



T.C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNEKLERDE İNTARAUTERİN İZOPROTERENOL
UYGULAMALARININ OVARYUM FOLİKÜLER GELİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. Vefa TOHUMCU

DOKTORA TEZİ

I. DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet CENGİZ

II. DANIŞMAN

Doç. Dr. Semra KAYA

2023 – KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

İNEKLERDE İNTARAUTERİN İZOPROTERENOL
UYGULAMALARININ OVARYUM FOLİKÜLER GELİŞİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Vefa TOHUMCU

DOKTORA TEZİ

I. DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet CENGİZ

II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Semra KAYA

2023 – KARS

Bu tez çalışması 1210840 numaralı TÜBİTAK projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

ÖNSÖZ

Süt sığırcılığı işletmelerinin verimliliği ve sürdürülebilirliği için döl verimi belirleyici rol oynar. Özellikle gebelik oranının düştüğü işletmelerin zamanla küçülmesi ve hem biyolojik hem de ekonomik verimsizlik nedeniyle sektörden çekilmesi ülke hayvancılığına zarar vermektedir.

Döl verimi, bu sorunun üstesinden gelebilme adına yetiştiricinin önemli bir kozu durumundadır. Yüksek süt verimli ineklerde, ovaryum aktivitesinin istenilen düzeyde olmaması, üremede yaşanan sorunların temelini oluşturmakta ve bu aşamada ovaryum aktivitesinin indüklenmesi ve takibinin önemi ortaya çıkmaktadır.

Ovaryan aktivitenin indüklenmesi için çeşitli hormonal ajanlar ve yöntemler kullanılmaktadır. Fakat bu hormonal girişimler foliküler havuzdan çıkan ve 5 mm'nin üzerindeki foliküllere etki göstermekte ve bu havuzdan daha fazla folikülün çıkışına etki etmemektedir. Bu çalışmada, vasküler dilatasyon sağlayan bir kimyasal ajanın intrauterin yolla kullanımı ile bölgeye kan akımının artırılması hedeflenmiştir. Hipotezi doğrulamak için *non-selektif* bir beta-adrenoseptör agonisti olan izoproterenol kullanılmıştır. İneklerde intrauterin yoldan izoproterenol kullanılması ve ovaryumdaki kan akımının artırılması ile aday folikül gelişiminin güçlendirilmesi bu çalışmanın konusudur.

Veteriner hekimlik uygulamalarında ovaryum aktivitesi, non-invaziv bir teknik olan ultrasonografi ile değerlendirilmektedir. Gerçek zamanlı B-mod ultrasonografinin doku ve organları görüntülemeye ve değerlendirmeye imkân tanınması ovaryan aktivitenin takibini kolaylaştırmıştır. Doppler ultrasonografi, hedef bölgedeki kan akımı ve fizyolojik değişiklikleri incelemek için başvurulan bir diğer non-invaziv metottur. Özellikle son yıllardaki çalışmalarda ovaryumda foliküler gelişim, ovulasyon ve luteal aktivitenin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Sunulan tez çalışmasının konusu ve ortaya konulan hipotez, 36 adet Holştayn ırkı inek üzerinde denenmiş ve elde edilen sonuçlar “bulgular” başlığı altında sunulmuştur. Özet olarak izoproterenol kullanımıyla inek ovaryumlarında foliküler havuzdan çıkan aday foliküllerin sayısının artırılabilceği görülmüştür.

TEŞEKKÜRLER

Doktora eğitimim boyunca bilgi, tecrübe ve yardımlarıyla, tez çalışmam boyunca katkı ve desteklerini esirgemeyen, akademik adımlarımda bana ışık olan ve öğrencileri olmaktan her zaman gurur duyduğum saygıdeğer danışmanlarım Doç. Dr. Mehmet CENGİZ ve Doç. Dr. Semra KAYA'ya saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım. Tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Duygu KAYA ve Doç. Dr. Emre ARSLANBAŞ'a ve değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN'a ve Prof. Dr. Güneş ERDOĞAN'a saygı ve şükranlarımı sunarım. Bulguların değerlendirilmesi aşamasında bilimsel tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. Armağan HAYIRLI'ya, laboratuvar desteği, bilgi ve tecrübesiyle katkı sağlayan Prof. Dr. Konca ALTINKAYNAK'a, Dr. Engin ŞEBİN'e ve laboratuvar personeline teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Armağan ÇOLAK, Prof. Dr. Bülent POLAT ve Dr. Öğretim Üyesi Damla Tuğçe OKUR'a ve uygulamalar sırasındaki yardımlarından dolayı Araştırma Görevlisi Alper Yasin ÇIPLAK'a ve Vet. Hek. Şifanur AYDIN'a teşekkür ederim. Bu günlere gelmemde maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime, hem akademik olarak hem de anlayışlı bir eş olarak desteğini daima hissettiğim sevgili eşim Duygu Tulan TOHUMCU'ya minnettarlığımı bildiririm.

Ayrıca, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı'na (ARDEP) tez çalışmama sağladıkları maddi kaynak (Proje No: 121O840) için teşekkür ederim. Çalışmamın yürütülmesine fırsat veren Nail Cinisli Tarım, Hayvancılık ve Gıda A.Ş. sahibi Mete ERTÜRK'e ve işletme personeline desteklerinden dolayı teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR ve SİMGELER	I
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
TABLolar DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ	1
1.1. Ultrasonografi ve Çalışma Prensipleri.....	1
1.2. Proben Özellikleri ve Çeşitleri.....	2
1.3. İneklerde Ultrasonografi Kullanımı.....	2
1.4. İnek Ovaryumundaki Yapıların Ultrasonografi ile Değerlendirilmesi	3
1.5. Veteriner Jinekolojide Doppler Ultrasonografi ve Tarihçesi.....	3
1.6. Doppler Fiziği	4
1.7. Doppler Açısı	5
1.8. Doppler Ultrasonografi Teknikleri.....	6
1.8.1. Spektral Doppler Ultrasonografi Yöntemi	6
1.8.2. Dupleks Doppler Ultrasonografi.....	7
1.8.3. Renkli (Color-Mode) Doppler Ultrasonografi.....	8
1.8.4. Power Mod Doppler Ultrasonografi.....	9
1.9. Uterus ve Ovaryumun Vaskülarizasyonu	10
1.10.1. İzoproterenolün Yapısal Özellikleri	12
1.10.2. İzoproterenolün Metabolizması ve İşlevsel Özellikleri.....	13
1.10.3. İzoproterenol Kullanımı	13
1.11. İneklerde Foliküler Dinamik.....	14
1.12. İnek Ovaryumlarında Antral Folikül Sayısı	15
1.13. Foliküler Dinamikte Hormonların Rolü	16
1.14. İntraovarian Faktörler	17
2. MATERYAL ve METOT.....	19
2.1. Materyal.....	19
2.1.1. İşletme ve İneklerin Seçimi	19
2.2. Metot.....	19
2.2.1. Ön Çalışma Verileri	19
2.2.2. Çalışma Öncesi İneklerde Ovulasyonun Senkronizasyonu ve Takibi.....	26

2.2.3. Grupların Oluşturulması	27
2.2.4. <i>Arteria Ovarica</i> ve <i>Arteria Uterina Media</i> 'da Kan Akımının İncelenmesi. 32	
2.2.5. İzoproterenolün Hazırlanışı	35
2.2.6. Uterus İçi Uygulamalar	36
2.2.7. Foliküler Gelişimin Değerlendirilmesi	36
2.2.8. Kan Örneklerinin Toplanması.....	38
2.2.9. Serum Analizleri.....	38
2.2.10. İstatistiksel analiz.....	39
3. BULGULAR	41
3.1. Uygulama Öncesi ve Uygulama Sonrası Doppler Parametrelerine Grup ve Zamanın Etkisi	41
3.2. Grup ve Muayene Zamanının Folikül Çapları ve Folikül Sayılarının Yüzdelik Dağılımına Etkisi.....	47
3.3. Hormonal ve Metabolik Profil	52
4. TARTIŞMA	57
4.1. Uygulama Öncesi ve Uygulama Sonrası Doppler Parametrelerine Grup ve Zamanın Etkisi	57
4.2. Grup ve Muayene Zamanının Folikül Çapları ve Folikül Sayılarının Yüzdelik Dağılımına Etkisi.....	59
4.3. Hormonal ve Metabolik Profil	64
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	69
6. KAYNAKLAR	71

KISALTMALAR ve SİMGELER

AMH	Antimüllerian hormon
Bpm	Beat per munte, dakikadaki atım sayısı
C	Dokudaki sesin hızı
C	Hız
Cl	Klor
CL	Korpus Luteum
cm	Santimetre
cm/s	Santimetre/saniye
COMT	Kateşol-O-metil transferaz
Cos	Kosinüs
CW	Continuous wave, sürekli dalga
dk	Dakika
Dopp Mua	Doppler sonografi muayenesi
E2	Östradiol
EDV	End Diastolic Velocity, diyastol sonu hız
F	Frekans
f _d	Doppler şift frekansı
FSH	Folikül uyarıcı hormon
f _t	İletilen frekans
G	Gram
GO	Ovulasyon günü
G1	Ovulasyon sonrası 1. gün
G2	Ovulasyon sonrası 2. gün
G3	Ovulasyon sonrası 3. gün
G6	Ovulasyon sonrası 6. gün
G9	Ovulasyon sonrası 9. gün
HR	Heart rate, kalp atım sayısı
Hz	Hertz

II

IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGFBPs	İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler
İZP	İzoproterenol
Kg	Kilogram
Km	Kilometre
KONT	Kontrol
MAO	Monoamin oksidaz
Mcg	Mikrogram
Mg	Miligram
MHz	Megahertz
MI	Miyokardiyal infarktüs
ml	Mililitre
NH ₃	Amonyak
Nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
Ov. Mua.	Ovulasyon muayenesi
Ov-Synch	Ovulasyonun senkronizasyonu
P4	Progesteron
PI	Pulsatil indeks
PMSG	Gebe kısrak serum gonadotropini
PP	Postpartum
PPM	Part per million
PRF	Pulse repetition frequency, atım tekrarlama frekansı
PSV	Peak systolic velocity, tepe sistolik hız
PW	Pulsed wave, atım dalgası
RI	Resistance Index, Rezistans İndeks
ROT	Reaktif oksijen türleri
S/D	Sistol/diyastol oranı
SO ₄	Sülfat

III

TAMAX	Time averaged maximum velocity, zaman ortalamalı maksimum hız
TAMEAN	Time avaraged mean velocity, zaman ortalamalı ortalama hız
TMR	Toplam karma rasyon
U.Ö	Uygulama öncesi
U.S	Uygulama sonrası
USG	Ultrasonografi
v/v	Hacimce yüzde
VİG	Vajina içi gereç
VKS	Vücut kondisyon skoru
Vmax	Damardaki maksimum akım hızı
X	Çarpma
$\beta 1$	Beta 1
$\beta 2$	Beta 2
Θ	Ultrason ses dalgası demeti ile akım yönü arasındaki açı
Λ	Dalga boyu
Y	Akım hızı
%	Yüzde
°C	Derece santigrat
/	Bölme
+	Artı
<	Küçük
>	Büyük
$\leq$	Küçük eşittir
Δf	Doppler kayma frekansı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: B-Mod ultrasonografi çalışma prensibi	2
Şekil 2: Doppler şifti görseli.....	5
Şekil 3: Doppler ultrason ışın demeti insonasyon açısı ile doppler şift frekansı arasındaki ilişki.	6
Şekil 4: Renkli mod görüntüleme şeması.	9
Şekil 5: İneklerde pelvik bölge ve bu alandaki doku ve organların şematik gösterimi.	11
Şekil 6: Östrus siklusunun orta-luteal fazındaki bir inekte, ovaryum kan akımını sağlayan damarlar.....	11
Şekil 7: İzoproterenol ile adrenalinin kimyasal yapısı	12
Şekil 8: İki foliküler dalgalı bir inekte foliküler gelişim safhaları	15
Şekil 9: 0,2 mg/ml (8 mg/40 ml) İZP dozunun <i>a. ovarica</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.....	22
Şekil 10: 0,2 mg/ml (8 mg/40 ml) İZP dozunun <i>a. uterina media</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşan değişiklikler	22
Şekil 11: 0,1 mg/ml (4 mg/40 ml) İZP dozunun <i>a. ovarica</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.....	24
Şekil 12: 0,1 mg/ml (4 mg/40 ml) İZP dozunun <i>a. uterina media</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler	24
Şekil 13: 0,05 mg/ml (2 mg/40 ml) İZP dozunun <i>a. ovarica</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler. <i>a. ovarica</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.....	25
Şekil 14: 0,05 mg/ml (2 mg/40 ml) İZP dozunun <i>a. uterina media</i> 'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler	26
Şekil 15: Ov-Synch protokolü ve ovulasyon muayene günleri	27
Şekil 16: Gruplara yapılacak ardışık Ov-Synch protokolü ve tüm uygulamalar.....	28
Şekil 17: İZP-I grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar.....	29
Şekil 18: KONT-I grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar.....	30
Şekil 19: İZP-II grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar.....	31
Şekil 20: KONT-II grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar	32
Şekil 21: İZP uygulama öncesi ve sonrası alınan spektral görüntü ve arter çaplarındaki değişim	34
Şekil 22: Ovaryumdaki antral foliküllerin video kesit yöntemiyle sayımı ve görüntü üzerinde temsili yerleşimi	38
Şekil 23: <i>A. ovarica</i> 'dan elde edilen OHR parametresinde grup-zaman etkisi	42
Şekil 24: <i>A. uterina media</i> 'dan elde edilen UHR parametresinde grup-zaman etkisi	45
Şekil 25: 1-2,9 mm'lik folikül sayısının yüzdelik oranına grubun ve uygulama zamanlarının etkisi	47
Şekil 26: 3-4,9 mm'lik folikül sayısının yüzdelik frekansına grubun ve uygulama zamanlarının etkisi	48

Şekil 27: Toplam folikül sayısının ağırlıklı ortalama frekansına grubun ve uygulama zamanlarının etkisi	49
--	----



TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: İzoproterenol uygulama dozuna göre genel durum ve klinik muayene bilgileri	21
Tablo 2: İntrauterin 0,2 mg/ml İZP (8 mg/40 ml) uygulama öncesi ve sonrası genel durum ve klinik muayene bilgileri	21
Tablo 3: İntrauterin 0,1 mg/ml İZP (4 mg/40 ml) uygulama öncesi ve sonrası genel durum ve klinik muayene bilgileri	23
Tablo 4: İntrauterin 0,05 mg/ml İZP (2 mg/40 ml) uygulama öncesi ve sonrası genel durum ve klinik muayene bilgileri	25
Tablo 5: Doppler ultrasonografide ölçümü yapılan parametreler	35
Tablo 6: Antral folikül gruplarının çap aralıkları	37
Tablo 7: Grup ve zamanın Doppler ultrasonografi parametrelerine etkisi (<i>Arteria ovarica</i>)	43
Tablo 8: Grup ve zamanın Doppler ultrasonografi parametrelerine etkisi (<i>Arteria Uterina Media</i>).....	46
Tablo 9: Grup ve zamanın toplam folikül sayısına, folikül yüzdesine ve ağırlıklı ortalamaya etkisi	50
Tablo 10: Grup ve zamanın metabolik ve hormon profiline etkisi	55

İneklerde İntrauterin İzoproterenol Uygulamalarının Ovaryum Foliküler Gelişimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

ÖZET

Bu tez çalışmasında, izoproterenolün (İZP) inek ovaryumlarındaki aday folikül gelişimi üzerine güçlendirici etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ovaryumlardaki foliküllerin, primordial folikül havuzundan çıkış günlerinde uterus içine uygulanan İZP ile ovaryum ve uterus arter çapında genişleme sağlanması planlanmıştır. Bu etkiyle ovaryuma taşınan kan bileşenlerinin artırılması, antral folikül gelişiminde etkili olduğu bilinen ovaryum içi faktörlerin desteklenebileceği ve bu sayede folikül gelişiminin güçlendirilebileceği hipotez olarak öne sürülmüştür. Çalışma, postpartum 60 günü tamamlamış, herhangi bir jinekolojik ve metabolik problemi olmayan, 2. laktasyondaki sağlıklı 36 adet Holştayn ırkı inek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya alınan inekler, her bir grupta 9 adet olacak şekilde ve uterus içi uygulanan ajana ve uygulama gününe göre dört gruba (İZP-I, KONT-I, İZP-II, KONT-II) rastgele ayrılmıştır. İZP-I ve İZP-II grubuna sırasıyla ovulasyon sonrası 1 ve 2. günlerde 4 mg izoproterenol 40 ml steril distile su içerisinde intrauterin uygulanırken, KONT-I ve KONT-II gruplarındakilere ise sırasıyla ovulasyon sonrası 1 ve 2. günlerde placebo uygulaması yapılmıştır. Puls dalga Doppler ultrasonografi ile uygulama öncesi ve uygulamadan 30 dakika sonrasında, Tepe Sistolik Hız (PSV), Diyastol Sonu Hız (EDV), Rezistans İndeks (RI), Pulsatil İndeks (PI), Kalp Atım Sayısı (HR), Sistol-Diyastol Oranı (SD), Zaman Ortalamalı Ortalama Hız (TAMEAN), Zaman Ortalamalı Maksimum Hız (TAMAX) ve arter çapı (ÇAP) ölçümü *arteria ovarica* ve *arteria uterina media* üzerinde yapılmıştır. Alınan kan örneklerinde (1 veya 2., 3., 6. ve 9. gün) folikül uyarıcı hormon (FSH), anti-müllerian hormon (AMH), östradiol (E2), progesteron (P4), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3), beta hidroksi bütirik asit (BHBA) ve kolesterol düzeyleri ölçülmüştür. Uterus içi uygulamalara başlanmadan önce tüm inekler, vagina içi progesteron ile kombine edilmiş, standart 7 gün süreli ovulasyonun senkronizasyonu (Ov-Synch) programına alınmıştır. Uterus içi uygulanan İZP'ye karşın ovaryum yanıtında karşılaşılabilecek olası bireysel farklılıkları göz ardı etmemek için, her inekte ardışık olarak iki kez Ov-Synch (Ov-Synch-1 ve Ov-Synch-2) protokolü uygulanmıştır. Bütün gruplarda, Ov-Synch-2 sonrası ovulasyonun saptandığı gün, 0. gün (G0) olarak kabul edilmiştir. Uygulamalar ovulasyonu takiben, gruplara göre 1 veya 2. günlerde uterus içine yapılmıştır. İZP gruplarında, KONT gruplarına göre uygulama sonrası Ovaryum- Kalp Atım Sayısı (OHR) belirgin şekilde artış göstermiştir ($p<0,01$). Ayrıca İZP gruplarında ovaryan arter çapının (OÇAP), uygulama sonrasında artış eğiliminde olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Uygulama sonrasında Uterin-Kalp Atım Sayısı (UHR) parametresi, KONT gruplarında benzer bulunurken, İZP gruplarında belirgin şekilde artmıştır ($p<0,01$). Antral folikül yüzdelerinde, 1–2,9 mm'lik aralıkta, İZP gruplarının her ikisinde de zamanla azalma görülmüştür. KONT-I grubunda zamanla artarken ($p<0,0001$), KONT-II'de ise artış eğilimi olmuştur ($p>0,05$). İZP-I ve İZP-II gruplarında, zaman ilerledikçe 3–4,9 mm'lik folikül sayısının yüzdelik frekansı artarken, KONT-I grubunda azalma ($p<0,05$) ve KONT-II grubu ise azalma eğilimi olmuştur ($p>0,05$). Ayrıca, İZP gruplarında toplam folikül sayılarının ağırlıklı ortalaması (TFSAO) zamanla artış

göstermiştir. İZP grupları arasında TFSAO en fazla İZP-I grubunda olmuştur. KONT-I grubunda ise TFSAO zamanla azalırken ($p<0,01$), KONT-II'de ise değişim olmamıştır ($p>0,05$). Hormonal analizlerde gruplar arası değerlendirmede İZP gruplarının tüm parametrelerde KONT gruplarına kıyasla ortalama olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,0001$). Sonuç olarak, İZP uygulamasıyla 1–2,9 mm çaplı antral folikül yüzdesinin azaltılıp, 3–4,9 mm çapa sahip folikül yüzdesinin artırılabilceği görülmüştür. Sağlanan bu artış, ovaryum ve uterus arterlerinde sağlanması planlanan kan akımı artışından ziyade, IGF-I, IGFBP-3, AMH, kolesterol gibi folikül gelişimini doğrudan etkileyen faktörlerle ilişkilendirilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, 3–4,9 mm çapa sahip folikül sayısında elde edilen artış, İZP uygulamasının, gonadotropin duyarlılığı gösterecek aday folikül sayısını artırmaya yönelik potansiyel bir uygulama olabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Doppler ultrasonografi, foliküler gelişim, inek, izoproterenol, ovaryum, vazodilatasyon.

Investigation of the Effects of Intrauterine Isoproterenol Administration on Ovarian Follicular Development in Cows

SUMMARY

This thesis study aimed to investigate the impact of isoproterenol (ISO) on follicle recruitment and development in cow ovaries. ISO was administered intrauterine route to induce vasodilatation of the ovary and uterus arteries during the emergence of follicles from the primordial follicle pool. It was hypothesized that elevating the transport of blood components to the ovary could support intraovarian factors known to influence antral follicle development, consequently promoting follicle growth. The study was conducted on 36 healthy Holstein cows in their second lactation, which had completed 60 days postpartum and had no gynecological or metabolic issues. The cows were randomly allocated into four groups (ISO-I, CONT-I, I ISO-II, CONT-II), each consisting of 9 cows after blocking based on the intrauterine agent administered and the day of application. While 4 mg of isoproterenol dissolved in 40 ml of sterile distilled water was intrauterinely administered in the ISO-I and ISO-II groups on the 1st and 2nd days after ovulation, respectively, 40 ml of sterile water (placebo) was administered in the CONT-I and CONT-II groups on the 1st and 2nd days after ovulation, respectively. Before the application and 30 minutes after the application measurements of Peak Systolic Velocity (PSV), End Diastolic Velocity (EDV), Resistance Index (RI), Pulsatility Index (PI), Heart Rate (HR), Systole-Diastole Ratio (SD), Time-Averaged Mean Velocity (TAMEAN), Time-Averaged Maximum Velocity (TAMAX), and vessel diameter (CAP) on the *arteria ovarica* and *arteria uterina media* were determined using pulse wave Doppler ultrasonography. Blood samples collected on d 1 or 2, 3, 6, and 9 were analyzed for follicle-stimulating hormone (FSH), anti-Müllerian hormone (AMH), estradiol (E2), progesterone (P4), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3), beta-hydroxybutyric acid (BHBA), and cholesterol. Before the initiation of intrauterine applications, all cows were subjected to the standard 7-day ovulation synchronization (Ov-Synch) program combined with intravaginal progesterone to achieve synchronization. To take possible individual variations in ovarian response despite the intrauterine administration of ISO into account, each cow underwent two consecutive Ov-Synch protocols (Ov-Synch-1 and Ov-Synch-2). The day on which ovulation was detected after Ov-Synch-2 was designated as day 0 (G0) for all groups. The administrations were performed intrauterinely on the 1st or 2nd days after ovulation. Compared to the KONT groups, the ovarian heart rate (OHR) increased in the ISO groups after the administration. Furthermore, there was an increasing tendency in ovarian artery diameter (OÇAP) in the IZP groups after administration ($p>0.05$). Post-application, Uterine Heart Rate (UHR) remained similar in the CONT groups but significantly increased in the ISO groups ($p<0.01$). Regarding antral follicle percentages, a decrease in the 1-2.9 mm follicle range was observed in both ISO groups over time. However, it increased over time ($p<0.0001$) in CONT-I, and there was a tendency to increase ($p>0.05$) in CONT-II. In both ISO-I and ISO-II groups, the percentage of 3-4.9 mm follicles increased over time, whereas there was a decrease ($p<0.05$) in CONT-I and no change in CONT-II. Furthermore, the weighted mean of total follicle counts (TFSAO) increased over time in the ISO groups, with the highest

increase observed in the ISO-I group. In contrast, TFSAO decreased over time in CONT-I ($p < 0.01$) and remained unchanged in CONT-II ($p > 0.05$). The ISO groups showed significantly higher average hormonal values than the CONT groups. In conclusion, the administration of ISO reduced the percentage of antral follicles with a diameter of 1- 2.9 mm while significantly increasing the percentage of follicles with a diameter of 3-4.9 mm. This increase was attributed not only to the anticipated increase in blood flow to the ovary and uterus arteries but also to factors directly influencing follicle development, such as IGF-I, IGFBP-3, AMH, and cholesterol. When the obtained findings are evaluated, the increase in the number of 3- 4.9 mm follicles suggests that ISO administration may have the potential to enhance the pool of recruitment follicles responsive to gonadotropin stimulation.

Keywords: Doppler ultrasonography, follicular development, cow, isoproterenol, ovarium, vasodilatation.



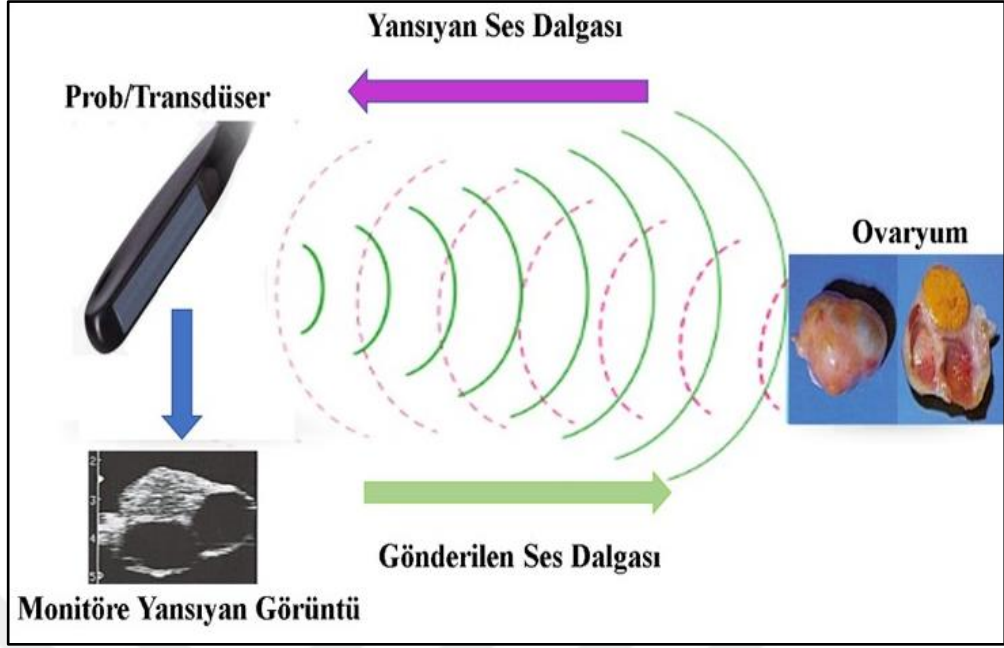
1. GİRİŞ

1.1. Ultrasonografi ve Çalışma Prensipleri

B-mode ultrasonografi (USG), ekoları temsil eden gri tonlarından oluşan iki boyutlu bir görüntüleme tekniğidir (DesCoteaux ve ark. 2009). Geleneksel bir metot olan B-mod USG, insan kulağının duyamayacağı frekanstaki (20-20.000 mega-hertz (MHz)) ses dalgalarının farklı özellikteki dokulardan monitöre yansımaları sürecini içermektedir (O'Brein ve ark. 1981, Dinç 2008).

Her saniye başına düşen devir sayısı frekans olarak tasvir edilirken hertz (Hz) ile ifade edilir. Saniyede 1 milyon ($1.000.000/10^6$) devir yapmışsa bu MHz olarak tanımlanır. Ardışık basınç dalgaları arasındaki tepe-tepe mesafeleri ise dalga boyu (λ) olarak adlandırılmıştır. Frekans, ses hızı ve dalga boyu arasında; Ses Hızı (C) = Frekans (f) x Dalga boyu (λ) bağıntısı bulunur (Mannion 2006).

Ultrasonik ses dalgalarında nüfuz eden güç ile görüntünün çözünürlüğü arasında ters orantı bulunmaktadır. Düşük frekansta ses dalgasının nüfuz ettiği güç, yüksek seviyede olsa da görüntü çözünürlüğü düşük olmaktadır. Diğer bir deyişle, frekans yükseldikçe ses dalgalarının derinliği azalırken çözünürlük yükselmektedir. İneklerde üreme organları taranırken genelde 5-7,5 MHz frekans aralığı tercih edilmektedir (Fricke 2002). Ovaryum gibi küçük yapılar genelde 7,5 MHz ile taranmakla birlikte (Dixit ve Haloi 2022) ovaryum dokusu ultrasonografik muayenede üzerindeki yapılardan daha ekojenik bir görünüm sergilediği bilinir (Fricke 2002). Bir ultrason cihazı; merkez işleme birimi, Prob (transdüser, dönüştürücü) ve monitörden oluşur. Prob yüksek frekanstaki ses dalgalarını gönderip geri almaktadır. Bir dizi sıralı piezo-elektrik kristalinden oluşan transdüser, elektrik akımı ile titreşerek yüksek frekanstaki ses dalgalarını muayene edilen bölgeye yayar. Bu ses dalgaları dokunun özelliğine göre farklı şiddetlerde geri yansır. Yansıyan ses dalgası, monitörde incelenen dokuya göre farklı ekojenitede monitörde gösterilir (Şekil 1, Ribadu ve Nakao 1999, Dinç 2008).



Şekil 1: B-Mod ultrasonografi çalışma prensibi.

1.2. Probun Özellikleri ve Çeşitleri

Ultrasonografik muayene için dokunun yapısına ve derinliğine göre uygun prob seçilmelidir. Transrektal olarak kullanılan problar, puro şeklinde üretilmişlerdir ve ürettikleri ses dalgalarını uzun eksen boyunca 90° 'lik bir açı ile yayarlar (Gomes 2008). Probtaki kristallerin dizilimine göre 3 çeşit prob bulunmaktadır. Bunlar; linear prob, sektör prob ve konveks prob (Dinç 2008). Linear prob, el ayasına sıkıştırılıp muayene edilmek istenen dokunun üzerine getirilerek tarama yapılabilir. Bu durum linear probun dezavantajıdır ve proba muayenede derinlik gerektiren dokuların görüntülenmesi güçtür, fakat ürogenital kanal bu proba rahatlıkla muayene edilebilir (Gomes 2008). Linear proba yapılan muayenelerde görüntü dikdörtgen şeklinde olmaktadır (Ribadu 1999, Dinç 2008). Konveks probta ise pasta dilimi şeklinde bir görüntü elde edilir (Gomes 2008).

1.3. İneklerde Ultrasonografi Kullanımı

İneklerde ultrasonik değerlendirme transrektal yolla yapılmaktadır. Rektal düzlemde prob, düz bir şekilde ilerletilir. Gebeliğin şekillenmediği uterus, idrar kesesinin dorsoline konumlanmış olarak tespit edilebilir (DesCoteaux ve ark. 2009). Ovaryumlar

ise pelvisin kranial girişinde abdominal duvarın ventralinde bulunur (Gürler ve Fındık 2019).

Son yıllarda üreme alanındaki gelişmelere ultrasonun katkısı göz ardı edilemez niteliktedir. Bu sayede, üremenin anlaşılması adına yeni bakış açıları ve ilerlemeler sağlanmıştır. Ayrıca non-invaziv bir teknik olması kullanımını kolaylaştıran bir avantaj olarak karşımıza çıkmaktadır (Dixit ve Haloı 2022).

Ultrasonografi ineklerde östrus siklusunda foliküler dinamiğin değerlendirilmesine olanak sağlamasının yanı sıra erken gebeliğin tespiti, fetüsün cinsiyet tespiti, fetal canlılık ve üreme organlarındaki anomalilerin değerlendirilmesine imkân sağlamaktadır (Chandolia 2022, Dixit ve Haloı 2022).

1.4. İnek Ovaryumundaki Yapıların Ultrasonografi ile Değerlendirilmesi

Foliküller ovaryumun anekoik alanlarını temsil eder. İçleri sıvı ile dolu olan bu yapılardan ses dalgaları yansıma yapmamaktadır (Evans 2003). Bazen foliküller ile bu bölgeyi besleyen damarlar karışabilmektedir. Bu karışıklığın önüne geçmek için prob uygun pozisyona getirilir ve damarların foliküllerin aksine daha uzunlamasına seyrettiği tespit edilir ya da Doppler özelliğine sahip cihazlarda renkli mod açılır ve kanlanmanın görülmesiyle ayırım yapılır (Bo ve ark. 2003).

Korpus Luteum (CL), teka ve granüloza hücrelerinin hipertrofiye uğraması ve luteinleşmesi sonucu meydana gelir. B-mod USG’de ovaryum stromasına göre daha az ekojenik görüntü vermesi ile ayırt edilebilmektedir (Noakes 2009).

1.5. Veteriner Jinekolojide Doppler Ultrasonografi ve Tarihçesi

1980’lerden sonra ineklerde üreme alanı, B-mod USG’nin kullanılmaya başlanmasıyla klinik, araştırma ve ilerleme açısından devasa ivme kazanmıştır. Bu ilerlemeleri non-invaziv ve kolay bir yöntem olmasına borçludur. Ancak bu yöntem sadece incelenen dokunun morfolojisi hakkında bilgi vermektedir (Herzog ve Bollwein 2007).

Geçmişten günümüze bakıldığında tıp alanı görüntüleme teknolojisindeki ilerlemelerin veteriner üreme alanına olumlu yansımaları olmuştur. Veteriner jinekolojide, non-invaziv bir teknik olan B-mod USG ile üreme organlarının morfolojik olarak incelemesi yapılırken, hemodinamik olarak herhangi bir veri elde

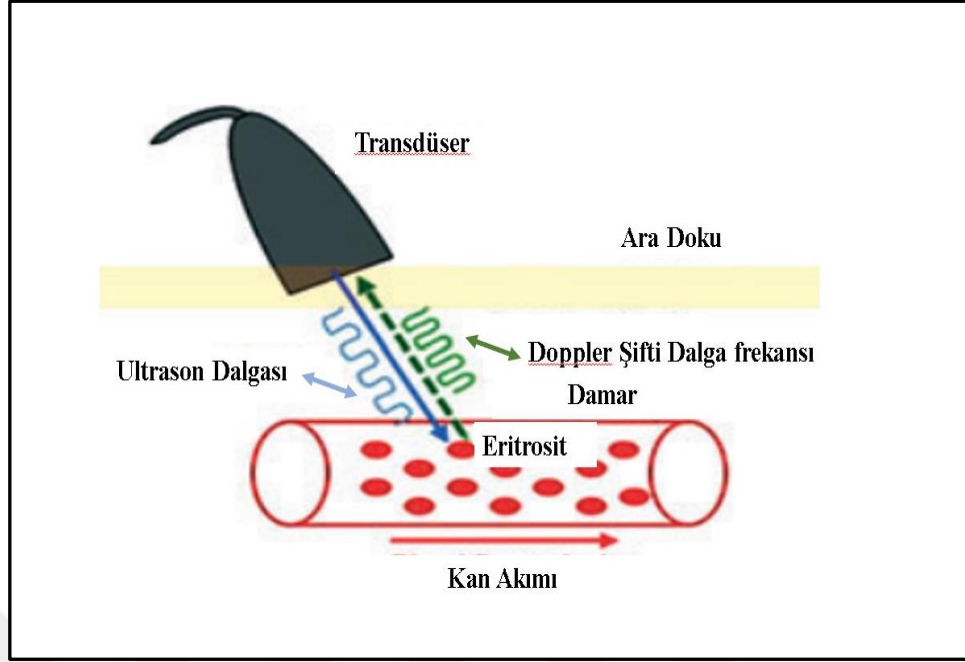
edilememektedir. Hemodinami ile ilgili bilgi edinmek için diğer bir non-invaziv teknik olan Doppler USG kullanılır (Erdoğan 2018). İki binli yılların başından itibaren kullanılmaya başlayan Doppler USG, B mod USG'nin eksikliğini gidermiş olup damarlaşma ve kan akımı hakkında bilgi vermektedir (Bollwein 2000, 2002a). Doppler USG, östrus siklusu ve diğer dönemlerde (gebelik ve postpartum) uterus ve ovaryum kan akımının incelenmesine olanak tanımıştır (Abdelnaby ve ark. 2018).

1.6. Doppler Fiziği

Doppler, ünlü matematikçi ve bilim adamı Christian Andreas Doppler tarafından hipotezlenmiştir. Probdan gönderilen ses dalgaları hareketli yapılardan geri yansıdığına, Proba dönen dalga frekansında bir fark oluşur. Hareketli yapılar eritrositler olarak varsayıldığında, transdüser doğru hareket olursa yansıyan ses dalgası gönderilenden büyük, probdan uzaklaşırsa gönderilen ses dalgası yansıyan ses dalgasından büyük olur (Şekil 2). İleticinin hareketli olmasının, bu durumu etkilediği unutulmamalıdır. Sonuç olarak, oluşan bu fark Doppler şifti (Doppler kayması/Doppler etkisi) olarak tanımlanır (Schmidt ve Kurjak 2001). Eritrositler proba doğru yaklaşırken frekansta meydana gelen artışa pozitif Doppler kayması, probtan uzaklaşırken frekansta meydana gelen azalmaya negatif Doppler kayması adı verilir (King 2006).

Doppler şifti aşağıdaki gibi formülleştirilmiştir (Maulik ve ark. 2021).

- $f_d = f_t - f_r = 2f_0 v \cos.\theta/c$
- f_d : Doppler şift frekansı,
- f_t : iletilen frekans,
- f_r : alınan frekans,
- v : akım hızı;
- c = Dokudaki sesin hızı;
- θ = Ultrason ses dalgası demeti ile akım yönü arasındaki açı

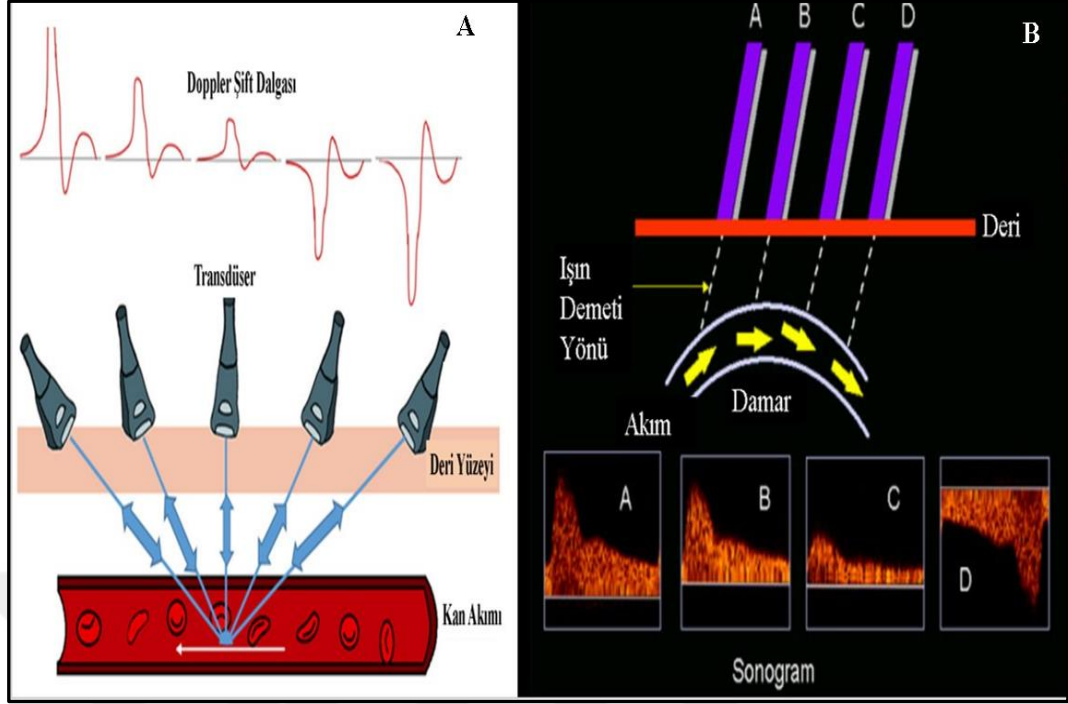


Şekil 2: Doppler shifti görseli (Stalmans ve ark. 2011).

1.7. Doppler Açısı

İncelenen kan damarı ile ultrason demeti arasında kalan açığa doppler açısı denir. Klasik ultrasonografide (B-mod) 90° 'lik açı ile en ideal görüntü alınırken, Doppler USG'de 90° 'lik açı ile akıntıya dair herhangi bir görüntü elde edilememektedir. Çünkü formülde 90 ($\cos 90^\circ = 0$) değeri yerine yazıldığında doppler shifti frekansı 0 çıkmakta ve dolayısıyla sinyal elde edilememektedir (Gomes 2008).

Büyük doppler açısındaki hata olasılığı, elde edilen sonuçlarda problem teşkil eder. Bu olumsuzluğun önüne geçebilmek için, doppler açısı düşük tutulmaktadır ($\leq 60^\circ$) (Gomes 2008). Yani, kan akımı ile Doppler ultrason ışın demeti arasındaki açı ne kadar küçükse, Doppler frekans shifti o kadar büyük olur. Doppler ultrason ışın demeti 90° 'lik bir açığa yaklaştıkça çok küçük sinyaller üretilir. Bu nedenle, herhangi bir kan akımı için açı ne kadar büyük olursa, Doppler shifti o kadar küçük olur (Şekil 3, Benslimane 2019).



Şekil 3: Doppler ultrason ışın demeti insonasyon açısı ile doppler shift frekansı arasındaki ilişki, (A) Sonogramda doppler açısının etkisi (B) (Doppler in Obstetrics. Chapter on Doppler ultrasound: principles and practice) (Benslimane 2019).

1.8. Doppler Ultrasonografi Teknikleri

Doppler USG’de kullanılan teknikler 4 ana başlıkta toplanabilir. Bunlar; Spektral Doppler USG (puls ve devamlı dalga Doppleri), Dupleks Doppler USG, Renkli Doppler USG ve Power Mod Doppler USG’dir.

1.8.1. Spektral Doppler Ultrasonografi Yöntemi

Spektral Doppler USG, akım hızına ait bilgi, dikey ekseninde hız (cm/s) ve yatay ekseninde zamandan (s) oluşan spektral bir gösterge olarak monitöre yansımından ibarettir (Ohlerth ve Kaser-Hotz 2003). Spektral Doppler USG’de yansıyan tüm ses dalgaları ve maksimum kan akımına sahip damarlardan yansıyan sinyaller, prob tarafından algılanır ve duyulabilir ses formatına dönüştürülür. Bu ses dalgaları sayesinde akımın arter mi yoksa ven mi olduğu ayırt edilebilir. Venöz akımında ses uğultu şeklindeyken, arteriyel akımda ise ses daha fazla değişkendir (Taylor 1997). İki farklı spektral yöntem hali hazırda kullanılmaktadır. Bunlar; sürekli dalga ve puls dalga Doppler USG’dir.

Sürekli dalga Doppler USG (Continuous wave=CW), adından da anlaşılacağı üzere incelenen alana gönderilen ve yansıyan atım sürekli dir. CW modda prob içerisinde iki sıra piezoelektrik kristalleri bulunur. Bunların biri ses dalgalarını sürekli şekilde gönderirken diğ eri ise yansıyan ses dalgalarını sürekli şekilde almaktadır. Süreklilikten dolayı gönderilen ve yansıyan atımlar arasında zaman farkı ölçülememektedir. Ayrıca bu yöntemle incelenen alanda tek bir kan damarı değil, ortamdaki tüm damarları görüntüye dâhil olur. Bu yüzden yüzeysel kan damarlarının görüntülenmesi için uygun bir yöntemdir (Sohn ve ark. 2004). Ayrıca, CW modda ışın yolu boyunca hareket eden her şey örnekle diğ i için derinlik ayrımı yapılamaz. PW (Pulsed wave =PW) moda göre avantajı, çok daha yüksek hızdaki akımların ölçüleb ilmesidir. Tümörlerde olduğ u gibi daha küçük damarların incelenmesinde, belirli bir bölgenin hız bilgisine ihtiyaç duyulması ve hızlarında oldukça düşük olması sebebiyle CW mod yerine PW mod kullanılması daha uygundur (Ohlerth ve Kaser-Hotz 2003).

Puls dalga doppler yöntemi, sürekli dalga sisteminden farklı olarak tek piezoelektrik kristalleri proba konumlandırılmış olup aynı kristaller ultrason dalgalarını düzenli aralıklarla yayar ve alır lar. PW modda Doppler şiftinin alındığ ı derinliğ in seçilebilir olması ve belirli damarlardaki kan akımının seçici olarak değ erlendirilebilir olması, istenilen bölgedeki damarı inceleme imkânı sunmaktadır (Herzog ve Bollwein 2007). Bunun yanı sıra incelenen damardaki akım hızının doğ ru ölçümü, PRF değ erinin yansıyan en yüksek frekanslı ekodan iki kat olmasına bağı lı olduğ u unutulmamalıdır. “Nyquist sınırı” olarak bilinen bu olaya dikkat edilmemesi halinde aliasing artefaktı ortaya çıkacaktır. Ek olarak ç apı büyük olan ve/veya derinliğ i çok fazla olan damarlarda bu yöntemin kullanılması yine aliasing artefaktına yol açacaktır (Gomes 2008).

1.8.2. Dupleks Doppler Ultrasonografi

PW modun, M veya B mod USG yöntemi ile birleşt irilmesi sonucu ortaya çıkan kombine bir yöntemdir. Öncelikle incelenecek alan B mod USG ile belirlenmesi gerekir. Bölgenin seçiminin ardından, bu alan işaret lenir ve doppler mod aktif hale getirilir. Bu sayede B mod görüntü üzerinde, kan akım hızı ve yönü görüntülenme imkânı bulur (Dinç 2008, Dowsett ve ark. 2004) Ayrıca dokudan yansıyan ekolar, B-

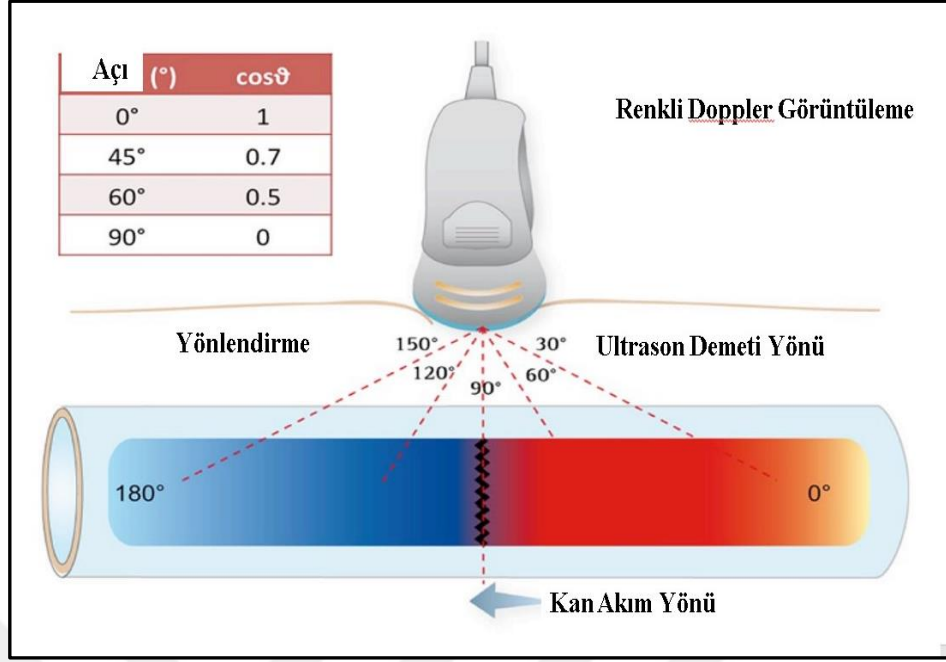
mod görüntünün yanında hız/zaman veya frekans/zaman şeklinde izlenebilir. Bu bağlamda, frekans tercih edilirse doppler açısının bilinmesi, frekansı hıza çevirmek için önem arz eder.

Hemodinamikte kan, doku ve organlara son derece gelişmiş bir damar ağı ile ulaştırılır. Kan damardan geçerken akıma karşı damar bir direnç gösterir. Bu direncin bilinmesi bölgenin kanlanması hakkında önemli bilgiler vermektedir. Dupleks Doppler USG yöntemi de bölgenin kan dolaşımı hakkında kantitatif veriler sunar (Kaya 2012).

Dupleks Doppler USG yöntemi, B mod ile belirlenemeyen küçük damarlardaki akım, stenoz ve damar tıkanıklıkları bu kombinasyonla değerlendirilebilir hale gelir (Dinç 2008). Ayrıca organlarda kan akımının etkilendiği hastalıkların teşhisinde de kullanılabilir bir yöntemdir. Dupleks Dopplerin klinik kullanımda 3 değerli parametre; sistol-diyastol (S/D) oranı, pulsatil indeks (PI) ve rezistans indeks (RI)'dir (Kaya 2012). Bu parametrelerdeki artış, distal bölgelerde kanlanmanın azaldığına işaret eder (Ginther ve Utt 2004).

1.8.3. Renkli (Color-Mode) Doppler Ultrasonografi

Renkli Doppler USG'de, B mod üzerinde belirlenen alana renkli karenin eklenmesi ile veri elde edilir. Bu bölgede sabit yansıtıcıdan yansıyan ekolar parlak noktalar ile temsil edilirler. Sabit yansıtıcının aksine hareketli objelerden yansıyan ekolar ise, ortalama akış hızı değişikliklerini değerlendirmek için bir oto korelasyon detektörü tarafından analiz edilerek renkli piksellerle temsil edilirler. Kırmızı renk pozitif Doppler, mavi renk ise negatif Doppler kaymasını temsil etmektedir. Akım hızını derecelendirmek için bu renklerin (Kırmızı-Mavi) farklı tonları kullanılmakta olup renklerin açık tonlarda gözlenmesi akım hızının artışını göstermektedir. Kırmızı ve mavinin tonu, canlılığı ve parlaklığı, Doppler şift ekolarının doğasını göstermek, yani ortalama hızlarını, fazlarını, genliklerini ve varyanslarını belirtmek için kullanılan rengin üç özelliğidir (Meola ve ark. 2021). Proba doğru yaklaşan kan akımı kırmızı renkle, uzaklaşan kan akımı ise mavi renkle gösterilmektedir. Renksiz piksellerin varlığı ise o bölgede akımın olmadığını ifade eder (Kavurmacı 2017). Renkli Doppler USG'de renk skalası açı ve akım yönü şeklinde gösterilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4: Renkli mod görüntüleme şeması (Meola ve ark. 2021).

1.8.4. Power Mod Doppler Ultrasonografi

Power Mod Doppler ultrasonografi, geleneksel renkli Doppler USG'ye göre daha iyi bir yöntemdir ve yumuşak doku içerisindeki akımlara karşı daha duyarlıdır (Ginther ve Utt 2004, Ginther 2007). Gönderici ve alıcı prob aynı olmakla beraber (Taylor 1997, Sohn ve ark. 2004) incelenen alandan geçen akımın hızı değil yoğunluğu ölçülür. Diğer bir ifadeyle eritrositlerin sayısı elde edilmektedir (Demir 2021). Renkli Doppler yöntemiyle akım hızı düşük olan ve küçük çaplı damarlardan görüntü almak olanaksızdır. Bu aşamada power Dopplerin daha hassas ölçüm yapması, düşük akım hızına sahip damarları, tümöral oluşumlardaki düzensiz akımları ve hiperemik alanları izlemeyi olanaklı kılar (Martinoli ve ark. 1998; Ginther ve Utt 2004).

Görüntüleme hızı renkli Doppler'e göre nispeten yavaş olduğu için inceleme alanı daha küçük tutulmalıdır. Açı önemli olmayıp hızın direkt olarak dikkate alınmaması aliasing artefaktının önüne geçmektedir (Ginther ve Utt 2004).

Renkli Doppler yöntemine göre dezavantajı akım hızı ve yönü hakkında bilgi vermemesidir. Ayrıca, akım yönü her ne yönde olursa olsun taranan alan kırmızı, turuncu ve sarının tonlarında görüntülenir. Bu tonlamayı belirleyen şey ise akımdaki

kırmızı kan hücrelerinin hızıdır. Hız arttıkça sarı renkte oluşur. Yavaşladıkça ise kırmızıya doğru renk değişir (Aldrich 2007).

1.9. Uterus ve Ovaryumun Vaskülarizasyonu

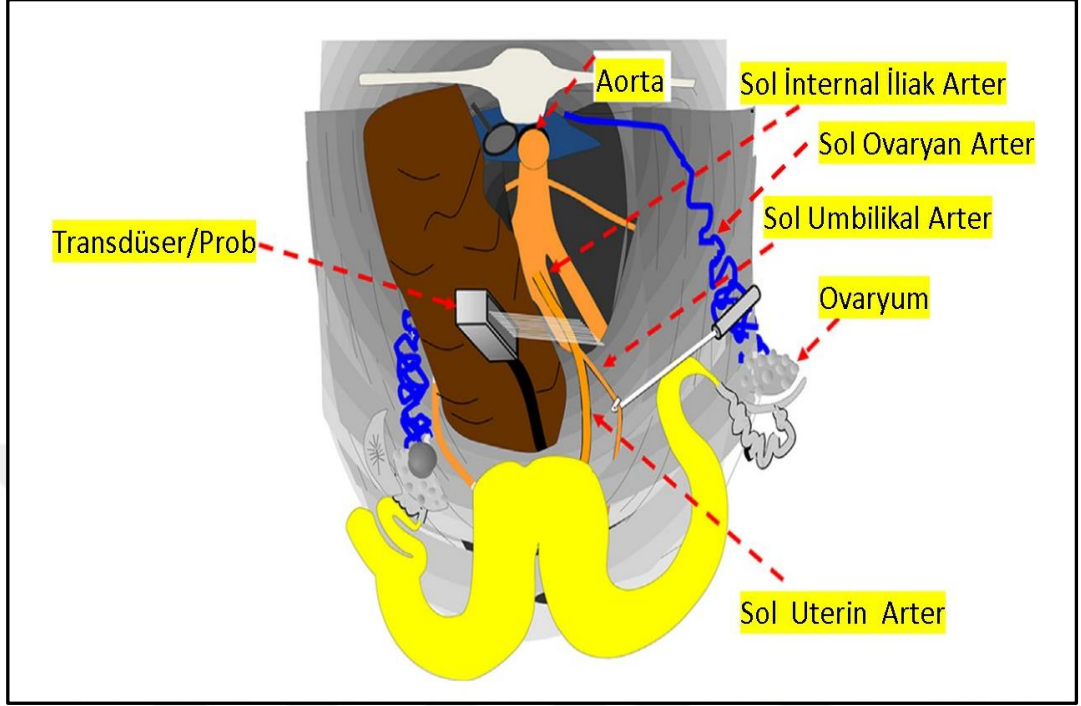
Kan dolaşımı hücre, doku ve organların beslenme ve savunma gibi gereksinimlerinin karşılanması için gereken kanın, son derece gelişmiş bir damar ağıyla ulaşımını sağlayan sistemdir (Özkaptan 2022).

Kan, bünyesinde plazma, eritrositler, akyuvarlar, antikorlar ve trombositler gibi sıvı ve şekilli elemanları ihtiva eder. Bunlardan plazma, kanın sıvı kısmını oluşturmalarının yanı sıra besin maddeleri, proteinler ve yaşam için elzem olan kimyasal maddeleri içerir. Kanın diğer önemli şekilli elemanlarından eritrositler, enerji dönüşümü için kullanılan O₂ taşınımını sağlar. Damarlarda hasar olması durumunda bölgeye gelerek hasarın onarılmasına yardımcı olan diğer bir şekilli eleman trombositlerdir. Akyuvarlar ve antikorlar ise savunma mekanizmasında görev almaktadır (Reece ve Rowe 2017).

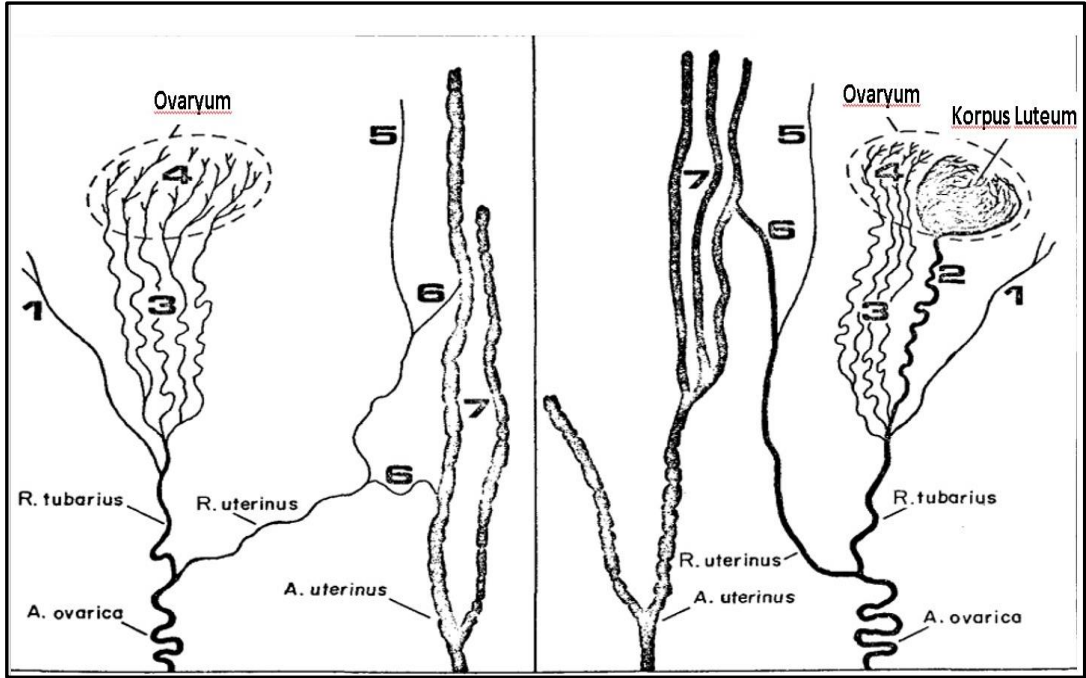
Dişi üreme sisteminde yer alan organların, her biri ikişer adet olan damarlar ile kanlanması sağlanır. Bu damarlar; *arteria ovarica* (*a. ovarica*), *arteria uterina* (*a. uterina*), *arteria vaginalis* ve *arteria pudenda interna*'dır (Gürler ve Fındık 2019). Uterus arterinin lokasyonunu bulmak için öncelikle probu aort üzerine yerleştirmek, yön bulmada kolaylık sağlar. Probun, aortun kaudal bölgesine konumlandırılarak tarama yapılmasıyla internal iliak arterin birleşme yeri bulunur. Ardından distal olarak takip edilerek, rudimenter umbilikal arterin dalları ve uterus arteri bulunmuş olur (Şekil 5). Uterus arteri, uterusu besleyen esas kan damarı olmakla beraber gebe olmayan ineklerde çapı 5,0 mm kadardır (Bollwein ve ark. 2000).

İneklerde ovaryumun kanlanması, ovaryumun yaklaşık olarak 10 cm proksimalindeki bir noktaya sıkı sıkıya yapışmış ve kıvrımlı bir damar ağını içeren *a. ovarica* tarafından sağlanır (Şekil 6, Lamond ve Drost 1974). Doppler USG tekniklerden “renkli” ve “spektral” yöntemler, ineklerde ovaryum ve uterus hemodinamiğini değerlendirmede kullanılan yöntemlerdir. B-mod USG ile taranmak istenen bölge bulunur ve ardından “renkli Doppler” seçeneği ile damarın tespiti yapılır. Nitekim Abdelnaby (2020a) de, bu yöntemle ovaryum arterlerini bulmuş ve östrus

siklusunda ovaryum ve uterusun kan akım hacmindeki değişiklikleri Doppler indeksleri ile değerlendirmiştir.



Şekil 5: İneklerde pelvik bölge ve bu alandaki doku ve organların şematik gösterimi (Bollwein ve ark. 2016).



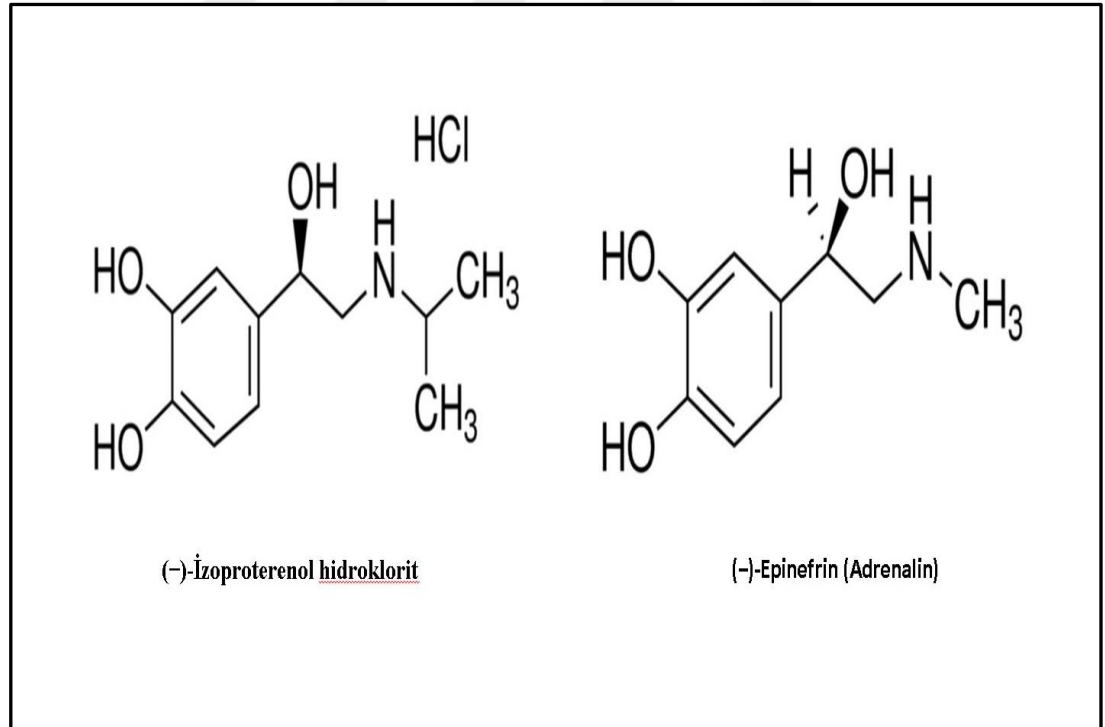
Şekil 6: Östrus siklusunun orta-luteal fazındaki bir inekte, ovaryum kan akımını sağlayan damarlar, 1: R. tubarius'un infundibulum ve geniş ligamenti besleyen birincil dalı, 2: R. tubarius'un korpus luteumu

besleyen birincil dalı, 3-4: Ovaryum segmentlerini besleyen R. tubarius'un kalan birincil dalları, 5: R. uterinus'un kornu ucunun bir kısmını ve ovidukt'u besleyen dalı, 6: R. uterinus ve A. uterinus arasındaki anastomoz, 7: A. uterinus'un birincil dalları (Lamond ve Drost 1974)

1.10. İzoproterenol

1.10.1. İzoproterenolün Yapısal Özellikleri

Sentetik özelliğe sahip olan İzoproterenol (İZP), non-selektif bir beta-adrenoseptör agonisti olmasının yanı sıra pozitif inotrop ve kronotrop etkili bir katekolamindir (Goyal ve ark. 2011). Kimyasal açıdan bakıldığında molekül ağırlığı 242.72 g/mol olan İZP'nin, sistemik adı 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil)amino] etil)-1,2-benzendiol hidro-klorit olup kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3HCl$ 'dir. Ayrıca yapısal olarak adrenaline çok benzese de (Şekil 7), sadece β_1 ve β_2 reseptörlerini uyarır (Şentürk 2008).



Şekil 7: İzoproterenol ile adrenalinin kimyasal yapısı (Koca 2023).

1.10.2. İzoproterenolün Metabolizması ve İşlevsel Özellikleri

İzoproterenol, öncelikle karaciğerde ve diğer dokularda Katekol-O-Metiltransferaz tarafından metabolize edilir (Nambiar ve Chalappurath 2019). İzoproterenol, monoamin oksidaz için nispeten zayıf bir substrattır ve sempatik nöronlar tarafından epinefrin ve norepinefrin ile aynı ölçüde alınmaz. Bu nedenle İZP'nin etki süresi epinefrinden daha uzun olabilir (Anonim 2023a).

İZP, barsaklarda inaktifleştirildiğinden oral yolla kullanılmaz. İnsan preparatı olarak inhalasyon ve damar içi yolla kullanılmaktadır (Güven 2016). Ayrıca, ratlarda (Tanwar ve ark. 2010), buzağılarda (Vatner ve ark. 1986) ve ineklerde (Inderwies ve ark. 2002), intravenöz, intraperitoneal, intrakoronar ve subkutan yollarla kullanılmıştır. İnsan tüketimine sunulan gıdalarda kalıntı bildirimi yapılmayan İZP'nin yarılanma ömrü, 2,5 ile 5 dakika arasındadır (Szymanski ve Singh 2023). Uygulama sonrası başta karaciğer, akciğer ve diğer dokularda metabolize olan İZP, vücuttan idrar yoluyla sülfat konjugatı şeklinde atılmaktadır (Szefer ve Acara, 1979; Szymanski ve Singh; 2021).

İzoproterenol, insan uterus kaslarında gevşemeye neden olur (Bhalla ve ark. 1972). Bunun yanı sıra kalp kasılmasını güçlendirme, lokal veya generalize vasküler dilatasyon, karaciğerde glikogenolizis lipolizisi uyarıcı, bronkodilatasyonu ve oksijenizasyonu artırıcı özellikte bir bileşiktir (Siddiqui ve ark. 2016; Szymanski ve Singh 2021).

1.10.3. İzoproterenol Kullanımı

İzoproterenol, çeşitli çalışmalarda, özellikle laboratuvar hayvanları (rat, sıçan, fare, vb.) üzerinde kullanılmış ve fizyolojik etkileri incelenmiştir (Benjamin ve ark. 1989, Goyal ve ark. 2011, Khan ve ark. 2022).

Miyokardiyal infarktüs (MI), kardiyovasküler hastalıklar sonucu ortaya çıkan ölümlerin nedenlerinden biridir. Deney hayvanlarında yüksek doz İZP ile oluşturulan MI modelleri, insandaki MI'ya çok benzediği için en uygun yöntem olarak kabul görmüştür. Yüksek doz İZP kullanımı oksidatif stresten sorumlu reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı derecede artmasına neden olmaktadır. İzoproterenol ile

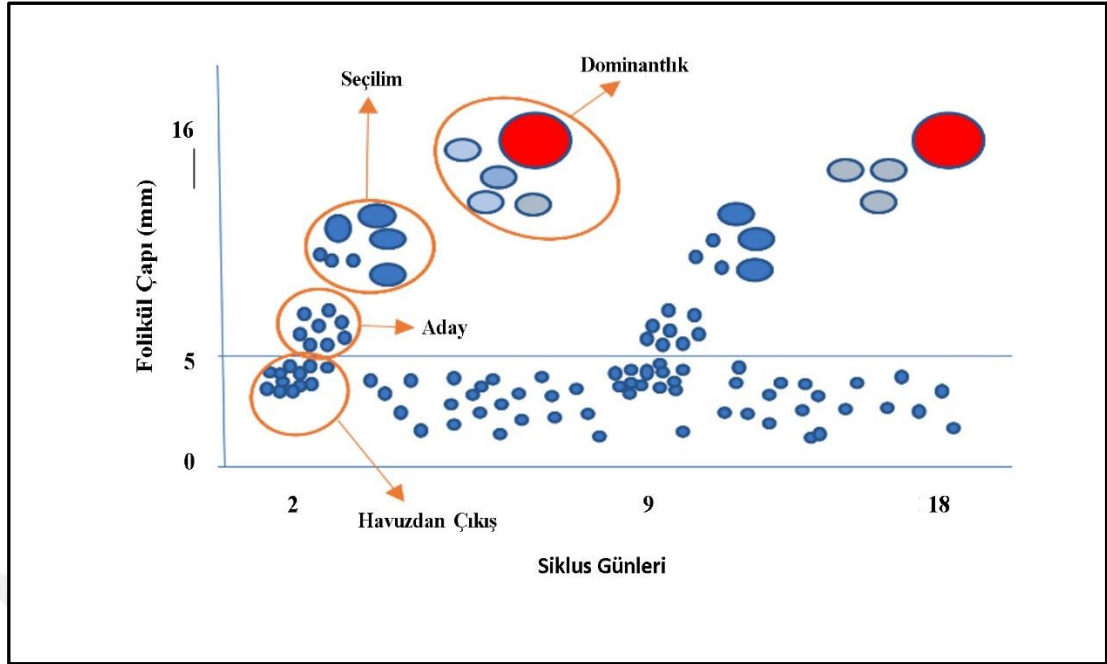
indüklenen ROS'un aşırı salınımı sonucu lipid peroksidasyon ve enfarktüs benzeri nekroz oluşumları kaydedilmiştir (Khan ve ark, 2022).

İzoproteranol ratlarda, 150 mg/kg (Khan ve ark, 2022), 100 mg/kg (Prince ve ark. 2008), 85 mg/kg (Suchal ve ark. 2016) gibi yüksek dozlarda deri altı kullanımının yanısıra 85 mg/kg (Murugesan ve ark. 2011), 20 mg/kg/dk (Ghorbanihaghjo ve ark. 2008) ve 10 mg/kg (Yuan ve ark. 2017) dozlarında intraperitoneal yolla kullanımı bildirilmiştir. Buna ek olarak İZP'nin, tedavi edici özelliğinin araştırılması yönünde de çalışmalar yapılmıştır (Steiner ve ark. 1975, Watanabe ve ark.2006).

1.11. İneklerde Foliküler Dinamik

Ovaryum üzerindeki foliküler gelişim fetal hayatta başlamakta ve yaşam boyu devam etmektedir. Dişi bir buzağı doğduğunda, ovaryumlarında ortalama 60 bin kadar oosit bulunmaktadır. Pubertasla birlikte bu oositlerden çok azı ovulasyona giderken, büyük bir kısmı da regresyona uğramaktadır (Pfeiffer ve ark. 2014).

Foliküler dalgalar, 8-10 günde bir şekillenen geçici folikül uyarıcı hormonun (FSH) salınımı ile ortaya çıkar. Foliküler dalgalar döl verimi üzerine doğrudan etki ettiği için ekonomik öneme sahiptir. İneklerde yirmi bir günlük bir seksüel siklus içinde 1 ile 4 arasında (sıklıkla 2 veya 3) foliküler dalga görülmektedir. Dalga sayısı 2 olan ineklerde ilk foliküler dalga seksüel siklusun 2 ile 4. günleri arasında başlarken, ikinci foliküler dalga 9 ile 14. günleri arasında şekillenmektedir. Üç foliküler dalga görülen ineklerde, bu dalgaların sırasıyla 2, 8-9, 15-16. günlerde şekillendiği bildirilmiştir (Knopf ve ark. 1989, Bodensteiner ve ark. 1996, Kalkan ve Öcal 2015). Her foliküler dalgada bir miktar folikül, primordiyal folikül havuzundan çıkmaktadır (Şekil 8). Bu foliküllerin bir kısmı atreziye olurken, sadece bir folikül deviasyon noktasını geçerek dominant hale dönüşmektedir. Progesteron konsantrasyonunun yeterince yükselmediği durumlarda iki veya daha fazla folikülün dominant hale geçtiği ve çoklu ovulasyonların meydana geldiği bildirilmiştir (Kalkan ve Öcal 2015, Garcia-Guerra ve ark. 2018).



Şekil 8: İki foliküler dalgalı bir inekte foliküler gelişim safhaları.

1.12. İnek Ovaryumlarında Antral Folikül Sayısı

Memeli ovaryumlarında antral folikül sayısı ile fertilité arasında pozitif bir korelasyon bildirilmiştir (Ireland ve ark. 2007, Mossa ve ark. 2012). İnek ovaryumlarda 3 mm'den büyük folikül sayısı arttıkça fertilitenin artacağı, buna karşın ovaryumlardaki toplam folikül sayısının 15'in altında olması durumunda fertilitenin belirgin şekilde azalacağı Mossa ve ark. (2012) tarafından ortaya konmuştur. Buna ek olarak Ireland ve ark. (2007), antral folikül sayısı fazla olan ineklerde, süperovulasyon yanıtının, elde edilen oosit sayı ve kalitesinin ve transfer edilebilir embriyo sayısının daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Yapılan çalışmalarla antral folikül sayısı fazla olan ineklerdeki AMH düzeyinin, antral folikül sayısı düşük olan ineklerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Özellikle 4 – 7 mm arasındaki antral foliküllerin sentezlediği AMH düzeyinin, süperovulasyon yanıtını (Aziz ve ark. 2017) ve CL sayısını tahmin etmede, bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Rico ve ark. 2009, Sevgi ve ark. 2019). Ancak sığırlarda aday folikül oluşum safhasından önceki (< 4 mm antral folikül çapı) AMH düzeyi ile gelişen folikül sayısı ve çapları arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalar sınırlıdır (Sakaguchi ve ark. 2019).

Foliküllerin primordiyal folikül havuzundan çıkış aşaması, öncelikli olarak intraovaryan faktörler tarafından düzenlenirken, seçim ve dominantlık aşamasında ise gonadotropinler başlıca rol oynamaktadır. Seçim sürecinde ekzojen FSH uygulamaları, >5 mm çapa sahip foliküller üzerine, diğer foliküllerin yaptığı baskılayıcı etkiyi ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca FSH uygulamasını takiben çok sayıda folikül, seçim aşamasını geçerek dominant hale gelmektedir. Günümüzde inekler üzerinde yapılan süperovulasyon denemeleri de bu yaklaşım üzerine kurulmuştur (Mihm ve ark. 2002).

1.13. Foliküler Dinamikte Hormonların Rolü

Foliküllerin primordiyal folikül havuzundan çıkışı ile dominant folikül haline dönüşümü arasında başlıca etkili hormonlar ve faktörler; östradiol (E2), progesteron (P4), FSH, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (IGFBP 1,2,3,4,5) ve AMH'dır. Bir foliküler dalga başlangıcında artan ve birkaç gün içinde düşen kan FSH konsantrasyonu ve bunu takiben artan östrojen, IGF ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (IGFBPs), foliküllerin seçimini (Fortune ve ark. 2004; Ning ve ark. 2008), subordinat foliküllerin oluşumunu ve sonrasında dominantlık sürecini belirlerler (Mihm ve ark. 2002, Gordon 2003). İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler ailesinden olan IGFBP3 hem kan serumunda hem de foliküler sıvıda tespit edilebilirken, diğer türevleri (IGFBP1,2,4,5) folikül sıvısında yoğun olarak bulunurlar. Folikül gelişiminde baskılayıcı rol oynayan IGFBP'ler, primordiyal ve primer foliküller içinde artan östradiol ve IGF konsantrasyonu ile ters ilişkilidir. Özetle folikül gelişim sürecinin başlangıcında FSH etkisi altında artan östradiol ve IGF (özellikle IGF-1), havuzdan çıkan aday folikülleri IGFBP'ye karşı korumaktadır (Fortune ve ark. 2004).

Seksüel siklusun 2. gününden itibaren dominant folikül ile diğerleri arasındaki her 1 mm'lik çap farkı, 3–4 kat daha fazla plazma östradiol konsantrasyonunu ifade etmektedir (Fortune ve ark. 2004). Buna karşın, düşük plazma progesteron konsantrasyonunda, plazma östradiol konsantrasyonu daha da artmaktadır (Nasser ve ark. 2011). Artan plazma östradiol seviyesi, gelişen foliküllerin gonadotropin duyarlılığını artırırken, FSH'nın geçici sekresyonunu baskılamakta, yeni bir foliküler dalganın başlamasını engellemektedir. Ovaryumlarda antral folikül sayısı az olan ineklerde plazma FSH seviyesi yüksek bulunmuştur (Sakaguchi ve ark. 2019). Seksüel

siklusun 3. gününden başlayarak dominant folikül, subordinat ve aday foliküllere göre daha yüksek konsantrasyonda östradiol sentezler. Siklusun 5. gününden sonra, CL varlığında ovulasyona gidemeyecek olan dominant foliküldeki östradiol konsantrasyonu düşme eğilimine girer. Bu düşüşe yanıt olarak, bir sonraki foliküler dalga için gerekli geçici FSH sentezi başlar (Carrière ve ark. 2009).

Antimüllerian hormon (AMH), transforming büyüme faktör- β ailesinin bir üyesidir. İnsan ve ineklerde ovaryum folikül rezervini gösteren bir biyobelirteç olan AMH, ovaryumdaki antral folikül sayısı ile doğrudan ilişkilidir (Sakaguchi ve ark. 2019, Sevgi ve ark. 2019). Siklus boyunca oldukça sabit konsantrasyonda kalan ve antral foliküllerin granüloza hücrelerinden sentezlenen AMH (LaMarca ve Volpe 2006, Rico ve ark. 2009), preantral ve antral foliküllerin FSH'ya olan duyarlılığını azaltır ve östradiol üretimini baskılar (Durlinger ve ark. 2001). Bu mekanizma ile ineklerde primordiyal folikül aktivasyonunu baskılar ve dominant folikül gelişimini destekler.

İneklerdeki foliküler dinamik üzerine yapılan klinik çalışmalarda, foliküler seçim sürecini etkilemek amacıyla gebe kısarak serum gonadotropini (PMSG) veya FSH kullanılmıştır. Özellikle östrus senkronizasyonu (Souza ve ark. 2009, Olivera-Nunez ve ark. 2017), postpartum anöstrus ve ovaryum disfonksiyonunun tedavisi (Roche ve ark. 1992), CL progesteron sentez kabiliyetinin artırılması (Rigoglio ve ark. 2013, Olivera-Nunez ve ark. 2017), foliküler gelişimin güçlendirilmesi ve embriyo transferi çalışmalarında süperovulasyonun sağlanması (Armstrong ve ark. 1993) için PMSG ve FSH uzun zamandır kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda çoğunlukla, gonadotropinlere duyarlılığın yüksek olduğu seçim ve dominantlık aşamaları hedef alınırken, primordiyal foliküllerin havuzdan çıkış sürecine müdahaleyi konu alan ve *in-vivo* şartlarda gerçekleştirilen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

1.14. İntraovarian Faktörler

Transforming growth factor- β (TGF β) ailesinin bir üyesi olan AMH, granüloza hücrelerinden sentezlenir. Literatürde antral folikül sayısını (AFS) gösteren bir biyobelirteç olarak kabul edilir. Bu yönüyle fertilitéyle pozitif ilişkisi olduğu ifade edilir. Anti müllerian hormon, preantral ve genç antral foliküllerden daha çok

sentezlenmekte olup folikül çapının büyümesiyle bu oran azalır (Cardoso ve ark. 2018).

Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) heparine bağlanır. Granüloza hücrelerinden sentezlenerek teka hücrelerinin çoğalmasını sağlar. Ayrıca endotel hücre çoğalmasına uyarıcı etki yapması anjiyojenik özelliği olduğunu gösterir. Ancak ovaryum anjiyogenezi üzerine etkisi belirsizdir (Obese 2003).

Yapısal olarak Transforming growth factor- α üyelerine benzeyen epidermal büyüme faktörleri (EGF), granüloza hücrelerinde tespit edilmiştir. İneklerde teka ve granüloza hücrelerinin çoğalmasını indüklerken, gonadotropinler tarafından indüklenen hücre farklılaşmasını inhibe ederler. Ayrıca, büyük folikül popülasyonunda atrezinin oluşmasını sağlarlar (Obese 2003).

Vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF), bir diğer EGF çeşididir. Kılcal damar ağı gelişimi ile ilgili rolü bulunur. Foliküllerde lokal dolaşım yolağını bozarak atreziye aracılık eder (Obese 2003).

Sunulan tez çalışmasında, folikül seçim günlerinde intrauterin yolla uygulanan ve vazodilatör etkili bir ilaç olan İZP'nin etkisi sonucu, ovaryuma daha fazla kan akımı sağlanarak intraovaryan faktörlerin etkinliğinin artırılacağı ve bu sayede foliküler havuzdan daha fazla folikülün çıkmasını sağlayarak folikül gelişim ve seçiliminin üst seviyelere taşınması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. İşletme ve İneklerin Seçimi

Bu tez çalışması, Erzurum şehir merkezine 40 km mesafede konumlanan (Ondalık derecede koordinat; 39,9020416, 40,8527486) ve 300 baş sığır varlığına sahip olan Nail Cinisli Tarım, Hayvancılık ve Gıda A.Ş. ye bağlı süt sığırcılığı işletmesinde (2021-2023) yürütülmüştür. Çalışma, postpartum 60. günde, iki kez doğum yapmış, doğum sırasında ve sonrasında herhangi bir jinekolojik problem (güç doğum, retensiyo sekundinarum, metritis ve endometritis, ovaryum kisti vb.) gözlenmemiş, erken laktasyondaki (doğum sonrası ilk 60 gün) süt verimi ortalaması 35 kg ve üzerinde süt verimi olan, 2,50 – 2,75 vücut kondisyon skoruna (VKS) sahip 2. laktasyondaki 36 adet Holştayn ırkı inek üzerinde gerçekleştirilmiştir.

İneklerin seçimi sırasında 15 günlük aralıklarla ve düzenli jinekolojik muayenelerle birlikte VKS takipleri yapılmıştır. Çalışma boyunca tüm inekler, yüksek süt verimlerine uygun standart rasyon ile beslenmiştir. Günlük toplam karma rasyon (TMR) %15 kuru yonca otu, %30 mısır silajı, %2 saman, %4 yonca silajı %49 konsantre yemden oluşmuş olup rasyonun günlük metabolik enerjisi 2450 kcal/kg olarak hesaplanmıştır.

Çalışmadaki inekler, mevsimsel farklılıklardan etkilenmemesi için aynı sezon içerisinde değerlendirmeye alınmış olup, tüm değerlendirmeler bölgesel iklim şartları da gözetilerek optimum reproduktif performansın sağlanabileceği Mart - Eylül ayları arasında gerçekleştirilmiştir.

Sunulan tez çalışması Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 12.04.2021 tarih ve 91 numaralı kararı doğrultusunda alınan etik kurul iznine bağlı olarak gerçekleştirilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Ön Çalışma Verileri

İZP'nin ineklerde uterus içi doz ayarlamalarını ve ovaryumlardaki folikül gelişimini güçlendirici etkilerini belirlemeye yönelik ön çalışmalar, Atatürk Üniversitesi Hayvan

Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile (Onay numarası: 2020/158) bir adet inek üzerinde 3 (üç) farklı dozda ve her bir doz (2, 4, 8 mg) arasında bir hafta olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.2.1.1 Uygun İZP dozunun belirlenmesine yönelik çalışma sonuçları

İZP, genelde laboratuvar hayvanlarında enfarktüs modelleri oluşturmak için kullanılmıştır (Ansari ve ark, 2019, Ahmed ve ark. 2020). İneklerde ise süt verimine (Inderwies ve ark. 2002) ve meme dokusu (Bruckmaier ve Blum 1992) üzerine klinik etkileri *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. *In vitro* şartlarda ise lipolizis üzerine etkileri incelenmiştir (van der Drift ve ark. 2013). Bu çalışmalarda İZP'nin deri altı, intaperitoneal ve intravenöz kullanımına yer verilmiş olup, uterus içi kullanımına rastlanmamıştır. Ayrıca İZP kullanımı ile inek ovaryumlarında foliküler gelişim üzerine yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Hem uygun dozu belirlemek hem de ovaryumlarda kan akımı ve foliküler gelişim üzerine olası etkilerini saptamak amacıyla ön çalışmaya ihtiyaç duyulmuştur. Yapılan ön çalışmada, öncelikle İZP'nin intrauterin uygulamada uygun dozunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Ön çalışmada kullanılan inek sayısının sınırlı olması ve spekülatif bir iddiaya neden olmaması için istatistik değer verilmemiş, sadece ham verilerin ortalamaları paylaşılmıştır.

Daha önce bildirilen çalışmalar dikkate alınarak, ön çalışmada yüksek doz olarak 0,2 mg/ml (40 ml distile su içerisinde toplam 8 mg), orta düzey doz olarak 0,1 mg/ml (40 ml distile su içerisinde toplam 4 mg) ve düşük doz olarak 0,05 mg/ml (40 ml distile su içerisinde toplam 2 mg) dozları değerlendirilmiştir. Uygulama sonrası genel durum bozukluğu gözlenmemesi ya da hafif değişikliklerin izlenmesine karşın, *a. ovarica* ve *a. uterina media*'daki kan akımında belirgin değişikliklerin gözlemlendiği doz, çalışmada kullanılacak “uygun doz” olarak kabul edilmiştir.

Genel durum, kalp atım sayısı, solunum sayısı, rektal ısı, hareketlilik, huy değişimi gibi klinik bulgular üzerinden değerlendirilirken, lokal kan akımındaki değişimler, *a. ovarica* ve *a. uterina media*'dan alınan Doppler USG sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Doza ve zamana bağlı değişimler, genel verilerle tablo 1'de ve ayrıntılı sonuçlarla tablo 2, tablo 3 ve tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 1: İzoproterenol uygulama dozuna göre genel durum ve klinik muayene bilgileri

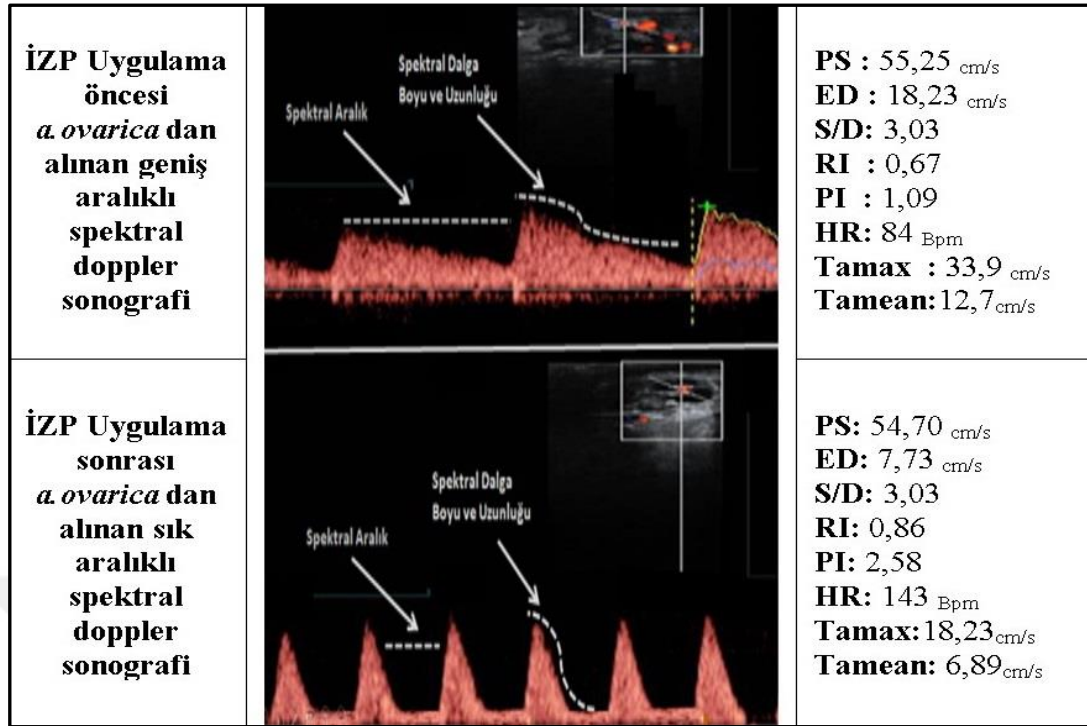
İZP Doz (mg)	Davranış	Kalp Atım Sayısı (0-30dk)	Solunum Sayısı (0-30dk)	Rektal Isı (0-30dk) (°C)
8	Ankisyete, Laterji	85-210/dk	62-80	38-38,1
4	Normal	80-176/dk	60-72	38.3-38,4
2	Normal	78-112/dk	60-68	38,5-38,6

İZP: izoproterenol

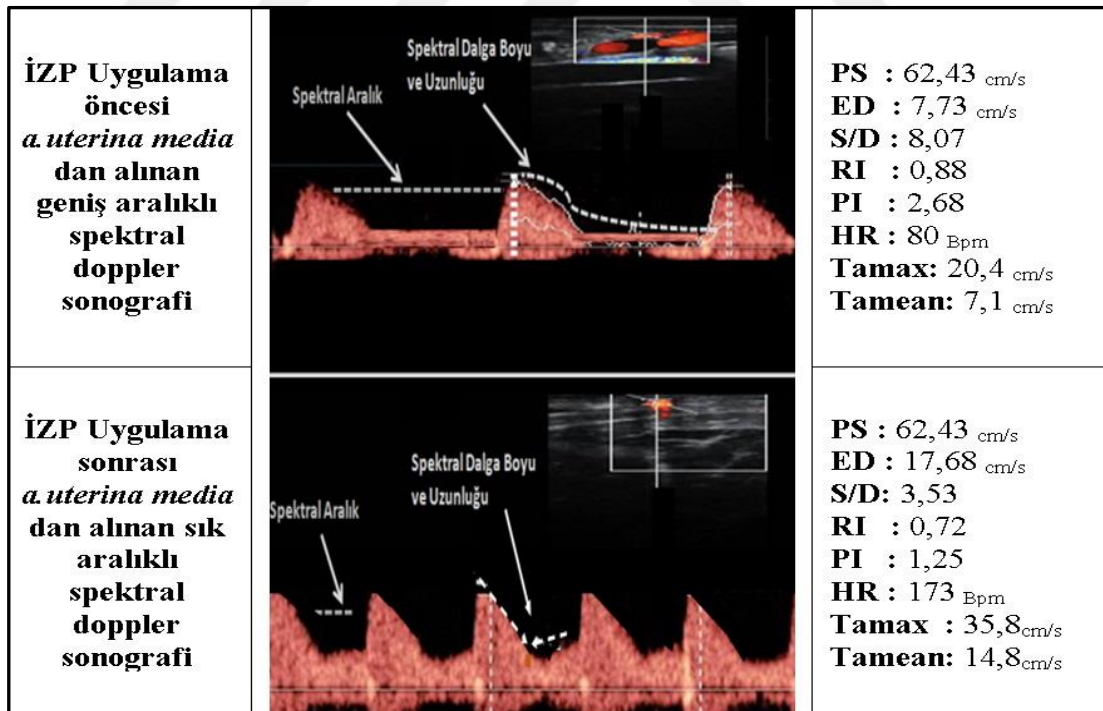
Uterus içi İZP uygulamasından 30 dk sonra yapılan değerlendirmede; 0,2 mg/ml (toplam 8 mg) dozun oluşturduğu şiddetli taşikardi, solunum sayısında ve vücut ısısında meydana değişiklikler Tablo 2’de gösterilmiştir. Ayrıca uygulama dozunun lokal kan akımında belirgin değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 9, 10). Tüm klinik olumsuz belirtiler uygulamadan 60 dakika sonra tamamen kaybolmuştur.

Tablo 2: İntrauterin 0,2 mg/ml İZP (8 mg/40 ml) uygulama öncesi ve sonrası genel durum ve klinik muayene bilgileri

Uygulama Öncesi	Uygulama	Uygulama	Uygulama	Uygulama
Klinik	Sonrası Geçen	Sonrası Kalp	Sonrası	Sonrası vücut
Parametreler	Süre (Dakika)	Atım Sayısı	solunum sayısı	ısı (°C)
Kalp Atım Sayısı: 85/dk Solunum Sayısı: 62/dk Vücut Isısı: 38,0°C	5	110/dk	62/dk	38,0
	10	114/dk	64/dk	38,2
	15	130/dk	68/dk	38,1
	25	180/dk	78/dk	38,3
	30	210/dk	80/dk	38,1
	35	190/dk	74/dk	37,9
	45	160/dk	70/dk	38,0
	50	110/dk	70/dk	38,0
	60	88/dk	64/dk	38,1



Şekil 9: 0,2 mg/ml (8 mg/40 ml) İZP dozunun *a. ovarica*'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.

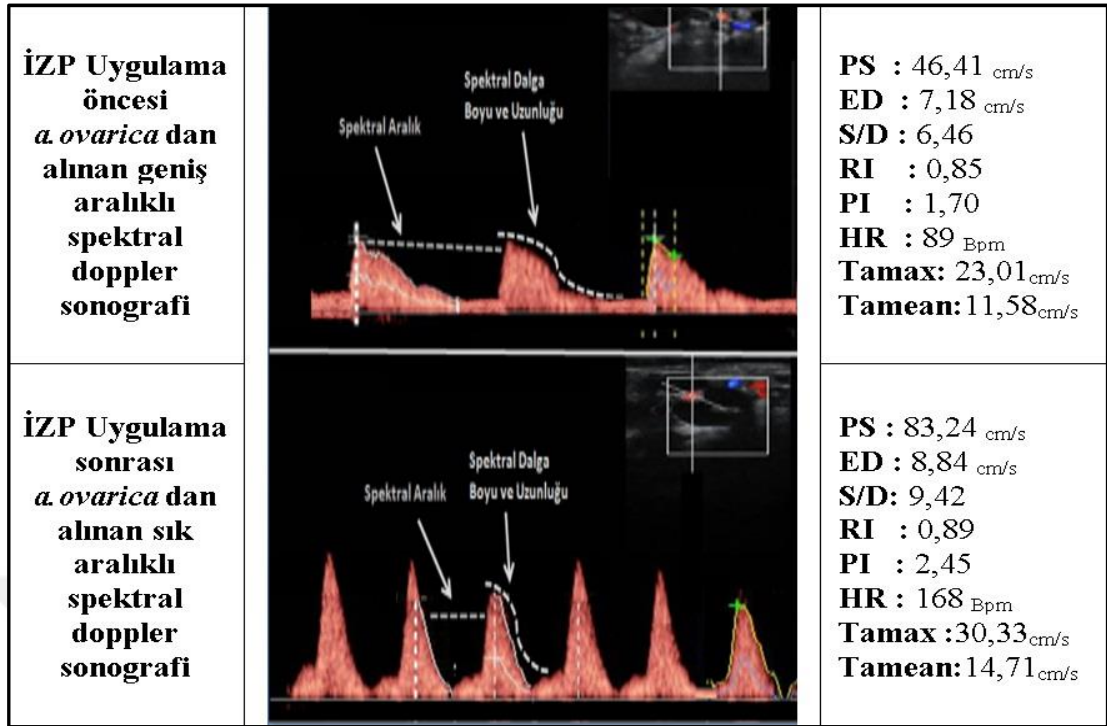


Şekil 10: 0,2 mg/ml (8 mg/40 ml) İZP dozunun *a. uterina media*'nın spektral görüntüsünde oluşan değişiklikler.

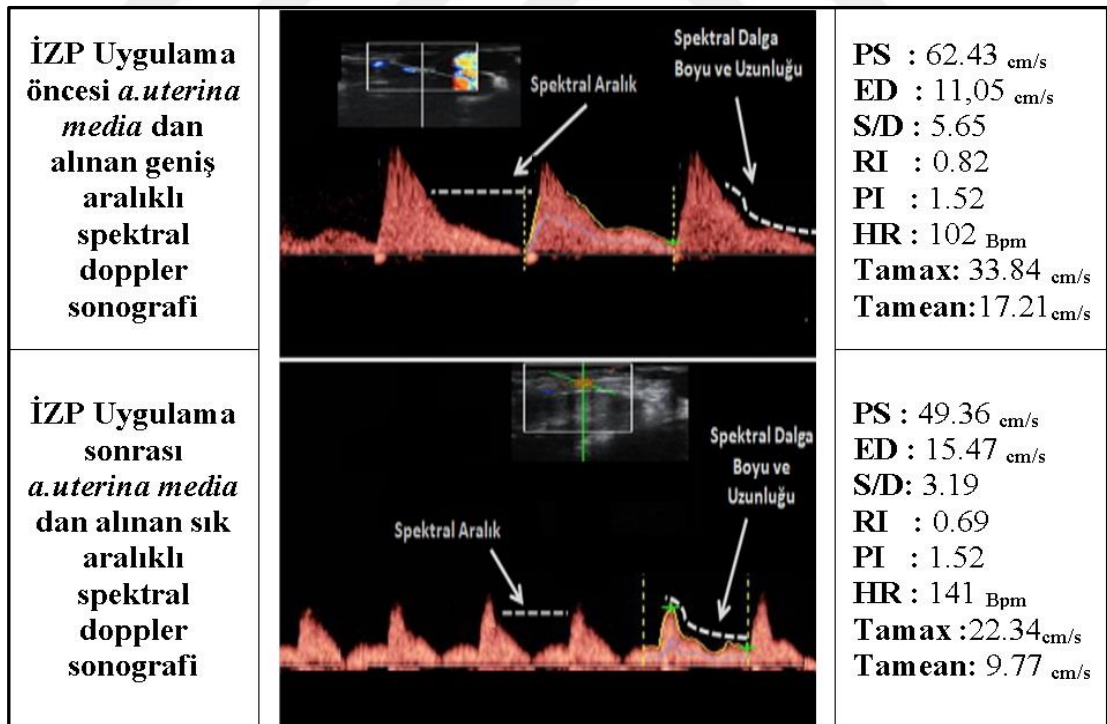
0,1 mg/ml (toplam 4 mg) dozun geçici taşikardi dışında, solunum sayısında, vücut ısısında ve davranışlarda herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Tablo 3). Buna karşın, lokal kan akımında ölçülebilir kan akımı değişikliklerine neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 11, 12). Taşikardik durum uygulama sonrası beşinci dakikada ortaya çıkmış ve uygulama sonrası 60 dakikada ortadan kalkmıştır.

Tablo 3: İntrauterin 0,1 mg/ml İZP (4 mg/40 ml) uygulama öncesi ve sonrası genel durum ve klinik muayene bilgileri

Uygulama Öncesi Klinik Parametreler	Uygulama Sonrası Geçen Süre (Dakika)	Uygulama Sonrası Kalp Atım Sayısı	Uygulama Sonrası solunum sayısı	Uygulama Sonrası vücut ısı (°C)
Kalp Atım Sayısı: 85/dk Solunum Sayısı: 62/dk Vücut Isısı: 38,0°C	5	108/dk	60/dk	38,1
	10	120/dk	62/dk	38,1
	15	128/dk	64/dk	38,1
	25	164/dk	70/dk	38,2
	30	176/dk	72/dk	38,2
	35	152/dk	72/dk	38,2
	45	128/dk	70/dk	38,1
	50	116/dk	68/dk	38,1
	60	92/dk	64/dk	38,1



Şekil 11: 0,1 mg/ml (4 mg/40 ml) İZP dozunun *a. ovarica*'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.

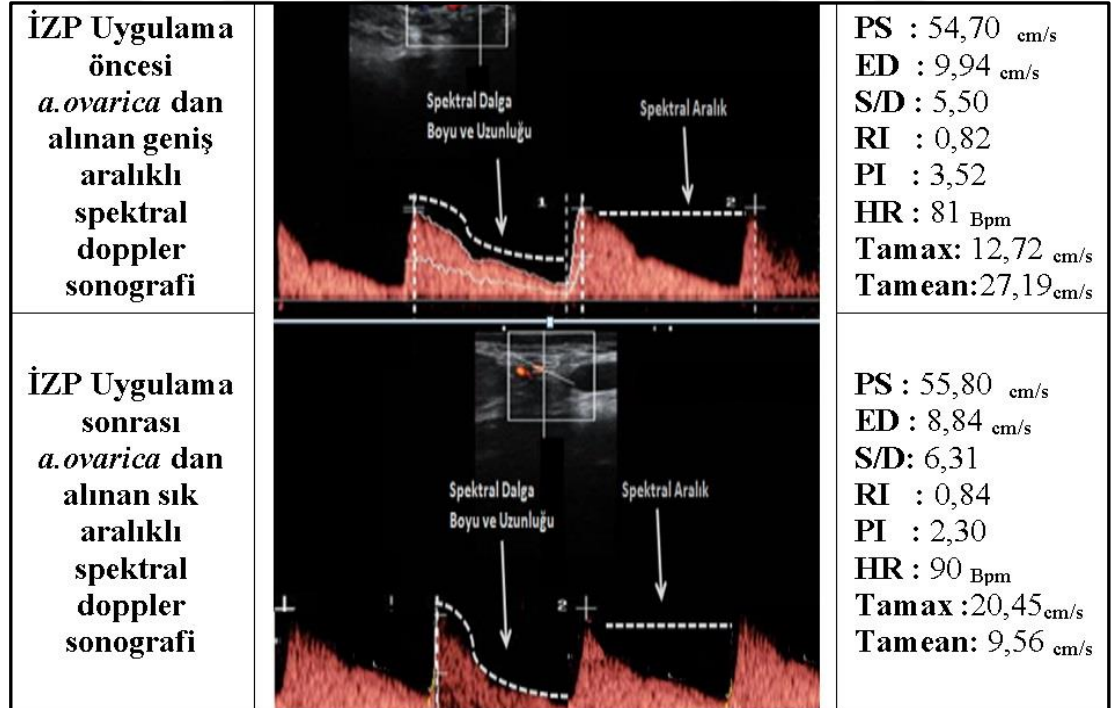


Şekil 12: 0,1 mg/ml (4 mg/40 ml) İZP dozunun *a. uterina media*'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.

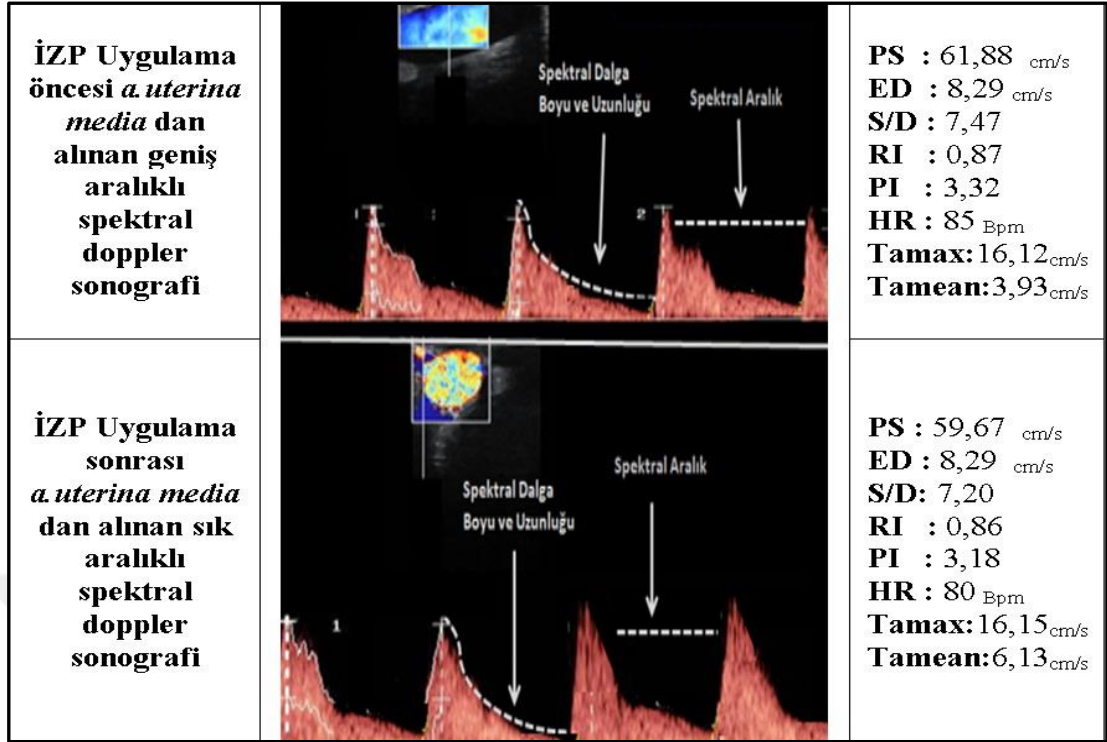
0,05 mg/ml (toplam 2 mg) dozun kalp atım sayısında, solunum sayısında, vücut ısısında (Tablo 4), lokal kan akımında ölçülebilir kan akımı değişikliklerine neden olmadığı görülmüştür (Şekil 13, 14).

Tablo 4: İntrauterin 0,05 mg/ml İZP (2 mg/40 ml) uygulama öncesi ve sonrası genel durum ve klinik muayene bilgileri

Uygulama Öncesi	Uygulama	Uygulama	Uygulama	Uygulama
Klinik	Sonrası Geçen	Sonrası Kalp	Sonrası	Sonrası vücut
Parametreler	Süre (Dakika)	Atım Sayısı	solunum sayısı	ısısı (°C)
Kalp Atım Sayısı: 85/dk Solunum Sayısı: 62/dk Vücut Isısı: 38,0°C	5	80/dk	60/dk	38,0
	10	84/dk	64/dk	38,0
	15	88/dk	64/dk	38,0
	25	96/dk	64/dk	38,1
	30	112/dk	68/dk	38,1
	35	108/dk	68/dk	38,1
	45	100/dk	64/dk	38,1
	50	96/dk	60/dk	38,0
	60	84/dk	60/dk	38,0



Şekil 13: 0,05 mg/ml (2 mg/40 ml) İZP dozunun *a. ovarica*'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler. *a. ovarica*'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.



Şekil 14: 0,05 mg/ml (2 mg/40 ml) İZP dozunun *a. uterina media*'nın spektral görüntüsünde oluşturduğu değişiklikler.

Ön çalışma verilerine göre, proje çalışmasında uterus içine uygulanacak uygun dozun toplam 4 mg olabileceği (0,1 mg/ml x 40 ml) belirlenmiştir. Ayrıca, Doppler USG ve gerçek zamanlı B-mod USG değerlendirmeleri, Hasvet Medikal Yazılım Sağlık Hizmetleri San. ve Tic. A.Ş. tarafından geçici tahsis edilen renkli Doppler ultrason cihazı (Z60®, Mindray, China) ile gerçekleştirilmiştir.

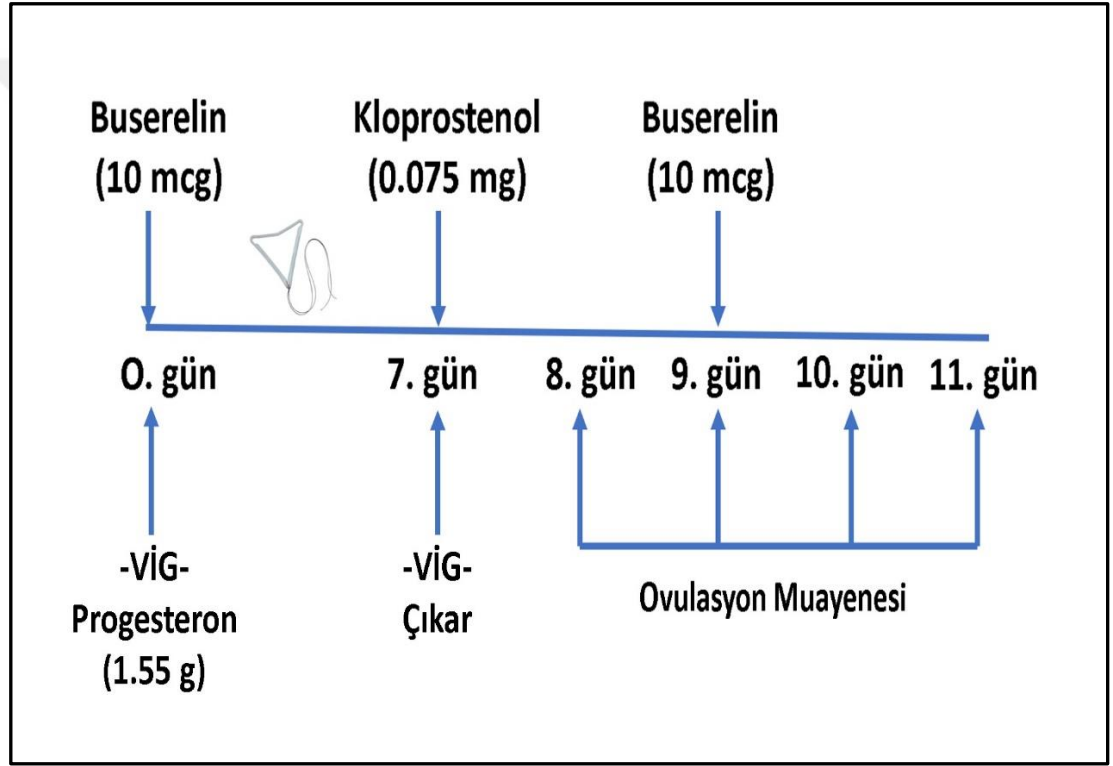
2.2.2. Çalışma Öncesi İneklerde Ovulasyonun Senkronizasyonu ve Takibi

Uterus içi uygulamalara başlanmadan önce tüm inekler, progesteron ile kombine edilmiş, standart 7 gün süreli ovulasyonun senkronizasyonu (Ov-Synch) programına alınmıştır. Uterus içi uygulanan İZP'ye karşılık ovaryum yanıtında oluşabilecek olası bireysel farklılıkları göz ardı etmemek için, ardışık olarak iki kez Ov-Synch (Ov-Synch-1 ve Ov-Synch-2) protokolü uygulanmıştır.

Ov-Synch-1 uygulaması sonrası herhangi bir uterus içi uygulama yapılmazken, Ov-Synch-2 sonrası uterus içi uygulamalar ve ölçümler gerçekleştirilmiştir. Her iki Ov-Synch uygulamasında da vajina içi progesteron salan gereç (VİG) aseptik şartlar sağlanarak vajina içine yerleştirilerek 10 mcg kas içi buserelin asetat (Receptal®,

MSD, Almanya) enjeksiyonu yapılmıştır. Yedi gün sonra VİG çıkartılmış ve 0,075 mg kloprostenol sodyum (Estropur®, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) kas içi yolla uygulanmıştır (Walsh ve ark. 2007; Arı ve ark. 2016; Randi ve ark. 2018).

Ovulasyonun tespiti için, VİG'in çıkartılmasını izleyen 24. saatten başlayarak 96. saate kadar günde iki kez (09.00 – 21.00) olmak üzere, 5 – 7,5 MHz linear prob (Z60®, Mindray, China) kullanılarak transrektal ultrasonografik muayene yapılmıştır (Derar ve ark. 2018). İlk 48 saat içinde ovulasyon gözlenmeyen ineklere 10 mcg kas içi buserelin enjeksiyonu yapılmıştır (Şekil 15). Ovulasyonun saptandığı gün, uygulama başlangıcını ifade eden 0. gün (G0) olarak kabul edilmiştir.

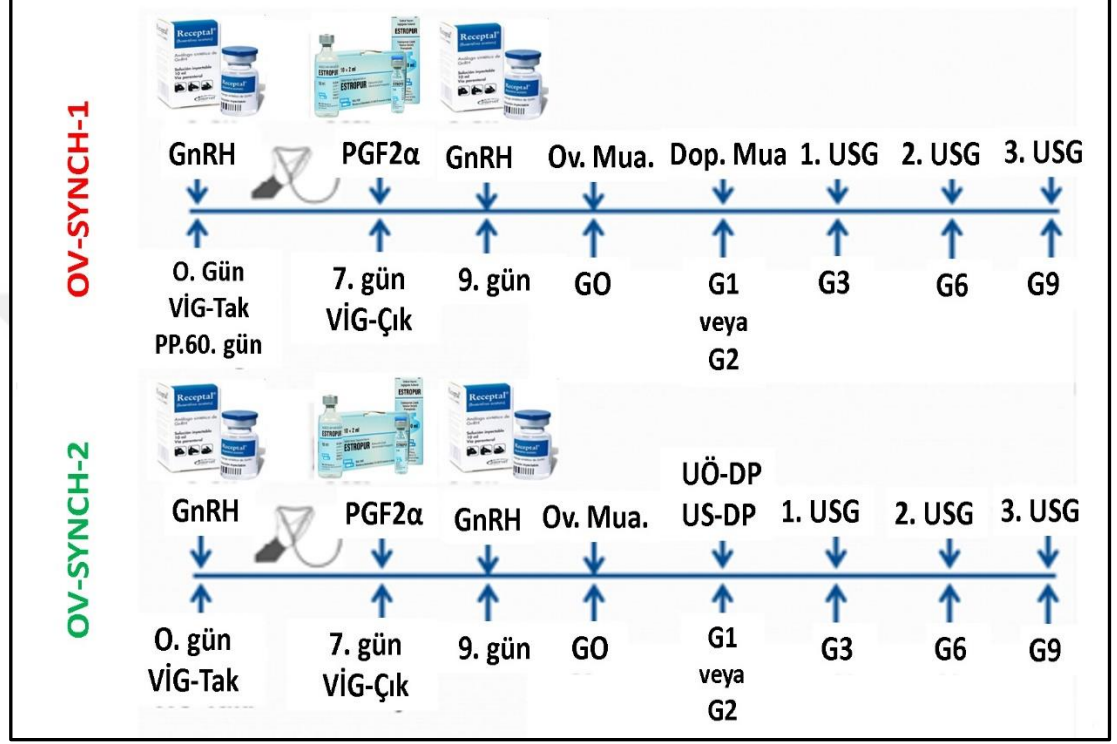


Şekil 15: Ov-Synch protokolü ve ovulasyon muayene günleri, VİG: vajina içi progesteron salan gereç.

2.2.3. Grupların Oluşturulması

Çalışmaya alınan inekler, her bir grupta 9 adet olacak şekilde ve uterus içi uygulanan ajana ve uygulama gününe göre dört gruba (İZP-I, KONT-I, İZP-II, KONT-II) rastgele ayrılmıştır. İZP-I ve İZP-II grubuna sırasıyla ovulasyon sonrası 1 ve 2. günlerde 40 ml steril distile su içerisinde izoproterenol (0.1 mg/ml) intrauterin uygulanırken, KONT-I ve KONT-II gruplarındaki ineklere sırasıyla ovulasyon sonrası 1 ve 2. Günlerde 40

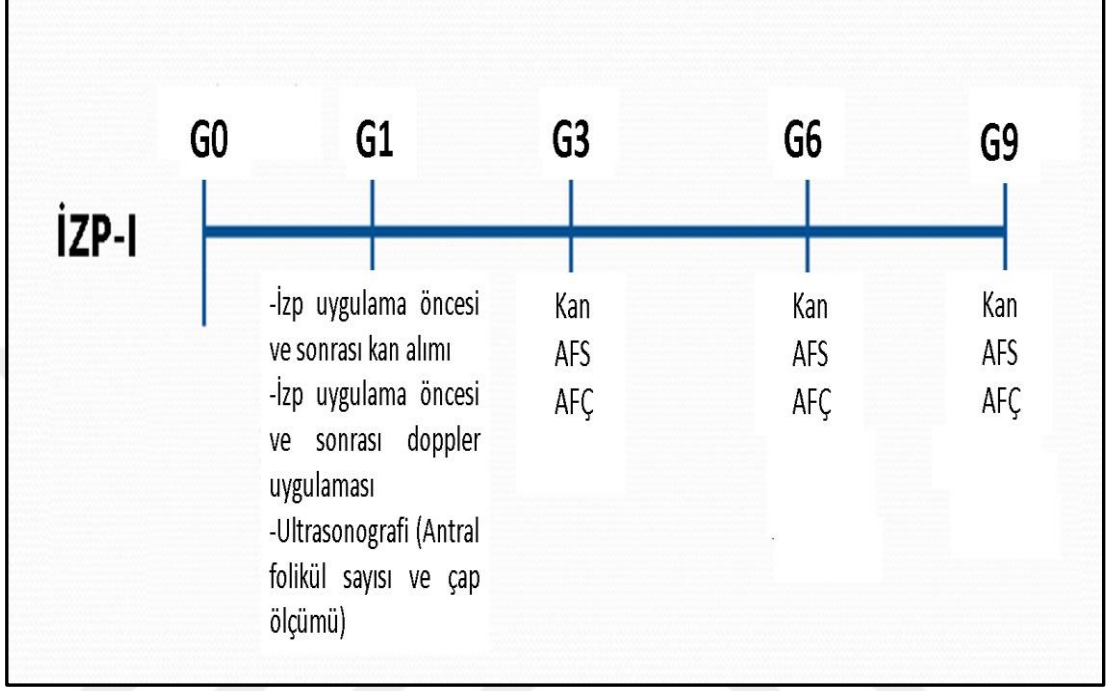
ml steril distile su intrauterin uygulanmıştır. Çalışma sonunda yapılan serum analizinde BHBA değeri yüksek olan KONT-II grubundan bir adet ineğin istatistik verileri değerlendirmeye alınmamıştır. Gruplarda yapılan tüm uygulamalar Şekil 16'da özetlenmiştir.



Şekil 16: Gruplara yapılacak ardışık Ov-Synch protokolü ve tüm uygulamalar, ViG Tak: Vajina içi progesteron salan gerecin takılması, ViG Çık: Vajina içi progesteron salan gerecin çıkartılması, PP: Postpartum, Ov. Mua.: Ovulasyon Muayenesi, Dop. Mua.: Doppler ultrasonografi muayenesi, UÖ-DP – US-DP: İzoproterenol ya da distile su uygulama öncesi Doppler muayenesi– İzoproterenol ya da distile su uygulama sonrası Doppler muayenesi, GO: Ovulasyon günü, G1: Ovulasyon sonrası 1. gün, G2: Ovulasyon sonrası 2. gün, G3: Ovulasyon sonrası 3. Gün, G6: Ovulasyon sonrası 6. gün, G9: Ovulasyon sonrası 9. Gün, USG: Ultrasonografi.

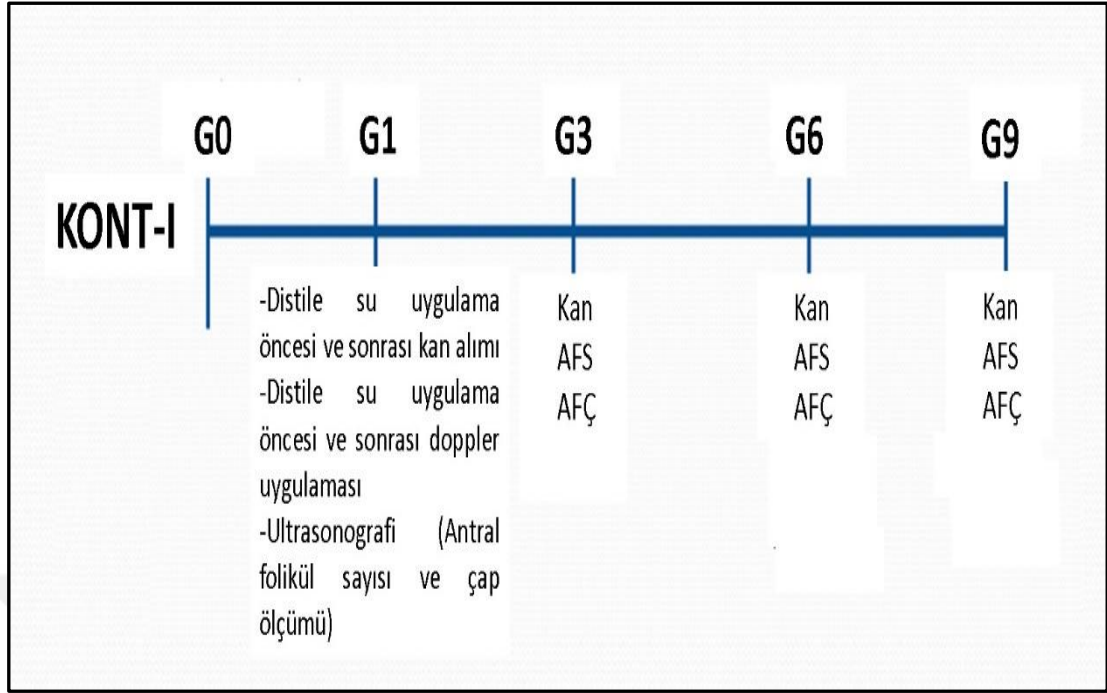
İZP-I grubundaki ineklere, Ov-Synch-2 sonrası gerçekleşen ovulasyonu takiben 1. günde (G1) toplam 4 mg İZP içeren 40 ml steril distile su (0,1 mg/ml İzoproterenol) her iki kornuya eşit hacimde olacak şekilde ve aseptik şartlar sağlanarak uygulanmıştır. Yarılanma ömrü kısa olsa da hem uterus içi uygulamada emilimin yavaş olmasından dolayı hem de ön çalışma verileri dikkate alınarak, ovaryum ve uterus arterlerindeki kan akımını ölçmek için uygulamadan yarım saat önce ve uygulamadan yarım saat sonra olmak üzere aynı saat dilimi içinde iki kez Doppler

USG yapılmıştır. Her görüntüleme öncesi kan örnekleri alınmıştır. Takip eden günlerde de (G3, G6, G9) kan örnekleri alınmış ve ovaryumda foliküler gelişimi gözlemlemek için saat 17.00'de olmak üzere günde 1 kez B-mod USG yapılmıştır (Şekil 17).



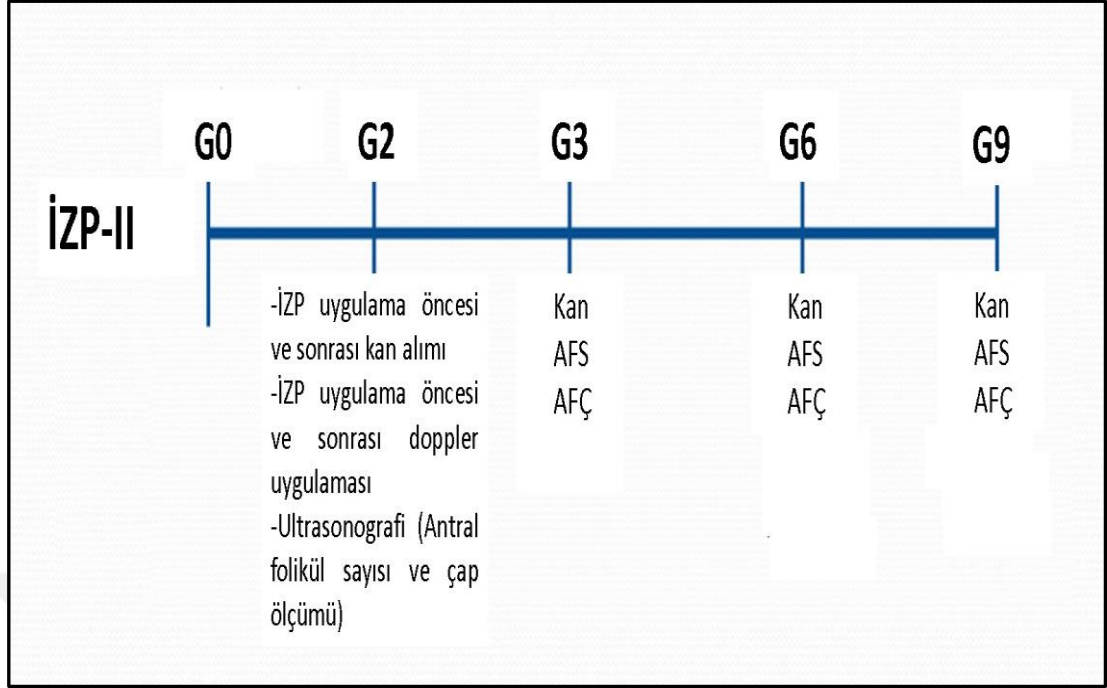
Şekil 17: İZP-I grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar, G0: Ovulasyon günü, G1: Ovulasyon sonrası 1. gün, G3: Ovulasyon sonrası 3. Gün, G6: Ovulasyon sonrası 6. gün, G9: Ovulasyon sonrası 9. Gün, İZP: İzoproterenol, USG: Ultrasonografi, AFS: Antral folikül sayısı, AFÇ: Antral folikül çapı.

KONT-I grubundaki ineklere, Ov-Synch-2 sonrası gerçekleşen ovulasyonu takiben 1. günde (G1) İZP içermeyen toplam 40 ml steril distile su, her iki kornuya eşit hacimde olacak şekilde ve aseptik şartlar sağlanarak uterus içine uygulanmıştır. Ovaryum ve uterus arterlerindeki kan akımını ölçmek için uygulamadan yarım saat önce ve uygulamadan yarım saat sonra olmak üzere aynı saat dilimi içinde iki kez Doppler USG yapılmış olup her görüntüleme öncesi kan örnekleri alınmıştır. Takip eden günlerde de (G3, G6, G9) kan örnekleri alınmış ve ovaryumda foliküler gelişimi gözlemlemek için saat 17.00'de olmak üzere günde 1 kez B-mod USG yapılmıştır (Şekil 18).



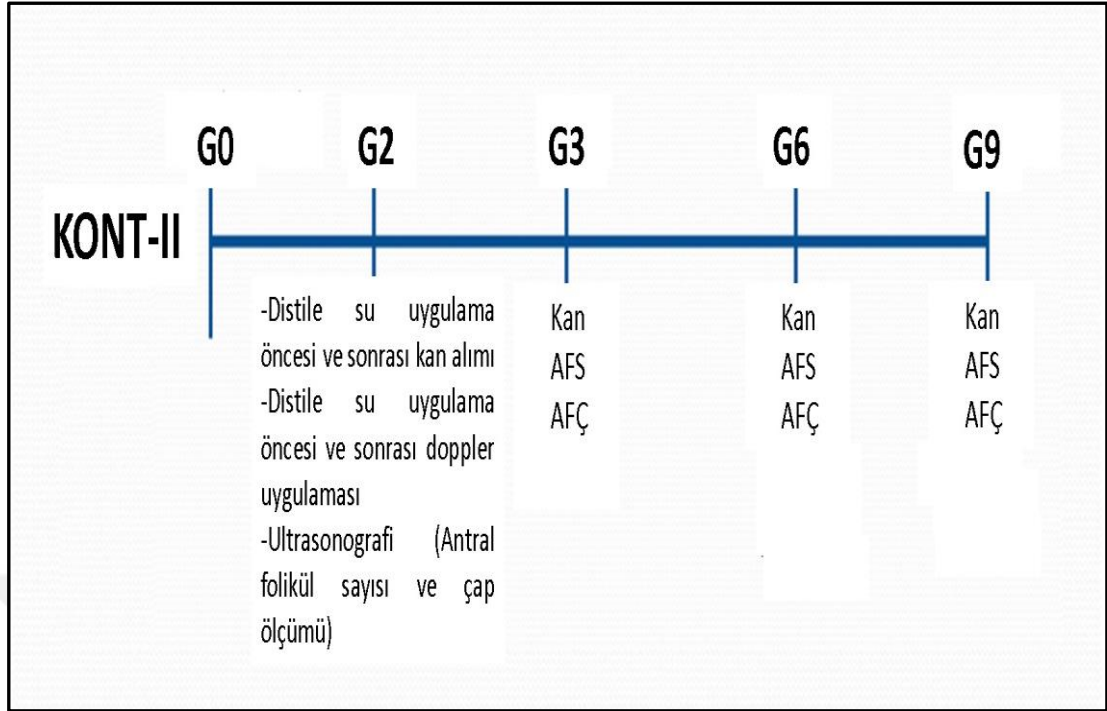
Şekil 18: KONT-I grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar, G0: Ovulasyon günü, G1: Ovulasyon sonrası 1. gün, G3: Ovulasyon sonrası 3. Gün, G6: Ovulasyon sonrası 6. gün, G9: Ovulasyon sonrası 9. Gün, İZP: İzoproterenol, USG: Ultrasonografi, AFS: Antral folikül sayısı, AFÇ: Antral folikül çapı.

İZP-II grubundaki ineklere Ov-Synch-2 sonrası gerçekleşen ovulasyonu takiben 2. günde (G2) toplam 4 mg İzoproterenol içeren 40 ml steril distile su (0,1 mg/ml İZP) her iki kornuya eşit hacimde olacak şekilde ve aseptik şartlar sağlanarak verilmiştir. Ovaryum ve uterus arterlerindeki kan akımını ölçmek için uygulamadan yarım saat önce ve uygulamadan yarım saat sonra olmak üzere aynı saat dilimi içinde iki kez Doppler USG yapılarak ve her görüntüleme öncesi kan örnekleri alınmıştır. Takip eden günlerde de (G3, G6, G9) kan örnekleri alınmış ve ovaryumda foliküler gelişimi gözlemlemek için saat 17.00'de olmak üzere günde 1 kez B-mod USG yapılmıştır (Şekil 19).



Şekil 19: İZP-II grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar, G0: Ovulasyon günü, G2: Ovulasyon sonrası 2. gün, G3: Ovulasyon sonrası 3. Gün, G6: Ovulasyon sonrası 6. gün, G9: Ovulasyon sonrası 9. Gün, İZP: İzoproterenol, USG: Ultrasonografi, AFS: Antral folikül sayısı, AFÇ: Antral folikül çapı.

KONT-II grubundaki ineklere, Ov-Synch-2 sonrası gerçekleşen ovulasyonu takiben 2. günde (G2) İZP içermeyen toplam 40 ml steril distile su, her iki kornuya eşit hacimde olacak şekilde ve aseptik şartlar sağlanarak verilmiştir. Ovaryum ve uterus arterlerindeki kan akımını ölçmek için uygulamadan yarım saat önce ve uygulamadan yarım saat sonra olmak üzere aynı saat dilimi içinde iki kez Doppler USG yapılmış olup her görüntüleme öncesi kan örnekleri alınmıştır. Takip eden günlerde de (G3, G6, G9) kan örnekleri alınmış ve ovaryumda foliküler gelişimi gözlemlemek için saat 17.00'de olmak üzere günde 1 kez B-mod USG yapılmıştır (Şekil 20).



Şekil 20: KONT-II grubu ineklerde senkronizasyon sonrası uygulamalar, G0: Ovulasyon günü, G2: Ovulasyon sonrası 2. gün, G3: Ovulasyon sonrası 3. Gün, G6: Ovulasyon sonrası 6. gün, G9: Ovulasyon sonrası 9. Gün, İZP: İzoproterenol, USG: Ultrasonografi, AFS: Antral folikül sayısı, AFÇ: Antral folikül çapı.

2.2.4. Arteria Ovarica ve Arteria Uterina Media'da Kan Akımının İncelenmesi

Ovaryum ve uterusda kan akımının incelenmesinde Doppler USG yöntemi kullanılmıştır. Ov-Synch-1 ve Ov-Synch-2 sonrası ovulasyon gününün (G0) tespitini takiben, gruplara göre birinci (G1) (İZP-I, KONT-I) veya ikinci günde (G2) (İZP-II, KONT-II) Doppler USG ile ovaryum ve uterus arterlerinde kan akımı incelenmiştir (Şekil 21). Arter ve bağırsak hareketliliği göz önüne alınarak İZP veya distile su uygulama öncesinde, aseptik şartlar oluşturularak son sakral omur ile ilk kuyruk omuru arasına (üst epidural) % 2 lidokain içeren lokal anestezi madde 3 ml uygulanmıştır. Bu uygulamanın neden olacağı değişimler göz ardı edilmemiş olup, olası bireysel değişikliklerin en aza indirilmesi için tüm ineklerde aynı uygulama yapılmıştır.

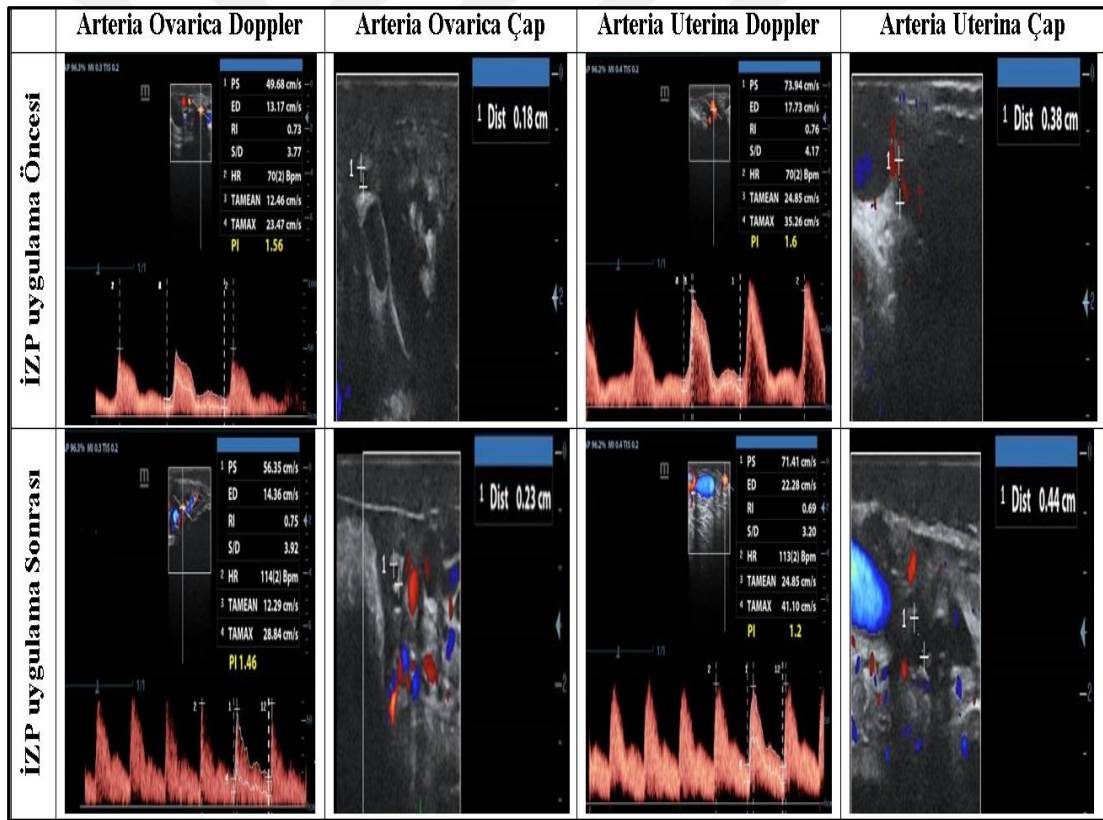
Doppler ölçümleri, renkli Doppler USG (Z60®, Mindray, China) kullanılarak 7.5 MHz frekansta lineer bir prob ile aynı operatör tarafından en az 15-20 dakika süreyle her bir inek için gerçekleştirilmiştir. Tüm gözlemler, ineklerin stresten en uzak

olduğu saatlerde (17.00 – 18.00) ve ineklerin muayene için en uygun şekilde konumlandırıldığı bir travayda yapıldı. Doppler indeksleri ölçümleri için Puls dalga Doppler USG kullanıldı. Ölçümlerde farklılık oluşmaması için uygulama öncesinde insonasyon açısı ($\leq 60^\circ$) ve renk ayarı (colour gain) (~ 42) ayarlanarak tüm ölçümler standart hale getirildi. Doppler sinyallerini hareketli dokulardan ve damar çeperi hareketlerinden korumak için yüksek geçiş filtresi 100 Hz olacak şekilde ayarlandı. Puls Tekrarlama Frekansı 3.6 kHz olarak belirlendi. Arterler, renk haritalanmasıyla belirlendiğinde örneklem aralığı damarın merkezine konumlandırılarak puls dalga Doppler aracı başlatılmıştır.

Doppler ultrasonografi incelemesinde, *a. ovarica* ve *a. uterina media* standart ölçüm yeri olarak kabul edilmiş, bahsedilen damarlar Bollwein ve ark. (2000) tarafından bildirilen yöntemine uygun olarak görüntülenmiştir. *A. ovarica* pedikül yapısının görüntülenmesinde en belirgin genişliğin olduğu damar hedef bölge olarak kabul edilmiştir. Buna göre, spektral modda renkli Doppler uygulaması transrektal yolla yapılmıştır. Probu yüzeyi pelvik kavitede dorsale bakacak şekilde konumlandırılmış ve transversal bir şekilde oryante edilerek *arteria aorta pelvica* bulunmuştur. Aort bulunduktan sonra probu kaudale doğru hareket ettirerek aortun dallanma seviyesinde ve iliumun gövdesinin lateralinde kaudovertral olarak seyreden *a. iliaca externa* belirlenmiştir. Daha sonra bu bölgeden kaudale ilerledikçe *a. iliaca interna* belirlenmiştir. *Arteria iliaca*'nın ventral duvarından orjin aldığı yere kadar olan bölümden 4 cm kaudalde *a. umbilicalis* ve *a. uterina media* bulunmuştur (Şekil 5). Prob ile arter arasındaki açı arterin yönüne göre ≤ 60 dereceye, damarın çapına bağlı olarak arterin 2/3'ü olacak şekilde spektral hız (SV) örneklem aralığı yapılmıştır (Oliveira ve ark. 2019). *Arteria ovarica* ise Diaz ve ark. (2019) tarafından bildirilen yöntemine göre incelenmiş olup, arterin bulunmasında önce pedikül saptanmış ve pedikül içindeki en belirgin arterden ölçüm gerçekleştirilmiştir. Ayrıca insonasyon açısı yine arterin yönüne göre ≤ 60 dereceye, SV örneklem aralığı ise 0,5 mm'ye sabitlenmiştir.

Muayenede hem uygulama öncesi hem de uygulama sonrası, Tepe Sistolik Hız (PSV), Diyastol Sonu Hız (EDV), Rezistans İndeks (RI), Pulsatil İndeks (PI), Kalp Atım Sayısı (HR), Sistol-Diyastol Oranı (SD), Zaman Ortalamalı Ortalama Hız (TAMEAN), Zaman Ortalamalı Maksimum Hız (TAMAX) ve Çap parametreleri

değerlendirilmiştir (Şekil 21, Tablo 5). Ayrıca, *a. ovarica* değerlendirmesinde her indeksin önüne “ovaryum” anlamına gelen “O” harfi (Ovaryum-Tepe Sistolik Hız (OPSV), Ovaryum-Diyastol Sonu Hız (OEDV), Ovaryum-Rezistans İndeks (ORI), Ovaryum-Pulsatil İndeks (OPI), Ovaryum-Kalp Atım Sayısı (OHR), Ovaryum-Sistol-Diyastol Oranı (OSD), Ovaryum-Zaman Ortalamalı Ortalama Hız (OTAMEAN), Ovaryum-Zaman Ortalamalı Maksimum Hız (OTAMAX), *a. ovarica* Çap (OÇAP)) getirilmiştir. Benzer şekilde *a. uterina media*’nın değerlendirilmesinde “uterin” anlamına gelen “U” harfi (Uterin-Tepe Sistolik Hız (UPSV), Uterin-Diyastol Sonu Hız (UEDV), Uterin-Rezistans İndeks (URI), Uterin-Pulsatil İndeks (UPI), Uterin-Kalp Atım Sayısı (UHR), Uterin-Sistol-Diyastol Oranı (USD), Uterin-Zaman Ortalamalı Ortalama Hız (UTAMEAN), Uterin-Zaman Ortalamalı Maksimum Hız (UTAMAX), *a. uterina media* Çap (UÇAP)) her bir indeksin önüne eklenmiştir.



Şekil 21: İZP uygulama öncesi ve sonrası alınan spektral görüntü ve arter çaplarındaki değişim.

Tablo 5: Doppler ultrasonografide ölçümü yapılan parametreler

PSV	Spektral görüntünün tepe noktasını cm/sn cinsinden ifade eder.
EDV	Spektral görüntünün dip noktasını cm/sn cinsinden ifade eder.
RI	(PSV-EDV) /PSV formülü ile elde edilir. Ölçüm bölgesinin kan akımına direncini ifade eder.
PI	(PSV-EDV) /TAMAX formülü ile elde edilir. Bir damardaki kan akımı değişkenliğini ifade eder.
HR	Ölçüm yapılan damarın atım sayısını bpm cinsinden ifade eder.
SD	Spektral görüntünün tepe ve dip noktasının oranını ifade eder.
TAMEAN	Birim zamanda ortalama kan akım hızını cm/sn cinsinden ifade eder.
TAMAX	Birim zamanda maksimum kan akım hızını cm/sn cinsinden ifade eder.

PSV: Tepe Sistolik Hız, EDV: Diyastol Sonu Hız, RI: Rezistans İndeks, PI: Pulsatil İndeks, HR: Kalp Atım Oranı, SD: Sistol-Diyastol Oranı, TAMEAN: Zaman Ortalamalı Ortalama Hız, TAMAX: Zaman Ortalamalı Maksimum Hız.

2.2.5. İzoproterenolün Hazırlanışı

İzoproterenol, ticari olarak ve toz halinde satışa sunulmaktadır (Sigma, 100 mg, Ürün no: I6504). Toz halinde bulunan İZP, hem ürün özelliklerinde yer alan çözücü özellik bilgisine hem de daha önce yapılmış çalışma verilerine göre (Valdivieso ve ark. 2018) distile su [Bünyesinde organik ve inorganik maddeler (Cl, SO₄, NH₃, Ca, ağır madenler, okside olucu maddeler) içermeyen, uçurulunca %0.001 - 0.003 g (10 PPM - 30 PPM) kısımdan fazla artık bırakmayacak özellikte] kullanılmıştır. Ön çalışma verilerine göre belirlenen uygun dozda (40 ml distile su (0,1 mg/ml İZP)) steril distile su içerisinde çözündürülerek uygulama yapılmıştır.

Çözdürme işlemine hassas terazi ayarı ile başlanılmıştır. Dara ağırlığı sıfırlandıktan sonra İZP'nin tartım işlemi yapılmıştır. Tartım sonrası daradaki İZP, 50 ml'lik falcon tüplere aktararak üzerine 40 ml steril distile su konulduktan sonra elde edilen solüsyon vortekslenmiştir. Bu yöntemle her bir uygulama için toplam 4 mg İZP içeren 40 ml'lik distile su solüsyonu elde etmek için yapılmıştır. Bu solüsyon uygulama gününde taze olarak hazırlanmış olup, uygulama zamanına kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Sunulan tez çalışmasında, doz ayarı aşamasında literatür dikkate alınarak (Gyongyosi ve ark. 2019) uygulama dozu (4 mg) oldukça düşük tutulmuştur. Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında ovaryuma taşınan kan miktarının artırılması amacıyla, lokal ve generalize etkileri önceki çalışmalarda değerlendirilmiş bir β 2-reseptör agonisti olan İZP'nin ovaryumlarda foliküler gelişimi uyarmak amacıyla intrauterin kullanımını bildiren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.2.6. Uterus İçi Uygulamalar

Tüm uterus içi uygulamalar perineal bölgenin asepsisi sağlandıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla vulva ve perineum temiz su ile, ardından da %5 polivinil-prolidon-iyot (%8, v/v) içeren yaklaşık 15 litre su ile yıkanmıştır. En az 1 dakika beklendikten sonra, bölge temiz kağıt havlu ile kurulanmış ve %70 etil alkol içeren solüsyon sprey şeklinde vulvaya püskürtülmüştür. Vulva üzerindeki alkolün kurumasının ardından, steril metal uterus kateteri (Kruuse®, Danimarka) trans-servikal yoldan uterus içine yerleştirilmiştir. Çalışma gruplarına göre değişmekle birlikte, steril distile suyla hazırlanan bileşik veya tek başına steril distile su, her bir kornuya eşit hacimde olacak şekilde uterus içine uygulanmıştır.

Tüm gruplarda Ov-Synch-2 sonrası gözlenen ovulasyonu takiben (G0), gruplara göre birinci (G1) (IZP-I, KONT-I) veya ikinci günde (G2) (IZP-II, KONT-II) uterus içi uygulamalar yapılmıştır.

İZP için herhangi bir gıda kalıntı uyarısı olmamasına rağmen, sağılan süt en az 3 gün boyunca imha edilmiştir.

2.2.7. Foliküler Gelişimin Değerlendirilmesi

Çalışmanın tüm gruplarında foliküler gelişim B mod gerçek zamanlı ultrason cihazı ve 5-7,5 mHz linear prob (Z60®, Mindray, China) kullanılarak değerlendirilmiştir. Ovaryumlardaki foliküler gelişim literatürde bildirilen yöntemlere göre (Burns ve ark., 2005; Cardoso ve ark., 2018) ve ikinci Ov-Synch programı sonrası ovulasyonu (G0) takip eden birinci (G1) veya ikinci (G2), üçüncü (G3), altıncı (G6) ve dokuzuncu (G9) günlerde ve aynı saat aralığında (17.00-18.00) yapılmıştır (Şekil 16) (G1: İZP-I ve KONT-I için, G2: İZP-II ve KONT-II için).

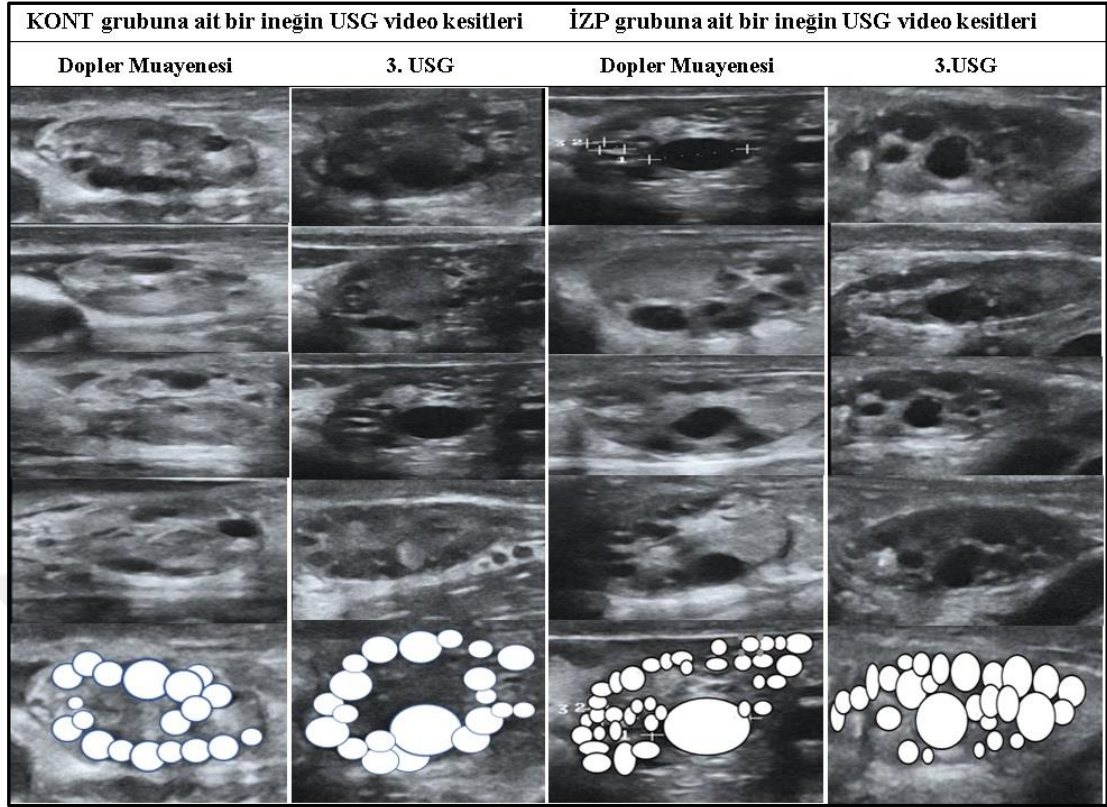
Ultrasonografik muayenelerde (Doppler USG ve gerçek zamanlı B-mod USG) alınan tüm görüntüler tek kişi tarafından video modunda kaydedilmiştir. Görüntü alırken, her bir ovaryum için uçtan uca (end to end) yöntemi kullanılmıştır. Ovaryumlar üzerinde 180 derecelik açı içinde her biri en az 5 er saniyelik olmak üzere en az üç adet görüntü alınmıştır (Burns ve ark., 2005; Cordoso ve ark., 2018; Sanderson ve ark., 2017).

Foliküler gelişimin değerlendirilmesinde Burns ve ark (2005) ve De Lima ve ark. (2020), tarafından belirlenen yöntem kullanılmıştır. Bir (1) mm ve üzerindeki foliküller, antral folikül olarak kabul edilmiş olup, bu foliküllerin sayısı ve çapları video görüntüleri üzerinden alınan birer saniyelik kesitlerde belirlenmiştir. Her bir ovaryuma ait sayım ve ölçüm işlemi en az 2 kez tekrarlanmıştır (Şekil 22).

Çalışmada foliküler gelişimin ilk aşaması olan “yavaş büyüme” aşamasını (Mihm ve Bleach 2003) temsilen erken antral folikül grubu “1 – 2,9 mm aralığı” olarak, yine gonadotropinlerden bağımsız gelişen ve aday folikül aşamasını temsilen küçük antral folikül grubu “3 – 4,9 mm aralığı” olarak (Rico ve ark. 2009), seçim aşamasını temsilen ve gonadotropinlere bağımlı gelişen orta çaplı antral folikül grubunu temsilen “5 – 6,9 mm aralığı” olarak (Rico ve ark. 2009), deviasyon noktasını geçmeye ve dominantlığa aday folikülleri temsilen büyük antral folikül grubunu temsilen “7 – 8,9 mm aralığı” olarak (Rico ve ark. 2009), ovulasyona gitmeye aday antral folikülleri temsilen preovulatör antral folikül grubu “ ≥ 9 mm” olarak (Garcia-Guerra ve ark. 2015) belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: Antral folikül gruplarının çap aralıkları

Erken Antral Foliküller	Küçük Antral Foliküller	Orta Çaplı Antral Foliküller	Büyük Antral Foliküller	Preovulatör Antral Foliküller
1-2,9 mm	3-4,9 mm	5-6,9 mm	7-8,9 mm	≥ 9 mm



şekilde Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi (Erzurum) Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Kan serumunda sandviç ELISA yöntemi uygulanmış olup, her bir parametre için spesifik üretilmiş ticari kitler kullanılmıştır. Sandviç ELISA yöntemi, Engvall ve Perlmann (1971) tarafından bildirilen genel yöntemle ilgili ve ticari kit protokollerindeki standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Ticari kit içerisinde, 6 adet standart solüsyon, 1 adet pozitif, 1 adet negatif kontrol, yıkama tamponu, stop solüsyonu, substrat solüsyonu ve ikincil antikor bulunmaktadır.

Doksan altı kuyucuğa sahip ve ölçümü yapılan parametreye ilişkin antikorla kaplanmış hazır haldeki pleytler içindeki altı adet kuyucuğa standart solüsyon, bir kuyucuğa pozitif ve bir kuyucuğa negatif kontrol kondu. Geri kalan 88 adet kuyucuğa ölçümü yapılacak kan serumları kondu. Pleytler, kaplanmış olan antijen ile numune, standart ve kontrollerdeki muhtemel antikorların bağlanması için, ticari kit protokolüne uygun sıcaklıkta inkübasyona bırakıldı. Ardından yıkama tamponuyla (3-5 kez) tüm kuyucuklar yıkanarak bağlanmayan kalıntılar ortamdan uzaklaştırıldı. Yıkanan kuyucuklara, enzim bağlı ikincil antikor eklendi ve ticari kit protokolünde belirtilen süre ve sıcaklıkta inkübasyona alındı. Inkübasyon sonrasında tekrar yıkama tamponuyla kuyucuklar yıkandı, substrat solüsyonu bütün kuyucuklara kondu ve karanlıkta bekletildi. Ardından kuyucuklara durdurma solüsyonu (stop solution) eklendi ve kullanılan işaretli enzime bağlı olarak ELISA okuyucu cihazında, 405 nm veya 450 nm dalga boylarında pleytler okundu. Sonuç olarak renk değişikliğine ait absorbans (optik dansite) ölçüldü.

2.2.10. İstatistiksel analiz

Grup içi ve gruplar arasında Ov-Synch uygulama sonrası ovaryum kan akımı, folikül sayısı ve serum E2, P4, FSH, IGF-1, IGFBP-3, AMH konsantrasyonlarını kıyaslamak, İZP'nin kan akımı üzerine etkilerini ölçmek, gruplar arasında İZP'nin kullanım zamanına bağlı (1 veya 2. gün) folikül sayısı ve kan akımı interaksiyonlarını karşılaştırmak üzere istatistiksel analiz yapıldı.

Her bir grupta bulunması gereken minimum hayvan sayısı, çalışmadaki en stabil parametrelerden biri olan AMH'a göre hesaplanmıştır. Hesaplama AMH için

standart sapma: 0,50; İZP uygulamasıyla AMH'daki ilerlemeyi + 0,60 puan yapmak için α (Tip 1 error) = 0,05 ve β error = 0,90 (Power) kabul edilip her bir grup için gereken inek sayısı “n = 9” olarak hesaplanmıştır [PS – Power and Sample Size Calculations Version 3.1.6 (Vanderbilt University, Nashville, TN)].

Veri analizinde ticari paket program (SAS, Statistical Analysis System, version 9.0, Cary, NC) kullanıldı. Veri tipine göre (kategorik veya sürekli) normalite ve linearitenin Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testlerinden sonra ap, Doppler USG ve serum verileri linear model kullanarak varyans analizine tabi tutuldu. Bu amaçla oluşturulan Mixed Model (PROC MIXED) ana etkiler olarak 4 deneme grubu ve parametresine göre 2 – 4 adet ölçüm zamanı içerdi. Ana etkilerin 2’li interaksiyonları da modele dahil edildi. İstatistiksel olarak anlamlı olmayan parameterlerin modelden geriye doğru hiyerarşik eliminasyonu yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar LSD (least significant differences) opsiyonu ile belirlendi. Verilerin ana etkilere verdiği yanıtlar ile istatistiksel olarak anlamlı bulunan parametreler ($p < 0.05$) sunuldu.

3. BULGULAR

Sunulan tez çalışması sonuçları, uygulama öncesi ve uygulama sonrası Doppler parametrelerine grup ve zamanın etkisi, grup, muayene zamanının folikül çapları ve folikül sayılarının yüzdelik dağılımına etkisi ve metabolik profil başlıkları altında aşağıda incelenmiştir.

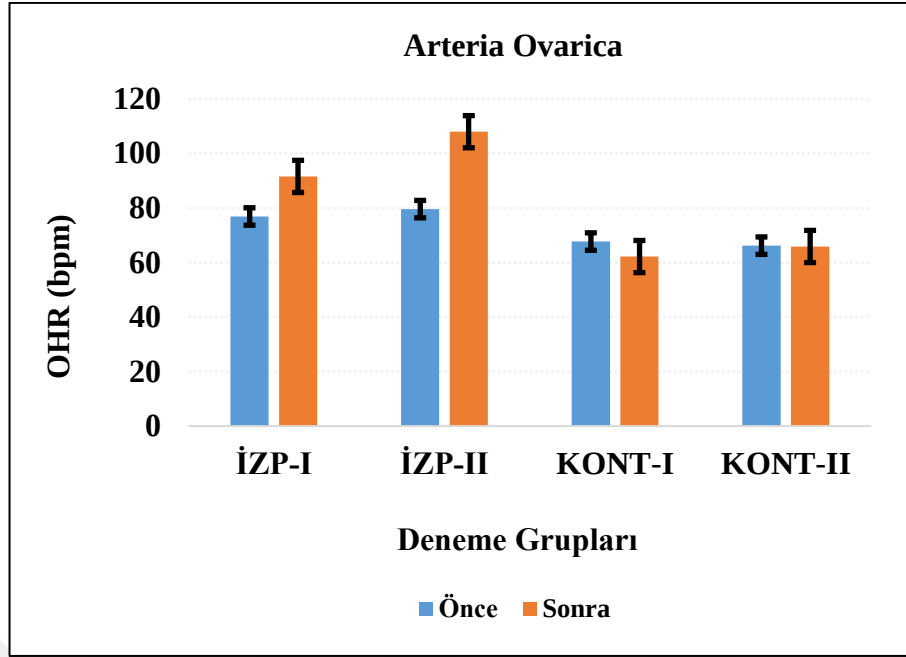
3.1. Uygulama Öncesi ve Uygulama Sonrası Doppler Parametrelerine Grup ve Zamanın Etkisi

Elde edilen sonuçlara göre Ovaryum- Tepe Sistolik Hız (OPS), gruplar arasında farklı olduğu ($p<0,01$), uygulama zamanlarında ise uygulama sonrası ortaya çıkan değer uygulama öncesine göre artış eğiliminde olduğu görüldü ($p>0,05$). Ancak OPS değerinde grup içinde zamana bağlı herhangi bir etkileşimin olmadığı belirlendi (Tablo 7).

Ovaryum- Diyastol Sonu Hız (OED) parametresi tablodaki genel bölümde sadece gruplar arasında farklı olduğu görüldü ($p<0,01$). KONT gruplarına kıyasla İZP gruplarında OED parametresi düşük bulunmuştur. Ancak OED değerinde grup içinde zamana bağlı herhangi bir etkileşim bulunamadı (Tablo 7).

Ovaryum arterindeki genel veriler incelendiğinde (Tablo 3) Ovaryum- Rezistans İndeks (ORI) parametresi gruplar arasında farklı olması ($p<0,05$) haricinde başka herhangi bir etkileşim görülmedi. Ek olarak, Tablo 7'ye bakıldığında Ovaryum- Pulsatil İndeks (OPI) ve Ovaryum-Sistol-Diyastol Oranı (OSD) parametreleri bakımından gruplar arasında ve uygulama zamanında herhangi bir farklılık oluşmazken, grup içinde zamana bağlı herhangi bir etkileşim meydana gelmemiştir.

Ovaryum- Kalp Atım Sayısı (OHR), İZP gruplarında KONT gruplarına kıyasla belirgin bir şekilde artmıştır. Beklendiği gibi İZP uygulanan gruplarda OHR, her iki KONT grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,0001$). Bunun yanı sıra uygulama öncesine nazaran uygulama sonrasında da OHR'de artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Grup ve zamanın etkileşimi incelendiğinde İZP-I ve İZP-II'de uygulama sonrası OHR artarken ($p<0,01$), KONT-I ve KONT-II'de ise benzer değerler ortaya çıkmıştır. Uygulama sonrası değerler incelendiğinde en çok artış İZP-II'de ortaya çıkmıştır (Şekil 23, Tablo 7).



Şekil 23: *A. ovarica*'dan elde edilen OHR parametresinde grup-zaman etkisi ($p<0,05$), bpm: beat per minute.

Tablo 7' deki verilere göre Ovaryum- Zaman Ortalamalı Ortalama Hız (OTAMEAN) parametresi, İZP gruplarında ortalama olarak KONT gruplarına göre düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak grup içinde zamana bağlı herhangi bir interaksiyon görülmemiştir.

Ovaryum- Zaman Ortalamalı Maksimum Hız (OTAMAX) değerinin gruplar arasında farklı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Ayrıca OTAMAX değeri uygulama öncesine nazaran uygulama sonrasında artış eğiliminde olduğu görüldü ($p>0,05$). Ancak grup içinde zamana bağlı bir etkileşim belirlenmedi (Tablo 7).

Arteria Ovarica- Çap (OÇAP) değerinde genel tabloda gruplar arasında benzerlik olduğu ve zamana göre incelendiğinde ise değerlerde artış meydana geldiği görüldü ($p<0,01$). Grup ve zaman etkileşimi incelendiğinde İZP gruplarında uygulama sonrası değerlerde artış eğilimi olduğu görüldü ($p>0,05$, Tablo 7).

Tablo 7: Grup ve zamanın Doppler ultrasonografi parametrelerine etkisi (*Arteria ovarica*)

GRUP	ZAMAN	OPS (cm/sn)	OED (cm/sn)	ORI	OPI	OSD	OHR (bpm)	OTAMEAN (cm/sn)	OTAMAX (cm/sn)	OÇAP (mm)
İZP-I		43,0±2,4 ^c	8,95±0,58 ^b	0,79±0,09 ^{ab}	1,82±0,13 ^a	5,21±0,42 ^{ab}	84,7±3,7 ^a	9,13±0,65 ^b	19,7±1,1 ^b	24,1±1,5 ^a
İZP-II		52,7±3,7 ^{ab}	8,95±0,55 ^b	0,82±0,04 ^a	2,32±0,41 ^a	6,32±0,37 ^a	94,0±6,6 ^a	11,4±0,9 ^a	23,6±1,6 ^a	24,3±1,1 ^a
KONT-I		56,6±2,8 ^a	11,3±0,7 ^a	0,79±0,04 ^{ab}	1,89±0,08 ^a	5,16±0,35 ^{ab}	64,9±2,0 ^b	12,6±0,8 ^a	24,3±1,3 ^a	23,4±0,4
KONT-II		46,7±2,5 ^{bc}	10,8±0,7 ^a	0,75±0,09 ^b	2,33±0,54 ^a	4,98±0,55 ^b	66,1±2,8 ^b	10,6±0,6 ^{ab}	21,4±1,0 ^{ab}	22,6±0,5 ^a
	Önce	47,1±1,8	9,59±0,46	0,78±0,07	2,08±0,26	5,32±0,29	72,7±1,9	10,5±0,5	21,2±0,8	22,4±0,6
	Sonra	52,7±2,5	10,4±0,5	0,80±0,07	2,10±0,22	5,55±0,32	82,5±4,6	11,5±0,6	23,5±1,0	24,8±0,7,
İZP-I	Önce	43,1±3,3	9,60±0,99	0,76±0,09	1,81±0,22	4,99±0,72	76,9±2,6	9,48±0,92	19,7±1,6	22,2±2,1
İZP-I	Sonra	43,0±3,7	8,38±0,64	0,82±0,08	1,83±0,16	5,42±0,51	91,6±5,7	8,78±0,95	19,6±1,6	25,9±2,1
İZP-II	Önce	45,6±2,9	7,53±0,35	0,83±0,02	1,93±0,12	6,31±0,31	79,6±3,6	9,92±1,07	20,4±1,7	21,5±1,0
İZP-II	Sonra	59,8±6,1	10,4±0,8	0,82±0,04	2,70±0,80	6,33±0,69	108±11	12,8±1,5	26,8±2,4	27,1±1,4
KONT-I	Önce	55,5±3,7	10,5±1,1	0,79±0,06	1,9±0,15	5,42±0,67	67,7±3,1	12,2±1,1	23,9±1,6	23,8±0,7
KONT-I	Sonra	57,7±4,5	12,0±0,9	0,79±0,03	1,88±0,06	4,91±0,25	62,2±2,4	13,0±1,3	24,6±2,1	23,0±0,6
KONT-II	Önce	43,3±2,5	10,9±0,8	0,74±0,07	2,73±1,08	4,44±0,45	66,2±3,5	10,1±0,9	20,6±1,5	22,1±1,0
KONT-II	Sonra	50,0±4,2	10,8±1,3	0,76±0,11	1,92±0,17	5,53±1,01,	65,9±4,5	11,2±0,9	22,3±1,3	23,1±0,5
ANOVA-----P<-----										
Grup		0,0067	0,0146	0,0289	0,6094	0,1173	0,0001	0,0238	0,0488	0,6005
Zaman		0,0505	0,2229	0,3265	0,9818	0,5455	0,0157	0,2018	0,0872	0,0133
Grup X Zaman		0,3090	0,1177	0,2893	0,4590	0,6136	0,0085	0,4507	0,2457	0,0790

OPS: Ovaryum-Tepe Sistolik Hız, OED: Ovaryum-Diyastol Sonu Hız, ORI: Ovaryum-Rezistans İndeks, OPI: Ovaryum-Pulsatil İndeks, OSD: Ovaryum-Sistol-Diyastol Oranı, OTAMEAN: Ovaryum-Zaman Ortalamalı Ortalama Hız, OTAMAX: Ovaryum-Zaman Ortalamalı Maksimum Hız, OHR: Kalp Atım Sayısı, OÇAP: *Arteria ovarica*- Çap, bpm: beat per .

Uterus arterindeki verileri içeren genel tabloda (Tablo 8) Uterin- Tepe Sistolik Hız (UPS) parametresi sadece gruplar arasında farklı olduğu belirlendi. İZP gruplarında bu parametre KONT gruplarına göre düşük olduğu görüldü ($p<0,01$). Ancak Tablo 8 incelendiğinde İZP gruplarında uygulama sonrası değerlerde numerik artışlar belirlendi.

Uterin- Diyastol Sonu Hız (UED) değeri, gruplara ve zamana göre benzer bulundu ($p>0,05$). Ancak İZP gruplarında uygulama sonrası değerlerde numerik artışlar gözlemlendi. KONT gruplarında herhangi bir değişim gözlenmedi (Tablo 8).

Uterin- Rezistans İndeks (URI) ve Uterin- Pulsatil İndeks (UPI) değerlerinde herhangi bir farklılık ve etkileşim görülmezken, İZP gruplarında UPI değeri uygulama sonrasında numerik olarak azaldığı görüldü ($p>0,05$, Tablo 8).

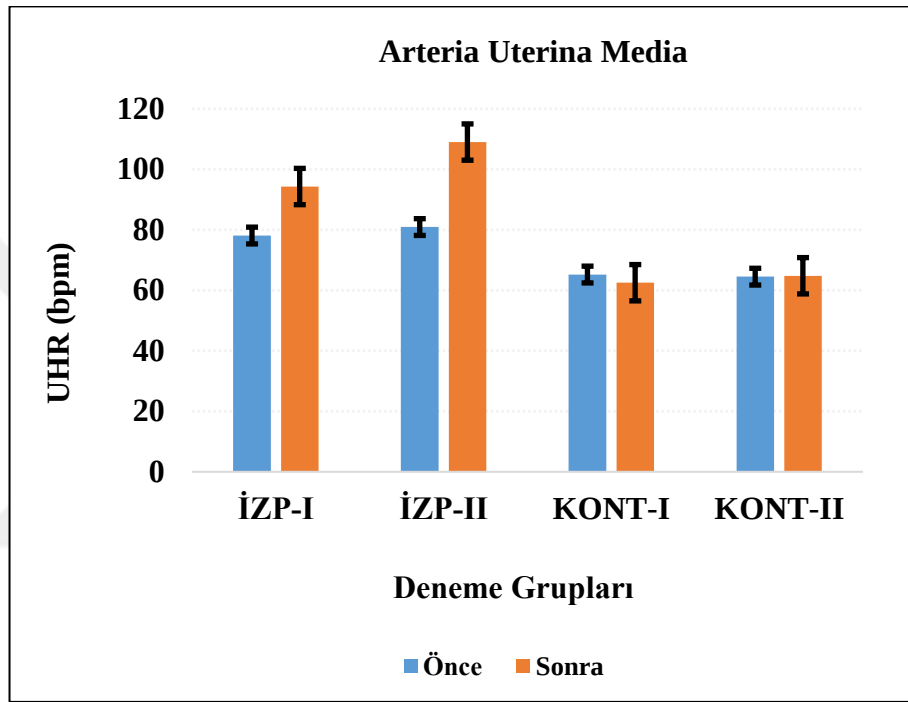
Uterin- Sistol-Diyastol Oranı (USD) parametresinde gruplar arasında ve uygulama zamanına göre herhangi bir fark ve etkileşim görülmedi ($p>0,05$, Tablo 8).

Uterin- Kalp Atım Sayısı (UHR) tabloda gruplar arasında farklı olduğu görüldü. İZP uygulanan gruplarda UHR parametresi KONT gruplarına kıyasla yüksek olduğu belirlendi ($p<0,0001$). Ayrıca uygulama sonrasında da öncesine nazaran UHR parametresi yüksek bulundu ($p<0,01$). Aynı zamanda grup zaman etkileşimi ortaya çıktı ($p<0,01$). Buna göre KONT gruplarında uygulama sonrasında anlamlı bir farklılık görülmezken, İZP gruplarında UHR değeri belirgin bir şekilde arttığı saptandı. İZP grupları arasında uygulama sonrası en yüksek değer İZP-II de ortaya çıktı (Şekil 24, Tablo 8).

Uterin- Zaman Ortalamalı Ortalama Hız (UTEMEAN) değeri bakımından gruplar arasında farklılık eğilimi gözlemlendi. Zamana göre herhangi bir farklılık belirlenmemesinin yanı sıra, grup içinde zamana bağlı olarak herhangi bir etkileşim bulunamadı. Ancak, İZP grubunun her ikisinde de uygulama sonrasında uygulama öncesine göre numerik artışlar gözlemlendi ($p>0,05$, Tablo 8).

Uterin- Zaman Ortalamalı Maksimum Hız (UTAMAX) değerinde genel tabloda herhangi bir farklılık ve etkileşim gözlenmedi. Ancak, UTAMEAN değerinde olduğu gibi İZP gruplarının her ikisinde de uygulama sonrasında uygulama öncesine göre numerik artışlar gözlemlendi ($p>0,05$, Tablo 8).

Genel tabloda grupların genel ortalamasında, *Arteria Uterina Media* Çap (UÇAP) değerinde fark meydana geldiği görüldü. Buna göre KONT gruplarının çapları, İZP gruplarına göre fazla olduğu ($p<0,0001$) ve zamana göre değerlendirildiğinde ise herhangi bir farklılık oluşmadığı belirlendi. Ancak uygulama sonrasında İZP-I, İZP-II ve KONT-I gruplarında numerik artış gözlenirken, KONT-II’de numerik bir azalma belirlendi ($p>0,05$, Tablo 8)



Şekil 24: *A. uterina media*’dan elde edilen UHR parametresinde grup-zaman etkisi ($p<0,05$), bpm: beat per minute.

Tablo 8: Grup ve zamanın Doppler ultrasonografi parametrelerine etkisi (*Arteria Uterina Media*)

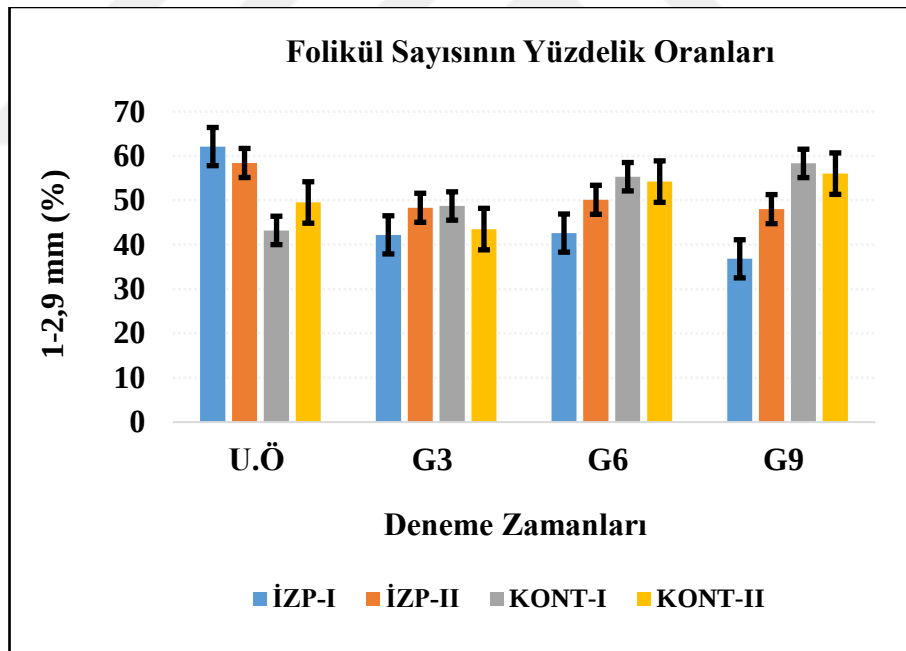
GRUP	ZAMAN	UPS (cm/sn)	UED (cm/sn)	URI	UPI	USD	UHR (bpm)	UTAMEAN (cm/sn)	UTAMAX (cm/sn)	UÇAP (mm)
İZP-I		59,5±3,7 ^c	11,2±1,1 ^a	0,81±0,02 ^a	1,94±0,13 ^a	6,04±0,51 ^a	86,2±3,7 ^a	12,6±1,4 ^b	26,6±1,89 ^b	39,7±2,4 ^b
İZP-II		70,8±4,5 ^b	10,9±0,9 ^a	0,84±0,01 ^a	2,02±0,10 ^a	7,43±0,62 ^a	94,9±6,6 ^a	16,0±1,5 ^{ab}	30,5±2,36 ^{ab}	40,8±1,7 ^b
KONT-I		84,4±3,2 ^a	13,9±1,2 ^a	0,83±0,01 ^a	2,28±0,09 ^a	6,88±0,55 ^a	63,8±1,8 ^b	17,1±0,8 ^a	31,9±1,18 ^a	50,6±2,1 ^a
KONT-II		78,8±4,3 ^{ab}	13,1±1,1 ^a	1,10±0,28 ^a	2,13±0,11 ^a	7,04±0,86 ^a	64,7±2,5 ^b	16,5±1,3 ^a	31,5±1,91 ^{ab}	50,8±1,8 ^a
	Önce	71,3±3,4	11,6±0,7	0,95±0,13	2,12±0,08	7,02±0,51	72,4±1,8	15,1±1,0	28,8±1,48	45,0±1,7
	Sonra	75,1±3,0	12,9±0,8	0,82±0,01	2,06±0,07	6,66±0,38	83,2±4,7	16,0±0,8	31,5±1,17	45,6±1,6
İZP-I	Önce	55,9±5,5	10,5±1,3	0,80±0,02	1,98±0,20	5,77±0,66	78,1±2,2	11,8±2,2	23,8±2,74	38,8±3,5
İZP-I	Sonra	63,0±4,9	12,0±1,9	0,81±0,03	1,90±0,18	6,31±0,80	94,3±6,0	13,4±1,6	29,7±2,24	40,6±3,3
İZP-II	Önce	66,7±5,5	9,38±1,32	0,86±0,02	2,14±0,13	8,21±1,01	80,9±3,6	14,8±2,1	27,6±3,32	39,9±2,2
İZP-II	Sonra	75,0±7,3	12,4±0,9	0,82±0,02	1,89±0,14	6,64±0,68	109±11	17,3±2,1	33,4±3,24	41,7±2,6
KONT-I	Önce	84,4±4,1	13,3±1,3	0,84±0,02	2,30±0,16	7,16±0,88	65,2±2,3	16,9±0,7	31,8±1,13	50,4±2,7
KONT-I	Sonra	84,3±5,2	14,5±2,1	0,83±0,02	2,25±0,09	6,60±0,71	62,5±2,8	17,2±1,4	32,0±2,15	50,8±3,5
KONT-II	Önce	79,2±8,1	13,6±1,6	1,36±0,56	2,04±0,16	6,91±1,47	64,5±3,0	17,1±2,3	32,7±3,65	51,6±2,8
KONT-II	Sonra	78,4±3,9	12,6±1,4	0,83±0,02	2,21±0,17	7,16±0,98	64,8±4,2	15,9±1,2	30,4±1,38	49,9±2,3
ANOVA-----P<-----										
Grup		0,0003	0,1500	0,3687	0,1529	0,4778	0,0001	0,0695	0,2062	0,0001
Zaman		0,3683	0,2783	0,2701	0,6222	0,6064	0,0068	0,5643	0,1985	0,7820
Grup X Zaman		0,7898	0,6401	0,4189	0,6080	0,6573	0,0158	0,7589	0,3194	0,9306

UPS: Uterin- Tepe Sistolik Hız, UED: Uterin- Diyastol Sonu Hız, URI: Uterin- Rezistans İndeks, UPI: Uterin- Pılsatil İndeks, USD: Uterin- Sistol-Diyastol Oranı, UTAMEAN: Uterin- Zaman Ortalamalı Ortalama Hız, UTAMAX: Zaman Ortalamalı Maksimum Hız, UHR: Uterin- Kalp Atım Sayısı, UÇAP: *Arteria Uterina Media* Çap, bpm: beat per minute

3.2. Grup ve Muayene Zamanının Folikül Çapları ve Folikül Sayılarının Yüzdelik Dağılımına Etkisi

Genel değerlendirmede toplam folikül sayısı bakımından gruplar arasında istatistiksel farkın olmadığı, muayene zamanının toplam folikül sayısına etki etmediği görüldü. Ek olarak genel değerlendirmede grup ve zaman arasında da etkileşim belirlenmedi. Buna karşın, İZP gruplarındaki toplam antral folikül sayısının (TAFS) zaman ilerledikçe numerik olarak arttığı görüldü ($p>0,05$, Tablo 9).

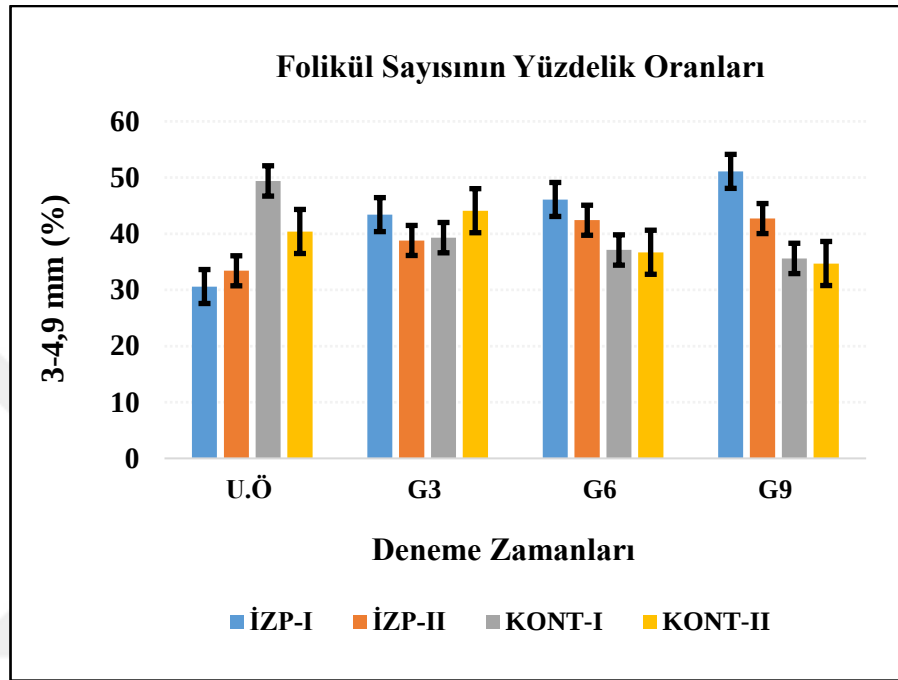
Bir – 2,9 mm’lik folikül sayısının yüzdelik oranları, grup ve zamana göre farklılık gösterdi ($p<0,05$). 1 – 2,9 mm’lik foliküllerin zamana bağlı yüzdesel değişimi incelendiğinde, İZP gruplarında KONT gruplarına göre istatistiksel bir farkın olduğu, İZP gruplarında zaman ilerledikçe 1 – 2,9 mm’lik folikül yüzdesi azalırken, KONT gruplarında folikül yüzdesinin arttığı görülmüştür [(İZP-I; UÖ, $62,1\pm4,7$; G9, $36,8\pm3,9$) (İZP-II; UÖ, $58,4\pm3,9$; G9, $48,0\pm3,0$) (KONT-I; UÖ, $43,2\pm3,0$; G9, $58,3\pm4,4$) (KONT-II; $49,5\pm3,9$; G9, $56,0\pm4,3$) ($p<0,0001$)] (Tablo 9, Şekil 25).



Şekil 25: 1-2,9 mm’lik folikül sayısının yüzdelik oranına grubun ve uygulama zamanlarının etkisi ($p<0,05$), UÖ: Uygulama Öncesi, G3: 3. Gün Ultrasonografi, G6: 6. Gün Ultrasonografi, G9: 9. Gün Ultrasonografi.

Üç - 4,9 mm’lik folikül sayısının yüzdelik oranları, grup ve zamana göre farklılık gösterdi ($p<0,05$). Üç - 4,9 mm’lik foliküllerin zamana bağlı yüzdesel değişimi

incelendiğinde, İZP gruplarında KONT gruplarına göre belirgin istatistiksel bir farkın olduğu, İZP gruplarında zaman ilerledikçe folikül yüzdesi artarken, KONT gruplarında folikül yüzdesinin azaldığı görülmüştür [(İZP-I; UÖ, $30,6 \pm 3,7$; G9, $51,1 \pm 2,1$) (İZP-II; UÖ, $33,4 \pm 3,4$; G9, $42,7 \pm 1,5$) (KONT-I; UÖ, $49,4 \pm 2,4$; G9, $37,1 \pm 2,1$) (KONT-II; $40,4 \pm 3,4$; G9, $34,7 \pm 3,7$) ($p < 0,0001$)] (Tablo 9, Şekil 26).



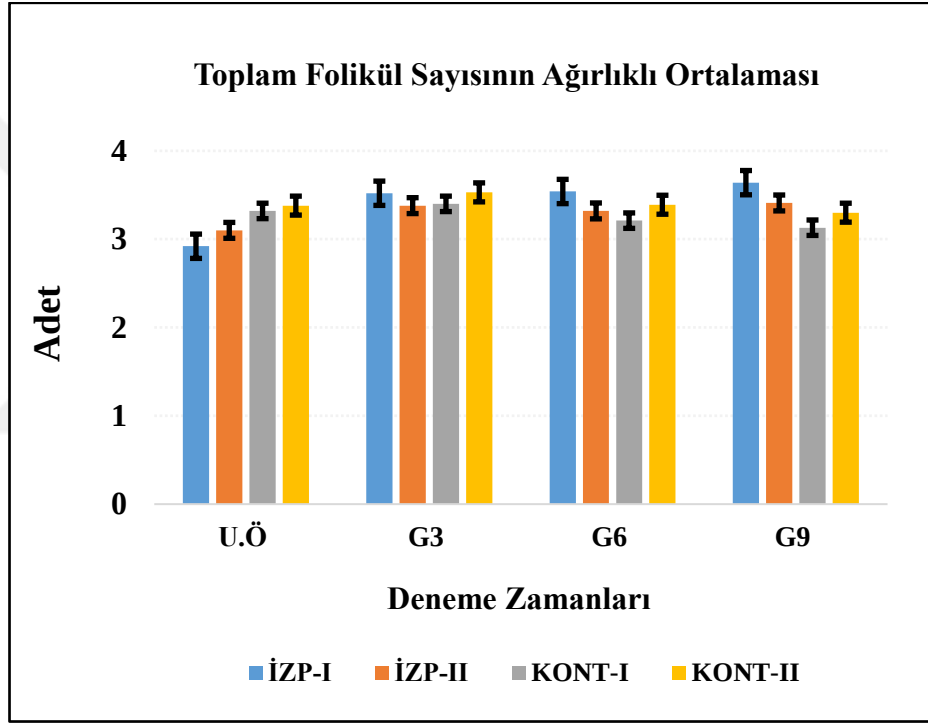
Şekil 26: 3-4,9 mm'lik folikül sayısının yüzdelik frekansına grubun ve uygulama zamanlarının etkisi ($p < 0,05$), U.Ö: Uygulama Öncesi, G3: 3. Gün Ultrasonografi, G6: 6. Gün Ultrasonografi, G9: 9. Gün Ultrasonografi.

Genel değerlendirmede 5 – 6,9 mm'lik folikül sayısının yüzdelik oranının gruplar arasında benzer olduğu ve grup zaman interaksyonunda istatistiksel bir farkın ortaya çıkmadığı görülmüştür ($p > 0,05$, Tablo 9).

Genel tabloya bakıldığında 7 - 8.9 mm'lik folikül sayısının yüzdelik oranı, gruplar arasında ve zamana göre farklılık göstermemiş ve herhangi bir interaksyon istatistiksel bir fark oluşturmamıştır ($p > 0,05$, Tablo 9).

Verilere göre, ≥ 9 mm'lik foliküllerin yüzde frekansında, gruplar arasında ($p < 0,05$) ve uygulama zamanlarında ($p < 0,0001$) anlamlı bir farklılığın olduğu görüldü. En yüksek frekansları İZP-II ve KONT-II'deyken en düşük frekans İZP-I ve KONT-I'de olmuştur (Tablo 9). Ancak, grup ve zaman arasında herhangi bir etkileşim meydana gelmemiştir ($p > 0,05$).

Toplam Folikül Sayısının Ağırlıklı Ortalamasında (TTFSAO) gruplar arasında istatistiksel fark oluşmadığı ($p>0,05$), ancak zaman göre kıyaslamada farkın meydana geldiği görüldü ($p<0,01$). Ayrıca, grup ve zaman arasında etkileşimin olduğu belirlendi ($p<0,01$). Buna göre TTFSAO'nun zamana bağlı yüzdesel değişimi incelendiğinde, İZP gruplarında KONT gruplarına göre belirgin istatistiksel bir farkın olduğu, İZP gruplarında zaman ilerledikçe folikül yüzdesi artarken, KONT gruplarında TTFSAO'nun azaldığı görülmüştür [(İZP-I; UÖ, $2,92\pm0,12$; G9, $3,64\pm0,16$) (İZP-II; UÖ, $3,10\pm0,08$; G9, $3,41\pm0,12$) (KONT-I; UÖ, $3,32\pm0,13$; G9, $3,13\pm0,09$) (KONT-II; $3,38\pm0,10$; G9, $3,30\pm0,11$) ($p<0,0001$)] (Tablo 9, Şekil 27).



Şekil 27: Toplam folikül sayısının ağırlıklı ortalama frekansına grubun ve uygulama zamanlarının etkisi ($p<0,05$), U.Ö: Uygulama Öncesi, G3: 3. gün ultrasonografi, G6: 6. gün ultrasonografi, G9: 9. gün ultrasonografi

Tablo 9: Grup ve zamanın toplam folikül sayısına, folikül yüzdesine ve ağırlıklı ortalamaya etkisi

GRUP	ZAMAN	TAFS (n)	1-2,9 mm (%)	3-4,9 mm (%)	5-6,9 mm (%)	7-8,9 mm (%)	≥9 mm (%)	Ağırlıklı Ortalama (AğrOrt)
İZP-I		67,1±2,9 ^a	45,9±2,6 ^a	42,8±1,9 ^a	7,68±0,95 ^a	2,15±0,35 ^a	1,42±0,25 ^b	3,41±0,08 ^a
İZP-II		72,8±4,1 ^a	51,2±1,7 ^a	39,4±1,5 ^a	5,84±0,73 ^{ab}	1,39±0,32 ^a	2,22±0,28 ^a	3,30±0,05 ^a
KONT-I		74,3±3,2 ^a	51,4±1,8 ^a	40,3±1,6 ^a	5,11±0,67 ^b	1,79±0,38 ^a	1,43±0,25 ^b	3,27±0,05 ^a
KONT-II		66,8±3,4 ^a	50,8±2,4 ^a	39,0±2,0 ^a	5,97±0,69 ^{ab}	1,54±0,26 ^a	2,71±0,36 ^a	3,40±0,05 ^a
	U.Ö	68,4±3,8 ^a	53,4±2,3 ^a	38,4±2,0 ^a	5,88±0,76 ^b	1,48±0,29 ^b	0,85±0,26 ^b	3,17±0,06 ^b
	G3	68,9±3,6 ^a	45,7±1,8 ^b	41,3±1,4 ^a	8,38±0,87 ^a	2,40±0,36 ^a	2,14±0,29 ^a	3,46±0,05 ^a
	G6	70,7±3,3 ^a	50,5±2,2 ^{ab}	40,7±1,9 ^a	4,73±0,56 ^b	1,67±0,35 ^{ab}	2,45±0,30 ^a	3,36±0,05 ^a
	G9	73,4±3,1 ^a	49,6±2,4 ^{ab}	41,2±1,8 ^a	5,62±0,80 ^b	1,34±0,33 ^b	2,25±0,26 ^a	3,37±0,07 ^a
İZP-I	U.Ö	60,0±7,0	62,1±4,7	30,6±3,7	5,86±1,83	1,39±0,36	0,00±0,00	2,92±0,12
İZP-I	G3	67,3±5,4	42,2±3,9	43,4±2,8	9,03±2,32	4,05±0,86	1,31±0,58	3,52±0,14
İZP-I	G6	68,1±5,3	42,6±4,7	46,1±3,5	7,24±1,38	1,83±0,61	2,21±0,44	3,54±0,13
İZP-I	G9	72,9±5,6	36,8±3,9	51,1±2,1	8,62±2,11	1,34±0,56	2,16±0,44	3,64±0,16
İZP-II	U.Ö	63,0±8,0	58,4±3,9	33,4±3,4	5,78±1,14	1,31±0,42	1,13±0,42	3,10±0,08
İZP-II	G3	80,0±10,1	48,3±2,6	38,8±1,5	8,97±2,01	1,82±0,41	2,11±0,36	3,38±0,08
İZP-II	G6	76,8±8,4	50,1±3,6	42,4±4,3	3,90±0,70	0,67±0,51	2,87±0,68	3,32±0,08
İZP-II	G9	71,6±6,3	48,0±3,0	42,7±1,5	4,71±1,34	1,76±1,01	2,77±0,58	3,41±0,12

GRUP	ZAMAN	TAFS (n)	1-2,9 mm (%)	3-4,9 mm (%)	5-6,9 mm (%)	7-8,9 mm (%)	≥9 mm (%)	Ağırlıklı Ortalama (AğrOrt)
KONT-I	U.Ö	81,9±7,4	43,2±3,0	49,4±2,4	4,87±1,80	1,52±1,01	1,09±0,80	3,32±0,13
KONT-I	G3	66,8±4,4	48,7±2,9	39,3±2,7	8,03±1,06	2,14±0,56	1,85±0,60	3,40±0,06
KONT-I	G6	74,3±5,8	55,3±2,5	37,1±2,1	3,61±0,51	2,71±0,87	1,32±0,21	3,21±0,07
KONT-I	G9	74,1±7,6	58,3±4,4	35,6±3,6	3,91±1,31	0,79±0,47	1,45±0,20	3,13±0,09
KONT-II	U.Ö	68,6±6,6	49,5±3,9	40,4±3,4	7,16±1,28	1,73±0,29	1,21±0,53	3,38±0,10
KONT-II	G3	60,8±7,5	43,5±5,0	44,1±3,6	7,39±1,56	1,50±0,69	3,45±0,63	3,53±0,11
KONT-II	G6	62,6±7,1	54,2±5,5	36,7±5,0	4,13±1,41	1,45±0,65	3,51±20,81	3,39±0,11
KONT-II	G9	75,1±6,1	56,0±4,3	34,7±3,7	5,20±1,17	1,47±0,42	2,66±0,69	3,30±0,11
ANOVA-----P<-----								
Grup		0,2955	0,1466	0,3171	0,1012	0,3682	0,0016	0,1934
Zaman		0,7228	0,0556	0,5602	0,0074	0,1205	0,0001	0,0050
Grup X Zaman		0,4457	0,0001	0,0001	0,8239	0,1912	0,5100	0,0073

TAFS: Toplam Antral Folikül Sayısı, Senk: Senkronizasyon, U.Ö: Uygulama Öncesi, G3: 3. Gün ultrasonografi, G6: 6. Gün ultrasonografi, G9: 9. Gün ultrasonografi

3.3. Hormonal ve Metabolik Profil

İZP uygulanan ineklerin FSH değerleri, KONT gruplarındakilere göre daha yüksek bulundu (İZP-I, 601 ± 33 ; İZP-II, 652 ± 43 ; KONT-I, 547 ± 31 ; KONT-II, 388 ± 29 , $p < 0,0001$). Ancak zamana göre değerlendirilen ölçümlerde anlamlı bir değişim olmasa da, İZP gruplarının her ikisinde ve KONT-II grubunda numerik bir artışın olduğu görüldü. KONT-I grubunda ise belirgin bir değişimin olmadığı belirlendi [(İZP-I; UÖ, 523 ± 59 ; G9, 609 ± 85) (İZP-II; UÖ, $3,10 \pm 0,08$; G9, $3,41 \pm 0,12$) (KONT-I; UÖ, $3,32 \pm 0,13$; G9, $3,13 \pm 0,09$) (KONT-II; $3,38 \pm 0,10$; G9, $3,30 \pm 0,11$) ($p > 0,05$)] (Tablo 10)

İZP gruplarındaki ineklerin serum AMH konsantrasyonu, KONT gruplarındakilerle kıyasla daha yüksek olduğu görüldü (İZP-I, $58,8 \pm 4,0$; İZP-II, $63,8 \pm 6,2^a$; KONT-I, $37,5 \pm 2,9$; KONT-II, $55,4 \pm 5,2$, $p < 0,01$). En yüksek AMH konsantrasyonu İZP-II'de görülürken, en düşük değer KONT-II ortaya çıkmıştır. Tüm gruplar değerlendirmeye alındığında AMH değerinde, grup ve muayene zamanına göre numerik değişimler gözlemlendi. İZP grupları zamana bağlı olarak artarken, KONT grupları zamana bağlı olarak azalmıştır. Ancak bu değişim, zamana bağlı istatistiksel bir fark sergilemedi [(İZP-I; UÖ, $54,7 \pm 5,8$; G9, $66,9 \pm 11,0$) (İZP-II; UÖ, $60,9 \pm 9,3$; G9, $63,5 \pm 18,3$) (KONT-I; UÖ, $39,4 \pm 7,4$; G9, $32,9 \pm 4,7$) (KONT-II; $63,1 \pm 10,9$; G9, $46,1 \pm 10,1$) ($p > 0,05$)] (Tablo 10)

Yapılan ölçümlerde E2 miktarı, gruplar arasında farklılık gösterdi ($p < 0,0001$). Genel ortalamalar değerlendirildiğinde E2 düzeyi, İZP gruplarında KONT gruplarına göre yüksek bulundu (İZP-I, 126 ± 7 ; İZP-II, 151 ± 12 ; KONT-I, 157 ± 9 ; KONT-II, $87,9 \pm 3,5$, $p < 0,0001$). Ancak ölçümlerde en yüksek E2 seviyesinin, KONT-I grubunda olduğu görüldü. Tüm grupların serum E2 konsantrasyonu değerlendirmesinde, İZP gruplarının KONT gruplarına kıyasla zamana bağlı olarak ortaya çıkan numerik artışın daha fazla olduğu görüldü. Ancak bu artış, zamana bağlı istatistiksel bir fark sergilemedi [(İZP-I; UÖ, 111 ± 13 ; G9, 133 ± 17) (İZP-II; UÖ, 136 ± 31 ; G9, 186 ± 31) (KONT-I; UÖ, 143 ± 17 ; G9, 154 ± 15) (KONT-II; $77,9 \pm 7,7$; G9, $93,0 \pm 8,6$) ($p > 0,05$)] (Tablo 10).

Progesteron düzeyi, KONT gruplarına kıyasla İZP gruplarında yaklaşık olarak 1,5 kat daha yüksek bulundu ($p < 0,0001$). En yüksek değer İZP-I grubunda gözlenirken

en düşük değer KONT-II'de görüldü (İZP-I, $16,1 \pm 1,1$; İZP-II, $14,5 \pm 1,0$; KONT-I, $11,6 \pm 0,6$; KONT-II, $9,69 \pm 0,55$, $p < 0,0001$). Tüm gruplar değerlendirmeye alındığında P4 konsantrasyonu, beklendiği gibi zamana bağlı olarak numerik değişimler gösterdi. Bu değişimler İZP gruplarında artış yönünde olurken KONT gruplarında ise azalma yönünde olmuştur. Ancak bu artış, zamana bağlı istatistiksel bir fark sergilemedi [(İZP-I; UÖ, $13,8 \pm 1,6$; G9, $18,1 \pm 2,6$) (İZP-II; UÖ, $12,3 \pm 2,2$; G9, $16,9 \pm 2,6$) (KONT-I; UÖ, $12,9 \pm 1,0$; G9, $11,2 \pm 1,0$) (KONT-II; $10,9 \pm 1,3$; G9, $10,4 \pm 1,4$) ($p > 0,05$)] (Tablo 10).

İZP gruplarındaki ineklerde genel ortalama IGF-1 düzeyi, KONT gruplarındakilere kıyasla yaklaşık olarak 2,5 kat yüksek bulundu ($p < 0,0001$). En yüksek değer İZP-II grubunda bulunurken, en düşük değer ise KONT-I grubunda tespit edilmiştir (İZP-I, $61,7 \pm 6,1$; İZP-II, $63,4 \pm 6,2$; KONT-I, $22,5 \pm 1,8$; KONT-II, $27,7 \pm 1,7$, $p < 0,0001$). İZP gruplarında muayene zamanına bağlı olarak, uygulamayı izleyen günlerde IGF-1 düzeyinde numerik bir artış gözlenirken, KONT gruplarında ise azalma belirlenmiştir. Ancak zamana bağlı herhangi bir istatistiksel fark bulunmamıştır [(İZP-I; UÖ, $54,6 \pm 9,4$; G9, $73,5 \pm 20,7$) (İZP-II; UÖ, $54,5 \pm 8,9$; G9, $59,4 \pm 12,3$) (KONT-I; UÖ, $22,8 \pm 4,3$; G9, $21,5 \pm 4,0$) (KONT-II; $35,4 \pm 5,7$; G9, $23,6 \pm 2,9$) ($p > 0,05$)] (Tablo 10).

İZP gruplarındaki ineklerde genel ortalama IGFBP-3 düzeyi, KONT gruplarındakilere kıyasla yaklaşık olarak 1,7 kat yüksek bulundu. En yüksek değer İZP-II grubunda bulunurken, en düşük değer ise KONT-I grubunda tespit edilmiştir (İZP-I, $27,4 \pm 2,3$; İZP-II, $29,5 \pm 3,3$; KONT-I, $16,0 \pm 1,5$; KONT-II, $17,0 \pm 0,9$, $p < 0,0001$). İZP-I grubunda muayene zamanına bağlı olarak, uygulamayı izleyen günlerde IGFBP-3 düzeyinde numerik bir artış gözlenirken, İZP-II grubu belirgin bir değişim göstermemiştir. KONT grupları ise numerik olarak azalma göstermiştir. Ancak zamana bağlı herhangi bir istatistiksel fark bulunmamıştır [(İZP-I; UÖ, $25,9 \pm 4,6$; G9, $30,1 \pm 4,9$) (İZP-II; UÖ, $29,1 \pm 5,7$; G9, $28,8 \pm 7,5$) (KONT-I; UÖ, $16,8 \pm 4,6$; G9, $15,9 \pm 3,2$) (KONT-II; UÖ, $19,1 \pm 2,6$; G9, $17,9 \pm 2,3$) ($p > 0,05$)] (Tablo 10).

BHBA düzeyi, KONT gruplarına kıyasla İZP gruplarında ortalama olarak daha yüksek bulundu. En yüksek değer İZP-II grubunda gözlenirken en düşük değer KONT-

I'de görüldü (İZP-I, 239 ± 29 ; İZP-II, 364 ± 59 ; KONT-I, 195 ± 10 ; KONT-II, 335 ± 36 , $p < 0,01$). Tüm gruplar değerlendirmeye alındığında serum BHBA düzeyi, zamana bağlı olarak numerik değişimler gösterdi. Bu değişimler İZP gruplarında ve KONT-II grubunda artış yönünde olurken, KONT-I grubunda ise azalma yönünde olmuştur. Ancak bu numerik değişimler, zaman bağlı istatistiksel bir fark sergilemedi [(İZP-I; UÖ, 224 ± 59 ; G9, 267 ± 87) (İZP-II; UÖ, 328 ± 127 ; G9, 365 ± 120) (KONT-I; UÖ, 205 ± 27 ; G9, 196 ± 24) (KONT-II; 291 ± 20 ; G9, 294 ± 24) ($p > 0,05$)] (Tablo 10).

Kolesterol düzeyi genel ortalama, KONT gruplarına kıyasla İZP gruplarında yaklaşık olarak 2 kat fazla bulundu. (İZP-I, 170 ± 14 ; İZP-II, 209 ± 24 ; KONT-I, $73,7 \pm 3,5$; KONT-II, 124 ± 10 , $p < 0,0001$). Kolesterol düzeyi, gruplarda zamana bağlı olarak numerik değişimler gösterdi. Bu değişimler İZP gruplarında artış olarak ortaya çıkarken, KONT gruplarında ise azalma olarak kendini gösterdi. Ancak bu numerik değişimler, zaman bağlı istatistiksel bir fark sergilemedi [(İZP-I; UÖ, 157 ± 27 ; G9, 193 ± 34) (İZP-II; UÖ, 208 ± 50 ; G9, 215 ± 55) (KONT-I; UÖ, $75,6 \pm 6$; G9, $71,7 \pm 7,9$) (KONT-II; 146 ± 36 ; G9, 123 ± 23) ($p > 0,05$)]. Tüm metabolik profil Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10: Grup ve zamanın metabolik ve hormon profiline etkisi

GRUP	ZAMAN	FSH (mIU/ml)	AMH (ng/L)	E2 (ng/L)	P4 (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)	IGFBP3 (ng/ml)	BHBA (nmol/ml)	CHOL (mg/dl)
İZP-I		601±33 ^{ab}	58,8±4,0 ^a	126±7 ^b	16,1±1,1 ^a	61,7±6,1 ^a	27,4±2,3 ^a	239±29 ^{bc}	170±14 ^a
İZP-II		652±43 ^a	63,8±6,2 ^a	151±12 ^{ab}	14,5±1,0 ^a	63,4±6,2 ^a	29,5±3,3 ^a	364±59 ^a	209±24 ^a
KONT-I		547±31 ^b	37,5±2,9 ^b	157±9 ^a	11,6±0,6 ^b	22,5±1,8 ^b	16,0±1,5 ^b	195±10 ^c	73,7±3,5 ^c
KONT-II		388±29 ^c	55,4±5,2 ^a	87,9±3,5 ^c	9,69±0,55 ^b	27,7±1,7 ^b	17,0±0,9 ^b	335±36 ^{ba}	124±10 ^b
	U.Ö	510±44 ^a	54,3±4,3 ^a	118±10 ^a	12,0±0,8 ^a	42,0±4,3 ^a	22,1±2,4 ^a	261±36 ^a	138±17 ^a
	U.S	517±40 ^a	53,7±5,6 ^a	128±12 ^a	12,5±1,0 ^a	41,0±5,2 ^a	21,8±2,8 ^a	275±35 ^a	141±20 ^a
	G3	535±41 ^a	55,7±4,8 ^a	127±10 ^a	12,5±1,1 ^a	46,4±6,5 ^a	24,1±3,0 ^a	339±66 ^a	149±18 ^a
	G6	595±42 ^a	53,1±6,4 ^a	143±10 ^a	14,1±1,2 ^a	46,8±6,9 ^a	21,8±2,8 ^a	253±33 ^a	145±20 ^a
	G9	600±44 ^a	52,5±6,3 ^a	143±11 ^a	14,3±1,1 ^a	45,1±7,2 ^a	23,3±2,6 ^a	280±39 ^a	151±20 ^a
İZP-I	U.Ö	523±59	54,7±5,8 ^a	111±13	13,8±1,6	54,6±9,4	25,9±4,6	224±59	157±27
İZP-I	U.S	506±48	56,6±10,1	106±14	12,0±1,5	54,1±10,3	24,1±6,3	250±67	150±31
İZP-I	G3	667±74	57,1±6,2	139±19	18,7±3,4	58,3±9,2	31,1±5,0	233±62	179±27
İZP-I	G6	699±86	58,8±11,5	144±20	18,0±2,8	67,9±16,7	25,7±5,7	220±56	171±38
İZP-I	G9	609±85	66,9±11,0	133±17	18,1±2,6	73,5±20,7	30,1±4,9	267±87	193±34
İZP-II	U.Ö	607±117	60,9±9,3	136±31	12,3±2,2	54,5±8,9	29,1±5,7	328±127	208±50
İZP-II	U.S	639±102	59,5±11,6	143±30	15,0±2,8	60,1±13,2	27,6±7,8	327±119	198±57
İZP-II	G3	520±88	69,9±11,9	123±20	11,8±1,3	77,0±18,4	33,1±8,9	458±189	216±57
İZP-II	G6	747±68	65,4±18,7	166±25	16,4±2,5	66,0±16,9	29,0±8,2	343±112	208±56
İZP-II	G9	749±105	63,5±18,3	186±31	16,9±2,6	59,4±12,3	28,8±7,5	365±120	215±55

GRUP	ZAMAN	FSH (mIU/ml)	AMH (ng/L)	E2 (ng/L)	P4 (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)	IGFBP3 (ng/ml)	BHBA (nmol/ml)	CHOL (mg/dl)
KONT-I	U.Ö	564±80	39,4±7,4	143±17	12,9±1,0	22,8±4,3	16,8±4,6	205±27	75,6±6,2
KONT-I	U.S	534±84	38,1±6,1	169±29	11,8±2,3	23,7±4,3	16,1±3,6	211±17	68,9±7,4
KONT-I	G3	539±76	42,2±9,4	157±22	10,0±0,9	21,2±4,1	15,7±3,0	195±22	76,3±9,3
KONT-I	G6	527±68	34,8±5,3	161±11	12,2±1,2	23,1±4,1	15,7±3,5	170±20	75,9±9,8
KONT-I	G9	568±50	32,9±4,7	154±15	11,2±1,0	21,5±4,0	15,9±3,2	196±24	71,7±7,9
KONT-II	U.Ö	324±58	63,1±10,9	77,9±7,7	8,68±0,97	35,4±5,7	16,1±2,3	291±20	107±11
KONT-II	U.S	373±58	61,5±16,2	88,6±7,1	10,9±1,3	24,4±3,3	19,1±2,6	316±16	146±36
KONT-II	G3	398±70	53,3±9,3	85,7±7,7	9,23±1,12	27,0±2,7	15,7±2,0	489±172	121±17
KONT-II	G6	385±55	53,2±11,9	94,4±8,5	9,30±1,48	27,9±2,6	16,1±1,3	284±19	123±22
KONT-II	G9	459±87	46,1±10,1	93,0±8,6	10,4±1,4	23,6±2,9	17,9±2,3	294±24	123±23
ANOVA-----p<-----									
Grup		0,0001	0,0011	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0067	0,0001
Zaman		0,3137	0,9947	0,3285	0,3758	0,9292	0,9653	0,6194	0,9817
Grup X Zaman		0,7865	0,9944	0,8964	0,3846	0,9498	0,9997	0,9934	0,9999

FSH: Folikül uyarıcı hormon, AMH: Anti-Müllerian hormon, E2: Östradiol, P4: Progesteron, IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü - 1, IGFBP3: IGF bağlayıcı protein – 3, BHBA: β-hidroksi bütirik asit, CHOL: kolesterol, U.Ö: Uygulama Öncesi, U.S: Uygulama Sonrası, G3: Ovulasyon sonrası 3. gün, G6: Ovulasyon sonrası 6. gün, G9: Ovulasyon sonrası 9. gün.

4. TARTIŞMA

4.1. Uygulama Öncesi ve Uygulama Sonrası Doppler Parametrelerine Grup ve Zamanın Etkisi

Son yıllarda ineklerde jinekolojik çalışmalarda kullanılan Doppler USG, invaziv olmaması ve yüksek doğrulukla kan akımı hakkında bilgi vermesinden dolayı sıklıkla kullanılan bir tekniktir (Abdelnaby ve ark. 2020b, Abouelela ve ark. 2021). Ayrıca bölge perfüzyonunun detaylı gözlemi ile hedef organların fonksiyonları hakkında daha doğru bilgi edinilmesine olanak sağlamaktadır. Özetle kan akımı, jinekolojik açıdan yeniliklerin ve ilerlemelerin anahtarı rolünde olduğundan dolayı Doppler USG önemli bir muayene yöntemidir. Sunulan çalışmada kan akım ve direnç göstergeleri incelenmiştir. Kan akımı, kalp atımına bağlı olarak frekans gösterdiği için normal bir kardiyak sıklusta PS ve ED arasında belirli bir fark olması beklenmektedir (Rosengarten ve Kaps 2002). ED, PI, S/D değerlerinin düşmesine karşın PS değerlerinin artması dokuda kan perfüzyon artışına yani dokunun kanlanmasıyla artışına işaret eder (Erdoğan 2018, Veiga ve ark. 2018, Abdelnaby ve ark. 2020b).

İneklerde yapılan bir çalışmada FSH uygulama sonrası günlerde ovaryan arterin Doppler parametrelerinden ED’de düşüş belirlenmiştir (Abdelnaby ve ark. 2020b). Bu durum ilacın kan akım hızını artırıcı etkisine bağlı olarak (Fitzgerald ve Harry 1984) kardiyak siklusun tepe ve dip noktalarını kısaltmasıyla ilişkilendirilmiştir. Mandalarda yapılan başka bir çalışmada ise CL, ovaryum ve uterus arterlerindeki değişimler, gebe ve gebe olmayanlara göre incelenmiş ve ED değerinin gebe olanlarda olmayanlara göre zaman ilerledikçe perfüzyon artışına bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (Abouelela ve ark. 2021). Sunulan tez çalışmasında, gruplar arasında ovaryum ve uterus arterlerinde PS, ED, RI, PI, S/D parametreleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak belirgin farklar izlenmemiştir. Bu durum kullanılan doz değişiminin Doppler parametrelerinin değerlerini değiştirebilecek kadar yüksek tutulmaması (4 mg/40 ml) ve uterus arterinden ziyade ovaryum arterinin çapının genişleme kapasitesinin düşük olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Diğer taraftan, kullanılan dozlarda sağlanan ve istatistiksel olmasından ziyade numerik değişimler şeklinde gözlenen küçük değişimlerin daha büyük fizyolojik değişimlere neden olabileceği de düşünülmektedir. Nitekim, Abouelela ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada,

gebe olan ineklerde gebeliğin 7. ve 31. günleri arasında ovaryan arterin yaklaşık olarak 2 mm civarında bir genişlediği, gebe olmayanlarda ise 1 mm civarında bir genişlemenin olduğu söylenmiştir. Eksojen uygulanan GnRH'a yanıt olarak ovaryumu besleyen damarlarda artan E2 seviyesi ve endotel NOS salınımı vazodilatasyona neden olur. Oluşan bu vazodilatasyonla ani bir perfüzyon artışının meydana gelmesi, ovaryum üzerindeki yapıların gelişimini destekler (Hassan ve ark. 2017). Buna ek olarak, ineklerde ekzojen Gebe Kısırak Serum Gonadotropini (eCG) uygulamasının ovaryan kan akımının ve fonksiyonel yapılarında (folikül ve korpus luteum) hızlanan gelişim eğrisi görülmüştür (Honnens ve ark. 2009). Ayrıca vazodilatasyonun aksine östrus siklusunun yaklaşık olarak 17-18. gününde endometriyumdan salınan PGF2 α , *a. ovarica*'da vazokonstrüktif etki oluşturması, CL'un lizisine yol açmakta ve yeni bir seksüel siklusun önünü açmaktadır (Baird 1974, Shirasuna ve ark. 2012). Sonuç olarak *a. ovarica*'da veya *a. uterina media*'da meydana gelen minimal değişimler, fizyolojik süreçleri doğrudan etkileyebilmektedir.

Çalışmada İZP uygulama sonrasında bölgesel arterlerin HR oranlarında, önceki çalışmalara (Ali ve ark. 2020, Bollmann ve ark. 2021) paralel beklenen artışlar gözlenmiştir. Nitekim İZP gruplarının her ikisinin de OHR ve UHR değerleri anlamlı bir artış görüldü. Diğer taraftan beklenildiği gibi distile su uygulaması sonrası KONT gruplarındaki ineklerin her ikisinde OHR ve UHR değerleri birbirine benzer bulunmuştur.

Uterus damar çapının küçük olması nedeniyle TAMEAN ve TAMAX, Doppler USG uygulamalarında en uygun ve güvenilir indekslerinden biri olarak kabul edilir (Hozumi ve ark. 2000). Dahası, TAMEAN değerinin doğum zamanını tahmin etmede yarar sağlayacağı söylenmiştir (Elmetwally ve ark. 2016). Gebe koyun ve keçilerde yapılan bir çalışmada, uterin arter çapı, kan akım hacmi ve TAMAX değerinin artışının bir sonucu olarak TAMEAN değerinde de artış belirlenmiştir. Bu artış gebeliğin 18. haftasına kadar devam etmiştir (Elmetwally ve ark. 2016). Kısıraklarda da fetüsün bulunduğu taraftaki uterin arter Doppler ölçümünde, TAMEAN değeri daha yüksek ölçülmüştür (Silva ve ark. 2005). Benzer şekilde ineklerin gebelik sürecinde de bu değer yüksek bulunması (Panarace ve ark. 2006) kanlanmanın artmasıyla yine bu değer yükseldiğini gösterir. Sunulan çalışmada gruplar arasında OTAMEAN ve OTAMAX değerleri yönünden bir fark gözlenmemiştir. Sadece İZP-II grubunda

numerik bir artış gözlenmiş olup bu sonuç İZP-II grubundaki yüksek OHR değeri ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde UTAMEAN ve UTAMAX değerleri yönünden de bir fark gözlenmemiş olup her iki İZP grubunda da numerik olarak artış olmuştur. İZP gruplarındaki bu artış yine UHR değerinin yüksek oluşuyla ilişkilendirilmiştir. Bu durum Doppler parametrelerinin yukarıda verilen sonuçlarıyla uyumlu olarak bulunmuştur. Ancak ortaya çıkan numerik artışlardan ziyade istatistiksel bir farkın ortaya çıkmamasından dolayı mevcut gruplardaki hayvan sayısının power analizine göre artırılarak çalışmanın tekrar edilmesi, çalışmanın güvenilirliğini artıracaktır. Bu bağlamda ilerleyen çalışmalarda hayvan sayısının artırılması, ortaya çıkan numerik farkları istatistiksel fark olarak belirgin hale gelmesi sağlanmış olacaktır.

Gebelik dönemine bağlı olarak uterus ve ovaryum arter çaplarında artış ilgili dokulardaki artan perfüzyonu iştret etmektedir (Beltrame ve ark. 2017, Hassan ve ark. 2020). Sunulan çalışmada İZP uygulaması sonrası arter çaplarında artış sağlanmıştır. Hem İZP-I'de hem de İZP-II'de ki OÇAP ve UÇAP değerlerinin artış eğilimi İZP'nin etkisini gösterdiğini ve bölgenin perfüzyonuna katkı sağladığını ifade edebilir. KONT gruplarında değişimin olmaması da beklenen bir sonuç olarak değerlendirilmektedir. İZP değerlerinde meydana gelen arter çapı etkisi önceki literatürlerle uyumlu bulunmuştur (Fitzgerald ve O'shaughnessy 1984, Wu ve ark. 2023).

4.2. Grup ve Muayene Zamanının Folikül Çapları ve Folikül Sayılarının Yüzdelik Dağılımına Etkisi

İnekler gibi monoovülatör türlerde foliküler dalga, USG ile saptanabilen 8-41 adet küçük folikül grubunun periyodik FSH salınımının etkisiyle ani (2-3 gün içinde) büyümesi ile karakterizedir (Adams 1999). Gelişimine devam eden bu birincil folikül grubu sırasıyla ikincil, üçüncül ve nihayetinde içlerinden bir tanesi dominant folikül formatına (yaklaşık olarak 8,5 mm) dönüşür. Son foliküler dalgada, LH salınım sıklığının artması ile dominant folikül gelişimine devam eder ve Graaf folikül halini alır. Bu aşamadan sonra subordinat foliküllerin büyümesi yavaşlar ve boyutları küçülmeye başlar (Wiltbank ve ark. 2011, Kalkan ve Öcal 2015). Ancak süt veriminin yüksek olduğu ineklerde P4 seviyesinin düşük olması, çoklu preovulatör folikül gelişimine ve hatta ovulasyonuna neden olabilir (Martins ve ark. 2018).

Ovaryum üzerindeki foliküller 0.5 mm çapa ulaştığında, bu foliküllerde antrum formasyonu başlar. Antrum formasyonu, ultrasonografik muayenede folikülü görünür hale getirir (Fortune ve ark. 1991). Diğer taraftan, folikülün USG ile muayene edilebilmesi için 1-3 mm çapa ulaşması gerekmektedir. Antrumu olan foliküller antral folikül olarak ifade edilmektedir (Burns ve ark. 2005). Antral folikül sayısı ile fertilité arasındaki ilişki araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Morotti ve ark. 2017). Araştırmacılar, sığırlarda AFS'ye göre yüksek ve düşük olarak sınıflandırdıkları ineklerde süperovulasyon yanıtını incelemişler ve AFS yüksek sığırlarda hem süperovulasyon yanıtının hem de elde edilen embriyo sayısının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Center ve ark. 2018). Ayrıca AFS'si yüksek ineklerde daha fazla blastosist gelişimi, daha az apoptotik hücre varlığı ortaya konmuştur (Tessaro ve ark. 2011). Ancak *Bos Indicus* ineklerinde AFS ile fertilité arasında, *Bos Tarus* ineklerden farklı olarak, bir ilişki belirlenmemiştir (Bonato ve ark. 2022). Sunulan çalışmada USG ile görülebilen tüm antral foliküller sayılıp çaplarına göre gruplandırılmıştır. İstatistik sonuçlarına göre genel sınıflandırmada İZP ve KONT grupları arasında ve zamana göre TAFS benzer bulunması, uygulama başlangıcında (U.Ö) KONT gruplarındaki TAFS sayılarının, İZP gruplarına göre fazla olması ile açıklanmış, bu nedenle yüzdesel değişim değerlendirilmiştir.

AFS fazla olan ineklerde görülen yüksek embriyo eldesi, gelişmekte olan folikülleri teşvik edecek yüksek kan perfüzyonu ile ilişkilidir (Tessaro ve ark. 2011). Yüksek AFS'ye sahip sütçü ineklerin foliküllerinde, artmış endotelyal nitrik oksit sentaz (NOS) protein düzeyi ve foliküler vaskülarizasyon gözlenmiştir (Tessaro ve ark. 2011). Diğer taraftan, yüksek AFS'li Holştayn ineklerde, pre-ovulatör foliküle kan akışının azaldığı da görülmüştür (Bonato ve ark., 2022). Bu çalışmada perfüzyon göstergesi olan Doppler parametrelerinde grup içi zamana bağlı bir değişimin olmaması, foliküler gelişimde perfüzyon düzeyinden ziyade, kan damar çaplarında kısa süreli artışın ve lokal etkili hormonlarda sağlanan yükselmenin etkili olduğu düşünülmüştür.

AFS'nin foliküler gruplandırmada nisbi artışı, ağırlıklı ortalama ile ifade edilmiş olup literatürde intrauterin bir uygulamanın AFS üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Foliküler popülasyonda folikül ebadına göre çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır (Roth ve ark. 2000, Adams ve ark. 2008). Çalışmada folikül büyümesinin ilk aşaması olan “yavaş büyüme” aşamasını (Mihm ve Bleach 2003) temsilen 1 – 2,9 mm aralığı incelenmiştir. Foliküler dalga öncesi seçilim aşamasındaki bu çap aralığındaki foliküller (Ireland ve ark. 2000) gonadotropinlerden bağımsız olsalar da gonadotropinlere duyarlı olarak nitelendirilmiştir (Scaramuzzi ve ark. 2011). Foliküler dalgayı başlatan FSH salınımına bu gruptaki foliküllerin dalga benzeri gelişimle karşılık verdiği ve deviasyon noktasına kadar neredeyse sabit sayıyla bir grup olarak devam ettiği bildirilmiştir (Ireland ve ark. 2000). Foliküler dalganın ortaya çıkışından 1-2 gün önce bu aralıktaki foliküllerde, gelecekteki dominant folikülün tespiti yapılmış ve ikinci ve üçüncü büyük olacak folikül ile maksimum boyut farkı gözlenmiştir (Adams ve ark. 2008). Sunulan çalışmada zamana göre değişim eğiliminin yanısıra grup zaman etkileşimi ortaya çıkmıştır. Her iki İZP grubunun 1 – 2,9 mm folikül yüzdesi zamanla azalma gösterirken, KONT gruplarının 1 – 2,9 mm folikül yüzdesinde zamanla artış görülmüştür. Önceki çalışmaların aksine bir grup içinde büyüme gösteren foliküllerin bir kısmının gelişimine devam etmediği veya daha yavaş bir gelişim gösterdiği düşünülmüştür. Buna karşın uterus içi uygulanan İZP’nin foliküler gelişimin bu safhasına ve foliküler gelişim üzerine olumlu etki ettiği görülmüştür. Bu görüş İZP gruplarında, 1 – 2,9 mm aralığındaki foliküllerin zamanla yüzdesel oranı azalırken, bir üst folikül grubu olan 3 – 4,9 mm arasındaki foliküllerin yüzdesel oranındaki artışla desteklenmiştir.

Foliküler popülasyonda folikül ebadına göre çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır (Roth ve ark. 2000, Adams ve ark. 2008). Çalışmada folikül büyümesinin ilk aşaması olan “yavaş büyüme” aşamasını (Mihm ve Bleach 2003) temsilen 1 – 2,9 mm aralığı incelenmiştir. Foliküler dalga öncesi seçilim aşamasındaki bu çap aralığındaki foliküller (Ireland ve ark. 2000) gonadotropinlerden bağımsız olsalar da gonadotropinlere duyarlı olarak nitelendirilmiştir (Scaramuzzi ve ark. 2011). Foliküler dalgayı başlatan FSH salınımına bu gruptaki foliküllerin dalga benzeri gelişimle karşılık verdiği ve deviasyon noktasına kadar neredeyse sabit sayıyla bir grup olarak devam ettiği bildirilmiştir (Ireland ve ark. 2000). Foliküler dalganın ortaya çıkışından 1-2 gün önce bu aralıktaki foliküllerde, gelecekteki dominant folikülün tespiti yapılmış ve ikinci ve üçüncü büyük olacak folikül ile maksimum boyut farkı gözlenmiştir

(Adams ve ark. 2008). Sunulan çalışmada zamana göre değişim eğiliminin yanı sıra grup zaman etkileşimi ortaya çıkmıştır. Her iki İZP grubunun 1 – 2,9 mm folikül yüzdesi zamanla azalma gösterirken, KONT gruplarının 1 – 2,9 mm folikül yüzdesinde zamanla artış görülmüştür. Önceki çalışmaların aksine bir grup içinde büyüme gösteren foliküllerin bir kısmının gelişimine devam etmediği veya daha yavaş bir gelişim gösterdiği düşünülmüştür. Buna karşın uterus içi uygulanan izoproterenolün foliküler gelişimin bu safhası üzerine olumlu etki gösterdiği ve foliküler gelişim üzerine olumlu etki ettiği görülmüştür. Bu görüş İZP gruplarında, 1–2,9 mm aralığındaki foliküllerin zamanla yüzdesel oranı azalırken, bir üst folikül grubu olan 3–4,9 mm arasındaki foliküllerin yüzdesel oranındaki artışla desteklenmiştir.

İneklerde foliküler dalga, 3–4 mm çapına ulaşan ve USG ile saptanabilen 8–41 adet küçük folikül gurubunun ani (2–3 gün içinde) büyümesi ile karakterizedir (Adams 1999). Bu gelişimin FSH ile desteklendiği, FSH'nın foliküllerin 4 – 5 mm çapa ulaşınca kadar yüksek konsantrasyonda seyrettiği ve bu aşamadan sonra folikül çapı deviasyon noktasına (yaklaşık 8.5 mm) ulaşınca kadar FSH konsantrasyonunun kademeli olarak düştüğü bildirilmiştir (Adams ve Singh 2021). Mapletoft ve ark. (2018), süperstimülasyon uygulaması sonrası >3 mm çapındaki folikül sayısının belirgin şekilde artırılabilirdiğini göstermiştir. Sunulan çalışmada, Mapletoft ve ark. (2018) tan farklı olarak, süpersitimülasyon yapılmadan İZP uygulanan gruplarda 3 – 4,9 mm çapındaki foliküllerin yüzdesi belirgin şekilde artırılabilmiştir. Bu durum uygulanan İZP'nin erken antral folikülleri besleyen damarlarda neden olduğu düşünülen vazodilatasyon ile ilişkilendirilmiştir (Tessaro ve ark. 2011). Nitekim UÇAP verilerinde İZP gruplarında belirgin bir numerik artış izlenmiştir. İZP-I grubunda hem 1 – 2,9 mm çapındaki foliküllerin yüzdesinin daha fazla düşmesi, hem de 3 – 4,9 mm çapındaki foliküllerin yüzdesinin belirgin şekilde artması ovulasyon sonrası ilk gün içinde yapılacak İZP uygulamalarının daha başarılı sonuç verebileceğini göstermiştir. KONT gruplarının her ikisinde de 3 – 4,9 mm'lik folikül yüzdesinde düşme gözlenmesi, foliküler havuzdan çıkan ve gelişmeye başlayan mevcut foliküllerin zaman içerisinde atreziye uğramasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür (Mihm ve blach 2003, Scarramuzzi ve ark.2011, Mapletoft ve ark. 2018).

Gruplar arasında orta ebatlı antral foliküllerin (5 – 6,9 mm’lik) yüzdesel oranları benzer bulunmuştur. Bu durum tüm gruplarda >5 mm üzerindeki foliküllerdeki gelişim sürecinin endojen salınan gonadotropinler etkisi altında gerçekleşmesiyle ilişkilendirilmiştir (Mihm ve Bleach 2003, Aerts ve Bols 2010, Kalkan ve Öcal 2015). Nitekim Rico ve ark. (2009) da süperovulasyon uygulamalarında 3 – 7 mm arasındaki foliküllerin gonadotropinlerle başarılı bir şekilde uyarılabildiğini öne sürmüştür. Diğer taraftan, İZP uygulaması sonrası 9. günde 5 – 6,9 mm’lik foliküllerin yüzdesel oranında istatistiksel olmayan bir artış gözlenmiştir. Bu durum 3 – 4,9 mm’lik foliküllerde olduğu gibi, orta büyüklükteki antral foliküllerin de İZP uygulamasından olumlu etkilendiğini düşündürmektedir.

Monoovulatör bir tür olan ineklerde bir östrus siklusunda iki veya daha fazla ovulatör büyüklükte folikülün gözlenebileceği bildirilmiştir (Martins ve ark. 2018, Lopez-Gatius ve ark 2022). Ancak ovulasyona gidecek folikül (>10 mm) haricindeki diğer foliküllerin 7 - 9 mm çapı olduğu, ancak belirli (folikül ablasyonu, FSH ve PMSG uyarımı) uygulamaların yapılması durumunda, bu ebattaki foliküllerin de ovulasyona gidebileceği belirtilmiştir (Lopez-Gatius ve ark 2022). Subordinat folikül olarak nitelendirilen bu foliküllerin ablasyonu sonrası, endojen olarak salınan FSH etkisiyle gelişimlerine devam edip dominant folikül haline gelebileceği ve ovulasyona gidebileceği bildirilmiştir (Ginther 2016; Lopez-Gatius ve ark. 2022). Özellikle 8 mm olan deviasyon noktasına ulaşan foliküllerin ortadan kaldırılmasıyla subordinat foliküllerin gelişmeye devam edebildiği bildirilmiştir (Ginther 2016). Bu çalışmada KONT gruplarında uygulama günlerinin sonuna doğru büyük foliküllerin yüzdesel oranının istatistiksel olmayan düşüşüne karşın, İZP gruplarındaki foliküllerin yüzdesel oranlarını koruması, İZP gruplarına kıyasla KONT gruplarında atreziye giden folikül sayısının daha fazla olabileceğini düşündürmüştür. Ancak sunulan çalışmada foliküler atreziye ilişkin herhangi bir değerlendirme yapılmamıştır.

Yukarıda da ifade edildiği gibi mono-ovulatör tür olarak kabul edilen ineklerde, bir östrus siklusunda genellikle tek ovulasyon görülmekle birlikte (Adams 1999), çoklu ovulasyonlar da görülebilir (Martins ve ark. 2018, Lopez-Gatius ve ark 2022). Sunulan tez çalışmasında preovulatör foliküllerin (≥ 9) yüzdesel olarak değerlendirilmesinde, Grup X Zaman interaksyonu ortaya çıkmamıştır. Bu durum, >5 mm foliküllerin gelişim safhasında lokal faktörlerden ziyade gonadotropinlerin

devreye girmesiyle ilişkilendirilmiştir (Mihm ve Bleach 2003, Aerts ve Bols 2010, Kalkan ve Öcal 2015). Diğer taraftan UÖ - G9 zaman aralığında, İZP grupları KONT gruplarına kıyasla daha fazla istatistiksel olmayan yüzdesel bir artış sergilemiştir. Bu durum bölgenin perfüzyonundaki ani artışı ile ilişkilendirilmiştir.

Ağırlıklı ortalama, bir veri kümesindeki her değer kendi özgül ağırlığı ile çarpılması ve ardından bunların toplamının toplam ağırlığa bölünmesiyle hesaplanan bir ortalama türüdür. Bu hesaplama, bazı değerlerin diğerlerinden daha önemli olduğu durumlarda kullanılmaktadır (Anonim 2023b). Her bir değer kendi özgül ağırlığı, yapılan hesaplamayı az ya da çok etkileyebilir. $(\sum Ni Wi) / Wi$ formülü ile ağırlıklı ortalama hesaplanır (Siegel 2016). Çalışmamızda farklı çaplarda folikül grupları ve sayılarının mevcut olması, ağırlıklı ortalama kullanılmayı zorunlu kılmıştır. Bu bağlamda TFSAO'nun Grup X Zaman interaksiyonunda zaman ilerledikçe İZP gruplarında artması, bölgesel perfüzyondaki artışın TFS'ye etki edebileceğini düşündürmüştür. KONT gruplarında ise TFSAO değerinde azalma meydana gelmesi, foliküler gelişimin fizyolojik sürecine bağlı olarak, foliküllerin atreziye uğraması ve gözden kaybolması ile ilişkilendirilebilir. Sonuç olarak TFSAO, istatistiki olmayan numerik artışları genel olarak ifade etmiştir.

4.3. Hormonal ve Metabolik Profil

Foliküler dalgalar, 8-10 günde bir şekillenen geçici FSH salınımı ile ortaya çıkmaktadır. Foliküler dalgalar döl verimi üzerine doğrudan etki ettiği için ekonomik öneme sahiptir (Kalkan ve Öcal 2015). Her bir folikül dalgası başlamadan önce plazma FSH konsantrasyonunun yükseldiği, foliküler dalganın başlamasıyla FSH konsantrasyonunun düştüğü bildirilmiştir (Sakaguchi ve ark. 2019). Foliküler dalganın oluşumuyla birlikte FSH seviyesi düşmeye başlar. Dominant folikülde ovulasyon ya da regresyon meydana gelene kadar düşük seviyede kalır (Kaneko ve ark. 1995). FSH'nın hem sekonder hem de tersiyer antral foliküllerin gelişmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Dierich ve ark. 1998). Araştırmacılar yüksek AFS'ye sahip olan ineklere göre düşük AFS'li ineklerde plazma FSH seviyesinin daha yüksek olduğunu ileri sürmüşlerdir (Sakaguchi ve ark. 2019). Sunulan çalışmada hem İZP gruplarında toplam antral folikül sayısının hem de FSH konsantrasyonunun zamana bağlı olarak numerik bir şekilde arttığı görüldü. FSH seviyesindeki bu artış İZP gruplarında 3 – 4,9

mm'lik foliküllerin yüzdesel artışı ile ilişkilendirilmiştir. Nitekim düveler üzerinde yapılan bir çalışmada, 4 – 5 mm'lik foliküller ebatlardan 6 – 7 mm'lik ebatlara kadar FSH seviyesinin arttığı ve daha sonra dominant folikül seçilimi ile beraber FSH seviyesi düştüğü bildirilmiştir (Adams ve ark. 1992).

TGF- β familyasının bir üyesi olan AMH, sadece gonadlarda, preantral ve antral foliküllerin granüloza hücrelerinden üretilir ve ovaryum foliküler rezervinin erken tükenmesini engelleyici bir modülatör işlevi görmektedir (Cardoso ve ark. 2018). Araştırmacılar, AMH düzeyi ile TAFS arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir (Jimenez-Krassel ve ark. 2015). Aynı zamanda embriyo transfer çalışmalarında inek seçimi için güvenilir bir biyobelirteç olarak kabul edilmiştir (Cardoso ve ark. 2018, Morotti ve ark. 2018). AMH düzeyinin İZP gruplarında yüksek bulunması, hem 3 – 4,9 mm'lik foliküllerin yüzdesinin artışı ve hem de ağırlıklı ortalamanın zamanla artışı ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle 5 mm çapa gelinceye kadar folikül içi üretimi artan AMH'nin (Rico ve ark. 2011), özellikle İZP gruplarında yüksek bulunması küçük antral folikül yüzdesindeki artış ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın, AMH konsantrasyonu bakımından Grup X Zaman etkileşiminin görülmemesi orta ve büyük çaptaki antral foliküllerden sentezinin düşmesi ile ilişkilendirilmiştir (Monniaux ve ark. 2010). Bunun yanında İZP gruplarında tespit edilen yüksek E2 ve FSH konsantrasyonu da Grup X Zaman etkileşiminin olmamasındaki bir diğer olası neden olarak görülmüştür. Çünkü artan E2 ve FSH düzeyinin, AMH üzerine baskılayıcı etki yaptığı bildirilmiştir (Rico ve ark. 2011).

Bir foliküler dalga başlangıcında artan ve birkaç gün içinde düşen kan FSH konsantrasyonu ve bunu takiben artan E2, IGF ve IGFBPs konsantrasyonu, foliküllerin seçimini (Fortune ve ark. 2004; Ning ve ark. 2008), subordinat foliküllerin oluşumunu ve sonrasında dominantlık sürecini belirlemektedir (Mihm ve ark. 2002, Gordon 2003). Seksüel siklusun 2. gününden itibaren dominant folikül ile diğerleri arasındaki her 1 mm'lik çap farkı, 3 – 4 kat daha fazla plazma E2 konsantrasyonunu ifade etmektedir (Fortune ve ark. 2004). Artan plazma E2 seviyesi, gelişen foliküllerin gonadotropin duyarlılığını artırırken, FSH'nın geçici sekresyonunu baskılamakta, yeni bir foliküler dalganın başlamasını engellemektedir. AFS, dolaşımdaki E2 seviyesine etki eden bir etkidir. AFS'si yüksek bulunan ineklerdeki E2 seviyesi, düşük AFS'li ineklere göre daha yüksek bulunmuştur (Sakaguchi ve ark. 2019). Sunulan çalışmada

TAFS, gruplar arasında benzer olmasına rağmen, İZP gruplarının ortalama E2 seviyesi KONT gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, İZP gruplarında ortaya çıkan numerik artışların yanında, yine İZP gruplarında ağırlıklı ortalamanın istatistiksel artışı yükselen E2 seviyesiyle ilişkilendirilmiştir.

Korpus luteum varlığı, ovaryumun aktif olduğunu gösteren belirteçlerden biridir. Korpus luteumdan salınan progesteron, embriyo gelişimi için olmazsa olmaz steroid hormondur (Pohler ve ark. 2012). Godkin ve ark. (1977) yaptıkları *in vitro* bir çalışmada, CL'de P4 üretiminin İZP etkisiyle siklik AMP sentezi üzerinden uyarıldığını göstermişlerdir. İzoproterenolün bu etkisi, İZP gruplarında ortalama olarak KONT gruplarından yüksek bulunmasını açıklamaktadır. Diğer taraftan, P4'ün CL yanında gelişmekte olan foliküllerden de sentezlendiği bilinir. E2/P4 oranı dominant foliküllerde E2 lehine artarken, subordinat foliküllerde P4 lehine değişim gösterir (Assey ve ark. 1994). Diöstrüs ve gebelik gibi CL'nin aktif olduğu dönemlerde AFS ve P4 seviyesi ilişkilendirilmiş ve yüksek AFS'li ineklerde düşük AFS'li ineklere göre P4 seviyesi daha yüksek bulunmuştur (Jimenez-Krassel ve ark. 2009, Martinez ve ark. 2016). Bu bağlamda sunulan tez çalışmasında, TAFS'ı ağırlıklı ortalama olarak zamana göre artan İZP gruplarında P4 seviyesinin KONT gruplarına göre yaklaşık olarak 1,5 kat daha fazla bulunması, İZP gruplarında artan foliküler gelişim ile ilişkilendirilmiştir. Ancak başka bir çalışmada daha büyük ovulatör folikül ve CL'nin varlığından dolayı, düşük TAFS'a sahip olan ineklerde yüksek TAFS'a sahip ineklere göre daha yüksek P4 seviyesi belirlenmiştir (Bonato ve ark. 2022).

Dolaşımdaki IGF-1 konsantrasyonu ile fertilité arasında pozitif bir ilişki vardır (Molina-Coto ve ark. 2020). Kalkan ve Öcal (2015), kandaki IGF-1 düzeyi ile foliküler gelişim arasındaki ilişkiyi detaylandırmıştır. Postpartum ovaryan aktivitenin erken başlaması IGF-1'in yükselmesi ilişkilendirilmiştir. Bu yönüyle folikül gelişimini gösteren belirteçlerdendir (Thatcher ve ark. 1996; Roberts ve ark. 1997). Başlıca üretim yeri karaciğer olan IGF-1, ovaryum dokusundan ve özellikle gelişmekte olan foliküllerin granüloza hücrelerinden izole edilmiştir (Echternkamp ve ark. 1994; Mazerbourg ve ark. 2003). Folikül içi sıvıda bulunan IGF-1, *in vitro* çalışmalarda folikül hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı ve hem foliküler hem de luteal hücrelerde gonadotropinlerin uyarımıyla steroidogenezi artırdığı görülmüştür (Echternkamp ve ark. 1994). Gonadotropinler üzerine sinerjik etkisi de bilinen

özelliklerindendir (Armstrong ve ark. 2000). Bu yönüyle çalışmamızda steroid hormonların ve FSH'ın, İZP gruplarında KONT gruplarına göre yüksek çıkmasında IGF-1 düzeyinin yüksekliğinin etkili olduğu söylenebilir. Bu durumu destekler özellikte başka bir çalışmada, deviasyon noktasına ulaşan folikülün (8,5 mm) ablasyonu sonrasında subordinat folikülün folikül içi sıvısındaki IGF-1 ve E2 düzeyinin arttığı görülmüştür (Ginther 2016).

Folikül gelişim sürecinin başlangıcında FSH etkisi altında artan östradiol ve IGF (özellikle IGF-1), foliküler havuzdan çıkan aday folikülleri IGFBP'ye karşı korumaktadır (Silva ve ark. 2009). IGFBP3 hem kan serumunda hem de foliküler sıvıda tespit edilmiş, IGF-1 ve 2'yi inhibe ederek foliküler gelişimde düzenleyici rol oynadığı gösterilmiştir (Fortune ve ark. 2004; Cunha-Filho ve ark. 2005). IGFB-3 ile insanlarda gebe kalma arasında negatif korelasyon olduğu, infertil kadınların folikül içi sıvılarında IGFBP-3 seviyesinin daha yüksek olduğu ve sütçü ineklerin periferik dolaşımında IGFBP-3 konsantrasyonunun yüksek olması, düşük bir fertilité varlığının göstergesi olduğu ileri sürülmüştür (Grimard ve ark. 2013). Bu yönüyle sunulan tez çalışmasında, İZP gruplarında IGFBP-3 seviyesinin yüksekliği artan folikül gelişimine karşı tıpkı AMH'ta olduğu gibi bir koruma mekanizması olarak yorumlanmıştır. Öte yandan, IGF'lerin %90'ının IGFBP-3'e bağlanarak hedef hücrelere taşınmıyor olması (Wathes 2012), yüksek IGF-1 varlığına paralel olarak artmış olabileceğini de düşündürmüştür. Tam tersine KONT gruplarında düşük IGF-1 düzeyine karşılık, İZP gruplarında izlenen daha düşük IGFBP-3 düzeyi yine aynı hipotez ile ilişkilendirilmiştir.

Sütçü ineklerde, NEB'i gösteren bir biyobelirteç olan BHBA'nın (Daudon ve ark. 2022) foliküler gelişim üzerine olumsuz etkileri bilinmektedir (Gong ve ark. 2022, Missio ve ark. 2022). Nitekim intrafoliküler BHBA enjeksiyonun folikül çapını küçülttüğü ve *in vitro* kültürde granüloza hücrelerinden E2 ve P4 üretimini azalttığı belirlenmiştir (Missio ve ark. 2022). Ayrıca IGF-1 seviyesini düşürerek foliküler gelişim üzerine negatif etki oluşturduğu bildirilmiştir (Matoba ve ark. 2012). BHBA'nın dolaşımdaki normal seviyesi <1 mmol/L (1000 nmol/ml) olarak kabul edilmektedir. BHBA konsantrasyonun 1.0 - 1.4 mmol/L (1000 – 1400 nmol/ml) seviyeleri arasında olması subklinik ketozis, ≥ 2.9 mmol/L seviyesinde saptanması klinik ketosiz (2900 nmol/ml) tanısı için kullanılmaktadır (Fiore ve ark. 2020).

Sunulan çalışmada BHBA değerlerini mmol/L'ye göre hesaplandığında bütün gruplardaki değerlerin normal seviyelerde olduğu anlaşılmıştır. Gruplar arası kıyaslamada ise İZP grupları KONT gruplarına göre ortalama olarak yüksek çıktığı ancak elde edilen düzeylerin foliküler gelişimi baskılayacak seviyede olmadığı belirlenmiştir. Bu durum, ketozis oluşumu için geç bir dönemde örnekleme yapılmasıyla ilişkilendirilmiştir. Nitekim subklinik ve klinik ketozis oluşumu için beklenen zaman aralığı laktasyonun ilk iki haftasıdır.

Kolesterol, steroid hormonların yapı taşıdır (Doğan 2005). Sunulan çalışmada kolesterolün yanı sıra incelenen her iki steroid yapıli hormonda (E2 ve P4), KONT gruplarına kıyasla İZP gruplarında daha yüksek bulunmuştur. Bu durum kolesterol ve steroid hormonlar arasındaki pozitif ilişki ile açıklanmıştır. Ek olarak, yüksek AFS'li ineklerden elde edilen embriyolarda düşük AFS'li ineklerden elde edilen embriyolara göre daha az kolesterol seviyesi belirlenmiş olup bu durum kolesterolün, antral folikül gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Rosa ve ark. 2021). Folikül çapı ile foliküler sıvıdaki kolesterol seviyesi arasındaki ilişkiyi açıklayan çalışmalarda birbiri ile çelişen sonuçlar bildirilmiştir. Tabatabaei ve ark. (2011) folikül çapı ile kolesterol seviyesi arasında negatif, Leroy ve ark. (2011) pozitif bir korelasyon bildirmiştir. Ek olarak, ineklerde serum kolesterol düzeyinin 50 mg/dl'nin üzerinde olması ile Ovum-Pick Up (OPU)'a uygun folikül sayısının yüksek olduğu gözlenmiştir (Pfeifer ve ark. 2009). Ayrıca insanlarda Polikistik Over Sendrom (PCOS)'u konu alan çalışmalarda, yüksek total kolesterol seviyesi ile yüksek AMH seviyesi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (Skalba ve ark. 2011, Rios ve ark. 2020). Sunulan çalışmada TFSAO daha yüksek olan İZP grubunda, kolesterol miktarının daha yüksek olduğunun görülmesi literatürle uyumlu bulunmuştur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Sunulan tez çalışması ile klinik olarak ilk defa intrauterin yoldan denenilen İZP'nin, bu yolla kullanılacak dozu belirlenmiş olup sağlanan vazodilatör etki gelecekte planlanan çalışmalar için temel alınabilir hale getirilmiştir. Ayrıca intrauterin uygulanan İZP'nin hem *a. ovarica*'da hem de *a. uterina media*'da etkisi klinik olarak gösterilmiş olup perfüzyona ilişkin Doppler parametrelerinde istatistiksel fark oluşturmadığı belirlenmiştir.

2. Arter (*a. ovarica* ve *a. uterina media*) çaplarında sağlanan genişleme ve atım sayısındaki artış ile ovaryumdaki folikül gelişimine olumlu şekilde etki edilebileceği görülmüştür. Nitekim gonadotropinlerden bağımsız büyüyen aday foliküllerin (3 - 4.9 mm) yüzdesinin İZP gruplarında anlamlı artışının, hormon ve büyüme faktörlerinden ileri geldiği düşünülmektedir.

3. İZP'nin TAFS'larda ağırlıklı ortalamayı uygulama sonrasında zamanla artırması, bu anlamda olumlu etkisini göstermiş olup süperovulasyon uygulamalarında, ovulasyon belirlenen ineklerde İZP kullanımı sonrası (1. veya 2. gün) protokollere ilave edilen gonadotropin kullanımı ile (FSH, PMSG) maksimum verim alınabileceği düşünülmektedir.

4. Metabolik profil analizinde, incelen tüm hormonlarda İZP gruplarının KONT gruplarına göre istatistiksel olarak üstünlüğü göze çarpmaktadır. Grup X Zaman interaksiyonu oluşmamasına rağmen, tabloda İZP gruplarında uygulama sonrasındaki günlerde numerik artışlar belirgindir. İZP grupları arasında İZP-I grubu özellikle TAFS'ın biyobelirteci olan AMH'da belirgin bir numerik artış gözlenmiştir. Bu sayede İZP uygulama için en uygun günün ovulasyon sonrası 1. gün olabileceği sonucuna varılmıştır.

5. Elde edilen bulgular ışığında, ovulasyon sonrası intrauterin yoldan uygulanan izoproterenolün, folikül ve oosit eldesinin artırılmasının hedeflendiği çalışmalarda, hormon ihtiyacını azaltmak veya hormon duyarlılığını artırmak amacıyla “yardımcı

teknik” olarak kullanılabileceği ve ayrıca ovaryum aktivitesinde yetersizlik (Özellikle Tip 2 anöstrus durumları) görülen infertil ineklerde, hormonal tedaviye “yardımcı” bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği görülmüştür.

6. Çalışmanın süresi ve bütçesi dikkate alınarak minimum hayvan sayısı üzerinde denenen İZP’nin, gelecekte daha fazla sayıda inek üzerinde çalışılmasıyla verilerin güvenilirliğinin ve tekrarlanabilirliğinin sağlanabileceği, bu şekilde veteriner jinekolojide yeni bir yöntem olarak uygulamaya alınabileceği öngörülmüştür. Bununla birlikte İZP uygulaması sonrası *in vivo* ve *in vitro* şartlarda elde edilen embriyo sayıları ve embriyo gelişimini konu alan araştırmalar planlanmalıdır.



6. KAYNAKLAR

- Abdelnaby EA, Abo El-Maaty AM, El-Badry DA:** Ovarian and uterine arteries blood flow waveform response in the first two cycles following superstimulation in cows. *Reprod Domest Anim*, 55(6): 701-710, 2020.
- Abdelnaby EA, El-Maaty AMA, Ragab RS, Seida AA:** Dynamics of uterine and ovarian arteries flow velocity waveforms and their relation to follicular and luteal growth and blood flow vascularization during the estrous cycle in Friesian cows. *Theriogenology*, 121: 112-121, 2018.
- Abdelnaby EA:** Hemodynamic changes evaluated by Doppler ultrasonographic technology in the ovaries and uterus of dairy cattle after the puerperium. *Reprod Biol*, 20(2): 202-209, 2020.
- Aboueela YS, Yasin NA, Khattab MA, El-Shahat KH, Abdelnaby EA:** Ovarian, uterine and luteal hemodynamic variations between pregnant and non-pregnant pluriparous Egyptian buffalos with special reference to their anatomical and histological features. *Theriogenology*, 173: 173-182, 2021.
- Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P:** Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69(1): 72-80, 2008.
- Adams GP, Singh J:** Ovarian follicular and luteal dynamics in cattle. In: Richard M, Hopper DVM, Diplomate ACT (Eds): Bovine reproduction, John Wiley & Sons, New Jersey, USA, p. 292-323, 2021.
- Adams GP:** Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil (Suppl)*, 54: 17-32, 1999.
- Aerts JMJ, Bols PEJ:** Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reprod Domest Anim*, 45(1): 180-187, 2010.
- Ahmed LA, Hassan OF, Galal O, Mansour DF, El-Khatib A:** Beneficial effects of benfotiamine, a nadph oxidase inhibitor, in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Plos One*, 15(5): 1-17, 2020.
- Aldrich JE:** Basic physics of ultrasound imaging. *Crit Care Med*, 35(5): S131-S137, 2007.
- Ali A, Redfors B, Lundgren J, Alkhoury J, Oras J, Gan LM, Omerovic E:** The importance of heart rate in isoprenaline-induced takotsubo-like cardiac dysfunction in rats. *ESC Heart Fail*, 7(5): 2690-2699, 2020.
- Anonim a:** Ağırlıklı Ortalama, <https://piyasarehberi.org/sozluk/agirlikli-ortalama>, Erişim: 20.07.2023.
- Anonim b:** Isoproterenol Hydrochloride Injection, https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/010515s031lbl.pdf, Erişim: 01.07.2023.
- Ansari MA, Iqubal A, Ekbbal R, Haque SE:** Effects of nimodipine, vinpocetine and their combination on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Biomed Pharmacother*, 109: 1372-1380, 2019.
- Arı UÇ, Pancarcı ŞM, Kaçar C, Güngör O, Lehimcioğlu NC, Öztürkler Y, Yıldız S:** Effect of progestagen application during ovsynch protocol on pregnancy rates of lactating-grazing cows. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23 (2): 320-324, 2017.

- Armstrong DG, Gutierrez CG, Baxter G, Glazyrin AL, Mann GE, Woad KJ, Hogg CO, Webb R:** Expression of mRNA encoding IGF-I, IGF-II and type 1 IGF receptor in bovine ovarian follicles. *J Endocrinol*, 165: 101–113, 2000.
- Armstrong DT:** Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology*, 39(1): 7-24, 1993.
- Assey RJ, Hyttel P, Greve T, Purwantara B:** Oocyte morphology in dominant and subordinate follicles. *Mol Reprod Dev*, 37: 335-344, 1994.
- Aziz RA, Khalil AAY, Abdel-Wahab A, Hassan NY, Abdel-Hamied E, Kasimanickam RK:** Relationship among circulating anti-Müllerian hormone, insulin like growth factor 1, cadmium and superovulatory response in dairy cows. *Theriogenology*, 100: 72-79, 2017.
- Baird DT:** Prostaglandin F₂ α and ovarian blood flow in sheep. *J Endocrinol*, 62(2): 413-414, 1974.
- Beltrame RT, Covre C, Littig LB, de Barros Martins A, Quirino CR, Junior AB, da Costa RLD:** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in ewes during pregnancy. *Theriogenology*, 91: 55-61, 2017.
- Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Co K, Weber KT, Clarc WA:** Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res*, 65(3): 657-70, 1989.
- Benslimane FM, Alser M, Zakaria ZZ, Sharma A, Abdelrahman HA, Yalcin HC:** Adaptation of a mice doppler echocardiography platform to measure cardiac flow velocities for embryonic chicken and adult zebrafish. *Front Bioeng Biotechnol*, 96(7): 1-17, 2019.
- Bhalla RC, Sanborn BM, Korenman SG:** Hormonal interactions in the uterus: inhibition of isoproterenol-induced accumulation of adenosine 3': 5'-cyclic monophosphate by oxytocin and prostaglandins. *Proc Natl Acad Sci*, 69(12): 3761-3764, 1972.
- Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF:** Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*, 78(3-4): 307- 26, 2003.
- Bodensteiner KJ, Kot K, Wiltbank MC, Ginther MC:** Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. *Theriogenology*, 45(6): 1115-1128, 1996.
- Bollmann P, Werner F, Jaron M, Bruns TA, Wache H, Runte J, Boknik P, Kirchhefer U, Müller FU, Buchwalow IB, Rothmund S, Neumann J, Gergs U:** Initial characterization of stressed transgenic mice with cardiomyocyte-specific overexpression of protein phosphatase 2C. *Front Pharmacol*: 11: 591773, 2021.
- Bollwein H, Baumgartner U, Stolla R:** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. *Theriogenology*, 57(8): 2053–2061, 2002a.
- Bollwein H, Heppelmann M, Lüttgenau J:** Ultrasonographic Doppler use for female reproduction management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 32(1): 149-164, 2016.

- Bollwein H, Meyer HHD, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R:** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology*, 53(8): 1541-1552, 2000.
- Bonato DV, Ferreira EB, Gomes DN, Bonato FGC, Droher RG, Morotti F, Seneda MM:** Follicular dynamics, luteal characteristics, and progesterone concentrations in synchronized lactating Holstein cows with high and low antral follicle counts. *Theriogenology*, 179: 223–229, 2022.
- Bruckmaier R, Blum J:** B-Mode Ultrasonography of mammary glands of cows, goats and sheep during α - and β -adrenergic agonist and oxytocin administration, *J Dairy Res*, 59(2): 151-159, 1992.
- Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JL, Knight PG, Ireland JJ:** Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Bio Reprod*, 73(1): 54-62, 2005.
- Cardoso CJT, De Oliveira JS, Junior HK, Da Silva WAL, Da Silva Arruda ED, Souza-Cáceres MB, de Oliveira FAM, Nogueira E, Nogueira GP, De Andrade Melo-Sterza F:** Anti-müllerian hormone (AMH) as a predictor of antral follicle population in heifers. *Anim Reprod*, 15(1): 12, 2018.
- Carrière PD, Gnemmi G, DesCôteaux L, Matsui M, Miyamoto A, Colloton J:** Bovine Ovary. In: DesCôteaux L, Colloton J, Gnemmi G (Eds): Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography. p. 44-45, John Wiley & Sons, New Jersey, 2009.
- Center K, Dixon D, Looney C, and Rorie R:** Anti-Mullerian hormone and follicle counts as predictors of superovulatory response and embryo production in beef cattle. *Adv Reprod Sci*, 6: 22–33, 2018.
- Chandolia RK:** Applications of transabdominal ultrasonography in bovine reproduction: A review. *Buffalo Bull*, 41(2): 225-240, 2022.
- Cunha-Filho JSLD, Lemos NA, Freitas FMD, Facin AC, Gewher-Filho PE, Passos EP:** Insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-1 and 3 in the follicular fluid of infertile patients submitted to in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet*, 22: 207-211, 2005.
- Daudon M, Ramé C, Estienne A, Price C, Dupont J:** Impact of fibronectin type III domain-containing family in the changes in metabolic and hormonal profiles during peripartum period in dairy cows. *Front Vet Sci*, 9: 960778, 2022.
- De Lima MA, Morotti F, Bayeux BM, De Rezende RG, Botigelli RC, De Bem THC, Fontes PK, Nogueira MFG, Meirelles FV, Baruselli PS, da Silveira JC, Perecin F, Seneda MM:** Ovarian follicular dynamics, progesterone concentrations, pregnancy rates and transcriptional patterns in bos indicus females with a high or low. antral follicle count. *Sci Rep*, 10(1): 1-13, 2020.
- Demir MC:** İneklerde Gebeliğin Son Döneminde Plasentom Perfüzyonu ve Ekotekstür Bulguları ile Endokrin Değişiklikler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Kars, 2021.

- Derar R, Hussein HA, Fahmy S, El-Sherry TM, Megahed G:** The effect of parity on the efficacy of an ovulation synchronization (ovsynch) protocol in buffalo (*Bubalus Bubalis*). *Anim Reprod*, 9(1): 52-60, 2018.
- DesCôteaux L, Gnemmi G, Colloton J:** Ultrasonography of the bovine female genital tract. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 25(3): 733-752, 2009.
- Díaz PU, Belotti EM, Notaro US, Salvetti NR, Leiva CJM, Durante L I, Marelli BE, Stangaferro ML, Ortega HH:** Hemodynamic changes detected by Doppler ultrasonography in the ovaries of cattle during early development of cystic ovarian disease. *Anim Reprod Sci*, 209: 106164, 2019.
- Dierich A, Sairam MR, Monaco L, Fimia GM, Gansmuller A, LeMeur M, Sassone-Corsi P:** Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proc Natl Acad Sci*, 95(23): 13612-13617, 1998.
- Dinç DA:** Ultrason fiziği ve İneklerde Reprodüktif Ultrasonografi, 1st ed. Konya, 2008.
- Dixit CP, Haloi S:** Clinical application of ultrasound in bovine reproduction: A review. *Pharma Innovation*, SP-11(8): 1311-1314, 2022.
- Doğan P:** Steroidlerin biyosentezi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 1(3): 8-13, 2005.
- Dowsett DJ, Kenny PA, Johnston RE:** The Physics of Diagnostic Imaging. 2nd ed. CRC Press, London. 511-531, 2006.
- Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JTT, Grootegoed JA, Themmen AP:** Anti-mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology*, 142(11): 4891-4899, 2001.
- Echternkamp SE, Howard HJ, Roberts AJ, Grizzle J, Wise T:** Relationships among concentrations of steroids, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding proteins in ovarian follicular fluid of beef cattle. *Biol Reprod*, 51(5): 971-981, 1994.
- Elmetwally M, Rohn K, Meinecke-Tillmann S:** Noninvasive color Doppler sonography of uterine blood flow throughout pregnancy in sheep and goats. *Theriogenology*, 85(6): 1070-1079, 2016.
- Engvall E, Perlmann P:** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9): 871-874, 1971.
- Erdoğan G:** Veteriner jinekolojide Doppler ultrasonografi kullanım alanları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 4(1): 43-9, 2018.
- Evans AC:** Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domest Anim*, 38(4): 240-6, 2003.
- Fitzgerald DE, O'shaughnessy AM:** Cardiac and peripheral arterial responses to isoprenaline challenge: *Cardiovasc Res*, 18(7): 414-418, 1984.

- Fiore E, Tessari R, Morgante M, Giancesella M, Badon T, Bedin S, Mazzotta E, Berlanda M:** Identification of plasma fatty acids in four lipid classes to understand energy metabolism at different levels of ketonemia in dairy cows using thin layer chromatography and gas chromatographic techniques (TLC-GC). *Anim*, 10(4): 571, 2020.
- Fitzgerald DE, Harry JD:** The use of Doppler ultrasound techniques to study the effects of isoprenaline and beta-adrenoceptor blocking drugs on peripheral blood vessels in man. *Br J Clin Pharmacol*, 17(6): 773-776, 1984.
- Fortune JE, Rivera GM, Yang MY:** Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*, 82: 109-126, 2004.
- Fortune JE, Sirois J, Turzillo AM, Lavoie M:** Follicle selection in domestic ruminants. *J Reprod Fertil Suppl*, 43(1): 187-98, 1991.
- Fricke PM:** Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85(8):1918-26, 2002.
- Garcia-Guerra A, Tribulo A, Yapura J, Adams GP, Singh J, Mapletoft RJ:** Lengthened superstimulatory treatment in cattle: evidence for rescue of follicles within a wave rather than continuous recruitment of new follicles. *Theriogenology*, 84(3): 467-476, 2015.
- Garcia-Guerra A, Wiltbank MC, Battista SE, Kirkpatrick BW, Sartori R:** Mechanisms regulating follicle selection in ruminants: lessons learned from multiple ovulation models. *Anim Reprod*, 15: 660-679, 2018.
- Ghorbanihaghjo A, Argani H, Foroughimoghaddam H, Safa J, Rashtchizadeh N, Mesgari M:** Effect of isoproterenol on cyclosporine-induced nephrotoxicity in rat. *Transplant Proc*, 40(10): 3737-3741, 2008.
- Ginther OJ, Utt MD:** Doppler ultrasound in equine reproduction: Principles, techniques, and potential. *J Equine Vet Sci*, 24: 516-526, 2004.
- Ginther OJ:** The theory of follicle selection in cattle. *Domest Anim Endocrinol*, 57: 85-99, 2016.
- Godkin JD, Black DL, Duby RT:** Stimulation of cyclic AMP and progesterone synthesis by LH, PGE2 and isoproterenol in the bovine CL in vitro. *Biol Reprod*, 17(4): 514-518, 1977.
- Gomes TJS:** Equine corpus luteum vascular evaluation by power-Doppler ultrasound. Universidade Técnica De Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária. Doctoral Thesis, Lisboa, 2008.
- Gong J, Zhao S, Heng N, Wang Y, Hu Z, Wang H, Zhu H:** The dynamic transcription profiles of proliferating bovine ovarian granulosa when exposed to increased levels of β -hydroxybutyric acid. *Front Vet Sci*, 9: 915956, 2022.
- Gordon I:** Laboratory Production of Cattle Embryos. 2nd ed. CABI Publishing International, Oxfordshire, p. 1-39, 2003.

- Goyal S, Bharti S, Sahoo CK, Sharma KA, Arya DS:** Valsartan, an angiotensin II receptor blocker, attenuates cardiac dysfunction and oksidative stress in isoproterenol-induced cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol*, 11: 148-56, 2011.
- Grimard B, Marquant-Leguienne B, Remy D, Richard C, Nuttinck F, Humblot P, Ponter AA:** Postpartum variations of plasma IGF and IGFBPs, oocyte production and quality in dairy cows: relationships with parity and subsequent fertility. *Reprod Domest Anim*, 48(2): 183-194, 2013.
- Gürler H, Fındık M:** Dişi sisteminin morfolojisi. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A (Eds): Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji. p. 33-39, Medipres, Malatya, 2019.
- Güven T:** İsopterrenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda vinpocetinin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin incelenmesi. İnönü Üniv, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Malatya, 2016.
- Gyongyosi A, Zilinyi R, Czegledi A, Tosaki A, Tosaki A, Lekli I:** The role of autophagy and death pathways in dose-dependent isoproterenol-induced cardiotoxicity. *Curr Pharm Des*, 25(19): 2192-2198, 2019.
- Hassan M, Arshad U, Erdoğan G, Ahmad N:** Evaluation of haemodynamic changes of uterine arteries using Doppler ultrasonography during different stages of pregnancy in *Bos indicus* cows. *Reprod Domest Anim*, 55(10): 1425-1433, 2020.
- Hassan M, Sattar A, Bilal M, Avais M, Ahmad N:** Evaluation of changes in blood flow of the uterine artery by Doppler ultrasonography during the estrous cycle in lactating *Bos indicus* cows. *Anim Reprod Sci*, 184: 78-85. 2017.
- Herzog K, Bollwein H:** Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reprod Domest Anim*, 42(s2), 51-58, 2007.
- Honnens A, Niemann H, Herzog K, Paul V, Meyer HHD, Bollwein H:** Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 113(1-4): 1-10, 2009.
- Hozumi T, Yoshida K, Akasaka T, Asami Y, Kanzaki Y, Ueda Y, Yamamuro AMD, Takagi TMD, Yoshikawa JMD:** Value of acceleration flow and the prestenotic to stenotic coronary flow velocity ratio by transthoracic colour Doppler echocardiography in noninvasive diagnosis of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 35:164–8, 2000.
- Inderwies T, Riedl J, Kiossis E, Bruckmaier RM:** Effects of a-and b-adrenergic receptor stimulation and oxytocin receptor blockade on milking characteristics in dairy cows before and after removal of the teat sphincter. *J Dairy Res*, 70: 289–292, 2002.
- Ireland JJ, Mihm M, Austin E, Diskin MG, Roche JF:** Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements, and terms. *J Dairy Sci*, 83(7): 1648-1658, 2000.
- Ireland JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO:** Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with fsh

concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Hum Reprod*, 22(6): 1687-1695, 2007.

Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JL, Smith GW, Hou X, Davis JS, Lonergan P, Evans ACO, Ireland JJ: Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biol Reprod*, 80: 1272-1281, 2009.

Jimenez-Krassel F, Scheetz DM, Neuder LM, Ireland JLH, Pursley JR, Smith GW, Tempelman RJ, Ferris T, Rousebush WE, Mossa F, Lonergan P, Ireland JJ: Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *J Dairy Sci*, 98(5): 3036-3045, 2015.

Kalkan C, Öcal H: Üreme fizyolojisi. İçinde: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (Eds): Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji. Medipress, Malatya s. 13-44, 2015.

Kaneko H, Kishi H, Watanabe G, Taya K, Sasamoto S, Hasegawa Y: Changes in plasma concentrations of immunoreactive inhibin, estradiol and FSH associated with follicular waves during the estrous cycle of the cow. *J Reprod Dev*, 41(4): 311-320, 1995.

Kavurmacı SA: İn-vitro fertilizasyon (ivf) tedavisinde implantasyon başarısının endometriyal renkli Doppler dinamik doku perfüzyon ölçümü ile değerlendirilmesi. Ege Üniv, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Doktora tezi, İzmir, 2017.

Kaya M: The evaluation of renal hemodynamics with Doppler ultrasonography. In: Artis AS (Ed): Hemodynamics-New diagnostic and therapeutic approaches. p. 1- 30. Intech, Croatia, 2012.

Khan A, Iqbal A, Wasim M, Syed MA, Haque SE: D-pinitol attenuates isoproterenol-induced myocardial infarction by alleviating cardiac inflammation, oxidative stress and ultrastructural changes in Swiss albino mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 49(11): 1232-1245, 2022.

King AM: Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals. *Vet J*, 171(3): 408-420, 2006.

Knopf L, Kastelic JP, Schallenberger E, Ginther OJ: Ovarian follicular dynamics in heifers - test of 2-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domest Anim Endocrinol*, 6(2): 111-119, 1989.

Koca M: Alkil süstitüsyonunun farmasötik kimya açısından önemi. In: Yamali C (Eds): Eczacılıkta Güncel Araştırmalar. p. 219-237, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 2023.

La Marca A, Volpe A: Anti-müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool?. *Clin Endocrinol*, 64(6): 603-610, 2006.

Lamond DR, Drost M: Blood supply to the bovine ovary. *J Anim Sci*, 38(1): 106-112, 1974.

Leroy JLMR, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PEJ, de Kruif A: 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): 201-211, 2004.

- López-Gatius F, Llobera-Balcells M, Palacín-Chauri RJ, Garcia-Ispuerto I, Hunter RHF:** Follicular size threshold for ovulation reassessed. Insights from multiple ovulating dairy cows. *Animal*, 12(9):1140, 2022.
- Mannion P:** Principles of diagnostic ultrasound. In: Mannion P (Ed): Diagnostic ultrasound in small animal practice. p. 1-19, Blackwell Publishing, 2006.
- Mapletoft RJ, Guerra AG, Dias FCF, Singh J, Adams GP:** In vitro and in vivo embryo production in cattle superstimulated with FSH for 7 days. *Anim Reprod*, 12(3): 383-388, 2018.
- Martinez MF, Sanderson N, Quirke LD, Lawrence SB, Juengel JL:** Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. *Theriogenology*, 85(3): 466-475, 2016.
- Martinoli C, Pretolesi F, Crespi G, Bianchi S, Gandolfo N, Valle M, Derchi LE:** Power Doppler sonography: clinical applications. *Eur J Radiol*, 28: 133-140, 1998.
- Martins JPN, Wang D, Mu N, Rossi GF, Martini AP, Martins VR, Pursley JR:** Level of circulating concentrations of progesterone during ovulatory follicle development affects timing of pregnancy loss in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 101(11): 10505-10525, 2018.
- Matoba S, O'Hara L, Carter F, Kelly AK, Fair T, Rizos D, Lonergan P:** The association between metabolic parameters and oocyte quality early and late postpartum in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, 95(3): 1257-1266, 2012.
- Maulik D, Mundy D, Bennett T:** Umbilical artery Doppler sonography for fetal surveillance: Principles and practice. In: Winn HN, Chervenak FA, Romero R (Eds): Clinical maternal-fetal medicine. pp. 66.1-14, CRC Press. USA, 2021
- Mazerbourg S, Bondy CA, Zhou J, Monget P:** 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: 247-258, 2003.
- Meola M, Ibeas J, Lasalle G, Petrucci I:** Basics for performing a high-quality color Doppler sonography of the vascular access. *J Vasc Access*, 22(1_suppl): 18-31, 2021.
- Mihm M, Bleach ECL:** Endocrine regulation of ovarian antralfollicle development in cattle. *Anim Reprod Sci*, 78: 217-237, 2003.
- Mihm M, Crowe MA, Knight PG, Austin EJ:** Follicle wave growth in cattle. *Reprod Domest Anim*, 37(4): 191-200, 2002.
- Missio D, Fritzen A, Vieira CC, Ferst JG, Fiorenza MF, de Andrade LG, de Menezes Bisneto BM, Rovani MT, Gasperin BG, Gonçalves PBD, Ferreira R:** Increased β -hydroxybutyrate (BHBA) concentration affect follicular growth in cattle. *Anim Reprod Sci*, 243: 107033, 2022.

- Molina-Coto R, Moore SG, Mayo LM, Lamberson WR, Poock SE, Lucy MC:** Ovarian function and the establishment and maintenance of pregnancy in dairy cows with and without evidence of postpartum uterine disease. *J Dairy Sci*, 103(11): 10715-10727, 2020.
- Monniaux D, Rico C, Larroque H, Dalbies-Tran R, Médigue C, Clément F, Fabre S:** Anti-Müllerian hormone, an endocrine predictor of the response to ovarian stimulation in the bovine species. *Gynécol, obstét fertil*, 38(7-8): 465-470, 2010.
- Morotti F, Barreiros TRR, Machado FZ, González SM, Marinho LSR, Seneda MM:** Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? *Anim Reprod*, 12(3): 479-486, 2018.
- Morotti F, Zangirolamo AF, da Silva NC, da Silva CB, Rosa CO, Seneda MM:** Antral follicle count in cattle: advantages, challenges, and controversy. *Anim Reprod*, 14(3): 414-420, 2017
- Mossa F, Walsh SW, Butler ST, Berry DP, Carter F, Lonergan P, Smith GW, Ireland JJ, Evans AC:** Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, 95(5): 2355-2361, 2012.
- Murugesan M, Revathi R, Manju V:** Cardioprotective effect of fenugreek on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Indian J Pharmacol*, 43(5): 516, 2011.
- Nambiar VK, Chalappurath DR:** Thrombotic tendencies in excess catecholamine states. In: Uçar A (Ed): Biogenic amines in neurotransmission and human disease. p.65-78. Intech, UK, 2019.
- Nasser LF, Sá Filho MF, Reis EL, Rezende CR, Mapletoft RJ, Bó GA, Baruselli PS:** Exogenous progesterone enhances ova and embryo quality following superstimulation of the first follicular wave in nelore (*Bos Indicus*) donors. *Theriogenology*, 76(2): 320-327, 2011.
- Ning Y, Schuller AG, Conover CA, Pintar JE:** Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-4 is both a positive and negative regulator of IGF activity in vivo. *Mol Endocrinol*, 22(5): 1213-1225, 2008.
- Noakes DE:** Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: Noakes DE, Parkinson TJ, Englan GCW (Eds): Veterinary reproduction and obstetrics. p. 3-58, Saunders Elsevier Publishing, Edinburgh, 2009.
- Nunez-Olivera R, Bo G, Menchaca A:** Use of eCG associated with IATF treatment in *Bos taurus* cows. *Summa Animalia da Reddito*, 12(4): 45-52, 2017.
- O'Brein GD, Queenan JT, Campbell S:** Assessment of gestational age in the second trimester by real-time ultrasound measurement of the femur length. *Am J Obstet Gynecol*, 139(5): 540-545, 1981.
- Obese FY:** Concentrations of Insulin-like growth factor-1 (IGF-I) and Insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) in the plasma and milk of pasture-fed dairy cows in early lactation, The University of Melbourne Australia. School of Agriculture and Food Systems Institute of Land and Food Resources. Doctoral Thesis, Melbourne, 2003.

- Ohlerth S, Kaser-Hotz B:** A review of Doppler sonography for the assessment of tumour vascularity. *Vet Comp Oncol*, 1(3): 121-130, 2003.
- Oliveira MEF, Fonseca JF, Vicente WRR, Rodrigues NN, Vergani GB, Souza-Fabjan JMG, Bartlewski PM:** Are the spectral Doppler indices of ovarian arteries indicative of antral follicular development and predictive of ovulatory responses and embryo yields in superovulated ewes? *Reprod Biol*, 19(4): 394-403, 2019.
- Özkaptan BB:** Dolaşım Bozuklukları. In: Sağır D, Özkaptan BB (Eds): Histopatoloji. p. 41-61, Akademisyen Yayınevi, Ankara, 2022.
- Panarace M, Garnil C, Marfil M, Jauregui G, Lagioia J, Luther E, Medina M:** Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. *Theriogenology*, 66(9): 2113e9, 2006.
- Pandey AC, Smith MR, Olson N, Price MJ, Gibson DN:** When smoke does not always mean there is fire: using isoproterenol for better visualization of the left atrial appendage prior to transcatheter closure. *JACC Clin Electrophysiol*, 5(1): 136-137, 2019.
- Pfeifer LFM, Pivato I, Rumpf R, Dionello NJL, Schneider A, Goulart MA, Corrêa MN:** Cholesterol levels affect the quantity of follicles in beef cattle ovum pick-up. *Arch de Zootec*, 58(221): 153-156, 2009.
- Pfeiffer KE, Jury LJ, Larson JE:** Determination of antimüllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domest Anim Endocrinol*, 46: 58-64, 2014.
- Pohler KG, Geary TW, Atkins JA, Perry GA, Jinks EM, Smith MF:** Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. *Cell Tissue Res*, 349: 649-664, 2012.
- Prince PSM, Suman S, Devika PT, Vaithianathan M:** Cardioprotective effect of ‘Marutham’ a polyherbal formulation on isoproterenol induced myocardial infarction in Wistar rats. *Fitoterapia*, 79(6): 433-438, 2008.
- Randi F, Sánchez JM, Herlihy MM, Valenza A, Kenny DA, Butler ST, Lonergan P:** Effect of equine chorionic gonadotropin treatment during a progesterone-based timed artificial insemination program on reproductive performance in seasonal-calving lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 101(11): 10526-10535, 2018.
- Reece WO, Rowe EW:** Functional anatomy and physiology of domestic animals. 4th ed. John Wiley & Sons, p. 45-74, New Jersey, 2017.
- Ribadu AY, Nakao T:** Bovine reproductive ultrasonography: A review. *J Reprod Dev*, 45(1):13-28, 1999.
- Rico C, Fabre S, Médigue C, Clemente ND, Clément F, Bontoux M, Touzé JL, Dupont M, Briant E, Benoît R, Beckers JF, Monniaux D:** Anti-müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod*, 80(1): 50-59, 2009.

- Rico C, Medigue C, Fabre S, Jarrier M, Bontoux M, Clément F, Monniaux D:** Regulation of anti-müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular and granulosa cell levels. *Biol Reprod*, 84(3): 560–571, 2011.
- Rigoglio NN, Fátima LA, Hanassaka JY, Pinto GL, Machado AS, Gimenes LU, Watanabe IS, Moura CEB, Rennó FP, Baruselli PS, Papa PC:** Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. *Theriogenology*, 79(4): 673-679, 2013.
- Rios JS, Greenwood EA, Pavone MEG, Cedars MI, Legro RS, Diamond MP, Santoro N, Sun F, Robinson RD, Christman G, Zhang H, Huddleston HG:** Associations between anti-müllerian hormone and cardiometabolic health in reproductive age women are explained by body mass index. *J Clin Endocrinol Metab*, 105(3): e555-e563, 2020.
- Roberts AJ, Nugent RA, Klint J, Jenkins TG:** Circulating insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J Anim Sci*, 75: 1909-1917, 1997.
- Roche JF, Crowe MA, Boland MP:** Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim Reprod Sci*, 28(1-4): 371-378, 1992.
- Rosa CO, Costa CB, de Lima CB, da Silva CB, Zangirolamo AF, Ferreira CR, Seneda MM:** Lipid profile of in vitro embryos produced from Bos indicus cows with low and high antral follicle counts. *Livest Sci*, 250: 104586, 2021.
- Rosengarten B, Kaps M:** Peak systolic velocity Doppler index reflects most appropriately the dynamic time course of intact cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Dis*, 13(4): 230-234, 2002.
- Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Wolfenson D:** Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J Reprod Fert*, 120(1): 83-90, 2000.
- Sakaguchi K, Yanagawa Y, Yoshioka K, Suda T, Katagiri S, Nagano M:** Relationships between the antral follicle count, steroidogenesis, and secretion of follicle-stimulating hormone and anti-müllerian hormone during follicular growth in cattle. *Reprod Biol Endocrinol*, 17(1): 1-13, 2019.
- Sanderson N, Robertson D, Newton H:** Antral follicle count of new zealand registered angus heifer ovaries and the correlation with fertility outcomes, conference proceedings of the society of sheep and beef cattle veterinarians and deer branch of the NZVA. *N Z Vet J*, 49-54, 2017.
- SAS User's Guide:** Statistics, Version 9th. Statistical Analysis System. SAS Inst., Inc., Cary, NC, 2002.
- Scaramuzzi RJ, Baird DT, Campbell BK, Driancourt MA, Dupont J, Fortune JE, Webb R:** Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reprod Fert Dev*, 23(3): 444-467, 2011.
- Schmidt W, Kujak A:** Farb dopplersonographie in der geburtshilfe und gynaekologie. Obstetri ve jinekolojide renkli doppler sonografi. 1.st Ed. Ertan AK, Tanrıverdi HA (Eds). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2001

- Sevgi R, Erdem H, Karaşahin T, Yılmaz MA, Satılmış M, Okuroğlu A, Satılmış F, Alkan H, Dursun Ş, Ünal İ, Güler M:** Determination of the relationship between serum anti-Müllerian hormone level and superovulatory response in Simmental cows. *Reprod Domest Anim*, 54(10): 1322-1329, 2019.
- Shirasuna K, Nitta A, Sineenard J, Shimizu T, Bollwein H, Miyamoto A:** Vascular and immune regulation of corpus luteum development, maintenance, and regression in the cow. *Domest Anim Endocrinol*, 43(2): 198-211, 2012.
- Siddiqui MA, Ahmad U, Khan AA, Ahmad M, Badruddeen KM, Khalid M, Akhtar J:** Isoprenaline: a tool for inducing myocardial infarction in experimental animals. *Int J Pharm*, 6(2): 138-44, 2016.
- Siegel AF:** Landmark summaries: Interpreting typical values and percentiles. In: Siegel AF (Ed): Practical business statistics. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, USA, p. 71-90, 2016.
- Silva JRV, Figueiredo JR, Van den Hurk R:** Involvement of growth hormone (GH) and Insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*, 71(8): 1193-1208, 2009.
- Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ:** Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biol Reprod*, 72: 755e61, 2005.
- Skalba P, Cygal A, Madej P, Dąbkowska-Huć A, Sikora J, Martirosian G, Romanik M, Olszanecka-Glinianowicz M:** Is the plasma anti-Müllerian hormone (AMH) level associated with body weight and metabolic, and hormonal disturbances in women with and without polycystic ovary syndrome? *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol*, 158(2): 254-259, 2011.
- Sohn C, Voight HJ, Vetter K:** Doppler Ultrasound in Gynecology and Obstetrics, 1st ed. Thieme, New York, 2004.
- Souza AH, Viechnieski S, Lima FA, Silva FF, Araújo R, Bó GA, Wiltbank MC, Baruselli PS:** Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-ai protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology*, 72(1): 10-21, 2009.
- Stalmans I, Vandewalle E, Anderson DR, Costa VP, Frenkel RE, Garhofer G, Grunwald J, Gugleta K, Harris A, Hudson C, Januleviciene I, Kagemann L, Kergoat H, Lovasik JV, Martinez A, Nguyen QD, Plange N, Reitsamer HA, Sehi M, Siesky B, Zeitz O, Orgül S, Schmetterer L:** Use of colour Doppler imaging in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol*, 89(8): e609-e630, 2011.
- Steiner P, Rao M, Ehrlich R, Padre R:** The use of intravenous isoproterenol in the treatment of status asthmaticus. *J Asthma Res*, 12(4): 215-219, 1975.
- Suchal K, Malik S, Gamad N, Malhotra RK, Goyal SN, Bhatia J, Arya DS:** Kampeferol protects against oxidative stress and apoptotic damage in experimental model of isoproterenol-induced cardiac toxicity in rats. *Phytomedicine*, 23(12): 1401-1408, 2016.
- Szeffler SJ, Acara M:** Isoproterenol excretion and metabolism in the isolated perfused rat kidney. *J Pharmacol Exp Ther*, 210(2): 295-300, 1979.

- Szymanski MW ve Singh DP:** Isoproterenol. In: StatPearls. Treasure Island. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526042/?report=reader#!po=2.94118>. Erişim tarihi: 01.07.2023
- Şentürk S:** İsopterrenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-Lizin'in total sialik asit düzeylerine etkisinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2008.
- Tabatabaei S, Mamoei M, Aghaei A:** Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. *Comp Clin Path*, 20(6): 591-595, 2011.
- Takahashi T, Kusunose K, Hayashi S, Zheng R, Yamaguchi N, Morita S, Hirata Y, Nishio S, Saijo Y, Ise T, Yamaguchi K, Yagi S, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M:** Isoproterenol loading transesophageal echocardiography in atrial fibrillation. *Int J Cardiovasc Imaging*, 39(3): 511-518, 2023.
- Tanwar V, Sachdeva J, Kishore K, Mittal R, Nag TC, Ray R, Kumari S, Arya DS:** Dose-dependent actions of curcumin in experimentally induced myocardial necrosis: A biochemical, histopathological, and electron microscopic evidence. *Cell Biochemistry and Function, Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease. Cell Biochem Funct*, 28(1): 74-82, 2010.
- Taylor L:** An inside look into doppler ultrasound. Senior Thesis Projects. University of Tennessee. Knoxville, 1997.
- Tessaro IA, Luciano M, Franciosi F, Lodde V, Corbani D, Modina SC:** The endothelial nitric oxide synthase/nitric oxide system is involved in the defective quality of bovine oocytes from low mid-antral follicle count ovaries. *J Animal Sci*, 89: 2389–2396, 2011.
- Thatcher WW, de la Sota RL, Schmitt EJ, Diaz TC, Badinga L, Simmen FA, Staples CR, Drost M:** Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reprod Fertil Dev*, 8: 203-217, 1996.
- Valdivieso ÁG, Dugour AV, Sotomayor V, Clauzure M, Figueroa JM, Santa-Coloma TA:** N-acetyl cysteine reverts the proinflammatory state induced by cigarette smoke extract in lung calu-3 cells. *Redox Biol*, 16: 294-302, 2018.
- Van Der Drift SGA, Everts RR, Houweling M, Van Leengoed LAMG, Stegeman JA, Tielens AGM, Jorritsma R:** Effects of β -hydroxybutyrate and isoproterenol on lipolysis in isolated adipocytes from periparturient dairy cows and cows with clinical ketosis. *Res Vet Sci*, 94(3): 433-439, 2013.
- Vatner DE, Knight DR, Homcy CJ, Vatner SF, Young MA:** Subtypes of beta-adrenergic receptors in bovine coronary arteries. *Circ Res*, 59(4): 463-473, 1986.
- Veiga GAL, Angrimani DSR, Silva LCG, Regazzi FM, Machado F, Lúcio CF, Vannucchi CI:** Hemodynamics of the uterine and umbilical arteries during the perinatal period in ewes. *Anim Reprod Sci*, 198: 210- 219, 2018.

- Walsh RB, Leblanc SJ, Duffield TF, Kelton DF, Walton JS, Leslie KE:** The effect of a progesterone releasing intravaginal device (pRID) on pregnancy risk to fixed-time insemination following diagnosis of non-pregnancy in dairy cows. *Theriogenology*, 67(5): 948-956, 2007.
- Watanabe A, Kusano FK, Morita H, Miura D, Sumida W, Hiramatsu S, Banba K, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Sakuragi S, Ohe T:** Low-dose isoproterenol for repetitive ventricular arrhythmia in patients with Brugada syndrome. *Eur Heart J*, 27(13): 1579-1583, 2006.
- Wathes DC:** Mechanisms linking metabolic status and disease with reproductive outcome in the dairy cow. *Reprod Domest Anim*, 47: 304-312, 2012.
- Wiltbank MC, Sartori R, Herlihy MM, Vasconcelos JLM, Nascimento AB, Souza AH, Ayres H, Cunha AP, Keskin A, Guenther JN, Gumen A:** (2011). Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 76(9): 1568-1582, 2011.
- Wu H, Su H, Zhu C, Wu S, Cui S, Zhou M:** Establishment and effect evaluation of a stress cardiomyopathy mouse model induced by different doses of isoprenaline. *Exp Ther Med*, 25(4): 1-12, 2023.
- Yuan Y, Peng W, Liu Y, Xu Z:** Palmitate attenuates isoproterenol-induced pathological hypertrophy via selectively inhibiting HDAC2 in rats. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 30(4): 406-412, 2017.