

İNEKLERDE CORPUS LUTEUMUN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ ve ENDOKRİNOLOJİK AKTİVİTESİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Abdullah KAYA¹ Hüseyin ERDEM¹ Melih AKSOY¹ Tevfik TEKELİ¹

The relationship between morphologic characteristics and endocrin activity of corpus luteum in cows

SUMMARY

The relationship between morphologic characteristics of the corpus luteum (CL) and its endocrine activity was studied on a total of 135 Holstein cows. Experiments were conducted in a local slaughterhouse. The animals with a prominent CL observed during postmortem ovarian examination and that having plasma progesterone level higher than 1 ng/ml in the blood plasma collected soon before slaughter were classified as dioestrous and included in the experimental group (n: 60). Cows at the other stages of the sexual cycle or those with inactive ovary and was pregnant were excluded from the study.

The weight and maximal diameter of CL was significantly correlated with plasma progesterone level ($p < 0.01$). The proportion of the animals with a central cavity in CL was 25 %. Corpus luteum weight and diameter and plasma progesterone levels were not significantly different between the animals with a CL either normal or a central cavity. In contrast, endocrine activity level (plasma progesterone concentration (ng/ml) / CL weight (gr) was significantly lower in the animals with a CL including cavity formation ($p < 0.05$). Three corpus luteum type classified based on the degree of embedding into ovarian tissue did not influence endocrine activity level.

In conclusion, ultrasonographic evaluation of the cavity status of the CL in addition to weight and diameter may provide valuable information on the endocrine activity of the CL.

KEYWORDS: Cow, corpus luteum, morphometri, progesterone

ÖZET

Bu çalışmada luteal evredeki ineklerde corpus luteum (CL)' un morfolojik özellikleri ile endokrinolojik aktivitesi arasındaki ilişki belirlendi. Araştırma kesim amacıyla mezbahaya getirilen toplam 135 baş Holstein ırkı inek üzerinde gerçekleştirildi. İnekler önce rastlansal olarak numaralandırıldı ve kesimden önce kan örnekleri toplandı. Kesim sonrasında her ineğin ovaryum ve uterusları toplanarak laboratuvara getirildi. Gebe olan, inaktif ovaryumlu veya seksüel siklusun diöstrüs evresi dışında bulunan inekler çıkartıldıktan sonra gözlenebilir aktif CL' a sahip ve plazma progesteron düzeyi 1 ng/ml' den yüksek 60 baş inek araştırma grubuna alındı ve bulgular değerlendirildi.

Corpus luteum çapı, ağırlığı ve plazma progesteron düzeyi arasında önemli pozitif korelasyon tespit edildi ($p < 0.01$). Çalışmada incelenen toplam 60 baş inekte kavite formasyonu gözlenen CL' ların görülme oranı % 25 olarak belirlendi. Kaviteli ve kavitesiz CL' a sahip inekler arasında plazma progesteron düzeyi, CL çapı ve CL ağırlığı arasında farklılık bulunamazken kaviteli CL' larda endokrin aktivite (plasma progesteron düzeyi (ng/ml) / CL ağırlığı (gr) düzeyi önemli oranda düşük bulundu ($p < 0.05$). Araştırmada incelenen 3 farklı CL tipi arasında endokrin aktivite yönünden farklılık bulunamadı.

Sonuç olarak, CL' un kavite formasyonunun ultrasonografik olarak incelenmesinin yanısıra ağırlığı ve çapının da endokrin aktivitesi hakkında değerli bilgiler verebileceği kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: İnek, corpus luteum, morfometri, progesteron

GİRİŞ

İneklerde reproduktif aktivitenin kontrol edilmesi Corpus luteum (CL)' un özelliklerinin tespit edilmesi ile yakından ilişkilidir. Corpus luteum, progesteron üretimi ve salgısı nedeniyle ineklerde siklik aktivite ve gebeliğin sürdürülmesinde en önemli görevi üstlenmektedir (Fields ve Fields 1996). İneklerde CL büyüklüğü ile progesteron salgısı arasındaki ilişkiyi araştıran bir çok araştırma (Okuda ve ark. 1988, Assey ve ark. 1993, Ribadu ve ark. 1994) yapılmış olmasına rağmen CL' un morfolojik ve fonksiyonel

özellikleri arasındaki ilişki henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

İneklerde aktif CL' un belirlenmesi rektal palpasyon, ultrasonografik muayene ve progesteron düzeyinin ölçümü ile yapılabilmektedir (Pierson ve Ginther 1987, Wenzel 1991). Rektal palpasyon yöntemi, CL' ların şekil ve büyüklüklerinin farklı olması nedeniyle her zaman güvenilir sonuçlar vermemektedir (Arthur ve ark. 1989, Mcleod ve Williams 1991). Ultrasonografik muayenede ovaryumlarda bulunan CL ve folliküller kolaylıkla belirlenebilmekte (Lean ve ark. 1992), hatta kavite içeren CL' lar bile ayırt edilebilmektedir (Grygar ve ark. 1997).

Bu araştırmada luteal dönemdeki ineklerin kesim sonrası ovaryum muayeneleri yapılarak CL' ların morfolojik özellikleri ile endokrinolojik aktiviteleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu araştırmada mezbahaya kesim amacıyla getirilen toplam 135 baş Holstein ırkı inek kullanıldı. İnekler rastlansal olarak seçilerek numaralandı ve kesim öncesinde heparinli polietilen tüplere kan örnekleri toplandı.

Kesimden sonra ineklerin ovaryum ve uterusları toplanarak 30 dk içerisinde laboratuvara getirildi. Gebe olan, inaktif ovaryumlu ve seksüel siklusun diöstrüs evresi dışındaki dönemde bulunan inekler gruptan çıkartıldı. Daha sonra ovaryum yüzeyinden taşan, taç oluşturmuş ya da ovaryum dokusu içerisine gömülü, kırmızı ya da kahverengi ve yüzeyinde damarlaşıma gözlenen, 1 cm' den büyük CL' a sahip ve plazma progesteron düzeyi 1 ng/ml' den yüksek olan 60 baş inek luteal dönemde kabul edilerek araştırma grubuna alındı. CL' ların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla her ovaryum içi su dolu şeffaf plastik bir kap içerisinde Pierson ve Ginther (1987)' in bildirdiği biçimde ultrasonografik (480 Vet, Pie Data Medical, Maastrich - Netherlands) olarak muayene edildi. Cihazın monitörü üzerinde görüntü dondurularak CL' ların maksimal çapları ölçüldü. Corpus luteum içerisindeki anekogenik boşluklar (kavite) görüntülenerek çapları yukarıda belirtilen biçimde belirlendi. Buna ek olarak, 34 baş inekte CL' un ovaryum yüzeyinden taşması ve gömülme derecesi dikkate alınarak Arthur ve ark. (1989)' nın bildirdiği biçimde tiplendirmesi yapıldı (Şekil 1).

Ultrasonografik muayeneyi takiben ovaryum üzerindeki CL' lar enükle edildi yada diseksiyonla çıkarılarak hassas terazide tartıldı ve ağırlıkları belirlendi. Luteal dokudan arta kalan ovaryum dokusu

ise tekrar tartılarak CL bulunan ovaryumun ağırlığı belirlendi.

Kan örnekleri 45 dk. oda ısısında bekletildikten sonra 10 dk. süresince (5000 devir/dk) santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma örnekleri analiz edilinceye kadar -20°C ' deki derin dondurucuda saklandı. Plazma progesteron düzeyleri İ.Ü.Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Endokrinoloji Laboratuvarında RIA yöntemiyle belirlendi.

İstatistiksel hesaplamalar

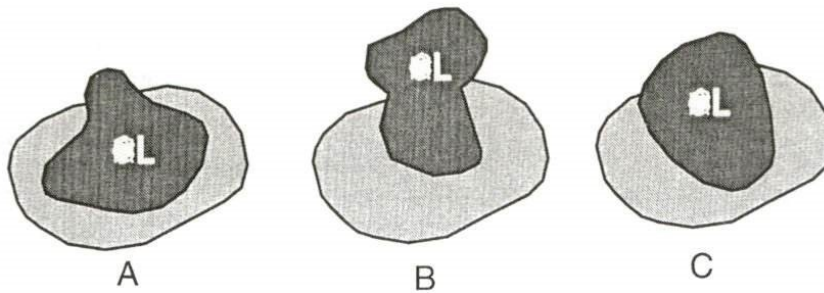
İneklerin ortalama plazma progesteron düzeyi, CL çapı, CL ağırlığı, ovaryum ağırlığı ve karkas ağırlıkları belirlenerek korelasyon analizi uygulandı. Birim gram CL' a düşen progesteron miktarı (endokrin aktivite) ise progesteron düzeyi (ng/ml)' nin CL ağırlığına

(gr) bölünmesiyle hesaplandı. Corpus luteum tiplerine göre endokrin aktivite oranlarındaki farklılıkların önem kontrolü için varyans analizi (ANOVA) uygulandı.

BULGULAR

İneklerin plazma progesteron düzeyi, CL çapı, CL ağırlığı, ovaryum ağırlığı ve karkas ağırlıkları arasındaki korelasyon bulguları Tablo 1' te sunulmuştur. Luteal dönemde plazma progesteron düzeyi ile CL çapı ($p < 0.01$) ve CL ağırlığı ($p < 0.001$) arasında önemli pozitif korelasyon belirlendi.

Luteal dönemde olduğu belirlenen 60 baş ineğin 15 (% 25)' inde ultrasonografik muayenede CL' ların iç kısımlarında anekogenik boş alanlar (kavite) tespit edildi. Ortalama kavite çapı 0.65 cm olarak bulundu. Tablo 2' de kaviteli ve kavitesiz CL' lara sahip ineklerde progesteron düzeyi, CL ağırlığı, CL' un endokrin aktivitesi (plazma progesteron düzeyi (ng/ml) / CL ağırlığı (gr) ve CL çapı' na ait bulgular sunulmaktadır.



Şekil 1. Luteal dönemde görülen Corpus luteum tipleri

Tablo 1: Progesteron (ng/ml), CL Çapı (cm), CL Ağırlığı (gr), Ovaryum Ağırlığı (gr) ve Karkas Ağırlığı (kg)' na Ait Korelasyon Bulguları.

	Progesteron	CL çapı	CL ağırlığı	Ov. ağırlığı
Progesteron	-			
CL çapı	0.428**			
CL ağırlığı	0.461***	0.699***		
Ov. ağırlığı	-0.081	0.182	0.289*	
Karkas ağır.	0.008	0.389**	0.331*	0.582***

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

Tablo 2: Kavitesiz ve Kaviteli CL' lara Sahip İneklerde Plazma Progesteron Düzeyi (ng/ml) , CL Ağırlığı (gr), Endokrin Aktivite Düzeyi (plazma progesteron düzeyi(ng/ml) / CL ağırlığı(gr)), CL Çapı (cm) ve Kavite Çapı (cm)' na Ait Ortalama ve Standart Hata (X±SEM) Değerleri.

Parametre	Corpus Luteum		
	Kavitesiz (n: 45) ^a	Kaviteli (n: 15) ^a	Toplam (n: 60) ^a
Progesteron Düzeyi	2.73 ± 0.20 ^a	1.87 ± 0.15 ^a	2.64 ± 0.18 ^a
CL ağırlığı	4.14 ± 0.17 ^a	5.68 ± 0.36 ^a	4.27 ± 0.16 ^a
Endokrin aktivite	0.67 ± 0.04 ^a	0.34 ± 0.04 ^b	0.64 ± 0.04 ^a
CL çapı	2.14 ± 0.05 ^a	2.37 ± 0.10 ^a	2.16 ± 0.04 ^a

a-b; Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (p < 0.05)

Tablo 3: Corpus Luteum Tipleri ve Bunların Endokrin Aktivite (progesteron düzeyi (ng/ml) / CL ağırlığı(gr)) Düzeylerine Ait Ortalama ve Standart Hata (X ±SEM) Değerleri.

	Corpus Luteum tipi		
	A	B	C
İnek sayısı (%)	10 (29.4)	18 (52.9)	6 (17.7)
Endokrin aktivite*	0.56 ± 0.08 ^a	0.65 ± 0.07 ^a	0.49 ± 0.07 ^a

*Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklı değildir (p>0.05).

Kaviteli CL' a sahip ineklerde plazma progesteron düzeyi ile CL çapı ve plazma progesteron düzeyi ile CL ağırlığı arasında korelasyon bulunamadı (p > 0.05). Ancak kavitesiz CL' a sahip ineklerde progesteron düzeyi ile CL çapı (p < 0.001) ve progesteron düzeyi ile CL ağırlığı (p < 0.001) arasında önemli korelasyon belirlendi.

Araştırma süresince toplam 34 baş inekte incelenen CL' ların tipleri, görülme oranları ve endokrin aktivite düzeyleri Tablo 3' de sunulmuştur.

Tablo 3' de görüldüğü gibi ineklerde en fazla B tipi, en az ise C tipi CL belirlenmiştir. Her 3 CL tipi arasında endokrin aktivite oranları açısından istatistiksel farklılık tespit edilememiştir (P > 0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

İneklerde CL büyüklüğü ile progesteron düzeyi arasında önemli pozitif korelasyonun olduğu bir çok çalışmada tespit edilmiştir (Kastelic ve ark., 1990; Ribadu ve ark., 1994). Bu çalışmada da benzer şekilde plazma progesteron düzeyi ile ultrasonografik CL çapı arasında önemli pozitif korelasyon tespit edildi (r= 0.428, p< 0.01). Assey ve ark. (1993) CL büyüklüğü ve progesteron salgılama düzeylerinde bireysel farklılıklar olması nedeniyle, yalnızca CL çapını ölçmek suretiyle progesteron düzeyini tahmin etmenin mümkün olamayacağını bildirmelerine rağmen, Kastelic ve ark. (1990) ultrasonografik CL ölçülerinin, luteal fonksiyonu belirlemede progesteron analizlerine alternatif olabileceğini bildirmektedirler. Battachio ve ark. (1999) ise diöstrüs dışında CL çapı ile progesteron düzeyi arasında önemli farklılıklar olabileceğine dikkat çekmektedir. Bu çalışmada luteal dönem dışındaki CL' lar değerlendirilmeye alınmadığı için karşılaştırma imkanı bulunamadı.

Bu çalışmada progesteron düzeyi ile CL çapı arasında tespit edilen korelasyona ek olarak, progesteron düzeyi ile CL ağırlığı arasında daha yüksek bir korelasyonun (r= 0.461, p < 0.001) belirlenmesi, ineklerde luteal aktiviteyi izlemek amacıyla CL' un ağırlığını belirlemenin daha doğru sonuçlar verebileceğine işaret etmektedir. Çalışmada

belirlenen ortalama CL ağırlığı (4.27 gr) Ribadu ve ark. (1994), ortalama CL çapı (2.16 cm)' na ilişkin bulgular ise Arthur ve ark. (1989)' nin bulgularına benzerlik arz etmektedir. Pierson ve Ginther (1987) ve Ribadu ve ark. (1994) ultrasonografi yardımıyla ineklerde CL' ların güvenli bir şekilde belirlenerek çapının ölçülebileceğini bildirmektedirler. Ancak canlı hayvanlarda CL' un ağırlığının tespit edilmesi ile ilgili literatür bulunmamaktadır.

Bir çok araştırmacı (Kito ve ark. 1986, Pierson ve Ginther 1987, Arthur ve ark. 1989, Ribadu ve ark. 1992, Assey ve ark. 1993, Grygar ve ark. 1997) inek ve düvelerde CL' ların içinde % 16.6 - % 47.8 arasında değişen oranlarda luteinleşmeyen anekogonik kavitelelerin görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da % 25 oranında kaviteli CL tespit edilmiş olup, bu oran anılan araştırmacıların bulgularına paralellik göstermektedir. Kaviteli CL' ların endokrin aktiviteleri üzerine değişik görüşler bulunmaktadır. Hansel ve ark. (1973) ve Okuda ve ark. (1988) kaviteli CL' ların her bir gram' ına düşen progesteron miktarının daha düşük olduğunu bildirirken, diğer araştırmacılar (Kaehn 1986, Kito ve ark. 1986) kaviteli ve kavitesiz CL' ların progesteron düzeyinin benzer olduğunu ifade etmektedirler. Grygar ve ark. (1997) ise kaviteli CL' a sahip olan ineklerde progesteron düzeyinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada kaviteli CL' ların ağırlığı ve ultrasonografik çapı kavitesiz CL' lardan rakamsal olarak yüksek bulunmasına rağmen, birim grama düşen progesteron miktarı kaviteli CL' larda daha düşük (p < 0.05) bulunmuştur (Tablo 2). Kaehn (1994) kaviteli CL' lardaki luteal hücre oranının düşük olması nedeniyle daha az progesteron ürettiğini ileri sürmektedir. Sunulan çalışmada da kaviteli CL' larda progesteron düzeyi ile CL çapı ve ağırlığı arasında korelasyon belirlenmemiş olmasına rağmen, kavitesiz CL' larda aynı kriterler arasında önemli pozitif korelasyon tespit edilmiş olması kaviteli CL' lardaki luteal doku oranının düşüklüğünü yansıtmaktadır. Okuda ve ark. (1988) kaviteli ve kavitesiz CL' ların endokrin fonksiyonlarında farklılık olmasına rağmen, kaviteli CL' ların patolojik olmadığını bildirmektedirler. Kaehn (1994) ise kaviteli

ve kavitesiz CL' a sahip hayvanlarda fertilité düzeyinin farklı olmadığına işaret etmektedir.

Arthur ve ark. (1989) luteal dönemdeki CL' ların ovaryum dokusu içerisinde gömülü bulunma ya da taç yapma özelliklerine göre değişik şekil ve büyüklükte olabileceğini bildirmektedirler. Bu araştırmada da Arthur ve ark. (1989)' nın bildirdiği tiplendirme esas alınarak Şekil 1' de gösterilen A, B ve C tipi CL' ların görülme oranları sırasıyla, % 29.4 % 52.9 ve % 17.7 olarak belirlenmiştir. Corpus Luteum tipleri arasında endokrin aktivite oranları farklı olmamasına ($p > 0.05$) rağmen belirgin bir taç formu gösteren B tipi CL yüksek oranda, ovaryum dokusu içine gömülü olan C tipi CL ise en düşük oranda belirlenmiştir. Kito ve ark. (1986) değişik CL tiplerinin benzer düzeyde progesteron ürettiğini bildirmektedirler. Ancak, klinik muayene sırasında A tipi CL' ların regrese CL ile, C tipi CL' ların ise gelişen CL ya da follikül ile karıştırılma ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmektedir. Bu araştırmada luteal dönemdeki CL tipleri ultrasonografi ile kolaylıkla ayırt edilebilmesine rağmen ovaryumların rektal palpasyonunda hatalı teşhis konulabileceği kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak, özellikle kaviteli CL' ların normal çap ve ağırlıkta olmalarına rağmen birim gram' a düşen progesteron miktarının daha düşük bulunması bu tip CL' ların tanınmasının gerekliliğini ve bu amaçla ultrasonografinin kullanım zorunluluğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca hormon ölçme yöntemlerinin kullanılmadığı veya pratik olmadığı durumlarda CL ağırlığının da CL' un endokrin aktivitesi hususunda fikir verebileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Arthur GH, Noakes DE, Pearson H (1989) The oestrous cycle and its control. In " Veterinary Reproduction and Obstetrics", 6th edition, 3 - 45, Bailliere Tindall, London.
- Assey RJ, Purwantara B, Greve T, Hyttel P, Schmidt MH (1993) Corpus Luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol - induced luteolysis. *Theriogenology*, 39; 1321 - 1330.
- Battachio M, Gabai G, Mollo A, Veronesi MC, Soldano F, Bono G, Cairolì F (1999) Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology*, 51; 1059 - 1069.
- Fields MJ, Fields PA (1996) Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. *Theriogenology*, 45; 1295 - 1325.
- Grygar I, Kudlac E, Dolezel R, Nedbalkova J (1997) Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity. *Anim. Reprod. Sci.*, 49; 77 - 82.
- Hansel W, Concannon PW, Lukaszewska JH (1973) Corpora lutea of the large domestic animals. *Biol. Reprod.*, 8; 222 - 245
- Kaehn W (1986) Gelbkörper mit und ohne Hohlräum beim zystischen Gelbkörper des Rindes. *Fertilitaet* 2; 209 - 212.
- Kaehn W (1994) Ultrasonography in the cow. In " Veterinary Reproductive Ultrasonography", 83-184, Schlütersche Verlagsanstalt und Druckerei Hannover.
- Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ (1990) Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, 33; 1269 - 1278.
- Kito S, Okuda K, Miyazawa K, Sato K. (1986) Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*, 25; 325 - 333.
- Lean IJ, Abe N, Duggan S, Kingsford N (1992) Within and between observer agreement on ultrasonic evaluation of bovine ovarian structures. *Aust. Vet. j.*, 69; 279 - 282.
- McLeod BJ, Williams ME (1991) Incidence of ovarian dysfunction in post partum dairy cows and the effectiveness of its clinical diagnosis and treatment. *Vet Rec.*, 128; 121 - 124.
- Okuda K, Kito S, Sumi N, Sato K (1988) A study of the central cavity in the bovine corpus luteum. *Vet. Rec.*, 123; 180 - 183.
- Pierson R, Ginther OJ (1987) Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum. *Theriogenology*, 28; 929 - 936.
- Ribadu YA, Ward WR, Dobson H, Singh I (1992) Ultrasonic evaluation of corpora lutea and plasma progesterone profile during the oestrous cycle in postpartum cows. 12th International Congress on Animal Reproduction, August, 23 - 27, The Hague, The Netherlands.
- Ribadu YA, Ward WR, Dobson H (1994) Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec.*, 135; 452 - 457.
- Wenzel JGW (1991) A review of prostaglandin F products and their use in dairy reproductive herd health programs. *Vet. Bul.*, 61; 433 - 447.