

## Derleme

# İneklerde Foliküler Dalga Dinamikleri ve Ekzojen Kontrolü

Uğur KARA

<sup>1</sup>Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Adana, Türkiye

Sorumlu yazar: 0532 553 2681, ugurvetkara@hotmail.com

Geliş Tarihi:11.04.2019 / Kabul Tarihi: 21.05.2019

### Özet

Sığırlarda folikül gelişimi dalgalar halinde gerçekleşir ve bir östrus siklusu süresince genellikle iki ya da üç folikül dalgası görülür. Bir foliküler dalga aynı anda büyümeye başlayan bir grup folikül içerir. Sığırlarda ovaryum foliküler dinamikleri; küçük foliküllerin büyümesi, dominant folikül seçimi, dominant folikülün atrezisi veya ovulasyonu ile sonraki siklusun başlamasını kapsar. Sığırlarda antral folikül büyümesi iki aşamada meydana gelir; ilk aşama "yavaş" büyüme aşamasıdır. Bu aşama antrum oluşumundan, folikülün ultrason ile tespit edilebilecek yaklaşık 3 mm'lik bir çapa ulaşmasına kadar olan süreci kapsar. İkinci aşama ise "hızlı büyüme" fazıdır. Bu süreç foliküllerin gonadotropine bağımlı olduğu dönemdir ve folikül grubunun büyümesini, dominant folikül seçimini ve büyümesini içerir. Sığırlarda sabit zamanlı suni tohumlama, embriyo transferi ve süperovulasyon uygulamaları için foliküler dalga oluşumunun senkronize edilmesine yönelik uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Foliküler dalga oluşumunun senkronizasyonu uygulamaları fiziksel ya da hormonal olarak dominant folikülün diğer foliküller üzerindeki baskılayıcı etkisini ortadan kaldırılması temeline dayanmaktadır. Folikül ablasyonu uygulaması doğrudan fiziksel olarak dominant folikülün baskılayıcı etkisini ortadan kaldırmaya yönelik bir girişimdir. Hormonal uygulamalar ise dominant folikülün atrezisi, luteinizasyonu veya ovulasyonu sağlanarak baskılayıcı etkisinin ortadan kaldırılmasına yönelik bir uygulama şeklidir. Hormonal uygulama amacıyla östrojenler, progesteron, GnRH ve LH kullanılmaktadır. Bu derlemede sığırlarda foliküler gelişim, foliküler dalga dinamikleri ve foliküler dalga oluşumunun ekzojen kontrolü hakkında özet bilgi verilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Foliküler dalga, folikül ablasyonu, GnRH, LH, östrojen, sığır

## Follicular Wave Dynamics and Exogenous Control in Cows

### Abstract

In cattle, follicle growth occurs in waves and usually two or three follicle waves are seen during an oestrus cycle. A follicular wave consists of a group of follicles that begin to grow simultaneously. Cattle ovary follicular dynamics; include the growth of small follicles, selection of dominant follicles, atresia or ovulation of the dominant follicle, and initiation of the next cycle. Antral follicle growth occurs in two stages in cattle; The first stage is the "slow" growth phase. This phase covers the process from the antrum formation until the follicle reaches a diameter of about 3 mm which can be detected by ultrasound. The second stage is the "rapid growth" phase. This process is the period when the follicles are gonadotropin dependent and include the growth of the follicle group, the selection of the dominant follicle and growth of dominant follicle. There is a need for applications for synchronizing follicular wave formation for fixed-time artificial insemination, embryo transfer and superovulation applications in cattle. The applications of synchronization of follicular wave emergence are based on physical or hormonal removal of the suppressive effect of the dominant follicle. The application of follicle ablation is an attempt to directly physically to eliminate the suppressive effect of the dominant follicle. Hormonal applications are applied to eliminate the suppressive effect of the dominant follicle by providing atresia, luteinization or ovulation. For hormonal administration, estrogens, progesterone, GnRH and LH are used. In this review, we provide an overview of follicular development, follicular wave dynamics and exogenous control of follicular wave emergence in cattle.

**Key words:** Follicular wave, follicle ablation, GnRH, LH, estrogen, cattle

### 1. Giriş

Sığırlarda ovaryum foliküler dinamikleri; küçük foliküllerin büyümesi, dominant folikülün seçimi, atrezisi veya ovulasyonu ile bir sonraki siklusun başlamasını içerir. Sığırlarda folikül gelişimi dalgalar halinde gerçekleşir ve bir östrus siklusu süresince genellikle iki ya da üç foliküler dalga oluşur (Knopf ve ark. 1989).

Real-time ultrasonografinin kullanılmaya başlanması foliküler gelişim aşamalarının ve foliküler dalgalarının oluşum zamanlarının tespit edilmesini sağlamıştır. Bununla birlikte, tek

bir ultrasonografik muayeneye bulguları ile foliküler gelişim ya da foliküler dalga oluşumlarının aşamalarını kesin olarak belirlemek zordur. Süperovulasyon protokollerinin uygulaması sonrası oluşan ovaryum fonksiyonel cevabındaki ve östrus senkronizasyonu ya da uyarımı için prostaglandin  $F_2\alpha$  ( $PGF_2\alpha$ ) kullanımından sonra östrus görülmesine kadar geçen zamandaki değişkenlikler uygulamaların başlangıcında foliküler dalga gelişiminin aşamalarındaki bireysel farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Kastelic ve ark., 1990; Mapletoft ve ark., 1993). Genellikle ticari embriyo üretimi ve östrus senkronizasyon uygulamalarında, hayvanların bireysel foliküler dalga oluşumlarının seri olarak muayene ile belirlenmesi pratik değildir. Alternatif ve pratik bir yaklaşım olarak bir folikül dalgasının oluşumu kontrol edilerek östrus senkronizasyon programlarında dominant folikül gelişimi ile eş zamanlı olarak luteolizis uyarılabilir, ovulasyon senkronizasyonu uygulamaları yapılabilir, süperovulasyon uygulamaları için ekzojen gonadotropin uygulamasına yanıt verebilecek maksimum sayıda folikülün ortaya çıktığı foliküler dalga başlangıç zamanlarında folikül stimulan hormon (FSH) uygulamalarına başlanılabilir (Bó ve ark., 1995). Bu derlemede sığırlarda foliküler dalga dinamikleri ve foliküler dalga oluşumunun ekzojen kontrolü hakkında özet bilgi verilmiştir.

### 1.1. Foliküler Dalgalar

Sığırlarda foliküler gelişim bir östrus siklusu süresince bir grup folikülün dalga benzeri bir model şeklinde geliştiği iki ya da üç folikül dalgasından oluşur (Knopf ve ark., 1989). Sığırlarda foliküler dalga oluşumu, başlangıçta 3-4 mm çapında ultrasonografi ile saptanabilen ve sayıları 8 ile 41 adet arasında değişen küçük foliküllerin aniden (2-3 gün içinde) büyümesi ile karakterizedir. Büyüme oranı bir foliküler dalga içerisindeki foliküller arasında yaklaşık 2 gün boyunca benzerdir. Foliküller arasından bir folikül büyümeye devam etmek için seçildiğinde (dominant folikül) geri kalanlar atretik hale gelir ve geriler (subordinat foliküller) (Adams ve ark., 2008). Bir foliküler dalganın dominant folikülü (DF) diğer gelişen foliküllerden daha büyüktür ve ürettiği steroid ve nonsteroid maddeler aracılığıyla diğer foliküllerin gelişimini ve yeni foliküler dalga oluşumunu engeller (Adams ve ark., 1993).

Foliküler dalga ortaya çıkışının iki dalgalı sikluslarda ortalama ovulasyon günü (0. gün) ve siklusun 10. günü, üç dalgalı sikluslarda 0, 9 ve 16. günlerde olduğu belirlenmiştir (Ginther ve ark., 1989). Progesteronun etkisiyle (diöstrus dönemi gibi) ardışık foliküler dalgaların dominant folikülleri atreziye maruz kalır. Luteolizisin başlangıcındaki mevcut

dominant folikül ovulatör folikül olur ve bir sonraki foliküler dalganın oluşumunu ovulasyon gününe kadar engeller. Korpus luteum (CL) iki foliküler dalgadan oluşan siklularda (16. gün) üç foliküler dalgadan oluşan siklularda (19. gün) göre daha erken gerilemeye başlar ve bu nedenle iki foliküler dalga oluşan östrus siklulalarının süresi daha kısadır (22-23 güne karşı 19-20 gün) (Adams ve ark., 2008). İki dalgalı siklularda (7 gün) ovulatör folikül gelişimi üç dalgalı siklularda (3 gün) göre daha uzun süre yüksek progesteron (P4) ortamında oluşur. Ayrıca iki dalgalı siklulaların ovulatör folikülü üç dalgalı siklularda göre daha uzun süre gelişmeye devam eder (11 güne karşı 7 gün), bu nedenle ovulasyon zamanında folikül büyüklüğü daha fazladır (17mm karşı 14mm) (Ginther ve ark., 1989). Benzer şekilde östrus senkronizasyonu amacıyla yönelik olarak kullanılan uzun süreli P4 uygulamaları kalıcı büyük bir folikül gelişimine neden olur. Östrus senkronizasyonu için luteolizisin uyarılmasından sonra yapılan P4 uygulamaları bir subluteal faz benzeri P4 seviyesi oluşturur (Savio ve ark., 1993). Bu subluteal faz progesteron konsantrasyonu dolaşımdaki LH' nin normal pulzasyon frekansından daha yüksek olmasına ve bunun sonucunda kalıcı büyük boyutlu bir DF'ün gelişmesine neden olur (Kojima ve ark., 2003). Böylece kalıcı hale gelmiş büyük foliküller içerisindeki oosit yaşlanacağı için düşük fertilité oluşur (Savio ve ark., 1993).

İki ve üç foliküler dalgalı siklularda sahip sığırlarda gebelik oranları karşılaştırılmış, üç dalgalı siklularda göre iki dalgalı siklularda preovulatör folikülün nispeten daha uzun bir süre boyunca büyüdüğü ve nispeten yaşlı bir oosit içerebileceği fikrine dayanarak karşılaştırılmıştır. Ancak sonuçlar çelişkilidir. Bazı çalışmalarda gebelik oranları iki ya da üç dalgalı siklularda arasında farklılık göstermemiş iken (Ahmad ve ark., 1997; Bleach ve ark., 2004), diğer bir çalışmada ise iki foliküler dalgalı siklularda için daha düşük gebelik oranı bildirilmiştir (Townson ve ark., 2002).

Sığırlarda her foliküler dalga sırasında gelişen DF ovulasyon kapasitesine sahip olmakla beraber (Savio ve ark., 1990) ancak sadece son foliküler dalganın DF'ü ovule olur (Bergfelt ve ark., 1991). Luteolizise bağlı olarak P4'da azalmanın olduğu dönemdeki foliküler dalganın DF'ü ovule olur. Luteal fazda P4'un varlığında DF atreziye maruz kalır ve yeni bir foliküler dalga ortaya çıkar (Savio ve ark., 1993).

Bos taurus sığırlarda belirli bir foliküler dalga deseni için ırk veya yaşa özel bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Üç dalgalı siklus oranındaki artış, yetersiz beslenme ve ısı stresi ile ilişkilendirilmiştir. Bos indicus sığırlarda, foliküler dalga oluşumu üzerine mevsimsel bir etki tespit edilmemiş, ancak foliküler dalga oluşumunun benzerliği mevsimsel olarak ilişkilendirilmiştir. Nelore sığırlar ile yapılan bir çalışmada düvelerinin çoğunluğunda

(% 65) östrus siklusları üç foliküler dalgadan oluşurken, nelore ineklerinin çoğunluğunun (%83) iki foliküler dalga içeren siklulara sahip oldukları belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada *bos indicus* ineklerin östrus sikluslarının %27'sinin, *bos indicus* düvelerin %7'sinin sikluslarının dört foliküler gelişim dalgasından oluştuğu bildirilmiştir (Bo' ve ark., 2003; Adams ve ark., 2008). Bununla birlikte iki ve üç dalgalı siklus gösteren hayvanların oranında ve her siklus süresince foliküler dalgaların oluşum zamanında özellikle ikinci foliküler dalganın ortaya çıkış zamanında büyük farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir. Bu duruma neden olan genetik ve çevresel faktörler henüz tam olarak açıklanamamıştır (Badinga ve ark., 1992).

## 1.2. Follikülogenezis

Sığır ovaryumlarında iki farklı folikül havuzu bulunur. Foliküler gelişimin olmadığı havuzda primordial foliküller bulunurken, büyümekte olan folikülleri içeren havuzda ise primer, sekonder ve tersiyer foliküller yer alır (Kanitz ve ark., 2001).

Foliküler gelişim primordiyal foliküllerdeki yassı pre-granuloza hücrelerinin tek katmanlı kübik granuloza hücrelerine dönüşümü (primer folikül) ile başlar (Braw-Tal ve ark., 1997). Oositin çevresinde granuloza hücre katmanlarının iki ile altı kat arasında çoğalması ile sekonder folikül, altı kattan fazla artış ve içi sıvı dolu antrumun şekillenmesi sonucu ise tersiyer veya antral foliküller oluşur (Lussier ve ark., 1987; Braw-Tal ve ark., 1997).

Sığırlarda antral folikül büyümesi iki aşamada meydana gelir. İlk aşama "yavaş" büyüme aşamasıdır. Bu aşama antrum oluşumundan ultrason ile tespit edilebilen yaklaşık 3 mm çaplı foliküllerin şekillenmesine kadar olan dönemi kapsar. İkinci aşama ise "hızlı" büyüme aşamasıdır. Bu aşamada foliküller gonadotropine bağımlıdır. Bu dönem folikül grubunun büyümesini, dominant folikül seçimini ve DF gelişimini içerir (Mihm ve Bleach, 2003). Birinci aşama olan "yavaş" foliküler gelişim dönemi 30 günden fazla süren (Lussier ve ark., 1987), İkinci dönem yani "hızlı" büyüme aşaması yalnızca 5-7 gün sürer. İkinci aşama genellikle 3 mm'den küçük bir grup folikülün aniden ultrason ile belirlenebilecek şekilde ortaya çıkması ile başlar ve yukarıda belirtilen diğer büyüme süreçleri ile devam eden foliküler dalga olarak tanımlanır (Sunderland ve ark., 1994).

Gonadotropin reseptörleri, steroidojenik enzimler, büyüme faktörleri (IGF-I ve IGF-II) ve bunların bağlanma proteinleri (IGFBP) için mRNA ekspresyonundaki değişiklikler foliküler büyüme ve atrezi süreçlerinin farklı aşamalarında önemli görevler üstlenirler. Genel

olarak gonadotropin reseptörleri, steroidojenik enzimler ve steroidojenik akut düzenleyici protein (StAR) için mRNA'nın ekspresyonu foliküler gelişim aşamalarında kaydedilen ilerlemelere bağlı olarak artar ve DF maksimum büyüklüğe yaklaştığında en yüksek seviyeye ulaşır. Foliküler atrezi aşamasında mRNA'nın ekspresyonu hızla azalır ve düşük ya da belirlenemeyecek düzeye iner. DF'lerin granuloza hücrelerinde IGF-I ve teka hücrelerinde IGF-II artarken, granuloza hücrelerinde IGFBP-2 azalır. Bir folikül grubunun foliküler gelişimi granuloza hücrelerinde P450 scc ve P450 aromataz enzimleri için mRNA'nın ekspresyonunun başlatılması ile ilişkilidir (Bao ve Garverick, 1998; Beg ve ark., 2001). Aromataz folikül duvarındaki granuloza hücrelerinde üretilir (östradiol sentez aşamasında gereklidir) ve 4 mm'lik foliküllerde bulunur (Echternkamp ve ark., 1994), ayrıca 5-7 mm'lik foliküllerde östradiol seviyesinin düşük olduğu tespit edilmiştir (Mihm ve ark., 1997). IGF I hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarır, ayrıca P450 aromataz enziminin aktivitesini artırarak steroidogenez üzerine FSH ile sinerjik olarak etki eder (Echternkamp ve ark., 1994). DF'lerin seçimi granuloza hücrelerinde luteotropik hormon (LH) reseptörlerinin oluşması ile alakalı olarak mRNA ve 3 $\beta$ -HSD ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu nedenle gen ekspresyonundaki değişiklikler muhtemelen ovaryumda foliküllerin gelişim sürecinin başlaması, seçilme, dominantlık ve atrezi aşamalarının gerçekleşmesi için önemlidir (Bao ve Garverick, 1998; Beg ve ark., 2001).

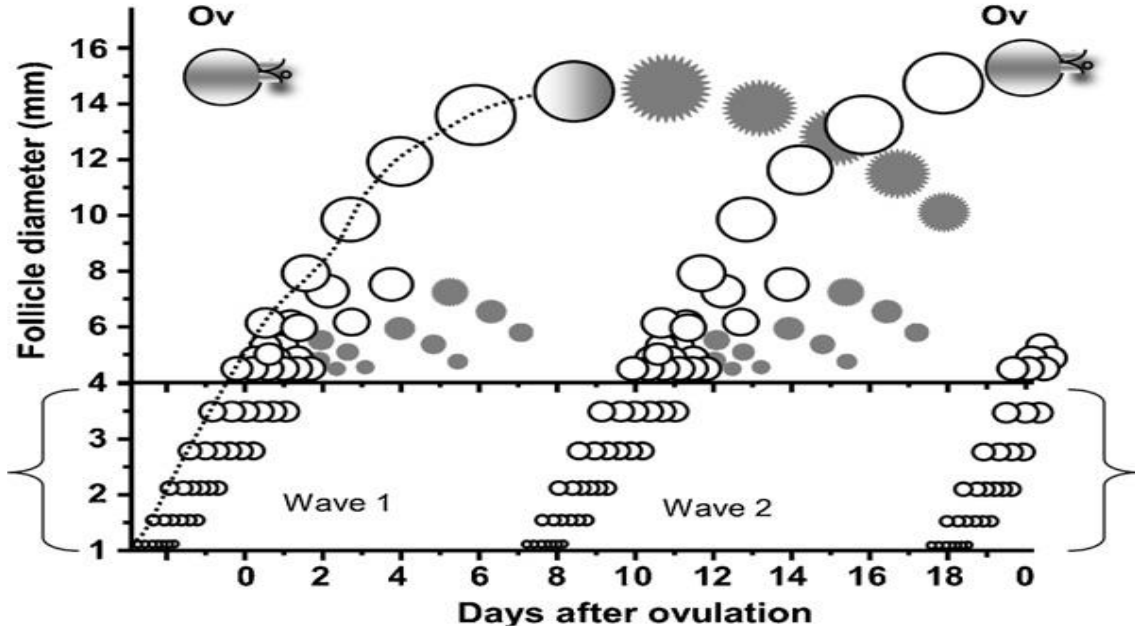
### 1.3. Foliküler Gelişim ve FSH'nın Rolü

FSH foliküler dalga oluşum sürecinin endokrin aşamasının başlangıcında anahtar rol oynayan bir hormondur (Adams ve ark., 1992a; Sunderland ve ark., 1994). FSH yalnızca foliküllerin granuloza hücrelerinde lokalize olan spesifik reseptörlere bağlanarak etki eder (Simoni ve ark., 1997). FSH'nın  $\geq 4$  mm'lik foliküllerin dalga benzeri gelişimini düzenlemedeki rolü açık bir şekilde ifade edilmiştir. FSH'nın küçük antral ve preantral foliküller dahil olmak üzere daha küçük foliküllerin gelişimindeki rolü belirsizliğini korumaktadır (Adams ve ark., 2008). FSH'nın küçük foliküllerin (<1 mm) gelişiminin düzenlenmesindeki rolü tartışılmalıdır. Bununla ilgili olarak sığırlarda bir folikül gelişiminin ikinci aşaması olan hızlı büyüme aşamasına ulaşana kadar FSH reseptörlerinin (FSHr) adenilat siklaz ikinci mesajlaşma sistemine bağlanamadığı ve dolayısıyla FSHr'nin işlevsel olmadığı ileri sürülmüştür. İn vitro çalışmalarda uygulanan ekzojen FSH'nın küçük foliküller üzerindeki fark edilebilir etki oluşturmamasına bağlı olarak bu sonuca varılmıştır (Wandji ve

ark., 1992). Bununla birlikte FSH'nın sığırlarda in vitro ve in vivo üretilen preantral ve küçük antral foliküller üzerindeki büyüme destekleyici etkisi olduğu belirlenmiş ve böylece FSH'nın erken evre preantral ve antral foliküllerin gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (Adams ve ark. 2008). Düveler üzerinde yapılan bir çalışmada FSH salınımlarının foliküler dalga oluşumunun ultrasonoğrafik muayene ile (4 ve 5 mm'lik foliküllerin) belirlenmesinden 2 ile 4 gün önce başladığı, foliküler dalga oluşumundan 1 veya 2 gün önce pike ulaştığı ve foliküler dalganın foliküllerinin dominant ve subordinat foliküller olarak seçilmeye başladığında (foliküller 6-7 mm) ise azalmaya başladığı bildirilmiştir (Adams ve ark., 1992b). Bir östrus siklusu süresince FSH'nın dolaşımdaki konsantrasyonlarında periyodik olarak oluşan artışlar 4 ile 5 mm'lik foliküllerin dalga benzeri gelişimini uyarır. Buna bağlı olarak foliküler dalga oluşumu sonrasında foliküller dolaşımdaki artan FSH konsantrasyonlarına yanıt olarak büyümeye (4-9 mm) devam ederler (Adams ve ark., 1992a). Genel olarak 4-5 mm'lik foliküllerin foliküler dalga içerisinde büyümesiyle FSH konsantrasyonlarında azalma görülür. Bu durum FSH piki sonrası gelecek DF ve diğer büyük foliküller 6 mm büyüklüğe ulaştığında başlar.

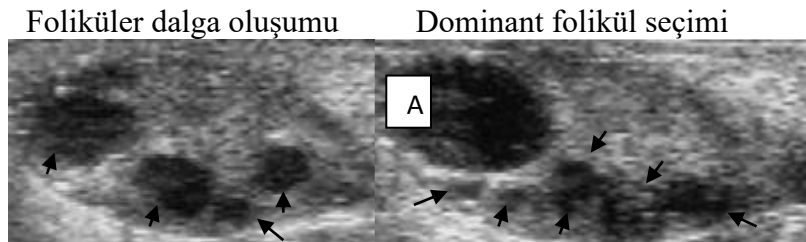
Gelişmekte olan 4 ile 5 mm çapındaki foliküller tarafından üretilen östradiol ve inhibinin konsantrasyonlarındaki artış hipotalamo-hipofiz ekseninde FSH için negatif bir geri tepki oluşturur (Adams ve ark., 1992b). Folikül grubu DF'ün belirleneceği gelişim aşamasına (Bos taurus sığırlarında 8-9 mm) ulaşana ve deviasyon mekanizması hızlı bir şekilde (sığırlarda <8 saat) etkin hale gelinceye kadar (Ginther ve ark., 1999) foliküller büyümeye aynı düzeylerde devam eder (Ginther ve ark., 2001). FSH'nın folikül büyümesi ile ilişkisini açıklamak için iki yönlü fonksiyonel birleştirme modeli ileri sürülmüştür. Bu modelde ortak büyüme aşamasında foliküler dalga içindeki gelişen tüm foliküller FSH düzeyinin baskılanmasını sağlarken, aynı zamanda büyümelerini sürdürmek için FSH'ya bağımlıdır. Deviasyon meydana geldiğinde gelecekteki DF hem FSH'nın minimum seviyelere final düşüşünü sağlar hemde bazal FSH karşısında büyümeye devam ederek birleştirme rolünü üstlenir (García-Guerra ve ark., 2017). Sekiz saatlik aralıklarla elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu DF'lerin foliküler havuzdan %57'si subordinat foliküllerden daha erken, %26' sını aynı zamanda ve %17'si daha sonra 3 mm'lik bir folikül olarak ortaya çıktığı belirlenmiştir (Ginther ve ark., 1996). Şekil 1 'de 1 mm çapa kadar olan foliküllerden itibaren iki dalgalı siklusun foliküler dalga deseni şematize olarak gösterilmiştir.

## 2-wave interovulatory interval



Şekil 1. 1 mm çaplı foliküllerden itibaren iki dalgalı siklusun şematize görünümü. Dominant olacak folikül (noktalı çizgi) dalga ortaya çıkışından (1 mm' den başlayarak) sonraki 5. güne kadar diğer foliküllerle benzer gelişim göstermektedir. Ancak dominant olacak folikül 1 mm çaptan itibaren yani foliküler gelişimin en erkensafhasından başlayarak diğer foliküllere göre büyüklük avantajına sahip olduğunu göstermektedir (Adams ve ark., 2008).

Sığır ovaryumunda  $\geq 1$ mm antral foliküllerin ultrasonik görüntüleri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Sığır ovaryumunda  $\geq 1$  mm antral foliküllerin ultrasonik görüntüleri. A: Seçilmiş dominant folikül, oklar: foliküller (Jaiswal, 2007).

### 1.4. Folikül Seçimi, Foliküler Dominantlık ve LH'nın Rolü

Bir folikülün seçilmesi ile ilişkili hormonal, hücresel ve moleküler mekanizmalar dominant ve subordinat foliküller arasındaki folikül büyüme hızındaki deviasyon, granuloza hücre gen ekspresyonundaki önemli farklılıklar ve bazal FSH ile ilişkisi folikül seçiminin



anahtar morfolojik belirleyicisi olarak düşünülmüş ve önemli araştırmalara konu olmuştur (García-Guerra ve ark., 2017). Dominant olarak seçilecek folikülün en büyük subordinat folikülden ortalama 6 veya 7 saat önce ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Ginther, 2000). Foliküler dalganın çap olarak en büyük folikülü büyüklük avantajını genellikle büyüme döneminin sonuna kadar korumasına rağmen foliküler dalgaların yaklaşık olarak % 50'sinde ortak büyüme evresi boyunca en büyük iki folikülün büyüklüğünün benzer olduğu görülmüştür (Gibbons ve ark., 1997).

Deviasyon en büyük folikül yaklaşık 8.5 mm çapa ulaştığında şekillenir ve ayrıca en büyük folikülün DF olmak için büyümeye devam etmesi, diğer subordinat foliküllerin büyüme hızındaki bir azalmanın başlaması ve daha sonra bu foliküllerin regresyonu ile karakterizedir. Deviasyon DF seçilme sürecinin bir parçasıdır FSH, LH ve intrafoliküler faktörlerin koordineli şekilde etkileri sonucu şekillenir. Özetle foliküler deviasyon süreci FSH salınımının azaldığı dönemlerde DF olacak folikülün ve subordinat foliküllerin arasındaki LH'ya duyarlılık farklılığı ve küçük miktarlarda LH salınımı sırasında sadece DF tarafından LH'ya yanıtın başlamasını kapsar (Ginther ve ark., 2016).

FSH düzeyinin azalması DF seçimi için kesinlikle çok önemlidir. FSH konsantrasyonları yüksek tutulduğunda morfolojik olarak DF'ün seçilmesi önlenir. FSH ile foliküler dalga içerisinde gelişen foliküllerin atrezilerinin önlemesine rağmen, korunan bu foliküller normal olarak seçilen DF ile karşılaştırıldığında intrafoliküler büyüme faktörlerinde küçük değişiklikler oluşmuş ve östrojen aktiviteleri azalmış, ayrıca çok sayıda büyük folikül gelişimine rağmen sistemik östradiol düzeyi artmamıştır (Mihm ve ark., 1997). İn vitro çalışmalarda granuloza hücre büyüme faktörü ve steroid sentezi üzerindeki FSH etkisinin maruz kalınan FSH seviyelerine bağlı olarak farklılık gösterdiği ortaya konmuştur (Glister ve ark., 2001). Bu nedenle yüksek FSH düzeyi foliküler dalga içerisindeki folikül grubunun büyümesini ve gelişimini teşvik etmesine rağmen, büyüyen foliküller arasından DF'ün seçimi için bir folikülün tamamen farklılaşmasını önleyen östradiol sentezi gibi intrafoliküler fonksiyonlar üzerinde inhibe edici etkilere sahip olabileceği varsayılmaktadır. Bu hipoteze uygun olarak, dışarıdan FSH uygulaması ile FSH düşüşü önlendiğinde birinci dalgaya ait orta foliküllerde FSH reseptörü ve yan zincir bölünme enzimi mRNA seviyelerinde artış görülmüş, ancak FSH ile gelişimi sürdürülen büyük foliküller normal olarak seçilen tek DF ile karşılaştırıldığında teka LH reseptörü, 17 $\alpha$  hidroksilaz ve StAR mRNA'nın ekspresyonunun azaldığı görülmüştür (Mihm ve ark., 2000).

Dominant ve subordinat foliküller arasındaki büyüme farklılıklarının sonucu olarak foliküler deviasyona neden olan mekanizmanın FSH'nın final baskılanmasını da sağladığı anlaşılmıştır. Böylece DF gonadotropin bağımlılığını FSH'dan LH'ya değiştirerek büyümeye ve gelişmeye devam ederken, FSH'ya bağımlı subordinat foliküller FSH'dan yoksun bırakılmaktadırlar. Foliküler dalgalarda deviasyon mekanizması çok karmaşık bir yapıdır, gebelik ve östrus siklusu süresince progesteron ve LH'nın frekans şiddetleri ve farklı sistemik konsantrasyonlarını da içeren geniş bir hormonal çevrede gerçekleşir. Deviasyon mekanizmasının iki farklı yönü ileri sürülmüştür; Birincisi seçilen folikülün FSH salınımının baskılanması ve subordinat folikülleri atreziye yönlendirmesidir. FSH düzeylerinde dalgalanma ve bazal seviyelere nihai bir düşüş içerir. Bu subordinat foliküllerin ihtiyaç duyduğu FSH'nın azalmasını sağlar ve bir sonraki foliküler dalganın oluşum zamanını geciktirir. İkincisi seçilen folikülün değişim ve gelişiminin artık sirkülasyondaki LH tarafından yönlendirilmesidir. (Ginther ve ark., 1996). DF'ün seçilmesinden sonra onun geleceği ve dominantlık süresi östrojen aktivitesi ile LH tarafından yönlendirilir ve özellikle de LH salınım frekansının şiddeti tarafından kontrol edilir (Mihm ve ark., 2002). Foliküler deviasyonun başlangıcında LH konsantrasyonlarında oluşan geçici artış; dolaşım ve foliküler sıvıdaki östradiol ve IGF-I konsantrasyonlarını artırırken IGFBP-2'nin azalmasına yol açar (Ginther ve ark., 2001).

Foliküller yaklaşık 10 mm büyüklükte (foliküler deviasyonun başlamasından yaklaşık bir gün sonra) ovulasyon yeteneğini kazanır, ancak daha büyük foliküllerle karşılaştırıldığında ovulasyonu indüklemek için daha yüksek bir LH dozu gereklidir. Ovulasyon yeteneğinin kazanılması DF'ün granuloza hücreleri üzerinde LH reseptörlerinin ekspresyonunun artması ile ilişkilendirilebileceği ve bu değişimin DF'ün daha fazla büyümesi için önemli olabileceği de ileri sürülmüştür (Sartori ve ark., 2001). DF tarafından üretilen hormonların dolaşımdaki FSH üzerindeki negatif geri tepki etkisiyle dominantlık sürdürülmektedir. Folikül seçimi ve foliküler dominantlık süreci teka hücrelerinin androjen üretme ve granuloza hücrelerinin androjeni östradiole aromatize etme kabiliyetindeki sürekli artışlar ile ilişkilendirilmiştir. DF'ler diğer tüm foliküllerden çok daha fazla büyür (seçim sonunda 8.5 mm'den 12-20 mm'ye kadar). Bu süreç 3 ile 4 gün sürer. LH pulzasyonları foliküllerin 9 mm çapından daha ileri büyüme safhalarına ulaşabilmeleri için vazgeçilmezdir (Kanitz ve ark., 2001). Gonadotropinlerin endokrin etkilerini foliküllerdeki karakteristik değişimler izler. Foliküler sıvıda östradiol-17 beta konsantrasyonları ve folikül duvarlarının aromataz aktivitesi DF'lerde subordinat foliküllere göre daha fazladır. İlk foliküler dalganın DF'lerinde aromataz aktivitesi 5. ve 8. günlerde 12. güne göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Badinga ve ark., 1992).

DF ve subordinat foliküllerden aspire edilen oositlerinin morfolojik yapılarının karşılaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada foliküler sıvıların estradiol-17 beta ve P4 konsantrasyonları analiz edilmiştir. DF'lerde büyüme foliküler sıvıdaki estradiol-17 beta ve P4 konsantrasyonundaki artışla ilişkilendirilmiş ve foliküler sıvıda P4'e göre estradiol-17 beta hormonunun hakim olduğu tespit edilmiştir. Subordinat foliküller 3-4. günlerde büyümeyi bıraktıkları ve foliküler sıvıları düşük E2: P4 oranına sahip oldukları ya da başka bir deyişle P4 hakimiyeti belirlenmiştir (Assey ve ark., 1994). DF'nin geleceği CL'a bağlıdır. P4 konsantrasyonunun yükselmesi durumunda, DF P4'un pulzatil LH salınımı üzerindeki negatif etkisi nedeniyle atretik hale gelir (Ireland ve ark., 2000). Bu koşullar altında fonksiyonel dominantlık östrus döngüsünün 7. ve 9. günleri arasında bir süre kaybolursa da folikül hala morfolojik olarak dominanttır. Dominantlık kaybı ilk foliküler dalganın DF'nün östradiol salınımındaki (6. gün civarında) bir düşüşün ardından meydana gelir (Sunderland ve ark. 1994). Foliküler östradiol ve inhibin-A salgılanmasında azalma yeni foliküler dalganın oluşumu öncesinde şekillenir (Ginther ve ark., 1996).

Bu değerlendirmeler ışığında sonuç olarak: foliküllerin gelişimi dalgalar şeklinde olur; Dolaşımdaki FSH konsantrasyonlarında oluşan periyodik dalgalanmalar foliküler dalganın ortaya çıkmasını sağlar; DF seçimi, FSH' da düşüş ve LH duyarlılığının kazanılması süreçlerini içerir; Periyodik anovülatör foliküler dalgalar bir LH dalgalanması oluşana kadar ortaya çıkmaya devam eder; Östrus siklusu süresi ile foliküler dalgaların sayısı arasında pozitif bir ilişki söz konusudur; P4 LH salınımını ve DF'ün büyümesini baskılar; Foliküler dalga oluşum aralığının süresi foliküler dominantlığa bağlıdır ve dolaşımdaki FSH ile negatif korelasyon gösterir; Tüm türlerde foliküler dominantlık, östrus siklusun ilk ve son foliküler dalgaları sırasında daha belirgindir. Gebelikte, prepubertal dönemde ve mevsimsel anöstrusta FSH salınımında oluşan periyodik dalgalanmalar, anovülatör folikülerin gelişimi ve düzenli olarak foliküler dalgaların oluşumu gözlenir (Adams ve ark., 1999).

### **1.5. Foliküler Dalga Oluşumunun Ekzojen Kontrolü**

Foliküler gelişimin senkronizasyonu için birkaç yöntem mevcuttur. Yapılan araştırmaların çoğu mevcut DF'ün fiziksel ya da hormonal uygulamalar sonucu diğer foliküller üzerindeki baskılayıcı etkisinin ortadan kaldırılması ve belirli bir zamanda yeni foliküler dalga oluşumunun ortaya çıkışının senkronizasyonunu temel almaktadır. Fiziksel olarak ultrason rehbeliğinde folikül ablasyonu yöntemi ile veya hormonal olarak GnRH, LH,

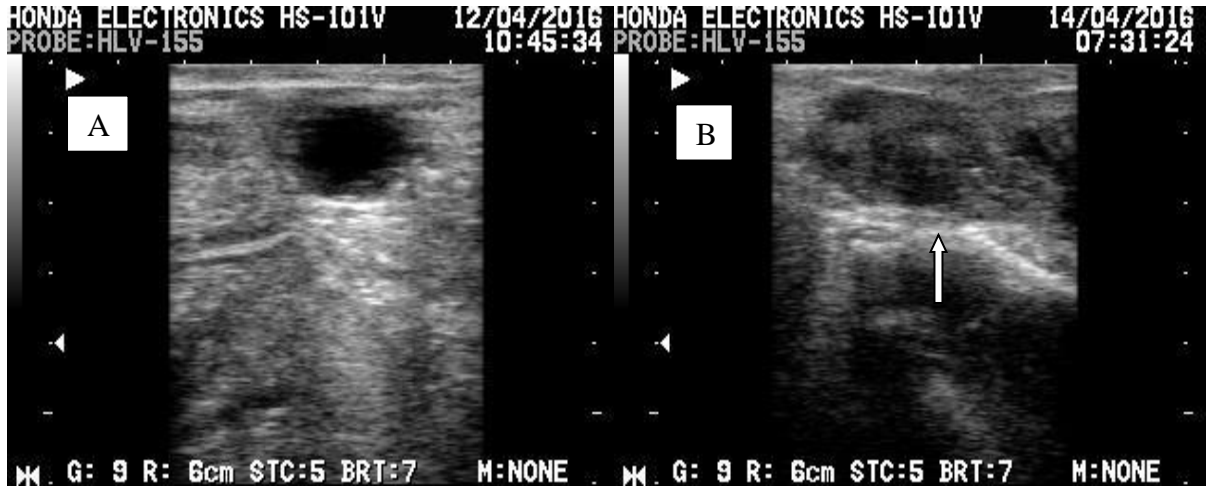
östradiol ve P4 kullanılarak belirli bir zamanda yeni foliküler dalga oluşumu uyarılmaktadır (Bó ve ark., 1995).

### 1.5.1. GnRH ya da LH Kullanımı

Sığırlarda gelişmekte olan DF'ün (en az 10 mm çapında) ovulasyonu ya da lüteinizasyonunu GnRH ile indüklenmesinden (Macmillan ve Thatcher, 1997) yaklaşık iki gün sonra yeni bir foliküler dalganın ortaya çıktığı bildirilmiştir. Ancak foliküler dalga oluşumu yalnızca GnRH uygulamasından sonra DF'ün ovulasyonu olduğu takdirde şekillenmektedir (Martinez ve ark., 1999). Östrus siklusunun herhangi bir döneminde GnRH uygulaması sonrası ovulasyon oranları % 44.3 (Colazo ve ark. 2009) ve % 85 (Pursley ve ark. 1995) arasında değişmektedir. Laktasyondaki süt sığırları için sabit zamanlı suni tohumlamaya olanak sağlamak amacıyla bir foliküler dalga ve ovulasyon senkronizasyonu programı olan (ovsynch) geliştirilmiştir (Pursley ve ark., 1995). Bu protokol ilk olarak GnRH, 7 gün sonra prostaglandin (PGF) enjeksiyonu ve ardından 48 saat içinde ikinci bir GnRH enjeksiyonunu içermekte ve son GnRH enjeksiyonunu takiben sabit zamanlı suni tohumlama (FTAI), 0 ile 24 (optimal olarak 16 ila 18) saat sonra yapılmaktadır. Ovsynch protokolünün laktasyondaki süt ineklerinde düvelerden daha etkili olduğu görülmektedir (Seguin, 1997). İneklerle düveler arasındaki farkın nedeni bilinmemekle birlikte ilk GnRH enjeksiyonunu takiben ovulasyon ineklerin % 85'inde gerçekleşirken düvelerin yalnızca % 54'ün de oluşmaktadır (Pursley ve ark., 1995). Bir diğer alternatif GnRH tedavisi sırasında ovaryumlarda gelişen bir DF'ün bulunmasını sağlamaktır. GnRH uygulama zamanındaki DF'ün gelişim evresinin (Martinez ve ark., 1999) veya östrus siklusunun döneminin (Vasconcelos ve ark., 1999) sonuçları etkilediği bildirilmiştir. DF'ün erken gelişim ya da geç olgunlaşma döneminin sonlarında GnRH uygulaması yapıldığında ovulasyon oluşmayabileceği ve yeni bir folikül dalgası ortaya çıkmayabileceği belirtilmiştir (Martinez ve ark., 1999).

Sığırların, östrus siklusunun 5. ve 12. günleri arasında uygulanan GnRH'ya karşı en iyi yanıtın şekilleneceği ifade edilmiştir. Böyle bir yanıtı sağlamak için GnRH'nın ilk enjeksiyonundan 12 ile 14 gün önce PGF enjeksiyonu yapılarak ön senkronizasyon uygulaması yapılabileceği vurgulanmıştır (Moreira ve ark., 2001). Ayrıca 5 ile 14 gün arasında değişen sürelerde progesteron içeren aygıtlar ile ön senkronizasyon uygulanarak ilk GnRH'ye yanıtın artırılması sağlanmıştır (Colazo ve ark., 2006). GnRH bazlı FTAI protokollerinin kullanımı ile ilgili yapılan bir araştırmada GnRH düvelerin % 56'sında DF'ün

ovulasyonunu sağlamış (Martinez ve ark., 1999). Yine GnRH uygulamaları ile laktasyondaki etçi sığırların % 60'ında ovulasyon gerçekleşmiştir (Colazo ve ark., 2007). GnRH bazlı protokoller emziren etçi sığırlarda başarılı bir şekilde kullanılırken, doğumdan sonraki erken dönemde ve düşük vücut kondüsyonu durumlarında ekzojen P4 uygulaması daha başarılı olmuştur. Ayrıca emziren etçi ırk ineklerde protokole gebe kısırak serum gonadotropin (eCG) ilave edilmesi gebelik oranını artırmıştır (Colazo ve ark., 2006). GnRH bazlı protokoller süperovulasyon uygulanacak donörler ile embriyo transferi yapılacak taşıyıcı hayvanların senkronizasyonu amacıyla da kullanılmaktadır. Süperovulasyon öncesi temel uygulama şekli olarak östrus siklusunun herhangi bir döneminde P4 içeren bir aygıt kullanılmakta ve bundan 2-3 gün sonra GnRH enjeksiyonu yapılmaktadır. Bu şekilde süperovulasyon uygulamalarına foliküler dalga oluşumunun başlangıç zamanı olan GnRH enjeksiyonundan 1.5-2.5 gün sonra başlanılabilmektedir (Bó ve Mapletoft, 2014). Yapılan bir çalışmada GnRH uygulaması ve 48 saat sonrasında DF'ün görünümü şekil 3' de gösterilmiştir.



Şekil 3. GnRH uygulaması öncesi siklusun 7. gününde (A) ve GnRH uygulamasından 48 saat sonra siklusun 9. gününde (B) ilk foliküler dalganın dominant folikülünün görünümü (Kara ve Bekyürek, 2018) .

### 1.5.2. Östradiol ve Progesteron Kullanımı

Östradiol, FSH ve muhtemelen LH salınımının baskılanması yoluyla FSH ve LH'ya bağımlı foliküllerin gerilemesine neden olur. Folikül regresyonunun başlamasından ve östradiolün metabolize olmasından hemen sonra FSH salınımı başlamakta ve bir gün sonra yeni bir foliküler dalga ortaya çıkmaktadır. Östrus siklusu ve foliküler gelişim aşamasına

bakılmaksızın P4 implatı uygulanan ineklerde kısa etkili östradiol-17 $\beta$ 'nin kullanılmasını takiben yaklaşık 3-5 gün (ortalama 4 gün) sonra yeni bir foliküler dalga ortaya çıkmaktadır (Bó ve ark., 1995). En yaygın kullanılan protokol P4 içeren intravaginal aygıtın uygulanmasıyla birlikte 5 mg östradiol-17 $\beta$  ya da 2.5 mg östradiol benzoat (EB), 100 ya da 50 mg P4'un intramuskuler (İ.M.) enjeksiyonunun birlikte uygulamasını içerir (Bó ve ark., 1995; Mapletoft ve ark., 2002). Uygulamadan sonraki ortalama 4. günde yeni bir foliküler dalga oluşumu ortaya çıkmaktadır. Gonadotropin uygulamalarına uygulamalardan sonraki bu zaman diliminde yani yeni bir foliküler dalga oluşumunun başlangıç zamanının olan 4 gün sonra başlanılmalıdır. Östrojen ve P4 uygulanarak yapılan foliküler dalga manüplasyonu uygulamadan sonraki 4. günde yeni bir 3-5 mm büyüklüğünde folikül grubunun aynı anda gelişimine olanak vermektedir (Bó ve ark., 1995; Bó ve ark., 1991). Östrus senkronizasyon protokollerinde östradiol normalde bir P4 içeren aygıtın yerleştirilmesi sırasında (intravaginal ya da kulak imlantı P4 ile veya onsuz) enjekte edilir. Yedi veya 8 gün sonra PGF uygulaması sırasında P4 aygıtı çıkarılır. Daha düşük bir östradiol dozu normal olarak P4 aygıtı uzaklaştırılmasından 24 saat sonra, senkronize bir LH dalgalanmasını (tedaviden yaklaşık 16 ila 18 saat sonra) ve yaklaşık 24 ile 32 saat sonra da ovulasyonu sağlamak için uygulanmaktadır (Martinez ve ark., 2005). Bu uygulama şeklinin, çok yüksek gebelik oranlarının elde edilen sabit zamanlı suni tohumlama uygulamasına (FTAI) olanak sağladığı vurgulanmaktadır.

Ekzojen P4 kaynağının çıkarılması sırasında 400 IU eCG uygulanan emziren etçi ırk inekler ile emziren bos indicus inek ve düvelerde de FTAI' yı takiben gebelik oranlarının artırıldığı bildirilmektedir (Baruselli ve ark., 2004; Bó ve ark., 2005). Östradiol ve P4 uygulamaları, sabit zamanlı embriyo transferi (FTET) için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. PGF uygulamasının daha önce yapılabilmesi dışında genel olarak tedaviler FTAI için kullanılanlara çok benzer. Bunun için, alıcılara 0. günde P4 içeren aygıt yerleştirilir ve 2 mg EB enjeksiyonu, 5. günde PGF uygulanır (dalga oluşumundan 1 gün sonra), P4 içeren aygıt 8. günde çıkarılır ve 9. günde 1 mg EB enjekte edilir (10. gün östrus günü olarak kabul edilir) ve embriyolar ovaryumlarında bir CL belirlenen tüm alıcılarda 17. günde transfer edilir (Bó ve ark., 2002; Bó ve ark., 2005).

Östrojen ve P4 uygulanarak yapılan foliküler dalga manüplasyonu sonrası süperovulasyon uygulamalarında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, geleneksel süperovulasyon uygulamalarındaki gibi transfer edilebilir embriyo sayıları yüksek olmasa da fertilizasyon oranlarının oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (Bó ve ark., 1991; Bó ve ark.,

1995). Östrojen ve P4 uygulamaları ile foliküler dalga manüplasyonu yalnızca süperovulasyon öncesi östrus senkronizasyonu ve östrus tespiti ihtiyacını ortadan kaldırmamış aynı zamanda ovum ve embriyo kalitesini artmasına da katkı sağlamıştır (Bó ve Mapletoft, 2014). Geleneksel olarak donör ineklerden yaklaşık 60 günlük aralıklarla embriyo toplanabilirken, foliküler dalga oluşumunun senkronizasyonu ile donörlere östrus göstermelerine bakılmaksızın her 25 ile 35 günde bir başarılı süperovulasyon uygulamaları yapılabilmektedir (Mapletoft ve ark., 2002).

### 1.5.3. Folikül Ablasyonu

Bir diğer alternatif yöntem dominant folikülün ultrason rehberliğinde ablasyonu ile dominant folikülün diğer foliküller üzerindeki supresif etkisinin ortadan kaldırılmasıdır (Bergfelt ve ark., 1994; Bungartz ve ark., 1994). Başlangıçtaki çalışmalarda 5 mm' den büyük tüm foliküllerin ablasyonunu yapılmaktaydı (Bergfelt ve ark., 1997). Ancak daha sonra dominant folikülün supresif etkisinin ortadan kaldırılması için en büyük iki folikülün ablasyonunun yeterli olduğu sonucuna varılmıştır (Baracaldo ve ark., 2000). Foliküler dalga ortaya çıkışı folikül ablasyonu uygulamasından 24-36 saat sonra çok net bir şekilde oluşmaktadır. Bu nedenle süperovulasyon uygulamalarına bu zaman diliminde başlanmalıdır. Bu yöntem oldukça etkilidir ve sonuçları açısından değerlendirme yapıldığında östrojen ve P4 ile foliküler dalga manüplasyonu ile elde edilen sonuçlardan farkı olmadığı görülmektedir (Bergfelt ve ark., 1997). Folikül ablasyonu uygulaması oldukça etkili bir yöntem olmasına rağmen ablasyon işlemini gerçekleştirecek uygun ultrason ekipmanı ve deneyimli personele gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca sahada östrus ve ovulasyon senkronizasyonu uygulamaları ve embriyo üretim merkezi dışındaki uygulamalarda diğer metodlara göre kullanımı daha zor olmaktadır (Bó ve Mapletoft, 2014).

## 2. Sonuç

Sığırlarda foliküler gelişim her iki ovaryum yüzeyinde eş zamanlı olarak küçük foliküllerin ortaya çıkmasıyla karakterize dalga benzeri oluşumlardır. Foliküler büyüme ve DF seçimi, FSH konsantrasyonlarındaki geçici dalgalanmalara bağlıdır. Bu dalgalanmalar folikül grubunun, farklı FSH gereksinim eşiklerine göre DF ve subordinat foliküllere

farklılaşmasına neden olur. Genelleikle en erken ortaya çıkan ve grubun en büyük folikülü olan DF olur. Folikül grubu içerisindeki dominat ve subordinat foliküller DF'ün belirleneceği gelişim aşamasına (ortalama 8.5 mm) ulaşana ve deviasyon mekanizması etkin hale gelinceye kadar benzer şekilde büyümeye devam ederler. DF'ün seçiminde granuloza hücre duvarında LH reseptörlerinin oluşumu, foliküler sıvıdaki artan östradiol ve inhibin konsantrasyonları, protein ve steroid metabolizması ve oosit yetkinliği vb. faktörler etkilidir.

Sığırlarda FTAI ve FTET amacıyla östrus ve ovulasyonun senkronizasyonu uygulamalarında foliküler dalga oluşumunun senkronize edilmesi ile PGF ve P4 uygulamalarının bitiminde ovulasyon folikül gelişiminin daha net olması ve ayrıca eş zamanlı östrus görülmesi ve ovulasyonların gerçekleşmesinin sağlanması ile daha yüksek gebelik oranları elde edilmektedir. Foliküler dalga oluşumunun senkronizasyonu sonrası foliküler dalga ortaya çıkışı sırasında başlanılan süperovulasyon uygulamalarında; istenilen zamanda, östrus takibi ve tespitine gereksinim olmadan, geleneksel protokollerde olduğu gibi gonadotropin uygulamasına başlanması için siklus ortası dönemi bekleme zorunluluğu olmadan, tüm donörlerde siklusun aynı döneminde uygulamaya başlanması mümkün olmaktadır ve çok sayıda donörden aynı zaman diliminde maksimum sayıda embriyo alınabilmektedir. Ayrıca donörlere 25-35 gün gibi daha kısa aralıklarla tekrarlı süperovulasyon uygulaması yapılması mümkün olmaktadır.

## **Kaynaklar**

Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C., Ginther, O.J. (1992a). Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reprod and Fertil*, 94: 177-188.

Adams, G.P., Matteri, R.L., Ginther, O.J. (1992b). Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J Reprod and Fertil*, 95: 627-640.

Adams, G.P., Kot, K., Smith, C.A., Ginther, O.J. (1993). Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates. *Can J Anim Sci*, 73: 267-275.

Adams, G.P. (1999). Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil, Suppl* 54: 17-32.

Adams, G.P., Jaiswal, R., Singh, J., Mahli, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69: 72-80.



Ahmad, N., Townsend, E.C., Dailey, R.A., Inskeep, E.K. (1997). Relationship of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Anim Reprod Sci*, 49: 13-28.

Assey, R.J., Hyttel, P., Greve, T. Purwantara, B. (1994). Oocyte morphology in dominant and subordinate follicles. *Mol Reprod Dev*, 37: 335-344.

Badinga, L., Driancourt, M.A., Savio, J.D., Wolfenson, D., Drost, M., De La Sota, R.L., Thatcher, W.W. (1992). Endocrine and ovarian responses associated with the first-wave dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, 47: 871-883.

Bao, B., Garverick, H.A. (1998). Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J Anim Sci*, 76: 1903-1921.

Baracaldo, M.I., Martinez, M., Adams, G.P., Mapletof, R.J. (2000). Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in cattle. *Theriogenology*, 53: 1239-1250.

Baruselli, P.S., Reis, E.L., Marques, M.O., Nasser, L.F., Bó, G.A. (2004). The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*, 82/83:479-486.

Beg, M.A., Bergfelt, D.R., Kot, K., Wiltbank, M.C., Ginther, O.J. (2001). Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. *Biol Reprod*, 64: 432-441.

Bergfelt, D.R., Kastelic, J.P., Ginther, O.J. (1991). Continued periodic emergence of follicular waves in nonbred progesterone-treated heifers. *Anim Reprod Sci*, 24: 193-204.

Bergfelt, D.R., Lightfoot, K.C., Adams, G.P. (1994). Ovarian dynamics following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. *Theriogenology*, 42: 895-907.

Bergfelt, D.R., Bó, G.A., Mapletoft, R.J., Adams, G.P. (1997). Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence at random stages of the estrous cycle in cattle. *Anim Reprod Sci*, 49: 1-12.

Bó, G.A., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. (1991). The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro Mate B implants. *Theriogenology*, 36: 169-83.

Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43: 31-40.

Bó, G.A., Baruselli, P.S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R., Tríbulo, H., Mapletoft, R.J. (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, 57: 53-72.

Bó, G.A., Baruselli, P.S., Martinez, M.F. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*, 78: 307–26.

Bó, G.A., Mapletoft, R.J. (2014). Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology*, 81: 38-48.

Bó, G.A., Cutaia, L., Chesta, P., Balla, E., Picinato, D., Peres, L., Marana, D., Moreno, D., Veneranda, G., Mapletoft, R.J., Baruselli, P.S. (2005). Application of fixed-time artificial insemination and embryo transfer programs in beef cattle operations. *In: Proceedings of the Joint Convention of AETA and CETA, Minneapolis, MN, USA. Savoy, IL: AETA. pp. 37-59.*

Bleach, E.C.L., Glencross, R.G., Knight, P.G. (2004). Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*, 127: 621-629.

Braw-Tal, R., Yossefi, S. (1997). Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*, 109:165-71.

Bungartz, L., Niemann, H. (1994). Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination. *J Reprod Fertil*, 101: 583-91.

Colazo, M.G., Small, J.A., Kastelic, J.P., Davis, H., Ward, D.R., Wilde, R., Mapletoft, R.J. (2006). Effects of CIDR based presynchronization and eCG on fertility to a GnRH-based timed-AI protocol in beef cattle. *Reprod Fertil Dev*, 18: 114. (abstract).

Colazo, M.G., Kastelic, J.P., Small, J.A., Wilde, R.E., Ward, D.R., Mapletoft, R.J. (2007). Resynchronization of estrus in beef cattle: Ovarian function, estrus, and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. *Can Vet J*, 48: 49-56.

Colazo, M.G., Gordon, M.B., Rajamahendran, R., Mapletoft, R.J., Ambrose, D.J. (2009). Pregnancy rates to timed artificial insemination in dairy cows treated with gonadotropin-releasing hormone or porcine luteinizing hormone. *Theriogenology*, 72: 262-270.

Echternkamp, S.E., Howard, H.J., Roberts, A.J., Grizzle, J., Wise, T. (1994). 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.*; 51:971-981.

García-Guerra, A., Kirkpatrick, B.W., Wiltbank, M.C. (2017). Follicular waves and hormonal profiles during the estrous cycle of carriers and non-carriers of the Trio allele, a major bovine gene for high ovulation and fecundity. *Theriogenology*, 100: 100-113.

Gibbons, J.R., Wiltbank, M.C., Ginther, O.J. (1997). Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biol Reprod*, 57: 1066-1073.

Glister, C., Tannetta, D.S., Groome, N.P., Knight, P.G. (2001). Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells. *Biol Reprod*, 65: 1020-1028.

Ginther, O.J., Kastelic, J.P., Knopf, L. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil*; 87: 223-230.

Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot K. (1996). Selection of the Dominant Follicle in Cattle. *Biology of reproduction*, 55: 1187-1194.

Ginther, O.J., Bergfelt, D.R., Kulick, L.J., Kot, K. (1999). Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology*, 52: 1079-1093.

Ginther, O.J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reprod Sci*, 60-61: 61-79.

Ginther, O.J., Bergfelt, D.R., Beg, M.A., Kot, K. (2001). Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during follicle deviation in cattle. *Reproduction*, 122: 103-110.

Ginther, O.J., Siddiqui, M.A.R., Baldrighi, J.M. (2016) . Functional angiocoupling between follicles and adjacent corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, 86: 465-471.

Ginther, O.J., Beg, M.A., Bergfelt, D.R., Donadeu, F.X., Kot, K. (2001). Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod*, 65: 638-647.

Ireland, J.J., Mihm, M., Austin, E., Diskin, M.G., Roche, J.F. (2000). Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements, and terms: *J. Dairy Sci*, 83: 1648-1658.

Jaiswal, R.S. (2007). Regulation of follicular wave pattern in cattle. A Thesis Submitted to the College of Graduate Studies and Research in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in the Department of Veterinary Biomedical Sciences University of Saskatchewan Saskatoon, SK Canada. pp. 1-163.

Kanitz, W., Brüssow, K.P., Becker, F., Torner, H., Schneider, F., Kubelka, M., Tomek, W. (2001). Comparative aspects of follicular development, follicular and oocyte maturation and ovulation in cattle and pigs. *Arch Anim Breed, Dummerstorf*, 44: 9-23.

Kara, U., Bekyürek, T. (2018). Östrus Senkronizasyonu ve Süperovulasyon Öncesi Gonadotropin Uygulamasını Takiben Kısa Süreli Ekzojen Progesteron Verilen ve Süperovulasyon Uygulanan Donörler ile Klasik Süperovulasyon Metodu Uygulanan Donörlerin Elde Edilen Embriyo Sayısı ve Kalitesi Yönünden Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Erciyes Üniv Sağ Bil Ens, Kayseri, s.1-124.

Kastelic, J.P., Knopf, L., Ginther, O.J. (1990). Effect of day of prostaglandin FZU treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci*, 23: 169-180.

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

Kojima, F.N., Bergfeld, E.G., Wehrman, M.E., Cupp, A.S., Fike, K.E., Mariscal-Aguayo, D.V., Sanchez-Torres, T., Garcia-Winder, M., Clopton, D.T., Roberts, A.J., Kinder, J.E. (2003). Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim Reprod Sci*, 77: 187-211.

Lussier, J.G., Matton, P., Dufour, J.J. (1987). Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *J Reprod Fertil*, 81: 301-307.

Macmillan, K.L., Thatcher, W.W. (1991). Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod*, 45: 883-889.

Mc Natty, K.P., Heath, D.A., Henderson, K.M., Lun, S., Hurst, P.R., Ellis, L.M., Montgomery, G.W., Morrison, L., Thurley, D.C. (1984). Some aspects of thecal and granulosa cell function during follicular development in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*, 72: 39-53.

Mapletoft, R.J., Pierson, R.A. (1993). Factors affecting superovulation in the cow: practical considerations. *IETS EmbryoTransfer Newsletter*, 11: 14-24.

Mapletoft, R.J., Steward, K.B., Adams, G.P. (2002). Recent advances in superovulation in cattle. *Reprod Nutr Dev*, 42(6): 601-611.

Martinez, M.F., Adams, G.P., Bergfelt, D., Kastelic, J.P., Mapletoft, R.J. (1999). Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim Reprod Sci*, 57: 23-33.

Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Bó, G.A., Caccia, M., Mapletoft, R.J. (2005). Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci*, 86: 37-52.

Mihm, M., Good, T.E.M., Ireland, J.L.H., Ireland, J.J., Knight, P.G., Roche, J.F. (1997). Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations alters key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers. *Biol Reprod*, 57: 1328-1337.

Mihm M., Bleach, E.C.L. (2003). Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*, 78: 217-237.

Mihm M, Garverick H.A., Bao, B., Roche, J.F., Crowe, M.A. (2000). Effects of extending the transient FSH rise during the first follicle wave in heifers on follicular gonadotrophin receptor and steroid enzyme messenger RNA(mRNA) expression. *J Reprod Fertil Abst Ser 25*, 55 (abstract number 142).

Mihm, M., Crowe, M.A., Knight, P.G., Austin, E.J. (2002). Follicle Wave Growth in Cattle. *Reprod Dom Anim*, 37: 191-200.

Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C.A., Schouten, M.J., Lopes, F., Thatcher, W.W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 84: 1646-1659.

Pursley, J.R., Mee, M.O., Wiltbank, M.C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology*, 44: 915-923.

Sartori, R., Fricke, P.M., Ferreira, J.C., Ginther, O.J., Wiltbank, M.C. (2001). Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol Reprod*, 65: 1403-1409.

Savio, J.D., Boland, M.P., Hynes, N., Roche, J.F. (1990). Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J Reprod and Fertil*, 88: 569-579.

Savio, J.D., Thatcher, W.W., Badinga, L., de la Sota, R.L., Wolfenson, D. (1993). Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *J Reprod and Fertil*, 97: 197-203.

Seguin, B. (1997). Strategies for estrus control to improve dairy reproductive performance. *In: Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology*, Montreal, QC, Canada. Montgomery, AL: Society for Theriogenology, pp. 320-331.

Simoni, M., Gromoll, J., Nieschlag, E. (1997). The follicle stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. *Endocrine Reviews*, 18: 739-773.

Sunderland, S.J., Crowe, M.A., Boland, M.P., Roche, J.F., Ireland, J.J. (1994). Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil*, 101: 547-555.

Townson, D.H., Tsang, P.C.W., Butler, W.R., Frajblat, M., Griel, Jr, L.C., Johnson, C.J., et al. (2002). Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J Anim Sci*, 80: 1053-1058.

Viana, J.H.M., Ferreira, A.D., De Sa, W.F., Camargo, L.S.D. (2000). Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesq. Agropec Bras* 35: 2501-2509.

Vasconcelos, J.L.M., Silcox, R.W., Rosa, G.J., Pursley, J.R., Wiltbank, M.C. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 52: 1067-1078.

Wandji, S.A., Fortier, M.A., Sirard, M.A. (1992). Differential response to gonadotrophins and prostaglandin E2 in ovarian tissue during prenatal and postnatal development in cattle. *Biology of Reproduction*, 46: 1034-1041.