Salınım Sıklığını Etkileyen Faktörler

VKS, enerji dengesi, doğum sayısı, mevsim ve hastalıklar süt ineklerinde ovaryum faaliyetlerinin yeniden başlamasını etkileyen temel faktörler olarak gösterilmektedir (Wathes ve ark., 2007). Enerji alımı, VKS ve süt verimi enerji dengesini etkileyen üç temel faktördür. Bu üç faktörün LH salınım sıklığını azalttığı belirtilmektedir (Opsomer ve ark., 2000).

En önemli risk faktörü erken postpartum süreçte ve laktasyonun başlamasıyla birlikte şekillenen akut VKS kaybıdır. Birçok araştırmacı ineklerin doğum anında 2.75-3.0 vücut kondisyon skoruna sahip olmalarını, ayrıca doğum-ilk servis periyodu arasında en fazla 0.5 puan kayıp olması gerektiğini belirtmektedir (Mulligan ve ark., 2006). Bir ve üzeri VKS kaybı olan ineklerde postpartum ilk ovulasyon aralığı daha da uzamaktadır. Bu nedenle özellikle doğum öncesinden başlayarak ilk servis periyoduna kadar VKS' nin değerlendirilmesi iyi bir reproduktif yetiştiricilik için önemlidir.

VKS; enerji dengesinin iyi bir göstergesidir. Negatif enerji dengesinde olan inekler yüksek oranda doku mobilizasyonuna ve beraberinde kanda yüksek esterleşmemiş yağ asitleri, Beta Hidroksi Butirik Asit (β -HBA) seviyesi, azalmış insülin, glikoz ve IGF-I derişimine sahiptirler (Grummer ve ark., 2004).

Artan doku mobilizasyonu nedeni ile hipokalsemi, asidozis, yağlı karaciğer, ketozis ve abomazum deplasmanı riski de artış göstermektedir (Maizon ve ark., 2004). Metabolik bozukluklardan etkilenen ineklerde mastitise, anöstruse daha eğilimli olmakta ve konsepsiyon oranında azalma gözlenmektedir (Lopez-Gatius ve ark., 2002; Maizon ve ark., 2004). Doğum öncesi ve laktasyonun ilk birkaç haftası boyunca serum IGF-I derişimi; takip eden siklus ve konsepsiyon oranı ile doğrudan

ilişkilidir. Beslenme ve reproduktif durumu tahmin etmede IGF-I faydalanılabilecek bir kriterdir (Taylor ve ark., 2006).

Hastalıklar da LH ve diğer mekanizmalar aracılığı ile folliküler gelişime etki etmektedir. Uterusun lokal enfeksiyonları uterus involusyonunun gecikmesine, endometriumda yangıya ve konsepsiyon oranında azalmaya neden olmaktadır (Sheldon ve Dobson, 2004). Ayrıca folliküler gelişimi etkilemekte, dominant follikülde östradiol sekresyonunda azalmaya, ilk ovulasyonda gecikmeye neden olmaktadır (Le Blanc ve ark., 2002; Sheldon ve ark., 2002; Sheldon ve Dobson, 2004). Bu etkinin LH sekresyonunda azalma ile oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca çeşitli etkenlerin endotoksinleri dominant follikülden östradiol salgılanmasını azaltmakta ve LH dalgasını ve ovulasyonu geciktirmektedir.

Mastitis ve diğer yangısal hastalıklar da, akut stres etkenlerinden dolayı GnRH salınımını, dolayısıyla LH ve östradiol salgılanmasını azaltır ve ovulasyonu geciktirebilir (Crowe, 2008).

Postpartum ilk dominant follikülün ovulasyona yönlenebilme kabiliyeti puerperal dönem için sağlık indikatörlerinden biridir. VKS, verim, doğum mevsimi ve hastalıklar ilk dominant follikülün ovule olup olmamasını etkileyen faktörler olarak gösterilmektedir. Zayıf kondisyonda ($2.5 > \text{VKS}$) doğum yapan ineklerde düşük LH salınım sıklığının bir sonucu olarak düşük intrafolliküler östradiol seviyesi nedeniyle genellikle uzun bir anöstrus dönemi görülmektedir. Bu hayvanlarda doğum sonrası dominant follikülün çapı, insülin, IGF-I derişimi azalmakta ve LH salınım frekansı düşmektedir (Beam ve Butler, 1997)

1.6. Preovulatör ve Dominant Follikülün Seçimi

Bir follikülün erken antral dönemden preovulatör döneme geçişi, follikül hacminin 3-10 kat artışı ile karakterizedir. Follikül hacmindeki bu artış, granuloza hücrelerinin proliferasyonu ve antrumun genişlemesi ile kendini gösterir. Follikülün antrum yapısının hacim artışında folliküler sıvıda ozmotik olarak aktif glikozaminoglikanların önemli etkisi vardır. Bu glikozaminler arasında molekül ağırlığı yüksek hyaluronan, versican ve inter α -trypsin inhibitörleri önemlidir. Bu maddeler aynı zamanda follikülde yer alan kumulus-oosit kompleksinde, kumulus hücre genişlemesinde de rol alırlar (Rodgers ve Irving-Rodgers, 2010; Hatzirodos ve ark., 2012)

Preovulatör aşamasına geçmiş inek folliküllerinde, teka ve granuloza hücrelerindeki çok sayıda gen aktive olur. En iyi bilinen farklılaşma geni östrojen üretimine katkı veren CYP19 ve onun gen ürünü aromataz enzimidir. Farklılaşma süreci içinde aynı zamanda granuloza hücrelerinde LH reseptörleri de şekillenir. LH reseptörlerinin aktivasyonu ve östrojen sentezi, bir follikülün yaşayabilmesi ve peri-ovulatör aşamaya geçebilmesi için temel mekanizmadır. Aksi halde follikül, atrezi aşamasına yönelir (Matti ve ark., 2010; Rodgers ve Irving-Rodgers, 2010).

Bir follikülün erken antral dönemden preovulatör follikül aşamasına geçişi tetikleyen en önemli somatik hücre faktörü olan gonadotropinlerdir. FSH, follikülün erken antral dönemden geç antral döneme geçişinde, LH ise bir follikülün geç antral dönemden preovulatör aşamaya geçişinde etkin rol oynar. FSH, granuloza hücrelerinde hem proliferasyonu hem de farklılaşmayı uyarır. FSH'nın granuloza hücrelerindeki proliferatif etkisi, epidermal growth faktor (EGF) ile sinerji içinde histonların mitotik fosforilasyonu ve siklin bağımlı kinazların (siklin D-2) uyarılmasını sağlayarak gerçekleştirir. FSH'nın granuloza hücrelerindeki eyleminin

en önemli göstergesi granuloza hücrelerinden östrojen hormon sentezidir (Rodgers ve Irving-Rodgers, 2010). CYP19 geni bulunmayan farelerde, granuloza hücre proliferasyonu ve antral follikül gelişimi gözlenmesine rağmen antral folliküllerde östrojen sentezi gerçekleşmez ve sıklıkla ovulasyona yönlenebilen folliküler gelişmeler söz konusudur (Harlow ve ark., 2002).

Bir follikülün antrum aşamasından preovulator follikül aşamasına geçişinde, oosit kaynaklı Büyüme ve farklılaşma faktörü-9 (GDF-9), Bone morfogenetik protein-15 (BMP-15), Transforme edici büyüme faktörü-Beta1 (TGF- β 1) ve aktivin-A'nın önemli etkisi vardır. Bu oosit kaynaklı faktörler, granuloza hücrelerinin farklılaşması özellikle de kumulus ve mural granuloza hücrelerinin farklılaşması ve devamlılığında etkilidir. Bu faktörler kumulus hücreleri üzerinde anti-apoptotik etkiye sahiptirler (Silva ve ark., 1998; Gilchrist ve ark., 2004; Knight ve Glistler, 2006; Gilchrist ve ark., 2008; Su ve ark., 2009). Ayrıca follikülün somatik hücrelerinden salgılanan büyüme faktörleri (growth faktörler), örneğin IGF-I, gonadotropinlerle sinerji içinde granuloza hücre proliferasyonunu ve steroidogenezisi destekler (Mihm ve Austin, 2002).

Follikülün antrum yapısının şekillenmesi süresince, granuloza hücreleri iki ayrı hücre grubuna ayrılır. Bu hücre grupları; oositin en yakın konumunda yer alan kumulus hücreleri ve mural hücrelerdir (granuloza ve teka hücreleri). Bir follikülün son gelişme dönemi ise her siklusta ovulasyona yönlenen dominant folliküldür (Son ve ark., 2011).

Dominant follikülün seçiminde, ineklerde östrus siklusunun luteal evresinde, 7-10 gün ara ile küçük antral folliküller, 3-5 mm çapa ulaşır ki bu durum folliküler dalganın doğuşu olarak tanımlanmaktadır (emergence). Bu folliküller 3 gün içinde 6 mm çapa ulaşır. Bunlar arasındaki 2 veya 3 follikül ise bu 3 günlük süreç içinde 7-8 mm büyüklüğe erişir. Büyük folliküllerden biri dominant follikül olarak seçilir. Bu

evre ayrışma dönemi olarak tanımlanır (divergence). Bu dönemden itibaren dominant follikül gelişmesini devam ettirirken bu dalganın diğer follikülleri (subordine folliküller) atreziye uğrayarak 1-2 mm kadar küçülür ve sonrasında yok olurlar. Sığırlarda 21 günlük seksüel siklusun luteal evresi süresince 2 veya 3 dalga gelişir. Her bir dalgada ayrı bir dominant follikül seçimi gerçekleşir (Forde ve ark., 2011; Scaramuzzi ve ark., 2011).

FSH'nın follikülün granuloza hücrelerinde antiapoptotik, proliferatif ve aromataz enzimi üretimi ve LH reseptörlerinin oluşması ile karakterize farklılaştırma özellikleri nedeniyle ileri düzeyde FSH etkisi altında bulunan veya FSH uyarılarına en yüksek düzeyde duyarlı olan follikülün dominant follikül olma özelliği yüksektir. FSH ve IGF-I, sığır granuloza hücrelerinde proliferasyon, steroid, aktivin ve inhibin üretiminde birbirlerinin etkilerini destekler (Beg ve Ginther, 2006). Follikül stimüle edici hormonun etkisi altındaki dominant follikülde IGF bağlayıcı protein 2, 4 ve 5'in bloke edildiği görülmüştür. Bundan dolayı folliküler sıvıda östradiol ve IGF bağlayıcı protein düzeyine bakılarak dominant aşamaya geçecek follikül belirlenmesi mümkün olabilmektedir (Ginther ve ark., 2002; Webb ve Campbell, 2007).

Dominant aşamaya ulaşacak inek folliküllerinin granuloza hücrelerinde ayrışmanın başlamasından birkaç saat önce LH reseptörü ile ilgili mRNA salınımının arttığı, IGF bağlayıcı protein düzeyinin düştüğü, follikülün teka katmanında, vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik faktörlerin etkisi ile dominant follikülde kan akım hızı ve geçirgenlikte de artış gözlenir (Jolly ve ark., 1994; Quirk ve ark., 2004; Robinson ve ark., 2009).

1.7. Folliküler Sıvının Yapısı ve Fonksiyonu

Folliküler sıvı, periferel plazmanın transudasyon (sızma) ile follikülün bazal laminasını geçerek follikül içinde küçük bir gölcük olarak birikmesinden oluşur. Serum transudatı olan bu sıvı, follikül duvarını oluşturan hücreler tarafından sentezlenen ve salgılanan glikoproteinler, steroidler, metabolik ürünler tarafından değişikliğe uğratılır. Folliküler gelişme süresince, serum ile follikül sıvısı arasında bir denge oluşur. Serum ve folliküler sıvının metabolit içeriği benzerdir. Ovidukt sekresyonunda da benzer denge görülür (Rodgers ve Irving-Rodgers, 2010; Hunter, 2012).

Folliküler sıvının bileşenleri; proteinler (albumin, globulin, IgA, IgB, fibrinogen, glikoprotein ve peptidler), amino asitler, karbonhidratlar (glikoz, fruktoz, galaktoz, mannoz), enzimler, glikoproteinler (glikozaminler, galaktozaminler, hyaluronik asit, sülfatlı glikozamin glikanlar, heparin, heparin sülfat ve plazminogen), gonadotropinler (FSH, LH ve alt üniteleri, prolaktin), steroidler (kolesterol, androgen, progestin, östrojen), prostaglandinler (PGE ve PGF2 α), immunoglobulinler (IgG yüksek oranda bulunur), iz element ve tuzlardan (Na, K, Mg, Zn, Cu, Ca, sülfür, klorid, inorganik fosfat, organik fosfor) oluşmaktadır. Folliküler sıvı, biyokimyasal ve metabolik olarak oositin nükleer ve sitoplazmik maturasyonundan, oositin serbest bırakılmasından ve fertilizasyondan sorumludur (Leroy ve ark., 2004; Shehab-El-Deen ve ark., 2010; Khan ve ark., 2011; Leroy ve ark., 2011).

Folliküler sıvı içeriği ve fonksiyonları seksüel siklusun dönemlerine göre farklılıklar gösterir. Folliküler sıvının temel görevleri; granuloza hücrelerinin işlevini düzenleyerek follikulogenezis ve steroidogenezisi kontrol etmek, oositin maturasyonu, transportu ve fertilizasyonuna destek olmak, ovulasyon sonrası luteal yapı formasyonu için gerekli sinyallere sahip olmak (luteinizasyon inhibitör protein),

follikülogenezis için uyarıcı ve inhibe edici faktörleri aynı anda bulundurarak seksüel siklusu yönlendirmek, follikülden ovidukta geçen sıvı ile birlikte sperm kapasitasyonuna, fertilizasyon metabolizmasına ve erken embriyonik gelişimin uyarılmasına katkı vermektir (Beg ve Ginther, 2006).

1.8. Süt İneklerinde Ovaryumların Folliküler Kistleri

Ovaryumun folliküler kistleri, inekler dışında birçok memeli türünde de tanımlanan, ovaryumlardaki anovülatör yapılardır. Kistik patoloji devam ettiği sürece inekler infertildirler. Süt ineklerinde folliküler kistlerin insidensi % 5.6 ile % 18.8 arasında değişmektedir (Lopez-Diaz ve ark., 2002). Folliküler kistli ineklerde kistik yapıların tanısı, tedavisi ve tohumlama arasında geçen süre 50-70 gün kadar sürebilmektedir. Bu durum, süt inekçiliği açısından önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Vanholder ve ark., 2005). Folliküler kistler, folliküllerin anormal büyümesi sonucu ortaya çıkar. Kistik ovaryumlar, ovaryum kistleri ve kistik ovaryum hastalıkları gibi isimler ovaryumun kistik folliküler dejenerasyonunu yani ovaryumun folliküler kistlerini temsil eden sinonim isimlerdir. Bu farklı isimlendirmelerin tamamı ovaryumlardaki anormal şekilde büyüyen ve anovülatör follikülleri tarif etmek için kullanılır.

Kistik folliküler yapıların tanımları bazı araştırmacılar tarafından farklı şekilde ifade edilse de çapı 25 mm ve üzerinde olan, 10 günlük muayeneler arasında ovaryumda kalıcı olarak bulunan yapılar kistik folliküller olarak tanımlanmaktadır (Day, 1991). Ovaryumlardaki anovülatör yapılar duvar kalınlığına göre sınıflandırılabilir. Folliküler kistlerde, kist duvar kalınlığı daha incedir ve luteal kistlere oranla daha az progesteron üretilir. Luteal kistlerde ise kistik yapının duvar kalınlığı folliküler kistlere oranda daha kalındır, teka ve granuloza hücrelerinden üretilen progesteron miktarı da daha fazladır.

Foliküler kistler zamanla lüteinize olabilirken bazen de spontan luteinizasyona uğramadan varlığını devam ettirebilir, nadir olsa da herhangi bir tedavi yapmaksızın regrese olabilirler ya da persiste halde ovaryumda bulunarak infertiliteye neden olabilirler (Lopez-Diaz ve Bosu, 1998; Vanholder ve ark., 2005).

1.9. Kist Oluşum Hipotezleri

İneklerde anovulatör folliküllerin ve kalıcı ovaryum kistlerinin oluşum sürecinde bazı olası mekanizmalardaki aksaklıkların etkisi açıklanmaya çalışılmıştır. Bunlar, postpartum süreçte gelişen yeni preovulatör folliküllerdeki östradiol'e hipofizden preovulatör LH yanıtının olmaması, östradiol'ün varlığına rağmen hipotalamustan gonadotropin salınımının yetersizliğine bağlı olarak gelişen LH salınım sorunları ve bazen de yeterli LH varlığına rağmen ovaryum yanıtının olmaması sonucu anovulasyon sorunlarının ortaya çıkması şeklinde üç ana fikirde birleşilir. Bunlar, postpartum dönemde ilk folliküler aktivenin başlama sürecinde, folliküler kistlerin aniden ortaya çıkmasının muhtemel nedenleri arasında, gelişmekte olan folliküllerin hızlı luteinize olması, luteinizasyon ile periferel dolaşıma serbest bırakılan düşük veya orta düzeydeki progesteronun negatif geri tepki ile ovulasyon için gerekli olan preovulatör LH pikini engelleyerek kistin oluşumu ve varlığını devam ettirmesini sağlaması sayılabilir (Kojima ve ark., 2003; Rizzo ve ark., 2010; Paredes ve ark., 2011).

Bazı araştırmacılar (Kawate ve ark., 1996; Yoshioka ve ark., 1998; Silvia ve ark., 2002), kistik folliküle sahip ineklerde sağlıklı preovulatör folliküllere sahip ineklere oranla LH'nın miktar ve salınım sıklığının yüksek olduğunu ve preovulatör LH salgılanmasının bulunmadığını bildirmişlerdir.

1.10. Folliküler Kistlerin Etiyolojisi

İneklerde folliküler kistlerin gelişim süreci klinik, çevresel ve genetik faktörler gibi birçok faktöre bağlıdır. Yapılan çalışmaların çoğunda kistlerin oluşumundaki ortak etiyolojik faktörün hipofiz-hipotalamus ve ovaryum ekseninde meydana gelen hormonal imbalans olduğu vurgulanmıştır. Endokrin imbalansı ortaya koymak amacı ile çok sayıda çalışma yapılmıştır (Savio ve ark., 1993; Garverick, 1997; VanHolder ve ark., 2006).

Ekzojen olarak uygulanan östrojen, ACTH ve LH immunizasyonu ile ovaryum kistleri deneysel olarak indüklenebilmektedir. Cook ve arkadaşları (1990), yüksek dozlarda östrojen ve progesteron ile deneysel kist indüksiyonu yapmışlar, indüksiyon sonrası (29-41. güne kadar) ineklerin ovaryumlarında önemli yapısal değişiklikler gözlemişler, kist şekillenmeyen ineklerde normal bir östrus siklusu, preovülatör LH piki ve ovulasyon gerçekleşirken; kist oluşan ineklerde ise persiste anormal folliküler yapılar izlemişler, spontan regresyon görememişler ve preovülatör LH pikinin şekillenmediğini bildirmişlerdir. Kistik yapıların gelişim sürecinde normal siklus gösteren ineklere göre kan LH, FSH ve östrojen derişimleri önemli farklılıklar göstermektedir. Hamilton ve arkadaşları (1995), kistik folliküler yapıya sahip inekler ile normal siklik aktivite gösteren ineklerde LH, FSH ve Östradiol derişimlerini folliküler dalga süresince karşılaştırmışlar; kistik ovaryumlu ineklerde LH ve östradiol derişimleri 8 günlük süreç boyunca ovule olan folliküllere oranla oldukça yüksek bulunurken, ineklerde FSH miktarı kist gelişim sürecinde ve normal siklus gösterenlerde farklı bulunmamıştır. Bu durum ovulasyon safhasına gelen folliküllerde LH'ya yanıtın olmaması ve follikülün ovulasyonsuz olarak büyümeye devam etmesi olarak açıklanmıştır. Artan LH ve follikül içinde yüksek miktarda seyreden östradiol birlikte sinerjik etki göstererek birbirlerinin artışını karşılıklı olarak düzenlemektedirler. İneklerde folliküler kistlerin etiyolojisi üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olsa da kistik yapıların oluşum süreci ve bu süreci tetikleyen mekanizmaların varlığı henüz tam olarak bilinmemektedir.

1.2.1. Transforming Growth Factor Beta Ailesi Proteinleri ve Ovaryumlardaki Etkileri

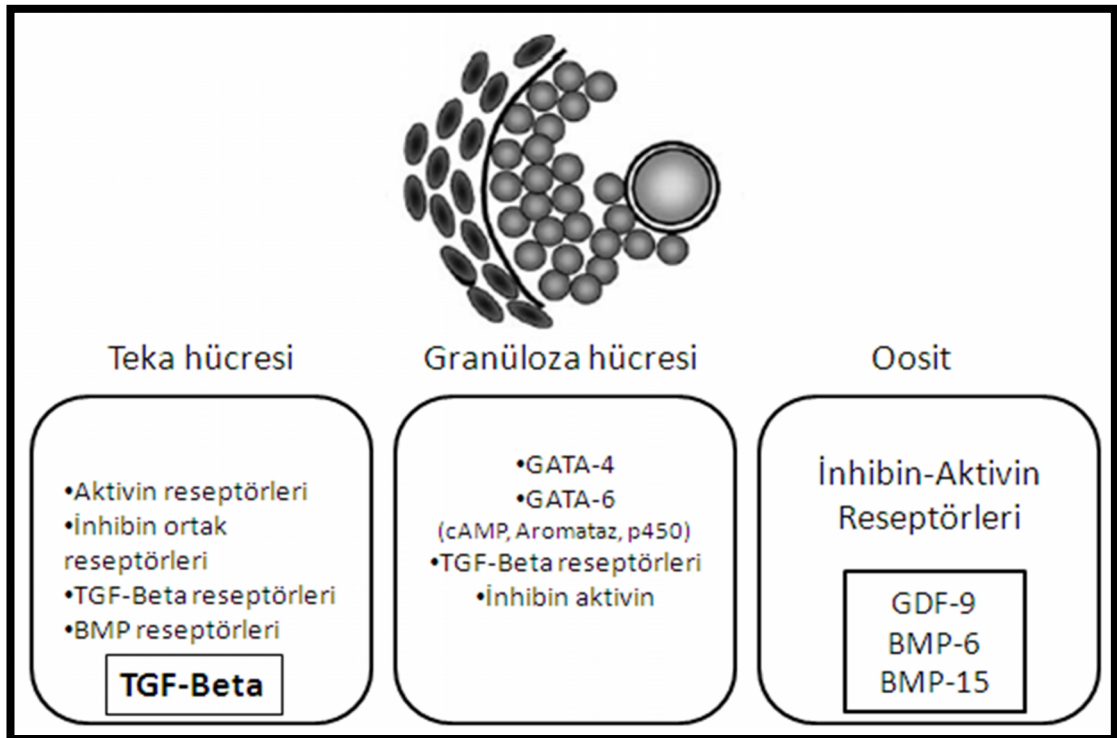
Foliküller, ovaryumların fonksiyonel yapılarıdır. Foliküller, oositi içinde barındıran oluşumlardır. Bunlar, bir veya birkaç katmanlık somatik hücreler ile çevrilidir (granuloza ve teka katmanları). Ruminantlarda bir follikülün primordial aşamadan ovulasyona kadar geçen süresi ortalama 6 ay kadardır (Fair, 2010). Ovaryumlarda, ovulator aşamaya kadar aynı anda birçok follikül gelişir ancak bunların birçoğu atreziye veya programlı hücre ölümüne (apoptozis) uğrayarak orta-antral büyüme aşamasına ulaşamaz. Follikülogenezis sürecinde, tüm büyüme aşamalarının başarı ile sonuçlanabilmesi için oosit ile granuloza hücreleri arasında ve granuloza hücreleri ile teka hücreleri arasında etkili, iki yönlü bir iletişim ağına ihtiyaç duyulmaktadır (Knight ve Glister, 2006) .

Folikülogeneziste gonadotropinler ve metabolik hormonlar, lokal gonadal somatik hücreler ile reseptör düzeyinde etkileşime girerek otokrin ve parakrin sinyallerin başlatılmasını ve durdurulmasını dışarıdan denetler. Ancak, bu denetlenme ovaryum içi bazı faktörler ile sağlanmaktadır. Örneğin follikülün ne kadar büyüyeceği, hangi aşamada ovule olacağı follikül içi östradiol miktarı ile yakın ilişkide olsa da bu etkileşimde ovaryum somatik hücreleri ve oositin salgılanan bazı faktörler hipotalamus-hipofiz-gonadal eksenin fonksiyonunu doğrudan etkiler. Bu durum, intraovarian regülatör mekanizmaların follikülogenezis ve ovulasyon sürecine olan etkilerini ön plana çıkarmaktadır (Scaramuzzi ve ark., 2011). Pubertasla birlikte bir fertilité parametresi olarak folliküler gelişim, oositin ovüle olabilme kapasitesini kazanması olayıdır. Bunun kanıtı ve en önemli göstergelerinden biri de oosit ve ovaryumun diğer fonksiyonel somatik hücrelerinden salgılanan transforming growth factor beta ailesi proteinlerinin (TGF- β) üretimi ve aktivitelerindeki hızlı artıştır. Bu proteinlerin ovaryum içi düzenleyici mekanizmalarda önemli görevleri vardır. Bu görevlerden bazıları; granuloza ve teka hücre proliferasyonu, follikül seçimi, follikül gelişimi ve yapısal kuvveti, steroidogenezis, oosit maturasyonu, ovulasyon ve luteinizasyondur (Hunter ve ark.,

2004; Webb ve ark., 2007; Webb ve Campbell, 2007). Folliküllerin en başından itibaren oluşması, olgunlaşarak farklılaşmasında sürekli olarak ovaryum içerisindeki yapıların, yani çeşitli hücrelerin etkileri önemlidir. Bu anlamda; oosit ve onu çevreleyen granuloza hücreleri (epitel kökenli) ile granuloza-teka interstisyel hücreleri (stroma, mezenşim kökenli) arasında karşılıklı bir etkileşim söz konusudur. Bu etkileşim sayesinde follikülün gelişim ve düzenlenmesi gerçekleşir. Özellikle follikülün gelişim aşamasında TGF- β ailesine bağlı peptidler önemli bir rol üstlenmiş olsalar da bu aile dışında kalan pek çok peptid yapısındaki hormonların da önemli katkılarının olduğu ve primordiyal folliküldeki oositi çevreleyen pre-granuloza hücreleri üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte primordiyal follikülleri çevreleyen bazı mezenşimal hücrelerin de çeşitli peptidler ürettiği bilinir. TGF- β ailesi proteinleri, ligandları, reseptörleri ve yardımcı bağlayıcı proteinleri oldukça geniş bir ailedir (Eppig, 2001; Skinner, 2005). Bugüne kadar 30 farklı yapısal TGF- β protein üst ailesi tanımlansa da (Drummond, 2005) bu üst ailenin memelilerde 3 izoformunun fonksiyonel olarak görev yaptığı bilinmektedir (TGF- β 1,2 ve 3).

Başlıca TGF- β ailesi proteinleri antimüllerian hormon (AMH), inhibinler (A ve B), aktivinler (A, B ve AB), 20 farklı bone morphogenetic protein (BMP-1-BMP-20), 9 farklı büyüme ve farklılaşma faktörü (growth and differentiation factor , GDF-1-GDF-9) ve GATA ailesi proteinleridir (Massague ve Wotton, 2000; Knight ve Glistler, 2006). Bir arada düşünüldüğünde bu proteinler genel olarak bir çok farklı hücrelerin ve dokuların fonksiyonel işlevlerinde ve regülatör mekanizmalarında önemli rol alırlar. Ovaryum dokusunda da embriyogenezis aşamasından siklik döneme kadar bir çok gelişim döneminde rol alırlar. Ovaryum dokusunda farklı fonksiyonel hücre katmanlarında eksprese edilerek etki gösterirler (Knight ve Glistler, 2006) (Şekil 1.1). Antral folliküllerin gelişimi ve follikül seleksiyon aşamalarında da rol alan TGF- β ailesi proteinlerinin önemli rolleri vardır. Buna göre, antral follikülün preovulator folliküle gelişmesi ve seçilmesi sürecinde; makroskopik olarak follikül kompleksinin büyüdüğü gözlenmektedir (Nilsson ve Skinner, 2004). Bu yapının histolojik incelemesinde ise oositin büyüdüğü, granuloza ve teka hücre

komplekslerinin proliferere olduğu, teka vaskülarizasyonun arttığı gözlenmektedir. Boyutu büyüyen bu histolojik kompleks yapının bazal membran ile çevrili olmasından dolayı hücreler arası iletişim sınırlı kalmaktadır (Nilsson ve ark., 2003). Bu iletişimin fizyolojik koşullar altında kurulmasında, follikülün gelişiminde ve dominant follikül seleksiyonunda bazı lokal faktörler görev almaktadır. Folliküler gelişim ve seleksiyon sürecini etkileyen faktörler başlıca granuloza hücreleri ve oosit ilişkili faktörlerdir. Granuloza hücre kökenli olan aktivin, bu hücrelerin gelişimini uyarmakta, bu hücelere otokrin - parakrin kabiliyetler kazandırmaktadır (Pangas ve ark., 2002). Özellikle aktivin, FSH'nın granuloza hücrelerindeki reseptörlerini aktive eder. Bu da FSH'ya bağımlı folliküler gelişim için gereklidir (Otsuka ve ark., 2001). Oosit kaynaklı faktörler ise oositin salgılanan GDF-9, BMP-15 ve BMP-6 granuloza hücrelerinin profilerasyonunu uyarmakta ve aktivin ile birlikte FSH'nın etkisini arttırarak folliküler gelişimi hızlandırmakta, sonuçta da dominant follikül seleksiyonuna katkı yapmaktadır (McNatty ve ark., 2005).



Şekil 1.1. Bazı TGF- β ailesi proteinlerinin ovaryum dokusundaki lokalizasyonları (Kinght ve Glister, 2006).

1.2.2. Büyüme ve Farklılaşma Faktörü-9 (Growth and Differentiation Factor-9 , GDF-9)

Oosit ve kendisini çevreleyen somatik hücreler, folliküler gelişmeyi etkileyen ve gonadotropinlerin eylemlerini yönlendiren farklı parakrin faktörler salgırlar. TGF- β ailesinin üyeleri arasında ovaryum hücrelerinin parakrin ve otokrin etkinliğinde temel rol oynayan büyüme ve farklılaşma faktörü-9 (Growth and Differentiation Factor-9, GDF9), yaklaşık 51 kilodalton ağırlığında bir proteindir ve diğer transforming growth faktör ailesi proteinleri gibi hücrel etkinlikte, TGF-Smad proteinlerin fosforilasyon yolunu kullanarak, ilgili hücrenin nükleusu düzeyinde etkinliğini göstermektedir (Juengel ve McNatty, 2005).

Oositin fenotipini düzenlemede rol oynayan GDF-9, BMP-6 ve 15; oosit ve çevresindeki kumulus hücrelerinden sentezlenir. Bu fenotipin düzenlenmesi sürecinde oositin sağlıklı olması ve farklılaşarak olgunlaşmasının desteklenmesi yer alır. Kumulus hücreleri ve follikülün lümene bakan hücreleri sayesinde bu farklılaşma düzenlenir. Bu süreç içerisinde oositin salınan faktörlerin kısıtlanması ve oosit kökenli faktörlerin derişim düzeyinin ayarlanması gibi konular yer alır (Juengel ve McNatty, 2005).

İnek ve koyunlarda, primordiyal follikülün erken aşamalarında oosit tarafından GDF-9, BMP-6 ve 15 eksprese edilir (McGrath ve ark., 1995; Jaatinan ve ark., 1999; Bodensteiner ve ark., 1999; Elvin ve ark., 2000; McNatty ve ark., 2001). GDF9, güçlü bir mitogen olarak, granuloza hücrelerinin gen ekspresyonu (gen ifadesi), proliferasyonu ve sonrasında oositin ovulasyonunda, BMP-6 ve BMP-15 ile birlikte sinerjik ve heterodimerik olarak etkinlik gösterir (McNatty ve ark., 2005).

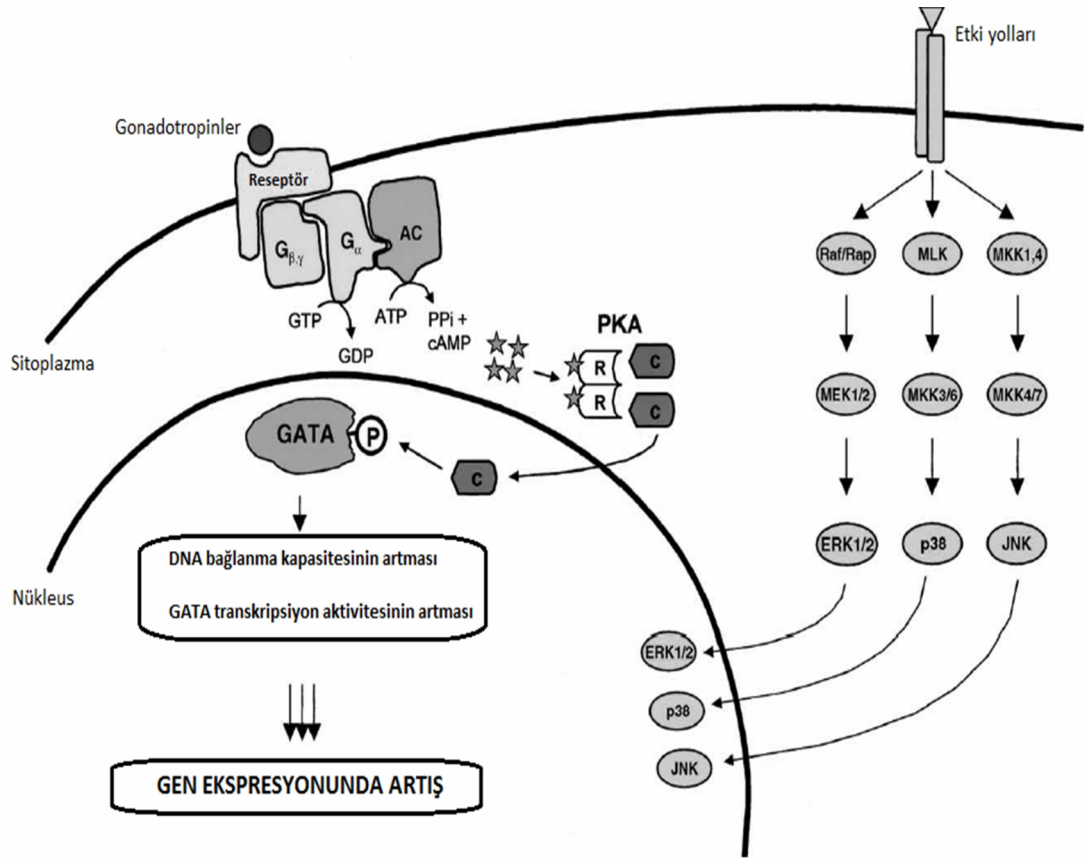
GDF-9'un bloke edildiği rat çalışmalarında, antral follikül yapısının ve ovulasyonun mekanizmasının aksadığı ve hipergonadotropik hipogonadizm gibi endokrinolojik patolojilere rastlanıldığı bildirilmiştir (Dong ve ark 1996). Kısaca, oosit kaynaklı büyüme faktörleri, hem hücre proliferasyonu hem de steroidogenezisi yönlendirmelerinin yanısıra, ovulasyondan önceki süreçte luteinizasyonun aktif baskılayıcıları olarak rol alırlar (McNatty ve ark., 2005).

1.3. GATA Transkripsiyon Ailesi Proteinleri ve Ovaryum Fonksiyonlarındaki Rolü

Transkripsiyon faktörleri deoksiribonükleik asitteki (DNA) genetik bilgiyi okuyup yorumlayan protein gruplarından biridir. Bu faktörler, DNA'ya bağlanarak gen transkripsiyonunun artması veya azalmasını sağlar. Transkripsiyon faktörleri organizmada hücre gelişim ve fonksiyonel süreçte önemli bir konuma sahiptir. Transkripsiyon faktörlerinin başlıca görevleri; bazal transkripsiyon düzenlemesi, gelişme, hücre farklılaşma, hücreler arası sinyallere tepki (cascade-basamaklama), çevreye tepki (ısı, stres) ve hücre siklus kontrolüdür (onkogenler, apoptozis) (Latchman, 1997).

Diğer transkripsiyon faktörlerinde olduğu gibi GATA ailesi proteinleri de, sentez, hedef hücreye (nükleus) taşınma, ligand bağlanması ile etkinleşme, DNA'ya bağlanma yerinin tespiti, bir kompleksin oluşumu için gerekli yardımcı faktörler ile etkileşim ve transkripsiyon işleminin başlaması gibi aşamalar kat ederek asıl fonksiyonel özelliklerini kazanırlar (Tremblay ve Viger, 2003) (Şekil 1.2). Oosit kaynaklı GDF-9 etkisi ile granuloza hücrelerinden salgılanan GATA-4 ve 6, granuloza ve teka hücrelerinde gonadotropin reseptörlerinin oluşması ve gonadotropinlerin bu hücrelerdeki özel gen ekspresyonlarında temel nükleer katalizator görevi yapar. GATA-4 aynı zamanda, anti-apoptotik gen Bcl-X'i (B cell

leukemia-X) aktive ederek granuloza hücrelerini apoptotik etkiden korur. Diğer bir deyimle GATA 4 ve 6, ovaryumda endokrin, parakrin ve otokrin sinyallerin yönlendirilmesinde temel role sahiptir (Tremblay ve Viger, 2003). Granuloza hücrelerinden salgılanan inhibin A ve B heterodimer olup, ovaryumlarda parakrin rol oynamasının yanı sıra, endokrin hormon olarak, hipofiz bezi düzeyinde FSH salınımını baskılar (Knight ve ark., 2012).



Şekil 1.2. GATA proteinlerinin gonadal etkileşim yolları (Tremblay ve Viger, 2003).

GATA proteinleri etkilerini hücre çekirdeği içindeki fosforilasyon yolu ile yapar. GATA fosforilizasyonunun iki sinyal yolu vardır:

a) cAMP/PKA sinyal yolu: hipofiz hormonları hedef hücrelerin membranlarındaki G-proteinleri destekli reseptörlerine bağlanır ve bu bağlantı adenilsiklaz (AC) aktivasyonu ve dolayısı ile ATP'den cAMP üretimini tetikler. cAMP daha sonra

hücre stoplazmasında protein kinase A (PKA)'nın düzenleyici alt ünitesine bağlanır ve bu bağlantı PKA katalitik (C) alt ünitesinin ayrışmasını başlatır ve bu C alt ünite, GATA faktörlerini fosforilize ederek hücre çekirdeğinde onların aktivasyonunu başlatır (Tremblay ve Viger, 2003).

b) Mitojen aktive edici protein kinaz (MAPkinaz) sinyal yolu : GATA 4 aynı zamanda mitogenik etki ve stress sinyalleri ile tetiklenen MAPkinaz sinyal yolu ile aktive olan ERK ve p38 tarafından doğrudan fosforolize edilebilir. PKA sinyal yolu ile GATA-4 ile C/EBP- β ortak hareketliliği StAR promotor olarak eylem gerçekleştirir. PKA sinyal yolunda ayrıca fosforilize GATA-SF1 işbirliği ile aromataz promotor olarak eylem gözlenir. GATA-4 ve 6 ovaryumda ağırlıklı olarak granuloza hücrelerinden ve eser düzeyde teka hücrelerinden salınır (Heikinheimo ve ark., 1997; Laitinen ve ark., 2000). GATA transkripsiyon faktör proteinleri, steroidogenezis aşamasında dokularda farklı genleri hedef alarak bu sürece katkıda bulunurlar (Tremblay ve Viger, 2003) (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. GATA faktörlerinin steroidogenik dokularda potansiyel hedef genleri ve görevleri (Tremblay ve Viger, 2003).

Gen	Görevi
Steroidojenik akut düzenleyici protein (<i>StAR</i>)	Kolesterolün steroidogenez için mitokondriye taşınması
Aromataz PII promotoru (<i>Cyp19</i>)	Androjenin östrojene değişimi
17 β -Hidroksilaz (<i>Cyp17</i>)	Progestin, mineralokortikoid, glucokortikoid, androjen ve östrojenlerin değişimi
Luteinize edici hormon reseptörü (<i>LH-R</i>)	Foliküler maturasyon ve ovulasyon, luteal fonksiyon
21-Hidroksilaz (<i>Cyp21</i>)	Aldosteron ve Kortizol biyosentezi
17 β -Hidroksi steroid dehidrogenaz tip1 (<i>HSD17B1</i>)	Östradiol sentezi ve değişimleri
3 β - Hidroksisteroid dehidrogenaz	Progesteron biyosentezi

1.4. İnsulin Benzeri Büyüme Faktörleri (Insulin Like Growth Factor, IGF)

İnsülin, temel hedef olarak karaciğer, kas ve yağ dokusunda etki gösterir. İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) ise primer olarak karaciğerde sentezlenmesine rağmen birçok doku ve organ fonksiyonlarında önemli görevler alır. IGF'ler embriyonik gelişme sürecinden başlayarak memelilerin tüm yaşamı süresince etkin fonksiyon gösterirler. İnsülin'nin en önemli görevi metabolizmada iken IGF-I başta canlının büyümesi, farklılaşması olmak üzere özellikle gonadal aktivitelerde rol almasıdır (LeRoith ve Roberts, 1993) (Şekil 1.4).

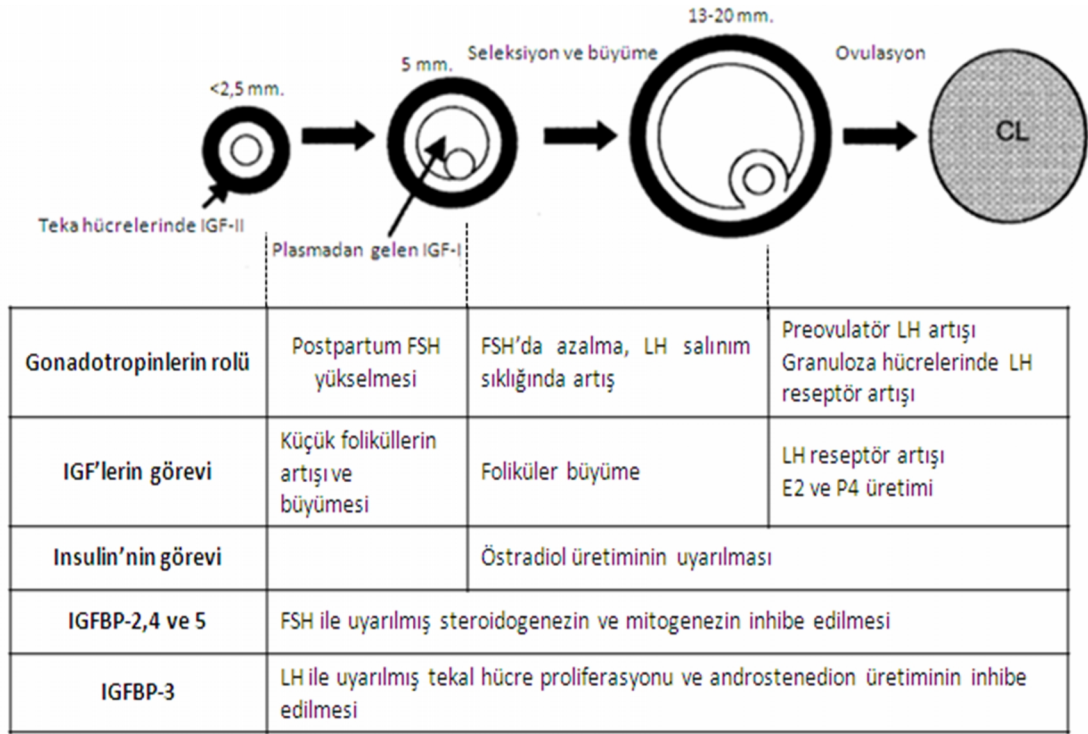
IGF'ler, ineklerde folliküller gelişimin preantral ve antral döneminde önemli role sahiptir. IGF-I, insülin hormonu ve FSH ile birlikte preantral folliküllerin gelişimini uyarırken, IGF-II ekspresyonu ilk olarak folliküler gelişimin LH etkisi altındaki antral dönemde başlar. IGF-I ve IGF-II'nin hücre içi eylemleri lokal olarak üretilen IGF bağlayıcı proteinler (Insulin Like Growth Factor Binding Proteins-IGFBP) tarafından düzenlenir. Folliküler sıvıda IGFBP-2 değişimi ise follikül çapı ile ters orantılıdır. Folliküler sıvıda IGFBP-2 ve 4 düzeyindeki azalış, östradiol konsantrasyonunda artış ve dominant follikülün seçimi ile bağlantılıdır (Armstrong ve ark., 1998; Gutierrez ve ark., 2000).

FSH'nın follikülün granuloza hücrelerinde antiapoptotik, proliferatif, aromataz enzimi üretimi ve LH reseptörlerin oluşması ile karakterize farklılaştırma özellikleri nedeniyle ileri düzeyde FSH etkisi altında bulunan veya FSH uyarılarına en yüksek düzeyde duyarlı follikülün dominant follikül olma özelliği yüksektir (Son ve ark., 2011). Follikül stimüle edici hormon ve IGF-I inek granuloza hücrelerinde proliferasyon, steroid, aktivin ve inhibin üretiminde birbirlerinin etkilerini destekler (Fortune ve ark., 2004; Beg ve Ginther, 2006).

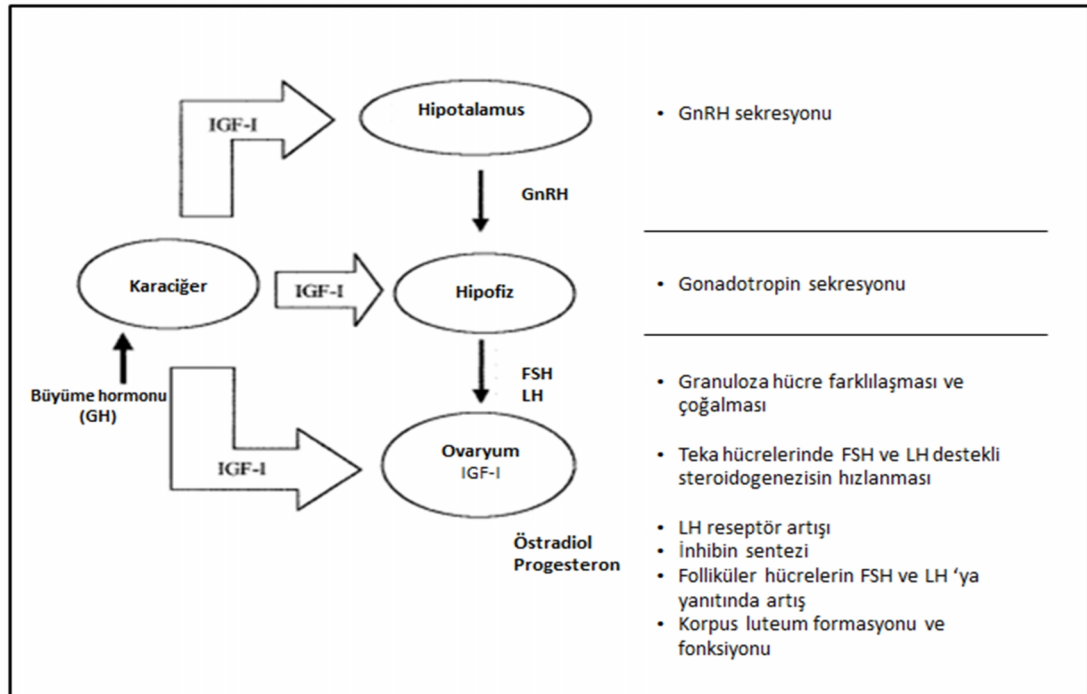
FSH etkisi altındaki dominant follikülde IGF bağlayıcı protein 2,4 ve 5'in bloke edildiği görülmüştür. Bundan dolayı folliküler sıvıda östradiol ve IGF bağlayıcı protein düzeyine bakılarak dominant aşamaya geçecek follikül belirlenmesi mümkün olabilmektedir (Schams ve ark., 1999).

Dominant follikül seçiminde ayrıca, AKT (protein kinase B) ve ERK (ekstra selüler düzenleyici kinaz) tarafından organize edilen biyokimyasal yolların etkili olduğu düşünülmektedir. Kısaca, dominant aşamasına geçecek sığır folliküllerinin granuloza hücrelerinde ayrışmanın başlamasından birkaç saat önce LH reseptörü ile ilgili mRNA salınımının arttığı, IGF bağlayıcı protein düzeyinin düştüğü, inhibin ve östradiol düzeyinin yükselmeye başladığı, hücre proliferasyonu ve antiapoptotik aktivitenin arttığı gözlenmiştir (Mazerbourg ve ark., 2003; Quirk ve ark., 2004; Liu, 2007).

Folliküller büyüdükçe IGF eylemleri artmaktadır (Şekil 1.3). IGF-I'in sirkülasyondaki konsantrasyonu arttıkça, folliküler büyüme de artmaktadır (Nicholas ve ark., 2002). İnek ve koyunlarda, IGF'ler, insulin ile birlikte oosit kaynaklı GDF-9 ve BMP-6 ve BMP-15'in etkisi altında follikülün somatik hücrelerinden salgılanırlar (Webb ve ark., 2007, Scherzer ve ark., 2009). Plazma IGF-I seviyesi doğrudan enerji durumu ve karaciğer sağlığı ile ilişkilidir (Zulu ve ark., 2002a). IGF-I, folliküler gelişim için kritik öneme sahiptir (Butler, 2000). Postpartum ovulasyona uğrayan dominant folliküle sahip ineklerin ilk 2 hafta boyunca plazma IGF-I seviyesi anovülatör folliküle sahip ineklerden %40-50 oranında daha yüksek olarak belirlenmiştir. Plazma östradiol derişimleri plazma IGF-I derişimleri ile de yakın ilişkilidir (Beam ve Butler, 1997).



Şekil 1.3. Follikülogenezis ve ovulasyon sürecinde IGF sisteminin görevleri (Wathes ve ark., 2003).



Şekil 1.4. İneklerde reproduktif eksen de IGF-I'in etkileri (Zulu ve ark., 2002a)

Entansif süt ineği yetiştiriciliği yapılan işletmelerde, profesyonel bakım ve besleme stratejileri uygulanmasına rağmen, son yıllarda verim özelliklerinin artması ile birlikte indisensi de artan, fertilite parametrelerini (zellikle doğum-yeniden gebe kalma aralığı) olumsuz yönde etkileyen, sağaltım maliyetleri gibi önemli ekonomik kayıplara neden olan ovaryumların folliküler kistlerinin etiyolojisinde nedenleri ortaya koymak adına günümüze kadar çok yönlü bilimsel çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda gonadotropinlerin etkileri, steroid ilişkili kist oluşum hipotezleri, hipotalamus-hipofiz-gonadlar ekseninde geri tepki (feed-back) mekanizmaları ve etkileşimleri, beslenmenin kist oluşumuna etkisi gibi kist oluşum süreçlerine etki eden çok sayıda faktör incelenmiş olsa da günümüzde ineklerde ovaryumların folliküler kistlerin etiyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Son yıllarda folliküler kistlerin etiyopatogenezi, follikül içi lokal faktörlerin etkileşimi ve bu faktörlerin genel metabolik regülatör mekanizmalar ile ilişkisinin olduğu ve çalışmaların bu yönde fayda sağlayacağı ileri sürülmektedir.

Sunulan doktora tez çalışmasında, yüksek metabolik faaliyetler gösteren süt ineklerinde, fizyolojik süreçte ovaryum içi regülatör mekanizmalarda önemli rolleri olan ve kistik ovaryum dejenerasyonlarının etiyopatogenezi de etkisi olduğu düşünülen follikül içi GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I ve IGF-II'nin kistik ve sağlıklı dominant folliküllerdeki ekspresyon düzeylerinin postpartum involüsyon, ovaryum aktivitesi ve puerperal fizyoloji çerçevesinde karşılaştırılmalı olarak araştırılması amaçlandı.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. GEREÇ

2.1.1. Hayvan Materyali

Bu doktora tez çalışması; Bursa-Karacabey Yöresinde, Ekim 2010- Mart 2011 arasında entansif süt inekçiliği yapan ticari bir işletmede gerçekleştirildi. Hayvan materyali olarak en az 1, en fazla 4 doğum yapmış postpartum süreçteki sağmal *Holstein* ırkı inekler kullanıldı. İşletmedeki inekler verim özelliklerine ve yaşlarına göre ayrı bölmelerde barındırılmaktaydı.

2.1.2. Ultrasonografi Cihazı

Ovaryum ve uterus muayenelerinde Real-time B mode özelliğinde olan ALOKA® PS2 marka ultrason cihazı ve 5-7,5 megahertz aralığında çalışan lineer transrektal prob kullanıldı. Kist ve folliküler sıvı aspirasyonu için, otomatik ve manuel aspirasyon kabiliyetine sahip, 137 derecelik görüş açısı olan 6-7,5 MHz aralığında çalışan transvaginal mikrokonveks probu bulunan ovum pick up cihazı kullanıldı. Muayeneler sırasında görüntüler cihazın kendi veri depolayıcısına kayıt edildi. Kayıt edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarılarak değerlendirildi.

2.1.3. Laboratuvar, Alet ve Malzemeleri

Çalışma süresince folliküler sıvıların western blot analizleri ve sıvılarda IGF-I düzeylerinin ölçümü Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, western blot sonrası görüntülerin röntgen filmine aktarılma işlemi ise Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Radyoloji Ünitesi'nde gerçekleştirildi.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Gruplandırma

Çalışmada, işletmede doğum yapan her ineğe postpartum 14. günden itibaren on günlük aralıklarla yapılan düzenli jinekolojik muayeneler ile ovaryum aktiviteleri izlendi. Kistik folliküllerin tanısı Day'ın (1991) tanımlamasına göre yapıldı. Buna göre, postpartum süreçte, ovaryumlarında on günlük aralıklarda yapılan muayenede kalıcı halde olan, çapı 2,5 cm ve üzerinde folliküler yapıya sahip inekler kist grubunu (n= 10), çapı 1,5-2,0 cm arasında ve fizyolojik preovulator folliküler yapıya sahip ve östrusun klinik bulgularını gösteren inekler kontrol grubunu (n=10) oluşturdu.

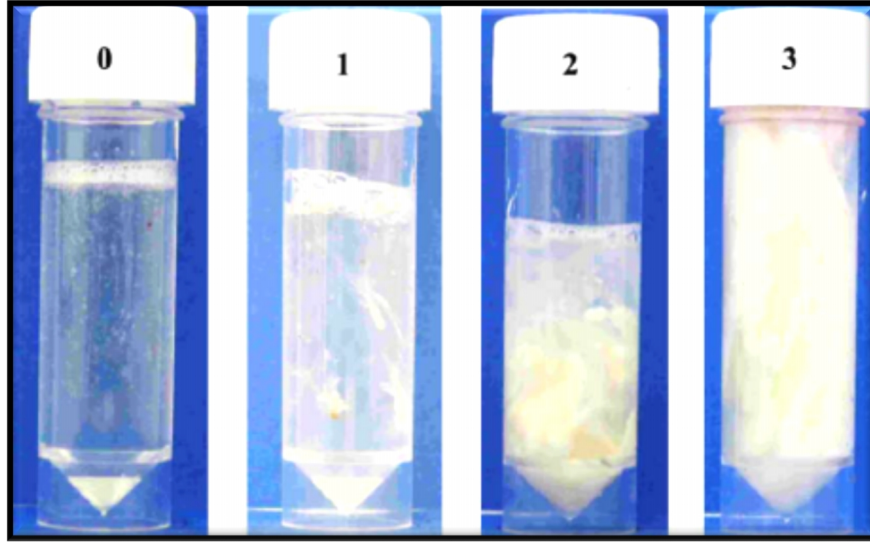
2.2.2. Jinekolojik Muayeneler

Postpartum süreçte, 14. günden başlayarak iç genital organların (ovaryumlar, kornu uteriler, korpus uteri ve serviks uteri) rektal palpasyonu ve ultrasonografik kontrolleri ile puerperal dönem izlendi. Ultrasonografik değerlendirmelerde artefaktların önlenmesi amacı ile muayenelerden önce rektum boşaltıldı. Kornu uteri çapı ölçümünde, rektal prob, kornu uterinin korpus uteriye yakın 1/3'lük kesitinde kornu uterilerin dorsal yüzeyine (curvatura major) dorso ventral pozisyonda yerleştirilerek endometrium ve stratum vascularis tabakalarını içine alan, alt ve üst seroza tabakaları arasındaki mesafe ölçülerek kayıt edildi (Kamimura ve ark., 1993). Muayeneler sırasında ineklerin her iki ovaryumunda yer alan 8 mm ve daha büyük folliküller kayıt altına alındı.

2.2.3. Vaginal Akıntıların Skorlanması

Postpartum süreçte her iki grupta da yapılan muayeneler sırasında vaginal akıntılar Williams ve ark'na (2005) göre değerlendirilerek kayıt altına alındı. Bu amaçla; şeffaf ve temiz mukus 0, akıntıda hafif içerik ve flakonların bulunması 1, % 50'den

daha az oranda koyu ve kirli mukoprlent içerik 2 ve % 50'nin üzerinde beyaz ya da sarı prulent içeriğin skoru ise 3 olarak değerlendirildi (Resim 2.1). Çalışma gruplarında her muayene döneminin skorunun olgu sayısı ile matematiksel çarpımı sonucu gruplara ait toplam puanlar hesaplandı.

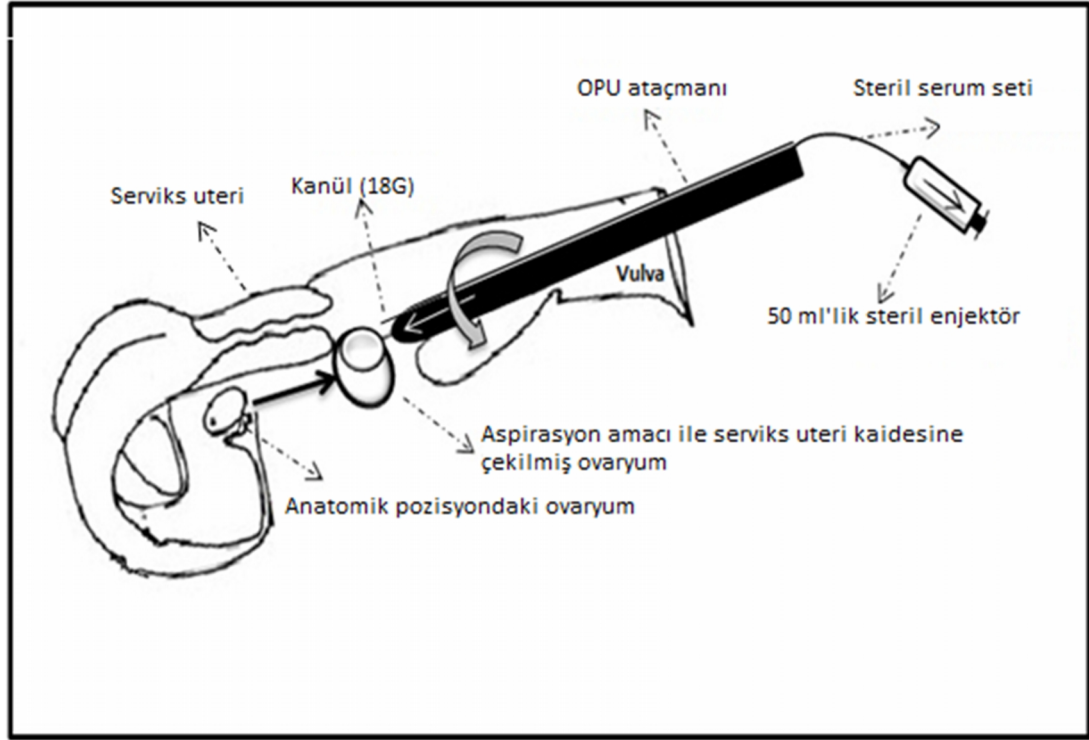


Resim 2.1. Vaginal akıntı skorlarının değerlendirmesinde kullanılan referans bulgular (Williams ve ark., 2005).

2.2.4. Folliküler Sıvı Aspirasyonu

Folliküler sıvı aspirasyonu transvaginal yolla Ovum Pick Up (OPU) yöntemi kullanılarak yapıldı (Seneda ve ark., 2003). Aspirasyon işleminden önce vulva ve perineum, ılık su ile yıkandıktan sonra % 0.5'lik benzalkolyum klorid ile antiseptisi sağlandı. Follikül aspirasyonu amacıyla 6 cm uzunluğunda ve 18 G kalınlığında kanüller kullanıldı. Aspirasyon sırasında rektovaginal palpasyon ile tespit edilen ovaryum, serviks kaidesinin latereline kadar çekildi ve aspire edilecek aktif yapı (preovulatör veya kistik follikül) prob ve kanül ile karşılaşılabilecek şekilde, uygun pozisyona getirildi (Şekil 2.1). Aspirasyon anında, bir yardımcının kontrolünde olan tübüler stileye adapte edilmiş, yaklaşık 30 cm uzunluğundaki steril serum setine bağlanmış 50 ml'lik steril plastik enjektörün pistonu, ultrason eşliğinde eş zamanlı

olarak follikül punksiyonu yapıldığı anda yavaş bir basınçla çekilerek folliküler sıvılar toplandı. Folliküler sıvılar, katkısız serum tüplerine aktarılarak (BD Vacuteiner®-365815) 1300 g'de 10 dakika santrifuj edildi ve analizler yapılana kadar -20°C'de saklandı.



Şekil 2.1 Folliküler sıvı aspirasyonu demonstrasyonu.

2.3. Sodyum Dodesil Sülfat-Poli Akrilamid Gel Elektrophorezis (SDS-PAGE) ve Western Blot Yöntemleri

Follikül sıvısı örneklerine GDF-9, GATA-4, GATA-6 ve IGF-II proteinlerini belirlemek amacı ile kullanılan SDS-PAGE methodu, Reynolds ve Tanford'un (1970) bildirdikleri şekilde uygulandı. Elektrophorez camları etanolle temizlendikten sonra, alüminyum plakalar ile aralarında spacer kullanılarak (0.75 mm) birleştirilip, yanlardan sıkıştırıldı ve caster üzerine yerleştirildi. Sonra %12.5'lük çözücü,

koşturucu jel (resolving-running gel) hazırlanarak polimerleşmesi beklendi. Üzerine n-butanol konularak jel zemini düzeltildi. Donan jel, saf su ile yıkanarak üzerine yığınlaştırıcı (stacking gel) jel döküldü ve onlu tarak yerleştirildi. Jelin donması beklendi, donduktan sonra tarak çıkartıldı ve numuneler jele 7 µl hacimde yüklendi. Elektroforez için vertikal mini jel elektroforezi kullanıldı (Amherham Biosciences[®], SE260). Numuneler stacking jeli geçene kadar her bir jel için güç kaynağı 10 mA ayarlandı (Amherham[®] Pharmacia Biotech Electrophoresis power supply EPS 301), geçtikten sonra da 20 mA akım uygulandı ve yürütme işlemi numunelerin jelin sonuna ulaşmasına kadar devam ettirildi. Elektroforez ve western blot işlemlerinde kullanılan çözeltiler ve içerikleri çizelge 2.1’de sunuldu.

Çizelge 2.1. Elektroforez ve western blot işlemlerinde kullanılan çözeltiler ve içerikleri

Solüsyon	İçeriği
Monomer Çözeltisi	60g Akrilamid (FW 71.08), 1.6g Bisakrilamid (FW 154.2), ddH ₂ O ile 200ml’ye tamamlandı
Running (Koşturucu) Jel Tamponu	36.3g Tris (FW 121.1), 150ml ddH ₂ O eklendi, HCl ile pH 8.8’e ayarlandı. 200ml’ye ddH ₂ O ile tamamlandı
Koşturucu Jel Çözeltisi	12.5 ml Monomer Çözelti, 7.5 ml 4x Koşturucu Jel Tamponu, 0.3 ml %10 SDS, 9.6 ml dd H ₂ O, 300 µl %10 Amonyum persulfat, 20 µl TEMED
Transfer Tamponu (Dune Carbonate Buffer)	0,084g 1mM NaHCO ₃ , 0,318g 3mM Na ₂ CO ₃ , %20 Metanol (pH 9.9)
Tris tamponlu tuz-Tween (TBST)	100 ml TBS, 50µl Tween-20
Bloklama tamponu	5g süt tozu, TBST ile 100 ml’ye tamamlandı

SDS-PAGE sonucu elde edilen jel ebatlarında kesilmiş 0.22 µm pora sahip nitroselüloz membran (Nitrocellulose Pure Transfer Membrane, Santa Cruz Biotechnology®), birkaç dakika saf suda ıslatıldı ve sonrasında transfer tamponunda transfer başlayana kadar bekletildi. Bir kap içerisine blot kağıtları (Hybond blotting paper, Santa Cruz Biotechnology®) transfer tamponu ile ıslatıldı. Transfer cihazına (Hoefer Semiphor®, TE70) ilk olarak blotlama kağıdı, sonra membran, jel ve tekrar blotlama kağıdı aynı hizada yerleştirildikten sonra sonuçların görüntülenmesinde olumsuzluk oluşturabilecek hava kabarcıkları rulo ile uzaklaştırılarak jel ve membranın fiziksel temasları güçlendirildi. Daha sonra cihazın üst kapağı kapatılarak tanka yerleştirildi. 120 mA’de 2 saat süre ile jeldeki proteinlerin membrana transferi sağlandı. Transfer sonrası nitroselüloz membran, % 5’lik yağsız süt tozu ile nonspesifik bağlanmaları önlemek için bir gece buzdolabında (+4°C) bloklandı. Membranlar Tris tamponlu tuz-tween (TBST) ile bir kere yıkandıktan sonra, TBST içerisine primer antikor (Çizelge 2.2) 1:10000 oranında eklenerek oda sıcaklığında 2 saat çalkalayıcıda inkube edildi. Primer antikor inkubasyonu sonrasında membran 15 dakika süre ile 3 defa TBST ile yıkandı. Yıkama sonrasında membran sekonder antikorla 2 saat çalkalayıcıda inkube edildi. Sekonder antikor inkubasyonu sonrası membran 15 dakika süre ile 3 defa TBST ile yıkandı.

Çizelge 2.2. Western blot analizlerinde kullanılan primer ve sekonder antikorlar ve sulandırma oranları.

Primer antikor	Sulandırma	Sekonder Antikor	Sulandırma
GATA-4,Santa Cruz Biotechnology®,C-20,sc-1237	1:10000	Bovine anti-goat IgG-HRP: sc-2350	1:7000
GATA-6,Santa Cruz Biotechnology®,C-20,sc-7244	1:10000	Bovine anti-goat IgG-HRP: sc-2350	1:7000
GDF-9,Santa Cruz Biotechnology®,C-18, sc-12244	1:10000	Bovine anti-goat IgG-HRP: sc-2350	1:7000
IGF-II Santa Cruz Biotechnology®,N-20, sc-1415	1:10000	Polyclonal goat anti mouse IGF-II	1:7000

2.3.1. Western Blot Görüntülerinin Röntgen Filmine Aktarılması ve Görüntü Alınması

Primer ve sekonder antikor inkubasyonu sonrası yıkanan membranlar prosedüre göre hazırlanan (her cm² membran için 0.125 ml ayıraç) ve kemiluminasan bir madde olan luminol ayıraç (Santa Cruz Biotechnology®) çözeltisi ile inkubasyona bırakıldı. Oda ısısında 1 dakika beklendi. Bekleme işleminden sonra luminolün fazlası döküldü. Membranda bantların olduğu kısım üstte kalacak şekilde ve plastikle membran arasında hava kabarcığı kalmayacak ve kırışıklık oluşmayacak şekilde plastik dosya içine yerleştirildi. Plastik dosya içinde hazırlanan membran, protein kısmı üstte kalacak şekilde röntgen kasetinin içine yerleştirildi. Karanlık odada kaset içine film yerleştirildikten sonra 1 dakika beklendi. Daha sonra röntgen filmine, usule uygun olarak, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Radyoloji Ünitesinde banyo işlemi uygulanarak protein bantları elde edildi.

2.3.2 Western Blot Görüntülerinin Dansitometrik Ölçümü

Western blot yöntemi ile röntgen filminde belirlenen GDF-9, GATA-4, GATA-6'nın pozitif antijenik bantlarına ait görüntüler tarayıcı (Bio-Rad®, GS-800 Calibrated Dansitometer) ile bilgisayar ortamına aktarıldı. Elde edilen pozitif reaksiyonlar bilgisayar ortamında Quantity One (BioRad®) yazılımı ile dansitometrik olarak değerlendirilerek kist ve kontrol grubuna ait bantların ölçümleri matematiksel değerler (optik dansite) olarak kayıt altına alındı.

2.4. Follikül sıvısı IGF-I analizleri

Kist ve kontrol gruplarında aspire edilen follikül sıvılarında IGF-I miktarları ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) tekniği ile ticari kit kullanılarak ölçüldü (Cusabio®, CSB-E08893b). Numunelere ait absorbans değerler ELISA MAT-2000®

mikro plate okuyucu cihazı ile 450 nm’de ölçüldü. Absorbans değerleri, Ridawin® paket programı ile nanogram / mililitre olarak hesaplandı.

2.5. İstatistik Analiz

Önemlilik testlerine geçilmeden önce tüm veriler parametrik test varsayımları yönünden incelendi. Parametrik test varsayımlarından normallik, Shapiro Wilk testi ile, varyansların homojenliği ise Levene testi ile kontrol edildi. Bu sonuçlara göre parametrik test varsayımlarını sağlayan değişkenler için kistik ve dominant gruplar arası farkın ölçüm bulgularının önemlilik testinde student t test kullanıldı. Parametrik test varsayımlarını sağlamayan değişkenler için ise bu iki grubun karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi uygulandı. Aynı hayvanlardan farklı zamanlarda alınan süt örneklerinin kistik ve dominant gruplarında ayrı ayrı olmak üzere zamana göre incelenmesinde tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Tüm sonuçlar minimum %5 hata payı ile incelendi. İstatistiksel hesaplamalarda SPSS® 14.1 paket programından yararlanıldı.

3. BULGULAR

İneklerde önemli ekonomik kayıplara neden olan folliküler kistlerin etiyopatogenezinde etkili olduğu düşünülen follikül içi bazı büyüme faktörlerinin (GDF-9, GATA-4 ve GATA-6) ekspresyon düzeyleri, follikül içi IGF-I miktarları ve uterus involüsyonu, ovaryumlardaki folliküler gelişimler, vaginal akıntı skorları ve süt verimi bulguları irdelenerek, kist ve kontrol grupları arasında karşılaştırmalı olarak Çizelge, Şekil ve Resim olarak sunuldu. Çalışma gruplarının uterus ölçüm bulgularında gebe kornu uteri dikkate alınarak sunulurken, ovaryumlardaki folliküler yapıların ölçüm bulguları ise muayene gününde belirlenen en büyük follikül çapı olarak ifade edildi.

3.1. Postpartum Süreçte Serviks ve Kornu Uteri İnvolüsyonu ve Ovaryum Folliküler Aktivite Bulguları

3.1.1. Serviks Uteri ve Gebe Kornu Uteri'nin Ultrasonografik İnvolüsyon Bulguları

Gereçte tanımlanan *Holstein* ırkı ineklerin postpartum süreçte (14, 24, 34, 44 ve 54. günler) on günlük aralıklarla yapılan muayenelerinde kist ve kontrol gruplarında elde edilen serviks uteri ve kornu uterilerin ultrasonografik ölçüm değerleri Çizelge 3.1'de, bu değerlerin grafiksel ifadeleri ise Şekil 3.1 ve 3.2'de gösterildi. Kist ve kontrol gruplarında bazı olguların farklı postpartum günlerde elde edilen ultrasonografik serviks uteri ve kornu uteri görüntüleri ise Resim 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'te sunuldu. Çizelge 3.1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi, kist ve kontrol grupları arasında gerek kornu uteri gerekse serviks uteri involüsyonlarında istatistiksel önem arz edecek bir fark bulunamamakla birlikte, kist grubunda postpartum 54. günde uterus ölçüm değerleri kontrol grubuna göre daha büyük

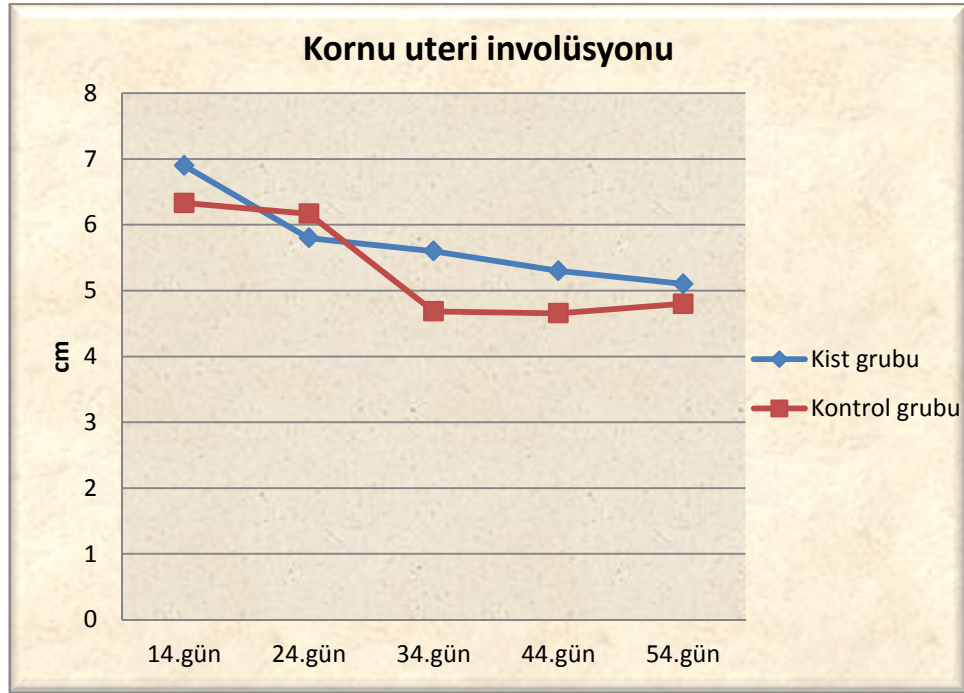
bulundu ($p>0.05$). Her iki gruba ait olan ineklerde uterus involüsyon sürecinin paralel seyrettiği gözlemlense de, kist grubunda involüsyon hızının daha yatay bir eğri ile gerçekleştiği belirlendi (Şekil 3.1).

Çizelge 3.1. Kornu uteri ve serviksın ultrasonografik ölçüm bulguları.

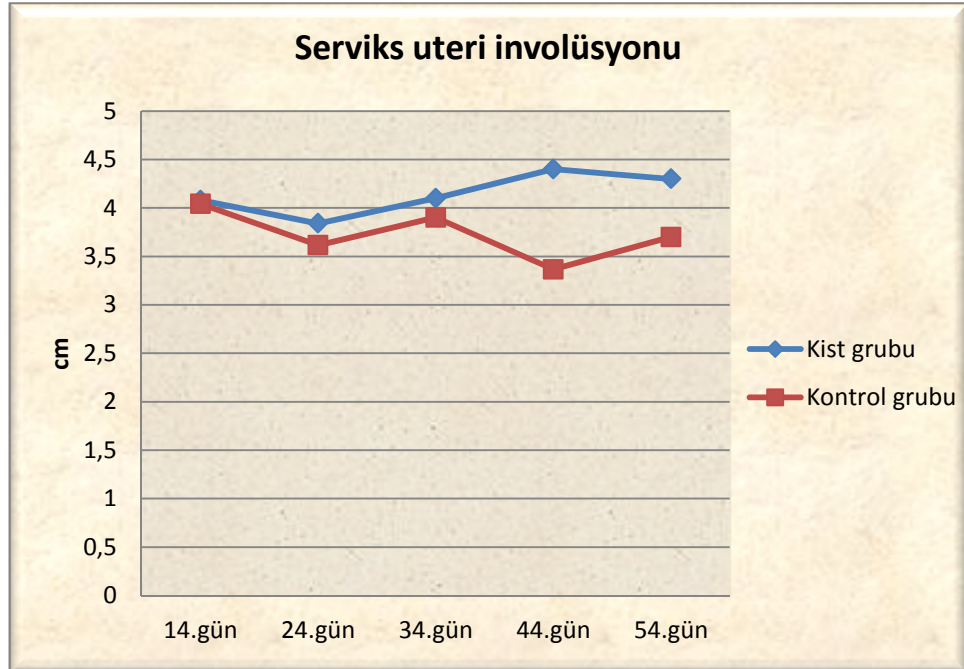
Muayene günleri (postpartum günler)	Serviks Uteri (cm) ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)		Kornu Uteri (cm) ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	
	Kist Grubu (n=10)	Kontrol Grubu (n=10)	Kist Grubu (n=10)	Kontrol Grubu (n=10)
14. gün	4,08 $\pm$ 0,36 ^a	4,04 $\pm$ 0,19 ^a	6,90 $\pm$ 0,67 ^a	6,33 $\pm$ 0,50 ^a
24. gün	3,84 $\pm$ 0,39 ^a	3,62 $\pm$ 0,33 ^a	5,80 $\pm$ 0,62 ^b	6,46 $\pm$ 0,52 ^b
34. gün	4,14 $\pm$ 0,33 ^a	3,90 $\pm$ 0,21 ^a	5,60 $\pm$ 0,48 ^c	4,65 $\pm$ 0,17 ^c
44. gün	4,42 $\pm$ 0,41 ^b	3,37 $\pm$ 0,21 ^a	5,30 $\pm$ 0,43 ^d	4,65 $\pm$ 0,33 ^d
54. gün	4,36 $\pm$ 0,41 ^b	3,70 $\pm$ 0,14 ^a	5,10 $\pm$ 0,44 ^e	4,80 $\pm$ 0,28 ^e

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harfler taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

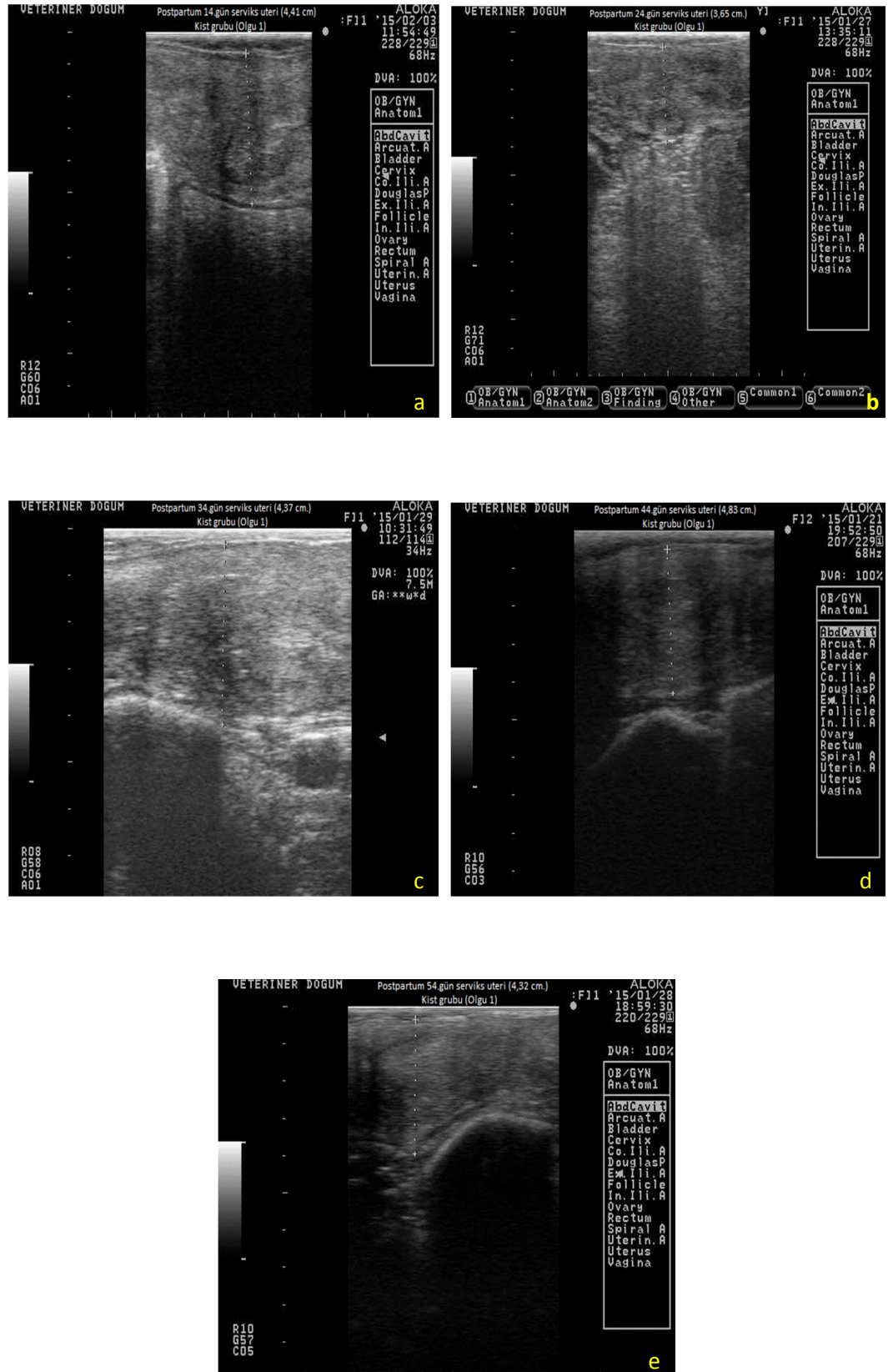
Kist ve kontrol gruplarında postpartum süreçte serviks uteri ölçümlerinde Şekil 3.2’de görüldüğü gibi, her iki grubun ölçümlerinin grafiksel seyirleri postpartum 24. güne kadar paralel bir seyir gösterirken; kist grubunda, postpartum 24.-34 günlerden sonra belirgin bir şekilde artış belirlendi (Şekil 3.2), bu artışın postpartum 44. ve 54. günlerdeki ortalama değerleri 14., 24. ve 34. günlere göre istatistik açıdan önemli bulundu ($p<0.05$). Postpartum muayene günlerine göre serviks uteri çap ölçümleri değişim oranlarında hem gruplar arası hem de grup içi belirgin bir farklılık belirlenemese de kist grubunun serviks uteri ölçümlerinin kontrol grubuna göre daha büyük olduğu gözlemlendi.



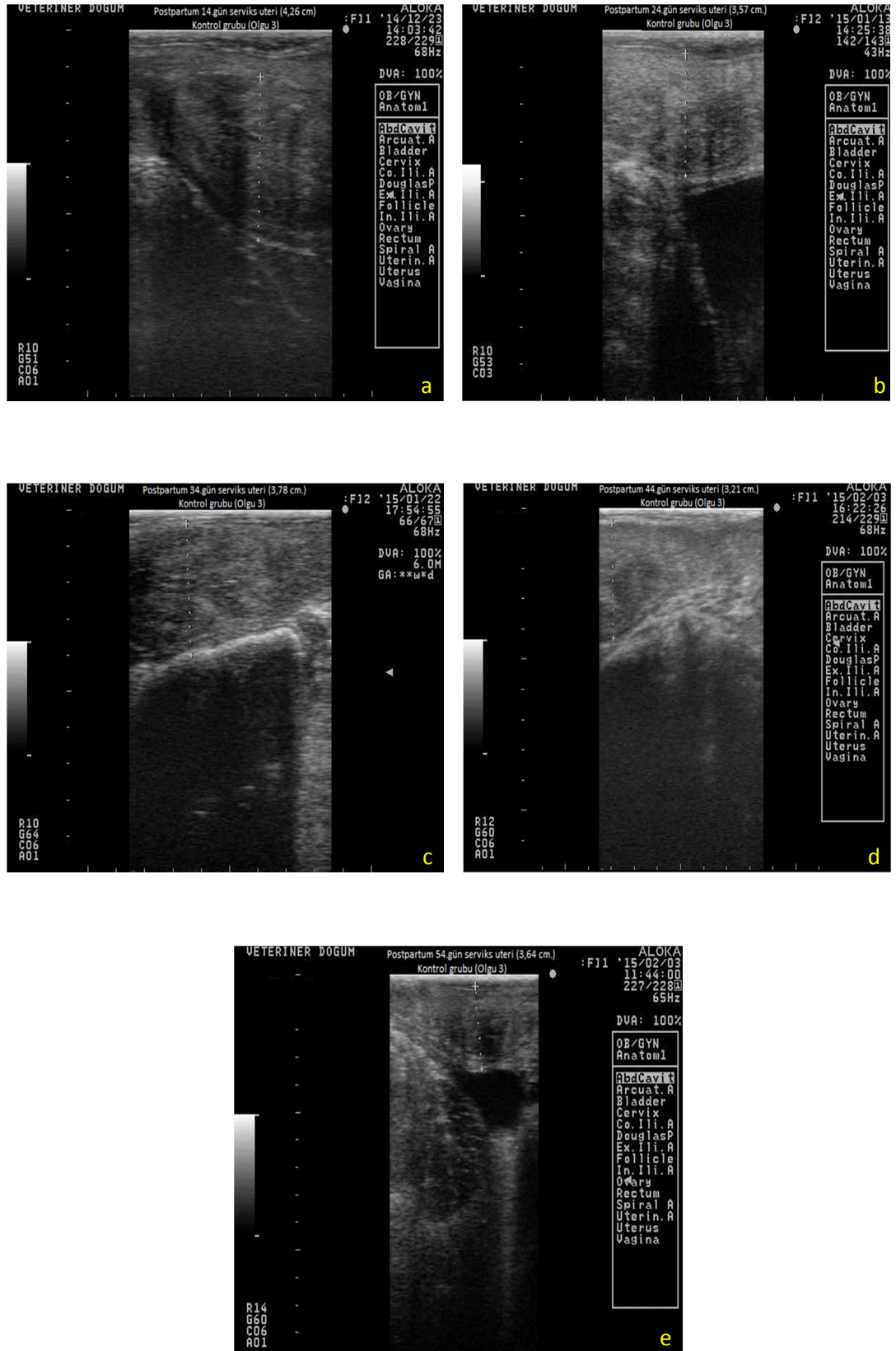
Şekil 3.1. Postpartum günlerde gebe kornu uteri involüsyon eğrisi.



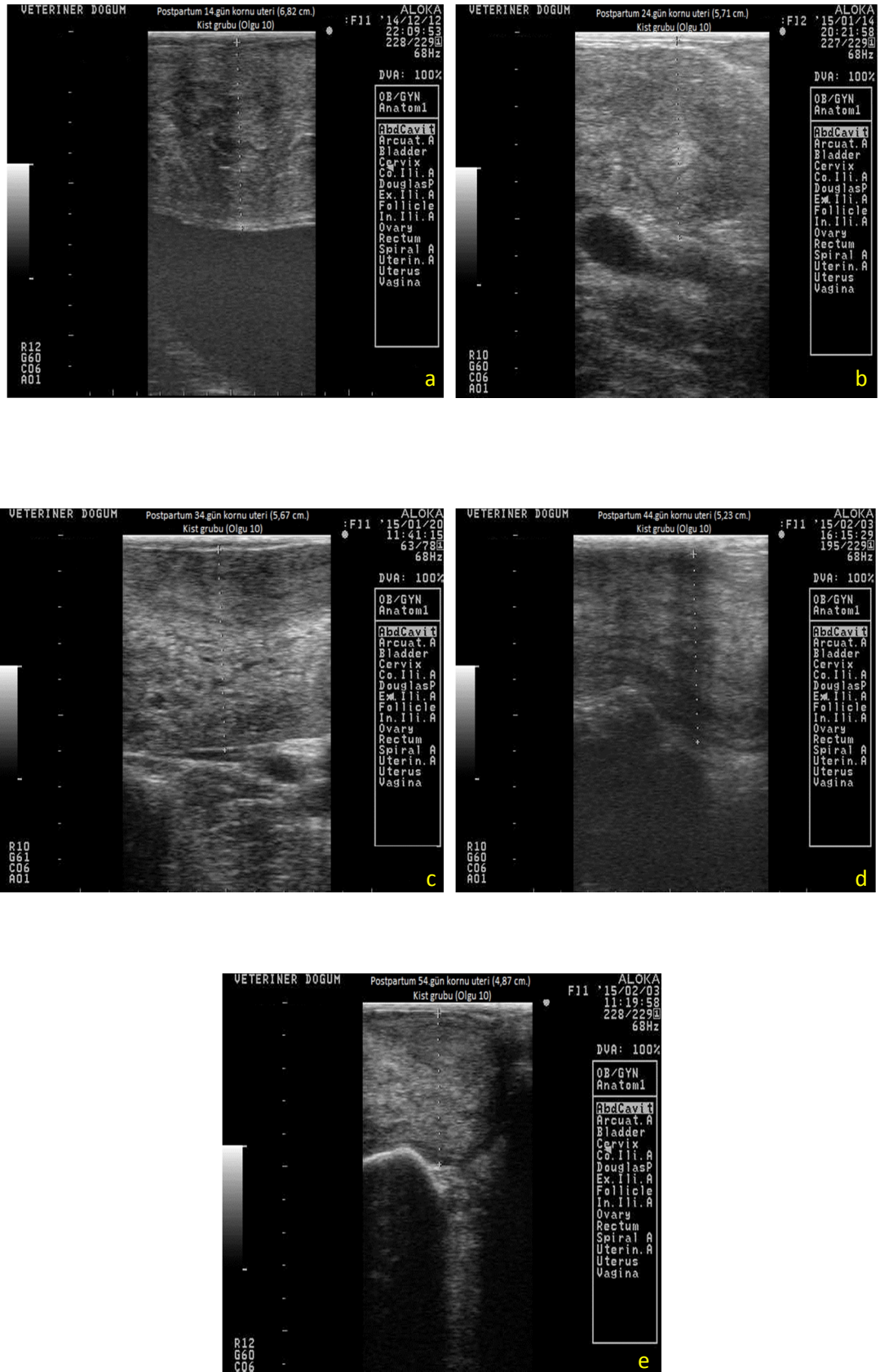
Şekil 3.2. Postpartum günlerde serviks uteri involüsyon eğrisi.



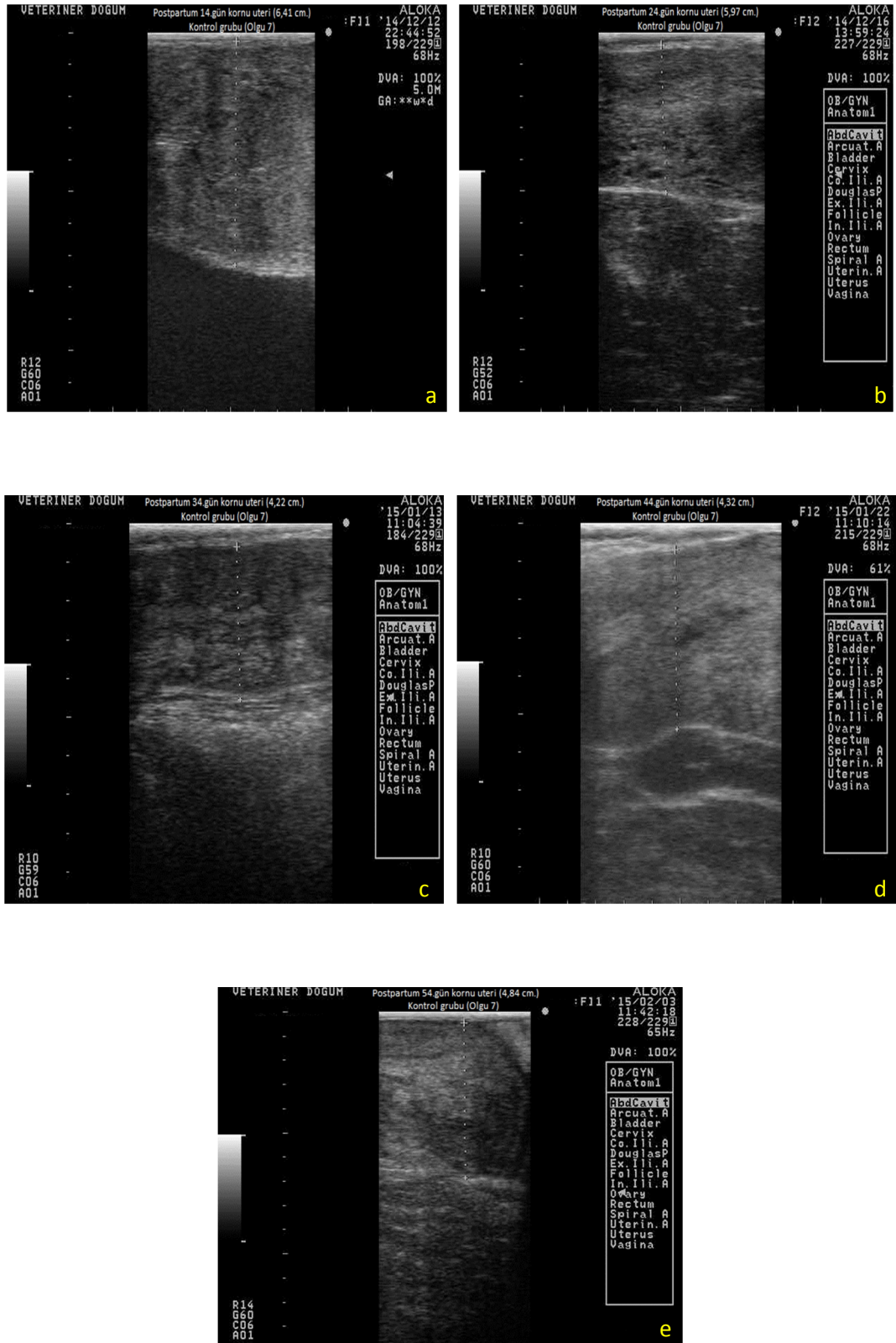
Resim 3.1. Postpartum günlerde kist grubunda (Olgu 1) serviks uterusunun ultrasonografik ölçüm bulguları (a: 14. gün, b: 24. gün, c: 34. gün, d: 44. gün, e: 54. gün).



Resim 3.2. Postpartum günlerde kontrol grubunda (Olgu 3) serviks uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları (a: 14. gün, b: 24. gün, c: 34. gün, d: 44. gün, e: 54. gün).



Resim 3.3. Postpartum günlerde kist grubunda (Olgu 10) kornu uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları (a: 14. gün, b: 24. gün, c: 34. gün, d: 44. gün, e: 54. gün).



Resim 3.4. Postpartum günlerde kontrol grubunda (Olgu 7) kornu uterinin ultrasonografik ölçüm bulguları (a: 14. gün, b: 24. gün, c: 34. gün, d: 44. gün, e:54. gün).

3.1.2. Postpartum Süreçte Ovaryum Muayene Bulguları

3.1.2.1. Postpartum 14. günde Kist ve Kontrol Gruplarında Ultrasonografik Ovaryum Muayene Bulguları

Postpartum 14. günde yapılan muayenelerde, bazı olgularda ovaryumların kornu uteriler ile birlikte pelvik çatıdan aşağıya doğru sarkık olması nedeni ile ovaryumların muayenesinde güçlüklerle karşılaşıldı. Bu sebepten dolayı, kist grubunda 3, kontrol grubunda ise 2 olguda ovaryumların ultrasonografik değerlendirmesi yapılamadı. Kist ve kontrol gruplarında bu dönemde ovaryumlara ait bazı ultrasonografik muayene görüntüleri Resim 3.5 ve 3.6’da sunuldu.

Kist grubunda bu muayene döneminde ovaryumlarda 8 mm’den büyük follikül sayıları 2 ile 4 adet arasında değişmekteydi. Bu grupta, belirlenebilen en büyük folliküler çap 1,98 x 1,72 cm, en küçük çap ise 1,18 x 1,18 olarak tespit edildi (Çizelge 3.2). Follikül popülasyonunun her iki ovaryuma da eşit dağıldığı gözlemlendi. Kontrol grubunda en büyük follikül çapı ise 1,52 x 1,30 cm olarak belirlendi. Kontrol grubunda kist grubundan farklı olarak postpartum 14. günde iki olguda korpus luteum belirlendi ve bu iki olguda erken dönem ovulasyonların olduğu tespit edildi (Çizelge 3.3).

Çalışma metoduna göre kist ve kontrol gruplarının bu dönemde yapılan ovaryum muayenelerinde follikül sayıları açısından bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Postpartum 14. günde gruplar arasında elde edilen en büyük follikül çapları kist grubunda ortalama $1,83\pm0,22$ cm; kontrol grubunda ise ortalama $1,34\pm0,18$ cm olarak belirlendi. Follikül çaplarındaki bu gruplar arası fark, istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0.01$).

Çizelge 3.2. Kist grubu postpartum 14. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

Olgu No.	Folikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	Palpe edilemedi*	Palpe edilemedi*	-	-	-
2	Palpe edilemedi*	Palpe edilemedi*	-	-	-
3	Palpe edilemedi*	Palpe edilemedi*	-	-	-
4	2	1	0,6-0,8	1,92 x 1,89	-
5	2	2	0,6-0,8	0,6-0,8	-
6	1	3	0,6-0,8	1,98 x 1,72	-
7	3	3	0,6-0,8	1,18 x 1,18	-
8	2	3	1,98 x 0,92	0,6-0,8	-
9	2	4	1,69 x 1,52	-	-
10	3	2	0,6-0,8	1,54 x 1,44	-
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	2,14 $\pm$ 0,26	2,37 $\pm$ 0,20	1,83 $\pm$ 0,22	1,65 $\pm$ 0,19	

KL: Korpus luteum

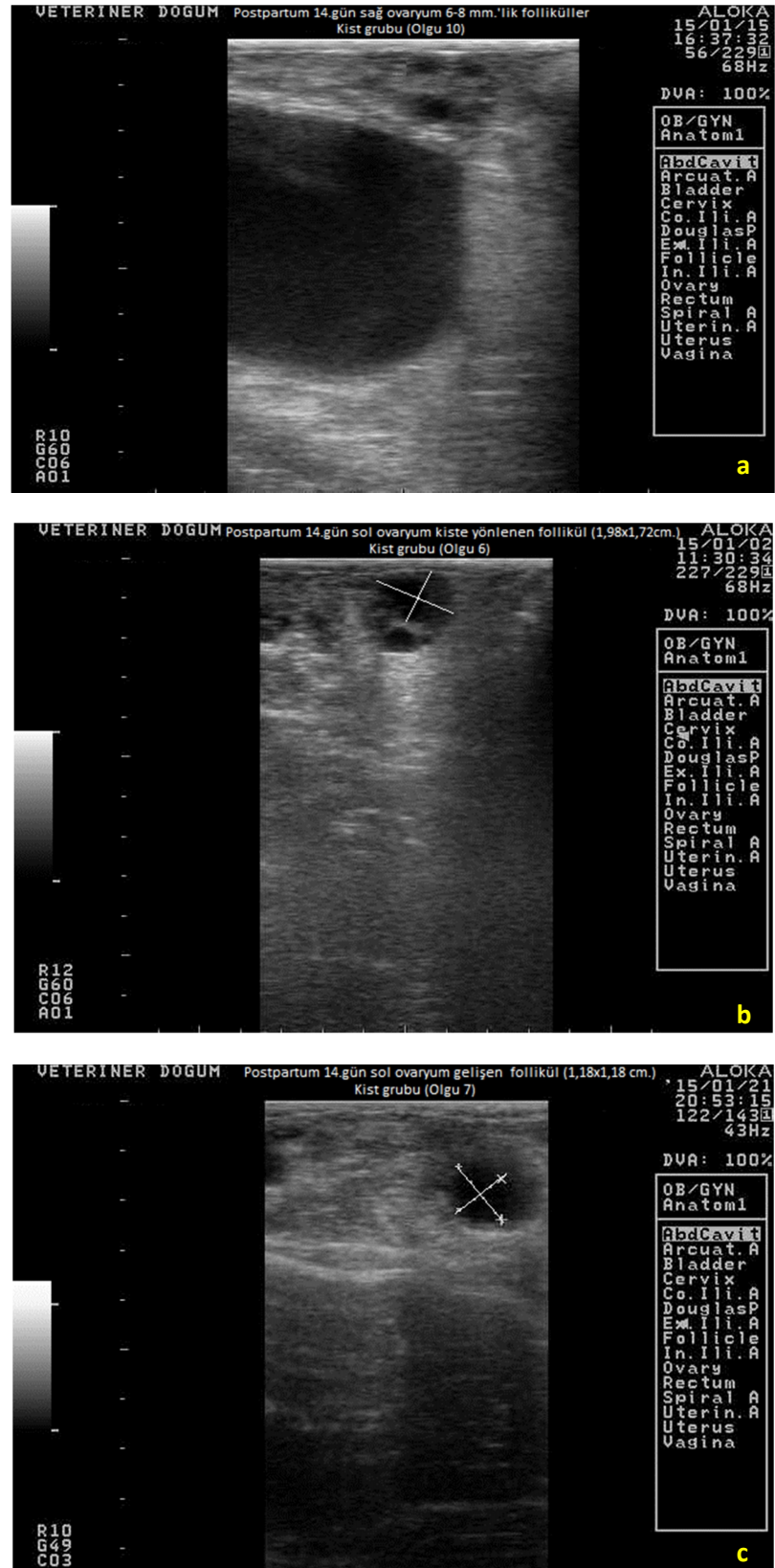
* Palpe edilemeyen olgular istatistik hesaplamada kullanılmadı, ortalama follikül çapı ölçümlerinde boy uzunlukları dikkate alındı.

Çizelge 3.3. Kontrol grubu postpartum 14. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

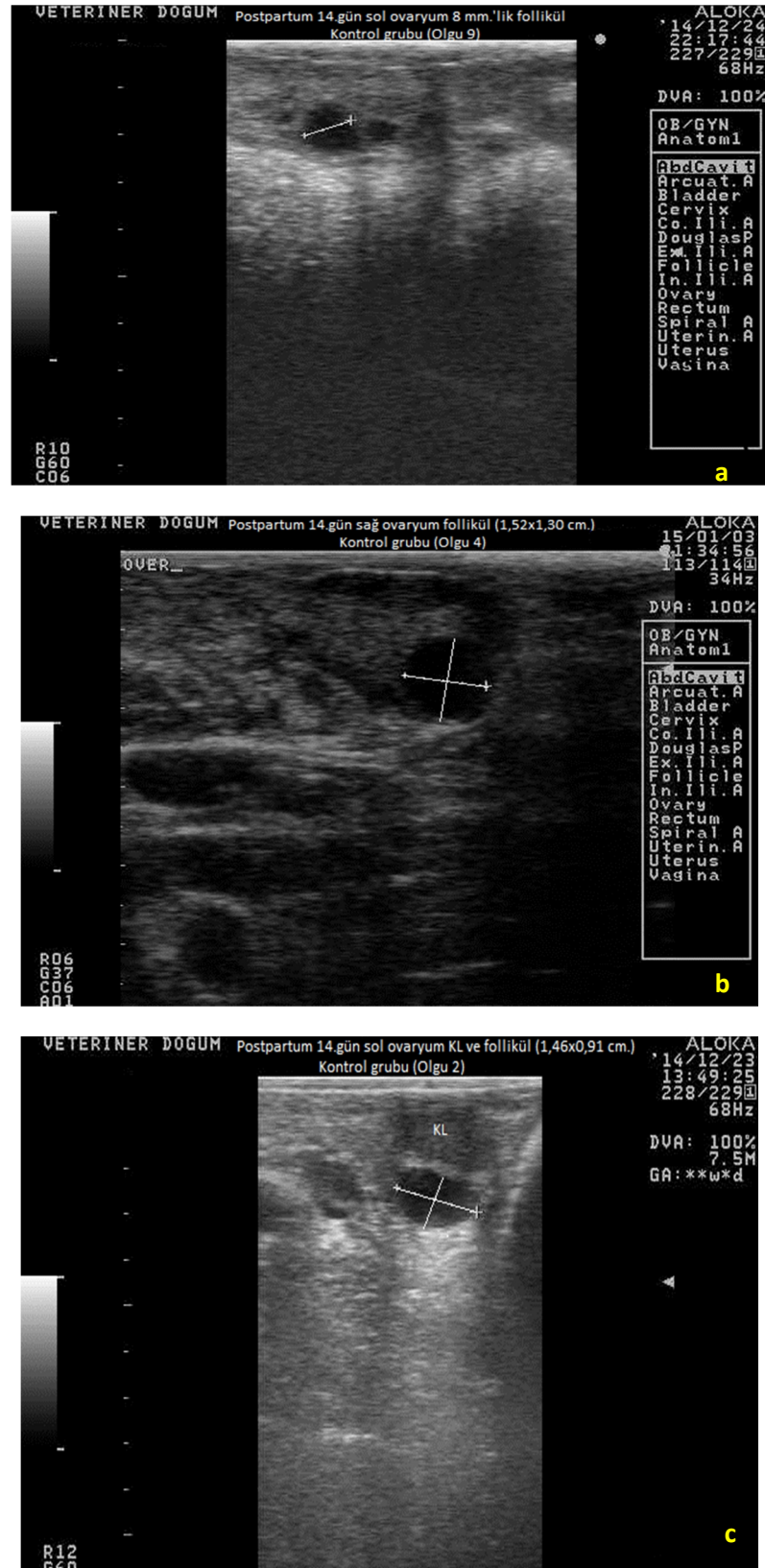
Olgu No.	Folikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	3	2	1,23x1,12	0,6-0,8	
2	2	3	0,6-0,8	1,46x,91	+
3	1	2	1,2x0,9	0,6-0,8	
4	3	2	1,52x1,30	0,6-0,8	
5	Palpe edilemedi*	Palpe edilemedi*	-	-	
6	1	2	1,34x1,1	0,6-0,8	+
7	2	4	1,4x0,9	0,6-0,8	
8	Palpe edilemedi*	Palpe edilemedi*	-	-	
9	1	3	1,35x0,78	0,6-0,8	
10	1	4	0,6-0,8	0,76x0,89	
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	1,85 $\pm$ 0,34	2,75 $\pm$ 0,31	1,34 $\pm$ 0,18	1,17 $\pm$ 0,16	

KL: Korpus luteum

* Palpe edilemeyen olgular istatistik hesaplamada kullanılmadı, ortalama follikül çapı ölçümlerinde boy uzunlukları dikkate alındı.



Resim 3.5. Postpartum 14. günde kist grubunda, ovaryumlarda belirlenen bazı yapılar (a: 6-8 mm'lik folliküller, b: kiste yönelen follikül, c: gelişmekte olan bir follikül).



Resim 3.6. Postpartum 14. günde kontrol grubunda, ovaryumlarda belirlenen bazı yapılar (a: 8 mm'lik follükül, b: dominant follükül, c: korpus luteum ve gelişmekte olan bir follükül).

3.1.2.2. Postpartum 24. günde Kist ve Kontrol Gruplarında Ultrasonografik Ovaryum Muayene Bulguları

Ovaryumların postpartum 24. günde yapılan ultrasonografik muayenelerinde kist grubunda, 8 mm'den büyük 1 ile 4 adet arasında follikülün olduğu, postpartum 14. gün muayenelerine göre ovulasyona ya da regresyona gitmesi beklenen büyük folliküler yapıların beklenenin aksine, daha da büyüdüğü gözlemlendi. Kist grubunda on olgunun dokuzunda kistik folliküler yapıların postpartum 14 ila 24. gün aralığında şekillendiği veya şekillenmeye başladığı (Olgu 3, 4 ve 8), postpartum 14. günde belirlenen büyük folliküllerin dokuz adetinin 24. veya 34. günde kistik yapıya dönüştüğü ve bu folliküllerin aynı ovaryum ve aynı follikülden geliştiği saptandı. Bu dönemde kiste yönelen olguların yedi adedi 2,5 cm ve üzerinde folliküler çapa sahipti. Bu grupta kist olgularının görülmediği diğer ovaryumlarda ise genelde 6-8 mm arasında küçük folliküler yapılara rastlandı. Kist grubunda bu dönemde, ortalama follikül çapının $2,34 \pm 0,22$ cm olduğu belirlendi (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Kist grubu postpartum 24. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

Olgu No.	Follikül sayıları(8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	2	2	0,6-0,8	2,51 x 2,14	-
2	2	2	0,6-0,8	3,6 x 2,2	-
3	1	2	1,41 x 0,80	0,63 x 0,72	-
4	3	1	0,6-0,8	1,6 x 1,82	-
5	1	3	2,61 x 2,27	0,6-0,8	-
6	3	2	0,6-0,8	3,08 x 1,81	-
7	4	3	0,6-0,8	2,11 x 2,05	-
8	2	3	1,94 x 1,46	0,6-0,8	-
9	2	3	3,43 x 2,84	0,6-0,8	-
10	3	2	0,6-0,8	2,58 x 2,50	-
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	$2,3 \pm 0,30$	$2,3 \pm 0,21$	$2,34 \pm 0,22$	$2,27 \pm 0,24$	

KL: Korpus luteum.

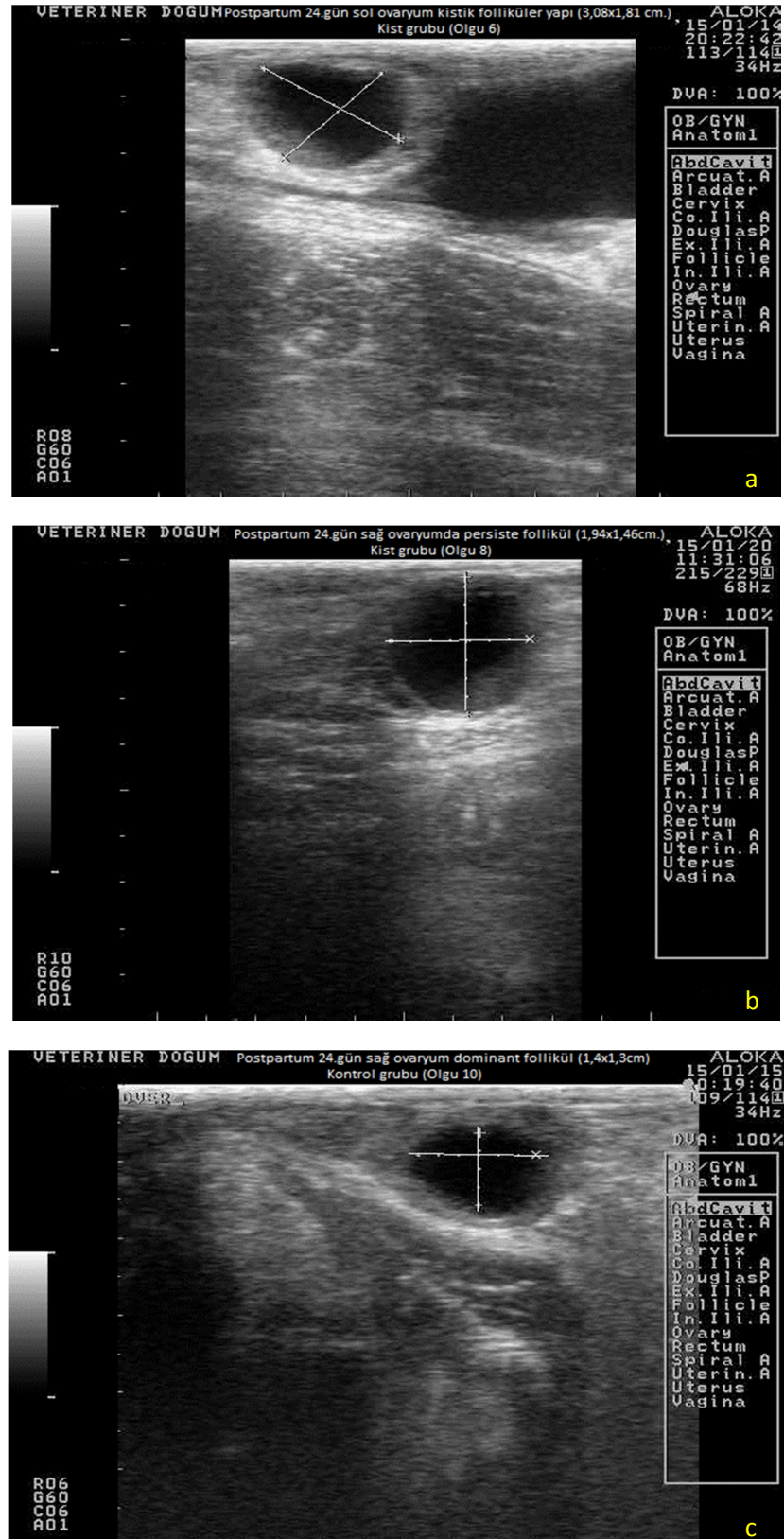
Postpartum 24. günde, kontrol grubunda yapılan ovaryum muayenelerinde, ovaryumlarda 8 mm'den büyük 1 ile 4 adet arasında follikülün varlığı ve en büyük folliküllerin çaplarının ortalamasının $1,47 \pm 0,21$ cm olduğu belirlendi. Kontrol grubunda 4 olguda korpus luteum (Olgu 3,4,6 ve 10), bir olguda luteolizis (Olgu 2), iki olguda folliküler gelişmenin devam ettiği (Olgu 1 ve 9), bir olguda ovulasyona yakın folliküler gelişme (Olgu 8), bir olguda yeni ovulasyon (Olgu 5) ve bir olguda gerileyen folliküler yapı (Olgu 7) belirlendi. Kontrol grubunda on olgudan sekizinde fizyolojik folliküler aktivasyonun başladığı, iki olguda ise yavaş gelişen folliküler yapının varlığı saptandı (Çizelge 3.5). Kist ve kontrol gruplarında bu dönemde ovaryumlara ait bazı ultrasonografik muayene görüntüleri Resim 3.7'de gösterildi.

Çizelge 3.5. Kontrol grubu postpartum 24. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

Olgu No.	Follikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	2	2	1,90x2,00	0,6-0,8	-
2	2	1	0,90x0,78	0,6-0,8	-
3	1	2	1,70x0,60	1,24x1,17	+
4	1	3	1,14x0,69	0,6-0,8	+
5	1	3	0,6-0,8	0,6-0,8	-
6	2	4	0,6-0,8	1,42x0,9	+
7	2	2	0,6-0,8	0,6-0,8	-
8	3	3	0,6-0,8	1,7x1,5	-
9	1	2	1,70x1,34	1,1x0,75	-
10	2	2	1,40x1,30	0,6-0,8	+
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	$1,7 \pm 0,21$	$2,4 \pm 0,27$	$1,47 \pm 0,21$	$1,36 \pm 0,18$	

KL: Korpus luteum

Kist ve kontrol gruplarında postpartum 24. günde yapılan ovaryum muayenelerinde, follikül çapları ortalamalarının çalışma grupları arasındaki farkının önemli olduğu ($p < 0.01$), follikül sayıları ortalamalarının ise gruplar arasında önemli olmadığı belirlendi ($p > 0.05$).



Resim 3.7. Postpartum 24. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı folliküler gelişimler (a: kist grubu, Olgu 6; kistik folliküler yapı, b: kist grubu, Olgu 8; persiste follikül, c: kontrol grubu, Olgu 10; dominat follikül).

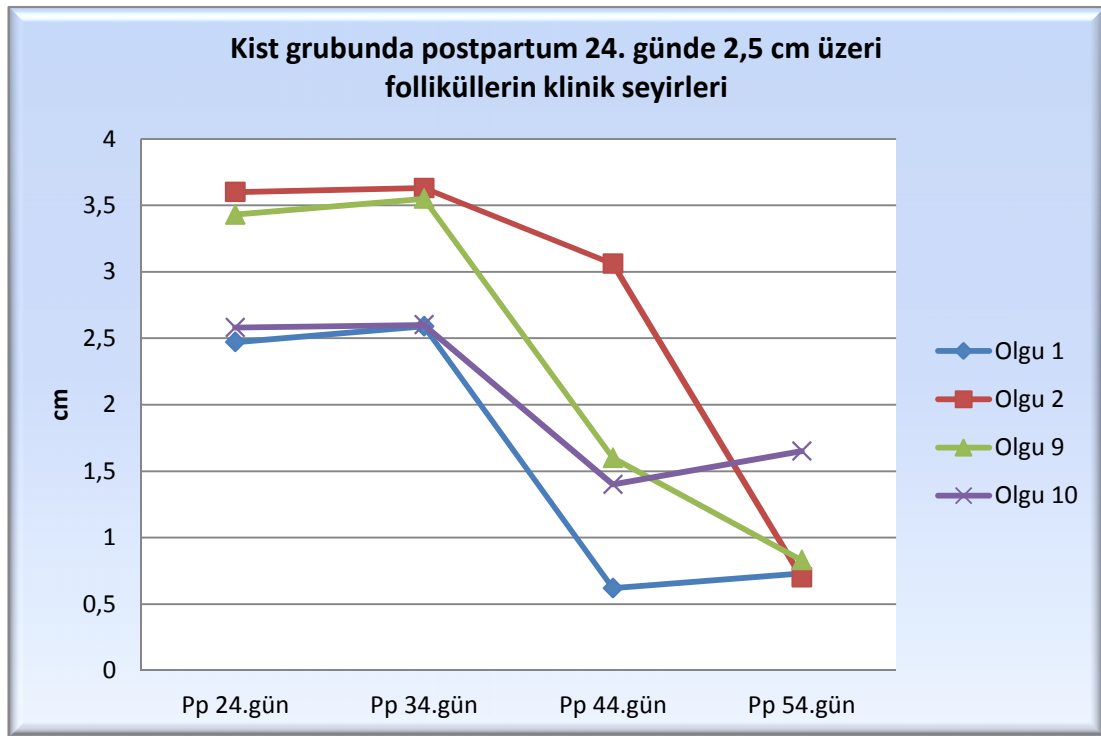
3.1.2.3. Postpartum 34. günde Kist ve Kontrol Gruplarında Ultrasonografik Ovaryum Muayene Bulguları

Postpartum 34. gün muayenelerinde kist grubunda follikül sayıları 1 ile 4 arasında değişmekte idi. Postpartum 24. günde yapılan muayenelerde kiste yönleneceği düşünülen folliküllerin aynı ovaryumda ve daha büyük bir çapa ulaşarak postpartum 34. günde de varlığını sürdürdüğü gözlemlendi. Bu dönemde en büyük follikül çapı 4,98 cm olarak belirlendi. Kist grubunda, postpartum 24. günde 2,5 cm ve üzerinde çapa sahip folliküler kistler, 34. günde sabit bir büyüme eğrisi gösterirken (Olgu 1, 2, 9 ve 10); postpartum 24. günde 2,5 cm çapın altında ve kiste yönelen folliküllerde ise hızlı bir büyüme eğrisi belirlenirken, kiste yönelen her olgunun kendine özgü bir büyüme seyrinin olduğu gözlemlendi (Şekil 3.3, 3.4 ve Çizelge 3.6). Postpartum süreçte kiste yönelen olguların bireysel folliküler gelişim eğrileri Şekil 3.5 ve 3.6'da sunuldu. Kiste yönelmeyen diğer ovaryumda folliküler yapılar genelde 6 ila 8 mm çap aralığında seyir gösterdi. Bu dönemde yedi olguda kistik folliküler sıvı aspire edildi. Kist ve kontrol gruplarında postpartum 34. gün muayenelerinde ovaryumlara ait bazı ultrasonografik muayene görüntüleri Resim 3.8'de sunuldu.

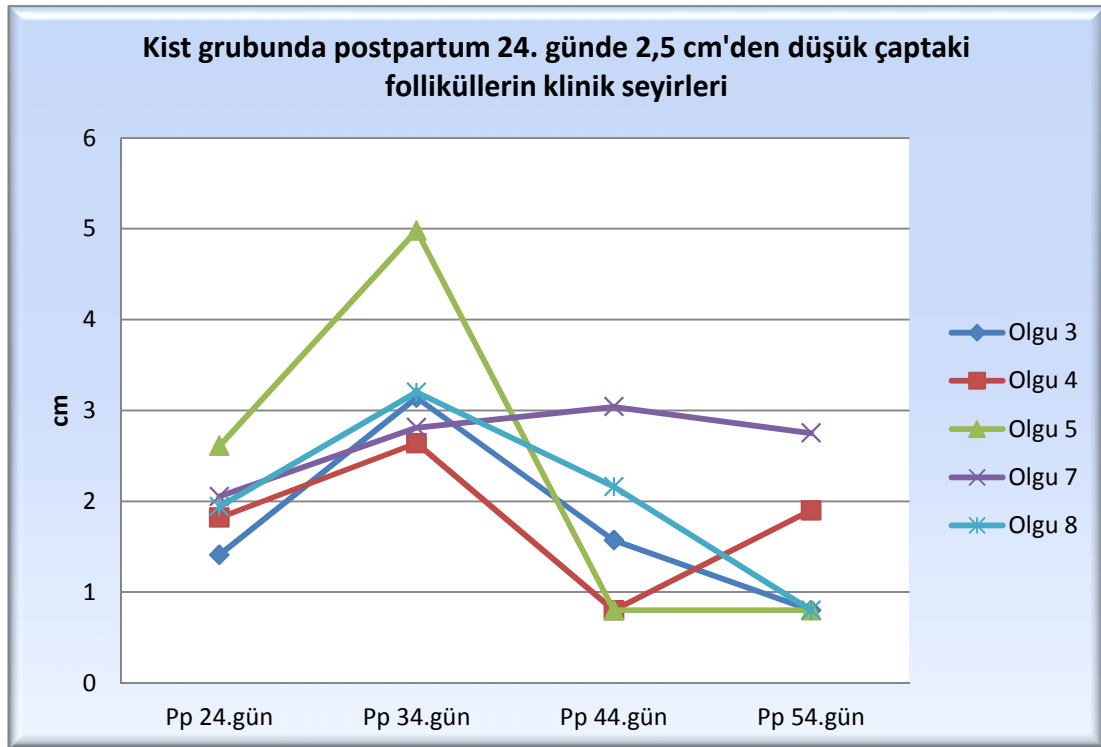
Çizelge 3.6. Kist grubu postpartum 34. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

Olgu No.	Follikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	2	1	0,6-0,8	2,59x1,72	-
2	3	2	0,6-0,8	3,63x2,17	-
3	1	3	3,14x2,81	0,6-0,8	-
4	2	2	0,6-0,8	2,4x2,64	-
5	1	2	4,98x2,67	0,6-0,8	-
6*	2	3	0,6-0,8	0,6-0,8	+
7	4	2	0,6-0,8	2,81x2,64	
8	2	3	3,20x1,31	0,6-0,8	-
9	3	3	3,55x3,25	0,6-0,8	-
10	4	2	2,60x2,08	0,6-0,8	-
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	2,4 $\pm$ 0,34	2,3 $\pm$ 0,21	3,49 $\pm$ 0,42	2,91 $\pm$ 0,34	

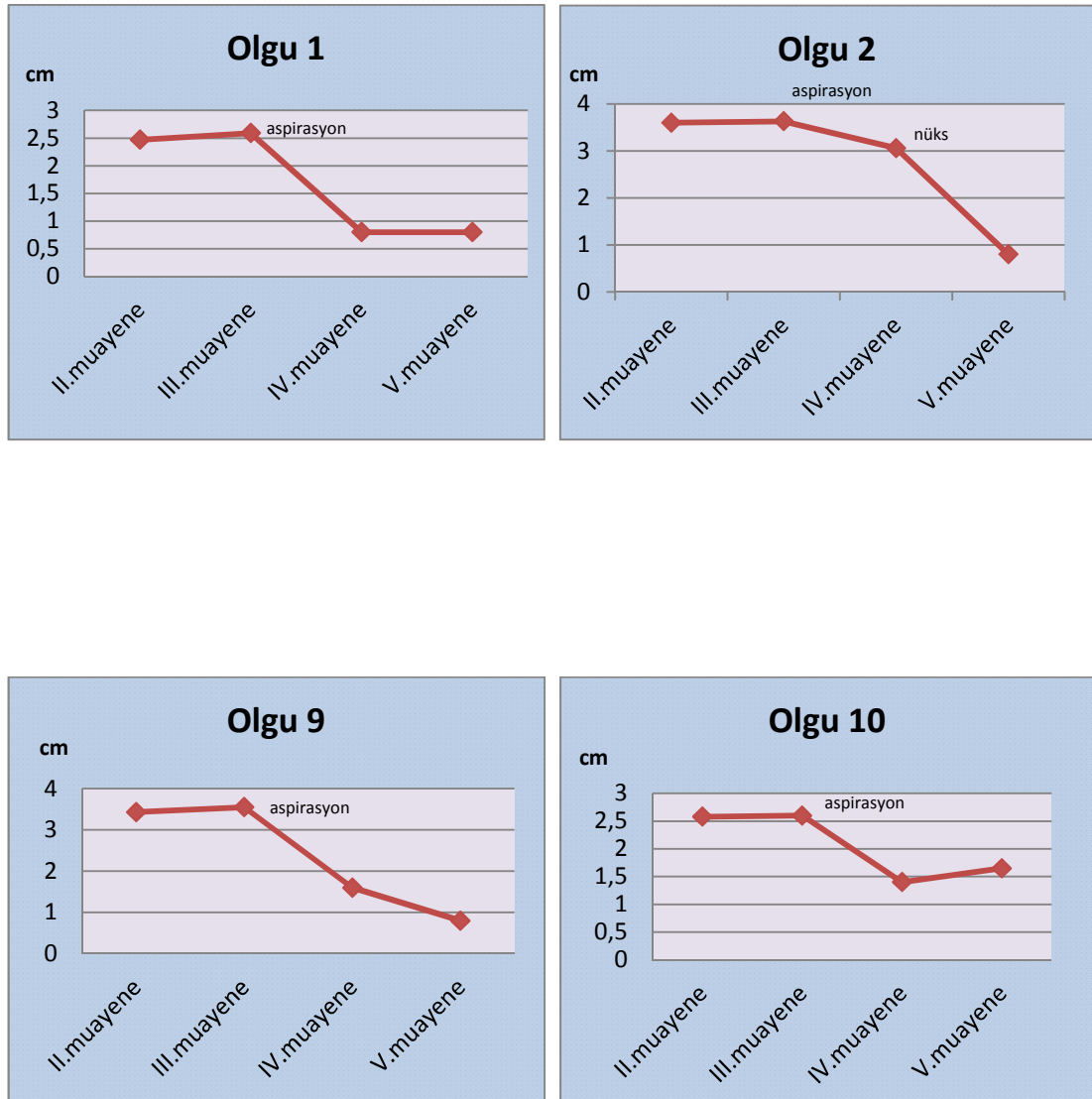
KL : Korpus luteum , *: Postpartum 24. günde kistik follikül sıvısı aspire edildi.



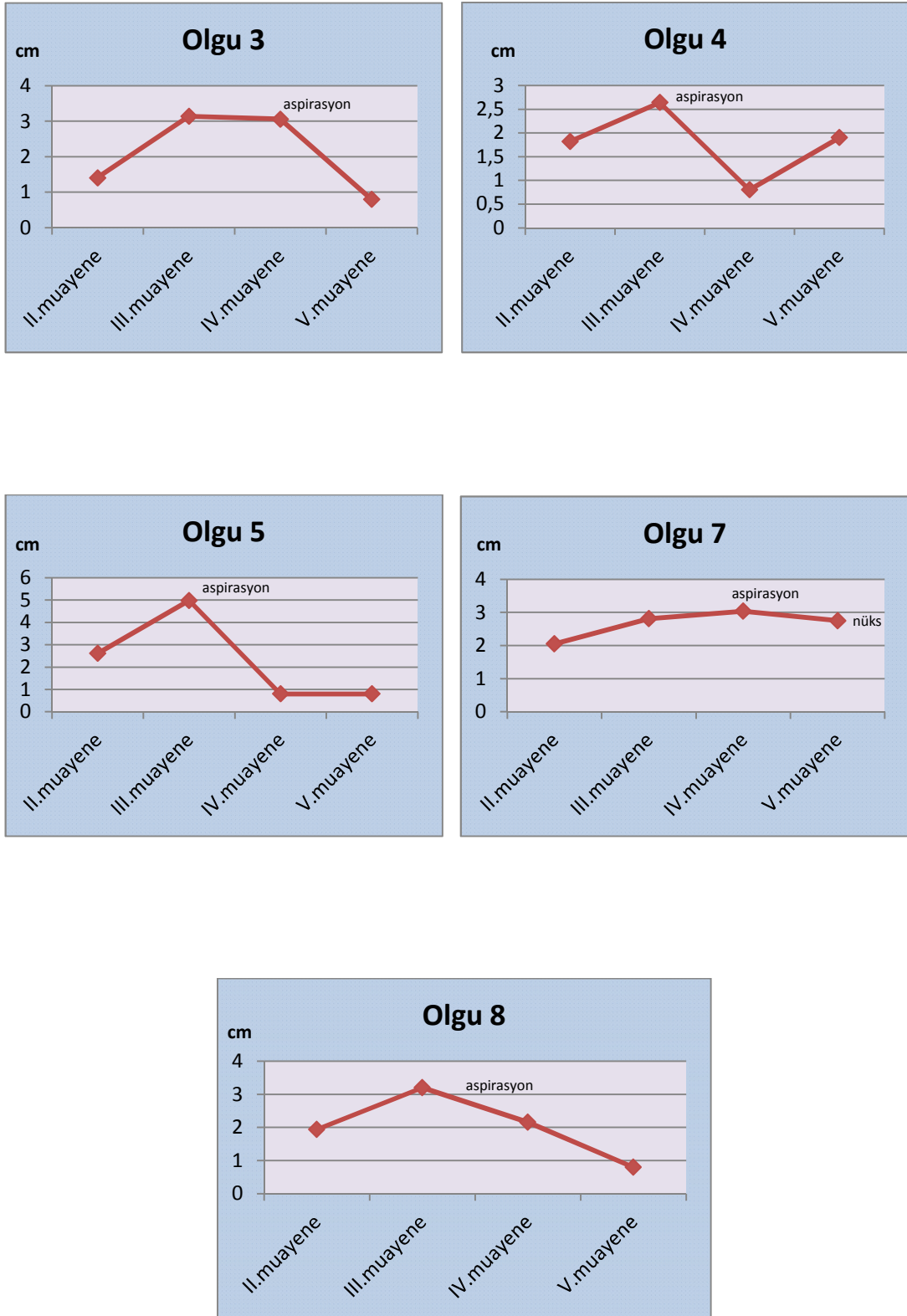
Şekil 3.3. Postpartum 24. günde 2,5 cm ve üzeri çapta folliküllere sahip olgularda kistik yapıların gelişimi.



Şekil 3.4. Postpartum 24. günde 2,5 cm ve daha düşük çaptaki folliküllere sahip olgularda kistik yapıların gelişimi.



Şekil 3.5. Kist grubunda postpartum 24. günde (II.muayene) çapı 2,5 cm üzerinde olan folliküler yapıların gelişim eğrileri.



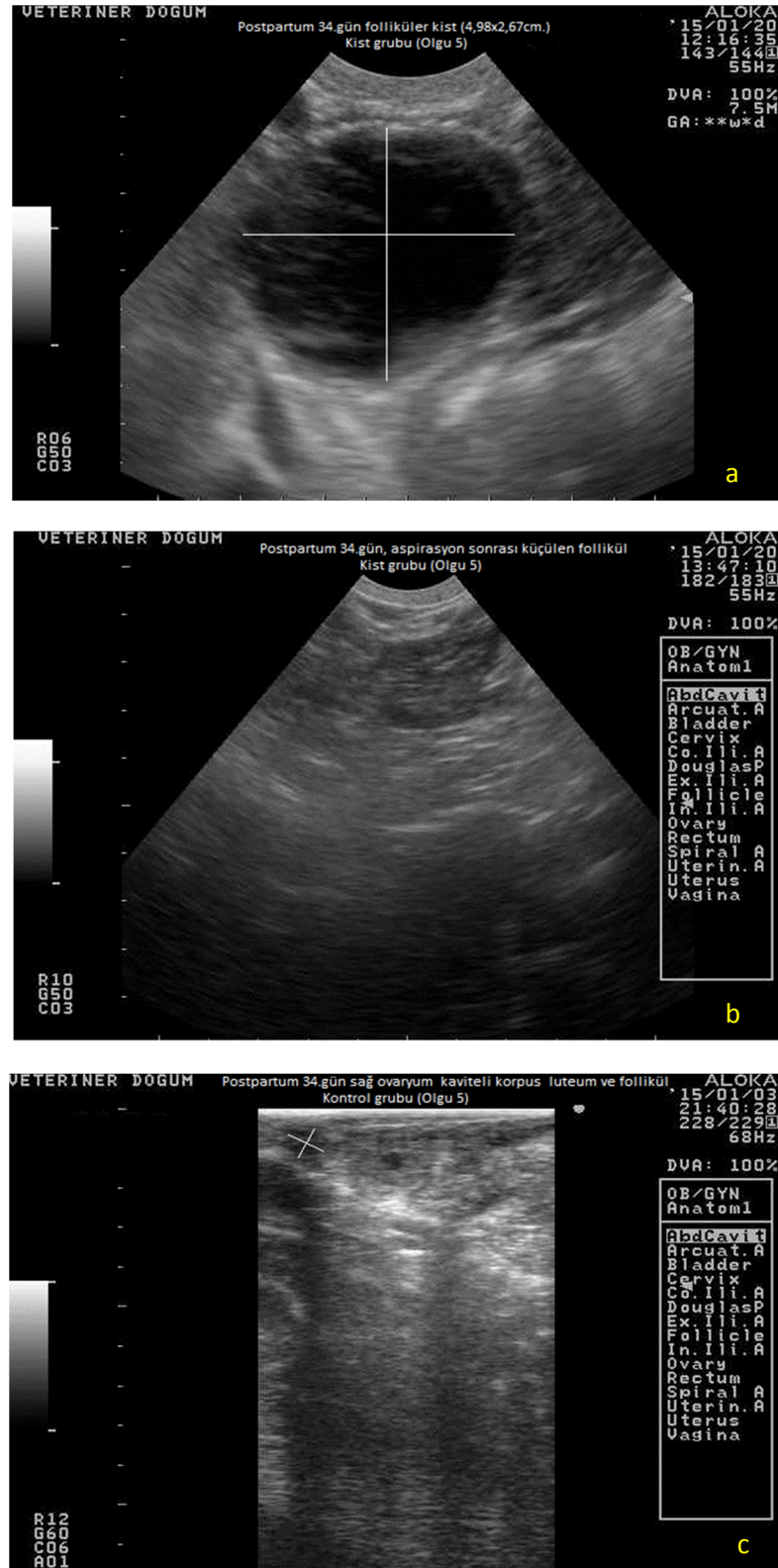
Şekil 3.6. Kist grubunda postpartum 24. günde (II.muayene) çapı 2,5 cm'nin altında olan folliküler yapıların gelişim eğrileri.

Kontrol grubunda, postpartum 34. günde yapılan ultrasonografik değerlendirmede, follikül sayılarının 1 ile 4 arasında değiştiği ve en büyük follikül çapının 1,79x1,51 cm olduğu belirlendi. Bu çalışma grubunda, beş olguda korpus luteum (Olgu 1, 5, 8, 9 ve 10), üç olguda luteolizis ve yeni folliküler gelişme (Olgu 3, 4 ve 6), iki olguda postpartum 24. günde luteolizisi takiben yavaş ilerleyen folliküler gelişme (Olgu 2 ve 7) belirlendi. Kontrol grubunda folliküler gelişimin seyrinin beklendiği gibi siklik düzen içinde seyrettiği gözlemlendi (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Kontrol grubu postpartum 34. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

Olgu No.	Follikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	1	2	0,6-0,8	1,14x0,78	+
2	3	2	1,49x1,42	0,6-0,8	-
3	2	4	1,79x1,51	0,6-0,8	-
4	1	2	1,37x1,1	0,6-0,8	-
5	1	2	0,71x0,93	0,80x0,70	+
6	3	2	2,00x1,10	1,68x1,22	-
7	1	3	1,45x1,57	0,6-0,8	-
8	1	4	1,70x1,60	0,6-0,8	+
9	1	3	0,90x0,60	0,6-0,8	+
10	3	2	1,5x1	0,90x0,54	+
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	1,7 $\pm$ 0,30	2,6 $\pm$ 0,27	1,42 $\pm$ 0,21	1,13 $\pm$ 0,20	

KL : Korpus luteum.



Resim 3.8. Postpartum 34. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı gelişimler (a: kist grubu, Olgu 5; aspirasyon öncesi kistik folliküler yapı, b: kist grubu, Olgu 5; aspirasyon sonrası küçülen follikül, c: kontrol grubu, Olgu 5; kaviteli korpus luteum ve bir follikül).

3.1.2.4. Postpartum 44. günde Kist ve Kontrol Gruplarında Ultrasonografik Ovaryum Muayene Bulguları

Postpartum 44. günde yapılan ovaryum muayenelerinde, kist grubunu oluşturan her olgunun ovaryumlarında 1 ile 3 adet arasında değişen folliküler yapılar belirlendi. Bu grupta, bir önceki muayene döneminde (34. gün) aspirasyon yapılan ineklerde bir olgu hariç (Olgu 2) diğer tüm olgularda korpus luteumun geliştiği gözlemlendi. Postpartum 34. günde aspirasyon yapılan 7 olgunun 4 adedinde (Olgu 4, 8, 9 ve 10) korpus luteum varlığında dominant folliküler gelişmenin de olduğu, diğer üç olguda ise (Olgu 1, 5 ve 6) 6-8 mm küçük folliküler yapıların varlığı dikkati çekti. Postpartum 44. günde, 34. günde aspirasyon sonrası nüks eden bir olgu (Olgu 2) ve kistik folliküler yapıya sahip iki olgunun (Olgu 3 ve 7) aspirasyonları yapıldı. (Çizelge 3.8). Kontrol grubunda postpartum 44. günde, 3 olguda bir önceki muayene dönemine kıyasla yeni ovulasyonların şekillendiği (Olgu 2, 3 ve 7), 2 olguda ise luteolizisi takiben yeni folliküler gelişmelerin olduğu belirlendi. Bu dönemde kontrol grubunda östrusun klinik semptomlarını gösteren, ovaryumlarında korpus luteum bulunmayan ve follikül çapları 1,5 cm'nin üzerinde olduğu tespit edilen 5 olguya aspirasyon yapıldı (Çizelge 3.9). Postpartum 44. günde çalışma gruplarının ovaryumlarındaki bazı ultrasonografik muayene bulguları Resim 3.9'da gösterildi.

Çizelge 3.8. Kist grubu postpartum 44. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

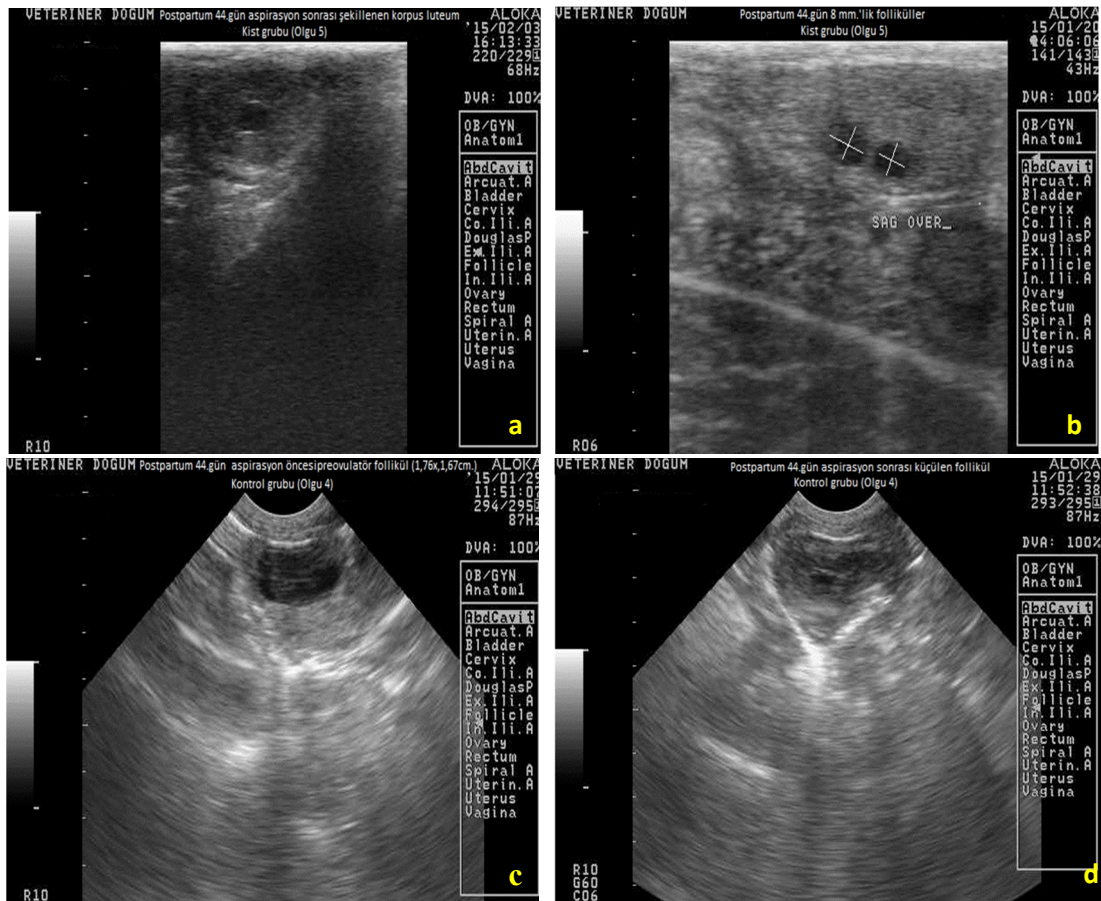
Olgu No.	Follikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	1	1	0,6-0,8	0,6-0,8	+
2	2	1	0,6-0,8	3,12x2,76	-
3	1	3	3,06x1,78	0,6-0,8	-
4	1	1	1,57x1,34	0,6-0,8	+
5	1	2	0,6-0,8	0,6-0,8	+
6	3	3	0,6-0,8	0,6-0,8	-
7	3	2	0,6-0,8	3,04x2,49	-
8	1	2	2,16x1,20	0,6-0,8	+
9	2	2	0,6-0,8	1,60x1,43	+
10	2	2	1,40x1,30	0,6-0,8	+

KL : Korpus luteum.

Çizelge 3.9 Kontrol grubu postpartum 44. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

Olgu No.	Folikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	2	3	0,6-0,8	0,6-0,8	-
2	1	3	1,29x1,16	0,6-0,8	+
3	3	2	0,6-0,8	0,6-0,8	+
4	3	1	1,76x1,67	0,6-0,8	-
5	2	3	0,6-0,8	1,72x1,20	-
6	1	3	1,71x1,00	0,6-0,8	-
7	2	4	0,6-0,8	0,6-0,8	+
8	1	3	1,60x1,50	1,30x0,80	-
9	3	3	1,50x1,91	0,6-0,8	-
10	2	3	1,31x1,14	0,6-0,8	-

KL : Korpus luteum



Resim 3.9. Postpartum 44. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı gelişimler (a: kist grubu, Olgu 5; aspirasyon sonrası gelişen korpus luteum, b: kist grubu, Olgu 5; yeni folliküler gelişim, c: kontrol grubu, Olgu 4; preovulatr follikül, d: kontrol grubu, Olgu 4, aspirasyon sonrası küçülen follikül).

3.1.2.5. Postpartum 54. günde Kist ve Kontrol Gruplarında Ultrasonografik Ovaryum Muayene Bulguları

Postpartum 54. gün muayenelerinde kist grubunda, bir önceki muayene zamanında (44. gün) folliküller aspirasyon yapılan iki olgudan bir tanesinde (Olgu 7) kistik yapının 2,65x2,48 cm kist boyutu ile nüks ettiği gözlemlendi. Postpartum 44. günde aspirasyon yapılan diğer olgunun (Olgu 3) ovaryumunda korpus luteumun olduğu, grubu oluşturan diğer olgulardan 3 tanesinde ovaryumunda en büyüğü 1,90x1,26 cm çapa sahip dominant folliküller gözlenirken, diğer olguların ovaryumlarında sayıları 1 ile 3 arasında değişen 6-8 mm'lik folliküler yapılara rastlandı (Çizelge 3.10). Kontrol grubunda postpartum 44. günde aspire edilen 5 olgunun (Olgu 4, 5, 6, 8 ve 9) ovaryumunda aspirasyon sonrası korpus luteumların olduğu ve bu ineklerin ovaryumlarında 2-8 milimetrelik folliküler yapıların varlığı belirlendi. Bu dönemde grubu oluşturan diğer beş olgunun (Olgu 1, 2, 3, 7 ve 10) aktif östrus semptomlarını gösterdiği ve ovaryumlarında dominant folliküle sahip olduğu belirlenerek bu ineklerin follikülleri aspire edildi (Çizelge 3.11). Postpartum 54. gün muayenelerinde ovaryumdaki bazı yapılar ve folliküler gelişimler Resim 3.10'da gösterildi.

Çizelge 3.10. Kist grubu postpartum 54. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları.

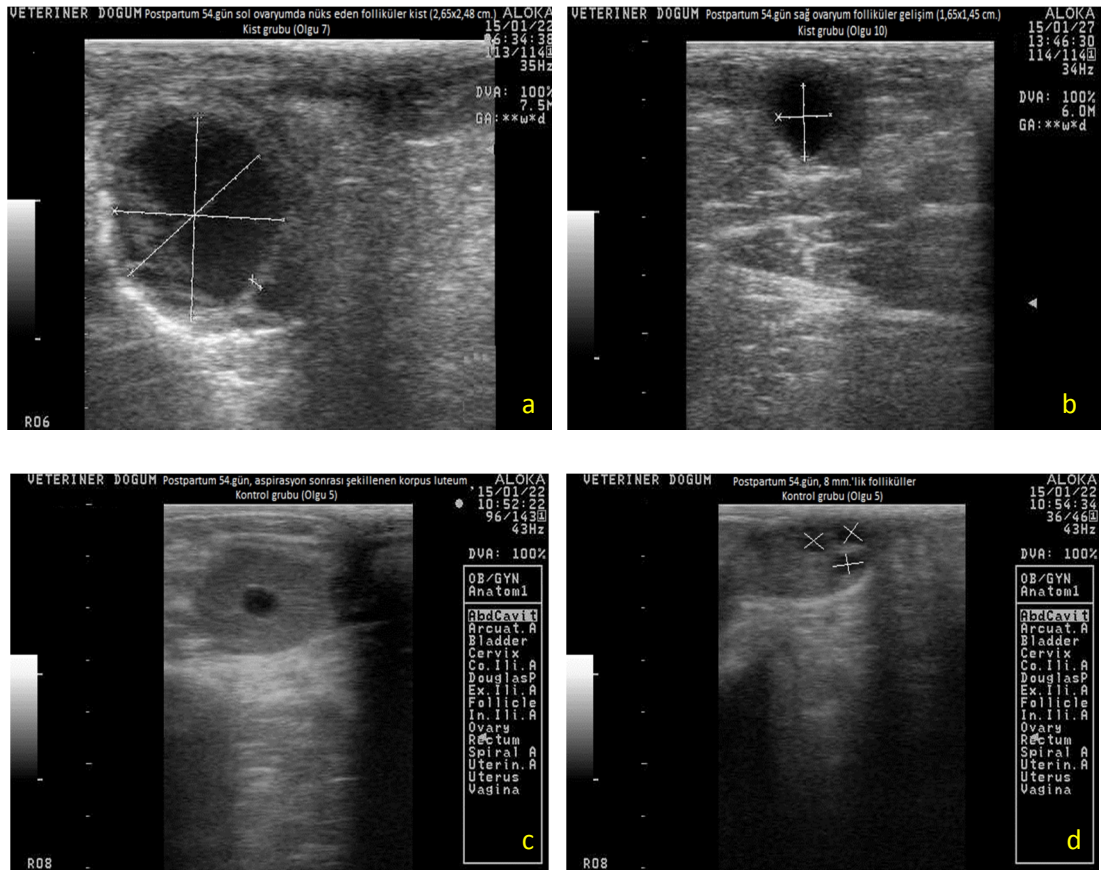
Olgu No.	Follikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	1	2	0,6-0,8	0,6-0,8	-
2	3	2	0,6-0,8	0,6-0,8	-
3	2	3	0,6-0,8	0,6-0,8	+
4	2	2	1,90 x 1,26	0,6-0,8	-
5	2	3	0,6-0,8	0,6-0,8	-
6	3	2	1,42 x 1,36	0,6-0,8	-
7	1	2	0,6-0,8	2,65 x 2,48	-
8	1	3	0,6-0,8	0,6-0,8	-
9	1	1	0,6-0,8	0,6-0,8	-
10	2	2	1,65 x 1,45	0,6-0,8	-

KL : Korpus luteum

Çizelge 3.11 Kontrol grubu postpartum 54. günde ovaryum aktivitesinin ultrasonografik değerlendirme bulguları

Olgu No.	Folikül sayıları (8 mm ve üzeri)		En büyük follikül çapı (cm)		KL
	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	Sağ ovaryum	Sol ovaryum	
1	1	1	0,6-0,8	1,75 x 1,55	-
2	2	3	1,69 x 1,46	0,6-0,8	-
3	3	4	1,72x 1,56	0,6-0,8	-
4	2	1	0,6-0,8	0,6-0,8	+
5	2	2	0,6-0,8	0,6-0,8	+
6	2	2	0,6-0,8	0,6-0,8	+
7	4	3	1,65 x 1,72	0,6-0,8	-
8	3	2	0,6-0,8	0,6-0,8	+
9	1	2	1,60 x 1,50	0,6-0,8	+
10	2	3	1,80 x 1,40	0,6-0,8	-

KL : Korpus luteum



Resim 3.10 Postpartum 54. günde çalışma gruplarında ovaryumlardaki bazı gelişimler (a: kist grubu, Olgu 7; aspirasyon sonrası nüks eden kistik yapı, b: kist grubu, Olgu 10; folliküler gelişim, c: kontrol grubu, Olgu 5; aspirasyon sonrası gelişen korpus luteum, d: kontrol grubu, Olgu 5, folliküler gelişim).

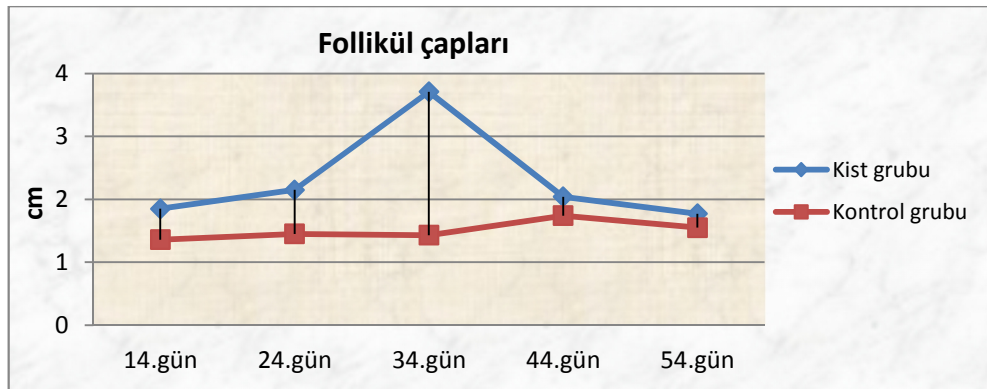
3.1.2.6 Kist ve Kontrol Grupları Ortalama Follikül Sayıları ve Çapları

Kist ve kontrol grubunu oluşturan ineklerde postpartum 14. günden itibaren başlayarak ultrasonografik olarak değerlendirilen ve 54. güne kadar devam eden ovaryum muayenelerinde; genel olarak aspire edilen folliküler yapıların on gün sonraki muayenelerinde, luteal yapılara rastlandı. Bu olguların aspirasyondan 20 gün sonraki muayenelerde korpus luteumların ortadan kalktığı ve 8 mm'nin üzerinde yeni bir folliküler yapının şekillendiği gözlemlendi. Bu gözlem, kistik grupta aspirasyonlar sonrası ilk siklusların yoğunlaştığı postpartum 44. gün muayenelerinde folliküler sayılar yönünden kontrol grubuna kıyasla istatistiksel üstünlük gösterirken ($p < 0.01$), bu farklılığın kist grubunda genelde normal siklusların oluşmaya başladığı 54. gün muayenelerinde ortadan kalktığı görülmektedir (Çizelge 3.12).

Çizelge 3.12. Postpartum süreçte kist ve kontrol grupları ortalama follikül sayıları.

Postpartum muayeneler	Kist grubu		Kontrol grubu	
	Sağ ovaryum ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	Sol ovaryum ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	Sağ ovaryum ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)	Sol ovaryum ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)
14. gün	2,14 $\pm$ 0,26 ^a	2,57 $\pm$ 0,37 ^a	1,85 $\pm$ 0,34 ^a	2,75 $\pm$ 0,31
24. gün	2,30 $\pm$ 0,30 ^a	2,30 $\pm$ 0,21 ^a	1,70 $\pm$ 0,21 ^a	2,40 $\pm$ 0,27 ^a
34. gün	2,40 $\pm$ 0,34 ^a	2,30 $\pm$ 0,21 ^a	1,70 $\pm$ 0,30 ^a	2,60 $\pm$ 0,27 ^a
44. gün	1,70 $\pm$ 0,26 ^a	1,90 $\pm$ 0,23 ^a	2,00 $\pm$ 0,26 ^b	2,80 $\pm$ 0,25 ^b
54. gün	1,80 $\pm$ 0,25 ^a	2,20 $\pm$ 0,20 ^a	2,20 $\pm$ 0,29 ^a	2,30 $\pm$ 0,30 ^a

a,b: Her satırda farklı harfler taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.01$)



Şekil 3.7. Farklı muayene günlerinde kist ve kontrol gruplarında ortalama follikül çapı değişimleri.

3.2. Kist ve Kontrol Gruplarında Postpartum Süreçte Vaginal Akıntı Bulguları ve Akıntı Skorları

Postpartum süreçte uterus involüsyonu ultrasonografik değerlendirme bulguları ve ovaryumlardaki folliküler gelişimlerin takip edildiği çalışma gruplarında ultrasonografik muayeneler ile eş zamanlı olarak gerçekleştirilen vaginal akıntı bulguları ve bu bulgulara ait akıntı skorları Çizelge 3.13, Şekil 3.8 ve 3.9’da gruplar arasında karşılaştırmalı olarak sunuldu.

Çizelge 3.13. Kist ve kontrol gruplarında postpartum süreçte vaginal akıntı karakterleri ve skorları.

Pp gün	Kist Grubu (n=10)				Kontrol grubu (n=10)			
	Vaginal akıntı karakteri	Akıntı skoru*			Vaginal akıntı karakteri	Akıntı skoru*		
		p	s	o		p	s	o
14. gün	Purulent (4/10)	12	3	4	Purulent (4/10)	12	3	4
	Mukopurulent (4/10)	8	2	4	Kirli Müköz (3/10)	3	1	3
	Kirli müköz (2/10)	2	1	2	Fizyolojik (3/10)	0	0	3
24. gün	Purulent (1/10)	3	3	1	Mukopurulent (2/10)	4	2	2
	Mukopurulent (6/10)	12	2	6	Kirli Müköz (3/10)	3	1	3
	Kirli müköz (3/10)	3	1	3	Akıntı yok (5/10)	0	0	5
34. gün	Purulent (1/10)	3	3	1	Müköz (4/10)	0	0	4
	Müköz (7/10)	0	0	7	Akıntı yok (6/10)	0	0	6
	Kirli müköz (2/10)	2	1	2				
44. gün	Müköz (2/10)	0	0	2	Çara (5/10)	0	0	5
	Akıntı yok (8/10)	0	0	8	Akıntı yok (5/10)	0	0	5
54. gün	Müköz (2/10)	0	0	2	Çara (5/10)	0	0	5
	Akıntı yok (8/10)	0	0	8	Akıntı yok (5/10)	0	0	5

* p: puan, s: skor, o: olgu sayısı

Çalışma gruplarında vaginal akıntı bulgularının değerlendirilmesinde, her iki grupta da postpartum 14. günde 4 olguda purulent akıntı gözlemlendi. Kist grubunda 4 olguda mukopurulent, 2 olguda ise kirli muköz akıntı; kontrol grubunda 3 olguda kirli muköz akıntı ve 3 olguda normal puerperal akıntılar belirlendi. Bu dönemde yapılan vaginal akıntı bulgularının karşılaştırılmasında her iki grup arasında dikkat çekici ortak ya da farklı bir bulguya rastlanmadı.

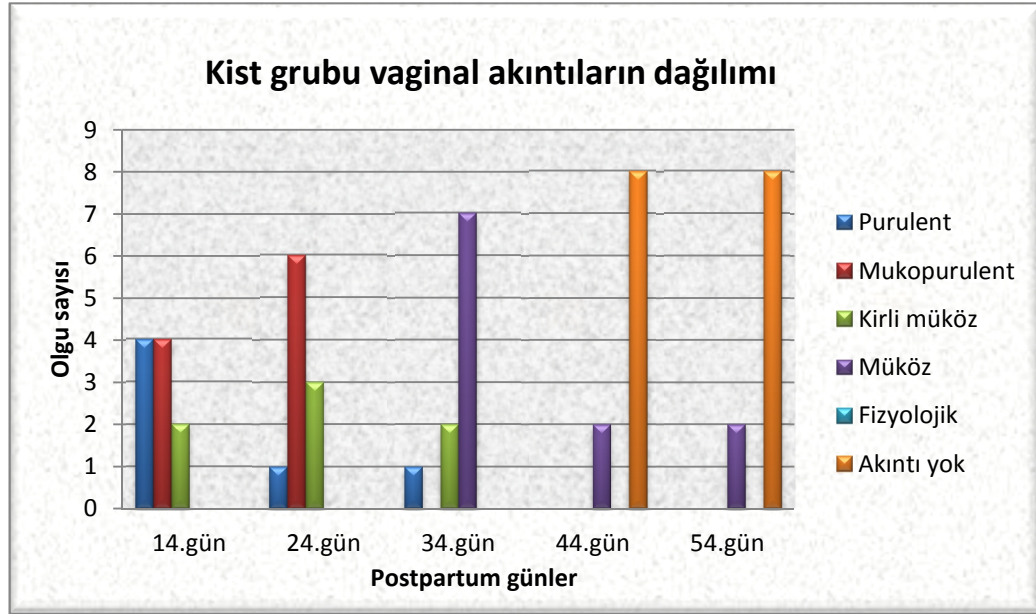
Postpartum 24. gün muayenelerinde; kist grubunda, ağırlıklı olarak mukopurulent vaginal akıntı (6 olguda) görülürken, purulent akıntı karakterinin bir önceki muayene gününe göre 4 olgudan 1 olguya düştüğü, 3 olguda da akıntı bulgusunun olmadığı belirlendi. Kontrol grubunda bu dönemde 3 olguda kirli muköz akıntı, 2 olguda mukopurulent akıntı gözlemlendi. Beş olguda ise patolojik bir akıntı bulgusuna rastlanmadı.

Postpartum 34. günde kist grubunda, 7 olguda temiz muköz akıntı, 1 olguda purulent akıntı ve 2 olguda ise kirli muköz akıntı tespit edildi. Kontrol grubunda ise 4 olguda muköz karakterli akıntı belirlenirken 6 olguda herhangi bir akıntı bulgusu görülmedi. Akıntı karakterlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında kist grubunda, kistik folliküler yapıların oluşumunun tamamladığı bu dönemde, yoğun muköz karakterli akıntıların görülmesi dikkat çekiciydi.

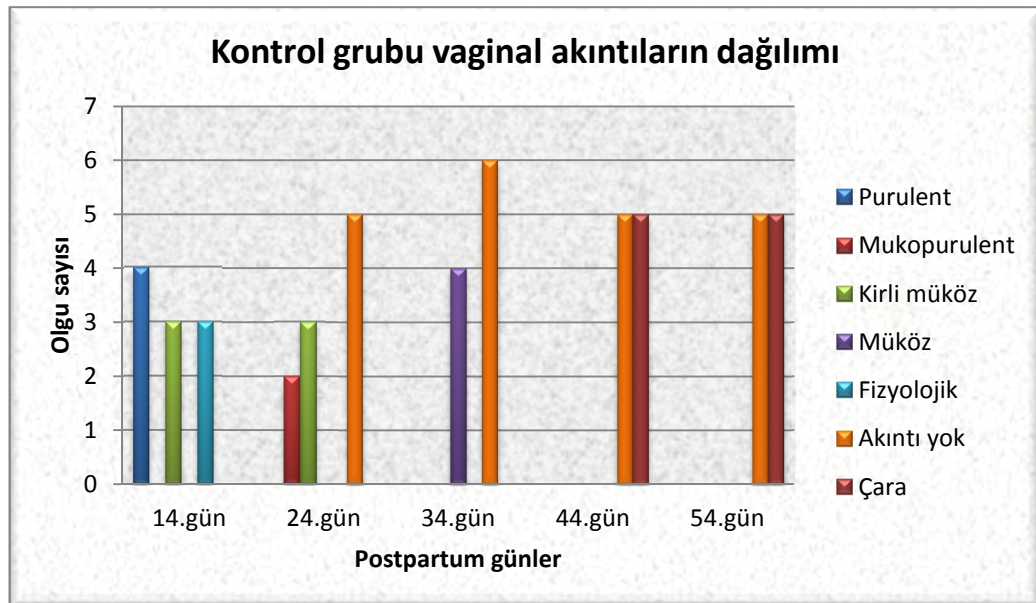
Postpartum 44. ve 54. gün'lerde kist grubunda her iki muayene gününde de 2 olguda muköz karakterli akıntı, kontrol grubunda da her iki muayene gününde de 5 olguda temiz çarabı benzeri akıntılar gözlemlendi.

Vaginal akıntı karakterleri skor bulgularının değerlendirilmesinde postpartum 14. günde kist grubu 22, kontrol grubu 15, postpartum 24. günde kist grubu 18,

kontrol grubu 7, postpartum 34. günde kist grubu 5, kontrol grubu 0, postpartum 44. ve 54. günlerde her iki grupta 0 puan ile skorlandı. Postpartum 14. gün (I.muayene) 24. gün (II.muayene) ve 34. gün (III.muayene) vaginal akıntı skorları ortalamaları gruplar arasında önemli bulundu ($p < 0.05$).



Şekil 3.8. Kist grubunda postpartum süreçte vaginal akıntı bulguları.



Şekil 3.9. Kontrol grubunda postpartum süreçte vaginal akıntı bulguları.

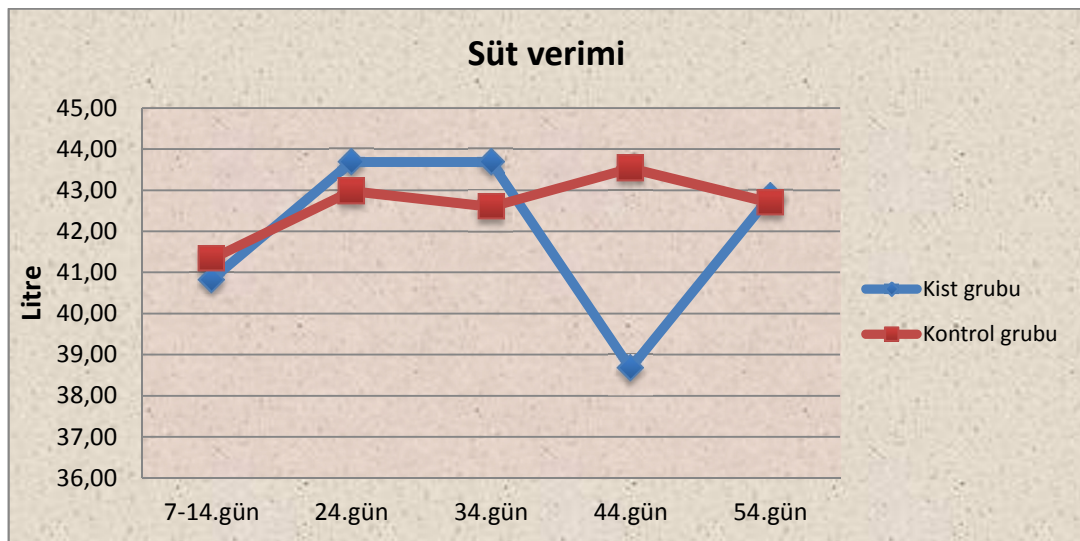
3.3. Kist ve Kontrol Gruplarında Süt Verimleri Bulguları

Çalışma gruplarında postpartum muayeneler süresince her muayene gününe kadar geçen sürede haftalık ortalama süt verimleri Çizelge 3.14 ve Şekil 3.10'da sunuldu. Kist grubunda postpartum 34-44. günlerde belirgin bir süt verimi düşüşü gözlemlendi. Süt verimlerindeki bu düşüş kistik yapıların oluşum ve aspirasyon günleri ile paralellik göstermesi dikkat çekiciydi (Şekil 3.10). Kist grubunda süt verimindeki bu ani düşüş, hem grup içi hem de kontrol grubunda önemli bulundu ($p < 0.01$).

Çizelge 3.14. Kist ve kontrol gruplarında postpartum süreçte süt verimi ortalamaları.

Çalışma grupları	Süt Verimi (L) ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)				
	7-14. gün	14-24. gün	24-34. gün	34-44. gün	44-54. gün
Kist grubu (n=10)	40,82 $\pm$ 1,4 ^a	43,69 $\pm$ 1,5 ^a	43,69 $\pm$ 1,6 ^a	38,66 $\pm$ 1,4 ^b	42,85 $\pm$ 1,6 ^a
Kontrol grubu (n=10)	41,33 $\pm$ 1,6 ^a	42,98 $\pm$ 1,6 ^a	42,60 $\pm$ 1,4 ^a	43,53 $\pm$ 1,4 ^a	42,70 $\pm$ 2,1 ^a

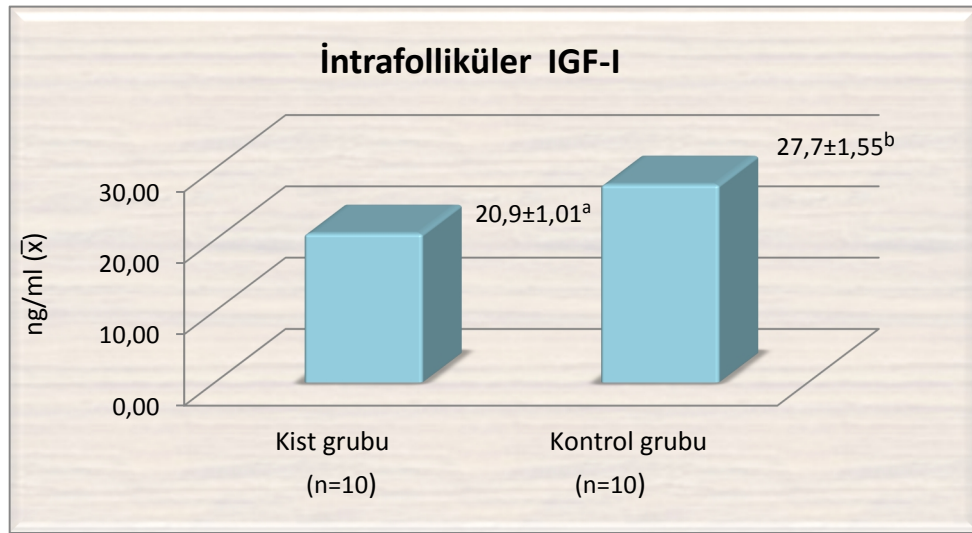
a,b: Aynı satır ve sütunda farklı harfler taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir ($p < 0.01$).



Şekil 3.10. Kist ve kontrol gruplarında ortalama süt verimi değişimleri.

3.4. Kist ve Kontrol Gruplarında İntrafolliküler IGF-I ve IGF-II Bulguları

Kist ve kontrol gruplarında intrafolliküler IGF-I düzeyleri kist grubunda ortalama $20,9 \pm 1,01$ ng/ml, kontrol grubunda $27,7 \pm 1,55$ ng/ml olarak hesaplandı (Şekil 3.11). Follikül içi ortalama IGF-I seviyelerinin gruplar arasında istatistik olarak önemli olduğu saptandı ($p < 0.01$). IGF-II ise western blot yöntemi ile belirlenemedi.

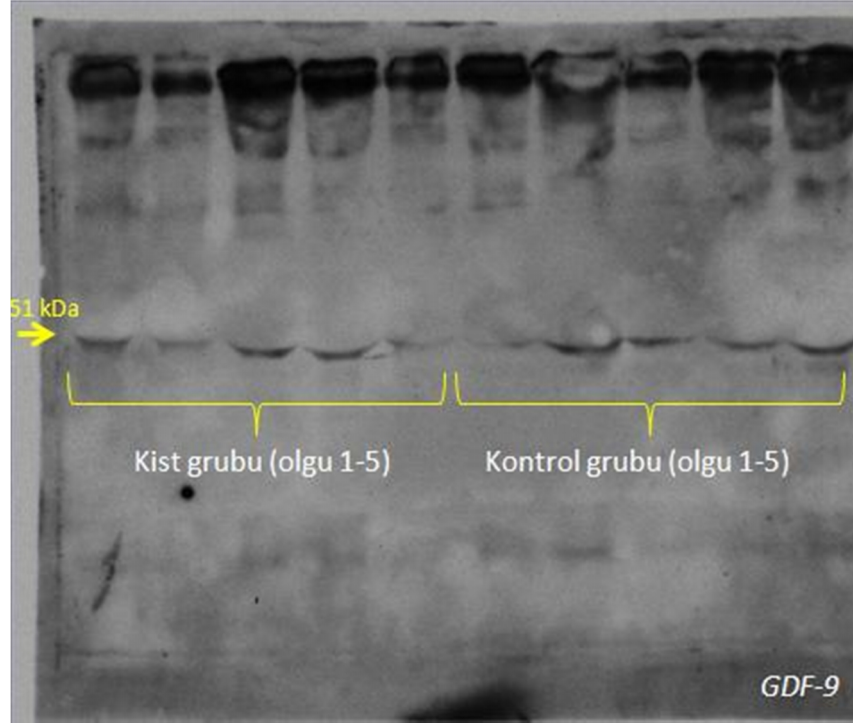


Şekil 3.11. İntrafolliküler IGF-I düzeyleri (ng/ml).

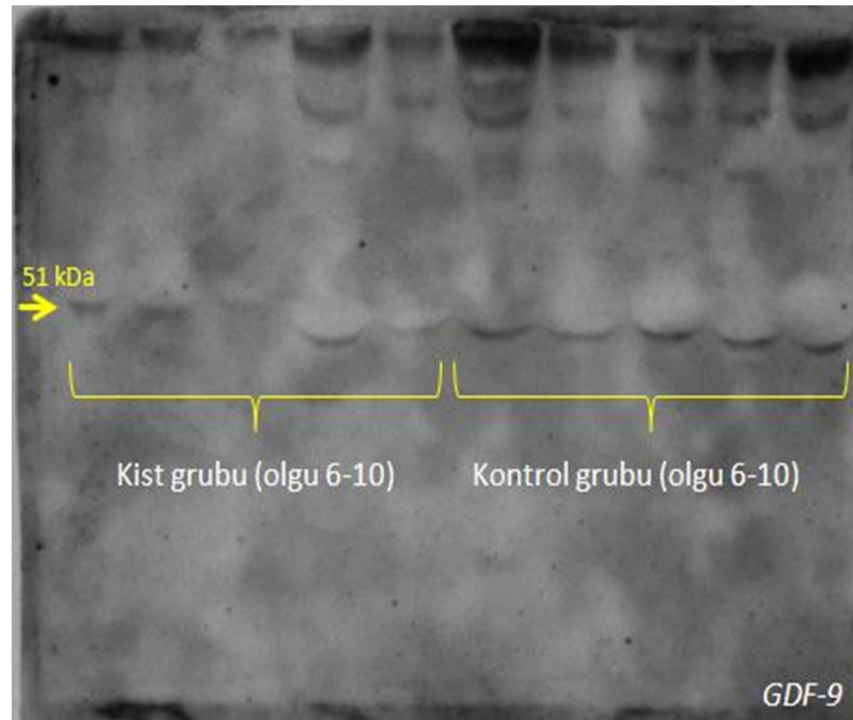
a,b: Sütunlarda farklı harfler taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.01$).

3.5. Follikül Sıvısında GDF-9, GATA-4 ve GATA-6 Proteinlerinin Western Blot Bulguları ve Bantların Dansitometrik Olarak Değerlendirilmesi

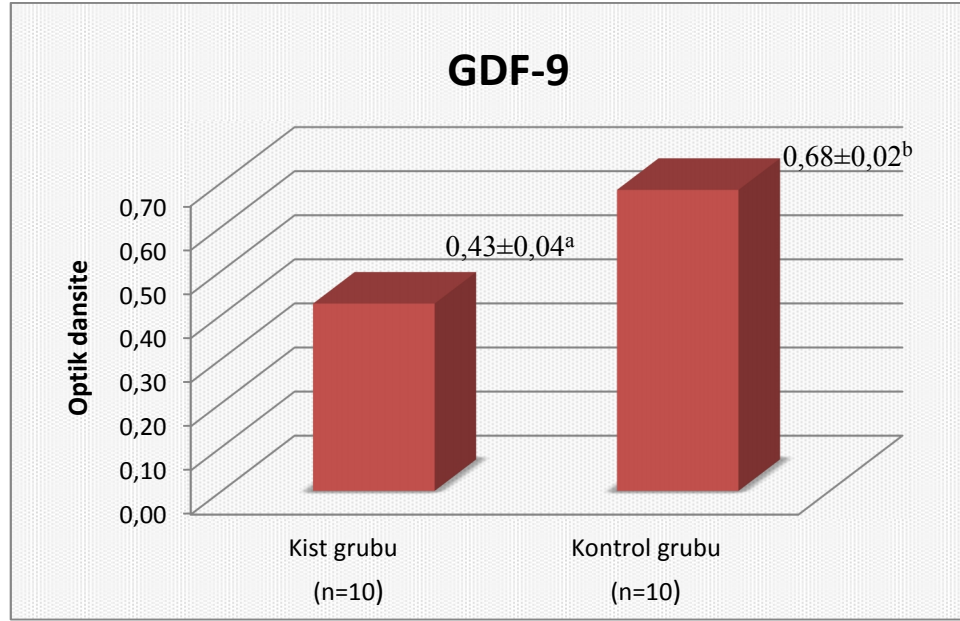
Kist ve fizyolojik dominant follikül grubundan elde edilen folliküler sıvılarda TGF- β ailesi üyesi GDF-9 ve transkripsiyon faktörlerden GATA-4 ve GATA-6 proteinlerinin ekspresyon düzeyleri western blot yöntemi ile belirlendi (Resim 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6). Elde edilen protein bantları ve gruplar arası dansitometrik değerler Şekil 3.12, 3.13 ve 3.14'de sunuldu. Kist grubu folliküler sıvılarından elde edilen GDF-9, GATA-4 ve GATA-6 protein bantlarının dansitometrik değerleri kontrol grubuna (dominant follikül) göre daha düşük bulundu ($p < 0.01$).



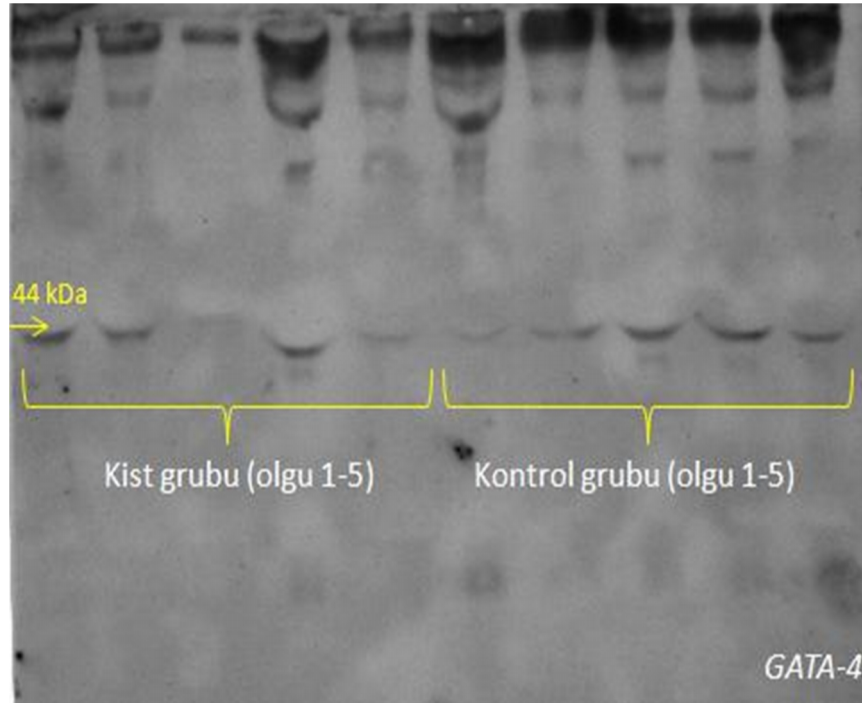
Resim 3.11. Kist ve kontrol gruplarında GDF-9 protein bantları (western blot)
(Kist grubu: Olgu 1-5; Kontrol grubu: Olgu 1-5).



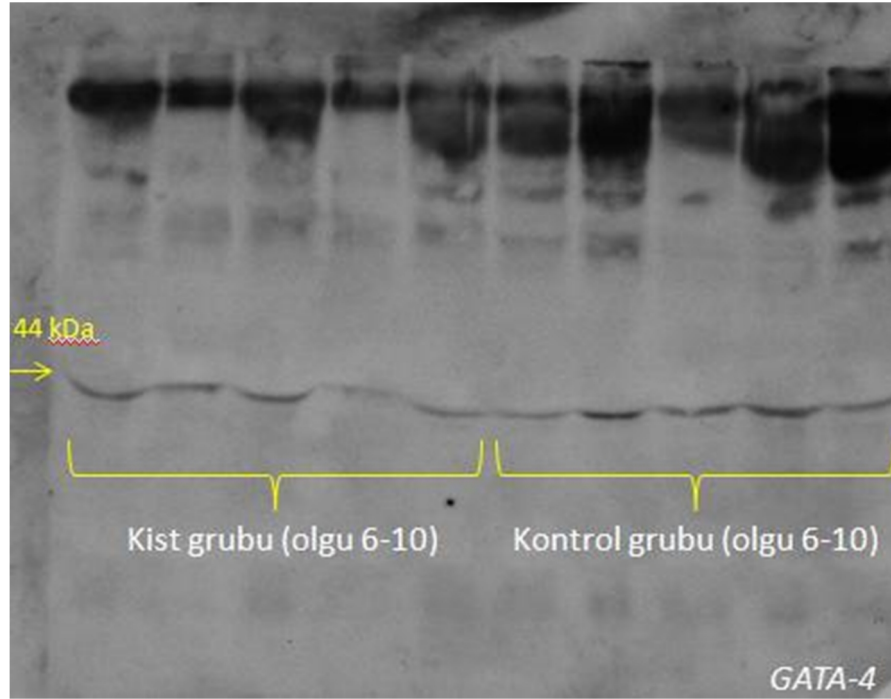
Resim 3.12. Kist ve kontrol gruplarında GDF-9 protein bantları (western blot)
(Kist grubu: Olgu 6-10; Kontrol grubu: Olgu 6-10).



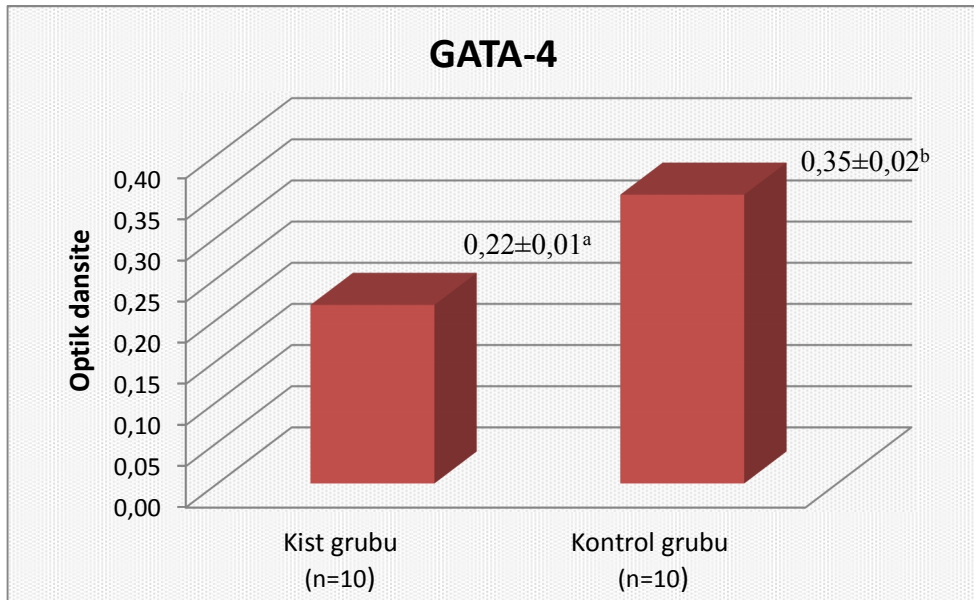
Şekil 3.12. Kist ve kontrol gruplarında GDF-9' a ait dansitometrik değerler. a,b: Sütunlarda farklı harfler taşıyan ortalama dansitometrik değerler istatistik olarak farklıdır ($p < 0.01$).



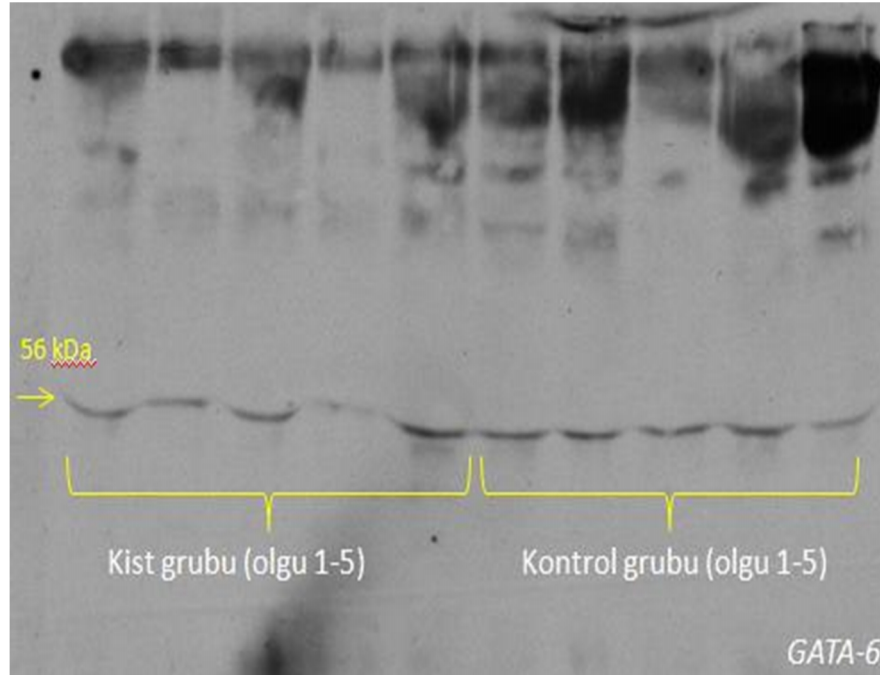
Resim 3.13. Kist ve kontrol gruplarında GATA-4 protein bantları (western blot) (Kist grubu: Olgu 1-5; Kontrol grubu: Olgu 1-5)



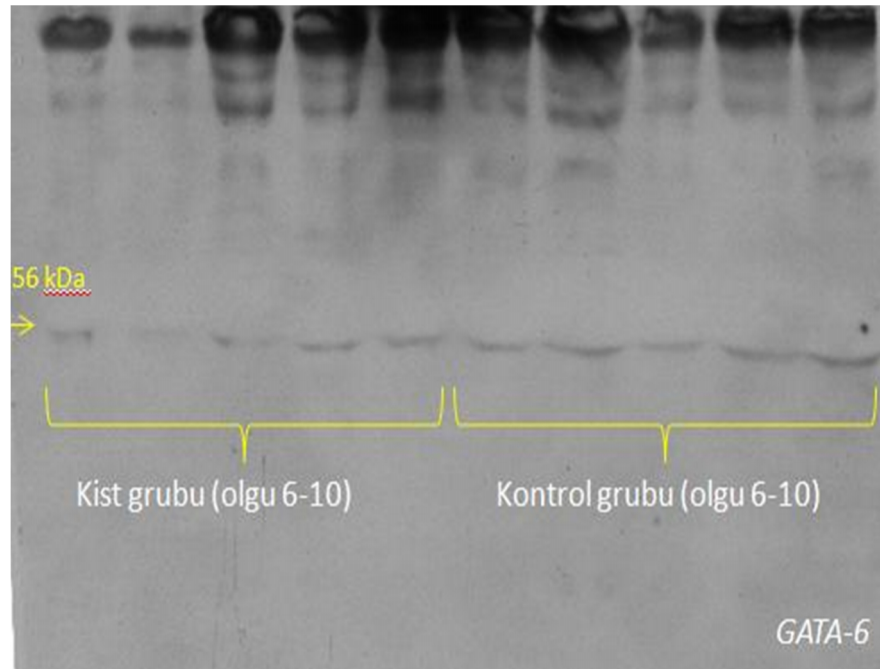
Resim 3.14. Kist ve kontrol gruplarında GATA-4 protein bantları (western blot)
(Kist grubu: Olgu 6-10; Kontrol grubu: Olgu 6-10).



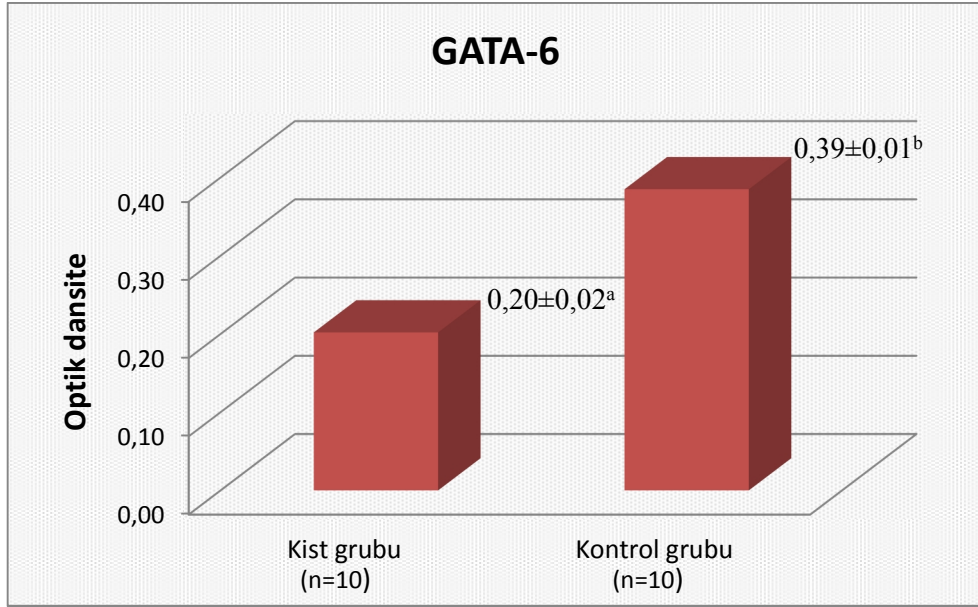
Şekil 3.13. Kist ve kontrol gruplarında GATA-4'e ait dansitometrik değerler.
a,b: Sütunlarda farklı harfler taşıyan ortalama dansitometrik değerler istatistik olarak farklıdır ($p < 0.01$).



Resim 3.15. Kist ve kontrol gruplarında GATA-6 protein bantları (western blot)
(Kist grubu: Olgu 1-5; Kontrol grubu: Olgu 1-5).



Resim 3.16. Kist ve kontrol gruplarında GATA-6 protein bantları (western blot)
(Kist grubu: Olgu 6-10; Kontrol grubu: Olgu 6-10).



Şekil 3.14. Kist ve kontrol gruplarında GATA-6'ya ait dansitometrik değerler. a,b: Sütunlarda farklı harfler taşıyan ortalama dansitometrik değerler istatistik olarak farklıdır ($p < 0.01$).

4.TARTIŞMA

Postpartum sürecin fizyolojik sınırlar içinde tamamlanması, süt inekçiliğinde ekonomik hedeflere ulaşmanın yegane yoludur. Bu sürece etki eden faktörlerin kontrol edilmesi, fertilité parametrelerinin kabul edilebilir sınırlar dahilinde kalmasını sağlar. Doğum sırasında uterus kontaminasyonu ve süregelen uterus enfeksiyonları, uterus involüsyonunu, ovaryum fonksiyonlarını, folliküler gelişmeyi ve ovulasyonları olumsuz etkileyerek, ineğin yeniden gebe kalmasını geciktirmektedir. Reprodüktif açıdan süt inekçiliğinin temel hedefi, postpartum süreçte en uygun zamanda, ineğin tekrar gebe kalabilmesini sağlamaktır. Bu amaçla da doğum anı ile beraber ineklerde düzenli muayenelerin gerçekleştirilmesi, fizyolojik sürecin takip edilerek aksaklıkların zamanında giderilmesi gerekmektedir. Düzenli kontrollerde, ineğin doğum şekli, plasentanın atılımı, uterusun anatomik involüsyonu, uterus enfeksiyonları ve eliminasyonu, ovaryum aktivitesi, folliküler gelişimlerin varlığı ve geçiş dönemindeki metabolik hastalıklar izlenmelidir (Opsomer ve ark., 2000; LeBlanc ve ark., 2002; Ingvarsten ve Moyes, 2012).

Uterus involüsyonu, uterusun gebe kalmadan önceki boyutlarına dönme sürecidir. Bu süreçte uterus kontaminasyonu ve enfeksiyonu varlığında özellikle gram negatif bakteriler tarafından üretilen bakteriyel lipopolisakkaritler, ovaryum ve hipofiz fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir (Sheldon ve ark., 2002).

Postpartum uterus boyutları, ineğin ırkına ve genetik yapısında göre değişiklik gösterse de genellikle uterusun ultrasonografik ölçümlerinde, postpartum 2. günde yaklaşık 15 cm, 10. günde 9-11 cm, 30. günde 7-8 cm ve 60. günde yaklaşık 5-6 cm boyutlarında olmaktadır (Arthur ve ark., 1982). Olson ve ark., (1986) bu ölçümleri postpartum 30. günde 3-4 cm, postpartum 40. günde ise 2-3 cm olarak bildirmişlerdir.

Senosy ve ark. (2009), doğum yapan ineklerin uterus ölçümlemlerini postpartum üçüncü haftadan itibaren ovaryumlarda luteal yapıların varlığını dikkate alan iki çalışma grubu oluşturarak, 3. haftadan itibaren haftalık takipler şeklinde gerçekleştirmişler ve ortalama uterus boyutlarını sırasıyla 3,89 cm, 3,18 cm, 3,03 cm, 2,83 cm ve 2,6 cm olarak bildirmişlerdir. Zhang ve ark., (2010) ise üç çalışma grubu ile primiparus, biparus ve multiparus ineklerin postpartum fertilitate parametrelerini değerlendirmişler, postpartum süreçte serviks uteri ve kornu uteri involüsyonlarında bir fark olmadığını ifade etmişlerdir.

Sunulan çalışmada kornu uteri çapları postpartum 14. gün kist grubunda $6,9 \pm 0,67$ cm'den, 54. gün $5,1 \pm 0,43$ cm'ye; kontrol grubunda ise 14. gün $6,33 \pm 0,5$ cm'den., 54. gün $4,8 \pm 0,28$ cm'ye geriledi. Serviks uteri çapları ise kist grubunda postpartum 14. gün $4,08 \pm 0,36$ cm ve 54. günde ise $4,36 \pm 0,41$ cm olarak belirlenirken, kontrol grubunda 14. gün $4,04 \pm 0,19$ cm ve 54. günde $3,70 \pm 0,14$ cm olarak ölçüldü. Bu ölçümler her iki çalışma grubunda da, Arthur ve ark.'nın bulgularından (1982) düşük bulunurken, Zhang ve ark., (2010), Olson ve ark.'a (1986) ve Senosy ve ark 'larıninkine (2009) benzer ölçüm bulguları elde edildi.

Uterus involüsyon eğrilerinde postpartum 24. günden itibaren kontrol grubunda daha keskin bir düşüş gözlemlendi. Kist grubunda ise uterus involusyonu daha yavaş bir süreçte ve daha yatay bir eğri ile seyretti. Serviks uterusinin postpartum süreçteki involüsyon eğrisi ise kornu uteriler ile paralellik göstermedi. Sunulan çalışmada, postpartum süreçte uterusun involüsyon bulguları ile kistik oluşumlar arasında bir ilişki olmadığı kanaatine varıldı.

Postpartum 14. günde kontrol grubu ile paralel bir şekilde azalmaya başlayan serviks uteri ölçüleri, postpartum 24. günde kontrol grubundan farklı olarak artış gösterdi. Kist grubundaki yavaş involüsyon süreci ve postpartum 24. günden itibaren

serviks uteri çaplarındaki artış, kistlerin yapısal olarak oluşmaya başladığı; özellikle postpartum 24. günden itibaren geçen sürede intrafolliküler steroidlerin etkisi ile uterus dokusundaki artan ödemin, kiste yönelen olgulardaki ölçüm değerlerini ve involusyon eğrisini değiştirebileceği düşünüldü.

Postpartum dönemde ovaryumlardaki folliküler aktivite ve dominant follikülün seçimi gonadotropik hormon salınım sıklığına bağlıdır (Crowe ve ark., 2008) ve dominant follikül seçimi doğum sonrası yaklaşık 10. günden itibaren olmaktadır. Doğum sonrası ilk ovulasyonlar ise postpartum 2.haftada şekillenmektedir (McDougall ve ark., 1995). Ancak postpartum ilk sikluslar kısa olurken, olası ovulasyon sonrası korpus luteumun yaşam süresi de daha az olabilmektedir (Wathes ve ark., 2003). Thiengtham ve ark. (2008), postpartum 12-15 günlük sürede ilk dominant follikül seçiminin ve erken ovulasyonların olduğunu, Sakaguchi (2011), ise postpartum ilk ovulasyonları 18. günlerde gözlemlediklerini ancak ilk siklusların kısa olduğunu bildirmişlerdir. Lee ve Kim (2006), ineğin doğum yapma sayısının ve süt veriminin kistik folliküler yapıların oluşumunda önemli bir rol aldığını; buna göre doğum sayısı arttıkça, kist insidensinin de arttığı yönde bir görüş ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada, kist grubunda, olguların çoğunda postpartum 14. günde ovaryumların aktif olması ve follikül çaplarının genellikle 1,5 cm'den büyük olması Sakaguchi (2011) ve Thiengtham ve ark.'larının (2008) bulguları ile paralellik gösterirken, erken dönemde ilk ovulasyonların görülmemesi ile de kontrol grubundan farklı bulundu. Sunulan tez çalışmasında kist grubunda, postpartum 14. günde yapılan muayenelerde en büyük follikül çapı ortalaması $1,85 \pm 0,28$ cm ile sağlıklı gruptan belirgin farklılık gösterdi ($p < 0.01$).

Kist grubunda, 10 olgunun dokuzunda kistik folliküler yapıların genelde postpartum 14. ila 24. gün aralığında şekillenmeye başladığı ve 14. günde belirlenen büyük folliküllerin 24. ve 34. günlerde kist sınırı olarak belirlenen 2,5 cm çapın üzerine çıktıkları belirlendi.

Kist grubunda, 24, 34, 44 ve 54. günlerde yapılan muayenelerde 2,5 cm ve üzerinde folliküler çapa sahip folliküler kistlerin bir sonraki muayenelerde sabit bir büyüme eğrisi gösterirken, 2,5 cm'nin altında olan folliküllerin daha hızlı bir büyüme eğrisi gösterdiği gözlemlendi. Bu grupta aspirasyon uygulanan on olgunun ikisinde nüks olguları belirlendi. Aspirasyon sonrası nüks şekillenmeyen sekiz olguda korpus luteumlar oluştu. Çalışma süreci içerisinde takip edilebilen iki olguda korpus luteumun yaşam ömrünün normal bir siklus süreci içerisinde bulunduğu ve aspirasyonu izleyen 20 günlük süreçte sağlıklı bir siklus döngüsüne yönlendiği belirlendi.

Kontrol grubunda 24 ve 34. gün muayenelerinde, on olgunun sekizinde postpartum 24 gün içinde fizyolojik folliküler aktivasyon, iki olguda ise yavaş gelişen folliküler yapı belirlenirken, 44 ve 54. gün muayenelerinde tamamen fizyolojik bulgular elde edildi.

Postpartum 14. günde yapılan muayenelerde ortalama follikül çapının kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması ve folliküllerin 24. ve 34. günde kistik yapıya yönelmesinde, postpartum erken dönemde uterus içi gram negatif bakterilerin varlığı ve bunların salgıladıkları bakteriyel lipopolisakkaritlerin folliküler düzeyde hedef noktaları olan granüloza hücrelerinde oluşturdukları reaksiyonlar sonucu, follikülogenezis ve steroidogenezis aktivasyonlarının bozulması ve bu hücrelerdeki gonadotropin reseptörlerinin yetersizliği söz konusu olabilir. Diğer bir olasılık olarak, erken postpartum dönemde granüloza hücrelerinde LH reseptör sayısı ve

fonksiyonunu etkileyen en önemli faktörlerden biri de gerek lokal gerekse sistemik IGF-I yetersizlikleri olabileceği düşünüldü.

Yukarıda da açıklandığı gibi postpartum 24-44. gün aralığında 2,5 cm'nin üzerindeki folliküler kistlerin bir sonraki muayenede sabit bir büyüme eğrisi gösterdiği gözlemlendi. Bu sabit eğrinin kistik yapının oluşum sürecinin tamamlanmamış olması, yani kist siklusun devam etmesi ve kistik yapının tıpkı sağlıklı preovulatör folliküllerdeki gibi folliküler maturasyon kistin belirli bir çapa ulaşmaya kadar hızlı ya da yavaş büyümesi ve bu seyirin ovaryum içi (intrafolliküler steroidler, granuloza hücre proliferasyonu ve steroidogenez) ve dışı (gonadotropinler, periferik IGF-I) dengeleyicilerinin etkileşimi sonucu büyüme hızının ayarlanması olarak açıklanabilir. Ayrıca anılan postpartum dönem içinde sistemik insulin direncinin azalmaya başlaması ve yine sistemik IGF-I düzeyindeki artışın da (Hayırlı ve Çolak, 2011) folliküler büyüme hızını yavaşlatabileceği düşünüldü.

Kist grubunda aspire edilen on olgunun ikisinde nüks olayları ile karşılaşıldı. Bunun nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte, aspirasyon esnasında follikül yapısı içerisinde yer alan kumulus oosit kompleksinin tamamen uzaklaştırılamaması sonucu lokal parakrin ve otokrin faktörlerin negatif yönde etkinliğinin devam etmesi şeklinde yorumlanabilir.

Zhang ve ark. (2010), yapmış oldukları bir çalışmada, multiparus ineklerde biparus ve primiparus ineklere göre postpartum ilk ovulasyonların genelde ilk folliküler dalgadan sonra şekillenebileceğini (postpartum 2 hafta düzeyinde) ve primiparus ineklerde ilk ovulasyon için daha fazla folliküler dalgaya ihtiyaç olduğunu, Thiengtham ve ark., (2008) ise postpartum ilk dominant folliküllerin %50'sinin ovule olduğunu bildirilmektedir. Sunulan çalışmada kontrol grubunda, postpartum ilk dominant follikülün ovulasyon oranı (2 olgu; % 20) Thiengtham ve

ark'larının (2008) bulgularından düşük bulunurken, iki olguda luteal yapıların bulunması ve çalışma grubunu oluşturan ineklerin multiparus olması ve benzer postpartum günlerdeki ovaryum aktiviteleri ile Zhang ve ark.'larının (2010) bulguları ile paralellik gösterdi.

Süt inekçiliğinde artan süt miktarına paralel olarak fertilite parametreleri olumsuz etkilenmektedir. Fertilite parametrelerindeki bu düşüşün en önemli nedenleri arasında ineklerde geçiş dönemi ve laktasyonla birlikte artan enerji ihtiyacının karşılanmasındaki sorunlar ve bunun sonucu şekillenen negatif enerji dengesine bağlı olarak reproduktif hastalıkların artmasıdır (Cutullic ve ark., 2012). Orta düzeyde süt verimine sahip inekler ile yüksek süt verimine sahip inekler karşılaştırıldığında; süt veriminin artışı ile birlikte postpartum anöstrus insidiensi, düzensiz ovaryum siklusları, uzayan luteal dönemler ve kalıcı korpus luteumlar şeklinde sıklık faaliyetlerdeki sorunlarının arttığı bildirilmiştir (Roche ve ark., 2000).

Yüksek süt verimli ineklerde LH pulzasyon sıklığı ve miktarı olumsuz etkilenebilmektedir. Silvia ve ark., (2002) kistik folliküllere sahip ineklerde LH salınım miktarı ve pulzasyon sıklığının sağlıklı ineklere oranla daha yüksek olduğunu, granuloza hücreleri ve folliküllerdeki LH reseptör sayısı ve LH'ya yanıtın düşük olduğunu bildirmişlerdir. Adrenal kortekste LH reseptörleri bulunmaktadır (Rao, 2010) ve adrenal korteks gonadotropinlerin etkisi ile hiperstimule olabilmektedir (Carlson, 2007).

Sunulan çalışmada kist grubunda süt veriminin artması beklenen postpartum otuzuncu günlerde (Hayırlı ve Çolak, 2011) verimlerin ani bir düşüş gösterdiği belirlendi ($p<0.01$). Bu ani süt verimi düşüşünün kistlerin oluşum süreçlerini tamamladığı ve aspirasyonların yapıldığı muayene aralığında olması dikkat çekti. Bunun olası nedeni olarak kistik ovaryumlu ineklerde artan LH salınım sıklığına

ovaryum düzeyinde yanıt alınamaması, sirkülasyondaki serbest LH'nın adrenal korteksi uyarımı ve buna yanıt olarak kan ACTH ve Kortizol seviyelerindeki artışın anılan dönemlerde süt verimindeki ani azalmanın muhtemel nedeni olabileceği düşünüldü.

İnek ovaryumunda spesifik olarak insulin ve IGF-I reseptörleri bulunmaktadır. İnsulin, IGF-I reseptörlerine etki ederek follikül gelişiminde indirekt rol almaktadır (Spicer ve Echternkamp, 1995). Insulin benzeri büyüme faktörleri FSH ve LH salınımına etki ederek, folliküler hücrelerdeki steroidogenezis sürecini, LH reseptör sayısının ve fonksiyonunun artışını destekler. Bununla birlikte IGF sistemi taşıyıcı proteinleri (IGFBP) ile birlikte aromataz sistemini uyararak follikül seçiminde ve ovulasyonda önemli rol oynar (Zulu ve ark., 2002b). IGF-I sistemi spesifik ekstraselüler proteazlar sayesinde TGF- β biyoaktivitesinin düzenlenmesinde folliküllerin büyüme ve gelişmesi süresince merkezi bir görev üstlenir. IGF-I dominant follikül seçiminde önemli role sahipken, fizyolojik sağlıklı folliküllerde, follikül içi IGF-I düzeyleri follikül çapı ile pozitif bir korelasyon göstermektedir. Kistik yapılarda ve fizyolojik dominant folliküllerdeki intrafolliküler IGF-I düzeyleri ineklerde farklılık göstermektedir (Perks ve ark., 1999).

Eden ve ark., (1988) polikistik over sendromlu kadınlarda intrafolliküler IGF-I düzeylerinin sağlıklı bireyler ile aynı olduğunu ve follikül içi bir farklılığın bulunmadığını bildirirken, Ortega ve ark., (2008) ineklerde bu durumun tam tersi olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, ACTH ile uyarılmış, spontan olarak oluşmuş kistik folliküller ve kontrol grubu olarak preovulator folliküllerdeki follikül içi IGF-I düzeylerinin kistik folliküllerde belirgin şekilde daha az miktarda olduğunu ortaya koymuşlardır.

Sunulan çalışmada, kist grubunda intrafolliküler IGF-I düzeyleri ortalamasının $20,9 \pm 1,01$ ng/ml ile kontrol grubundan belirgin şekilde düşük bulunması ($p < 0.01$) Ortega ve ark.'larının (2008), bulguları ile benzerlik göstermektedir. IGF-I'in follikül içinde daha az düzeyde olmasına rağmen, sirkülasyondaki IGF-I'in sağlıklı folliküllere sahip ineklerdeki düzeyleri ile benzer olması kistik olgularda follikül içi düzenleyici mekanizmalardaki olası aksaklıkların bir sonucu olabileceği düşüncesine varıldı.

İnek granuloza hücreleri IGF-I taşıyıcı proteinlerini sentezleyebilmektedir (Santiago ve ark., 2005). Kistik yapıya yönelen folliküllerde granuloza hücrelerinde taşıyıcı proteinlerin ekspresyonunun olası yetersizliği ve IGF sistemindeki düzensizlik postpartum süreçte kistik yapıların follikül içi IGF düzeylerindeki düşüşün bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Zulu ve ark. (2002b), ineklerde prepartum 11. ve postpartum 10 haftalar süresince kan IGF-I düzeylerini takip etmişler ve ilk 7-13 günlük süreçte serum IGF-I düzeylerinin seksüel siklusu normal olan hayvanlarda, kistik, inaktif ve kalıcı luteal yapılar gösterenlere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada postpartum 14. günde kistik olgularda ovulasyonların görülmemesi kan IGF-I düzeyindeki olası azalmaya bağlı olarak LH reseptörlerindeki artışın ve LH'ya yanıtın olmaması ve kistik olgularda follikül içi IGF-I düzeylerinin az olması, LH hormonu dalgalanmaları ve FSH'nın ikinci kez salınımı ile follikül içi östradiol artışı sonucunda granuloza hücrelerinin premature farklılaşmasını önlemek amacı ile oosit varlığının korunması ve ikinci folliküler yükselmenin engellenmesi şeklinde açıklanabilir.

Sunulan çalışmada her iki grupta da follikül içi IGF-II'nin varlığı western blot yöntemi ile belirlenemedi. Bunun olası nedeninin, western blot çalışmalarında

seçilen IGF-II primer antikoruunun inek folliküler sıvıları ile reaksiyon vermemesi şeklinde d   n ld .

Sağlıklı bir puerperal dönem ve uterus enfeksiyonlarının ilk göstergesi postpartum vaginal akıntılardır. Vaginal akıntıların karakterize edilmesinde ve skorlanmasında bir çok yöntem mevcut olsa da (Murray ve ark., 1990, Sheldon ve Noakes, 1998) Williams ve ark. (2005) , postpartum vaginal akıntılarını makroskopik olarak içeriğin karakterine ve kokusunun şiddetine göre 0 ila 3 puan arasında sınıflandırmışlardır. Sunulan çalışmada vaginal akıntılarının Williams ve ark.'na (2005) göre sınıflandırmasının postpartum süreçteki uterusun sağlığını izleme açısından klinik muayenelerde pratik bir yöntem olabileceği, ancak vaginal akıntılarının gözlemine ek olarak, bu akıntılardan mikrobiyolojik bakteri izolasyonunun da yapılması gerektiği d   n ld .

Sheldon ve ark. (2002), pastpartum dönemde inek uteruslarından bakteriyel etken izolasyonu yapmışlar ve devam eden süreçteki ovaryum aktivitesini izlemişlerdir. Buna göre ilk 28 günlük süreçte ağırlıklı olarak prulent akıntılara neden olan bakteri grubunu, takip eden günlerde de mukoprulent karakterde akıntılara neden olabilecek bakterileri izole etmişlerdir. Araştırmacılar, ovaryum fonksiyonlarında ise purulent ve mukopurulent akıntı karakterlerini gösteren bakterilerin izole edildiği gruplarda folliküler geli imlerin olduğunu, ancak dominant follikül seleksiyonun olumsuz etkilenerek ilk ovulasyonların geciktiğini bildirmişlerdir.

Kist grubunda postpartum 14. günde ağırlıklı olan purulent akıntılarının, 24. günde mukoprulent akıntıya ve kistik olguların en sık görüldüğü dönem olan 34. günde ise bol miktarda müköz akıntıya dönüştüğü gözlendi. Bu çalışmada her ne kadar uterustan bakteri izolasyonu yapılsa da postpartum dönemin normal seyri içerisinde kistik grupta da erken postpartum dönemde doğal bakteriyel yükün söz

konusu olduğu; ovaryumun folliküler bozukluğuna rağmen muhtemelen lokal fiziksel ve immunolojik savunma sistemlerinin etkin rol oynadığı (Bondurant, 1999; Williams ve ark., 2007), ancak folliküler büyümenin en yüksek olduğu 24-34 gün aralığında steroid etkiye bağlı olarak, yoğun mukotik akıntıların glandula uterinaların aktivasyonu sonucu ortaya çıktığı şeklinde düşünöldü. Sunulan çalışmada, akıntı karakterlerinin Sheldon ve ark.'nın (2002) bulgularına benzer olması ve kist grubunda postpartum ilk ovulasyonlardaki aksamaların görölmesi, kontrol grubunda ise sadece iki olguda postpartum 14. gün ve öncesi ovulasyonun olması ve ovaryum aktivitesinin 24. günden sonra düzenli bir şekilde devam etmesi bu durumu açıklamaktadır.

Transforming Growth Factor- Beta üst ailesi intraovarian düzenleyici olarak rol alan ve ovaryum fonksiyonlarını sürdürmesini sağlayan 35'den fazla proteinden oluşur (Mulheron ve ark., 1991). Bu proteinler içerisinde TGF- β , aktivin/inhibin, büyüme ve farklılaşma faktörleri (GDF) ve Bone morphogenic protein (BMP) alt ailesi yanısıra antimüllerian hormon yer alır (Heldin ve ark., 1997; Dijke ve ark., 2000).

TGF- β üst ailesi üyelerinden GDF-9'un görevleri proteinlerin ve bağlayıcı (binding) proteinlerin follikül gelişimi süresince reseptörlere bağlanmasını sağlar. Bu reseptörler oosit, granüloza hücresi ve teka hücrelerinde sıklıkla yer alırlar. Ancak söz konusu reseptörler, folliküllerin farklı gelişim evrelerinde farklı proteinlerle etkileşim içerisinde olur ve bunların dağılımı türlere göre farklı şekillerde gerçekleşir (Dijke ve ark., 2000). TGF- β 1 proteini, primordiyal ve küçük antral folliküllerin granüloza hücrelerinde lokalize olur. Ancak, büyük folliküllerin granuloza hücreleri ile bu büyüklükte herhangi bir follikülün teka hücrelerinde bulunmaz. Buna karşın, TGF- β 2 ve 3 farklı hacime sahip tüm folliküllerin granüloza hücreleri ile erken antral aşamadaki folliküllerin teka hücrelerinde reaksiyon verir. TGF- β ineklerde, granüloza ve teka hücrelerinin proliferasyonlarını inhibe ederek gonadotropin aracılığıyla gelişen steroidogenezisi artırır (Mulheron ve ark., 1991; Roberts ve

Skinner, 1991). Oositin kalitesi ve fonksiyonunu düzenlemede rol oynayan GDF-9; oosit kumulus hücrelerince üretilir. GDF-9, oosit sağlığını ve farklılaşarak olgunlaşmasının desteklenmesinde görev alır (Elvin ve ark., 2000). Juengel ve McNatty (2005), yaptıkları bir çalışmada, kumulus hücrelerinin ve follikülün lümene bakan hücreleri sayesinde bu farklılaşmanın düzenlendiğini ve bu süreç içerisinde oositin salınan faktörlerin kısıtlanması ve oosit kökenli faktörlerin değişim düzeyinin kontrol edildiğini bildirmişlerdir. İnek ve koyunlar yönünden bakıldığında, primordiyal follikülün erken aşamalarında oosit tarafından GDF-9, BMP-6 ve 15 eksprese edilir (McGrath ve ark., 1995; Jaatinan ve ark., 1999; Bodensteiner ve ark., 1999; McNatty ve ark., 2001). Kadınlarda, GDF-9 yetersizliklerinin folliküler gelişim düzensizliklerine neden olduğu ve polikistik over sendromlu kadınlarda GDF-9 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2010).

Bu çalışmada, folliküler kistlerde ve preovulator sağlıklı folliküllerden elde edilen folliküler sıvıların GDF-9 antikoru ile muamelesi sonrasında elde edilen sonuçların Juengel ve McNatty'nin (2005) bulguları ile paralellik gösterdiği, kistik yapılarda oositin dejenere olabileceği ve yaşlanabileceği, bunun sonucu olarak oosit-somatik hücre ilişkilerinin kurulması için gerekli sinyalleri ve protein ekspresyonlarını yeterli ölçüde yapamadığı ve ovulasyona yönlenemeden persiste halde ovaryumlarda kaldığı düşünüldü. Çalışmada, her ne kadar inhibin alfa ekspresyon düzeyine bakılmasa da, kistik ve granuloza hücre tümörlü olgularda, folliküler sıvı analizleri ve immunhistokimyasal çalışmalarda inhibin alfa ekspresyonunun yüksek olduğu bilinmektedir (Matzuk ve ark., 1992). Bilindiği üzere, inhibin alfa, follikül içi eylemlerinde TGF-beta ailesi üyeleri ile ortak reseptörleri kullanır (Stenvers ve Findlay, 2009) ve çalışmada kist grubunda, olası yüksek inhibin alfanın bu reseptörlere öncelikle bağlanması nedeni ile GDF-9'un eylemlerini de dolaylı olarak bloke etmiş olabileceği düşünülebilir.

Steroidogenezisin düzenlenmesinde rol alan bir diğer faktör gonadlardan başka pek çok dokuda da eksprese edilebilen GATA transkripsiyon faktörleridir.

Bunlar GATA 1,2,3 ve 4,5,6 şeklinde iki farklı alt gruba ayrılırlar. Üreme ve fertilité yönünden GATA faktörleri ele alındığında, ekspresyon yerleri bakımından önemli olan grup ikinci gruptur (Tong ve ark., 2000; Molquentin, 2000; Tevesian ve ark., 2002). GATA-4 ve GATA-6 ovaryum düzeyinde gonadotropinlerin tetiklemesi ile granüloza hücrelerinde sitoplazma düzeyinde protein kinaz A (PKA) biyolojik seyir etkisi altında steroidogeneziste aromataz enzim aktivasyonun sağlanması ve Cyclin D2'yi tetikleyerek granüloza hücre farklılaşmasında önemli rol oynar (Anttonen ve ark., 2005).

GATA-4 ve 6 ovaryumdaki granuloza hücrelerinden ve teka hücrelerinden salınır (Heikinheimo ve ark., 1997; Laitinen ve ark., 2000). Sunulan çalışmada, GATA-4 ile GATA-6 proteinlerinin folliküler kistlerdeki ekspresyon düzeylerinin dansitometrik olarak, kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük bulunması ($p<0.01$) yukarıda da açıklandığı üzere, kistik folliküllerdeki gonadotropin reseptörlerinin yetersizliğine bağlanabilir. Ayrıca, kist grubunda tonik ve pulsatif gonadotropin salınımlarına rağmen ovaryum düzeyinde hücresel farklılaşmanın olmaması (reseptör upregülasyonu), gonadotropinlere yanıt sorunları ve bunun sonucunda da folliküllerin anovulasyonu şeklinde düşünülebilir.

Sonuç olarak, erken postpartum dönemde, kistik folliküler yapıların oluşumunda; bakteriyel endotoksinler, insülin direnci gibi sistemik metabolik değişimlerin yanı sıra, follikül içi moleküler düzenleyici mekanizmalar yönünden muhtemelen düşük IGF-I varlığında; gonadotropin reseptör yetersizliği sonucu GATA-4 ve GATA-6 ekspresyonu ve aktivasyonlarının baskılandığı söylenebilir. Ayrıca erken postpartum dönemde, kiste yönelen folliküllerin genelde postpartum 14. günden itibaren gelişen ilk folliküler dalgadan şekillendiği, klinik görünüm olarak postpartum 24-34. gün arasında yoğunlaştığı ve bu dönemde yoğun müköz karakterli vaginal akıntılar ve günlük süt verim miktarlarında ani düşüşler ile karakterize olduğu belirlendi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Sunulan çalışmada ovaryum içi regülatör mekanizmalarda önemli rol alan GDF-9, GATA-4 ve GATA-6 proteinlerinin ekspresyon düzeylerinin dansitometrik olarak kontrol grubuna oranla önemli ölçüde düşük bulunması nedeni ile bu proteinlerin kistik folliküler yapıların etiyopatogenezinde önemli rol aldığı düşünüldü.

Postpartum süreçte kistik yapıya yönelen folliküllerde eksprese edildiği belirlenen bu büyüme faktörlerine ek olarak transforming growth factor beta ailesine ait diğer proteinlerin de daha kapsamlı moleküler düzeyde bilimsel çalışmalarda incelenmesinin, kist etiyopatogenezini ve ovulasyon mekanizmalarının moleküler düzeyde açığa kavuşturulmasında faydalı olacağı kanaatine varıldı.

2. Bu çalışmada kist grubunda, intrafolliküler IGF-I düzeylerinin kontrol grubuna oranla önemli ölçüde düşük bulunması sonucu, IGF-I'in preovulator follikül seçiminde ve ovulasyon mekanizmasında pay sahibi olduğu, ineklerde postpartum süreçte ovaryum aktivitesinin ve ineğin metabolik durumunun izlenmesinde ve değerlendirilmesinde periferik ve intrafolliküler IGF-I düzeylerinin önemli bir indikatör olabileceği görüşüne varıldı.

3. Kistik ve sağlıklı ovaryum faaliyetlerine sahip ineklerde postpartum sürecin izlendiği bu çalışmada, ağırlıklı olarak postpartum 14. günde var olan büyük folliküler yapıların agresif bir şekilde büyümeye devam etmesi sonucu persiste olarak ovaryumda kaldığı, gelişim süreçlerini 24. ve 34. günlerde tamamladıkları belirlendi.

Bu sonuç ışığında, ineklerde ovaryum aktivitelerinin erken puerperal dönemde izlenmesi ile özellikle postpartum 14. ve 24. günlerde agresif bir şekilde gelişen folliküler yapıların erken dönemde ovulasyona yönlendirilmesi sonucu ineklerde siklik düzenin elde edilebileceği ve folliküler kistler nedeni ile uzayan servis periyodunun kısaltılabileceği düşünüldü.

4. Follikül sıvıları eldesi için yapılan aspirasyonlar sonrasında korpus luteumların şekillenmesi ile ineklerin siklik düzene girebileceği ve aspirasyon yönteminin alternatif kist tedavisi amacı (rupturdan farklı olarak) ile kullanılabileceği düşünüldü.

5. Postpartum vaginal akıntılarının değerlendirilmesinde, kistik folliküllerin gelişim sürecinde ve kistik yapının varlığında dikkat çekici olarak müköz karakterli akıntılarının olması nedeni ile, rutin çiftlik ziyaretlerinde, ineklere özel muayeneler yapılmasa da benzer akıntılarının görüldüğü hayvanlarda kistik yapılardan şüphelenilebileceği ve bu ineklere ayrıntılı jinekolojik muayenelerin gerçekleştirilmesinin klinik olarak yararlı olabileceği, ayrıca, postpartum süreçte uterus mikroorganizma yükünü en aza indirmek için gerekli doğum ortamı hijyenine dikkat edilmesinin, klinik ve subklinik uterus enfeksiyonlarının involüsyon takibi ve vaginal akıntılarının denetimi ile erken tanı ve sağaltım girişimleri yapılmasının ineklerde postpartum yeniden gebe kalma süresini kısaltılabileceği kanaatine varıldı.

6. Postpartum süreçte metabolik hastalıklar, mastitisler, östrus takibi yönünden izlenen süt verimlerinin, beklenen pikin 30-40 günler düzeyindeki ani düşüşlerinde folliküler kistlerden de şüphelenilebileceği ve bu hayvanlara ovaryum muayeneleri yapılmasının erken teşhis ile ekonomik zaman kayıplarının önüne geçilebileceği kanaatine varıldı.

ÖZET

İneklerde Ovaryumların Folliküler Kistik Dejenerasyonlarının Etiyopatogenizde Follikül İçi Bazı Büyüme Faktörlerinin (GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I, IGF-II) Etkisinin Araştırılması

Sunulan çalışmanın amacı, sütçü ineklerde follikül içi GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I ve IGF-II'nin folliküler kistik dejenerasyonların etiyopatogenezendeki etkinliğinin bazı puerperal fizyoloji parametreleri çerçevesinde araştırılmasıdır. Çalışmanın hayvan materyalini profesyonel süt inekçiliği çiftliğine ait ve puerperal süreçleri izlenen sürüden, normal ovaryum aktivitesine sahip ($n=10$) ve folliküler kist ($n=10$) tespit edilen toplam 20 *Holstein-Friesian* inek oluşturdu. Çiftlikte doğum yapan her ineğin postpartum 14, 24, 34, 44 ve 54. günlerde 5 MHz transrektal lineer prob ile ultrasonografik olarak ovaryum aktiviteleri izlenerek, preovulatr ve kistik folliküller teşhis edildi. Transvaginal ovum pick up yöntemi ile preovulatr ve kistik folliküler sıvılar aspire edildi. Ayrıca, klinik muayenelerde uterus involüsyonu ve vaginal akıntılar değerlendirildi. Preovulatr ve kistik folliküllere ait aspirasyon sıvılarında iki grupta da GDF-9, GATA-4 ve GATA-6 protein ekspresyon düzeyleri western blot ile; IGF-I miktarları ise ELISA ile belirlendi. Kist grubunda follikül içi GDF-9, GATA-4 ve GATA-6 ekspresyon düzeylerinin dansitometrik olarak ve IGF-I miktarlarının kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük olduğu belirlendi ($p<0.01$). Ovaryum muayenelerine göre, kist grubunda postpartum 14. ve 24. günlerde follikül çaplarının gruplar arasındaki farkının önemli olduğu ($p<0.01$) ve postpartum 24 ya da 34. günlerde kistik yapıya yönelen folliküllerin postpartum 14. günden itibaren aynı folliküllerden geliştikleri gözlemlendi. Uterus involüsyonlarında çalışma grupları arasında fark olmamasına rağmen ($p>0.05$), kist grubunda involüsyon sürecinin daha yatay bir eğri ile seyrettiği belirlendi. Folliküler kist grubunda, özellikle de postpartum 24. ve 34. günlerde gözlenen yoğun muköz vaginal akıntılar dikkat çekici bulundu. Sonuç olarak, kistik ovaryumlu sütçü ineklerde intrafolliküler GDF-9, GATA-4, GATA-6 ve IGF-I düzeylerinin preovulatr follikül grubuna göre düşük bulunması, bu proteinlerin ovaryum kistlerinin etiyopatogenezendeki etkin rol alabileceği, ayrıca, bu bulguların fizyolojik parametreler ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: İnek, postpartum, folliküler kist, folliküler sıvı, transforming growth factor beta ailesi, IGF-1, ELISA, western blot.

SUMMARY

Investigation of The Effects of Some Intrafollicular Growth Factors (GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I, IGF-II) on Etiopathogenesis of Cystic Follicular Ovarian Degenerations in Cows

The aim of the presented study was to investigate the efficacy of intrafollicular GDF-9, GATA-4, GATA-6, IGF-I and IGF-II levels on etiopathogenesis of follicular cystic degenerations in dairy cows in accordance with some puerperal physiology parameters. After calving in the farm, all the cows were screened for the preovulatory and cystic follicles via ultrasonography with 5 MHz transrectal linear probe for the evaluation of ovarian activity at the days of postpartum 14, 24, 34, 44 and 55. Preovulatory and cystic follicular fluids were collected by aspiration via transvaginal ovum pick up method. Furthermore, uterine involution and vaginal discharges were evaluated by clinical examinations. Intrafollicular expression of GDF-9, GATA-4 and GATA-6 proteins were estimated by Western-blot assay and IGF-I levels were determined by ELISA. In cyst group, densitometric evaluation revealed that the expression of intrafollicular GDF-9, GATA-4 and GATA-6 and IGF-I levels were significantly lower than the control group ($p<0.01$). According to ovarian examinations, in cyst group, it was observed that at the day of postpartum 14 and 24, the difference in follicular diameters were significant between groups ($p<0.01$) and the follicles moved directly to cystic structure at the days of postpartum 24 or 34, is originated from same follicles at the day of postpartum 14. Involution process was observed to be slightly lower in cyst group, but, it was determined that there was no difference in uterine involutions among the study groups ($p>0.05$). In follicular cyst group, especially at the days of postpartum 24 and 34, the observation of severe mucotic vaginal discharges was found noteworthy. As a result, dairy cows presenting cystic ovaries, have lower intrafollicular GDF-9, GATA-4, GATA-6 and IGF-I levels than those of the preovulatory follicle group and also it has been suggested that, these proteins may play an active role in the etiopathogenesis of ovarian cysts and these findings may be associated with physiological parameters as well.

Keywords: Cow, postpartum, follicular cyst, follicular fluid, transforming growth factor family, IGF-1, ELISA, western blot

KAYNAKLAR

- ADAMS GP, JAISWAL R, SINGH J, MALPHI P (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*; **69**(1): 72-80
- ANTTONEN M, UNKILA-KALLIO L, LEMINEN A, BUTZOW R, HEIKINHEIMO M. (2005). High GATA-4 Expression Associates with Aggressive Behaviour, whereas Low Anti-Müllerian Hormone Expression Associates with Growth Potential of Ovarian Granulosa Cell Tumors. *J. Clin. Endocr. Metab*; **90** (12): 6529-6535.
- ARMSTRONG DG, BAXTER G, GUTIERREZ CG, HOGG CO, GLAZYRIN AL, CAMPBELL BK, BRAMLEY TA, WEBB R. (1998). Insulin-like growth factor binding protein -2 and -4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and developmental status. *Endocrinology*; **139**(4):2146-54
- ARTHUR, G.H., NOAKES, D.E., PEARSON, H. (1982). Veterinary Reproduction and Obstetrics. 5.th ed., Baillere Tindall, London.
- BATTAGLIA DF, KRASA HB, PADMANABHAN V, VIGUIE C, KARSCH FJ (2000) Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes *Biology of Reproduction*; **62**: 45–53.
- BEAM SW, BUTLER WR. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction*; **56**: 133–142.
- BEG MA, GINTHER OJ. (2006). Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*; **132**(3): 365-77.
- BEKANA M, JONSSON P, KINDAHL H. (1996). Intrauterine bacterial findings and hormonal profiles in post-partum cows with normal puerperium. *Acta Vet Scand*; **37**(3): 251-63.
- BODENSTEINER KJ, CLAY CM, MOELLER CL, SAWYER HR. (1999). Molecular cloning of the ovine growth/differentiation factor-9 gene and expression of growth/differentiation factor-9 in ovine and bovine ovaries. *Biology of Reproduction*; **60**: 381-386.
- BONDURANT RH. (1999). Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J Anim Sci*; **77** (2): 101-10.
- BUTLER WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*; **60-61**: 449-57.

- CAIROLI F, BATTOCCHIO M, VERONESI M, BRAMBILLA D, CONSERVA F, EBERI I, WAIT R, GIANAZZA E .(2006). Serum protein pattern during cow pregnancy: Acute-phase proteins increase in the peripartum period. *Electrophoresis*; **27**(8): 1617-25.
- CARLSON HE. (2007). Human adrenal cortex hyperfunction due to LH/hCG. *Mol Cell Endocrinol*; **269**(1-2): 46-50.
- CHACIN M.F. LANDER, P.J. HANSEN, M. DROST (1990). Effects of stage of the estrous cycle and steroid treatment on uterine immunoglobulin content and polymorphonuclear leukocytes in cattle *Theriogenology*; **34**(6): 1169–1184
- COOK DL, SMITH CA, PARFET JR, YOUNGQUIST RS, BROWN EM, GARVERICK HA. (1990). Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J Reprod Fertil*; **90**(1): 37-46
- CROWE MA. (2008). Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reprod Domest Anim* ; **43** (5): 20-8
- CUTULLIC E, DELABY L, GALLARD Y, DISENHAUS C. (2012). Towards a better understanding of the respective effects of milk yield and body condition dynamics on reproduction in Holstein dairy cows. *Animal*; **6**(3): 476-87
- DAY, N. (1991). The diagnosis, differentiation and pathogenesis of cystic ovarian disease. *Vet. Med*; **86**: 753-760
- DEL VECCHIO RP, MATSAS DJ, FORTIN S, SPONENBERG DP, LEWIS GS. (1994). Spontaneous uterine infections are associated with elevated prostaglandin F(2) alpha metabolite concentrations in postpartum dairy cows. *Theriogenology*; **41**(2): 413-21
- DIJKE P, MIYAZONO K, HELDIN CH. (2000). Signaling inputs converge on nuclear effectors in TGF-beta signalling. *Trends Biochem Sci*, **25**: 64-70.
- DONG J, ALBERTINI DF, NISHIMORI K, KUMAR TR, LU N, MATZUK MM. (1996). Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*; **383** (6600):531-5.
- DRUMMOND AE. (2005). TGFbeta signalling in the development of ovarian function. *Cell Tissue Res* ; **322**(1): 107-15.
- EDEN JA, JONES J, CARTER GD, ALAGHBAND-ZADEH J. (1988). A comparison of follicular fluid levels of insulin-like growth factor-1 in normal dominant and cohort follicles, polycystic and multicystic ovaries. *Clin Endocrinol*; **29**(3): 327-36.

- ELVIN JA, YAN C, MATZUK MM. (2000). Oocyte-expressed TGF-beta superfamily members in female fertility. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **159**: 1-5.
- EPPİG JJ. (2001). Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*; **122**: 829–838.
- FAIR T. (2010). Mammalian oocyte development: checkpoints for competence. *Reprod Fertil Dev*; **22**(1): 13-20
- FONSECA F.A, BRITT J.H, MCDANIEL B.T., WILK, J.C., RAKES, A.H. (1983). Reproductive traits of Holstein and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate and days open. *J. Dairy Sci*; **66**: 1128-47
- FORDE N, BELTMAN ME, LONERGAN P, DISKIN M, ROCHE JF, CROWE MA. (2011). Oestrous cycles in Bos taurus cattle. *Anim Reprod Sci*; **124**(3-4): 163-9
- FORTUNE JE, RIVERA GM, YANG MY. (2004). Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*; **82-83**:109-26
- FOURICHON C, SEEGER S H, MALHER X. (2000). Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology* ; **53**(9): 1729-59
- GARCIA M. (1982). Reproductive functions during the post partum period in the cow. A review of the literature. *Nord Vet Med* ; **34**(7-9): 264-75
- GARVERICK H.A (1997). Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J. Dairy Sci*; **80**, 995–1004
- GIER, H.T., MARION, G.B. (1968). Uterus of the cow after parturition: involutional changes. *Am. J. Vet. Re.*; **29**: 83-96
- GILCHRIST RB, RITTER LJ, ARMSTRONG DT. (2004). Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Anim Reprod Sci*; **82-83**: 431-46
- GILCHRIST RB, LANE M, THOMPSON JG. (2008). Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum Reprod Update*; **14**(2): 159-77
- GINTHER OJ, BEG MA, BERGFELT DR, KOT K. (2002). Activin A, estradiol, and free insulin-like growth factor I in follicular fluid preceding the experimental assumption of follicle dominance in cattle. *Biol Reprod*; **67**(1): 14-9
- GOFF JP, HORST RL. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci*; **80**(7): 1260-8

- GRUMMER, R.R., MASHEK, D.G., HAYIRLI, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. North Anim. Pract*; **20**: 447-470
- GRUMMER RR, WILTBANK MC, FRICKE PM, WATTERS RD, SILVA DEL RIO N (2010). Management of dry and transition cows to improve energy balance and reproduction. *J Reprod Dev*; **56**: 22-8.
- GUTIERREZ CG, RALPH JH, TELFER EE, WILMUT I, WEBB R. (2000). Growth and antrum formation of bovine preantral follicles in long-term culture in vitro. *Biol Reprod*; **62**(5):1322-8
- HAFEZ, E.S.E. (1987). Physiology of reproduction. In: Reproduction in Farm Animals. Ed.: E.S.E. Hafez, 5th edition, Lea & Febiger, Philadelphia.
- HAMILTON SA, GARVERICK HA, KEISLER DH, XU ZZ, LOOS K, YOUNGQUIST RS, SALFEN BE. (1995). Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol Reprod*; **53**(4): 890-8
- HARLOW CR, DAVIDSON L, BURNS KH, YAN C, MATZUK MM, HILLIER SG. (2002). FSH and TGF-beta superfamily members regulate granulosa cell connective tissue growth factor gene expression in vitro and in vivo. *Endocrinology*; **143**(9): 3316-25
- HATZIRODOS N, NIGRO J, IRVING-RODGERS HF, VASHI AV, HUMMITZSCH K, CATERSON B, SULLIVAN TR, RODGERS RJ. (2012). Glycomic analyses of ovarian follicles during development and atresia. *Matrix Biol*; **31**(1): 45-56
- HAYIRLI A, ÇOLAK A. (2011). İneklerin Kuru ve Geçiş Dönemlerinde Sevk-İdare ve Besleme Stratejileri: Postpartum Süreçte Metabolik Profil, Sağlık Durumu ve Fertiliteye Etkisi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*; **2**(1): 1-35
- HEIKINHEIMO M, ERMOLAEVA M, BIELINSKA M, RAHNMAN NA, NARITA N, HUHTANIEMI IT, TAPANAINEN JS, WILSON DB. (1997). Expression and hormonal regulation of transcription factors GATA-4 and GATA-6 in the Mouse ovary. *Endocrinology*, **138**: 3505-3514
- HELDIN CH, MIYAZONO K, DIJKE P. (1997). TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*; **390**: 465-471
- HERATH S, WILLIAMS EJ, LILLY ST, GILBERT RO, DOBSON H, BRYANT CE, SHELDON IM. (2007) Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*; **134** (5): 683-93
- HOEDEMARKER, M. (1998). Postpartal pathological vaginal discharge: to treat or not to treat. *Reprod. Dom. Anim*; **33**: 141-46
- HUNTER MG, ROBINSON RS, MANN GE, WEBB R. (2004). Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci*; **82-83**: 461-77

- HUNTER RH (2012). Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biol Rev Camb Philos Soc*; **87**(1): 244-55.
- INGVARTSEN KL, MOYES K. (2012). Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal*; **24**:1-11
- JAATINAN R, LAITINEN MP, VUOJOLAINEN K, AALTONEN J, LOUHIO H, HEIKINHEIMO K, LEHTONEN E, RITVOS O. (1999). Localization of growth differentiation factors-9 (GDF-9) mRNA and protein in rat ovaries and cDNA cloning of rat GDF-9 and its novel homolog GDF-9B. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **156**: 189-193
- JOLLY PD, TISDALL DJ, HEATH DA, LUN S, MCNATTY KP (1994). Apoptosis in bovine granulosa cells in relation to steroid synthesis, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response to follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and follicular atresia. *Biol Reprod*; **51**(5): 934-44
- JUENGEL JL and MCNATTY KP. (2005). The role of proteins of the transforming growth factor- β superfamily in the intraovarian regulation of follicular development. *Hum Reprod Update*; **11**(2): 144-161
- KAMIMURA S, OHGI T, TAKAHASHI M, TSUKAMOTO T. (1993). Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J Vet Med Sci*; **55**(4):643-7.
- KAWASHIMA C, MATSUI M, SHIMIZU T, KIDA K, MIYAMOTO A. (2012). Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *J Reprod Dev*; **58**(1): 10-6
- KAWATE N, INABA T, MORI J. (1996). Changes in plasma concentrations of gonadotropins and steroid hormones during the formation of bovine follicular cysts induced by the administration of ACTH. *J Vet Med Sci*; **58**(2): 141-4
- KHAN FA, DAS GK, PANDE M. (2011). Changes in biochemical composition of follicular fluid during reproductive acyclicity in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim Reprod Sci*; **127**(1-2):38-4
- KINDAHL H, BEKANA M, KASK K, KÖNIGSSON K, GUSTAFSSON H, ODENSVIK K. (1999). Endocrine Aspects of Uterine Involution in the Cow. *Reprod in Dom Anim*; **34**, (3-4):261–268
- KNIGHT PG, GLISTER C (2006) TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*; **132**(2):191-206
- KNIGHT PG, SATCHELL L, GLISTER C. (2012) Intra-ovarian roles of activins and inhibins. *Mol Cell Endocrinol*; **359**(1-2): 53-65

- KOJIMA FN, BERGFELD EG, WEHRMAN ME, CUPP AS, FIKE KE, MARISCAL AGUAYO DV, SANCHEZ-TORRES T, GARCIA-WINDER M, CLOPTON DT, ROBERTS AJ, KINDER JE. (2003). Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim Reprod Sci*; **77**(3-4):187-211
- LAITINEN MP, ANTTONEN M, KETOLA I, WILSON DB, RITVOS O, BUTZOW R, HEIKINHEIMO M. (2000). Transcription factors GATA-4 and GATA-6 and a GATA family cofactor, FOG-2, are expressed in human ovary and sex cord-derived ovarian tumors. *J Clin Endocrinol Metab*; **85**: 3476-3483
- LAMOTE I, MEYER E, DE KETELAERE A, DUCHATEAU L, BURVENICH C. (2006). Expression of the estrogen receptor in blood neutrophils of dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology*; **65**(6): 1082-98
- LATCHMAN DS. (1997). Transcription factors: an overview. *Int J Biochem Cell Biol*; **29**(12): 1305-12
- LeBLANC SJ. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance. *Vet J*; **176**(1):102-14
- LeBLANC, S.J., DUFFIELD, T.F., LESLIE, K.E., BATEMAN, K.G., KEEFE, G.P., WALTON, J.S. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci*; **85**: 2223-36
- LEE JY, KIM IH (2006). Advancing parity is associated with high milk production at the cost of body condition and increased periparturient disorders in dairy herds. *J Vet Sci*; **7**(2): 161-6
- LeROITH D, ROBERTS CT JR. (1993). Insulin-like growth factors. *Ann N Y Acad Sci*; **692**:1-9
- LEROY JL, VANHOLDER T, DELANGHE JR, OPSOMER G, VAN SOOM A, BOLS PE, DE KRUIF A. (2004). Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. *Anim Reprod Sci*; **80**(3-4): 201-11
- LEROY JL, RIZOS D, STURMEY R, BOSSAERT P, GUTIERREZ-ADAN A, VAN HOECK V, VALCKX S, BOLS PE (2011) Intrafollicular conditions as a major link between maternal metabolism and oocyte quality: a focus on dairy cow fertility. *Reprod Fertil Dev*; **24**(1) :1-12
- LESLIE, K.E. (1983). The events of normal and abnormal postpartum reproductive endocrinology and uterine involution in dairy cows: a review. *Can. Vet. J*; **24**: 67-71
- LEWIS GS. (2003) Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reprod Biol Endocrinol*; **28**:1:117.

- LEWIS GS, WULSTER-RADCLIFFE MC.(2006). Prostaglandin F2alpha upregulates uterine immune defenses in the presence of the immunosuppressive steroid progesterone. *Am J Reprod Immunol*; **56**(2): 102-11
- LIU YX. (2007). Interaction and signal transduction between oocyte and somatic cells in the ovary. *Front Biosci*; **12**: 2782-96
- LOEFFLER SH, DE VRIES MJ, SCHUKKEN YH. (1999). The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *J Dairy Sci*; **82**(12): 2589-604.
- LOPEZ-DIAZ, M.C., BOSU, W.T.K. (1998). A review of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology*; **37**: 1163-1183
- LOPEZ-GATIUS, F., SANTOLARIA, P., YANIZ, J., FRENCH, M., LOPEZ-BEJAR, M. (2002). Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology*; **58**:1723-1632
- MAIZON, D.O., OLTENACU, P.A., GRÖHN, Y.T., STRAWDERMAN, R.L., EMANUELSON, U. (2004). Effects of disease on reproductive performance in Swedish red and White dairy cattle. *Prev. Vet. Med*; **66**:113-126
- MASSAGUÉ J, WOTTON D (2000). Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. *EMBO J*; **19**(8): 1745-54
- MATTI N, IRVING-RODGERS HF, HATZIRODOS N, SULLIVAN TR, RODGERS RJ. (2010). Differential expression of follicular and steroidogenic enzymes before size deviation during waves of follicular development in bovine ovarian follicles. *Mol Cell Endocrinol*; **321**(2): 207-14
- MATZUK, M.M., FINEGOLD, M.J., SU, J.J., HSUEH, A.J.W. and BRADLEY, A. (1992). A-inhibin is a tumour suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature*; **360**: 313-319
- MAZERBOURG S, BONDY CA, ZHOU J, MONGET P. (2003). The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? a comparative species study. *Reprod Domest Anim*; **38**(4): 247-58
- McDOUGALL, S., BURKE, C.R., MACMILLAN, K.L., WILLIAMSON, N.B. (1995). Follicle patterns during extended periods of postpartum anovulation in pasture-fed dairy cows. *Res. Vet. Sci*; **58**: 212-16
- McGRATH SA, ESQUELA AF, LEE SJ. (1995). Oocyte-specific expression of growth/differentiation factor-9. *Molecular Endocrinology*; **9**: 131-136
- McNATTY KP, JUENGEL JL, WILSON T, GALLOWAY SM, DAVIS GH. (2001). Genetic mutations influencing ovulation rate in sheep. *Reproduction Fertility and Development*; **13**: 549-555.

- McNATTY KP, SMITH P, MOORE LG, READER K, LUN S, HANRAHAN JP, GROOME NP, LATINEN M, RITVOS O and JUENGEL JL. (2005). Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Molecular and Cellular Endocrinology*; **234**: 57–66
- MIHM M, AUSTIN EJ (2002) The final stages of dominant follicle selection in cattle. *Domest Anim Endocrinol*; **23** (1-2): 155-66
- MIHM M, EVANS AC. (2008). Mechanisms for dominant follicle selection in monovulatory species: a comparison of morphological, endocrine and intraovarian events in cows, mares and women. *Reprod Domest Anim*; **43**: 48-56
- MOLKENTIN JD. (2000). The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5 and -6: ubiquitously expressed regulators of tissue-specific gene expression. *J Biol Chem*; **275**: 38949-38952
- MORAITIS S, TAITZOULOUI A, TSANTARLIOTOUM P, BOSCO M, KALDRIMID U, SARATIS P. (2004). Involvement of the plasminogen activation system in cow endometritis. *Theriogenology*; **61**(2-3): 337-49
- MULHERON GW, DANIELFOUR D, SCHOMBERGER DW. (1991). Rat thecal interstitial cells Express transforming growth factor- β factor type1 and 2, but only type2 is regulated by gonadotropins in vitro, *Endocrinology*; **129**: 368-374
- MULLIGAN, F.J., QGRADY, L., RICE, D.A., DOHETY, M.A. (2006). A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim. Reprod. Sci*; **96**: 331-353
- MURRAY RD, ALLISON JD, GARD RP. (1990). Bovine endometritis: comparative efficacy of alfaprostol and intrauterine therapies, and other factors influencing clinical success. *Vet Rec*; **127**(4):86-90
- NICHOLAS B, SCOUGALL RK, ARMSTRONG DG, WEBB R. (2002) Changes in insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) isoforms during bovine follicular development. *Reproduction* ; **124**(3):439-46
- NILSSON EE, DORAISWAMY V, SKINNER MK (2003). Transforming growth factor-beta isoform expression during bovine ovarian antral follicle development. *Molecular Reproduction and Development*; **66**: 237–246
- NILSSON EE and SKINNER MK (2004). Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. *Molecular and Cellular Endocrinology*; **214**: 19–25
- NOAKES, D.E. (2001). The Puerperium and the care of the newborn. In: Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics, 8th ed. Eds.: D.E. Noakes, T.J. Parkinson and G.C.W. England, Saunders Company: Philadelphia s:189-202
- OLSON, J.D., BRETZLAFF, K.N., MORTIMER, R.G., BALL, L. (1986). The metritis-pyometra complex. In: Current Therapy in Theriogenology. Ed.: David A. Morrow, W.B. Saunders Company: Philadelphia, s: 227-37

- OPSOMER G, GRÖHN YT, HERTL J, CORYN M, DELUYKER H, DE KRUIF A. (2000). Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*; **53**(4): 841-57
- ORTEGA HH, PALOMAR M, ACOSTA JC, SALVETTI NR, DALLARD BE, LORENTE JA, BARBEITO CG, GÍMENO EJ. (2008). Insulin-like growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous or induced cystic ovarian disease. *Res Vet Sci*; **84**(3): 419-27
- OTSUKA F, MOORE RK, IEMURA S, UENO N and SHIMASAKI S. (2001). Follistatin inhibits the function of the oocyte-derived factor BMP-15. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; **289**: 961–966
- PANGAS SA, RADEMAKER AW, FISHMAN DA, WOODRUFF TK. (2002). Localization of the activin signal transduction components in normal human ovarian follicles: implications for autocrine and paracrine signaling in the ovary. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; **87**: 2644–2657
- PAREDES AH, SALVETTI NR, DIAZ AE, DALLARD BE, ORTEGA HH, LARA HE. (2011). Sympathetic nerve activity in normal and cystic follicles from isolated bovine ovary: local effect of beta-adrenergic stimulation on steroid secretion. *Reprod Biol Endocrinol*; **16**:9:66
- PERKS CM, PETERS AR, WATHES DC. (1999). Follicular and luteal expression of insulin-like growth factors I and II and the type 1 IGF receptor in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*; **116**(1): 157-65
- QUIRK SM, COWAN RG, HARMAN RM, HU CL, PORTER DA (2004) Ovarian follicular growth and atresia: the relationship between cell proliferation and survival. *J Anim Sci* ; **82**: 40-52
- RAO CV (2010). Human adrenal LH/hCG receptors and what they could mean for adrenal physiology and pathology. *Mol Cell Endocrinol*; **329**(1-2): 33-6
- REYNOLDS, J.A., TANFORD, C. (1970). The gross conformation of protein-sodium dodecyl sulfate complexes. *J. Biol. Chem*; **245**: 5161-5165
- RIZZO A, COSOLA C, MUTINATI M, SPEDICATO M, MINOIA G, SCIORSCI RL. (2010). Bovine ovarian follicular cysts: in vitro effects of leirelin, a GnRH analogue. *Theriogenology*; **74**(9): 1559-69
- ROBERTS AJ, SKINNER MK. (1991). Transforming growth factor-alpha and beta differentially regulate growth and steroidogenesis of bovine thecal cells during antral follicle development. *Endocrinology*; **129**: 2041-2048
- ROBINSON S, WOAD J, HAMMOND J, LAIRD M, HUNTER G, MANN G (2009). Angiogenesis and vascular function in the ovary. *Reproduction*; **138**(6): 869-81
- ROCHE JF, AUSTIN EJ, RYAN M, O'ROURKE M, MIHM M, DISKIN MG. (1999). Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *J Reprod Fertil Suppl*; **54**: 61-71

- ROCHE JF, MACKEY D, DISKIN MD. (2000). Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci*; **2**(60-61): 703-12
- RODGERS RJ, IRVING-RODGERS HF. (2010). Formation of the ovarian follicular antrum and follicular fluid. *Biol Reprod*; **82** (6): 1021-9
- SAKAGUCHI M. (2011). Practical aspects of the fertility of dairy cattle. *J Reprod Dev*; **57**(1): 17-33
- SANTIAGO CA, VOGEL JL, AAD PY, ALLEN DT, STEIN DR, MALAYER JR, SPICER LJ. (2005). Pregnancy-associated plasma protein-A and insulin-like growth factor binding protein mRNAs in granulosa cells of dominant and subordinate follicles of preovulatory cattle. *Domest Anim Endocrinol*; **28** (1):46-63
- SAVIO J.D, THATCHER W.W, BADINGA L., DE LA SOTA R.L., WOLFENSON D. (1993). Regulation of dominant follicle turnover during the estrous cycle in cows *J. Reprod. Fertil*; **97**: 197–203
- SCARAMUZZI RJ, BAIRD DT, CAMPBELL BK, DRIANCOURT MA, DUPONT J, FORTUNE JE, GILCHRIST RB, MARTIN GB, MCNATTY KP, MCNEILLY AS, MONGET P, MONNIAUX D, VINOLES C, WEBB R. (2011). Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reprod Fertil Dev*; **23**(3): 444-67
- SCHAMS D, BERISHA B, KOSMANN M, EINSPIANIER R, AMSELGRUBER WM. (1999). Possible role of growth hormone, IGFs, and IGF-binding proteins in the regulation of ovarian function in large farm animals. *Domest Anim Endocrinol*; **17**(2-3):279-85.
- SCHERZER J, GHUMAN SP, POPE M, ROUTLY JE, WALTER I, SMITH RF, DOBSON H. (2009). Follicle and oocyte morphology in ewes after treatment with insulin in the late follicular phase. *Theriogenology*; **71**(5):817-28
- SEALS, R.C., WULSTER-RADCLIFFE, M.C., LEWIS, G.S. (2003). Uterine response to infectious bacteria in estrous cyclic ewes. *Am. J. Reprod. Immunol*; **49**: 269–278
- SEEGERS H, FOURICHON C, BEAUDEAU F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res*; **34**(5): 475-91.
- SENEDA MM, ESPER CR, GARCIA JM, ANDRADE ER, BINELLI M, OLIVEIRA JA, NASCIMENTO AB. (2003). Efficacy of linear and convex transducers for ultrasound-guided transvaginal follicle aspiration. *Theriogenology* ; **59**(5-6): 1435-40.
- SENOSY WS, UCHİZA M, TAMEOKA N, IZAIKE Y, OSAWA T. (2009). Association between evaluation of the reproductive tract by various diagnostic tests and restoration of ovarian cyclicity in high-producing dairy cows. *Theriogenology*; **72**(9): 1153-62.
- SHEHAB-EL-DEEN MA, LEROY JL, FADEL MS, SALEH SY, MAES D, VAN SOOM A. (2010). Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. *Anim Reprod Sci*; **117** (3-4): 189-200

- SHELDON IM, NOAKES DE. (1998). Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Vet Rec*; **142**(21): 575-9
- SHELDON IM, NOAKES DE, RYCROFT A, DOBSON H. (2001). Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet Rec*; **148**(6): 172-5
- SHELDON I.M., NOAKES D.E., RYCROFT A.N., PFEIFFER D.U., DOBSON H. (2002). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*; **123**: 837-845
- SHELDON IM, DOBSON H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci*; **82-83**: 295-306
- SHELDON, I.M., LEWIS, G.S., LeBLANC, S., GILBERT, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*; **65**: 1516-30
- SILVA CC, KNIGHT PG. (1998). Modulatory actions of activin-A and follistatin on the developmental competence of *in vitro*-matured bovine oocytes. *Biology of Reproduction*; **58**: 558–565
- SILVIA WJ, HATLER TB, NUGENT AM, LARANJA DA FONSECA LF. (2002). Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Domest Anim Endocrinol*; **23**(1-2): 167-77
- SKINNER MK. (2005). Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod upd*; **11**: 461–471.
- SON WY, DAS M, SHALOM-PAZ E, HOLZER H. (2011). Mechanisms of follicle selection and development. *Minerva Ginecol*; **63**(2): 89-102
- SPICER LJ, ECHTERNKAMP SE. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol*; **12**(3): 223-45
- STENVERS, K.L., FINDLAY, J.K. (2009). Inhibins: from reproductive hormones to tumor suppressors. *Trends Endocrin. Met*; **21** (3): 174-180
- STOCK AE, ELLINGTON JE, FORTUNE JE. (1996). A dominant follicle does not affect follicular recruitment by superovulatory doses of FSH in cattle but can inhibit ovulation. *Theriogenology*; **45**(6): 1091-102
- SU YQ, SUGIURA K, EPPIG JJ. (2009). Mouse oocyte control of granulosa cell development and function: paracrine regulation of cumulus cell metabolism. *Semin Reprod Med*; **27**(1): 32-42
- TAYLOR, V.J., BEEVER, D.E., BRYANT, M.J., WATHES, D.C. (2006). Prepubertal measurements of the somatotrophic axis as predictors of milk production in Holstein-Friesian dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol*; **31**: 1-18

- TEVESIAN SG, ALBRECHT KH, CRISPINO JD, FUJIWARA Y, EICHER EM, ORKIN SH. (2002). Gonadal differentiation, sex determination and normal Sry expression in mice require direct interaction between transcription partners GATA4 and FOG2. *Development*; **129**: 4627-4637
- THIENGTHAM J, PARKINSON T, HOLMES C. (2008). Postpartum follicular and luteal activity in Holstein-Friesian cows genetically selected for high or low mature bodyweight: relationships with follicle stimulating hormone , insulin , insulin-like growth factor-1 and growth hormone. *N Z Vet J*; **56**(6): 310-8
- TONG G, DALGIN G, XU H, TING CN, LEIDEN JM, HOTAMISLIGIL GS. (2000). Function of GATA transcription factors in preadipocyte-adipocyte transition. *Science*; **290**: 134-138
- TREMBLAY JJ, VIGER RS. (2003). Novel roles for GATA transcription factors in the regulation of steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*; **85**(2-5): 291-8
- VANHOLDER T, LEROY JL, DEWULF J, DUCHATEAU L, CORYN M, DE KRUIF A, OPSOMER G. (2005). Hormonal and metabolic profiles of high-yielding dairy cows prior to ovarian cyst formation or first ovulation post partum. *Reprod Domest Anim*; **40**(5): 460-7
- VANHOLDER T, OPSOMER G, DE KRUIF A. (2006). Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev* ; **46**(2):105-19
- WATHES DC, TAYLOR VJ, CHENG Z, MANN GE. (2003). Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod Suppl*; **61**: 219-37
- WATHES DC, BOURNE N, CHENG Z, MANN GE, TAYLOR VJ, COFFEY MP. (2007). Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci*; **90**: 1310-1325
- WEBB R, CAMPBELL BK. (2007). Development of the dominant follicle: mechanisms of selection and maintenance of oocyte quality. *Soc Reprod Fertil*; **64**: 141-63
- WEBB R, GARNSWORTHY PC, CAMPBELL BK, HUNTER MG. (2007). Intra-ovarian regulation of follicular development and oocyte competence in farm animals. *Theriogenology*; **68**(1): 22-9
- WILLIAMS GL. (1990). Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *J Anim Sci*; **68**(3): 831-52
- WILLIAMS CY, HARRIS TG, BATTAGLIA DF, VIGUIE C, KARSCH FJ. (2001). Endotoxin inhibits pituitary responsiveness to gonadotrophin-releasing hormone *Endocrinology*; **142**: 1915–1922
- WILLIAMS EJ, FISCHER DP, PFEIFFER DU, ENGLAND GC, NOAKES DE, DOBSON H, SHELDON IM. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*; **63**(1): 102-17

- WILLIAMS EJ, FISCHER DP, NOAKES DE, ENGLAND GC, RYCROFT A, DOBSON H, SHELDON IM. (2007). The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*; **68**(4): 549-59
- WILTBANK MC, GUMEN A, SARTORI R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*; **57**(1): 21-52
- YOSHIOKA K, IWAMURA S, KAMOMAE H. (1998). Changes of ovarian structures, plasma LH, FSH, progesterone and estradiol-17 beta in a cow with ovarian cysts showing spontaneous recovery and relapse. *J Vet Med Sci*; **60**(2): 257-60
- ZHANG J, DENG LX, ZHANG HL, HUA GH, HAN L, ZHU Y, MENG XJ, YANG LG. (2010). Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum Chinese Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*; **93**(5): 1979-86.
- ZHAO SY, QIAO J, CHEN YJ, LIU P, LI J, YAN J. (2010). Expression of growth differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein-15 in oocytes and cumulus cells of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*; **94**(1): 261-267
- ZULU VC, NAKAO T, SAWAMUKAI Y. (2002a). Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *J Vet Med Sci*. ;**64**(8):657-65.
- ZULU VC, SAWAMUKAI Y, NAKADA K, KIDA K, MORIYOSHI M. (2002b). Relationship among insulin-like growth factor-I, blood metabolites and postpartum ovarian function in dairy cows. *J Vet Med Sci* ; **64**(10): 879-85.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: İbrahim Mert POLAT

e-posta: vethekmert@gmail.com

GSM: 0 532 343 22 77

Bilimsel Yayınlar

SSCI, SCI_Expanded ve AHCI indekslerde yer alan dergilerde yapılan yayınlar

1. Küplülü Ş, Vural MR, Demirel A, **Polat M**, Akçay A . (2009) The comparative evaluation of serum biochemical, haematological, bacteriological and clinical findings of dead and recovered bitches with pyometra in the postoperative process. *Acta Veterinaria(Beograd)*, **59** (2-3):193-204. DOI: 10.2298/AVB0903193K
2. Pir Yağcı İ., Kul O., Kalender H., **Polat M**. (2010) Congenital chondrodysplastic dwarfism in lambs: A diferent consideration of dystocia. *Isr J Vet Med*, , **65**(4): 136-138
3. Z Akintug, AS Coskan, **M Polat**, DB Topuzoglu, S Salar, SA Vural (2011). A case of mammary gland carcinosarcoma observed with segmental aplasia of the left uterine horn in a pekingese bitch. *Reprod Dom Anim* **46** (Suppl. 3), 78–161; doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01839.x
4. Korkmaz Ö., Küplülü Ş., Ağca Y., **Polat M**. (2012) Effect of Oocyte Quality and Activation Protocols on Bovine Embryo Development Following Intracytoplasmic Sperm Injection. *Turk J Vet Anim Sci.*, **36** (1) DOI: 10.3906/vet-1105-44

Ulusal veya Uluslar arası hakemli dergilerde yapılan diğer yayınlar

1. Şahal M., Vural R., Küplülü Ş., **Polat M**, Özenç E., Süt ineklerinde postpartum süreçte karşılaşılan metabolizma hastalıkları ve metabolik bozukluklara bağlı üretim hastalıkları. *Türkiye Klinikleri, Journal of Veterinary Science*, 2011, **2** (1) : 36 ISSN. 1309-6907

2. Küplülü Ş., Vural R., **Polat M**, İneklerde uterus enfeksiyonlarının etiyopatogenezisi, klinik semptomları ve sağaltım girişimleri. *Türkiye Klinikleri, Journal of Veterinary Science*, 2011, **2** (1) : 58 ISSN. 1309-6907

Diğer dergilerde yer alan yayınlar

1. Küplülü Ş., Vural R., **Polat M**. Süt ineklerinde postpartum anöstrus sorunu. *İnfovet* 2010 Kasım. Syf 38-41

2. Küplülü Ş., Vural R., **Polat M**. İneklerde uterus enfeksiyonları. *İnfovet* 2010 Kasım. Syf 44-49

Katıldığı Ulusal/Uluslararası kongre, sempozyum, çalıştay ve panel gibi bilimsel toplantılara ait bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

1. H.E. Canatan, G. Sarı, **M. Polat**, H. Kanca, S. Salar, K. Karakaş, A. Baştan, E.Ç. Çolakoğlu. Bir Köpekte Fötal Maserasyon Ve Fötal Kemiklerin Vaginal Retensiyonu Olgusu. 7. KHVHD, Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi, 9-10 Kasım 2012, İstanbul

2. Deniz, A, Sahal, M, Vural, R., Kuplulu, S, **Polat M**, Colakoglu, EC, Ocal N, Macun HC, Pekcan M. Effect Of Different Doses Of Catosal In Dairy Cattle With Subclinical Ketosis. XXVII.World Buiatrics Congress, 3-8 June 2012, Lisbon / PORTUGAL

3. E Alçıgır, A S Çoşkan, H Kanca, S Atalay Vural, R Hazıroğlu, R Vural, **M Polat** Canine Transmissible Venereal Tumour In a Dog: Cytological and immunocytological findings. *Cytopathology*, Special Issue: Abstracts of the 36th European Congress of Cytology, Istanbul, Turkey, 22-25 September 2011

4. Canatan HE, **Polat M**, Sarı G. Life-threatening Hypersensitivity Reactions Induced by Rifamycin in Two Cats with Mammary Neoplasia., 17th FECAVA Eurocongress “Modern Veterinary Practices” September 7-10 2011, İstanbul, TURKEY

5. **Polat M**, Canatan HE, Vural R, Küplülü Ş, Bayramoğlu R., Düşük fertilitite parametrelerine sahip bir süt ineği işletmesinde Neospora Caninum enfeksiyonunun insidansı ve sağaltım protokolünün fertilititeye etkisi. IV.Veteriner Jinekoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) 4-7 Kasım 2010, Belek / ANTALYA

6. İzgür H, Topuzoğlu DB, **Polat M**. Farklı büyüklükteki sığır oositlerinin maturasyon ve fertilizasyonu üzerine insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) ve epidermal büyüme faktörünün (EGF) etkilerinin araştırılması. IV.Veteriner Jinekoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) 4-7 Kasım 2010, Belek / ANTALYA

7. Korkmaz Ö, Küplülü Ş, Ağca Y, **Polat M**. İntrastoplasmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yapılan sığır oositlerinde kalsiyum iyonofor, 6-dimetil amino purin ve etanolün embriyo gelişimine etkilerinin araştırılması. IV.Veteriner Jinekoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) 4-7 Kasım 2010, Belek / ANTALYA
8. Topuzoğlu DB, Akıntuğ Z, Canatan HE, **Polat M**, Vural R, Küplülü Ş Bir dişi köpekte Escherichia coli ve Stafilokok türlerinin miks enfeksiyonu sonucu gelişen gangrenli mastitis olgusu. IV.Veteriner Jinekoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) 4-7 Kasım 2010, Belek / ANTALYA
9. Alçıgır ME, **Polat M**, Coşkan AS, Atalay Vural S, Vural MR. Safra kesesinin kistik müsinöz hiperplazisi. V.Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 14-18 Eylül 2010,Bursa,TÜRKİYE
10. Alçıgır ME ,**Polat M**, Coşkan M, Küplülü Ş, Vural MR, Atalay Vural S, Akıntuğ Z. Bir köpekte rete ovarii adenoma ve vaginal fibromanın klinikopatolojik değerlendirilmesi. V.Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 14-18 Eylül 2010,Bursa, TÜRKİYE
11. **Polat M**, Kuplulu S, Vural MR, Demirel A, Akcay A. The comparative evaluation of serum biochemical, haematological, bacteriological and clinical findings of died and recovered bitches with pyometra in postoperative process. European Veterinary Conference, Voorjaarsdagen , April, 2009 Amsterdam, HOLLAND
12. Evkuran G, Alçıgır E, Korkmaz Ö, **Polat M**, Vural R, Küplülü Ş, Vural SA, Çelebi M, Aslan M, Arı Y. Bir Arap Kısırakta Granuloza-teka hücre tümörü. IV.Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 29 Ekim-02 Kasım 2009 , Antalya, TÜRKİYE
13. Vural R, Mülazımoğlu B, **Polat M**. Lisansüstü Öğretimde Uzaktan Eğitim Modelleri: Kuzey Amerika ve Batı Avrupa Deneyimleri ve Ülkemiz Açısından Önemi. Mezuniyet Sonrası Tıp Eğitimi Sempozyumu, 4-5 Mayıs 2007, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA.
14. Yağcı İ, Kalender H, **Polat M**, Kul O. Koyunlarda güç doğum sebebi olarak kongenital dwarfizm. II. Veteriner Jinekoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 2-5 Kasım 2006, Belek / ANTALYA

Proje Deneyimi

1. İneklerde kistik ovaryum dejenerasyonlarının patogeneğinde transforming growth factor beta (TGF- β) ailesinin rolünün immunohistokimyasal ve western blot yöntemleri ile araştırılması. Yardımcı araştırmacı, Ankara Üniversitesi BAP (109B3338008)
2. Sütçü ineklerde postpartum süreçte folliküler kist olgularının gelişiminde transforming growth factor-beta ailesi proteinlerinin rolü ve bu proteinlerin kan serum metabolit düzeyi ve uterus bakteriyel patogen yoğunluğu ile ilişkisi. Yardımcı araştırmacı, TÜBİTAK (109O643)
3. Effect of different doses of catosal on bhba concentration (keton body) in fresh cows with subclinical ketosis. Yardımcı araştırmacı, Bayer Animal Health GmbH (D12B12000058)
4. Köpeklerin bulaşıcı venereal tümörünün klinikopatolojik immunhistolojik ve insitu pcr metoduyla bulgularının değerlendirilmesi. Yardımcı araştırmacı, Ankara Üniversitesi BAP (10B3338008)
5. Meme başı kanalı kaplayıcıları ve vitamin E' nin, kuru dönem yeni enfeksiyonlara karşı koruyucu etkinliğinin araştırılması. Yardımcı araştırmacı, Ankara Üniversitesi BAP (2008-08-10-086)
6. Farklı Büyüklükteki Sığır Oositlerinin Maturasyon ve Fertilizasyonu Üzerine (IGF-I) ve (EGF) Etkilerinin Araştırılması. Yardımcı araştırmacı, TÜBİTAK (109O622)