

İNEK KOLOSTRUMUNUN SIÇANLARDA KİMİ CİNSEL ETKİNLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

III. İNEK KOLOSTRUMUNUN FERTİL DİŞİ SIÇANLARDA ÖSTRUS SİNKRONİZASYONU, FOLLİKÜLASYON VE GEBELİK OLUŞTURMA İŞLEVI ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Hazım GÖKÇEN*
Aytekin ÖZER*
Şahin SIRMALI**
Lütfi ÖZGÜR***

ÖZET

Inek kolostrumu enjekte edilen fertil siçanlarda östrusların sinkronizasyonu, ovarium'larda folliküler gelişme ve östrus gösteren siçanlar arasına erkek siçan katıldığına oluşacak gebelik durumu araştırıldı.

Beş gün süreyle hergün 0.2 cc kolostrum enjekte edilen deneme grubundaki siçanlarla, beş gün süreyle hergün 0.2 cc serum ile enjekte edilen kontrol grubundaki siçanlardan alınan vaginal smear'ların histolojik muayenesinde enjeksiyonu izleyen 6. günde deneme siçanlarının tümünün östrusa gelerek sinkronizasyonu oluşmasına karşılık, kontrol siçanlarında sinkronizasyon oluşmadığı saptandı. Deneme siçanlarından 5 erlik bir gruba östrus görüldüğünde 5 adet erkek siçan katıldı. Bu siçanlardan üçü gebe kalıp doğurdu. Kontrol siçanlarının ise erkeği kabul etmediği görüldü. Deneme ve kontrol siçanlarından 5 er tanesi kolostrum enjeksiyonunu izleyen 6. günde öldürülerek ovarium'larının histolojik muayenesi yapıldı. Kontrol grubundaki siçanların ovarium'larında çok sayıda Graff follikülü görülmesine karşın, deneme grubundaki siçanların ovarium'larında çok sayıda Corpus luteum'un oluştuğu gözlemlendi.

Sonuçta fertil siçanlara deri altı enjekte edilen inek kolostrumunun östrus sinkronizasyonu, folliküler gelişme, ovulasyon ve aralarına erkek katıldığına gebelik oluşturduğu saptandı.

* Doç. Dr.; Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Bursa.

** Doç. Dr.; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa.

*** Vet. Hek.; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa.

SUMMARY

The Effect of Cow Colostrum on Some of the Sexual Activation in Rats III. Studies on the Effect of Cow Colostrum on the Oestrus Synchronization, Folliculation and Pregnancy of Fertile Female Rats

Synchronisation of oestrus, follicular development of ovarium of fertile rats injected with cow colostrum was investigated and the ability of rats under treatment to become pregnant when they were put together with male rats was studied. Rats in experimental group were injected daily with 0.2 ml. colostrum for five days. Rats in control group received 0.2 ml. of physiological saline only. Vaginal smears from each group were examined histologically. Synchronisations of oestrus were observed in rats on the 6 the day post injections. No change were seen in control group. Group of 5 female rats showing oestrus put together with 5 male rats. Of the 5 female rats 3 became pregnant and gave birth. Control female rats did not mate with male rats. 5 rats from each of experimental and control group were sacrificed on the 5 the day of experiment and ovariums were examined histologically. A number of graafian follicles were seen in control group whereas many of corpus luteum were count in ovarium of the rats in experimental group. In conclusion the enjection of cow colostrum resulted in oestrus synchronisation, follicular development and ovulation that ends up with pregnancy when they were held together with male rates.

Key Words: Colostrum injection, fertile female rats.

GİRİŞ

İnek kolostrumunun, içerdği çeşitli hormonlar nedeniyle çiftlik hayvanlarında ve deney hayvanlarında östrus sinkronizasyonu ve ovarium'da follikülasyon oluşturduğu, hatta çiftlik hayvanlarında oluşan kızgınlık sonucu yapılan tohumlamalardan gebelik bile elde edildiği literatürde yer alan araştırmalarda bildirilmektedir.

Kaludina ve Antonov¹, 370 koyuna, her birine 12-20 ml olmak üzere inek kolostrumu enjekte etmişler ve denemenin 18. gününde topluca östrus gösteren koyunları tohumlamışlardır. Koyunlardan 329'u 27 günlük bir periyotta doğurmuş ve kuzulama oranı % 119 olmuştur. Doychev ve Kaludina², 144 koyuna 20 ml inek kolostrumunu deri altına yolla enjekte etmişler ve denemenin 5. gününde % 57 oranında östrus saptamışlardır. Koyunların % 94.5'inde 11. günde, % 100'ünde ise 13. günde kızgınlık görülmüştür. Tohumlanan koyunlardan % 100 gebelik elde eden araştırmacılar, 24 günlük sürede 181 kuzu doğduğunu bildirmektedirler.

İnek kolostrumunun deney hayvanlarında östrus sinkronizasyonu ve follikülasyon oluşturma işlevini araştıran Gökçen ve Arkadaşları³, sinkronizasyon oluşturmak amacıyla kızgınlık siklusunun değişik evrelerindeki 21 ergin deneme sıçanına 0.2 cc inek kolostrumunu deri altı yolla enjekte etmişler, kontrol grubundaki 5 ergin sıçana da 0.2 cc serum fizyolojisi aynı yolla vermişlerdir. Sonuçta araştırmacılar deneme grubunu oluşturan 21 ergin sıçanın tümünün, kolostrum enjeksiyonundan 5 gün sonra östrus evresinde bulunmalarına karşın, kontrol grubundaki ergin sıçanların aynı zaman süreci sonunda hala başlangıçtaki gibi kızgınlığın değişik evrelerinde bulduklarını gözlemişlerdir. Aynı araştırmacılar, bu kez inek kolostrumunun ovarium'da follikülasyon oluşturma işlevini denemek amacıyla yaptıkları bir diğer çalışmada⁴, 22 günlük 10 adet infantil dişi deneme sıçanına, deri altı 0.2 cc inek kolostrumu, 5 infantil dişi kontrol sıçanına da aynı yolla 0.2 cc serum fizyolojik

enjekte ettiler. Enjeksiyondan 5 gün sonra öldürülen sıçanların ovarium'larından yapılan seri kesitlerden hazırlanan preparatlarda kolostrum enjekte edilen sıçanların ovarium'larında, kolostrum enjekte edilmeyenlere nazaran yaklaşık 2 kat daha fazla sayıda Graff folikülünün geliştiğini gözlemlenmiştir.

Bu araştırmada hem yukarıda sonuçları verilen iki çalışmayı birarada gerçekleştirmek, hem de deney hayvanlarında, çiftlik hayvanlarında olduğu gibi kolostrum verilmesi sonucu oluşan kızgınlığın follikül gelişimi, ovulasyon ve dişilerin arasına erkek katıldığında gebelikle sonuçlanıp sonuçlanmayacağını araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyalı: Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanların Yetiştirme ve Araştırma Merkezinde İnbred olarak yetiştirilen 20 adet fertil dişi ve 5 adet fertil erkek sıçan (Rat Rattus Norvegicus L.Albino, Bursa) kullanılmıştır. Dişi sıçanlardan 10'u deneme, 10'u da kontrol grubu olarak ayrılmış, deneme ve kontrol grubundaki sıçanlar ayrıca 5'erlik iki gruba tesadüfen bölünmüşlerdir. Deneme ve kontrol gruplarındaki sıçanlara denemeye alınmadan önce kulak numaraları verilmiş ve teker teker tartılmışlardır. Deneme ve kontrol grubu sıçanlar ayrı kafeslere konulmuşlar ve Sanayi yemi ile beslenmişlerdir. Ayrı bir kafeste bulunan erkek sıçanlar gerektiğinde çiftleştirilmek üzere dişilerin bulunduğu kafeslere konulmuşlardır. Hayvanlar deneme öncesinde ve devamı sırasında standart bir ortamda bulundurulmuşlardır.

Kolostrumun Elde Edilmesi: Kolostrum, doğumunu normal olarak yapmış, sonunu 2. veya en geç 3. saatte atmış, memelerinde yangısal bozukluk bulunmayan ineklerden steril bir şişeye süzülerek alındı. Elde edilen kolostrumun her litresine 1 gr streptomisin ve 1 milyon I.Ü. penisilin katıldı. Genellikle kullanılmadan bir gün önce taze olarak alınan kolostrum enjeksiyona kadar buzdolabında bekletildi.

Denemenin Uygulanması: Beş sıçanlık ilk deneme grubuna 5 gün süreyle her gün 0.2 cc kolostrum deri altı yolla verildi ve hergün vaginal smear alındı. Bu gruptaki dişi sıçanlara 6. günde 5 adet erkek sıçan verildi ve 24 saat dişilerin kafesinde tutuldu. Beş sıçanlık ikinci deneme grubuna ise 5 gün süreyle her gün 0.2 cc kolostrum deri altına verildi ve her gün vaginal smear alındı. Bu gruptaki dişi sıçanlar 6. günde öldürülerek ovarium'ları alındı ve histolojik muayenesi yapıldı. Kontrol gruplarındaki dişi sıçanlara da deneme gruplarındaki işlemler aynen uygulandı ancak bunlara kolostrum yerine aynı miktar serum fizyolojik yine deri altı yolla verildi.

Vaginal Smear sıçanlardan bir özenin ucuna geçirilen pamuğun serviksle bulaştırılması suretiyle alındı (swap yöntemi). Vaginal smear'ler shorr boyası ile boyandı⁵.

Ovariumların histolojik muayenesi şu şekilde yapıldı. Ovarium'lar içinde doymuş civa biklorür ve Potasyum bikromat bulunan tespit sıvısına konuldu. 24 saatlik tespit süresi sonunda yıkanan parçalar dehidrasyonu takiben 56-60°C de eriyen parafinde bloğa alındılar. Parafin bloklardan elde edilen 6-7 mikronluk kesitler Crossman'ın üçlü boyasında⁶ boyanarak mikroskopta değerlendirildi. Preparatlarda ovarium'daki folliküler gelişme ve Corpus luteum oluşumu incelendi, ilginç görülen preparatların fotoğrafları çekildi.

BULGULAR

Beş gün süreyle hergün 0.2 cc kolostrum verilen deneme gruplarındaki sıçanlarla, 0.2 cc serum fizyolojik verilen kontrol gruplarındaki sıçanlardan alınan vaginal smear'lerin boyanması suretiyle yapılan kızgınlık siklusu taramaları tablo I'de verilmiştir.

Tablo: I
Kolostrum ve Serum Fizyolojik Verilen Deneme ve Kontrol Grubu Sıçanların Kızgınlık Siklusu Tarama Sonuçları

Gr.	Günler			Enj. Başl.						Enj. Sonu						
	Kulak No:	- 2	- 1		0	1	2	3	4		5	6	7	8		
DENEME	1	Ö	Ö	Ö	KOLOSTRUM	PÖ	ÖM	Ö	Ö	Ö	KOLOSTRUM	ÖM	ÖM	ÖM		
	2	Ö	M	Ö		PÖ	M	ÖM	Ö	Ö		Ö	Ö	Ö	Ö	
	3	-	Ö	M		D	D	ÖM	Ö	Ö		ÖM	ÖM	ÖM		
	4	ÖM	Ö	D		MD	D	P	Ö	Ö		Ö	Ö	Ö		
	5	P	ÖM	D		M	M	ÖM	Ö	ÖM		Ö	Ö	Ö		
	6	M	M	M		KOLOSTRUM	ÖM	M	Ö	Ö		Ö	KOLOSTRUM	ÖM	ÖM	ÖM
	7	ÖM	ÖM	M			P	P	ÖM	Ö		Ö		ÖM	ÖM	ÖM
	8	D	D	P			P	Ö	DP	P		Ö		P	Ö	Ö
	9	D	Ö	M			P	Ö	ÖM	M		Ö		Ö	Ö	Ö
	10	P	Ö	M			D	P	P	P		Ö		Ö	Ö	Ö
KONTROL	11	M	ÖM	P	FIZYOLOJİK SU	M	D	D	P	D	FIZYOLOJİK SU	D	D	D		
	12	M	M	M		ÖM	M	D	P	Ö		M	D	D		
	13	P	Ö	D		ÖM	Ö	D	ÖM	M		D	D	D		
	14	Ö	ÖM	M		P	P	ÖM	-	M		D	D	D		
	15	M	Ö	Ö		D	D	D	Ö	M		D	D	D		
	16	D	Ö	D		FIZYOLOJİK SU	-	D	Ö	M		D	FIZYOLOJİK SU	D	P	PÖ
	17	D	ÖM	Ö			D	P	D	M		D		D	P	P
	18	P	M	Ö			D	P	Ö	ÖM		M		D	D	D
	19	D	Ö	Ö			D	P	Ö	ÖM		M		D	D	D
	20	ÖM	D	MD			D	P	P	P		PÖ		M	D	D

Ö = Östrus P = Proöstrus M = Metöstrus D = Diöstrus

Kolostrum verilen deneme grubu sıçanlarla, serum fizyolojik verilen kontrol grubu sıçanların ovariumlarından yapılan seri kesitler Resim 1 ve Resim 2'de görülmektedir. Resimlerden de görüleceği üzere kontrol grubu sıçanlarda çok sayıda Graff follikülü saptanmasına karşılık, deneme grubu sıçanlarda 5 adet corpus luteum ile sekonder ve tersiyer folliküller gözlenmektedir.

Beş gün süreyle her gün 0.2 cc kolostrum verilen deneme grubundan 5 sıçan ile beş gün süreyle hergün 0.2 cc serum fizyolojik verilen kontrol grubundan 5 sıçan'a 24 saat süreyle 5 adet fertil erkek sıçan katılmış ve sonucta deneme sıçanlarından 3'ü gebe kalıp doğurduğu halde kontrol sıçanlarından hiçbiri gebe kalmamıştır.



Resim: 1
Kontrol Grubu Sıçanlarda Ovarium'un Histolojik Kesiti. x 450



Resim: 2
Deneme Grubu Sıçanlarda Ovarium'un Histolojik Kesiti. x 650

TARTIŞMA VE SONUÇ

Beş gün süreyle hergün 0.2 cc kolostrum enjekte edilen deneme gruplarındaki siçanlarla 0.2 cc serum fizyolojik enjekte edilen kontrol gruplarındaki siçanların vaginal smear'lerinin histolojik muayene sonuçları Tablo I'de verilmiştir. Tablodan da görülebileceği gibi, kolostrum enjeksiyonuna başlandığı gün deneme siçanlarının tümü farklı kızgınlık siklusu evrelerinde bulunmalarına karşın, 5 günlük enjeksiyon süresi sonunda siçanların hepsinin östrus evresine ulaştığı ve sinkronizasyonunun gerçekleştiği gözlenmektedir. Aynı süre serum fizyolojik enjekte edilen kontrol siçanlarında ise bu durum görülmemektedir. Bu sonuçlardan kolostrumun fertil dişi siçanlarda östrus oluşumuna ve östrusların toplulaşmasına yani sinkronizasyonuna yol açtığı anlaşılmaktadır. Nitekim Gökçen ve arkadaşları³, sinkronizasyon oluşturmak amacıyla kızgınlık siklusunun değişik evrelerindeki 21 ergin deneme siçanına 0.2 cc inek kolostrumunu deri altı yolla enjekte etmişler, kontrol grubundaki 5 ergin siçanına da 0.2 cc serum fizyolojisi aynı yolla vermişlerdir. Sonuçta araştırmacılar deneme grubunu oluşturan siçanların tümünün kolostrum enjeksiyonundan 5 gün sonra östrus evresinde bulunmalarına karşın, kontrol grubundaki ergin siçanların aynı zaman süreci sonunda hala başlangıçtaki gibi kızgınlığın değişik evrelerinde bulduklarını gözlemişlerdir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar Gökçen ve arkadaşlarının bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Her gün 0.2 cc kolostrum enjekte edilip 5. günde vaginal smear'in histolojik muayenesi sonucu tümünü kızgınlığa geldiği saptanan deneme siçanlarından 5'inin ovariumları alınmış ve histolojik muayeneleri yapılmıştır. Aynı şekilde serum fizyolojik verilen kontrol siçanlarının besinin ovarium'ları da histolojik olarak muayene edilmiştir. Deneme ve kontrol gruplarındaki siçanların histolojik muayene sonuçları Resim 1 ve Resim 2'de görülmektedir.

Resimlerden de görüleceği gibi kontrol grubundaki siçanların ovarium'larının histolojik kesitlerinde çok sayıda Graff follikülüne rastlanmasına karşılık, deneme grubundaki siçanların ovariumlarının histolojik kesitlerinde çok sayıda corpus luteum görülmektedir. İnek kolostrumunun infantil siçanlarda follikülasyon oluşturduğu daha önce Gökçen ve arkadaşlarıca yapılan bir çalışmada da⁴ saptanmıştır. Araştırmacılar 22 günlük 10 adet infantil dişi deneme siçanına deri altı 0.2 cc inek kolostrumu, 5 infantil dişi kontrol siçanına da aynı yolla 0.2 cc serum fizyolojik enjekte ettiler. Enjeksiyondan 5 gün sonra öldürülen siçanların ovarium'larından yapılan seri kesitlerden hazırlanan preparatlarda kolostrum enjekte edilen siçanların ovarium'larında kolostrum enjekte edilmeyenlere nazaran yaklaşık iki kat daha fazla sayıda Graff follikülünün geliştiği gözlenmiştir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlarla anılan araştırma bulguları benzerlikler taşımaktadır. Her ne kadar biz araştırmamızda fertil siçan kullanmış isekte infantil siçanlarda da kolostrumun etkisiyle Graff follikülüne değin ulaşan bir folliküler gelişme gözlenmiştir. Gökçen ve arkadaşlarının çalışmasında kolostrum sadece ilk gün 0.2 cc enjekte edilmiştir. Oysa bizim çalışmamızda fertil siçanlara 5 gün süreyle hergün kolostrum verildi. Infantil siçanlarda gerek cinsel faaliyetin mevcut olmaması nedeniyle Gonadotropik hormon salgılanmasının bulunmayışı, gerekse sadece bir kez kolostrum enjekte edilmesi nedeniyle folliküler gelişme Graff follikülü düzeyinden ileri gidememiştir. Oysa araştırmamızda kullanılan siçanların fertil olması ve 5 gün süreyle her gün kolostrum enjeksiyonunun yapılması

sonucu özellikle deneme grubu sıçanlarında oluşan Graff folliküllerinin patlayarak ovulasyonu doğurduğu ve erkek hayvan katılması sonucu gebelik oluşması sonucu ise Corpus luteum'un meydana geldiği görülmektedir. Nitekim bu sonuçlar deneme grubundaki sıçanlara erkek katılması sonucu oluşan gebelik ve doğum sonuçları ile de tutarlılık göstermektedir. Gebeliğin oluşması için Graff follikülünün patlaması yani ovulasyon gereklidir. Ovulasyonun meydana gelmesinin kanıtı ise ovarium'lar da Corpus luteum'ların mevcut olmasıdır. Araştırmamızda kolostrum verilen bir grup deneme sıçanının arasına fertil erkek sıçanlar katılmış ve 5 sıçandan 3'ünün gebe kalıp doğurduğu saptanmıştır. Elde edilen bu gebelik sonuçları da deneme grubu sıçanlarda ovulasyonun oluştuğunu göstermektedir. Nitekim çiftlik hayvanlarında yapılan çalışmalarda da^{1,2} kolostrum enjeksiyonu sonucu kızgınlık gösteren koyunlar tohumlanmış ve gebelik elde edilmiştir.

Sonuç olarak kolostrum enjekte edilen fertil sıçanlarda folliküler gelişmenin, kızgınlığın ve östrus sinkronizasyonunun oluştuğu, oluşan folliküllerin patlayarak ovulasyonu doğurduğu ve aralarına erkek katıldığında sıçanların gebe kalarak Corpus luteum meydana geldiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. KALUDINA, T. and ANTONOV, G.: Oestrus synchronization in sheep during the breeding season. Anim. Breed. Abstr., 45 (11): 6613, 1977.
2. DOYCHEV, S. and KALUDINA, T.: A new preparation to synchronize oestrus in sheep. Anim. Breed. Abstr., 45 (3): 1396, 1977.
3. GÖKÇEN, H., ÖZER, A., GÜREŞÇİ, L., ÖZGÜR, L. ve SOYLU, K.: İnek kolostrumunun sıçanlarda kimi cinsel etkinlikler üzerine etkisi. I. İnek kolostrumunun erişkin sıçanlarda östrus sinkronizasyonu oluşturma işlevi üzerinde araştırmalar. U.Ü. Vet. Fak. Derg. 4 (1-2-3): 89-96, 1985.
4. GÖKÇEN, H., ÖZER, A., GÜREŞÇİ, L., ÖZGÜR, L. ve SOYLU, K.: İnek kolostrumunun sıçanlarda kimi cinsel etkinlikler üzerine etkisi. II. İnek kolostrumunun infantil sıçanlarda ovarium'da follikülasyon oluşturma işlevi üzerinde araştırmalar. U.Ü. Vet. Fak. Derg., 4 (1-2-3): 97-102, 1985.
5. ERBENĞİ, T.: Histoloji I. İ.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları, 1983.
6. CROSSMAN, O.: A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. Anat. Rec., 69: 33-38, 1937.