

## İNEKLERİN DEĞİŞİK SEKSÜEL SIKLUS GÜNLERİNDE SAĞIM FAZLARINA BAĞLI OLARAK SÜT YAĞI VE PROGESTERONU DÜZEYLERİNİN DEĞİŞİMLERİ

Behiç Serpek\*

Max Döbeli\*\*

Untersuchungen über den Gehalt von Progesteron und Fett in der Kuhmilch im Verlaufe des Melkens

**Zusammenfassung:** Bei 2 Kühen (Schweizerisches Braunvieh) wurden in 8 verschiedenen Zyklusphasen die Konzentrationen von Fett und Progesteron in der Milch im Verlaufe des Melkaktes gemessen. Die in 1 Melkgang aus 1 Euterviertel anfallende Milch wurde in Fraktionen zu 200 ml aufgefangen.

Bei Melkbeginn waren die Fett - und Progesteronkonzentrationen gering, nahmen im Verlaufe des Melkaktes zu und erreichten Höchstwerte am Schluss des Melkens. Mit Ausnahme des 2. Zyklustages bei Kuh Habana ( $r = 0.64$ ) und des 17. Zyklustages bei Kuh Nelli ( $r = 0.54$ ) waren Fett - und Progesteronkonzentrationen gut korreliert ( $r = 0.82 - 0.98$ ). Die Ergebnisse zeigen, dass Endgemelk ein geeignetes Untersuchungssubstrat für eine Trachtigkeitsdiagnose darstellt; sie weisen aber auch darauf hin, dass Anfangsgemelk zu Fehlinterpretationen führen kann, wenn die Beurteilungskriterien anhand von Endgemelksproben erarbeitet worden sind.

**Özet:** Sağımın fazlarına göre süt progesterone ve süt yağı düzeylerinin değişimlerini ve süt yağı ile süt progesteron düzeyleri arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak amacıyla İsviçre esmeri iki inek üzerinde çalışıldı. Süt örnekleri değişik siklus günlerinde sağ arka meme loblarından ve sabah sağımı sırasında 200'er ml'lik fraksiyonlar halinde toplandı. Fraksiyonlar homojenize edildi ve süt yağı ve progesteronu analizleri yapıldı. Sağım başlangıcında süt yağı düzeyleri farklı seksüel siklus günlerinde Habana'da 0.6-2.4, Nelli'de 0.8-1.4 g % olarak saptandı. Süt progesteron düzeyleri seksüel siklusun günlerine göre değişmesine karşılık, sağım başlangıcında daima düşüktü. Sağımın ilerlemesi

\* Doç.Dr., S.Ü. Veteriner Fakültesi, Biokimya-Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya.

\*\* Dr. Oberass., Institut für Zuchthygiene, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich.

*ile süt yağı düzeyleri yükselmeye başladı ve sağım sonunda Habana'da 5.8–8.2, Nelli'de 7.0–10.0 g %'lik değerler elde edildi. Sağımın ilerlemesiyle süt yağının artmasına bağlı olarak süt progesteron düzeyleride yükseldi ve süt yağı ile süt progesteronu arasında sadece 2 (Habana,  $r = 0.64$ ) ve 17. (Nelli,  $r = 0.54$ ) seksüel siklus günlerinde orta, incelenen diğer tüm seksüel siklus günlerinde yüksek dereceli bir korelasyonun ( $r = 0.82–0.98$  arasında) varlığı belirlendi ve süt progesteronu analizleri amacıyla yüksek düzeylerde progesteron içermesi nedeniyle süt örneklerinin sağım sonu alınmasının uygun olacağı ve güvenilir sonuçlar vereceği kamsına varıldı.*

### Giriş

1928 yılında Ascheim ve Zondek (2) gebe kadınların idrarlarında HCG'nin (Human Chorion Gonadotropin) varlığını ve bu hormon ile gebeliğin 21. gününde erken gebelik teşhisinin yapılabileceğini ortaya koymuşlardır. Bu buluş ışığında diğer memelilerdeki erken gebelik teşhislerinde de hormonların kullanılacakları düşünülmüş ve kısarak kanlarında 37–43. günler arasında uterus kaynaklı bir gonadotropin olan PMSG'nin (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) (6), bazı primatlarda ve zürafalarda gebeliğin oluştuğunu gösteren hormonların varlığı ortaya konmuştur (29). Fakat ekonomik nedenlerle erken gebelik teşhislerinin büyük önem taşıdığı ineklerde hormonlar üzerinde yapılan tüm çalışmalar başarısızlıkla sonuçlanmıştır. İlk kez 1968 yılında Shemesh ve ark. (26) gebe ve gebe olmayan ineklerin plazma progesteron düzeylerini incelemişler ve plazma progesteron düzeylerinin erken gebelik teşhislerinde kullanılabilirliğini tesbit etmişlerdir.

Daha sonra yapılan çalışmalarla plazma progesteron konsantrasyonları kompetitif bağlanma (CPB) (23), radyoimmünojenik (RIA) (19) ve enzimimmünojenik (EIA) (1) metodlarla da saptanmaya başlanmıştır. Hoffmann ve Hamburger (18) ve Heap ve ark. (16) 1973 yılında radyoimmünoassay ile belirlenen süt progesteron düzeylerinin ovaryum fonksiyonları üzerinde belirli ölçüde bilgi vereceğini ortaya koymuşlardır. Değişik metodlarla süt progesteron düzeylerinin tesbiti ve Corpus Luteum'un sekresyon yeteneği hakkında bilgi edinilmesiyle erken gebelik teşhislerinin yapılabilmesi yanısıra (1, 3, 4) kızgınlık ve tohumlama zamanının belirlenebilmesi (14), tohumlamadan sonraki siklik ovaryum fonksiyonlarının, post partum siklusların, embriyo transferi ve siklus senkronizasyonu gibi biyoteknik metodların kontrolleri (7, 11, 12, 20) embriyonal ve fetal kayıpların

zamanlarının ve kapsamlarının açıklanabilmesi de ihtimal dahilindedir (28).

Reproduksiyon olaylarında önemli bir rolü olan progesteron hormonu ineklerde sadece seksüel sikluslar sırasında değil, aynı zamanda gebelik sırasında da başlıca Corpus luteum tarafından üretilir ve süt veren ineklerde en önemli atılım yolu süttür (19). Progesteron liyofilik niteliği nedeniyle vücudun yağ dokusu içerisinde (10, 19) ve sütle atılan progesteron da süt yağı içerisinde toplanır. Bu nedenle süt progesteron analizlerinde süt yağının ve yağsız süütün kullanılmasının güvenilir sonuçları vereceği ortaya konmasına karşılık (5, 21, 27), süütün yağının alınması ya da yağsız süütün elde edilmesi belli işlemleri gerektirmesi nedeniyle önemli zaman kayıplarına neden olur. Bu zaman kayıpları rutin çalışan ve fazla sayıda örnek işleyen laboratuvarlar için önemli bir problemdir. Bu sakıncaları ortadan kaldırmak ve süt progesteron analizlerini daha süratli bir şekilde gerçekleştirmek amacıyla doğrudan doğruya süütün kullanıldığı progesteron analiz metodları geliştirilmiştir (1, 25, 28). Süt yağının sağım başlangıcında alınan süt örneklerinde % 1-2, sağım sonu alınan süt örneklerinde % 8-12 olduğu (30) ve progesteronun da süt yağı içerisinde toplanması nedeniyle süt yağı miktarlarına bağımlı olarak değiştiği bildirilmektedir (18). Hamburger (15) bu konu üzerinde yaptığı çalışmaları sırasında sağım başlangıcı, sağım ortası ve sağım sonu alınan süt örneklerinin progesteron düzeylerini iki inekte sırasıyla, 3.37, 5.75, 10.00 ve 4.25, 12.50, 20.50 ng/ml olarak saptamış ve süt progesteron düzeyleri ile süt yağı düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun varlığını gözlemiştir. Aynı bulgular birçok başka araştırmacı tarafından da elde edilmiş ve süt yağına bağımlı olarak süt progesteron düzeylerinde görülen büyük değişimler nedeniyle toplam süttten alınan örneklerin direkt süt progesteron analizlerinde kullanılmasının daha güvenli olacağı bildirilmiştir. (11, 17, 22). Fakat süt progesteron analizlerinin özellikle gerekli olduğu fazla sayıda inek bulunan işletmelerde makinalı sağım yapılması zorunludur ve sağılan sütlerin ayrı ayrı toplanması ve toplam süttten örnek alınması güçtür. Bu nedenlerle değişik araştırmacılar sağım bittikten sonra memede kalan son süt örneklerini incelemişler ve süt progesteron düzeylerinin çok yüksek olduğunu saptamışlardır. Yüksek progesteron konsantrasyonlarının değerlendirilmesinin de daha kolay ve güvenilir olması nedeniyle direkt süt progesteron analizlerinde sağım sonu alınan süt örneklerinin kullanılmasının en güvenilir sonuçları vereceğini bildirmişlerdir (4, 5, 24). Fakat süt progesteron düzeyleri seksüel sıklusa bağımlı olarak çok

büyük değişimler göstermekte ve östrus sırasında çok düşük (progesteron  $< 1$  ng/ml), diöstrus sırasında çok yüksek (progesteron  $> 10-20$  ng/ml) seyretmektedir.

Son yıllarda çok amaçlı olarak kullanılan süt progesteron analizlerinde, süt yağı ve süt progesteron düzeyleri arasındaki ilişkilerin seksüel siklus günlerine bağımlı olarak değişip değişmediği ve daima sağım sonu alınan süt örneklerinin tüm seksüel siklus günlerinde güvenilir sonuçları verip vermeyeceği bilinmemektedir. Bu çalışma, bu konuları açıklığa kavuşturmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

### Materyal ve Metot

Çalışma Züriç Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zuchthygiene Enstitüsü'nde Habana ve Nelli isimli İsviçre Esmeli iki inek üzerinde gerçekleştirildi. Analiz edilen süt örnekleri ineklerin sağ arka meme loblarından sabah sağımları sırasında 200 ml'lik şişelere sağılarak fraksiyonlar halinde toplandı. Bu işlem her iki inekte tüm seksüel siklusu karakterize edebilecek şekilde (Habana'dan 2, 5, 8, 11, 12, 15, 18 ve Nelli'den 3, 6, 9, 12, 14, 15, 17, 20. nci seksüel siklus günleri süt örnekleri alındı) sekizer kez tekrarlandı.

Toplanan süt fraksiyonlarının süt progesteron analizleri  $^{125}\text{I}$  assayı (8) ve süt yağı analizleri Gerber metodu (13) kullanılarak aynı gün içerisinde gerçekleştirildi. Süt progesteronu ve süt yağı arasındaki ilişkiler korrelasyon analizleri ile incelendi.

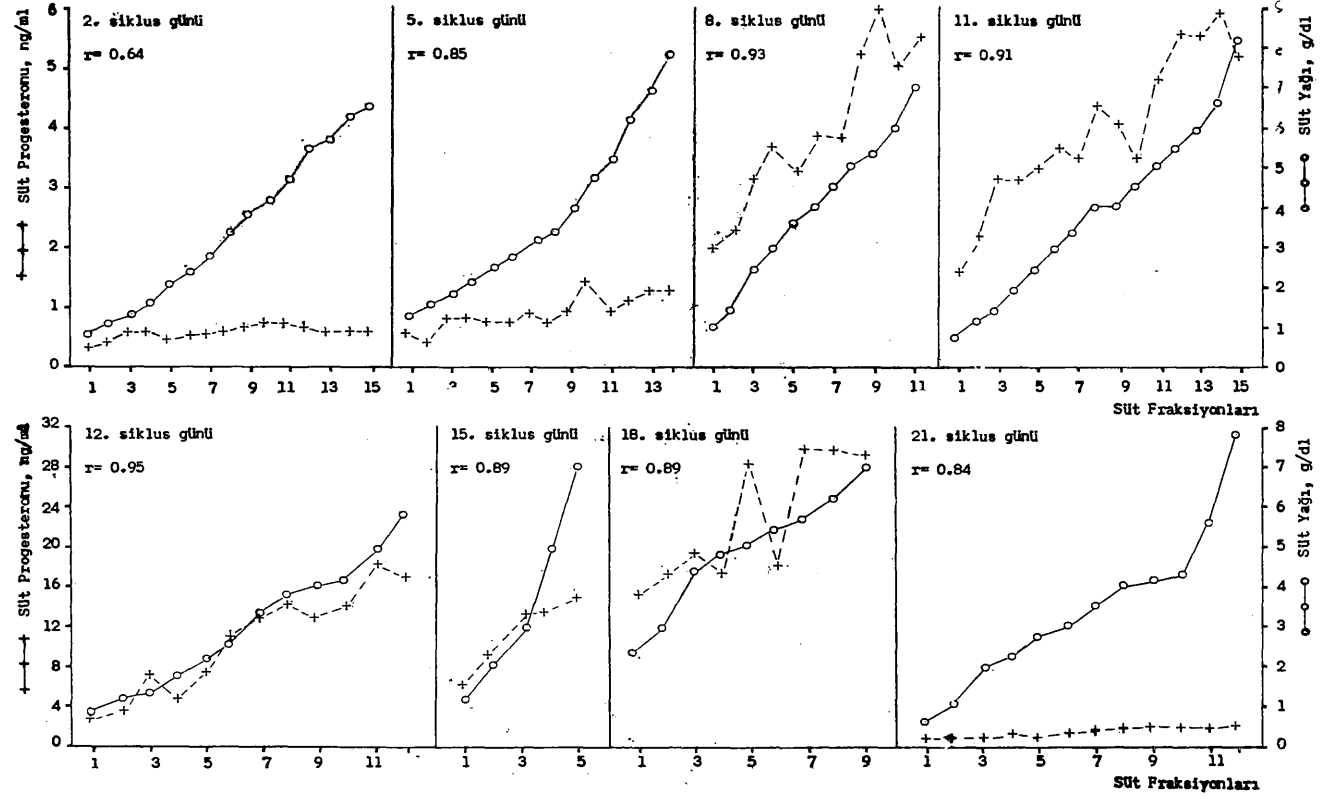
### Bulgular

Farklı seksüel siklus günlerinde Habana ve Nelli isimli ineklerin sabah sağımları sırasında fraksiyonlar halinde elde edilen süt örneklerindeki süt progesteronu ve süt yağı düzeylerinin fraksiyonlara bağımlı olarak değişimleri ve süt yağı ile progesteronu arasındaki ilişkiler Tablo I, şekil 1 (Habana) ve Tablo II, Şekil 2'de (Nelli) gösterilmiştir.

### Tartışma ve Sonuç

Yalçın (30) sağım başlangıcında alınan süt örneklerinde % 1-2 olan süt yağı oranlarının sağım sonu alınan süt örneklerinde % 8-12 arasında bulunduğunu yazmaktadır. Hamburger (15) de yaptığı çalışmalarında aynı durumu gözlemiş ve ilave olarak süt progesteron

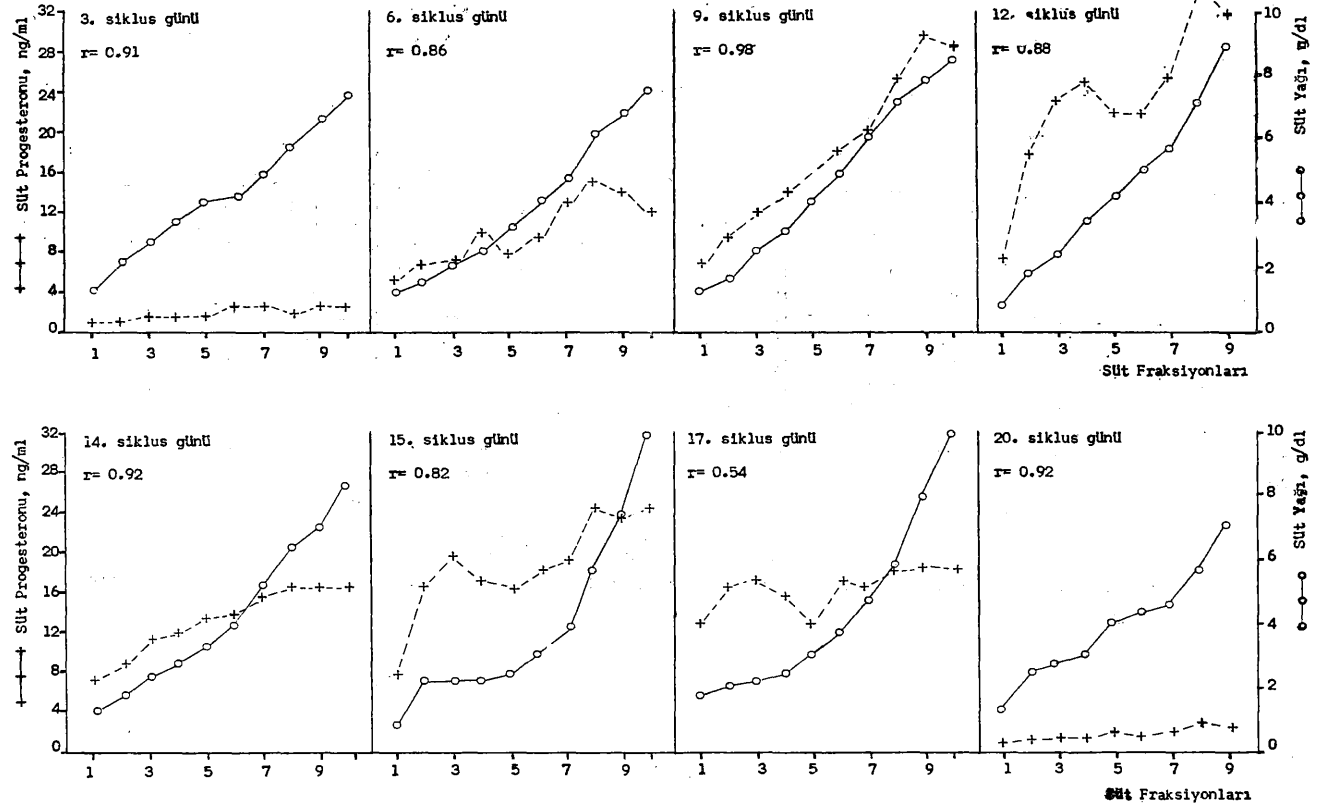




Şekil 1. Habana isimli inekte seksüel siklusun değişik günlerinde fraksiyonlar halinde toplanan süt örneklerindeki progesteron hormonu ile süt yağı düzeyleri.

Tablo II. Nelli isimli inekte seksüel siklusun değişik günlerinde fraksiyonlar halinde toplanan süt örneklerindeki progesteron hormonu ile süt yağı düzeyleri.

Fraksiyon No	3. siklus günü		6. siklus günü		9. siklus günü		12. siklus günü		14. siklus günü		15. siklus günü		17. siklus günü		20. siklus günü	
	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g	progest. ng/ml	yağ % g
1	0.7	1.2	5.0	1.2	7.0	1.2	7.1	0.8	7.7	0.8	7.1	1.2	13.0	1.4	0.9	1.2
2	0.8	2.2	6.5	1.5	9.1	1.6	17.6	1.8	16.5	2.2	8.7	1.8	16.5	1.8	1.0	2.4
3	1.0	2.8	7.1	2.0	12.0	2.6	22.8	2.8	19.6	2.2	11.3	2.3	16.6	2.0	1.0	2.6
4	1.1	3.4	9.6	2.5	14.0	3.2	24.4	3.5	17.2	2.2	11.5	2.8	15.7	2.4	0.9	3.0
5	1.4	4.0	7.7	3.3	14.7	4.0	21.7	4.2	16.2	2.4	13.7	3.3	13.7	3.0	1.2	4.0
6	1.9	4.2	9.1	4.1	17.7	5.2	21.2	5.0	18.3	3.0	13.0	4.0	16.7	3.8	1.3	4.4
7	2.0	4.8	12.8	4.6	19.9	6.0	25.3	5.6	19.0	3.8	15.1	5.2	16.3	4.8	1.4	4.6
8	1.9	5.8	15.2	6.2	24.9	7.2	34.1	7.3	24.5	5.6	16.7	6.5	18.1	5.8	1.3	5.4
9	2.5	6.6	13.9	6.8	29.7	7.9	31.5	8.8	23.2	7.4	16.0	7.2	18.7	8.0	1.5	7.0
10	2.0	7.4	12.2	8.2	27.1	8.6			24.7	10.0	16.4	8.4	16.3	10.0		



Şekil 2. Nelli isimli inekte süksel siklusun değişik günlerinde fraksiyonlar halinde toplanan süt örneklerindeki progesteron hormonu ile süt yağı düzeyleri.



düzeylerinin de sağıma bağımlı olarak değiştiğini ve diöstrusta bulunan iki inekte sağım başı, ortası ve sonu süt progesteron düzeylerinin sırasıyla, 3.37, 5.75, 10.00 ve 4.25, 12.50, 20.50 ng/ml olduğunu bildirmektedir.

Bu çalışmada da, tüm seksüel siklus günlerinde sağım başı süt örneklerindeki süy yağının % 0.8–2.4 ve sağım sonu süt örneklerindeki progesteron düzeylerinin % 5.8–10.00 arasında değiştiğini ve süt fraksiyonlarına göre süt yağının düzenli bir artış gösterdiği gözlenmektedir. Hamburger (15)'in bildirdiği gibi süt progesteron düzeyleri de fraksiyonlara göre bir değişim göstermiş ve bu değişim Tablo I–II ve Şekil 1–2'den de görülebileceği gibi östrus sırasında var olan çok düşük progesteron düzeylerinde bile gözlenmiştir.

Progesteronun liyofilik nitelikleri nedeniyle süt yağına toplanmış olarak taşındığı (10,19) ve süt yağının sağımın akışı içerisinde yükselmesine bağımlı olarak süt progesteron düzeylerinin de yükseldiği bildirilmektedir (15).

Bu çalışmada da, süt yağı ve süt progesteron düzeyleri arasında sadece 2. siklus günü (Habana) ve 17. siklus günü (Nelli) orta derecede, araştırılan diğer tüm siklus günlerinde yüksek derecede pozitif bir korrelasyonun varlığı saptanmıştır (Şekil 1 ve 2). İki ve 17. günlerdeki korrelasyonun orta derecede bulunması süt progesteron analizleri sırasında spesifik bağlanmadaki bir değişimden kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak süt progesteron düzeylerinin süt yağı düzeylerine bağlı olarak sağımın fazlarına göre değiştiği ve süt progesteron düzeyleri ve süt yağı düzeyleri arasında var olan yüksek derecedeki korrelasyon nedeniyle sağım sonu alınan süt örneklerinde en yüksek progesteron konsantrasyonlarının elde edilebileceği söylenebilir. Bu nedenle tüm seksüel siklus günlerinde, sağım sonunda alınan süt örneklerinin direkt süt progesteron analizlerinde kullanılması en güvenli sonuçları verecektir.

#### Kaynaklar

1. **Arnstadt, K.I. and Schmidt-Adamopoulou, B.** (1982). *Directenzymimmunoassay for determination of progesterone in milk from cows.* Br.Vet.J., 138, 436–438.
2. **Ascheim, S. und Zondek, B.** (1928) *Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn (Durch Hormonnachweis),* Klin. Wschr., 7, 8–9.
3. **Bamberg, E., Choi, H.S. und Möstl, E.** (1981) *Anwendungsmöglichkeiten der Progesteronbestimmung in der Milch von Kühen.* Wien. Tierartzl. Mschr., 68, 185–187.

4. **Braun, U.** (1978) *Der Progesterongehalt im Blutplasma und in der Milch während der Frühgravidität bei Kühen.* Schweiz, Arch. Tierheilk., 120, 253–261.
5. **Claus, R., Münster, E. und Dehnhard, M.** (1985) *Überprüfung der Anwendbarkeit eines Mikrotiter-Enzymimmuntest für Nachgemelk zur Fruchtbarkeitsanalyse bei der Kuh.* Zucht-hyg., 20, 54–60
6. **Cole, H.H. and Hart, G.H.** (1930) *The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat,* Am. J. Physiol., 93, 57–68.
7. **Darling, J.A.B., Laing, A.H. and Hartennes, R.A.** (1974) *A survey of the steroids in cows milk,* J. Endoc., 62, 291–297.
8. **Döbeli, M.** (1980) *Comparative studies in radioimmunoassay of progesterone in plasma and milk of cows using double antibody technique and dextran-coated charcoal separation.* Proc. 2<sup>nd</sup> International Symposium of Veterinary Diagnosticans. Lucerne, Switzerland.
9. **Döcke, F.** (1975) *“Veterinärmedizinische Endokrinologie”,* Veb. Gustav Fischer Verlag, Jena.
10. **Elsaesser, F.** (1979) *In welcher Weise kann die Milch-Progesteronbestimmung zur Verbesserung der Fortpflanzungssteuerung beim Rind beitragen?* Tierzüchter, 3, 94–97.
11. **Elsaesser, F., Ellendorf, F. und Schmidt, D.** (1979) *Die Milchprogesteronbestimmung als mittel zur Objektivierung des Fruchtbarkeitsstatus von Milchkuhherden in der Post-partum-Phase.* Dtsch. Tierärztl. Wschr., 86, 53–54.
12. **Forth, W., Henschler, D. und Rummel, W.** (1977) *“Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie”,* Wissenschaftsverlag, München.
13. **Gerber, N.** (1892) *Die Azid-Butyrometrie als Universal-Fettbestimmungs Methode,* Chemiker-Zeitung., 98, 1839–1840.
14. **Günzler, O., Korndörfer, L., Lohoff, H., Hamburger, R. und Hoffmann, B.** (1975) *Praktische Erfahrungen mit der Progesteronbestimmung in der Milch zur Erfassung des Fertilitätszustandes bei der Kuh,* Tierärztl. Umsch., 3, 111–118.
15. **Hamburger, R.** (1974) *Progesteronbestimmung in der Milch.* Inaugural Dissertation, München.
16. **Heap, R.B., Gwyn, M., Laing, J.A. and Walters, D.E.** (1973) *Pregnancy diagnosis in cows; changes in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay.* J. Agric. Sci. Camb., 81, 151–157.
17. **Heap, R.B. and Holdsworth, R.J.** (1981) *Hormone assays in reproduction and fertility.* Br. Vet. J., 137, 561–571.
18. **Hoffmann, B. und Hamburger, R.** (1973) *Progesteron in der Milch: Radioimmunologische Bestimmung, Beziehung zur Gelbkörperfunktion und Milchfettkonzentration.* Zuchthyg., 8, 154–162.
19. **Hoffmann, B., Kyrein, H.J. and Ender, M.L.** (1973) *An efficient procedure for the determination of progesterone by radioimmunoassay to bovine peripheral plasma.* Hormone Res., 3, 302–310.
20. **Hoffmann, B., Wagner, W.C., Rattenberger, E. und Schmidt, J.** (1977) *Endocrine relationships during late gestation and parturition in the cow. (As quoted) “The Fetus and Birth”,* Ciba Foundation Symposium., 47, 107–125.

21. **Oltner, R. and Edqvist, L.E.** (1981) *Progesterone in defatted 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.
22. **Peters, A.R., Hewitt, D.S. and Lamming, G.E.** (1983) *The effect of exogenous progesterone on plasma LH and Milk progesterone concentrations in multiple-suckling post-partum cows*. Anim. Reprod. Sci., 6, 103-110.
23. **Robertson, H.A. and Sarda, I.R.** (1971) *A very early pregnancy test for mammals : Its application to the cow, ewe and sow*. J. Endoc., 48, 407-419.
24. **Ruhe, F. und Grunert, E.** (1977) *Beitrag zum Frühtraechtigkeitsnachweis beim Rind in Problembestaenden durch Progesteronbestimmung in der Milch*. Dtsch. Tieraertzl. Wschr., 84, 216-219.
25. **Sauer, M.J., Foulkes, J.A. und Cookson, A.D.** (1981) *Directenzymimmunoassay of progesterone in bovine milk from cows*. Steroids, 38, 45-53.
26. **Shemesh, M., Ayolon, M., Lindner, H.R.** (1968) *Early effect of conceptus on plasma progesterone level in the cow*, J. Reprod. Fert., 15, 161.
27. **Stevens, K., Long, S.E. and Perry, G.C.** (1981) *A method to reduce non-specific binding in whole milk progesterone radioimmunoassays*. Br. Vet. J., 137, 17-20.
28. **Taubert, H., Barth, T., Hempel, G. und Graese, K.** (1984) *Die Progesteronbestimmung für die Reproduktionskontrolle bei Kühen mittels eines Tritium Radioimmunoassays*. Arch. exper. Vet. Med., 38, 37-48.
29. **Wilkinson, J.E. and Fremery, P.** (1940) *Gonadotropic hormones in the urine of the giraffe*. Nature, Lond., 146, 491-494.
30. **Yalçın, B.C.** (1981) "*Genel Zootečni*", Nazım Terzioğlu Matematik Araşt. Enst. Baskı Atölyesi, İstanbul.