

DÜVELERDE ERKEN GEBELİKTE KAN ve TÜKÜRÜK PROGESTERON DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ*

Murat ARSLAN¹

Investigations of the correlation between blood and saliva progesterone levels in early pregnancy in heifers

SUMMARY

In this study, plasma and saliva progesterone hormone levels were investigated in heifers to use in early pregnancy diagnosis. A total of 15, 15-16 months old Black Pied Cattle and Brown Swiss heifers were used as study material. Hormone levels were determined by Radioimmunoassay (RIA) method using "I¹²⁵ Direct Progesterone Analysis Kit".

The ratio of the salivary progesterone level to plasma progesterone was 12.% at the 21st and 24th day of insemination, and positive correlations were found between plasma and saliva progesterone levels at the 21st (r=0.911) and 24th (r=0.683) days after insemination.

For the pregnancy diagnosis animals having a progesterone level below 2 ng/ml in their plasma and 0.200 ng/ml in their saliva were not considered as pregnant whereas those having higher levels were considered pregnant. The difference between the mean plasma and saliva progesterone levels of pregnant and non-pregnant animals was found to be statistically significant (p<0.01), but the difference of those levels in pregnant animals between the 21st and 24th days was not statistically significant. The RIA test results were checked by rectal examination findings at the 60th day insemination, diagnosis was made at accuracy rates of 81.8% and 80.0% in pregnant animals and 100% and 90.0% in nonpregnant animals for 21st day plasma and saliva, respectively. These rates were 90.0% and 87.5% in pregnant animals and 100% and 87.5% in non-pregnant animals for 24th day plasma and saliva, respectively.

KEY WORDS: Progesterone, plasma, saliva, pregnancy, heifer

ÖZET

Bu çalışmada, düvelerde gebeliğin erken tanısında kullanılmak üzere plazma ve tükürük progesteron hormon düzeyleri incelendi. Araştırma materyali olarak 15-16 aylık Siyah Alaca ve Esmer ırkıdan toplam 15 düve kullanıldı. Hormon düzeyleri, "I¹²⁵ Direct Progesterone Analiz Kiti" kullanılarak radioimmunoassay (RIA) yöntemi ile belirlendi.

Tükürük progesteron düzeyinin plazma progesteron düzeyine oranı, tohumlamanın hem 21. hem de 24. gününde % 12.4 düzeyinde iken, aynı günlerde bu parametreler arasında sırasıyla r = 0.911, r = 0.683 düzeyinde pozitif korelasyonlar saptandı.

Gebelik tanısı için plazmada 2 ng/ml' den, tükürükte ise 0.200 ng/ml' den düşük progesteron düzeyine sahip olanlar gebe kabul edilmezken, bu düzeyin üzerindeki gebe olarak kabul edildi. Hem plazma hem de tükürük progesteron düzeyleri açısından gebelerle gebe olmayanların 21. gün ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel önemde (p<0.01) bulundu. Ancak gebelerde 21. ve 24. günler arasında her iki vücut sıvısı progesteron düzeyleri açısından istatistiksel anlamda bir farklılık saptanmadı.

RIA testi sonuçları tohumlamayı izleyen 60. günde uygulanan rektal palpasyon bulgularıyla kontrol edilerek, gebelerde 21. gün plazma ve tükürük için sırasıyla % 81.8 ve % 80.0, gebe olmayanlarda % 100 ve % 90.0, 24. gün gebelerde ise yine sırasıyla % 90.0 ve % 87.5, gebe olmayanlarda % 100 ve % 87.5 oranlarında doğru tanı konuldu.

ANAHTAR KELİMELER: Progesteron, plazma, tükürük, gebelik, düve

GİRİŞ

Sığır yetiştiriciliğinde erken gebelik tanısının önemine dikkat çekilerek buzağılama aralığının uzamasının önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir (Özkoca 1986). Bu amaçla rektal muayene ve ultrasonografi gibi klinik yöntemlerin yanında daha erken sonuç veren plazma ve süt progesteron düzeyleri sıkça kullanılmaktadır (Laing ve

ark. 1979, Dabas ve ark. 1990).

İneklere tohumlama veya çiftleşmeden sonra östrusu ve ovulasyonu da içine alan 19-24. günler arasında alınan kan ve süt örneklerinde progesteron değerleri ölçülerek muhtemel bir gebelik teşhisi yapılabilmektedir (Laing ve ark. 1979, Nakao ve ark. 1983). Gebelik tanısı pozitif (+) veya negatif (-) olarak ifade edilmektedir (Chung ve Kim 1980, Konuk ve Şenünver 1994). Progesteron hormonu ölçümleriyle gebe olmayanlarda %95-100 gebe olanlarda %76-94.2 arasında doğru teşhis yapılabildiği ileri sürülmektedir (Cox ve ark. 1978, Konuk ve Şenünver 1994).

Yayına Kabul Tarihi: 09.05.2001

* Yazarın doktora tezinin bir bölümünden özetlenmiştir.

1: İ. Ü. Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD - İSTANBUL

- Bu çalışma İ.Ü. Araştırma Fonunca desteklenmiştir (Proje No: T-106/160695).

Bazı hastalık ve tedavilerinde kanda bağlayıcı protein miktarının değişmesi nedeni ile plazma veya serumda steroid hormon ölçümünün yetersiz hale geldiği bildirilmektedir (Kley ve ark. 1975, Valker ve ark. 1979).

Progesteron konsantrasyonu yağ oranına bağlı değişmekte (Oltner ve Edqvist 1981) ve etçi sığırlarda homojen süt örneklerinin toplanmasında zorluklar yaşanmaktadır. Ayrıca progesteron düzeyinin belirlenmesinde, düveler ile laktasyonda olmayan ineklerde sütün kullanılması olası değildir (Laing ve ark. 1979, Vienravi ve ark. 1994).

Kolaylıkla toplanabilmesi ve teknik olarak laboratuvar da serum ile plazmadan daha güvenli saklanabilmesi nedenleriyle tükürüğün özellikle steroidler gibi küçük molekül ağırlıklı hormonların tespitinde uygun bir vücut sıvısı olduğu ileri sürülmektedir (Bourge ve ark. 1986, Cooper ve ark. 1989)

Kadınlarda tükürük progesteronunun, plazma progesteronu ile $r=0.584$ ile $r=0.890$ arasında değişen korelasyonlara sahip olduğu (Choe ve ark. 1983, Cedard ve ark. 1985, Read ve ark. 1986, O'Rorke ve ark. 1994, Vienravi ve ark. 1994) bu nedenle ovaryum fonksiyonlarının izlenmesi ve erken gebelik tanısında kullanılabileceği vurgulanmaktadır (Choe ve ark. 1983, Cedard ve ark. 1985, O'Rorke ve ark. 1994). Cooper ve ark. (1989) tükürüğe bulaşmış gıda maddelerinin steroid ölçümünü etkilemediğini, Vienravi ve ark. (1994), tükürük progesteronunun diurnal varyasyon göstermediğini bildirmektedirler.

İnsanlarda tükürükteki progesteron hormonu ve bunun klinik uygulamaya geçmesi hakkında birçok araştırma yayınlanmış (Cedard ve ark. 1985, Read ve ark. 1986, Li ve ark. 1989, Finn ve ark. 1992) olmasına karşın, evcil hayvanlarda bu konuda yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır (Gao ve ark. 1988, Kanchev ve ark. 1988).

Gao ve ark. (1988), 23 süt ineğinde östrus sırasında plazma ve tükürük progesteron konsantrasyonları arasında yüksek bir korelasyonun ($r=0.85$) var olduğunu, benzer biçimde plazma ile tam süt ($r=0.68$) ve yağsız süt ($r=0.72$) arasında da önemli bir ilişki olduğunu bu nedenle tükürüğün plazma serbest progesteron konsantrasyonunu süttten daha iyi yansıtan bir vücut sıvısı olduğunu belirterek, ovaryum fonksiyonlarını incelemeye kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kanchev ve ark. (1988), siklus süresince 24 saatte bir aldıkları örneklerde tükürük progesteronunun plazmadakinin yaklaşık % 10-15'i olduğunu, folliküler ve luteal evrelerde tükürük progesteron düzeyinin sırasıyla 0.025-0.080 ng/ml ve 0.105-0.360 ng/ml, plazma progesteron düzeyinin ise sırasıyla 0.150-0.780 ng/ml, 0.87-1.86 ng/ml olduğunu, tükürük/plazma progesteron oranının folliküler evrede % 15, luteal evrede ise % 12 olduğu ifade etmekte ve östrus siklusu boyunca aralarında anlamlı bir korelasyon olduğunu ($r=0.76$) vurgulamaktadırlar.

Kanchev ve ark. (1988), çiftleşmenin 21. günü 104 düve ve inekten aldıkları tükürük örneklerinde progesteron düzeylerinin, gebe olmayanlarda 0.100 ng/ml' nin altında olduğunu ve bunun % 100

doğrulukla bulunduğunu, gebe olanlarda 0.100-0.150 ng/ml sınırında doğruluk oranının % 40, 0.150 ng/ml' nin üstünde olanlarda ise doğruluk oranının % 78.6 olduğunu belirtmektedirler.

Bu çalışmada düvelerde erken gebelik sırasında plazma ile tükürük progesteron düzeyleri arasındaki korelasyonları saptamak, tükürük progesteron düzeyinin erken gebelik teşhisinde kullanılabilirliğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde bulunan 15-16 aylık 5 Esmer, 10 Siyah Alaca olmak üzere toplam 15 düve kullanıldı. Hayvanlar Erişler Yem Sanayi A.Ş.'nin sığır pelet yemi ile beslendi. Su ve yem tüm hayvanlara *ad libitum* verildi.

Ergin canlı ağırlıklarının % 70-75' ine ulaşan 4'ü Esmer 8'i Siyah Alaca toplam 12 düve rektal olarak muayene edildi. Östrus senkronizasyonu uygulanan (Alaçam 1991) hayvanlar iki kez sun'i olarak tohumlandılar.

Tohumlamalardan sonraki 60. günlerde rektal muayeneler yapılarak, gebe kalmayan hayvanlar ile başlangıçta yeterli canlı ağırlığa ulaşamadıkları için tohumlanmayan 2 Siyah Alaca, 1 Esmer düve aynı şekilde senkronize edilerek gebelik tanısında kullanılmak üzere tohumlandılar. Tekrar tohumlananlarla birlikte bütün hayvanlardan ($n=21$) tohumlamadan sonraki 21. ve 24. günlerde yemlemeden kan ve tükürük örnekleri alındı. Bir nolu hayvanın dişinin kırılması nedeniyle 21. ve 24. gün tükürük örnekleri değerlendirmeye alınmadı.

Hayvanlardan kuyruk venasından heparinli vakumlu cam tüplere alınan 5 ml kan hemen 3500 devir/dak' da 15 dakika santrifüje edilerek plazmaları ayrıldı. Tükürük örnekleri steril eldiven kullanılarak steril pamuk rulolarının dil altı, damak ve yanak içi bölgelerinde 30 sn süreyle tutulmasıyla yaklaşık 2 ml olarak alındı. Örnekler aynı şekilde santrifüje edilerek gıda maddelerinden arındırıldı. Plazma ile santrifüje edilen tükürük örnekleri steril plastik tüplere aktarılarak progesteron ölçümleri yapılmaya kadar -20 °C' de derin dondurucuda saklandı.

Örneklerde progesteron hormon düzeyleri ¹²⁵ Direkt Analiz kitleri (Coat-A Count Diagnostik Products Corporation) kullanılarak RIA ile çift örnek çalışılarak ölçüldü.

Tüm gruplarda tohumlamanın 21 ile 24. günleri plazma ve tükürük progesteron düzeyine ait ortalamalar, ortalamaların standart hataları ve gruplar arası farkların önem kontrolleri t-testi ile belirlendi. Aynı günlerde plazma ile tükürük arasındaki korelasyonlar hesaplandı. Analizler Statview istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi.

BULGULAR

Düvelerde tohumlamanın 21. ve 24. günlerinde tükürük/plazma progesteron oranları %12.4 bulunurken (Tablo 1) aralarındaki korelasyonlar sırasıyla $r=0.911$ ve $r=0.683$ olarak hesaplandı (Tablo 2).

Tablo 1. Tohumlamanın 21. ile 24. Günlerine Ait Tükürük / Plazma Progesteron Oranları.

GÜNLER	%
21. gün	12.4
24. gün	12.4

Tablo 2. Tohumlamanın 21. ve 24. Günlerine Ait Plazma ile Tükürük Progesteron Düzeyleri Arasındaki Korelasyon Değerleri

GÜNLER	R
21. gün	0.911
24. gün	0,683

Tablo 3. Tohumlamanın 21. Gününde Gebe ve Gebe Olmayan Düvelerin Progesteron Düzeyleri (ng/ml).

GRUPLAR	GEBE (+)					GEBE (-)				
	n	x	±	S _x	Min. Mak.	n	x	±	S _x	Min. Mak.
ÖRNEK										
PLAZMA	11	4.140	±	0.32	2.810 - 6.720	10	0.610	±	0.19	0.100 - 1.970*
TÜKÜRÜK	10	0.304	±	0.02	0.212 - 0.381	10	0.096	±	0.02	0.018 - 0.165*

*p<0.01

Tablo 4 .Gebe Düvelerde Tohumlamanın 21. ve 24. Günlerine Ait Progesteron Düzeyleri (ng/ml).

ÖRNEK	GÜNLER									
	21. GÜN					24. GÜN				
	n	x	±	S _x	Min. Mak.	n	x	±	S _x	Min. Mak.
PLAZMA	11	4.14	±	0.32	2.81 - 6.72	10	4.01	±	0.26	2.40 - 4.99
TÜKÜRÜK	10	0.304	±	0.01	0.212 - 0.381	8	0.283	±	0.02	0.211 - 0.332

Tablo 5. Rektal Palpasyonla Yapılan Kontrollerle Karşılaştırmalı Olarak Düvelerde Progesteron Testine Göre Gebelik Tanısının Doğruluk Oranları (%).

GÜNLER	ÖRNEK	GEBE (+)				GEBE (-)			
		n	Hatalı	Doğru	%	n	Hatalı	Doğru	%
21. GÜN	PLAZMA	11	2	9	81.8	10	0	10	100
	TÜKÜRÜK	10	2	8	80.0	10	1	9	90.0
24. GÜN	PLAZMA	10	1	9	90.0	11	0	11	100
	TÜKÜRÜK	8	1	7	87.5	12	2	10	87.5

Sunulan araştırmada tohumlamadan sonra 21.günde alınan kan örneklerinde plazma progesteron konsantrasyonu, 0.10-6.72 ng/ml arasında, tükürük örneklerinde ise 0.018-0.381 ng/ml arasında değişti. Plazma ve tükürük progesteron düzeyleri açısından her iki grupta da gebe ve siklik hayvanlar arasında istatistiksel anlamda önemli farklılık (p<0.01) saptandı (Tablo 3).

Gebe düvelerde plazma progesteron düzeyleri sırasıyla 4.14 ± 0.32 ng/ml, ise 4.01±0.26 ng/ml olup gerek plazma gerekse tükürük progesteron düzeyleri açısından 21. ve 24. günler arasında önemli farklılık saptanmadı (Tablo 4).

RIA testi sonuçları tohumlamayı izleyen 60. günde uygulanan rektal palpasyon bulgularıyla kontrol edilerek, gebelerde 21. gün plazma ve tükürük için sırasıyla % 81.8 ve % 80.0, gebe olmayanlarda % 100 ve % 90.0, 24. gün gebelerde ise yine sırasıyla % 90.0 ve % 87.5, gebe olmayanlarda % 100 ve % 87.5 oranlarında doğru tanı konuldu (Tablo 5).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tohumlamanın 21. ve 24. günlerinde saptanan tükürük/plazma progesteron oranı (Tablo 1) düvelerde bildirilen sıklusa ait %10-15 değerleri (Kanchev ve ark. 1988) arasındadır. İnsanlarda tükürük/plazma progesteron oranının %2-10 arasında değiştiği belirtilmektedir (Riad-Fahmy ve ark. 1981).

Tohumlamanın 21 ile 24. günlerinde plazma, tükürük progesteron konsantrasyonları arasında

saptanan korelasyon değerleri (Tablo 2) seksüel siklus için bildirilen r = 0.76 (Kanchev ve ark. 1988) ve r = 0.85 (Gao ve ark. 1988) düzeyindeki değerlere yakındır. Kadınlarda da tükürük ve plazma progesteron konsantrasyonları arasında menstrual siklus boyunca önemli korelasyonların varlığı kaydedilmektedir (Cedard ve ark. 1985, Vienravi 1994).

Kan plazması için 2 ng/ml (Alaçam 1991, 1994), tükürük progesteronu için ise bu değerlerin %10'u olan 0.200 ng/ml sınır kabul edilerek bu değerlerin altındakiler gebe değil, eşit veya üstündekiler ise gebe olarak sınıflandırıldı. Bu kriterlere göre gebe olarak kabul edilen düvelerde 21. gün plazma ve tükürük progesteron konsantrasyonu ortalamaları sırasıyla, 4.140±0.32 ng/ml, 0.304± 0.02 ng/ml gebe olmayanlarda ise sırasıyla 0.610±0.19 ng/ml, 0.096± 0.02 ng/ml olarak ölçüldü. Gerek plazma gerekse tükürük progesteronu açısından iki grup ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel açıdan (p<0.01) anlamlı olup (Tablo 3) literatürle uyumludur (Chung ve Kim 1980, Kanchev ve ark. 1988, Dabas ve ark. 1990, Alaçam 1991).

Gebe olmayan düvelerde 21. gün tükürük progesteron düzeyleri östrus dönemindeki hayvanlar için bildirilen değerlere yakındı (Gao ve ark. 1988). Bu durum hayvanların bir sonraki siklusun östrus döneminde olmalarından kaynaklanmış olabilir.

Sunulan çalışmada RIA testine göre gebe olduğu belirlenen düvelerin 21. ve 24. gün ortalama plazma

progesteron düzeyleri (Tablo 4), literatürde gebe hayvanlarda 2-11 ng/ml olarak bildirilen (Chung ve Kim 1980, Alaçam ve ark. 1987, Dabas ve ark. 1990, Alaçam 1991,1994) değerler arasındadır. Gebe düvelerde tükürük progesteron düzeyleri 21. günde, 0.304 ± 0.01 ng/ml, 24. günde, 0.283 ± 0.02 ng/ml şeklinde belirlendi. Plazma ve tükürükte 21. ve 24. gün progesteron düzeyleri ortalamaları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmadı (Tablo 4). Bu sonuçlar sütte (Alaçam ve ark. 1987) ve plazmada (Laing ve ark. 1979, Alaçam ve ark. 1987) örnekleme gününe ilişkin bildirimlerle uyumludur.

Plazma progesteron düzeyine göre elde edilen gebelik tanısı oranları (Tablo 5) literatürde pozitif tanı için bildirilen %60-90, negatif tanı için belirtilen %100 oranlarıyla uyumludur (Heap ve ark. 1976, Cox ve ark. 1978, Çoyan ve Tekeli 1990, Dionysius 1991).

Tükürük progesteron düzeyine göre yaptığımız pozitif ve negatif gebelik tanısı oranları (Tablo 5) gebe olmayan hayvanlarda tükürük düzeyinin 0.100 ng/ml' nin altında olduğu ve bunun %100 doğrulukla saptandığı, gebeler için ise 0.150 ng/ml' nin üstünde olanlarda %78.6 olduğu bildirimini (Kanchev ve ark. 1988) doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, saha koşullarında örnek almanın kolay olması ve uzmanlık gerektirmemesi, insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da plazma progesteron düzeyini iyi bir şekilde yansıtması nedenleriyle tükürüğün, progesteron düzeyiyle erken gebelik tanısı ve korpus luteum fonksiyonlarının izlenmesinde kullanılabilecek uygun bir vücut sıvısı olabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Alaçam E (1991) Gebelik tanısı. "Evcil Hayvanlarda Repredüksiyon, Sun'i Tohumlama Obstetrik ve İnfertilite (Therigenology)", Alaçam, E., düzenleyen, Nurol Matbaacılık, İstanbul, 109-114.
- Alaçam E (1994) Evcil Hayvanlarda Repredüksiyon Sun'i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite, Alaçam, E., düzenleyen, Dizgievi, Konya, 37-49, 121-127, 127-137.
- Alaçam E, Tekeli T, Sezer AN (1987) İneklerde erken gebelik tanısı amacıyla kan ve sütte progesteron hormonu düzeylerinin araştırılması. S.Ü. Vet. Fak. Derg., 3 (1), 13-24.
- Bourge J, Salon L, Demey-Ponsant E, Sodoyez JC, Gaspard U (1986) A simple, direct radioimmunoassay for salivary progesterone determination during the menstrual cycle. Clin.Chem.,32 (6), 948-951.
- Cedard L, Nathan C, Janssens Y, Savale M, Guichard A, Zorn JR (1985) Salivary progesterone profile after in-vitro fertilization/embryo transfer. The Lancet, 9, 577-578.
- Choe JK, Khan-Dawood FS, Yosoff-Dawood M (1983) Progesterone and estradiol in the saliva and plasma during the menstrual cycle. Am. J. Obstet. Gynecol., 147 (5), 557-562.
- Chung YC, Kim CK (1980): Early pregnancy diagnosis by hormone analysis from milk in the dairy cows. 9th International congress on Animal Reproduction and A.I.,Madrid (1), 5, 378-380
- Chung YC, Kim CK (1980) Study on the early diagnosis of pregnancy in cow. 9 th International Congress on Animal Reproduction and A.I., Madrid (1), 5, 366-368.
- Cooper TR, Trunkfield HR, Zanella AJ, Booth WD (1989) An enzyme- linked immunosorbent assay for cortisol in the saliva of man and domestic farm animals. J. Endocrinol., 123, R13-R16.
- Cox NM, Thompson FN, Culver DH (1978) Milk progesterone to predict reproductive status in a commercial dairy herd. J. Dairy Sci., 61, 1616-1621.
- Çoyan K, Tekeli T (1990) Pratik süt progesteron testlerinin ineklerin reproduktif olgularında kullanımı. TİGEM, 5 (27), 31-33.
- Dabas YPS, Sud SC, Atheya UK, Lakhchaura BD (1990) LHRH-İnduced oestrus and blood-plasma progesterone profile in cattle. Indian J. of Anim. Sci., 60 (5), 536-538.
- Dionysius DA (1991) Pregnancy diagnosis in dairy goats and cows using progesterone assay kits. Aust. Vet. J., 68, 1, 14-16.
- Finn MM, Gosling JP, Tallon DF, Baynes S, Meehan FP, Fottrell PF (1992) The frequency of salivary progesterone sampling and the diagnosis of luteal phase insufficiency. Gynecol. Endocrinol., 6,127-134
- Gao Y, Short RV, Fletcher TP (1988) Progesterone concentration in plasma, saliva and milk of cows in different reproductive states. Br. Vet. J., 144, 262-267.
- Heap RB, Holdsworth RJ, Cadsby J, Laing JA, Walters DE (1976) Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone concentration. Br. Vet. J.,132.445-464.
- Kanchev LN, Marinova CHP, Stankov BM (1988) Bovine salivary progesterone. Application to the assessment of ovarian function and early pregnancy diagnosis. Anim. Reprod. Sci., 17, 1-8.69
- Kley K, Niechclag E, Wigelmann W, Solbach G, Kruskemper L (1975) Steroid hormones and their binding in plasma of male patients with fatty liver, chronic hepatitis and liver cirrhosis. Acta Endocr. Copenh., 79, 275-285.
- Konuk CS, Şenünver A (1994) İneklerde kan ve sütte progesteron hormonu tayini ile erken gebelik teşhisi. İ.Ü. Vet. Fak. Derg., 20 (1), 105-114.
- Laing JA, Eastman SAK, Boutflower JC (1979) The use of progesterone concentrations in milk and plasma for pregnancy diagnosis in cattle. Br. Vet. J., 135, 204-209.
- Li TC, Lenton EA, Dockery P, Rogers AW, Cooke ID (1989) The relation between daily salivary progesterone profile and endometrial development in the luteal phase of fertile and in fertile women. Br. J. Obs. Gynaecol., 96, 445-453.
- Nakao T, Sugihashi A, Kawata K, Saga N, Tsunoda N (1983) Milk progesterone levels in cows with normal or prolonged estrous cycles, referenced to an early pregnancy diagnosis. Jpn. J. Vet. Sci., 45 (4), 495-499.
- O'Rorke A, Kane MM, Gosling JP, Tallon DF (1994) Development and validation of a monoclonal

- antibody enzyme immunoassay for measuring progesterone in saliva. Clin. Chem., 40 (3), 454-458.
- Oltner R, Edqvist LE (1981) Progesterone in defeated milk: its relation to insemination and pregnancy in normal cows as compared with cows on problem farms and individual problem animals. Br. Vet. J., 137, 78-87.
- Özkoca A (1986) Sığırlarda Reprodüksiyon ve İnfertilite. İ.Ü. Vet. Fak. Yayınları, Sayı: 3433, Dek.no:7 İstanbul, 9-19.
- Read GF, Walker RF, Riad-Fahmy D (1986) Progesterone in saliva. Clin. Chem., 32 (10), 1997-1998.

- Riad-Fahmy D, Read GF, Joyce BG, Walker RF (1981) Steroid Immunoassays. In "Endocrinology", Voller A, Bartlett A, Bidwel D eds., MTP Press Ltd., Fallon House, Lancaster, U.K., pp,205-256.
- Valker R, Read G, Riad-Fahmy D (1979) RIA of progesterone in saliva. Application to the assessment of ovarian function. Clin. Chem. 25, 2030-2033.
- Vienravi V, Kanluan T, Amatayakul K, Uttavichai C (1994) A direct radioimmunoassay for free progesterone in saliva. J.M. Med. Assoc. Thai. 77 (3), 138-147.