

**KÖPEKLERDE OVARYUMLARIN FARKLI ÖSTRÜS SIKLUSU DÖNEMLERİNDE
DOPPLER ULTRASONOGRAFİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Aslıhan ÖZDİL
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. Oktay YILMAZ
Tez No: 2024-031
Afyonkarahisar

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KÖPEKLERDE OVARYUMLARIN FARKLI ÖSTRÜS SIKLUSU
DÖNEMLERİNDE DOPPLER ULTRASONOGRAFİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Veteriner Hekim Ashhan ÖZDİL**

**Danışman
Prof. Dr. Oktay YILMAZ**

Tez No: 2024-031

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:
“22.SAĞ.BİL.29”**

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ENSTİTÜ ONAYI

Öğrencinin	Adı- Soyadı	Aslıhan ÖZDİL
	Numarası	213310005
	Anabilim Dalı	Doğum ve Jinekoloji
	Programı	Veteriner Doğum ve Jinekolojisi
	Program Düzeyi	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora
Tezin Başlığı		Köpeklerde Ovaryumların Farklı Ötrüs Siklusu Dönemlerinde Doppler Ultrasonografi ile Değerlendirilmesi
Tez Savunma Sınav Tarihi		05.08.2024
Tez Savunma Sınav Saati		10:00

Yukarıda bilgileri verilen öğrenciye ait tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı **beyan ederim.**

05/08/2024

Aslıhan ÖZDİL

ÖZET

KÖPEKLERDE OVARYUMLARIN FARKLI ÖSTRÜS SIKLUSU DÖNEMLERİNDE DOPPLER ULTRASONOGRAFİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, Doppler ultrasonografinin desteği ile ovaryum dokusunda mevcut vaskülarizasyonların belirlenmesi ve Doppler ultrasonografinin, köpeklerde östrüs siklus dönemlerinin tespit edilmesindeki etkinliğinin araştırılması amaçlandı. Çalışmanın hayvan materyalini 2-8 yaş aralığında ve 10-40 kg canlı ağırlığa sahip 73 adet farklı ırklardan köpek oluşturdu. Ovaryumlarda mevcut vaskülarizasyonların değerlendirilmesi amacıyla önce Doppler ultrasonografi muayenesi yapıldı. Daha sonra vajinal sitoloji bulguları ve serum progesteron konsantrasyonlarına bakılarak köpekler siklus dönemlerine göre gruplandırıldı. Muayeneler sonrasında köpekler gaz anestezisi altında ovariohisterektomi operasyonuna alındı. Postoperatif olarak ovaryumlar incelendi. Vajinal sitolojik yoklamada anöstrüs döneminde olan sekiz adet köpek ile tüm muayeneler sonrası teratomadan şüphelenilen bir adet köpek çalışmaya dahil edilmedi. Muayenelerden elde edilen verilere göre, hayvanlar erken proöstrüs (n = 21), orta proöstrüs (n = 6), geç proöstrüs (n = 10), östrüs (n = 10), erken diöstrüs (n = 10) ve diöstrüs (n = 8) olacak şekilde sınıflandırıldı. Progesteron konsantrasyonlarının ölçülmesinde ELISA ve FIA yöntemleri kullanıldı. ELISA yöntemine göre ölçülen progesteron değerlerinde en düşük konsantrasyonun erken proöstrüs döneminde olduğu gözlenirken, en yüksek konsantrasyonun erken diöstrüs döneminde olduğu görüldü. Erken, orta ve geç proöstrüs dönemlerindeki serum progesteron düzeylerinin sırasıyla $1,42 \pm 0,12$ ng/mL, $1,60 \pm 0,23$ ng/mL ve $2,36 \pm 0,12$ ng/mL olduğu izlenirken, bu dönemler arasında istatistiksel olarak fark izlenmedi. Bununla birlikte, östrüs döneminde tespit edilen progesteron düzeyinin ($4,58 \pm 0,15$ ng/mL) proöstrüsün tüm dönemlerine göre istatistiksel olarak farklılık oluşturacak şekilde yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,001$). Erken diöstrüs ($8,29 \pm 0,96$ ng/mL) ve diöstrüs ($7,73 \pm 0,71$ ng/mL) dönemlerindeki serum progesteron düzeylerinin birbirleri arasında farklılık oluşturmadığı gözlenirken, diğer dönemlere göre istatistiksel olarak farklılık oluşturacak şekilde yüksek seyrettikleri belirlendi ($p < 0,001$). Benzer şekilde, FIA yöntemine göre ng/mL ve nmol/l düzeylerinde tespit edilen serum progesteron düzeylerinin proöstrüsün tüm dönemlerinde istatistiksel

olarak farklılık oluşturmadığı izlendi. Diğer taraftan, istatistiksel olarak östrüs, erken diöstrüs ve diöstrüs dönemlerinde farklılık göstermeyen progesteron düzeylerinin, proöstrüs dönemlerinden yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Doppler ultrasonografi muayeneleri sonucunda yapılan skorlamalarda erken diöstrüs evresinde ($1,75 \pm 0,31$) elde edilen bulguların diğer dönemlere göre düşük olarak skorlandırıldığı izlendi. Erken diöstrüs dönemine benzer şekilde diöstrüs döneminde ($1,90 \pm 0,23$) izlenen skorlamanın istatistiksel olarak fark oluşturmadığı gözlemlendi. Proöstrüsün erken ($2,14 \pm 0,17$), orta ($2,16 \pm 0,40$) ve geç ($2,40 \pm 0,26$) dönemlerinde diöstrüs dönemlerine göre yüksek skorlamalara ulaşılrken, dönemler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte, östrüs döneminde elde edilen ($3,60 \pm 0,16$) skorun ise en yüksek değer olduğu ve diğer dönemlerin tümüne göre istatistiksel olarak farklılık oluşturduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Östrüs döneminde izlenen yüksek düzeydeki vaskülarizasyonun siklusun tespitini sağlayabileceği ancak, ovulasyonun şekillenmiş olabileceğinin göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmektedir. Köpeklerde Doppler ultrasonografi ile seksüel siklus tespitinde tek bir muayene yapılacaksa, kan progesteron değerleriyle birlikte vajinal sitolojik muayene sonuçlarının değerlendirilmesi gerektiği, daha doğru sonuçlar almak için muayenelerin teşhis netleşinceye kadar günlük olarak devam ettirilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doppler Ultrasonografi, Köpek, Ovaryum, Östrüs Siklusu, Progesteron, Vajinal Sitoloji

SUMMARY

EVALUATION OF OVARIES IN BITCHES AT DIFFERENT ESTROUS CYCLE PERIODS BY DOPPLER ULTRASONOGRAPHY

The aim of this study was to determine the vascularisation in the ovarian tissue with the support of Doppler ultrasonography and to investigate the effectiveness of Doppler ultrasonography in determining the estrous cycle periods in bitches. The animal material of the study consisted of 74 bitches of different breeds between 2-8 years of age and 10-40 kg body weight. Doppler ultrasonography examination was performed to evaluate the vascularisation of the ovaries. Afterwards, vaginal cytology findings and serum progesterone concentrations were evaluated and the bitches were grouped according to the cycle periods. After the examinations, the bitches were subjected to ovariohysterectomy operation under inhalation anaesthesia. The ovaries were examined postoperatively. According to the data obtained from the examinations, they were classified as early proestrous (n= 21), mid proestrous (n= 6), late proestrous (n= 10), estrous (n= 10), early diestrous (n= 10) and diestrous (n= 8). Eight bitches in anestrus period which were diagnosed by the vaginal cytology and one bitch which was suspected to have teratoma after all examinations were excluded from the study. ELISA and FIA methods were used to measure the progesterone concentrations. The lowest concentration of progesterone measured by ELISA method was observed in early proestrous period, while the highest concentration was observed in early diestrous period. The serum progesterone levels in early, mid and late proestrous periods were 1.42 ± 0.12 ng/mL, 1.60 ± 0.23 ng/mL and 2.36 ± 0.12 ng/mL, respectively. However, the progesterone level (4.58 ± 0.15 ng/mL) detected during estrus was statistically higher than those measured in all periods of proestrus ($p < 0.001$). Serum progesterone levels in early diestrous (8.29 ± 0.96 ng/mL) and diestrous (7.73 ± 0.71 ng/mL) periods were not statistically different from each other, but they were statistically higher than the other periods ($p < 0.001$). Similarly, serum progesterone levels determined at ng/mL and nmol/l levels according to FIA method were not statistically different in all periods of proestrus. On the other hand, progesterone levels, which were not statistically different in estrous, early diestrous and

diestrous periods, were found to be higher in proestrous periods ($p < 0.001$). Doppler ultrasonography showed that the findings obtained in the early diestrous phase (1.75 ± 0.31) were scored as low compared to the other periods. Similar to the early diestrous period, it was observed that the scoring in the diestrous period (1.90 ± 0.23) was not statistically different. In the early (2.14 ± 0.17), mid (2.16 ± 0.40) and late (2.40 ± 0.26) periods of proestrous, high scores were obtained compared to the diestrous periods, but the differences between the periods were not statistically significant. In addition, the score obtained during the estrous period (3.60 ± 0.16) was found to be the highest value and statistically different from all other periods ($p < 0.001$). It is thought that the high level of vascularisation observed during the estrous period may provide the detection of the cycle, but it should be taken into consideration that ovulation may already have formed. It is suggested that if a single examination is to be performed in the detection of estrous cycle by Doppler ultrasonography in bitches, the vaginal cytology as well as blood progesterone concentrations should be evaluated collectively. Moreover, the daily Doppler ultrasonography should be performed until the diagnosis is clarified to obtain more accurate results.

Keywords: Bitch, Doppler Ultrasonography, Estrous Cycle, Ovary, Progesterone, Vaginal Cytology

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, tez çalışmamın her aşamasında mesleki tecrübeleri, kıymetli bilgileri ve yol göstericiliği ile bu süreci en iyi şekilde geçirmeme yardımcı olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Oktay YILMAZ'a şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibaren bilgi ve destekleriyle yanımda olan Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Duygu BAKİ ACAR, Prof. Dr. Mehmet UÇAR, Prof. Dr. Hacı Ahmet ÇELİK, Prof. Dr. Erhan ÖZENÇ, Dr. Öğretim Üyesi M. Kürşad BİRDANE, Dr. Öğretim Üyesi Ebubekir YAZICI ve Araş. Gör. Ece TUNÇ'a; Doppler ultrasonografi muayenelerinde destek ve bilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Cenker Çağrı CINGİ, Prof. Dr. Güneş ERDOĞAN ve Dr. Öğretim Üyesi Cihat TUNÇ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez projemi maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon Birimi'ne (BAPK) ve tez çalışmamda muayeneler esnasında yardımlarını esirgemeyen; Vet. Hek. İpek OKCUOĞLU, Vet. Hek. Musa YILMAZ, Vet. Hek. Barış ŞEN, Vet. Hek. Emre KAYA, Vet. Hek. Zeynep DANACI, Vet. Sağlık. Tek. Aybüke Gül TEL, Vet. Sağlık Tek. Alperen SAPMAZ'a ve 2023-2024 dönemi intörn öğrencilerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca varlıkları ve destekleriyle yanımda olan kıymetli annem ve babama, tez sürecimde hissettiğim moral ve manevi destekleri için canım kardeşlerime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle.

Veteriner Hekim Aslıhan ÖZDİL

Afyonkarahisar

2024

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	i
SUMMARY	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
ÇİZELGELER	xi
RESİMLER	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Köpeklerde Reprodüktif Fizyoloji	2
1.1.1. Proöstrüs Dönemi	2
1.1.2. Östrüs Dönemi	4
1.1.3. Diöstrüs Dönemi	5
1.1.4. Anöstrüs Dönemi	6
1.2. Köpeklerde Seksüel Siklusun Tespitinde Kullanılan Yöntemler	6
1.2.1. Vajinal Sitoloji	6
1.2.2. Hormonal Yöntemler	8
1.3. Köpeklerde Farklı Siklus Dönemlerinde Vajinal Sitoloji	10
1.3.1. Proöstrüs Döneminde Vajinal Sitoloji	10
1.3.2. Östrüs Döneminde Vajinal Sitoloji	11
1.3.3. Diöstrüs Döneminde Vajinal Sitoloji	12
1.3.4. Anöstrüs Döneminde Vajinal Sitoloji	13
1.4. B-Mod Ultrasonografi	14
1.4.1. Ultrasonografinin Çalışma Prensibi	14
1.4.2. Köpeklerde Ovaryumların Ultrasonografi ile Görüntülenmesi	15
1.5. Kan Akım Modelleri	16
1.6. Doppler Ultrasonografi	17
1.6.1. Doppler Ultrasonografinin Tarihçesi	17
1.6.2. Doppler Ultrasonografinin Çalışma Prensibi	18
1.6.3. Doppler Ultrasonografinin Çeşitlendirilmesi	21

1.6.4. Doppler Ultrasonografide Görülen Artefaktlar	27
1.6.5. Doppler Ultrasonografinin Doğum ve Jinekolojide Kullanım Alanları	29
2. MATERYAL ve METOT	34
2.1. Materyal	34
2.2. Metot	34
2.2.1 Vajinal Sitoloji	35
2.2.2. Serum Progesteron Ölçümleri	37
2.2.3. Doppler Ultrasonografi Muayeneleri	41
2.2.4. İstatistiksel Analizler	42
3. BULGULAR	43
4. TARTIŞMA	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
6. KAYNAKLAR	65
7. EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
7.1 Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: Santigrat derece

°: Derece

%: Yüzde işareti

×: Çarpı işareti

+: Artı işareti

-: Eksi işareti

Δ: Delta

<: Küçüktür işareti

>: Büyüktür işareti

/: Eğik çizgi

μL: Mikrolitre

CFM: Renkli Akış Modu

cm: Santimetre

Cos: Kosinüs

CWD: Sürekli Dalga Doppler

D: Diyastol

ELFA: Enzim Bağlı Floresans Testi

ELISA: Enzim Bağlantılı Immunosorbent Testi

EVD: Son Diyastolik Volüm

F/f: Frekans

FIA: Floresan Immünoassay

FSH: Folikül stimüle edici hormon

Hz: Hertz

kHz: Kilohertz

LH: Luteinleştirici hormon

m: Metre

MHz: Megahertz

mL: Mililitre

mm: Milimetre

NaCL: Sodyum Klorür

ng: Nanogram

nmol: Nanomol

p: İstatistiksel anlamlılık düzeyi

pg: Pikogram

PI: Pulsatilite İndeksi

PRF: Darbe Tekrarlama Frekansı

PSV: Pik sistolik volüm

PWD: Atımlı Dalga Doppler

RI: Rezistif indeks

S: Sistol

sn: Saniye

TAMV: Ortalama Maksimum Hız

V: Hız

vd: ve diğerleri

ŞEKİLLER

SAYFA

Şekil 2. 1. Köpeklerde östrüs siklusu evrelerine göre vajinal sitoloji bulgularının yorumlanması
36



ÇİZELGELER

SAYFA

Çizelge 2. 1. ELISA yöntemine göre elde edilen serum progesteron düzeylerinin yorumlanması	40
Çizelge 2. 2. FIA yöntemine göre elde edilen serum progesteron düzeylerinin yorumlanması	40
Çizelge 3. 1. Farklı seksüel siklus dönemlerinde bulunan köpeklerde, ELISA (ng/mL) ve FIA (ng/mL-nmol/l) yöntemlerine göre tespit edilen serum progesteron değerleri (Ort $\pm$ SEM).	44
Çizelge 3. 2. Farklı seksüel siklusu dönemlerinde bulunan köpeklerde ovaryumların renkli Doppler ultrasonografi skorları (Ort $\pm$ SEM).	45



RESİMLER

SAYFA

Resim 2. 1. Çalışmada kullanılan ELISA kiti (A) ve çalışma plate görüntüsü ile hızlı tet kiti, tampon çözelti ve ölçüm cihazı görseli (B) 39

Resim 3. 1. Erken, orta ve geç proöstrüs dönemlerine ait B-mod (A,C,E) ve Doppler ultrasonografi (B, D, F) görüntüleri 46

Resim 3. 2. Östrüs dönemine ait B-mod (A) ve Doppler (B) ultrasonografi görüntüleri 47

Resim 3. 3. Erken diöstrüs dönemine ait B-mod (A) ve Doppler (B) ultrasonografi görüntüleri ile diöstrüs dönemlerine ait B-mod (C) ve Doppler (D) ultrasonografi görüntüleri 47

Resim 3. 4. Teratoma olgusunun rastlandığı hastanın sol ovaryumunun Doppler ultrasonografi (A) ve post operatif görüntüleri (C) ile sağ ovaryumuna ait Doppler ultrasonografi (B) ve post operatif görüntüleri (D) 48

1. GİRİŞ

Bir tanı aracı olarak 1942 yılından bu tarafa kullanılan ultrasonografik dalgaların, hastalıkların tanımlanması ve prognozun iyileştirilmesinde zaman içerisinde daha fazla gelişim gösterdiği vurgulanmaktadır (de Carvalho vd., 2021a). Küçük hayvan kliniklerinde ultrason kullanımına dayanan yeni görüntüleme tekniğinin 1960'lı yıllarda dikkate alınmaya başlandığı aktarılmaktadır. Ultrasonografi olarak adlandırılan yeni görüntüleme aracının tüm dünyada Veteriner Hekimler arasında hızla yayıldığı ifade edilmektedir (Meomartino vd., 2021). Seksenli yıllarda sığırların reproduksiyonunda B-mod ultrasonografinin ortaya çıkışıyla birlikte, iç üreme organları non-invaziv olarak görüntülenebilmiştir. Bu bağlamda, B-mod ultrasonografi, klinik uygulamalarda ve araştırmalarda büyük ilerlemelerin habercisi olarak nitelendirilebilmektedir (Herzog ve Bollwein, 2007). Bütün ultrasonografi türleri arasında B-mod ultrasonografi, ultrasonografik dalgalar ile dokular arasındaki etkileşimi gri tonlamada iki boyutlu görüntüler aracılığıyla değerlendirmek için kullanılabilmektedir (de Carvalho vd., 2021b). Organ morfolojisi bu teknik kullanılarak değerlendirilebilse de vasküler perfüzyon gibi organ fonksiyonu hakkında bilgi verememektedir (Herzog ve Bollwein, 2007; de Carvalho vd., 2021b). Bu sebeple, Doppler ultrasonografi hastalarda hemodinamik durumları değerlendirebilmek için önemli bir görüntüleme yöntemi haline gelebilmiştir. (de Carvalho vd., 2021a). Vasküler dinamiklerin organ fonksiyonlarıyla yakından ilişkili olması nedeniyle reproduksiyon işlevinin değerlendirilmesinde önemli parametreler olarak karşımıza çıktığı bildirilmektedir (Viana vd., 2018). Beşeri hekimlikte, fertil ve infertil kadınlarda menstrual döngü esnasında uterus ve ovaryum hemodinamiğini değerlendirmek için Doppler ultrasonografi kullanılabılırken, aynı zamanda *in vitro* fertilizasyon ve embriyo transferinde ovaryum ve uterus dokularının vaskülarizasyonunun izlenmesi için de Doppler ultrasonografiden yararlanılabilmektedir (Barbosa vd., 2013). Veteriner jinekolojideyse, foliküler yapıların incelenmesi, ovulasyonun takip edilmesi, erken gebeliklerin tanısı, ovaryum kistleri, uterusun incelenmesi, feto-maternal izlem, doğum ve güç doğum, meme gelişimi ve puerperal dönemin incelenmesi gibi konularda Doppler ultrasonografiden yararlanılabilmektedir (Erdoğan, 2018).

1.1. Köpeklerde Reprodüktif Fizyoloji

Dişi köpekler monoöstrik hayvanlar olup mevsimsel olmayan siklik aktiviteye sahiptirler. Ovulasyonları spontan olarak şekillenirken, bir doğumda birden çok sayıda yavru doğurabilmektedirler. (Concannon, 2011). Östrüsler arası süre (intersöstrüs aralığı) dişi köpeklerde değişiklik gösterebilirken, ortalama 6-7 ay olarak bildirilmektedir. Ancak bu süre 5-12 ay arasında değişiklik gösterebilmektedir (Concannon, 2011; Kustritz, 2012). Bununla birlikte interöstrüs aralığı 4 aydan kısa olan ya da 12 aydan uzun olan köpeklerin infertilite problemi ile ilişkilendirildiği ifade edilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Özellikle dişi köpeğin ilk reprodüktif aktivitesinin başlayıp döngünün belli bir düzene gelmesi ile birlikte köpeğin boyutlarının da sikluslar arası geçen süreyle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Alman çoban köpeği gibi büyük ırklarda kızgınlıklar arası geçen süre 5 ay olarak vurgulanırken, küçük ırk hayvanlar için bu süre 12 aya kadar normal kabul edilebilmektedir (da Silva vd., 2020). Fizyolojik olarak erkek veya dişi bir hayvanda gametogenez ile birlikte tam anlamıyla cinsel davranışlar gözlemlendiğinde pubertasa ulaştığı vurgulanmaktadır. Genellikle dişi köpekler yetişkin boyutlarına ve vücut ağırlıklarına ulaştıktan bir kaç ay sonra ilk kızgınlıklarını gösterebilmektedirler (Feldman ve Nelson, 2004). Dişi köpekler ortalama 7-8 aylıkken pubertasa ulaşabilmektedirler (da Silva vd., 2020). Ancak dişi köpekler kendi içinde pubertas yaşı açısından farklılıklar gösterebilmektedir. (Feldman ve Nelson, 2004). Daha büyük ırklarda pubertas yaşı 9-12 ay olabilirken, bu süre küçük ırklarda 6-7 ay olarak aktarılmaktadır (da Silva vd., 2020). Bazı büyük ırk köpeklerde bu süre 18-24 aya kadar uzayabilmektedir. Dişi köpeklerde ideal çiftleşme zamanının 2-6 yaş arası olduğu vurgulanmaktadır. Hasta sahiplerine bir kızgınlık gösterdikten sonra ikinci veya üçüncü kızgınlık döngüsünde çiftleştirmesi önerilebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

1.1.1. Proöstrüs Dönemi

Proöstrüs en güvenilir şekilde vajinal kanamanın görüldüğü zaman başlayıp, dişi köpeğin erkek köpeğin çiftleşmesine izin vermesiyle sonlanan bir dönem olarak tanımlanabilmektedir. Bu evrenin başlangıcını ve sonlanmasını tanımlayabilen bazı ek

muayene yöntemleri bulunabilir ki, bunlar vajina mukozasının endoskopik olarak görüntülenmesi ve vajina epitel hücrelerinin sitolojik bakıdaki değişimleri şeklinde ifade edilmektedir. Bu dönemin başlangıcını tanımlamada daha az güvenilir kriter olarak vulvada ödem, erkeklerin ilgisini çekme ve erkeklere yönelik davranış değişiklikleri sayılabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Ortalama 9 gün olarak sürdüğü ifade edilen proöstrüs dönemi 3-21 gün arasında da sürebilmektedir (Kustritz, 2012; MacNeill, 2017). Proöstrüsta kanlı serosanguinöz vajinal akıntı ve ödemli bir vulva bulunabilmektedir. Bu dönemin başlangıcında erkek köpekler dişiye ilgi göstermeye başlayabilmektedir. Ancak dişi köpeğin bu dönemde çiftleşmeyi kabul etmediği bildirilmektedir (Bergeron, 2010). Vulva sıvı birikimi nedeniyle proöstrüs boyunca yavaş yavaş genişler ve sonuçta ödemli vulva erkeğin dişi ile çiftleşmesine engel olabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Proöstrüsün sonlarına doğru dişi köpekte vulvanın her iki yanındaki deri uyarıldığında sırtı kamburlaştırma ve kuyruğu havaya kaldırma gibi fiziksel değişikliklerin gözlenebildiği ifade edilmektedir (Bergeron, 2010). Serosanguinöz akıntı kırmızı kan hücrelerinin endometriyal kapillar damarlar yoluyla uterusu diyapedezis sonucu şekillenebilmektedir. (Kustritz, 2012). Serosanguinöz akıntının içeriğinde sağlam ve parçalanmış eritrositler ile birlikte bunların uterusu diyapedezinden kaynaklanan hemoglobinler bulunabilmektedir (Concannon, 2011). Akıntının miktarı köpekler arasında değişkenlik gösterebilirken normalden fazla yahut az oluşu infertilite ile ilişkilendirilememektedir (Kustritz, 2012). Yine akıntının miktarı ve görünümünde güvenilir bir karakteristik değişimin var olmadığı ifade edilmektedir (Concannon, 2011). Bazı dişi köpekler perineal bölgeyi sürekli yalayarak temizledikleri için akıntının görülemeyeceği bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Vajinoskopik muayenede mukoza ödemli görünebilmektedir. Pembe olan mukoza rengi dönem ilerledikçe beyaz renge değişebilmektedir. Yine bu dönemin ilerlemesiyle birlikte derinleşen vajinal kıvrımlar her iki vajina duvarında da belirgin bir hale gelip pürüzsüz lüle taşı görünümü verebilmektedir. İlgilenen erkeklere verilen agresif tavırlar dönem boyunca giderek azalabilmektedir (Concannon, 2011). Erkek köpeklerin kızgınlık dönemindeki dişi köpeklerden gelen idrar ve vajina salgılarıyla ilgilendikleri bildirilmektedir (Kustritz, 2012). Kızgınlıkta olan dişi köpeklerin vajinal salgılarında metil p-hidroksibenzoat adında bir madde tanımlanmış olup bu maddenin erkeklerin ilgisini çekmede rol aldığı ifade edilmektedir (Concannon, 2011). Dişi köpeklerde proöstrüs başlangıcı vulvada

ödem ve serosanguinöz akıntının varlığıyla anlaşılabilirken, ödem ile kıyaslandığında serosanguinöz akıntının fark edilmesi ve takip edilmesi daha kolay olduğundan dönemin izlenmesinde özellikle akıntıya dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Östrojenin birincil formu olarak salgılanan 17-beta östradiol, proöstrüs dönemi boyunca fiziksel değişikliklere ve vajina mukozasındaki değişikliklere neden olabilmektedir (Kustritz, 2012).

1.1.2. Östrüs Dönemi

Östrüs dönemi, dişi köpeğin erkek köpeğin üzerine atlamasına ve çiftleşmesine izin verdiği dönem olup, dişinin çiftleşmeye izin verdiği ilk gün östrüsün başlangıcıyken, dişinin artık erkeği kabul etmemesiyle bu dönem sonlanabilmektedir. Östrüs döneminin süresi genellikle 5-9 gün olup, proöstrüs dönemine benzer şekilde sürede farklılıklar görülebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Concannon, 2011) Östrüs dönemi 1-2 gün kadar kısa ya da 18-20 gün kadar uzun sürebilmektedir. Dişi köpeklerin kendi içinde ırksal açıdan farklılıkları östrüs döneminin süresinin tahmin edilmesini zorlaştırabilmektedir. Kızgınlıkta olan dişilerde çömelme ve perineal bölgeyi erkeğe doğru kaldırma gibi fiziksel davranışlar gözlenebilmektedir. Lumbal bölgeye yapılan herhangi bir baskıda dişi köpek, kuyruğu yan tarafa alıp arka bacaklarını gergin duruma getirebilmektedir. Arka bacakları gergin tutma davranışının çiftleşme pozisyonunda erkek köpeğin ağırlığını daha iyi optimize edebilmek için yapıldığı belirtilmektedir. Bu dönemde salgılanan güçlü feromonlar sebebiyle dişi köpek çok uzaktaki erkeklerin ilgisini çekebilmektedir. Proöstrüs dönemi ile ilişkili ödemli vulva östrüs döneminde daha yumuşak ve gevşek bir hal alabilmektedir. Vulva bu dönemde erkeğin çiftleşmesine engel olabilen yapısını kaybedebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Vajina mukozası lüteinleştirici hormon (LH) dalgalanmasından 1 gün önce veya sonra endoskopik olarak görüntülendiğinde kırışmaların ve krenülasyonların olduğu görülebilmektedir. Mukozada gözlenen bu değişimler östrojen progesteron oranındaki ani düşüşe verilen yanıt olarak değerlendirilebilmektedir. Maksimum krenülasyon LH dalgalanmasını takiben 4-5. günlerde oluşabilmektedir (Concannon, 2011). Bu dönemde gözlenen vajinal akıntı saman renginde yahut pembe renkte olabilmektedir. Daha az görülmeyle birlikte akıntının

rengi daha hemorajik de olabilmektedir. Bu dönemde dişi köpekler daha pasif olup erkeği kabul edebilirken bazı zamanlarda da erkeğin ilgisini çekebilmek için aktif olarak yaklaşabilmektedirler. Bu dönemde dişi köpeklerin yalnızca aktif bir erkekle çiftleşmeyi kabul ettiği, pasif davranış gösteren erkekler ile çiftleşmeyi reddettiği görülebilmektedir. Bu tarz durumlarda erkeğin daha aktif olacağı kendi alanına dişiyi getirmenin önerilebileceği ifade edilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

1.1.3. Diöstrüs Dönemi

Diöstrüs dönemi plazma progesteron seviyelerinin artmış olduğu dönem olarak bildirilmektedir. Bu dönem gebe olan köpeklerde ortalama 56-58 gün sürebilirken gebe olmayan dişi köpeklerde 60-100 gün arasında sürebilmektedir. Korpus luteumun işlevi prostaglandinlerin etkileri nedeniyle gebelikte gebe olmayan döneme göre daha erken sona erebilmektedir. Fetus prostaglandinlerin sentezini ve salgılanmasını uyarabilmektedir. Bu durumun gebe olmayan köpeklerde belgelenemediği ifade edilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Bu dönem, dişi köpeğin çiftleşmeyi aniden reddetmesiyle başlamaktadır (Feldman ve Nelson, 2004; Concannon, 2011). Aynı zamanda dişinin erkekler tarafından dikkat çekmediği de gözlenmektedir. Vulva normal boyutlarına dönmüş olup, ödemli ve gevşek yapısını kaybetmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Bu dönemde çiftleşme hareketlerine izin verilmediği için vulvadan gelen akıntı önemli miktarda azalmaktadır. Ancak bazı köpeklerde diöstrüsün başlarında az-orta miktarda mukoid akıntı gelebilmektedir (Kustritz, 2012). Anöstrüslü dişi bir köpekle diöstrüs dönemindeki bir köpek arasında belirgin bir klinik farkın olmadığı belirtilmektedir. Yine gebe olan dişi köpeği (diöstrüsün ilk 7-10 günü) gebe olmayan dişi bir köpekten ayırt edecek bir yöntemin bulunmadığı bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Çünkü bu dönemde progesteron konsantrasyonları yüksek olduğundan dişi köpek gebe olsa da olmasa da hasta sahibinin gebelikle ilişkilendirebileceği davranışlar gösterebilmektedir. Bu davranışlar arasında memelerde gelişim ve bazı köpeklerde abdominal bölge de belirgin bir gelişme dikkat çekebilmektedir (Kustritz, 2012). Diöstrüsün sonu ve anöstrüs döneminin başlangıcı çeşitli şekillerde tanımlanabilmektedir. Bunlar, uterus endometriyumunun histolojik olarak onarım

geçirmesi, luteal faz progesteronuna yanıt olarak meme gelişiminin gerilemesi ve çoğunlukla son yıllarda kalıcı olarak serum progesteron seviyesinin 1-2 ng/mL'nin (3-6 nmol/l) altına düşmesi şeklinde bildirilmektedir (Concannon, 2011).

1.1.4. Anöstrüs Dönemi

Anöstrüs dönemi uterusun involüsyon sürecini geçirdiği evre olarak vurgulanmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Anöstrüs döneminde ovaryum aktivitesine dair belirgin bir bulgunun olmadığı aktarılmaktadır (Concannon, 2011). Bu aşamada dişi hayvanda reproduktif aktivitenin gözle görülür klinik bulguları olmasa da, bir sonraki döngünün başlayabilmesi için gerekli olan histolojik ve endokrin değişiklikler oluşabilmektedir (Kustritz, 2012). Bu dönem yavrulama ile başlayıp proöstrüs döneminin başlaması ile sona erebilmektedir. Döngünün diğer aşamalarında olduğu gibi anöstrüs döneminin süresinde farklılıklar gözlenebilmektedir. Bu farklılığı oluşturan bazı varyasyonlar mevcut olmakla birlikte bunlar cins, sağlık durumu, yaş, yılın zamanı, çevre şeklinde sıralanabilmektedir. Tipik olarak bir dişide 7 ayda bir proöstrüs evresi başlayabilmektedir. Bu dönem yaklaşık 4.5 ay da sürebilmektedir. Bu dönemde köpeklerde görülen klinik bulguların gebe olmayan diöstrüsteki dişi bir köpekte yahut ovariohisterektomi operasyonu geçirmiş bir köpekte gözlenen bulgulardan bir farkı olmadığı ifade edilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

1.2. Köpeklerde Seksüel Siklusun Tespitinde Kullanılan Yöntemler

1.2.1. Vajinal Sitoloji

Vajinal sitoloji kedi ve köpeklerin reproduksiyonunda hızlı, kolay, ucuz, güvenilir ve yüksek öneme sahip bir östrüs döngüsü değerlendirme yöntemi olarak ifade edilmektedir (Alkan vd., 2019; Liu vd., 2020; Bante vd., 2023). Östrüs siklusunun aşamalandırılması için vajinal epitel hücrelerin incelenmesi, veteriner pratikte sitolojinin en yaygın kullanım alanları arasına girebilmektedir. Vajinal sitolojik muayene kolay olup optimum

üreme zamanının belirlenebilmesi için de başarıyla kullanılabilir. Ancak bazı araştırmacılar tarafından optimum üreme zamanının belirlenmesi için vajinal sitolojik muayene yönteminin kullanılmasında dikkatli olunması gerektiği bildirilmektedir. Vajina epitel hücrelerinin ve vajinal akıntıların incelenmesi de vajinal enfeksiyon ve neoplazi gibi durumların değerlendirilmesinde faydalı olabilmektedir (Gallego ve Masserdott, 2016). Başta östrojen hormonu olmak üzere üreme hormonlarında meydana gelen değişimlerin sonucunda vajina epitelinde oluşan değişikliklerin değerlendirilmesine dayanan bir metot olduğu bildirilmektedir. Proöstrüs ve erken östrüs dönemlerinde artan östrojen konsantrasyonu, vajinal mukozada bulunan hücre katmanlarının sayısının hızlıca artmasına, sonuçta vajinal duvarın kalınlaşmasına neden olabilmektedir. Vajinal hücrelerin kendilerini besleyen damar yatağından uzaklaşması sonucunda beslenemeyip öldükleri ve vajinal sıvıya ekfoliyeye oldukları ifade edilmektedir (Bante vd., 2023). Hücrelerin değerlendirilmesinde hücrenin boyutu, keratin durumu ve çekirdek dejenerasyonu gibi kriterler rol oynayabilmektedir (Liu vd., 2020).

Vajinal hücrelerin adlandırılması hücre morfolojisine göre yapılabilmektedir (Bante vd., 2023). Eski yıllardaki literatürlerde keratinize terimine karşı kornifiye; keratinize olmayan hücre terimine karşı kornifiye olmayan hücre teriminin kullanıldığı belirtilmektedir. (Feldman ve Nelson, 2004). Parabazal ve intermediyer hücreler kornifiye olmayan hücre grubu içinde sınıflandırılabilirken süperfisiyal ve anükleer süperfisiyal hücreler ise kornifiye hücre grubunun içinde sınıflandırılabilir. (Basu vd., 2011). Toplam kornifiye hücre sayısının, toplam epitel hücre sayısına bölünüp sonucun yüz ile çarpılmasıyla kornifikasyon-eozinofilik indeksi elde edilebilmektedir. Bu değerin % 80 ya da daha fazla çıkması reproduksiyon faaliyetleri açısından optimum zamanı gösterebilmektedir (Hewitt ve England, 2000). Vajinal hücrelerin yanı sıra alınan vajinal örneklerde farklı hücreler de gözlemlenebilir. Bunlar kırmızı kan hücreleri, nötrofil granülositleri (lökositler), bakteriler, tümör hücreleri, klitoral fossa epitel hücreleri, spermatozoa ve dev trofoblastik hücreler şeklinde belirtilmektedir (Antonov, 2017).

1.2.2 Hormonal Yöntemler

Proöstrüs döngüsü boyunca serum östrojen konsantrasyonu 50-100 pg/mL değerlerine ulaşabilmektedir (Kustritz, 2012). Proöstrüs döneminin başlangıcında östrojen (östradiol) konsantrasyonlarının 15 pg/mL üzerine çıktığı vurgulanmaktadır. Proöstrüsün erken döneminin östrojen konsantrasyonun 25 pg/mL'nin üzerine çıktığı, geç döneminin ise 60-70 pg/mL'yi aşan östrojen konsantrasyonu ile ilintili olduğu bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Sonuçta östrojen, proöstrüs dönemi boyunca hızla yükselmektedir (Robinson ve Noakes, 2019). Diöstrüs döneminde 15-30 pg/mL değerinde olabilen östrojen, anöstrüs dönemindeyse 5-10 pg/mL değerinde olabilmektedir (Concannon, 2011).

Plazma östrojen konsantrasyonu proöstrüsün sona ermesini takiben, östrüs başlangıcından 24-48 saat öncesinde maksimum konsantrasyona ulaşabilmektedir. Plazma östrojen konsantrasyonlarındaki azalmalar ise östrüsün başlamasını uyarmaktadır. Östrüs başlangıcından 1-3 gün önce 70 pg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlara ulaşan östrojen, östrüs boyunca giderek azalır 15 pg/mL'nin (bazal seviye) altına düştüğünde östrüs sona erebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Azalan östrojen konsantrasyonun ovulasyondan birkaç gün önce ovaryum foliküllerinin nihai maturasyonlarının bir göstergesi olduğu aktarılmaktadır. Azalan östrojen konsantrasyonu ile beraber ovaryum folikülleri luteinleşmeye başlayıp, progesteron sentezlemektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Yılmaz, 2005). Proöstrüsün son günlerinde artmış olan serum progesteron konsantrasyonu ve buna ek olarak azalmış olan serum östrojen konsantrasyonu bazı önemli durumları başlatabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Kustritz, 2020). Bunlardan ilki, proöstrüs dönemi boyunca çiftleşmeye izin vermeyen dişi köpeğin östrüs döneminde aktif olarak çiftleşmeye izin vermesi şeklinde bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Concannon, 2011; Kustritz, 2020). İkinci ise bu hormonların hipofiz ve hipotalamus üzerine güçlü olumlu başa tepki yapması sonucunda östrüs döneminin başlangıcında folikül stimüle edici hormon (FSH) ve en önemlisi LH salgılanabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). LH pulsatil olarak salınan bir hormon olup dişi köpeklerde ovulasyonu uyarmaktadır (Kustritz, 2012).

Progesteron konsantrasyonu, LH dalgalanmasından önce bazal konsantrasyonunun üzerine çıkabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Farklı bir deyişle, progesteron sentezleme ve salgılama yeteneğine sahip olan ovaryum foliküllerinin korpus luteum gelişmeden önce işlevsel hale geçtiği ifade edilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Robinson ve Noakes, 2019). Proöstrüsün son günü ve östrüsün başlamasını takiben progesteron konsantrasyonundaki ilk artışa, bahsedilen hücrelerin sebep olduğu vurgulanmaktadır. Bu artış, beraberinde östrüs davranışlarının sıklığını ve süresini artırabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Bu bağlamda, dişi köpeklerin reproduksiyon faaliyetlerinde en iyi yararlanımı elde etmek için azalan östrojen konsantrasyonuna ek olarak artan progesteron konsantrasyonunun gerekli olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda bahsedilen progesteron ve östrojen hormonu miktarlarının, LH miktarının artmasında da rol aldıkları aktarılmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004; Kustritz, 2020). LH artışı ile 24-48 saat içinde ovulasyon başlayıp devamında korpus luteum oluşabilmektedir. Östrüsün bu ilk zamanlarında dolaşımdaki mevcut progesteron konsantrasyonu devamlı olarak artabilmektedir. Artmış olan progesteron konsantrasyonları, fonksiyonel hale gelen korpus luteum sayesinde 1-3 haftalık süreçte daha da fazla artabilmektedir. Bu bağlamda, endokrinolojik açıdan östrüs, östrojen hormon konsantrasyonunun giderek azaldığı, progesteron hormon konsantrasyonunun giderek arttığı ve LH salınımında kısa süreli bir pik döneminin olduğu (12-24 saat) bir evre olarak bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

Proöstrüs sonunda 0.5-1 ng/mL seviyelerine ulaşan progesteron hormon konsantrasyonu preovulatör LH pikinden yaklaşık 24-48 saat önce 1 ng/mL'nin üzerine çıkarak LH piki sırasında 2-4 ng/mL seviyesine ulaşabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Ovulasyon zamanında bu değer 4-10 ng/mL olabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Kustritz, 2012). Ovulasyonun gerçekleşmesinin ardından periferik progesteron konsantrasyonu artmaya devam edebilirken, ovulasyondan yaklaşık 25 gün sonra zirveye ulaşabilmektedir (Robinson ve Noakes, 2019). Sonuçta serum progesteron konsantrasyonu siklusun 20-35. günleri arasında 15-80 ng/mL'lik pik değerine yükselip daha sonra yavaşça azalarak 55-90. günlerde 1 ng/mL'nin altına düşebilmektedir (Concannon, 2011).

1.3. Köpeklerde Farklı Siklus Dönemlerinde Vajinal Sitoloji

1.3.1. Proöstrüs Döneminde Vajinal Sitoloji

Proöstrüsün erken döneminde köpekten alınan vajinal örnekler incelendiğinde preparat görüntüsünün anöstrüs döneminde olan köpekle benzer olduğu ifade edilmektedir. Buradaki tek farkın, proöstrüs döneminde gözlenen vajinadaki kanın varlığı olduğu aktarılmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Bu erken dönemde vajinal epitel hücrelerin popülasyonu heterojen olmakla birlikte hücrelerin boyutu, şekli ve çekirdek boyutları büyük farklılıklar gösterebilmektedir (Kustritz, 2020). Erken proöstrüs döneminde değişen sayıda eritrosite ilave olarak, vajinal smear genellikle çok sayıda parabazal, küçük ve büyük intermediyer hücreler içerebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Gallego ve Masserdott, 2016). Alınan örneklerde değişen sayılarda nötrofil görülmekte olup, sayıları azdan çoğa kadar farklılaşan bakteriler de görülebilmektedir. Alınan örnekler servikal ve vajinal sekresyonların mevcudiyeti sebebiyle mikroskopta kirli bir görüntü verebilmektedirler (Feldman ve Nelson, 2004).

Proöstrüsün orta döneminde reproduktif sistem üzerinde östrojenin etkinliği devam etmekte olup, östrojenin varlığına işaret eden bazı belirtiler bulunabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Bunlar nötrofillerin kayboluşu, eritrositlerin ortaya çıkışına ek olarak parabazal ve intermediyer hücrelerin yerini alan süperfisiyal hücrelerin oranının giderek artışı şeklinde vurgulanmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004; Gallego ve Masserdott, 2016). Nötrofillerin mukoza duvarı yoluyla vajinal lumene girdiği aktarılmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Ancak östrojenin etkinliğine bağlı duvarda oluşan kalınlaşmalar sebebiyle nötrofiller bu bariyeri geçememektedirler (Feldman ve Nelson, 2004; Kustritz, 2020). Nötrofillerin normalde proöstrüsün ortası ile diöstrüsün başlangıcı arasında dişilerden alınan vajinal smearlarda görülmediği belirtilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

Geç proöstrüs döneminde vajinal sürüntüde nötrofil bulunmazken eritrositlerin varlığı değişken olabilmektedir. Mikroskopta saha temiz şekilde görülebilmektedir. (Feldman ve

Nelson, 2004). Eksfoliasyona uğramış vajinal hücrelerin (hücre ölümleri gerçekleşikten sonra lümene dökülen hücreler) %80'den fazlası süperfisiyal hücreler olduğu bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Daha orta ve az sayıda ise anükleer süperfisiyal hücrenin bulunduğu aktarılmaktadır (MacNeill, 2017). Süperfisiyal hücrelerde çekirdek durumları farklı olabilmektedir. Çekirdekler veziküllü ya da piknotik şekilde bulunabilmektedir. Bazen de çekirdeğin hiç olmadığı (anükleer süperfisiyal hücre) ifade edilmektedir. Proöstrüs döneminin bitmesine 1 - 8 gün kala alınan vajinal sitoloji örnekleriyle östrüs döneminde olan dişi köpeğin örneklerinin aynı olduğu vurgulanmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Vajinal epitel hücrelerin popülasyonunun, döngünün bu aşamasında tamamen kornifiye olmamış halden tamamen kornifiye olmuş hale doğru kademeli olarak değiştiği bildirilmektedir (Kustritz, 2020).

1.3.2. Östrüs Döneminde Vajinal Sitoloji

Bu dönemde süperfisiyal hücreler ve anükleer süperfisiyal hücreler toplam vajina epitel hücrelerinin % 80'ininden daha fazlasını oluşturabilirken, bu oran çoğu zaman % 100'e ulaşabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; MacNeill, 2017). Bu hücrelerin > %50 oranını anükleer süperfisiyal hücrelerin oluşturduğu ifade edilmektedir (MacNeill, 2017; Kustritz, 2020). Vajinal epitel hücreler östrüs boyunca tamamen kornifiye olabilmektedir. Ortalama olarak kornifikasyon östrojenin pik yapmasını takiben 2 gün önce ve östrüs başlangıcına 4 gün kala tamamlanabilmektedir (Kustritz, 2020). Bu dönemdeki hücre oranları farklı yazarlar tarafından, % 100 oranında süperfisiyal hücre, buna ek olarak % 80'den fazla oranda ise çekirdekleri piknotik ya da hiç olmayan hücrelerin olduğundan söz edilmektedir. Farklı bir östrüs dönemi tanımında ise % 90 oranında keratinize süperfisiyal hücrelerin görülebileceği ifade edilmektedir (Kumar vd., 2023). Bu dönem boyunca sitolojik bakıda nötrofillerin görülmeyeceği bildirilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Basu vd., 2011; MacNeill, 2017). Eritrositlerin ise varlığı değişkenlik gösterebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Basu vd., 2011; Kustritz, 2020). Mikroskop sahası erken proöstrüs dönemi boyunca gözlenebilen kirli görüntüsünün aksine temiz şekilde görüntülenebilmektedir. Östrüs döneminin başlaması ve LH'nın yükseldiği gün ile birlikte vajinal epitel hücrelerin % 100'nün anükleer süperfisiyal

hücreler olduğu vurgulanmaktadır. Anükleer süperfisiyal hücreler östrüs dönemi boyunca var olup, vajinal hücrelerin % 100'nü oluşturmaya devam etmektedirler. Östrüsün başlamasına 3-4 günün kaldığı dönemden diöstrüs başlangıcına kadar olan dönemde süperfisiyal hücrelerin (çekirdekli ya da çekirdeksiz) yüzdesindeki değişiklikten başka farklı bir değişikliğin gözlenmediği aktarılmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Süperfisiyal hücrelerin oranının ilk kez % 80 - % 90'larda olduğu dönem LH dalgalanmasından 6 gün öncesi ile 4 gün sonrasında ki dönem aralığına denk gelebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Gallego ve Masserdott, 2016). Proöstrüsün son günleri ve östrüs dönemi boyunca süperfisiyal hücrelerin yüzdesi tipik olarak % 60'ın altına düşmediği gibi bu oran %90-%100 arasında kalabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

1.3.3. Diöstrüs Döneminde Vajinal Sitoloji

Diöstrüs döneminde olan bir köpeğin vajinal sitolojisi ile östrüs dönemindeki bir köpeğin vajinal sitolojisinin birbirinden oldukça farklı olduğu bildirilmektedir. (Feldman ve Nelson, 2004). Diöstrüs döneminin başlangıcı, süperfisiyal hücrelerin en az %20 azalması ve buna ek olarak daha fazla nötrofil granülosit görülmesiyle ilişkilendirilebilmektedir (Kustritz, 2020; Kumar vd., 2023). Östrüsün son 24-48. saat zaman aralığında gerçekleşen bu %20'lik azalmayla birlikte süperfisiyal hücreler yerini intermediyer ve/veya parabazal hücrelere bırakabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Bu bağlamda vajinal epitel hücrelerde gözlenen süperfisiyal hücreden intermediyer ve parabazal hücrelere geçişlerdeki çarpıcı değişimler de diöstrüs döneminin başlangıcına işaret edebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004; Basu, 2011). Diöstrüsün başlangıcında süperfisiyal hücrelerin azalma hızı, östrüste meydana gelen süperfisiyal hücrelerin artış hızından daha hızlı olabilmektedir (Gallego ve Masserdotti, 2016). Sonuçta, diöstrüs dönemine geçişte oluşan değişikliklerin ani ve belirgin şekilde ortaya çıktığı aktarılmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004; Basu, vd., 2011). Bazen, diöstrüs döneminin başlangıcından hemen önce vajinal epitel hücrelerin mikroskopta küme şeklinde yığıldığı görülebilir ki; bu durum aynı anda birçok hücrenin eksfoliasyonuna işaret edebilmektedir. Diöstrüs döneminde mikroskop sahası kirli şekilde görülebilmektedir (Feldman ve

Nelson, 2004). Diöstrüsün erken döneminde parabazal ve küçük intermediyer hücreler mevcut olup çok sayıda nötrofilin varlığından söz edilmektedir (MacNeill, 2017). Nötrofillerin varlığının veya yokluğunun güvenilir bir kriter olmadığı da aktarılmaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Diöstrüsün geç dönemlerindeyse, parabazal hücrelerin sayısı azalırken küçük ve büyük intermediyer hücrelerin görülme sıklığı artabilmektedir. Nötrofillerin sayısı da azalmaya başlayabilmektedir. Nadiren lenfositler ve eozinofiller de görülebilmektedir. (MacNeill, 2017). Diöstrüs dönemiyle ilişkilendirilen genellikle sitoplazmalarında bir veya daha fazla nötrofil içeren büyük intermediyer hücreler, metöstrüs hücresi olarak adlandırılabilir ki, bu hücreler erken proöstrüs ile diöstrüs döneminin başlangıcının ayırt edilmesinde kullanılabilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Aynı zamanda birbirine benzeyen bu iki dönemin ayrımında çoğu zaman tek bir smear örneğinin yeterli olamayacağı bildirilmektedir (Gallego ve Masserdott, 2016). Yine bu dönemde sitoplazmik vakuollere sahip parabazal ve intermediyer hücreler köpük hücresi adı altında görülebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

Metöstrüs ve köpük hücrelerinin yalnızca diöstrüs döneminde görüldüğü varsayılabilmektedir. Ancak fazla sayıda nötrofilin bulunduğu durumlarda siklusun diğer evrelerinde de bu hücreler tespit edilebilmektedir. Şüpheli durumlarda her iki veya üç günde bir alınan smear örnekleri, siklusun doğru dönemini belirleyebilmektedir. Diöstrüsün ilk birkaç gününden sonra köpeklerden alınan smear örnekleri anöstrüs dönemi ile benzerlik gösterebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004).

1.3.4. Anöstrüs Döneminde Vajinal Sitoloji

Anöstrüs döneminde gözlenen vajinal sitoloji değişken olmayıp parabazal ve intermediyer hücreler görülebilmektedir. Nötrofillerin varlığı değişken olup, eritrositler bulunmamaktadır (Feldman ve Nelson, 2004). Hücre yoğunluklarına bakıldığında ağırlıklı olarak parabazal hücreler, daha ortalama sayıda küçük intermediyer hücreler görülebilirken, nötrofiller ise az sayıda görülebilmektedir (MacNeill, 2017). Vajinanın bu dönemde ince ve kılcıl damarlardan zengin mukoza yapısı sebebiyle travmatize olma ihtimalinin yüksek olduğu bildirilmektedir. Genelde smear örnekleri alınırken

kanamaların olmaması kaçınılmaz olup mikroskop sahası incelenirken bu durumun göz önünde bulundurulması gerektiği aktarılmaktadır (Concannon, 2011). Bakterileri varlığı değişken olup bulunma durumları normal floraya işaret edebilmektedir. Mikroskop sahası temiz olup granüler şekilde de görülebilmektedir (Feldman ve Nelson, 2004). Anöstrüsten proöstrüse ve proöstrüsten östrüse geçişlerde alınan smear örneklerinde değişimler nispeten yavaş şekilde olabilmektedir. (Feldman ve Nelson, 2004; Basu, vd., 2011).

1.4. B-Mod Ultrasonografi

Tanısal ultrasonografinin 1978 yılında uygulamaya girmesiyle birlikte, küçük hayvan teriyogenolojisinin önemli bir parçası haline geldiği aktarılmaktadır (Davidson ve Baker, 2009). Ultrasonografinin reproduksiyon alanında kullanılmasıyla birlikte köpeklerde infertilite problemlerinde önemli ilerlemelerin kaydedildiği bildirilmektedir. Geçmiş yıllarda köpeklerde ultrasonografinin reproduksiyon anlamında kullanımı yalnızca gebelik teşhisi ile sınırlı kalabilmiştir. Yıllar içindeki gelişmelerle birlikte gebeliğin teşhisinden takibine, doğum zamanlarının tahmin edilmesi, istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması ve beraberinde sürecin takibi, endometritis, plasental alanların subinvolyusyonu (Mali vd., 2022), piyometra, stump granülom, stump piyometra (Alkan vd., 2020; Mali vd., 2022) ve ovaryum kalıntı sendromu (Alkan vd., 2019) gibi konularda ultrasonografi kullanım alanı bulabilmiştir. Bu bağlamda, ultrasonografi yalnızca bir tanı aracı olmayıp, reproduksiyon alanında oluşan farklı rahatsızlıklarda uygulanan tedavilerin etkinliklerinin gözlenmesinde de kullanılabilmektedir (Mali vd., 2022).

1.4.1. Ultrasonografinin Çalışma Prensibi

Tanısal ultrasonografi, görüntülenmesi istenen dokuya ses dalgalarının gönderilmesi ve geri dönen dalgaların bilgisayar ortamında analizlerinin yapılması sonucunda doku ya da organın yüksek çözünürlüklü görüntülerinin elde edilmesine dayanmaktadır. Ses, mekanik enerjinin madde içinde bir basınç dalgası olarak yayılmasından kaynaklanabilmektedir. İletken ortamda hava molekülleri arasında basınç değişimleri oluşabilmekte olup bunlar sıkışma ve seyrekleşme bantları olarak ifade edilebilmektedir.

Bu bantlar arasındaki mesafe sesin dalga boyunu göstermektedir. Bir başka deyişle, gönderilen dalgaların iletilip geri yansımaları arasındaki mesafe olarak vurgulanmaktadır (Mattoon ve Berry, 2021). Frekans, bir dalga boyunun saniyedeki tekrar sayısı olup hertz (Hz) cinsinden belirtilmektedir. Saniyede bir atım 1 Hz, 1000 atım 1 kHz ve 1 milyon atım 1 MHz şeklinde bildirilmektedir (Yılmaz, 2005; Mattoon ve Berry, 2021). İnsanların sesleri işitme aralıkları 20-20.000 Hz arasındayken, ultrasonografi bu aralıktan 1000 kat daha fazla frekansa sahip ses dalgaları üretebilmektedir. Tanı amaçlı yapılan ultrasonografi muayenelerinde kullanılan ses frekanslarının 2-15 MHz ve bundan daha fazlası olabileceği ifade edilmektedir. Çok daha yüksek frekanslar (20-100 MHz) oftalmoloji, dermatoloji ve mikro görüntüleme alanlarında kullanılabilir (Mattoon ve Berry, 2021). Frekanslar saniyede milyonlarca atıma sahip olup kısa dalga boyları oluşturabilirler ki, bu durumun yüksek çözünürlüklü görüntünün elde edilmesinde önemli olduğu vurgulanmaktadır. Dalga boyu ne kadar kısa olursa (ya da frekans ne kadar yüksek olursa) çözünürlük de o kadar iyi olabilmektedir. Buradan hareketle bir ortamda ses hızının sabit kaldığı durumlarda frekans ve dalga boyunun ters orantılı olduğu görülmektedir. Sesin yayılma hızı yumuşak dokuda neredeyse sabit (1540 m/sn) olup, daha yüksek frekanslı bir prob seçmenin çözünürlüğü artıracağı aktarılmaktadır. Bu durum bir denklem ile özetlenebilmekte olup;

$Hız(v) = \text{frekans (atım/saniye)} \times \text{dalga boyu (m)}$ şeklinde ifade edilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021).

1.4.2. Köpeklerde Ovaryumların Ultrasonografi ile Görüntülenmesi

Sağlıklı bir köpekte ovaryumlar 3-4. lomber vertebranın önünde yer alabilmektedir (Yılmaz, 2005; Gündüz ve Yüksel, 2013; Russo vd., 2021). Ovaryumların anatomik olarak yerlerinin tanımlanabilmesinde böbrekler referans organ olarak kullanılabilir. Bu bağlamda ovaryumlar, böbreklerin kaudal kutbunun ventralinde, genellikle lateral olarak bulunabilen oval yapılar olarak tanımlanabilmektedir (Pollard ve Hecht, 2015; Aires vd., 2021a). Östrüs siklusunun evresine bağlı olarak boyutları değişebilmekte olup, köpeklerde genellikle 1-2 cm uzunluğunda olabilmektedir (Yılmaz, 2005; Pollard ve Hecht, 2015). Ovaryumla aynı tarafta olan böbrek görüntülendikten

sonra prob kaudal yönde hareket ettirilip sagittal ve transversal ekseninde taramalar yapılarak ovaryum bulunabilmektedir (Yılmaz, 2005; Aires vd., 2021a; Russo vd., 2021). Köpeklerde ovaryumların görüntülenmesi için, 7.5 MHz'lik prob önerilmektedir. Ancak daha büyük köpeklerde 5.0 MHz'lik problar da kullanılabilmektedir (Mali vd., 2022).

Ovaryumların korteksi böbreklerin korteksinden daha hiperekoik olarak görüntülenmektedir. Bazı hastalarda kilo, ırk ve deri yapısı gibi faktörler ovaryumların görüntülenmesini etkileyebilmektedir. Daha yağlı köpeklerde, iri ırklarda ve kalın derili ırklarda (Sharpei, Chow-chow, New Foundland) görüntülemeler zorlaşabilmektedir (Gündüz ve Yüksel, 2013). Aynı şekilde hastanın siklus döneminin de ovaryumların görüntülenmesini etkileyen bir diğer faktör olduğu bildirilmektedir. Proöstrüs ve östrüs dönemlerinde çoklu anekoik yapılar gözlemlenebilmektedir. Ovulasyon sonrası, geç östrüs ve diöstrüsün ilk evresinde daha kalın duvarlı korpus luteum görüntülenmektedir. Yuvarlak ve hipoekoik korpus luteum diöstrüsün orta döneminde kolayca tespit edilebilmektedir (Russo vd., 2021).

1.5. Kan Akım Modelleri

Kan akım modellerinin Doppler ultrasonografi muayenelerinde yorumlamalar açısından oldukça önemli olduğu belirtilmektedir (Ginther, 2007). Büyük arterlerde kanın akış hızının damar boyunca aynı olması 'plug flow' akış modeli olarak adlandırılabilir (Ginther, 2007). Plug akışta kanın akış hızı damarın merkezi ve çeperinde neredeyse aynı olabilirken, kan hücrelerinin büyük çoğunluğu sabit hızda hareket edebilmektedir (Szatmari, 2001). Ovaryum arteri gibi daha küçük olan arterlerde kan akımı bir süre devam ettikten sonra, laminar hale gelebilmektedir. Laminar akımda maksimum hız damar lümeninin merkezinde veya ekseninde olabilmektedir (Ginther, 2007). Damar çeperine doğru hız kademeli olarak azalabilmekte veya sıfırlanabilmektedir. Laminar akımda akış, küçük silindirik katmanlarda (laminalar) birbirine karışmadan düzenli şekilde birbiri üzerinden kayarak gerçekleşebilmektedir. Kan ve damar çeperinin arasındaki adezyon kuvveti, dış silindirin sıfıra yakın hızda akmasına sebep

olabilmektedir. En içteki silindirik katmanın maksimum hıza ulaşabilmesi için sırasıyla her bir silindirik katmanda hız azalarak ilerleyebilmektedir. Damar boyunca ortalama hız maksimum hızın yarısı olacak şekildedir. Plug flow akışta paralel bir örnek, ilerleyen akım damarda dallanma noktalarına geldiğinde doğal akış şekli bozulabilmektedir. Bu doğal akış şekli, bozulmuş akım modeli türbülans akım olarak adlandırılmaktadır. Türbülans akımın kanın bileşenlerinin farklı yönlerde ancak ileri doğrultuda hareket ettiği kaotik görünümlü akım modeli olarak bilinmektedir (Ginther, 2007). Ortalama akış hızının bulunduğu arterlerde körelmiş bir parabolik akış görülebilmektedir (Szatmari, 2001). Küçük arterlerin ise parabolik akışa sahip olduğu ifade edilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021).

Renkli Doppler ultrasonografide laminar akışa sahip damarda, damar çeperi kırmızı (yavaş akım), çeper ve merkez arasında kalan ara hat turuncu (orta-hızlı akım) ve en son maksimum hızın ölçüldüğü damar merkezi sarı renkte görüntülenmektedir (Ginther, 2007).

1.6. Doppler Ultrasonografi

1.6.1. Doppler Ultrasonografinin Tarihçesi

Doppler ultrasonografi, kısmen noninvaziv bir görüntüleme yöntemi olup muayenelerde kanın akış hızı ve özellikleri hakkında bilgi verebilmektedir (Bulut, 2021). Ses dalgalarının Doppler etkisi özelliğinden yararlanılarak bu bilgilere ulaşılabilir. Dalganın kaynağı ile gözlemci arasında göreceli bir hareket bulunabildiğinde iletilen dalgaların sıklığında, gözlemlenen değişiklikler Doppler etkisi olarak tanımlanmaktadır (Maulik, 2005). Muayene edilen yapıların fiziksel fonksiyonları (kan akımı ve kasların hareketi) ve bu yapılarda meydana gelen değişimler hakkında bilgi Doppler etkisi ile alınabilmektedir. Doppler etkisinin kullanılmasıyla birlikte yapılan değerlendirmelerin ultrasonografiyi daha güçlü hale getirdiği aktarılmaktadır. Christian Andreas Doppler'in 1842 yılında Doppler etkisini bulduğu bildirilmektedir. Christian Andreas Doppler yıldızların hareketlerini inceleyerek Doppler etkinin temellerini atabilmiştir (Dinç, 2008;

de Carvalho vd., 2021a). Yıldızın ve yeryüzünün göreceli hareketleri sonucu yıldızlarda renk değişimleri olduğu ve yayılan beyaz ışığın belirgin spektral kaymalara neden olduğu Doppler tarafından belirtilmektedir (Maulik, 2005). Yapılan araştırmalar neticesinde, dünyaya doğru hareket eden yıldızlar kısa bir dalga boyunun (yüksek frekansın) ifadesi olan mavi ışık saçabilirken, birbirinden uzaklaştıkça ise kırmızı ışık yayabilmektedirler (Dinç, 2008; Bulut, 2021). Doppler hem bu renk değişimlerini gözlemlemiş hem de bunları hız ve frekansla ilişkilendirebilmiştir (de Carvalho vd., 2021a). Hollandalı fizikçi Christophorus Ballot'un 1845 yılında ses dalgalarını kullanarak yaptığı çalışma ile teoriyi akustik alanda kanıtladığı vurgulanmaktadır. Çalışmalar sonucunda ses kaynağı kendine yaklaştıkça frekansın yükseldiği, yani tiz bir ses duyulduğu, uzaklaşırken ise frekansın düştüğü yani kalın bir ses duyulduğu bildirilmektedir (Dinç, 2008; de Carvalho vd., 2021a). Elektromanyetik dalgalar ile 1848 yılında Hippolyte Fizeau tarafından aynı gözlemin yapıldığı belirtilmektedir (de Carvalho vd., 2021a).

1.6.2. Doppler Ultrasonografinin Çalışma Prensipleri

Tanısal ultrasonografi, piezoelektrik özelliklere sahip olan bir elektrik yüküyle etkinleştirilen kristallerden kaynaklanmaktadır. Genişleyip büzülebilen kristaller sayesinde ses dalgaları yayılmaktadır. İncelenen dokunun akustik direncine bağlı olarak yayılan ultrason dalgaları, ya incelenen dokuya nüfuz edecek ya da doku tarafından yansıtılacaktır. Durağan yüzeye çarpan ultrasonografi dalgalarından yansıyan dalganın frekansı ile yayılan dalgaların frekansının aynı olduğu bildirilmektedir. Doppler etkideyse, durumun farklı olduğu; yansıyan ve yayılan dalgaların frekanslarının birbiri ile aynı olmadığı vurgulanmaktadır. Buradan sonuçla incelenen dokuya gönderilen sinyalin frekansı ile yansıyan sinyalin frekansı arasında fark olabilmektedir (Herzog ve Bolwein, 2007; Dinç, 2008; Oglat vd., 2018).

Kan damarlarının Doppler ultrasonografisinde, sabit nesne prob olup, geri dönen ekoları üreten hareketli yansıtıcıların kırmızı kan hücreleri olduğu aktarılmaktadır (Ginther ve Utt, 2004). Bu bağlamda, Doppler etkisinde ses dalgasının frekansı değişmezken, dalganın kaynağı ya da gözlemlenen bölgenin hareketine bağlı olarak frekansta bazı

değişimler görülebilmektedir. Sonuçta frekansta oluşan farkın sebebinin hareket olduğu belirtilmektedir. Hareket, ya kaynaktan ya da incelenen bölgede veya her ikisinde de meydana gelebilmektedir. Harekete bağlı oluşan bu değişim, Doppler kayması (Doppler shift) olarak adlandırılmaktadır. Ultrasonografi dalgaları hareketli eritrositlere çarparak bir Doppler kayması oluşturabilirler ki, eritrositler proba doğru hareket ediyorsa yansıyan dalgaların frekansı yayılan dalgaların frekansından daha yüksek olup bu durum pozitif Doppler etki olarak adlandırılmaktadır. Fakat eritrositler probdan uzaklaşıyorsa, yansıyan dalgaların frekansı, yayılan dalgaların frekansından daha düşük olup bu durum ise negatif Doppler etki olarak tanımlanmaktadır. Pozitif Doppler etkide frekans artıp dalga boyu kısalırken, negatif Doppler etkide frekans azalıp dalga boyu uzamaktadır. Doppler kayması, kaynaktan çıkan ses dalgasının frekansına, gözlemlenen bölgenin hızına ve sesin dokulardaki yayılma hızına bağlı olabilmektedir. Bu bağlamda Doppler kaymasının hesaplanabilmesi için bir denklem kurulabilmektedir. Şöyle ki;

$\Delta f = (2f_0 \cdot v \cdot \cos\theta / c)$ şeklinde bildirilmektedir. Δf (Doppler kayması), f_0 (ultrason probunun frekansı), v (kanın akış hızı), $\cos\theta$ (Doppler açısı), c (sesin yumuşak dokulardaki hızı: 1540 m/s) şeklinde ifade edilebilirken, Doppler kaymasının bu faktörlere bağlı olduğu görülmektedir (Oglat vd., 2018).

Doppler kayması aynı zamanda ultrason dalgalarının yönüne de bağlı olabilmektedir. Doppler kaymasındaki maksimum değer, ultrasonografi dalgalarının kan akışına paralel yönde gönderildiği zaman oluştuğu vurgulanmaktadır (Lamb ve Boswood, 2005). Ancak çoğu damarın ultrasonografi dalgalarına paralel olmayacağı aktarılmaktadır (Cole ve Hespel, 2020). Ultrasonografi dalgaları kan akışına açılı şekilde gönderildiğinde Doppler kayması azalabilirken, dik şekilde gönderildiğinde Doppler kayması şekillenmemektedir. Prob dik şekilde konumlandırıldığında, ne proba yaklaşan ne de probdan uzaklaşan bir kan akımının olmadığı belirtilmektedir (Lamb ve Boswood, 2005).

Doppler kayma frekansı kanın akış hızı ile doğru orantılı olabilirken, Doppler açısının kosinüsüyle ters orantılı olabilmektedir. Kanın akış hızı ne kadar büyük olursa, Doppler

kayması o derece büyük olabilmektedir (Cole ve Hespel, 2020). Bu bağlamda kanın akış hızı formüle edilebilmektedir;

$V_{bf} = (F_{reqrw} - F_{reqew}) / \cos \text{ANGD}$ şeklinde tanımlanabilmektedir. V_{bf} (kanın akış hızı), F_{reqrw} (yayılan dalgaların frekansı), F_{reqew} (geri dönen dalgaların frekansı) ve ANGD (Doppler açısı) şeklinde ifade edilmektedir (Petridis, 2017).

Kanın akış yönü ile ultrasonografi dalgaları arasında oluşan açı, Doppler açısı olarak vurgulanmaktadır (Cole ve Hespel, 2020). Sonuçta Doppler sinyalleri bu açıdan etkilenebilmektedir. Bu açının 60° 'nin üstünde olması hatalı ölçümlere sebep olabilirken, kan akış hızı olması gereken daha fazla ölçülebilmektedir. Bu yüzden yapılan muayenelerin sonuçlarının daha güvenilir olabilmesi için 60° 'den daha küçük açıların kullanılması gerekebilmektedir (Petridis vd., 2017; Carvalho vd., 2021). Güvenilir muayeneler için ideal açı aralığı $30^\circ - 60^\circ$ arasında bildirilmektedir (Cole ve Hespel, 2020).

Tek frekanslı transdüsörler (problar) için ultrasonografi dalgalarının frekansı sabit olabilirken, frekans seçeneklerinin olduğu transdüsörlerde bu durum operatör tarafından kontrol edilebilmektedir. Tarayıcının hassasiyetini değiştirebilmek için probdan yayılan dalgaların gücü ya da enerjisi bazı modellerde operatör tarafından kontrol edilebilmektedir. Farklı ultrasonografilerde bu kontrol parametresi akustik güç veya çıkış gücü olarak adlandırılabilir. Daha zayıf sinyallerin değerlendirilmesi gücün artırılmasıyla mümkün olabilmektedir. Transdüser, dokudan yansıyan yeni bir dalga gelmeden önce geri dönen yankının değerlendirilmesine zaman tanımak koşuluyla, darbeler halinde dalgalar yaymaya devam edebilmektedir. Bu dalgalar arasındaki aralık, PRF (darbe tekrarlama frekansı) olarak tanımlanabilirken, aynı zamanda birim zamanda yayılan ultrasonografi dalgalarının sayısı olarak da adlandırılabilir. (Ginther ve Utt, 2004). PRF, bazı ultrasonografilerde ölçek ya da hız ölçeği şeklinde farklı isimlerle belirtilebilmektedir. PRF'nin artırılması ya da azaltılmasıyla, hız ölçeği artırılabilir ya da azaltılabilir. (Mattoon ve Berry, 2021). PRF'nin ayarlanması hedef bölgede

bulunan damarların proba yakınlığına ve kan akışının miktarına bağlı olup, proba yakın damarlarda ya da yüksek akışlarda, yüksek PRF ayarı kullanılması gerekirken, damarlar daha uzakta ya da düşük akışta ise, düşük PRF ayarı kullanılması gerektiği ifade edilmektedir (Ginther ve Utt, 2004). Yüksek PRF ayarı (6-8 kHz) aorta, renal arter ve karotis arter gibi yüksek akışlı damarlarda kullanılabilirken, organ paransiminin damar yapısını görüntülemek ve küçük damarları tespit edebilmek için düşük PRF ayarı (250-2000 Hz) kullanılabilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021). PRF frekansının, hastaya daha az akustik enerji vermek ve geri dönen dalgaların karışmasını engelleyebilmek için mümkün olan en küçük değerde ayarlanması gerektiği belirtilmektedir (Ginther ve Utt, 2004). Ancak unutulmamalıdır ki, düşük PRF ayarı hareket artefaktına karşı hassasiyet oluşturabilmektedir. Probdan bir sonraki ses dalgası gönderilmeden önce geri dönen ekoların proba ulaşmasına izin verecek şekilde arada zamanın olması gerektiği vurgulanmaktadır. Geriye dönen ekoların karışmaması için Doppler sinyalinin örnekleme frekansından en az iki kat büyük olması gerektiği bildirilmektedir. Aksi durumda aliasing artefaktı oluşabilmektedir. Bu bağlamda, Doppler kullanımında sinyali örnekleyebilen ve PRF'nin yarısına eşit olan en yüksek frekansın 'Nyquist frekans' olarak adlandırıldığı bildirilmektedir (Szatmari vd., 2001; Herzog ve Bollwein, 2007; Dinç, 2008).

1.6.3. Doppler Ultrasonografinin Çeşitlendirilmesi

Doppler ultrasonografi temelde farklı yöntemlere sahip iki modu içerebilirken, bunlarla hedeflenen bölgenin muayeneleri yapılabilir. Bunlar spektral mod ve renk akış modu (color-flow mode) olarak adlandırılmaktadır (Ginther ve Utt, 2004). Spektral moda ait iki farklı dalga görebiliriz ki, bunlar pulsed wave/PW (atımlı dalga) ve continuous wave/CW (sürekli dalga) olarak belirtilmektedir. Temel mod ve dalga formlarının, B mod ultrasonografi ile kombinasyonları sonucunda Doppler ultrasonografi türleri çeşitlendirilebilmektedir. Atımlı dalga Doppler yönteminin M ya da B mod ultrasonografi ile kombine edilmesiyle Dublex Doppler oluşabilmektedir (Dinç, 2008). B mod, renkli Doppler ultrasonografi ve spektral Doppler görüntülemenin eş zamanlı birleşimleri ile Triplex Doppler ultrasonografi ortaya çıkabilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021). Power

Doppler ultrasonografi de başka bir Doppler ultrasonografi türü olup, renkli Doppler ultrasonografinin gelişmiş bir türü olarak aktarılmaktadır (Ginther ve Utt, 2004).

1.6.3.1. Spektral Mod Doppler Ultrasonografi

Damar lümeninin, B mod ya da renkli mod ile görüntülenmesinin ardından bir imlecin (kursor) yerleştirilmesi ile damarın kan akış özellikleri incelenebilmektedir. İmlecin boyutu operatör tarafından ayarlanabilirken, boyutları 1-10 mm arasında değişen kontroller bulunabilmektedir. İmlecin boyutu, damarın karşılıklı çeperlerinin tamamını içine alacak şekilde olabilmektedir. Fakat imlecin duvar çeperini ve diğer dokuları içine almasının istenilen bir durum olmadığı bildirilmektedir. İmleç, çeperi ve diğer dokuları içine aldığı anda, Doppler kaydırma frekansına istenmeyen hareketler dahil olup hatalı ölçümler yapılabilmektedir. Kan akım modellerinden biri olan Laminar akışta, damarın merkez hızı çeper hızından daha yüksek olabilmektedir. Bu sebeple imlecin damarın merkezi odaklı yerleştirilmesi ile daha net sinyaller elde edilebilmektedir (Ginther ve Utt, 2004). İmlecin bir damara konumlandırılmasının ardından, hız zaman grafiği üzerinde bir kardiyak döngüde üretilen ve değişen hızlarda arteriyel nabızları gösteren grafik spektrumu görüntülenebilmektedir (Ginther, 2007). Spektral Doppler değerlendirmede pik sistolik volüm (PSV) ve son diyastolik volüm (EDV) hızları sırasıyla bir kardiyak döngünün maksimum kan akış hızını ve bir kardiyak döngünün tamamlandığı noktadaki bitiş kan akış hızını oluşturabilmektedir. Bu kan akış hızlarının ortalaması ise TAMV (ortalama maksimum hız) olarak isimlendirilmektedir (Ferreira vd., 2011) Seçilen bir kardiyak döngüde PSV, EDV ve TAMV hesaplanabilmektedir (Ginther, 2007)..

Doppler indeksleri (PI ve RI) ise çeşitli hızlardan hesaplanabilen parametreler olarak belirtilmektedir. Doppler indeksleri, incelenen dokunun hemodinamiği hakkında bilgi verebilmektedir. Doppler indeks değerleri artışı, incelenen dokularda bir direnç artışına ve sonuçta perfüzyonlarından bir azalmaya işaret edebilmektedir (Ginther, 2007). Pik sistolik volüm, son diyastolik volüm, ortalama maksimum hız ve Doppler indeksleri nicel bilgiler olup, spektral Doppler ile elde edilebilmektedir. Nicel bilgilerin yanında kan

akımının varlığı, yönü ve özelliği gibi nitel bilgiler de spektral Doppler ultrasonografi ile bulunabilmektedir (Bulut, 2021). Kan akımının değerlendirilmesinde kullanılan Doppler indeksleri şu şekilde hesaplanabilmektedir;

Rezistif indeks (RI) = $\frac{PSV-EDV}{PSV}$; Pulsatilité indeksi (PI) = $\frac{PSV-EDV}{TAMV}$ şeklinde formülize edilip değerler bulunabilmektedir. Stenoz, tromboz gibi olguların tespiti, doku perfüzyonlarının daha iyi anlaşılabilmesi, gebelik takibi ve piyometra teşhisinde Doppler indekslerinden faydalanılabilmektedir (de Carvalho vd., 2021b).

Atımlı dalga Doppler ultrasonografide ses, puls-eko prensibine dayalı olarak hedeflenen bölgeye gönderilebilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021). Atımlı dalga Doppler ultrasonografinin probu bir piezoelektrik kristali içermektedir. Kristal, iki boyutlu görüntülemeye olduğu gibi ses dalgasını atımlar şeklinde göndermektedir. Bulunan tek kristal, hem hedef dokuya ses dalgaları gönderirken hem de kalan zamanda dokudan yansıyan sinyali almaktadır. Dokudan aldığı sinyali iletilen referansla karşılaştırılabilmektedir. Ultrasonografinin gönderdiği dalga ile dokudan alınan sinyalin cihaz tarafından tespit edilmesindeki gecikme, dokunun derinliği ile ilişkili olduğu için dokunun pozisyonu belirlenebilmektedir. Sahip olduğu derinlik algısı, PWD ultrasonografisi en yaygın kullanılan Doppler türü haline getirmektedir. Atımlı dalga Doppler ultrasonografi imleç hattı üzerinde bir girişin bulunması ile akımı ayırt edip lokalizasyonunu ve üniformitesini değerlendirebilmektedir. Aynı zamanda derinlik seçilebildiği için belirli damarlardaki kan akımı seçici olarak değerlendirilebilmektedir (Szatmari vd., 2001; Herzog ve Bollwein, 2007; Dinç, 2008; Mattoon ve Berry, 2021). Ancak çok yüksek kan akışının doğru şekilde değerlendirilememesinden kaynaklı kullanım alanı sınırlanabilirken, maksimum hızı da sınırlı değerlendirebilmektedir. (Mattoon ve Berry, 2021). Atımlı dalga Doppler arteriyel, venöz ve türbülans akış modellerini ayırt etmek için kullanılabilmektedir (de Carvalho vd., 2021).

CWD probu ise iki ayrı piezoelektrik kristali içerebilmektedir. Kristallerden biri sürekli olarak dalgalar yayarken, diğeri dokudan yansıyan dalgaları alabilmektedir. Sürekli dalga

Dopplerin avantajı çok yüksek kan akış hızlarını ölçebilmesi olarak vurgulanmaktadır. Çünkü değerlendirmeler, ekoların geri dönmesini beklemeden sürekli olarak gerçekleştirilebilmektedir. Ancak derinlik seçiminin bulunmayışı ile birlikte yansıtıcı dokunun pozisyonu hakkında bilgi sağlayamadığı aktarılmaktadır. İmlecin uzunluğu boyunca karşılaşılan bütün akımların birleşimini elde edebilmekte olup, seçicilik özelliğinin bulunmadığı belirtilmektedir. Yüksek kan akış hızlarını ölçebilmesi ile ekokardiyografi için CWD'yi gerekli hale getirebilmektedir. Abdominal ultrasonografi için ise gerekli olmadığından söz edilmektedir (Herzog ve Bollwein, 2007; Dinç, 2008; Gorgas, 2016; Mattoon ve Berry, 2021).

1.6.3.2. Renkli Doppler Ultrasonografi (Colour Flow Doppler)

Renkli Doppler ultrasonografi ile frekans spektrumları renkli ve iki boyutlu şekilde ortaya koyulabilmektedir. Yapılan muayenelerde hedef bölgedeki kan akımının varlığı, renkler ile kodlanmış ve üzerine B mod görüntüsü eklenmiş şekilde görüntülenebilmektedir (Bulut, 2021). Renkli Doppler ultrasonografi puls-eko prensibine dayalı şekilde çalışmakta olup hedeflenen bölgeye dalgalar gönderebilmektedir. Spektral Doppler ultrasonografi gibi nicel değerlendirmeler yapamazken, hızlı nitel değerlendirmeler yapabilmektedir. Doppler kayması ile büyüklük, derinlik, genlik ve akımın yönü hakkında bilgiler verebilmektedir. Hareketli eritrositlerin proba doğru ilerlemesi veya probdan uzaklaşması durumlarına göre renkli görüntüler ortaya çıkabilmektedir. Bu esnada renklerde gözlenen doygunluk dereceleri de hücrelerin hızları hakkında göreceli bilgi sunabilmektedir. Geleneksel yöntemlerde proba doğru gelen kan akımı kırmızı, probdan uzaklaşan kan akımı mavi renkte gözlenebilmektedir (Aslan vd., 2008; Dinç, 2008; Viana vd., 2018; Mattoon ve Berry, 2021). Hıza/frekansa bağlı olarak renk tonlarında farklılıklar gözlenebilmekte olup, akım hızının değerlendirilmesi göreceli olabilmektedir. Kan akımı proba doğru olduğunda bir renkte ve probdan uzaklaştığında bir renkte olabilmektedir. Muayenede oluşabilen karmaşık hareketlerde ara renkler gözlenebilmektedir. Ortaya çıkan renkler mozaik tarzında görüntüler oluşturabilmektedir (Dinç, 2008). Proba doğru olan kan akımı sarı, turuncu ve kırmızı renklerde gösterilebilirken, sarı-beyaz renk skalası en yüksek akım hızına işaret edebilmektedir. Probdan uzaklaşan kan akımı ise mavi ve yeşil renklerde gözlenebilirken, yeşil-beyaz

renk skalası en yüksek akım hızını gösterebilmektedir. Renkli Doppler ultrasonografi ile hedeflenen bölgedeki belirli hızın gösterilmesinden daha ziyade daha büyük bir alandaki ortalama kan akış hızı belirlenebilmektedir. Bu bağlamda, Doppler kayması tek bir hattan ziyade, çoklu hatlar boyunca birçok numune hacminden elde edilebilmektedir. Sonuçta geniş bir alanın değerlendirilmesi sayesinde önemli kan akımları da gözden kaçırılmamaktadır (Mattoon ve Berry, 2021).

Renkli Doppler yönteminde renk çubukları değerlendirilmek istenilen alanın ortalama hız değerlerini temsil edebilmektedir. Çubuğun orta bölgesinde kan akışının olmadığı nokta (0 m/sn), ince siyah bir çizgi ile işaretli şekilde bulunmaktadır. Bu siyah çizgi, merkezi bir nokta olup altında ve üstünde farklı renklerin olduğu görülmektedir. Genellikle üst tarafta kırmızı-sarı tonları bulunabilirken, alt kısımda mavi tonlar yer alabilmektedir. Kan akışının düşük olduğu noktalar koyu renk tonları ile gösterilebilirken, yüksek kan akımı açık renk tonları ile gösterilmektedir. Çubuğun her iki ucunda da aliasing artefaktının oluşumuna yol açmayacak maksimum ortalama hızı gösterebilen hız ölçeği bulunmaktadır. Burada gözlenen değer ne kadar küçük olursa, düşük kan akımlarının değerlendirilmesine olan hassasiyet artabilmektedir. Daha yüksek değerlerdeyse aliasing artefaktı olmadan yüksek hızlı kan akımlarının haritaları çıkarılabilmektedir. Renkli Doppler ultrasonografide kullanılan renk çubukları tek bir örnek olmayıp, farklı cihazlarda farklı ton ve çeşitte renk çubukları bulunabilmektedir. Yapılan muayenelerde renk çubuklarının terse çevrilebildiği ve renklerin üst ve alt kısımlarını yer değiştirebildiği görülebilmektedir. Buradan hareketle muayenelerde arteriyel kanın kırmızı, venöz kanın ise maviyi gösterebildiği bilgisinin doğru olmadığı belirtilmektedir. Yani, renkli akış haritaları arteriyel ve venöz kanı gösterememektedir. (Mattoon ve Berry, 2021).

Hız değişimlerinin gösterilebildiği renk çubuklarına ek olarak kan akışında oluşan değişikliklerin miktarlarını da gösterebilen renk çubukları bulunabilmektedir. Laminar kan akımında değişikliklerin ya çok az olduğu ya da hiç bulunmadığı vurgulanırken, türbülans kan akışında akım değişikliklerinin çok yaygın görüldüğü ifade edilmektedir. Bu çubuklarda dikey eksen ortalama hızı gösterebilirken, yatay eksen ise akım

değişikliklerini gösterebilmektedir. Çubuğun sol tarafında en düşük kan akım değişikliği gözlenebilirken, sağ tarafındaysa en yüksek değişiklik görülebilmektedir. Bu çubuklar öncelikli olarak ekokardiyografide kullanılabilir. Geleneksel renkli Doppler ultrasonografilerde operatör tercihin ve uygulamasına bağlı olarak çeşitli hız değişim haritalarının mevcut olduğundan söz edilmektedir. Akım değişiklikleri (türbulans dereceleri) tipik olarak yeşil renkte gözlenebilmektedir. Bu bağlamda ortalama hızın ölçekteki hız sınırını aştığı noktada haritada farklı renkler oluşmadan direkt yeşil renk görülebilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021).

Renkli doppler ultrasonografinin, yalnızca hedeflenen bölgede belirli hacimde alanın ortalama hızını gösterebilmesi ve gözlenebilecek maksimum hızın sınırlı tespit edilmesi gibi dezavantajları bulunabilmektedir. Renkli Doppler ultrasonografinin düşük kan akımlarına olan hassasiyeti oldukça düşük olabilmektedir. Spektral Doppler ultrasonografide olduğu gibi açığa bağımlı olabilmektedir. Aliasing ve ses artefaktları da oluşturabildiği vurgulanmaktadır. Akış anormallikleri ise Renkli Doppler ultrasonografi ile en iyi şekilde tespit edilebilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021).

1.6.3.3. Power Doppler Ultrasonografi

Power Doppler ultrasonografi, renkli Doppler ultrasonografinin gelişmiş bir türü olarak bildirilirken, renkli Doppler ultrasonografide olduğu gibi iki boyutlu görüntü üzerinde renkli görüntüleme sağlayabilmektedir (Carvalho vd., 2021). Power Doppler ultrasonografi ile birim zamanda bir damardan geçen kan hücrelerinin sayısı, başka bir deyişle kan akış yoğunluğu ölçülebilmektedir (Bollwein vd., 2016). Renkli Doppler ultrasonografi elde edilen kan akış bilgilerinden farklı bilgiler de ortaya koyabilmektedir. Eritrositlerin hareket hızlarından ziyade, sinyal amplitüdü üzerinden kan akımının şiddeti ölçülebilirken, akımın yönü belirlenememektedir. Doppler açısına bağlı olmadığı için artefakt (aliasing ve ses) oluşumu minimal seviyede gerçekleşebilmektedir. Plasental ve fetal kan akımının değerlendirilmesinde kullanımının yaygın olduğu ifade edilmektedir. Renkli Doppler ultrasonografiye göre daha fazla veri ortaya koyabildiği için özellikle küçük çaplı derin seyreden vasküler yapıların değerlendirilmesinde daha etkin olduğu

vurgulanmaktadır. Bu bağlamda daha küçük ve yavaş akımların tespiti ile akımın varlığı ya da yokluğu bilgisinin ortaya konulması noktalarında daha fazla hassasiyete sahip olabilmektedir (de Carvalho vd., 2021a; Mattoon ve Berry, 2021). Bu sebeple, ovaryum gibi düşük kan akımına sahip dokuların değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir (Bollwein vd., 2016; Erdoğan, 2018). Renkli Doppler ultrasonografi ses artefaktına renk pikselleri ile görüntüleme alanında yer verebilirken, power Doppler ultrasonografi bu artefakta homojen bir arka plan rengini atayabilmektedir. Power Doppler ultrasonografi yüksek kazanç ve düşük PRF gibi ayarlara izin vererek, yavaş ve derin seyreden akımları saptayabilmektedir. Power Doppler ultrasonografinin ana dezavantajı, hastanın solunum hareketlerine ya da prob hareketlerine karşı daha duyarlı olması şeklinde ifade edilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021).

Power Doppler ultrasonografide bulunan renk çubuğu, Renkli Doppler ultrasonografinin renk çubuğundan farklı olabilmektedir. Power Doppler ultrasonografinin renk çubuğunun yatay olarak yorumlanması gerektiği bildirilmektedir. Farklı renk tonları farklı enerji seviyelerine denk gelebilmektedir. Her renk tonu farklı sayıda hareket eden kan hücrelerini temsil edebilmektedir. Renklerde gözlenen parlaklık hareketli kan hücrelerinin sayısı ile ilişkili olabilmektedir. Sol tarafta gözlenen daha koyu tonlar daha az sayıda kan hücresi ile ilişkilendirilebilirken, sağdaki açık tonlar daha fazla sayıda kan hücresi ile ilişkilendirilebilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021).

1.6.4. Doppler Ultrasonografide Görülen Artefaktlar

1.6.4.1. Aliasing Artefaktı

Atımlı dalga Doppler ve renkli Doppler görüntüleme, örnekleme alanından gelen periyodik olarak zamanlanmış sinyalleri yeniden yapılandırabilmektedir. Hedeflenen bölgeye gönderilen ve bölgeden dönen ultrasonografi dalgalarının karışmasının önlenmesi için zamanlama önemli olup, aksi takdirde aliasing artefaktının oluşabileceği bildirilmektedir. Yüksek kan akışı da aliasing artefaktını tetikleyebilirken, daha derin seyreden damarların incelenmesinde de aliasing oluşma ihtimalinin yüksek

olduğu ifade edilmektedir. Çünkü PRF, bir sonraki ultrasonografi dalgaları iletilmeden önce hedeflenen bölgeye gönderilen dalgaların yansıyor geri dönmesine zaman tanımak üzere azaltılabilmektedir. Bu bağlamda düşük tutulan PRF ayarı da aliasing oluşumuna yol açabilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021). Renkli ve PW Doppler ultrasonografide kullanılabilen maksimum frekans kayması Nyquist sınırı olarak tanımlanabilmektedir. Kan akımının doğru değerlendirilebilmesi için PRF değerinin yansıyan ultrasonografi dalgalarında mevcut olan en yüksek frekans kaymasının iki katı kadar olması gerektiği vurgulanmaktadır. Nyquist sınırı aşıldığında ise aliasing artefaktı oluşabilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021). Spektral Doppler ultrasonografide aliasing artefaktı, oluşan dalga tepeleri kesilmiş şekilde taban çizgisinin altına inerek kendini gösterebilmektedir (Szatmari, 2001). Renkli Doppler ultrasonografide ise aliasing artefaktı, bir renk spektrumunun diğer renkleri içine almasıyla gözlenebilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021). Spektral Doppler ultrasonografide taban çizgisinin daha aşağıya kaydırılması ya da PRF değerinin artırılmasıyla aliasing artefaktı ortadan kaldırılabilir (Szatmari, 2001). Yine renkli Doppler ultrasonografide de PRF'nin artırılması ya da prob frekansının azaltılması ile aliasing artefaktının önüne geçilebilmektedir. Aliasing artefaktı ile herhangi bir vasküler yapıda meydana gelen stenozdan kaynaklı oluşan türbülans akımı karıştırılabilmekte olup, bu durumların ayırt edilmesi önemli olabilmektedir (Mattoon ve Berry, 2021)

1.6.4.2. Doppler Sinyalinin Yokluğu

Hedeflenen bölgedeki kan akışının ve gönderilen ultrasonografi dalgalarının birbirine dik açıyla kesmesi sonucunda Doppler sinyalinin oluşmadığı belirtilmektedir. Böyle durumlarda açı derecesini düşürebilmek için damarın farklı pozisyonda incelenmesi gerektiği aktarılmaktadır. Bu yöntem yapılamıyorsa da böyle bir durumda lineer bir probun tercih edilebileceği bildirilmektedir. Lineer prob daha dar bir açı ile dalgaları gönderebilirken, aynı zamanda iki boyutlu görüntünün değişmeden incelenebilmesine olanak tanıyabilmektedir. Yeterli açı olmasına rağmen Doppler bulguları yoksa, PRF'nin azaltılması ve/veya Doppler kazanç ayarının artırılması gerektiği vurgulanmaktadır (Szatmari, 2001).

1.6.4.3. Mirroring Artefaktı

Spektral Doppler ultrasonografide normal spektrumun yanı sıra, aynı spektrum eş zamanlı olarak taban çizgisinin diğer tarafında daha az yoğunlukta görüntülenmekte ve taban çizgisi bir ayna gibi davranabilmektedir. Bu artefakt, Doppler kazanç ayarının azaltılması ile kaybolabilmektedir. Spektrumun arka planı net siyah şekilde gözlenemezken, gri veya gri noktalı odaklar şeklinde gözlenebilmektedir (Szatmari, 2001).

1.6.5. Doppler Ultrasonografinin Doğum ve Jinekolojide Kullanım Alanları

Doppler ultrasonografinin veteriner jinekolojide kullanım alanları incelenirken hayvanın fizyolojik durumu göz önüne alınmalıdır. Bu bağlamda, Doppler ultrasonografi siklik dönem, gebelik dönemi ve postpartum dönem olmak üzere üç farklı durumda kullanılabilmektedir (Erdoğan, 2018).

Uterus arterinin incelenebilmesi için, uterusun longitudinal ve transversal yüzeylerde muayenelerinin yapılması gerektiği, bunun için renkli Doppler ultrasonografi ya da B mod ultrasonografi ile kombine edilmiş power Doppler ultrasonografinin kullanılabileceği ifade edilmektedir. Uterus arterinin hemodinamik özellikleri siklik olmayan dişi köpeklerde ve östrüsün farklı dönemlerinde incelenmiş olup köpeklerin reproduktif durumuna göre kan akımı değişiklik gösterebilmektedir. Aynı zamanda, uterus arterinin Doppler ile görüntülenmesi yapılırken ırk ve gebelik durumlarının da göz önüne alınması gerektiği vurgulanmaktadır. (Aires vd., 2021b).

Gebeliğin teşhisi ve fetal canlılığın kontrolü için Doppler ultrasonografi eşliğinde korpus luteum ve ovaryum vaskülarizasyonu değerlendirilebilmektedir. PSV ölçümü ve korpus luteumun vasküler rezistans indeks değerleri, gebelik teşhisi ve fötal canlılık kontrolü amacıyla kullanılabilmektedir. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada gebeliğin en erken çiftleşmeden sonraki 12. günde tespit edilebileceği bildirilmektedir. (Feliciano vd., 2013).

Gebelik seyrinin daha iyi değ erlendirilebilmesi için fetusun besin ve oksijen ihtiya ının izlenmesi gerekebilmektedir. Uteroplasental ve f tal vaskülarizasyonun besin ve oksijen kaynaklarının izlenmesinde indikatör olduğu, Doppler ultrasonografinin vaskülarizasyonun takibi için kullanılacak en uygun yöntem olduğu ifade edilmektedir (Umamageswari vd., 2018). Bu doğrultuda f tal kalp hızı ve f to-maternal kalp hızı oranları power Doppler ultrasonografi ile değ erlendirilerek gebelik süreci izlenebilmektedir (Siena ve Milani, 2021). Gebelik sürecinin yaklaşık ilk trimesteri boyunca umbilikal arter, f tal abdominal aorta ve uteroplasental arter muayene edilebilmektedir (Simon vd., 2022). Son iki trimesterinde ise uterin arterin perfüzyonu incelenebilmektedir (Siena ve Milani, 2021). Anormal konseptusların saptanabilmesi için uteroplasental arter ve umbilikal arterin muayenelerinin yapılabilceği belirtilmektedir (de Freitas, 2016).

Puerperal dönemde uterin arterin spektral Doppler ultrasonografi ile muayenesi yapılabilmekte olup, Doppler indeks değ erlerinin hastaların doğum tipine (sezaryen/vajinal doğum) bağlı olarak değişebileceği bildirilmektedir (Barbosa vd., 2013).

1.6.5.1. Ovaryumların  zerindeki Yapıların Muayenesi

Dişi köpeğin ovaryumlarında siklik değişiklikler pubertasa ulaşmasından itibaren görülebilmektedir. Bu süreçte dokularda değişen vask larizasyonlara karşı organizmanın adaptasyon süreci sonucunda değişen metabolik koşullar ortaya çıkabilmektedir. Hormonal değişikliklerin maksimum olduğu dönemde en çok vaskülarizasyon ovaryum dokusunda gözlenebilmektedir. Vask larizasyonda oluşan hızlı artış, beraberinde foliküle preov lat r dönemde ovulasyonun oluşması ile progesteron üretiminin ba laması için gerekli olan oksijen ve kimyasal maddelerin miktarlarını da artırılabilmektedir. Reprod ksiyonda rol alan organlarda mevcut olan fonksiyonel yapıların incelenebilmesi için de ovaryumların hemodinamiğinin izlenmesi gerektiği bildirilmektedir (Bulut, 2021). Ovaryumların descendens aortadan çıkan ve uterusun geniş ligamentinin kranial

sınırından geçerek gonadları besleyen ovaryan arterler tarafından vaskülarizasyonlarının sağlandığı aktarılmaktadır (Aires vd., 2021b).

Doppler ultrasonografinin noninvaziv bir muayene yöntemi olması sonucunda ovaryumun hemodinamiğindeki fizyolojik ve patolojik değişimler, kan akımının doğrudan değerlendirilebilmesi ile gözlenebilmektedir. Doppler ultrasonografide mevcut olan farklı görüntüleme modları ile kan akımının hızı ve yönündeki değişiklikler belirlenebilmektedir. Vasküler akımın belirlenebilmesi için RI, PI ve sistolik/diyastolik (S/D) oran kullanılabilir. Preovulatör foliküllerin duvarlarında veya korpus luteum içinde sınırlı bir alanda kan akımının değerlendirilebileceği belirtilmektedir. Ovaryum dokusunda gözlenen renklenme miktarları folikülün sayısına ve boyutuna bağlı olabilmektedir (Bulut, 2021). Ovaryumların tabanında veya merkezinde kan akımları foliküler gelişimin erken aşamasında görülebilmektedir (Yousry vd., 2022). Proöstrüsün başlangıcında renkli Doppler yöntemi ile muayenelerde renklenme alanları daha zor saptanabilmektedir (Aires vd., 2021b). Proöstrüs döneminde mevcut folikül sayısı ile kan akımının yoğunluğu arasında bir ilişkinin olmadığı belirtilmektedir (Mansour vd., 2020). Foliküler fazın ilerlemesiyle birlikte, renk piksellerinin sayısı, kapsamı ve yoğunluğu kademeli olarak artabilirken, bu durum ovulasyondan altı gün öncesine ait Doppler indekslerinin elde edilmesini mümkün kılabilir (Aires vd., 2021b). Foliküler gelişim aşamasında PSV ve EDV değerleri kademeli olarak artabilmektedir (Jurczak ve Janowski, 2018). Siklusun östrüs aşamasında foliküler yapılarıdaki kanlanmanın folikül duvarının dışında yer aldığı bildirilmektedir. Folikülogenezisin Graaf folikül aşamasında daha yoğun vaskülarizasyon gösterdiği bildirilmektedir (Bulut, 2021).

Fizyolojik luteal dönem boyunca, ovaryumların perfüzyonunda kademeli bir azalma görülebilmektedir. Sonuçta bu durum hem renklenme alanındaki piksel sayısında görülen azalmayı, hem de PSV ve EDV değerlerindeki azalmayı kanıtlayabilmektedir. Tüm bu değerlerin değişimleri sonucunda ise PI ve RI değerleri artabilmektedir (Aires vd., 2021b). Siklusun anöstrüs döneminde ise hemodinamik indekslerle ilgili olarak başka bir döngünün başlangıcına kadar PSV ve EDV değerlerinde azalma; RI değerinde ise artış görülebilmektedir de (Carvalho vd., 2021b).

Östrüs siklusu boyunca kan akımında meydana gelen ritmik değişimlerin, dolaşımdaki geçici östrojen progesteron konsantrasyonlarının oranlarına bağlı olarak meydana gelebileceği bildirilmektedir (Bulut, 2021). Foliküler gelişim evresi boyunca intraovaryan arterin ortalama PSV ve EDV değerleri ile P₄ konsantrasyonları arasında güçlü bir pozitif korelasyon görülebileceği aktarılmaktadır (Aires vd., 2022).

1.6.5.2. Ovulasyonun Takibi

Östrüs siklusu esnasında foliküler gelişimi izlemek ve tekrarlayan muayenelerle ovulasyon zamanını belirlemek için ovaryumların ultrasonografisinin yardımcı bir görüntüleme metodu olduğu belirtilmektedir. Dişi köpeklerde ovulasyonu değerlendirebilmek için ultrasonografinin güvenilirliği, % 91,7 oranında bildirilmekte birlikte Doppler ultrasonografinin ovaryum içindeki döngüsel değişimlere dair tamamlayıcı bir etkisi olduğu ve ovulasyon öncesi LH pikini belirlemede B mod ultrasonografiye göre daha doğru bir görüntüleme yöntemi olduğu aktarılmaktadır. (Yousry vd., 2022).

Foliküler fazın ilerlemesiyle renk piksellerinin yoğunluğundaki artış, genellikle LH zirvesi civarında meydana gelmektedir. Maksimum renklenme çoğunlukla LH dalgasından 2 gün sonra görülmektedir. LH dalgalanmasından önceki kan akımı ovaryumun tabanında veya merkezinde küçük bir alanda tespit edilebilirken, sonraki süreçte ovaryumların duvarında ve korpus luteumu da içerisine alan kısımda kan akımı tespit edilebilmektedir (Yousry vd., 2022). Ovulasyonun olduğu gün vasküler perfüzyon zirveye ulaşabilmekte ve ardından kademeli biçimde azalabilmektedir (Mansour vd., 2020; Yousry vd., 2022). Ovulasyondan önceki 2. günde folikül duvarının çevresinde kan akımında artış izlenebilmektedir. Ovulasyonun olduğu gün, ovaryumun merkezindeki folikülerin duvarında renk piksellerinin arttığı görülebilmektedir. Ovulasyon sonrasında ise önceki günlere göre vasküler perfüzyon artabilmektedir. Korpus luteumun kan akımı 5. günden sonra kademeli olarak azalabilirken, tamamen kaybolana kadar kan akımı merkezde gözlenebilmektedir (Yousry vd., 2022). Korpus luteum tam olarak gelişim gösterdiğinde vaskülarizasyon daha belirgin hale gelebilmektedir. Dolayısıyla,

damardaki kan akımına karşı direnç de azalabilmektedir. Luteal regresyonda renklenmenin daha az olduğu ve direncin artabildiği bildirilmektedir. Bu süreçte ovaryumun kan akımında da dereceli bir azalma görülebileceği ifade edilmektedir (Bulut, 2021).

Ovulasyonun olduğu dönemde ovaryum dokusunda daha fazla perfüzyon oluşabilmektedir. Bu bağlamda, PSV ve EDV değerlerindeki artış sonucunda ise direnç indekslerinde azalmalar izlenebilmektedir. Ovulasyondan bir gün öncesinde PSV ve EDV değerlerinde pik değerler oluşabilmektedir. Bu değerler ovulasyonun olduğu gün ve devamındaki üç gün boyunca yüksek kalabilmektedir (Aires vd., 2021b). Ovulasyondan sonraki 30. günden itibaren ovaryumdaki kan akım hızının düşmeye başladığı, 40. günden itibaren ise Doppler indekslerinin (PI ve RI) arttığı ifade edilmektedir (Bulut, 2021).

Sunulan tez çalışmasında, Doppler ultrasonografinin desteği ile ovaryum dokusunda mevcut vaskülarizasyonların belirlenmesi ve Doppler ultrasonografinin, köpeklerde östrüs siklus dönemlerinin tespit edilmesindeki etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

2. MATERİYAL ve METOT

Çalışmaya Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 05.09.2022 tarih ve 49533702/79 sayılı izni ile başlandı. Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Kocatepe Hayvan Hastanesi Doğum ve Jinekoloji Kliniklerinde gerçekleştirildi.

2.1. Materyal

Çalışmanın materyalini Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Hastanesi Doğum ve Jinekoloji Kliniğine kısırlaştırma isteği ile gelen 2-8 yaş aralığında ve 10-40 kg canlı ağırlığa sahip 74 adet farklı ırklardan köpek oluşturdu.

2.2. Metot

Çalışmada kullanılan köpeklerde, B mod ultrasonografi ile belirlenen ovaryumlarda Doppler ultrasonografi ile vaskülarizasyon alanları görüntülenerek elde edilen veriler skora işlemleri için kayıt altına alındı. Skora sonuçlarının güvenilir olabilmesi açısından hastanın siklus dönemi bilinmeden skora yapılmasına özen gösterildi. Daha sonra köpeklerin östrüs siklusu dönemlerinin tespit edilebilmesi amacıyla vajinal smear örnekleri ile serum-progesteron konsantrasyonlarının ölçülebilmesi amacıyla da kan örnekleri alındı. Muayeneler sonrasında köpekler, gaz anestezisi altında ovariohisterektomi operasyonuna alındı. Postoperatif olarak ovaryumlar bursa ovarika diseke edildikten sonra açığa çıkarılarak incelendi. Bu muayenelerden elde edilen verilere göre her bir köpek, östrüs siklusunun aşamasına göre gruplandırıldı. Östrüs siklusu, erken proöstrüs (n = 21), orta proöstrüs (n = 6), geç proöstrüs (n = 10), östrüs (n = 10), erken diöstrüs (n = 10) ve diöstrüs (n = 8) olacak şekilde sınıflandırıldı. Vajinal sitolojik incelemede anöstrüs döneminde olduğu belirlenen sekiz adet köpek ile tüm muayeneler sonrası postoperatif olarak teratomadan şüphelenilen bir adet köpek çalışmaya dahil edilmedi.

2.2.1 Vajinal Sitoloji

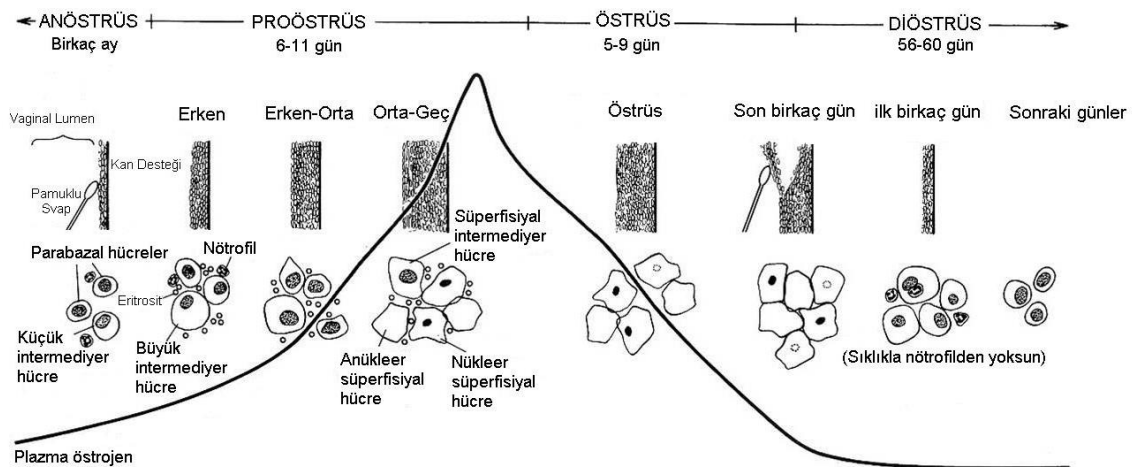
Vajinal sitolojik muayenenin yapılması için vajinadan smear örneklerinin alınması amacıyla hastanın boyutuna uygun klian tip spekulum kullanıldı. Spekulum önce %10'luk povidon iyot solüsyonuyla (Dermosept, ALG İlaç, İstanbul) yıkanıp, ardından %0,9'luk NaCl ile hiç povidone iodine (Neofleks, TURKTIPSAN, Ankara) kalmayacak şekilde temizlendi. Hastanın vulva dudakları elle ayrıldıktan sonra spekulum, 45 derecelik açı ile klitoral fossa ve orifisyum üretra eksternaya temas etmeden vajinaya kadar dorsal şekilde ilerletildi. Vajinaya ulaştıktan sonra vajina tabanına paralel şekilde ilerletilerek spekulum konumlandırıldı. Tek kullanımlık ucu pamuklu svab, %0.9'luk NaCl ile 2 - 3 damla olacak şekilde ıslatıldı. Hazırlanan svab vajinanın dorsal duvarına temas ettirildikten sonra kendi etrafında 2-3 kez çevrildi. Örneklerin vestibulum ve klitoral fossadan alınmamasına dikkat edildi. Örneklerin alındığı svab, temiz bir lama, üst üste hücre gelmeyecek şekilde yayma usulü ile sürüldü. Her hastadan aynı yöntemlerle iki farklı preparat alındı.

Hazırlanan preparatların havada kurutma işlemini takiben boyama aşamasına geçilmeden önce, % 96'lık etil alkol (Teksoll, FGS Kimya, İstanbul) yaymaların yapıldığı preparat yüzeyine bir pipet yardımı ile dökülerek 4 dakika boyunca bekletilmesi sağlandı. Yeterli süre alkolle temas eden preparatın yüzeyinde kalan alkol dökülerek, preparatın hava ile kuruması beklenildi. Boyamaya hazır olan her iki preparat için; 9 mL alkali özellikteki su içine, Giemsa stok solüsyonundan (Merck KGaA Darmstadt, Almanya) pipet yardımı ile 1 mL katıldı. Boya ve su karışımı sağlandıktan sonra, kuruyan preparatların yüzeylerine boyaların pipet yardımı ile yaymaları gerçekleştirildi. Preparatlar yaklaşık 45 dakika boyunca bekletildi. Sürenin sonunda preparatların üstündeki boyalar dökülerek, kalan boya kalıntıları alkali özellikteki su ile hücrelerin zarar görmemesine dikkat edilerek yıkandı. Son aşamada yıkamaları tamamlanan preparatlar dik şaleye konularak kurumaya bırakıldı.

Elde edilen preparatların ışık mikroskobu (Eclipse E200MV R Nikon Corporation Tokyo, Japonya) altında incelemelerine başlandı. Önce genel mikroskop sahası 10'luk

büyütmede tarandı. Yılmaz (2005), tarafından belirtilen metotla hücre yüzdelерinin belirlenebilmesi amacıyla 40'lık büyütmede tüm hücreler (bazal, parabazal, küçük ve büyük intermediyer, süperfisiyel-intermediyer, nükleer ve anükleer süperfisiyel, metöstrüs hücresi, nötrofil, eritrosit) sayılarak oranlanması gerçekleştirildi. Bu aşamada hücrenin bütünlüğünün bozulmamış olmasına ve hücrelerin üst üste gelmemiş olmasına dikkat edildi.

Feldman ve Nelson (2004), tarafından belirtilen şekilde köpekler siklus dönemlerine göre kategorize edildi (Şekil 2.1). Erken proöstrüs dönemi için mikroskop sahasında çok sayıda parabazal, küçük ve büyük intermediyer epitel hücrelerin varlığı kriter olarak belirlendi. Değişen sayılarda eritrosit, nötrofil ve bakterinin olması durumlarına da dikkat edildi. Bu dönemde, visköz servikal ve vajinal sekresyonların mikroskop altında genellikle kirli bir görüntü oluşturabileceği göz önünde bulundurularak, yapılan muayenelerde mikroskop sahasının genel görüntüsü değerlendirildi. Orta proöstrüs dönemi için değerlendirmelerde küçük ve büyük intermediyer hücrelerin artmış olması gözlemlendi. Dikkate alınan diğer unsurlar, nötrofillerin kaybolması ve eritrositlerin varlığını devam ettiriyor olmasıydı. Bu dönem için değerlendirmelerde temiz bir mikroskop sahasının varlığı göz önüne alındı. Proöstrüsün geç dönemi için muayenelerde %80'den fazla süperfisiyel hücre ve anükleer süperfisiyel hücre bulunmasının yanında süperfisiyel-intermediyer hücreler ve eritrosit varlığına dikkat edildi.



Şekil 2. 1: Köpeklerde östrüs siklus evrelerine göre vajinal sitoloji bulgularının yorumlanması (Feldman ve Nelson, 2004).

Östrüs döneminin tespitindeyse % 80'nin üzerinde anükleer süperfisiyal hücre görülmesi ve bu oranın sıklıkla % 100'e ulaşması değerlendirildi. Skuamoz hücrelere ek olarak nötrofillerin görülmeyeceği, eritrositlerin varlığının değişken olabileceği ve ayrıca mikroskop sahasınının temiz görülmesi göz önünde bulunduruldu.

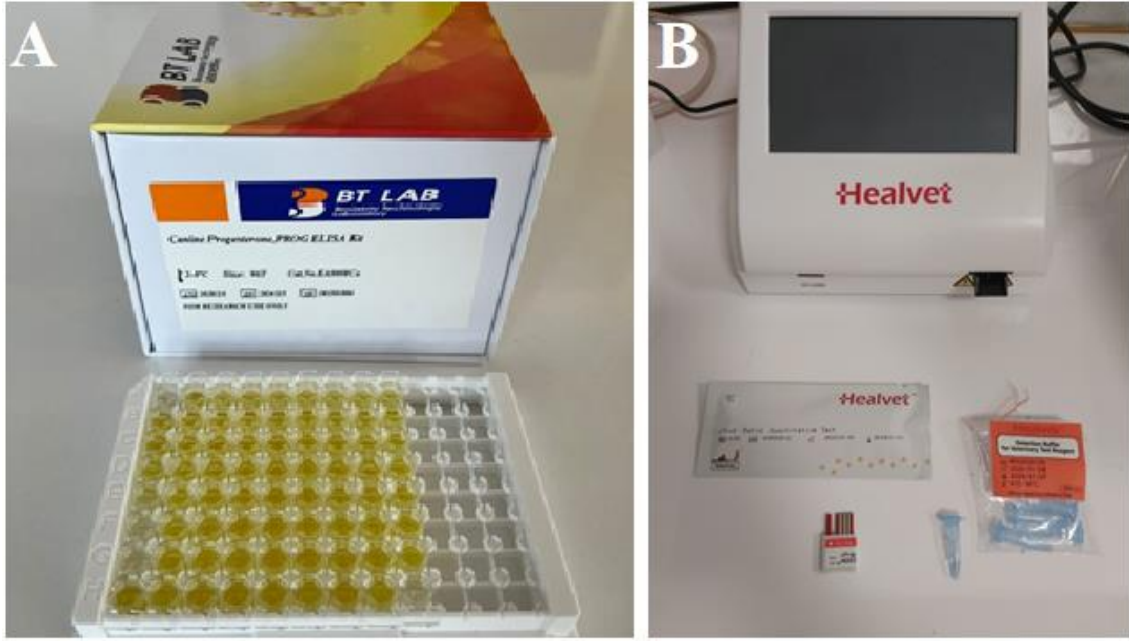
Diöstrüs döneminin başlangıcında hakim hücre grubunun intermediyer hücreler ile birlikte parabazal hücreler olmasına dikkat edildi. Diöstrüs dönemi değerlendirilirken nötrofillerin varlığı göz önünde bulunduruldu. Erken diöstrüs döneminin erken proöstrüs dönemi ile karıştırılmaması için, erken diöstrüsün tespitinde metöstrüs hücrelerinin varlığı incelendi. Diöstrüsün ilerleyen döneminde parabazal hücreler ve küçük intermediyer hücrelerin varlığı değerlendirildi. Bu dönemde nötrofillerin varlığının değişken oluşu ve eritrositlerin olmayışı dikkate alındı. Bu dönemin anöstrüs dönemi ile karıştırılmamasına özen gösterildi.

Anöstrüs dönemi için parabazal ve intermediyer hücrelerin varlığı değerlendirildi. Nötrofillerin varlığı, eritrositlerin çoğunlukla olmaması ve bakterilerin değişken olması gibi durumlar incelendi. Bakteri mevcudiyetinin normal florayı temsil etmesi durumuna dikkat edildi.

2.2.2. Serum Progesteron Ölçümleri

Kan örneklerinin toplanması için hastanın ön kolu tıraş edilerek, alkollü pamuk ile bölge temizlendi. Kısa uçlu yeşil kanül ile *v. cephalica antebrachii*'den 6-8 mL kan örneği vakumlu, jelli ve klot aktivatörlü tüplere alındı. Tüplerin üzerine hastayla ilgili gerekli bilgiler yazılarak, tüpler portüpe yerleştirildi. Kan serumlarının elde edilebilmesi amacıyla tüpler 5000 devir/dakikada 5 dakika boyunca santrifüj edildi (Nüve NF 200, Belçika). Elde edilen serum örnekleri Eppendorf tüplerine aktararak örnek alım tarihleri ve hasta bilgileri kaydedildi. Serum örnekleri -20 °C'de dondurularak progesteron ölçümleri yapılana kadar saklandı.

Serum progesteron ölçümlerinin yapılabilmesi için iki yöntem kullanıldı. Progesteron konsantrasyonları hem köpek spesifik Enzim Bağlantılı Immunosorbent Testi (ELISA) (Bioassay Technology Laboratory, Shangai, Çin) (Şekil 2.2A) hem de Floresan Immünoassay (FIA) prensibinde çalışan hızlı test kitiyle (Healvet cProg Rapid Quantitative Test, Guangzhou P.R., Çin) (Şekil 2.2B) ölçüldü. ELISA kitinin intra-assay değişim katsayısı % 4,2-6,5 ve inter-assay değişim katsayısı <% 10 olarak belirlendi. Diğer taraftan, kitin duyarlılığının 0,33 ng/mL ve ölçüm aralığı 0,5-100 ng/mL olduğu izlendi. ELISA ölçümleri için gerekli hazırlıkların yapılmasının ardından ELISA okuyucu cihazında (Chromate 4300 Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, ABD) absorbans okuması yapıldı. FIA yöntemine göre değerlendirme için hızlı test kitlerinin kullanım kılavuzunda anlatılan test prosedürüne uygun şekilde 1-50 ng/mL (3,18-159 nmol/l) aralığında ölçüm özelliği olan kitler hazırlandı ve ölçümlerin yapılacağı cihaza (Healvet Vet Immunofluorescence Quantitative Analyzer, HV-FIA 300, Guangzhou P.R. Çin) yerleştirildi. Serum örneğinden 75 µL alınıp, kit kutusunun içinde bulunan tampon çözelti ile köpük oluşturmada karıştırıldı. Oluşan yeni karışımdan da otomatik pipet yardımı ile 75 µL alınarak ölçümün yapılacağı kite döküldü. Ölçüm işleminin başlaması için kit cihaza yerleştirildi. Her bir ölçüm 15 dakika sonra sonuçlanarak elde edilen veriler ng/mL ve nmol/L düzeyinde kayıt altına alındı.



Resim 2. 1: Çalışmada kullanılan ELISA kiti (A) ve çalışma plate görüntüsü ile hızlı test kiti, tampon çözelti ve ölçüm cihazı görseli (B)

Serum ELISA progesteron ölçümleri Kalkan ve Öcal (2013)'ın bildirdiği şekilde (Çizelge 2.1) ve FIA progesteron ölçümleri de test kitinde belirtilen değerlendirme yöntemine (Çizelge 2.2) göre yapılan sınıflandırmalar vajinal sitoloji muayenelerinde elde edilen bulgularla birlikte yorumlanarak siklus dönemleri belirlendi.

Çizelge 2.1. ELISA yöntemine göre elde edilen serum progesteron düzeylerinin yorumlanması (Kalkan ve Öcal, 2013).

Serum progesteron (ng/mL)	Yorum
< 1,0	Anöstrüs veya proöstrüs
1,0 - 1,9	Ovulasyon öncesi 3 gün
2,0 - 2,9	Ovulasyon öncesi 2 gün
3,0 - 3,9	Ovulasyon öncesi 1 gün
4,0 - 10,0	Ovulasyon günü
> 10,0 - kornifiye vajinal sitoloji	Ovulasyon sonrası 1 - 5 gün
> 10,0 - kornifiye olmayan vajinal sitoloji	Diöstrüs

Çizelge 2.2: FIA yöntemine göre elde edilen serum progesteron düzeylerinin yorumlanması.

Bulgular	ng/mL	nmol/L
Anöstrüs ya da proöstrüs	< 1,0	< 3,18
Ovulasyonun erken aşaması	1 - 5	3,18 - 15,9
Ovulasyon zamanı	5 - 10	15,9 - 31,8
En uygun çiftleşme zamanı	10 - 20	31,8 - 63,6
Ovaryum kalitesinin düşmesi	> 30	> 95,4

1 ng/mL = 3.18 nmol/L

2.2.3. Doppler Ultrasonografi Muayeneleri

Muayeneler için 5.0 - 7.5 MHz frekanslı ultrasonografi cihazı (Esaote MyLabFive VET Maastricht, Hollanda) kullanıldı. Sektör prob eşliğinde muayeneler gerçekleştirildi. Muayeneler öncesinde hayvanların 12 saat aç kalmaları ve dışkılamış olmaları sağlandı. Sonuçlarının güvenilirliği açısından ultrasonografi muayeneleri her zaman tek kişi tarafından yapıldı (A.Ö.). Hastalar muayene masasına lateral şekilde yatırıldı. Yılmaz (2005), tarafından belirtilen şekilde muayenelerin gerçekleştirilebilmesi için son kosta, tuber koksa ve lumbal vertebraların sınırladığı alan titiz bir şekilde tıraşlandı. Sağ böbrek, sol böbrekten biraz daha kranialde bulunduğu için muayenelere her zaman sol taraftan başlandı. Bu bağlamda, her hastanın sağ ve sol fossa paralumbalis bölgeleri tıraşlandı. Tıraşlanan bölgeye yeterli ultrasonografi jelinin sürülmesinin ardından prob, son kostaya dayanacak şekilde konumlandırıldı. Yavaş hareketlerle bölge taranıp muayenelerde rehber organ olarak değerlendirilen böbrek bulundu. Böbrek bulunduktan sonra prob hafif manipülasyonlar ile kaudale doğru hareket ettirilerek saha vertikal ve horizontal biçimlerde tarandı. Aynı zamanda fokal alan ayarı ovaryum dokusunun bulunabileceği bölgeye taşınarak elde edilecek görüntü kalitesi optimize edilmeye çalışıldı. B mod ultrasonografi ile görüntülenen ovaryumlar kayda alınıp, ardından Doppler ultrasonografi muayenesine geçildi.

Doppler ultrasonografi muayeneleri için Renkli Akış Modu (CFM) açıldı. Örnekleme alanı özellikle ovaryum dokusunu içine alacak şekilde konumlandırıldı. B mod ultrasonografi ile ovaryum sınırlarının belirlenmesine ek olarak ovaryumun girişinde bulunan ovaryum arterinin de kanlanma vermesiyle ovaryum dokusunun yeri doğrulandı. Bu aşamada artefakt oluşumunun önüne geçmek için özellikle hastaların sakin kalmasına ve ağız açık solunum yapmamasına özen gösterildi. Muayenede artefakt oluşumuna yol açmayacak PRF ve kazanç ayarlarının kontrolleri yapıldıktan sonra ovaryum dokusunda oluşan renklenme alanları, değerlendirilmek üzere kayda alındı. Ovaryum dokusunda farklı noktalarda vaskülarizasyon alanları izlendi. Ovaryum dokusunun tabanı ya da merkezi, folikül ya da korpus luteum gibi yapıların çevresi vaskülarizasyonun görüldüğü alanlar olarak değerlendirildi. Muayeneler sonucunda kayda alınan görüntüler, her iki

ovaryum birlikte incelendikten sonra ovaryum üzerindeki vasküler perfüzyonu subjektif nicelleştirmek için minimalden maksimale Vermeulen (2009) tarafından belirtilen 1 (vaskülarizasyon yok ya da çok az), 2 (düşük), 3 (orta) ve 4 (yüksek) olacak şekilde skorlandı. Herbir siklus dönemi için ortalamaları alındı.

2.2.4. İstatistiksel Analizler

Çalışmada farklı seksüel sikluslarda bulunan köpeklerin ELISA ve FIA tekniklerine göre ölçülen serum progesteron değerleri ile Doppler ultrasonografide elde edilen skorlarının normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi (SPSS, 26.0, IBM, ABD). Normal dağılım gösterdiği belirlenen verilerin siklusu dönemlerine göre farklılıkları tek yönlü varyans analizinde Tukey testi ile belirlendi. İstatistiksel olarak önemlilik $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Sunulan çalışmada, vajinal sitolojik muayene bulguları incelendiğinde, erken proöstrüs döneminde sahada çoğunlukla parabazal hücreler ile bunlara ek olarak küçük ve büyük intermediyer hücreler gözlemlendi. Epitel hücrelere ek olarak nötrofil ve eritrosit varlığı da belirlendi. Orta proöstrüs döneminde, küçük ve büyük intermediyer hücreler ile eritrositler görüldü. Geç proöstrüs döneminde ise çoğunlukla nükleer ve anükleer süperfisiyel hücreler ile birlikte süperfisiyal-intermediyer hücreler görülürken, eritrositlerin varlığı da belirlendi. Östrüs döneminde % 90'nın üzerinde keratinize süperfisiyal hücreler görülürken, nötrofil ve eritrosite rastlanmadı. Bazı olgularda, anükleer süperfisiyel hücrelerle birlikte yer yer eritrositler izlendi. Erken diöstrüs döneminde yoğunlukla intermediyer hücreler saptandı. Aynı zamanda metöstrüs hücresi ve kısmen nötrofiller tespit edildi. Diöstrüsün ileri aşamasında parabazal hücreler ile küçük intermediyer hücreler izlendi.

Sunulan çalışmada, ELISA ve FIA yöntemlerine göre elde edilen serum progesteron düzeyleri Çizelge 3.1'de verilmektedir. ELISA yöntemine göre ölçülen progesteron değerlerinin en düşük konsantrasyonun erken proöstrüs döneminde olduğu izlenirken, en yüksek konsantrasyonun ise erken diöstrüs döneminde olduğu görüldü. Erken, orta ve geç proöstrüs dönemlerindeki serum progesteron düzeylerinin sırasıyla $1,42 \pm 0,12$ ng/mL, $1,60 \pm 0,23$ ng/mL ve $2,36 \pm 0,12$ ng/mL olduğu izlenirken bu dönemler arasında istatistiksel olarak fark izlenmedi. Bununla birlikte, östrüs döneminde tespit edilen progesteron düzeyinin ($4,58 \pm 0,15$ ng/mL) proöstrüsün tüm dönemlerine göre istatistiksel olarak farklılık oluşturacak şekilde yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,001$). Erken diöstrüs ($8,29 \pm 0,96$ ng/mL) ve diöstrüs ($7,73 \pm 0,71$ ng/mL) dönemlerindeki serum progesteron düzeylerinin birbirleri arasında farklılık oluşturmadığı gözlenirken, diğer dönemlere göre istatistiksel olarak farklılık oluşturacak şekilde yüksek seyrettikleri belirlendi ($p < 0,001$). Benzer şekilde, FIA yöntemine göre ng/mL ve nmol/l düzeylerinde tespit edilen serum progesteron düzeylerinin proöstrüsün tüm dönemlerinde istatistiksel olarak farklılık oluşturmadığı izlendi. Diğer taraftan, istatistiksel olarak östrüs, erken

diöstrüs ve diöstrüs dönemlerinde farklılık göstermeyen progesteron düzeylerinin, proöstrüs dönemlerinden yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,001$).

Çizelge 3. 1: Farklı seksüel siklus dönemlerinde bulunan köpeklerde, ELISA (ng/mL) ve FIA (ng/mL-nmol/l) yöntemlerine göre tespit edilen serum progesteron değerleri (Ort $\pm$ SEM).

	ELISA (ng/mL)	FIA (ng/mL)	FIA (nmol/l)
Erken Proöstrüs (n=21)	1,42 $\pm$ 0,12 ^c	2,14 $\pm$ 0,38 ^b	6,82 $\pm$ 1,20 ^b
Orta Proöstrüs (n=6)	1,60 $\pm$ 0,23 ^c	3,76 $\pm$ 1,35 ^b	11,97 $\pm$ 4,31 ^b
Geç Proöstrüs (n=10)	2,36 $\pm$ 0,12 ^c	3,61 $\pm$ 0,25 ^b	10,36 $\pm$ 0,69 ^b
Östrüs (n=10)	4,58 $\pm$ 0,15 ^b	15,54 $\pm$ 0,64 ^a	54,82 $\pm$ 3,21 ^a
Erken Diöstrüs (n=10)	8,29 $\pm$ 0,96 ^a	19,45 $\pm$ 1,53 ^a	61,87 $\pm$ 4,89 ^a
Diöstrüs (n=8)	7,73 $\pm$ 0,71 ^a	18,61 $\pm$ 1,67 ^a	59,18 $\pm$ 5,33 ^a

Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır ($p < 0,001$).

B-mod ultrasonografi muayenelerinde proöstrüs döneminde anekoik ekojeniteye sahip foliküller gözlemlendi. Bununla birlikte, özellikle geç proöstrüs döneminde anekoik yapıların daha belirgin bir şekilde tespit edilebildiği ve bu anekoik yapılara uygun olarak ovaryum şekillerinin de değiştiği izlendi (Şekil 3.1). Östrüs döneminde, merkezinde anekoik ekojenitede olan yapıların çevresinde hipoeikoik özellikteki yuvarlaktan ovale değişen yapılar gözlemlendi (Şekil 3.2). Erken diöstrüs döneminde merkezinde çok küçük anekoik alanların olduğu hipoeikoik yapılar gözlemlendi. Diöstrüsün ileri aşamalarında ise ovaryumlarda hipoeikojen karakterde farklı sayılarda luteal yapılar izlendi (Şekil 3.3).

Doppler ultrasonografik muayenelere göre erken, orta ve geç proöstrüs dönemleri ile östrüs, erken diöstrüs ve diöstrüs dönemlerine ait skorlamalar Çizelge 3.2’de verilmektedir. Proöstrüsün erken (2,14 $\pm$ 0,17), orta (2,16 $\pm$ 0,40) ve geç (2,40 $\pm$ 0,26)

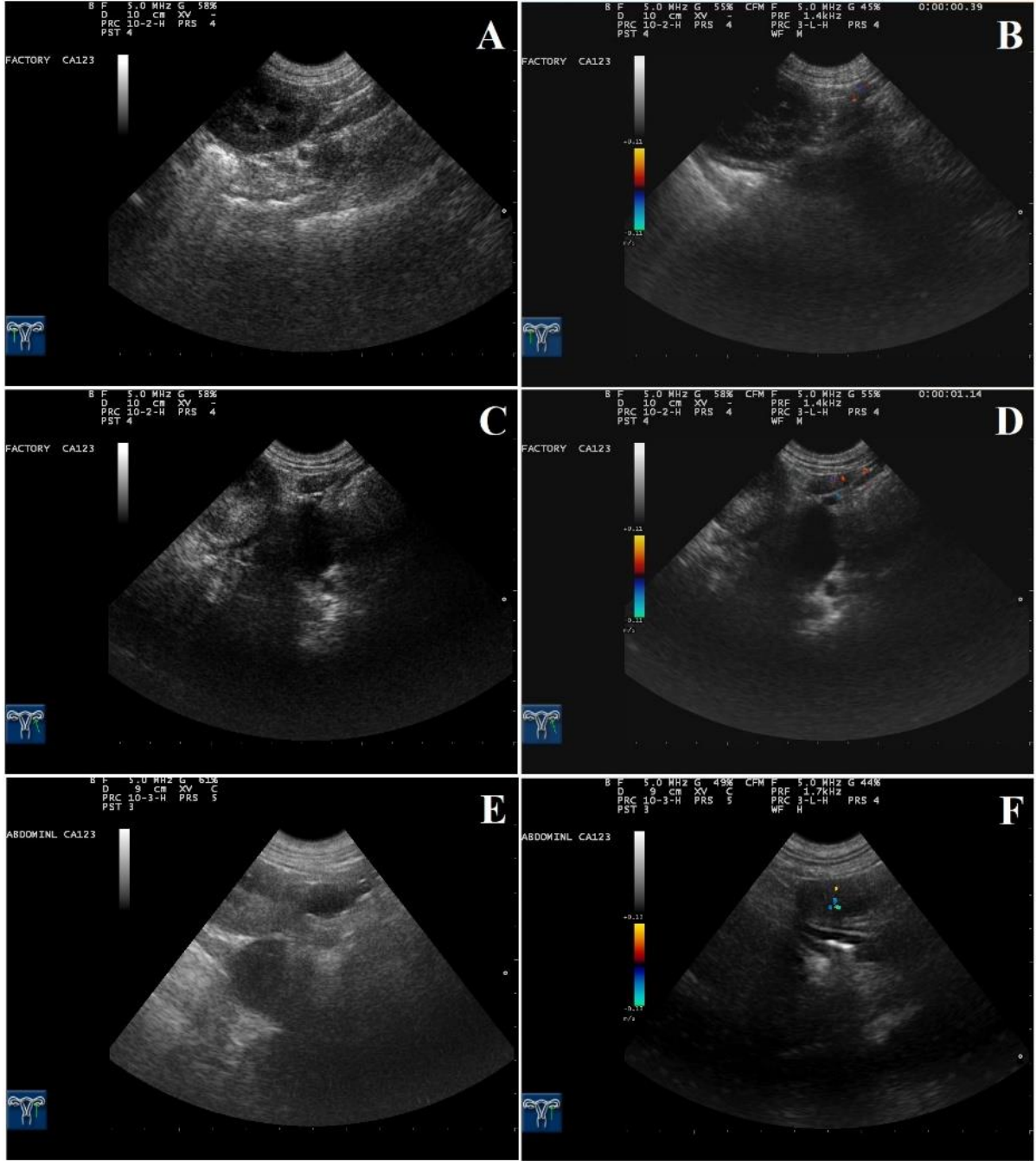
dönemlerinde diöstrüs dönemlerine göre yüksek skorlamalara ulaşılırken (Şekil 3.1), dönemler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte, östrüs döneminde elde edilen ($3,60 \pm 0,16$) skoru (Şekil 3.2) ise en yüksek değer olduğu ve diğer dönemlerin tümüne göre istatistiksel olarak farklılık oluşturduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Muayeneler sonucunda yapılan skorlamalarda erken diöstrüs evresinde ($1,75 \pm 0,31$) elde edilen bulguların diğer dönemlere göre düşük olarak skorlandırıldığı izlendi (Şekil 3.3). Erken diöstrüs dönemine benzer şekilde diöstrüs döneminde ($1,90 \pm 0,23$) izlenen skorlamanın istatistiksel olarak fark oluşturmadığı gözlemlendi. Vajinal sitolojik muayenesinde diöstrüs döneminde olduğu tespit edilen ve sonradan çalışma dışı bırakılan bir olgu, sol ovaryumunda vaskülarizasyon skorlamasında en az 3 olarak değerlendirilirken, sağ ovaryuma ise en çok 1 olacak şekilde skorlandı. Bu olgunun postoperatif olarak yapılan muayenesinde, sol ovaryumda içi kıllar ile kaplı bir kapsül içerdiği, sağ ovaryumda ise luteal yapıların varlığı izlendi (Şekil 3.4). Ovaryumdaki kıl içeriğinden dolayı olgu teratoma olarak değerlendirildi.

Çizelge 3.2. Farklı seksüel siklusu dönemlerinde bulunan köpeklerde ovaryumların renkli Doppler ultrasonografi skorları (Ort $\pm$ SEM).

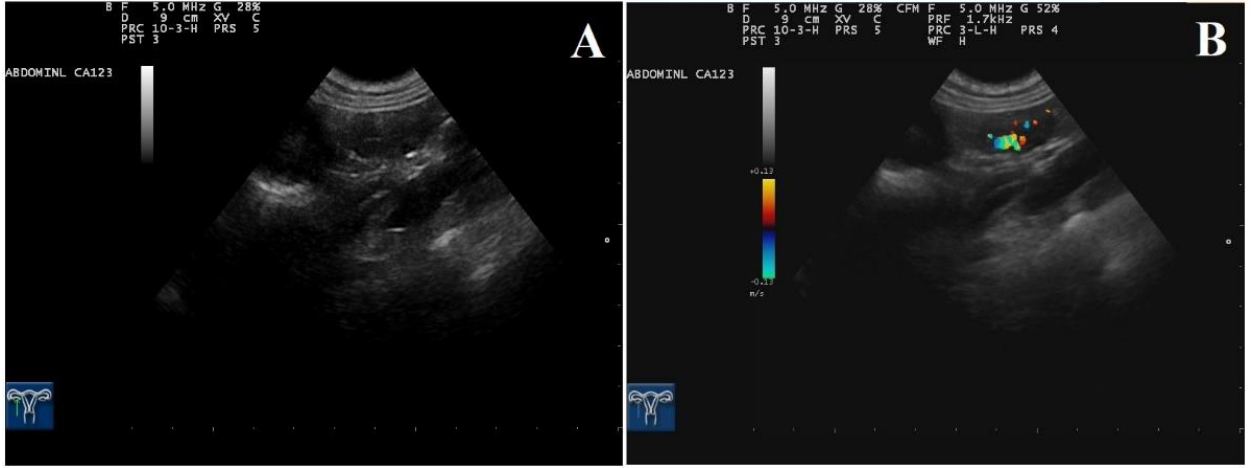
Doppler Ultrasonografi Skoru

Erken Proöstrüs (n=21)	$2,14 \pm 0,17^b$
Orta Proöstrüs (n=6)	$2,16 \pm 0,40^b$
Geç Proöstrüs (n=10)	$2,40 \pm 0,26^b$
Östrüs (n=10)	$3,60 \pm 0,16^a$
Erken Diöstrüs (n=10)	$1,75 \pm 0,31^b$
Diöstrüs (n=8)	$1,90 \pm 0,23^b$

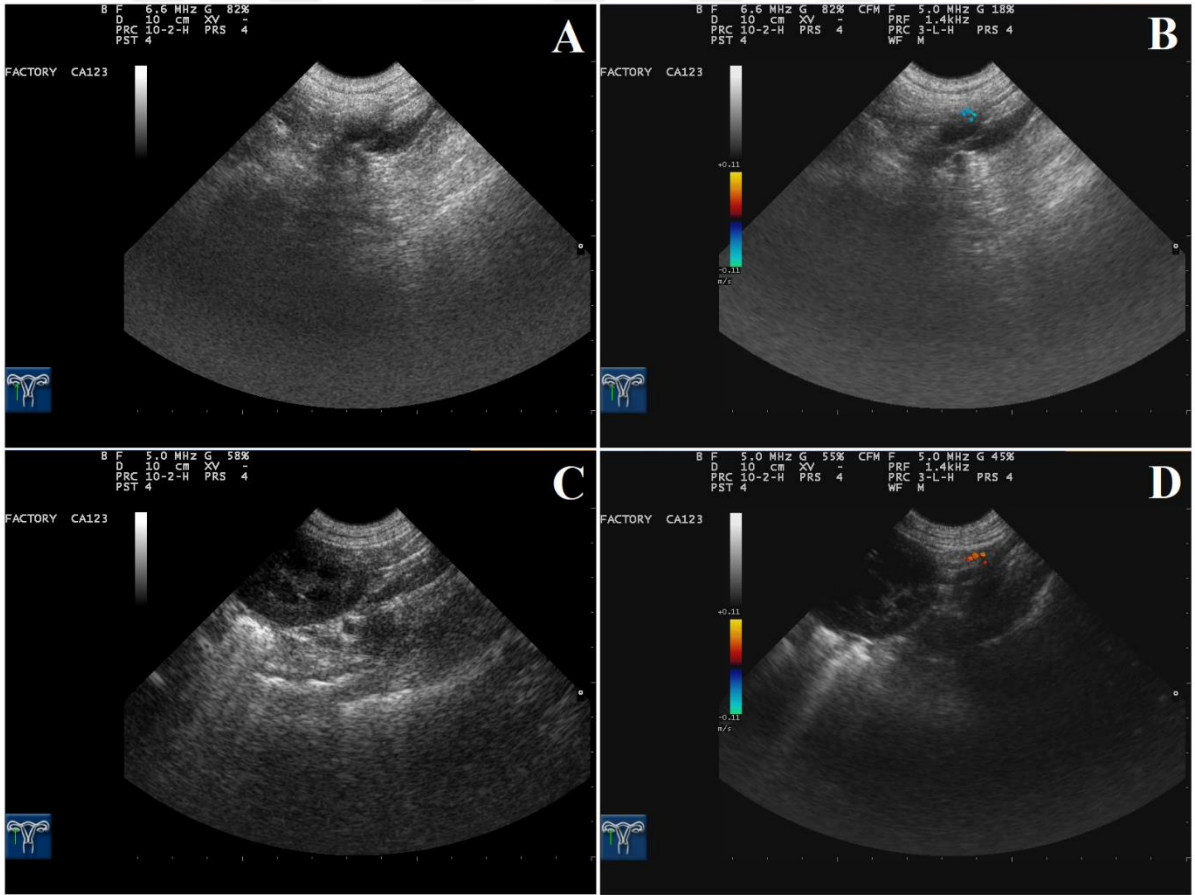
Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır ($p < 0,001$).



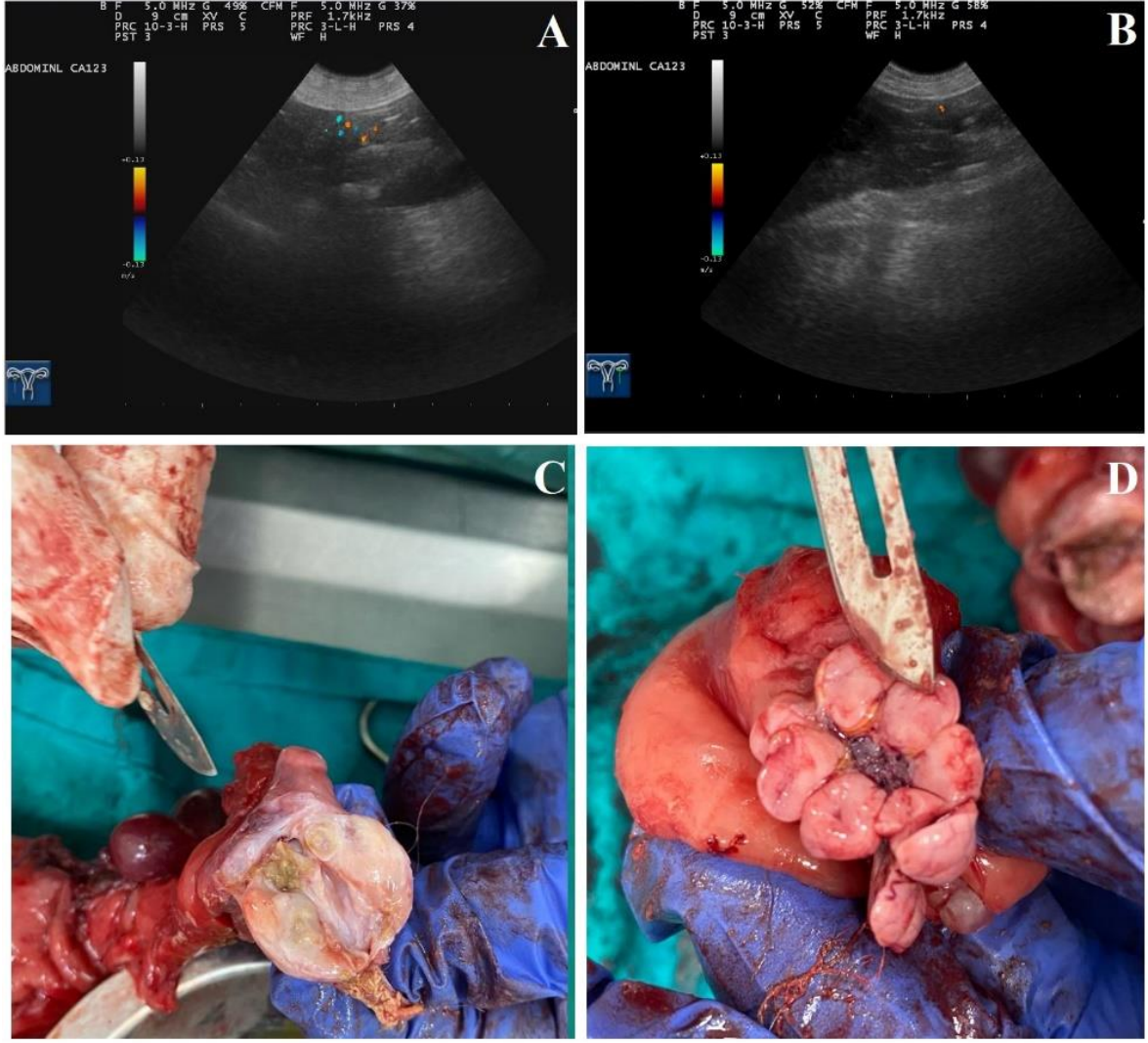
Resim 3. 1: Erken, orta ve geç proöstrüs dönemlerine ait B-mod (A,C,E) ve Doppler ultrasonografi (B, D, F) görüntüleri.



Resim 3. 2: Östrüs dönemine ait B-mod (A) ve Doppler (B) ultrasonografi görüntüleri.



Resim 3. 3: Erken diöstrüs dönemine ait B-mod (A) ve Doppler (B) ultrasonografi görüntüleri ile diöstrüs dönemlerine ait B-mod (C) ve Doppler (D) ultrasonografi görüntüleri.



Resim 3. 4: Teratoma olgusunun rastlandığı hastanın sol ovaryumunun Doppler ultrasonografi (A) ve post operatif görüntüleri (C) ile sağ ovaryumuna ait Doppler ultrasonografi (B) ve post operatif görüntüleri (D).

4. TARTIŞMA

Dünya üzerinde köpek yetiştiriciliğine olan ilginin fazla oluşu sebebiyle, reproduksiyon faaliyetlerinin değerlendirilmesi açısından veteriner hekimliğin Doğum ve Jinekoloji anabilim dalını ilgilendiren çalışma alanları zaman içerisinde oldukça fazla talep görmeye başlamış durumdadır. Bu bağlamda, özellikle ovulasyon tespiti yönünden muayeneler sıkça yapılabilmektedir. Ovulasyonun tespiti, reproduksiyon faaliyetlerinde başarıyı artırdığı gibi aynı zamanda riskli gebeliklerin yönetimi, doğumların takibi ve östrüslerin indüklenmesi gibi girişimlerde de yardımcı olabilmektedir. Vajinal sitoloji muayenelerinin diğer tanı yöntemleri ile birlikte değerlendirilmesi sonucunda ovulasyonun belirlenmesi ile reproduksiyon faaliyetlerinde en uygun zaman tespit edilebilmektedir (Arlt, 2018). Günümüzde kullanılan Doppler ultrasonografi kısmen noninvaziv bir teknik olduğundan, organ perfüzyonu ve kan akışıyla ilgili patolojileri değerlendirebilmek için veteriner hekimlikte kullanılan en yaygın araç olarak belirtilmektedir. Aynı zamanda, kardiyovasküler sistem ve reproduksiyon faaliyetlerinde de yaygın şekilde kullanılabilmektedir. Doppler ultrasonografinin ilk yıllarda özellikle ineklerde yaygın kullanım alanı bulduğu vurgulanmaktadır. Bu noktada, ovaryum ve uterus vaskülarizasyonunun değerlendirilmesi, korpus luteum fonksiyonu ile foliküler ve luteal kistlerin ayırt edilmesi gibi konularda kullanım alanı bulabildiği aktarılmaktadır. Köpeklerde ise normal ve anormal gebeliklerde plasental, uterin ve embriyonik kan akışının değerlendirilmesinde ve ayrıca ovaryum vaskülarizasyonunun değerlendirilmesinde de kullanım alanlarının olduğu ifade edilmektedir (Nicolas-Barcelo vd., 2021). Sunulan çalışmada köpeklerde üremenin kontrolünde önemli bir yere sahip olan östrüs siklusu evrelerinin tespiti için Doppler ultrasonografinin kullanım alanlarının ortaya konulması hedeflenmiştir.

Vajinal sitolojik muayenelerin dişi üreme sisteminin durumunu kontrol edebilmek için en çok kullanılan muayene yöntemlerinden biri olduğu ifade edilmektedir. Vajinal sitoloji muayenelerinde gözlenen değişiklikler östrüs döngüsü boyunca endokrin hormonlarda görülen değişimlerden kaynaklanmaktadır. Bu sebeple, fertilité açısından değerlendirilmek üzere fiziksel davranışların izlenmesi ile kıyaslandığında; vajinal

sitoloji muayenelerinin çok daha iyi bir tanı aracı olarak kullanılabileceği vurgulanmaktadır (Nesa vd., 2022). Bunun yanı sıra, progesteron konsantrasyonunun ölçülmesinin dişi köpeklerde fizyolojik reproduktif durumun ve bu açıdan oluşan bozuklukların değerlendirilmesinde değerli bir araç olarak kullanıldığı da aktarılmaktadır. Progesteron konsantrasyonunun güvenilir ve hızlı şekilde tespit edilebilmesinden dolayı çoğu zaman ölçülmesi önerilmektedir. (Rota vd., 2016). Yapılan çeşitli çalışmalarda, progesteron testinin türünün ve ölçümler öncesi serumun hazırlık sürecinin progesteron konsantrasyonu açısından elde edilen sonuçlarda farklılıklara yol açabileceği bildirilmektedir (Arlt, 2018). Bu bağlamda, yapılan çeşitli muayeneler ile köpeklerin reproduksiyon fizyolojisinin derinlemesine araştırılması, reproduktif biyoteknolojinin geliştirilebilmesi ve uygulanabilirliğinin artırılması için önem taşımaktadır (Yousry vd., 2022). Sunulan çalışmada, kısırlaştırma isteği ile gelen hastalara gerekli muayeneler yapılarak önce ovaryum dokusunun vaskülarizasyonu değerlendirildi. Sonrasında kan ve vajinal smear örnekleri toplanıp devamında siklus dönemleri tespit edilerek köpekler gruplandırıldı. Çalışmanın son aşamasında ovaryum dokularının vaskülarizasyonları değerlendirilip veriler skorlanarak farklı siklus dönemlerine göre karşılaştırıldı.

Groppetti vd. (2015), proöstrüs döneminde vajinal sitolojide eritrositler, lökositler ve bakterilerle birlikte çoğunlukla parabazal ve küçük intermerdiyer hücrelerin görüldüğü heterojen bir epitel hücre popülasyonundan bahsederlerken, kornifikasyon indeksinin $\leq$ % 20 olduğu ve sahada mukoza filamentlerinin görüldüğü ifade edilmektedirler. Haji vd. (2018), proöstrüs döneminde mikroskop sahasında hakim hücre gruplarının % 62,32 $\pm$ 0,28 oranla süperfisiyal hücreler olduğuna değinirlerken, ek olarak bu dönemde eritrositlerin varlığından da söz etmektedirler. Barstow vd. (2018), proöstrüs döneminde yoğunlukla parabazal ve intermerdiyer hücreler görüldüğünü, aynı zamanda kornifikasyon indeksinin proöstrüs ilerledikçe arttığını bildirmektedirler. Yine proöstrüs döneminde epitel hücrelere ek olarak eritrositlerin ve daha nadir nötrofillerin görüldüğünü aktarmaktadırlar. Yukarıda sözü edilen çalışmalardan da görülmektedir ki, proöstrüs dönemi içerisinde östrüse doğru yaklaşıldıkça vajinal epitel hücrelerde kornifikasyona doğru bir gelişim oluşmaktadır. Sunulan çalışmada, proöstrüs döneminde olan hastalar erken, orta ve geç olarak farklı aşamalarda incelendi. Erken proöstrüs döneminde

parabazal, küçük ve büyük intermediyer hücelere ek olarak eritrosit ve nötrofiller de sahada tespit edildi. Orta proöstrüs döneminde, nötrofil lökositlerin olmadığı, eritrositlerin varlığı ile birlikte küçük ve büyük intermediyer hücelere gözlemlendi. Geç proöstrüs döneminde ise sahada hakim hücre grubu olarak nükleer ve anükleer süperfisiyal hücelere ile birlikte eritrosit ve süperfisiyal-intermediyer hücelere belirlendi. Groppetti vd. (2015), tarafından yapılan muayenede proöstrüs dönemi sonuçlarının sunulan çalışmada erken proöstrüs dönemi ile uyum sağladığı tespit edilirken, Haji vd. (2018), tarafından bulunan sonuçların ise geç proöstrüs dönemi ile uyumlu olduğu belirlendi. Barstow vd. (2018), tarafından belirtilen kornifikasyon indeksinin proöstrüs dönemi ilerledikçe artması durumunun, sunulan çalışma ile uyumlu olduğu saptandı. Sunulan çalışmanın sonuçları, diğer araştırmacılarla karşılaştırıldığında proöstrüs döneminin farklı aşamalarında farklı bulguların görülebileceği; dolayısıyla bu dönemin erken, orta ve geç olarak aşamalandırılmasının reproduktif faaliyetlerin değerlendirilmesi açısından daha faydalı olacağı düşünülmektedir.

Groppetti vd. (2015), ovulasyon öncesi dönemde yapılan sitoloji muayenesinde sahanın proöstrüs dönemine benzer olduğunu, ancak küçük ve büyük intermediyer hücelere daha hakim olduğunu, aynı zamanda kornifikasyon indeksinin % 20'nin üzerinde seyrettiğini vurgulamaktadırlar. Ovulasyona yakın dönemde yapılan muayenelerde çok sayıda büyük intermediyer hücre ve çekirdekli süperfisiyal hücre ile daha nadir çekirdeksiz süperfisiyal hücelere görüldüğü belirtilirken, bu dönemde kornifikasyon indeksinin > 50% olduğu aktarılmaktadır. Aynı zamanda bazen eritrositlerin, daha nadir olarak da bakteri ve nötrofillerin görülebileceği ifade edilmektedir. Ovulasyondan sonra yapılan vajinal yaymalarda, bakteri ve hücresel debris içermeyen çekirdeksiz süperfisiyal hücelere hakim olduğu temiz bir saha görülebileceği bahsedilirken, bu dönemde kornifikasyon indeksinin $\geq$ % 70 olacak şekilde gözlemlendiği ileri sürülmektedirler. Haji vd. (2018)'in yaptığı muayenelerde östrüs döneminde mikroskop sahasında hakim hücre gruplarının % $92,29 \pm 0,03$ oranla süperfisiyal hücelere olduğu bildirilirken, sahanın temiz olduğundan söz edilmektedir. Diğer taraftan, parabazal ve intermediyer hücre sayılarının östrüs dönemindeki dişi köpeklerin vajinal yaymalarında çok düşük oranda olduğu sunulmaktadır. Barstow vd. (2018)'in yaptıkları çalışmada östrüs döneminde, sahada tamamen kornifiye süperfisiyal hücelere olduğu belirtilirken, aynı zamanda

eritrositlerin bulunabileceği gibi bulunamayacakları da ileri sürülmektedir. Sunulan çalışmada, östrüs döneminde olan köpeklerin vajinal sitolojisinde bütünüyle keratinize süperfisiyal hücreler görüldü. Bu bağlamda, östrüs döneminde elde edilen bulguların bahsi geçen araştırmacıların (Barstow vd., 2018; Haji vd., 2018) bulgularıyla benzer olduğu gözlemlendi. Groppetti vd. (2015), tarafından belirtilen ovulasyon sonrası muayenelerde gözlenen kornifikasyon indeksi, sunulan çalışma ile benzerlik gösterdi. Bu doğrultuda, çalışmaya östrüs olarak dahil edilen hastaların tamamının vajinal sitolojisinde baskın olarak keratinize süperfisiyal hücreler görülmesinden kaynaklı hastalarda ovulasyonların şekillenmiş olabileceği ileri sürülmektedir.

Diöstrüs döneminin başlangıcında, çekirdeksiz süperfisiyal hücrelerin yüzdesinde ani bir düşüş ile birlikte intermediyer hücrelerde artış ve nötrofillerin yeniden ortaya çıkabileceği ifade edilmektedir (Groppetti vd., 2015). Bu dönemde kornifikasyon indeksinin $< \% 40$ şeklinde seyredebileceği vurgulanmaktadır. Orta-geç diöstrüs döneminde ise sahada değişken oranda küçük intermediyer hücreler ve parabazal hücreler ile az sayıda nötrofilin varlığı aktarılmaktadır. Haji vd. (2018), diöstrüs döneminde hakim hücre grubunun $\% 35,08 \pm 0,28$ oranda intermediyer hücreler olduğunu belirtmektedirler. Diöstrüs döneminde mevcut parabazal hücrelerin oranının proöstrüs ve östrüs dönemine kıyasla daha yüksek olduğu ifade edilirken, nötrofillerin de en yoğun diöstrüs döneminde görüldüğü, en az ise östrüs döneminde izlendiği vurgulanmaktadır. Barstow vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada diöstrüs döneminde, parabazal ve süperfisiyal hücrelerin bulunabileceği, ek olarak kornifikasyon indeksinin diöstrüsün ilk gününde $\% 50$ gibi bir orana gerileyebileceğinden bahsedilmektedir. Yine, diöstrüsün ilk günlerinde çok sayıda nötrofilin görüleceğinden söz edilmektedir. Sunulan çalışmada, diöstrüs döneminde genel olarak hakim hücre grubunun intermediyer hücreler olduğu görüldü. Buna ek olarak nötrofiller tespit edildi. Erken diöstrüs döneminde ise intermediyer hücreler ve nötrofillere ilaveten metöstrüs hücreleri gözlemlendi. Bulguların bahsi geçen araştırmacılarla benzerlik gösterdiği belirlendi (Groppetti vd., 2015; Barstow vd., 2018; Haji vd., 2018). Sunulan çalışmada ve araştırmacıların çalışmalarında, vajinal sitoloji muayenesinin seksüel siklusun tespitinde hâlâ fayda sağlayan bir yardımcı tanı yöntemi olarak kullanılabileceği görülmektedir.

Progesteron konsantrasyonlarının kemilüminesans immünolojik test yöntemi ile proöstrüs döneminde progesteron konsantrasyonunun $0,756 \pm 0,90$ ng/mL, ovulasyon öncesi dönem ve ovulasyonun olduğu günde yapılan ölçümlerde $6,03 \pm 4,32$ ng/mL, ovulasyon günü ve ovulasyon sonrası ölçümlerde $10,81 \pm 6,23$ ng/mL, ovulasyondan sonraki dönemlerde $16,96 \pm 6,29$ ng/mL ve son olarak diöstrüs döneminde progesteron konsantrasyonunun $20,69 \pm 5,20$ ng/mL olarak ölçüldüğü aktarılmaktadır (Aires vd., 2021b). Aynı yöntemle ölçümlerin yapıldığı farklı bir çalışmada, progesteron konsantrasyonu proöstrüs döneminde $0,62 \pm 0,29$ ng/mL, ovulasyon öncesi dönemde $2,09 \pm 0,38$ ng/mL, ovulasyon periyodunda $6,97 \pm 2,9$ ng/mL ve oosit maturasyon periyodundaysa $23,77 \pm 1,92$ ng/mL olarak belirtilmektedir (Gloria vd., 2018). Groppetti vd. (2015), Enzim Bağlı Floresan Testi (ELFA) prensibi ile progesteron konsantrasyonlarını proöstrüs döneminde $1,7 \pm 0,3$ ng/mL, ovulasyon öncesi dönemde $2,9 \pm 0,4$ ng/mL, ovulasyona yakın dönemde $6,1 \pm 1,7$ ng/mL, ovulasyon sonrası dönemde $16,7 \pm 5,9$ ng/mL, erken diöstrüs döneminde $73,9 \pm 9,9$ ng/mL, orta-geç diöstrüs döneminde $42,6 \pm 25,2$ ng/mL ve anöstrüs döneminde $1,3 \pm 0,5$ ng/mL şeklinde bulduklarını aktarmaktadırlar. Sunulan çalışmada, ELISA yöntemine göre progesteron değerlerinin en düşük konsantrasyonun erken proöstrüs döneminde olduğu izlenirken, en yüksek konsantrasyonun ise erken diöstrüs döneminde olduğu görüldü. Sunulan çalışma ile yukarıda sözü edilen çalışmalarda kullanılan yöntemler her ne kadar farklı olsa da progesteron değerlerinin proöstrüs döneminin başından itibaren artış göstermeye başladığı, lüteal evrede en üst düzeyine ulaştığı görülmektedir. Vajinal sitoloji muayeneleri ile progesteron değerlerinin değerlendirilmesi ile kullanılan yöntemden bağımsız olarak östrüs siklusu evresi hakkında yorum yapılmasının mümkün olacağı düşünülmektedir.

Gloria vd. (2018) ELISA yöntemiyle progesteron konsantrasyonlarını proöstrüs döneminde $0,69 \pm 0,17$ ng/mL, ovulasyon öncesi dönemde $2,59 \pm 0,30$ ng/mL, ovulasyon periyodunda $9,53 \pm 3,72$ ng/mL ve oosit maturasyon periyodundaysa $23,77 \pm 1,92$ ng/mL olarak tespit ettiklerini ifade etmektedirler. Aynı yöntemle ölçümlerin gerçekleştirildiği bir başka çalışmada (Haji vd., 2018) proöstrüs döneminde $1,04 \pm 0,28$ ng/mL, östrüs döneminde $5,25 \pm 0,03$ ng/mL ve diöstrüs döneminde $39,5 \pm 0,28$ ng/mL şeklinde progesteron konsantrasyonlarının ölçüldüğü vurgulanmaktadır. Farklı bir çalışmada da

progesteron konsantrasyonu proöstrüs döneminde 0,92 ng/mL, östrüs döneminde 14,01 ng/mL, diöstrüs döneminde 35,67 ng/mL ve anöstrüs döneminde 0,46 ng/mL olarak ölçüldüğü ifade edilmektedir (Ajadi vd., 2019). Sunulan çalışmada, ELISA yöntemine göre progesteron değerlerinin erken, orta ve geç proöstrüs dönemlerindeki serum progesteron düzeylerinin sırasıyla $1,42 \pm 0,12$ ng/mL, $1,60 \pm 0,23$ ng/mL ve $2,36 \pm 0,12$ ng/mL olduğu izlendi. Östrüs döneminde $4,58 \pm 0,15$ ng/mL olarak ölçülen progesteron konsantrasyonlarının, erken diöstrüs ve diöstrüs dönemlerinde sırasıyla $8,29 \pm 0,96$ ng/mL ve $7,73 \pm 0,71$ ng/mL düzeylerinde seyrettikleri belirlendi. Çalışmada elde edilen bulgular ile Gloria vd. (2018) tarafından bulunan sonuçların geç proöstrüs ile uyumlu olduğu, Haji vd. (2018) tarafından yapılan çalışmadaki erken proöstrüs dönemi bulgusu ile benzerlik gösterdiği izlendi. Sunulan çalışmada, östrüs ve diöstrüs dönemlerine ait verilerin bazı araştırmacıların (Gloria vd., 2018; Haji vd., 2018) bulguları ile uyumlu olmadığı, Ajadi vd. (2019)'nin araştırmalarındaki değerler ile ise çalışmanın hiçbir dönemindeki progesteron konsantrasyonları ile paralellik göstermediği gözlemlendi. Sözü edilen farklılıkların köpeklerde geniş ve değişken aralığa sahip siklus sürelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan, sunulan çalışmada proöstrüs döneminin erken, orta ve geç; diöstrüs döneminin de erken ve sonraki evreler olacak şekilde incelenmesinin yanı sıra, tüm örneklemelerin ilgili evrelerin erken aşamalarında yapılmış olabilmesinden dolayı farklı sonuçlar elde edildiği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, progesteron ölçümlerinin vajinal sitoloji verileri ile birlikte değerlendirilmesinin siklusu tespitinde önemli olduğu düşünülmektedir.

Rota vd. (2016), vajinal sitoloji muayenelerine göre siklusu dönemlerini tespit ederek FIA prensibiyle progesteron konsantrasyonlarını ölçtükleri çalışmalarında, proöstrüs döneminde $1,04 \pm 0,67$ ng/mL, östrüste $6,8 \pm 7,26$ ng/mL ve anöstrüs döneminde $0,38 \pm 0,14$ ng/mL düzeylerinde bulgulara ulaştıklarını aktarmaktadırlar. Sunulan çalışmada, FIA yönteminin kullanıldığı ölçümlerde proöstrüs döneminin farklı aşamalarında sonuçlarda önemli farklılıklar gözlemlenmedi. Aynı yöntemle östrüs, erken diöstrüs ve diöstrüs dönemleri arasında da anlamlı değişiklikler tespit edilmedi. Bu yöntem ile yalnızca proöstrüsün farklı aşamaları ile diğer dönemler arasında anlamlı farklılıklar gelişti. Sunulan çalışmada, proöstrüs dönem konsantrasyonlarının Rota vd. (2016)'nin bulguları ile uyumlu olduğu izlendi. Östrüs dönemi konsantrasyonunun ise bahsi geçen

araştırmacıdan daha düşük düzeyde olduğu gözlemlendi (Rota vd., 2016). Bu durumun, çalışmanın östrüs dönemi açısından erken bir aşamada örneklemeler yapılmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, bu yöntem ile östrüs ve diöstrüs dönemlerinin ayrımının güvenilir bir şekilde yapılabilmesi açısından, progesteron ölçümlerinin mutlaka vajinal sitoloji bulguları ile desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir. Sunulan çalışmadaki ELISA ve FIA bulguları ile birlikte vajinal sitoloji verileri incelendiğinde, progesteron konsantrasyonlarının benzerlik gösterdiği çalışmalar olduğu gibi benzerlik göstermediği çalışmaların da olduğu tespit edildi. Bu durum pek çok faktöre bağlı olabilmekle birlikte, köpeklerde siklusu evresi sürelerinin değişkenliğinin, farklı cihaz ve ölçüm teknikleri ile farklı analiz protokollerinin kullanımının ya da örnekleme zamanlarının, sonuçların farklı çıkmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.

Sunulan çalışmada, köpeklerde ovaryumların Doppler ultrasonografik muayenelerinin gerçekleştirilebilmesi için öncelikle B mod görüntülemeye ovaryumların tespit edilmesinin muayeneleri kolaylaştıracağı düşünülmektedir. Çalışmada bütün köpeklerde her iki ovaryumun da görüntülediği belirlendi. Ancak, bazı araştırmacılar tarafından her iki ovaryumun görüntülenmesinde farklı oranların mevcut olduğu belirtilmektedir. Sol ovaryum için bu oranlar Hayer (1991) tarafından % 97, Dieterich (1994) tarafından % 95,7 ve Yılmaz (2005) tarafından % 96 olarak bildirilmektedir. Sağ ovaryumların B mod ultrasonografik muayenelerinde ise Eker vd. (2003) tarafından % 95, Dieterich (1994) tarafından % 97, Hayer (1991) tarafından % 99 ve Yılmaz (2005) tarafından % 72 şeklinde oranlar ifade edilmektedir. Sunulan çalışmada, ovaryumların görüntülenebilmesinin bütün hastalarda sağlanmasında, kullanılan ultrasonografi cihazının kalitesi, operatörün tecrübesi ve hastaların muayeneler öncesi 12 saat önceden aç bırakılarak barsaklardan kaynaklanan olumsuzlukların engellenmesi ile birlikte hastaların kondisyonlarının etkili olabileceği ileri sürülmektedir.

Ovaryum arterlerindeki kan akımının kontrol edilebilmesi için renkli Doppler ultrasonografiden faydalanılabileceği (Barbosa vd., 2013) ve ovaryum arterinde kanlanmanın izlenmesi için böbreklerin öncelikle rehber organ olarak kullanılması

gerektiği ifade edilmektedir (Nicolas-Barcelo vd., 2021). Sunulan çalışmada, Doppler ultrasonografi muayeneleri için ovaryumlar böbreğin kaudal kutbunda ve çevresinde sagittal ve transversal düzlemlerde taramalar yapılarak B mod ultrasonografi ile tespit edildikten sonra değerlendirildi. Ultrasonografik muayeneler öncesinde probun tarayıcı yüzeyinin deride temas edeceği kısımlarda kılların tamamen uzaklaştırılmış olmasına özen gösterildi. Nicolas-Barcelo vd. (2021), Doppler ultrasonografi skorlamalarının, güvenilir sonuçlar elde edebilmek için tek bir operatör tarafından yapıldığını, hastaları dorsal pozisyonda sabitleyip, stres oluşturmamak için tüyleri kesmeden gerçekleştirdiğini ifade etmektedirler. Bunun yanı sıra, muayenelere ilk olarak sol böbreğin kaudal kısmından başlandığını, ovaryum tespit edildikten sonra ovaryum arterinin yerini belirlemek için renkli Doppler ultrasonografi kullanıldıklarını aktarmaktadırlar. Bergeron vd. (2013) ovulasyona yakın bir dönemde ovaryum vaskülarizasyonu değerlendirdikleri çalışmalarında görüntülerin iyi optimize edilebilmesi için özellikle kılların tıraş edilmesi gerektiğini, muayenelere önce sol ovaryumdan başlandığını, her muayenede kazanç ayarlarının kontrol edilerek gerçekleştirildiğini belirtmektedirler. Diğer taraftan, B mod ultrasonografi muayenelerinde transdüserin frekansının 7.5 MHz olarak ayarlandığını, ovaryumlar görüntüledikten sonra transdüser frekansı 5 MHz olarak değiştirilip, renkli Doppler ultrasonografi moduna geçildiğini ifade etmektedirler. Köster vd. (2001) tarafından ovaryum perfüzyonunda siklik değişimlerin incelemesinin yapıldığı bir çalışmada da 7.5 MHz frekansta renkli Doppler ultrasonografinin kullanıldığı, muayeneler için hastaların sol ve sağ açlık çukurluklarının tercih edildiği ve bölgenin tıraşlanmasına dikkat edildiği belirtilmektedir. Bununla birlikte, kendiyle aynı tarafta olan böbreğin kaudal kutbunda tanımlanan ovaryumlarda vaskülarizasyonun incelenmesi için renk kodlu alanın boyutunun ovaryumun maksimum genişliği ile sınırlandırılması gerektiği ve maksimum miktarda vaskülarizasyon elde edilebilmesi için Doppler kontrollerinin (Nyquist frekans, filtre ve kazanç) her muayenede düzenlenmesinin önemli olduğu aktarılmaktadırlar. Sunulan çalışmada, ultrasonografi muayenelerinin yapılması için izlenen birçok yöntemin yukarıda bahsi geçen araştırmalarla paralellik gösterdiği gözlemlendi. Özellikle bütün çalışmalarda ovaryum muayeneleri için öncelikle böbreğin görüntülenmesinin gerekli olduğu görüldü. Muayenelerden önce tıraş işlemlerinin yapılmasının (Köster vd., 2001; Bergeron vd., 2013), muayene bölgesi olarak açlık çukurluğunun seçilmesinin (Köster vd., 2001), muayenelere sol ovaryumdan

başlanması (Bergeron vd., 2013; Nicolas-Barcelo vd., 2021) ve görüntü değerlendirmelerinin güvenilir olması için tek bir operatör tarafından gerçekleştirilmesinin (Nicolas-Barcelo vd., 2021) önemli olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, her ultrasonografi muayenesinde gerekli kontrollerin (Köster vd., 2001; Bergeron vd., 2013) yapılmasının da muayene başarısını etkileyebileceği ileri sürülmektedir.

Renton vd. (1992) tarafından yapılan bir çalışmada proöstrüs dönemi başlangıcında ovaryum stromasında anekoik, küçük farklı boyutlarda foliküllerin izlenebileceği belirtilirken, England ve Allen (1989) tarafından takip eden günlerde yapılan muayenelerde folikül büyüklüklerindeki artışın izleneceği vurgulanmaktadır. Yılmaz (2005) tarafından yapılan bir çalışmadaysa proöstrüs döneminde ultrasonografide farklı büyüklükte ve sınırları ayırt edilebilen anekoik yapılar gözlemlendiği aktarılmaktadır. Farklı araştırmacılar ise proöstrüsün başlangıcından itibaren ilerleyen dönem boyunca boyut ve miktar olarak artan anekoik yapıların varlığı ile foliküler gelişimi görselleştirmenin mümkün olduğunu ileri sürmektedirler (Wallace vd., 1992; Hayer vd., 1993; England vd., 2009). Lévy ve Fontbonne (2007) tarafından yapılan çalışmada, bu dönemin sonunda, anekoik içeriğe sahip çok sayıda folikül nedeniyle ovaryumların tanımlanmasının kolaylaştığını belirtmektedirler. Bergeron vd. (2013), her bir ovaryumda ultrasonografi ile sayılan folikül sayısının 3 ile 4 arasında değiştiğini, Lévy ve Fontbonne (2007) ise gerçekleştirdikleri ultrasonografi muayenelerinde sayılan folikül sayısının genellikle gerçek miktardan daha az gözlemlendiğini bildirmektedirler. Mantis (2008) çalışmasında folikül boyutu ve çapının da değiştiğini, genellikle gelişmeye başladıkça boyutlarının 0,3-1,2 cm'ye ulaştığını vurgulamaktadırlar. Aires vd. (2021b), tarafından yapılan çalışmada, erken-orta proöstrüs döneminde ince duvarlı yuvarlak şekilli anekoik yapıların görüldüğünü ve bu dönemlerde her bir ovaryumda ortalama 5 adet folikülün gözlemlendiği belirtilmektedir. Holubiev vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, proöstrüs döneminde ovaryumların oval şekilde olduğu, hipoeikoik yapıda 0,1 - 0,3 cm boyutunda çoklu oluşumlar içerdiği bildirilmektedir. Sunulan çalışmada ise proöstrüs döneminde ovaryumlarda anekoik yapılar görüldü. Proöstrüsün farklı aşamalarında bu yapıların boyutlarının değişebildiği gözlemlendi. Çalışmanın asıl değerlendirme kriteri Doppler ultrasonografisi olduğu için, ovaryumda ki yapıların sayıları ve boyutları ölçülmemiş

olup diğerk araştırmacıların bulduğu anekoik yapıların sayı ve boyutlarıyla karşılaştırma yapılmamıştır. Diğerk taraftan, köpeklerde B-mod ultrasonografi ile proöstrüs döneminde olan ve ovaryumlarda bulunan anekoik yapıdaki foliküllerin tespit edilebileceği düşünölmektedir. Siklus dönemi tespiti için ultrasonografi bulguları ile birlikte kan progesteron ölçömleri ve vajinal sitoloji bulgularının değerlendirilmesinin faydalı olacağı ileri sürölmektedir.

Holubiev vd. (2023), östrüs döneminde ovaryumların düzensiz, ince kapsölle çevrili, büyük, 0,6-1,2 cm boyutunda anekoik yapılara sahip olduğu aktarmaktadırlar. Aires vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada ovulasyondan önce erken östrüs döneminde, erken proöstrüs dönemine kıyasla ovaryumlarda foliköler yapıların büyüdüğu ve duvarlarının kalınlaştığı ifade edilmektedir. Ovulasyon anında foliküllerin anekoik görünömlerini yitirerek, zamanla hipoekoik bir görüntö kazandıkları bildirilmektedir (Renton vd., 1992; Dieterich 1994),. Sunulan çalışmada, östrüs döneminde proöstrüs döneminde gözlenenden daha büyük foliköler yapılar gözlenirken, östrüs döneminde foliküllerin daha hipoekoik oldukları gözlendi. Bu bağlamda, östrüs döneminde ovaryumların görüntöleri bahsi geçen araştırmacılarla paralellik gösterdi. Diğerk taraftan, östrüs döneminde olan bir köpeğin ovaryum sınırlarının B-mod ultrasonografi ile belirgin şekilde görüntölenebileceği öngörölmektedir.

Aires vd. (2021), erken diöstrüs döneminde ovaryum sınırlarının hafif düzensiz şekilde olduğunu, kalınlaşmış düzenli duvarlara sahip küçük kavite alanların korpus luteuma karşılık geldiği vurgulamaktadırlar. Yılmaz (2005) tarafından yapılan çalışmada, diöstrüs döneminde bir köpekte ovaryum üzerinde sınırları belirgin olan, anekojenden hipoekojene değişen görünömdede, korpus luteum olduğu düşünölen yapıların varlığı aktarılmaktadır. England vd. (2003), tarafından luteal fazda ovaryumların değerlendirildiği bir çalışmada korpus luteumun ekojenitesinin mevcut ovaryum dokusundan farklı olmayacağı belirtilmektedir. Renton vd. (1992) tarafından yeni şekillenen korpus luteumun hala foliköler sıvı içerdeğini, bu yüzden foliköl ve gelişen korpus luteumun hemen hemen aynı ekojeniteye sahip olduğu bildirilmektedir England (1995), korpus luteumun duvar kalınlığının folikölün duvar kalınlığından fazla olduğunu

ifade etmektedir. Wallace vd. (1992), erken diöstrüs döneminde hiperekoik olduğu kadar anekoik-hipoekoik alanların izlenebildiğini ve bu alanların kistik luteinize foliküller, ovule olmamış foliküller, korpus hemorajikum ya da korpus luteumu yansıttığını vurgulamaktadır. Sunulan çalışmada, erken diöstrüs döneminde ovaryum stromasından ayırt edilebilen, merkezindeki anekoik ekojenitedeki yapıları çevreleyen hipoekoik oval yapılar gözlemlendi. Diöstrüsün daha ileri aşamalarında ise erken döneme kıyasla anekoik yapıların belirgin şekilde görülmeyeceği, bununla birlikte ultrasonografide daha hipoekojenik alanların gözleneceği belirlendi. Bu bağlamda, çalışmanın sonuçları araştırmacıların (Renton vd., 1992; Aires vd., 2021b) sonuçları ile kıyaslandığında, erken diöstrüs döneminde luteal yapıların şekillenebileceği ancak ekojenitesinin foliküler yapı ile karıştırılabileceğinin unutulmaması gerektiği ileri sürülmektedir. Yapılan bir araştırmada erken diöstrüs döneminde görülen morfolojilerin karıştırılmaması için ultrasonografi muayenelerinde görülen yapıların boyutlarının ölçülmesinin ve birbirini takip eden muayenelerin faydalı olabileceği ifade edilmektedir (England, 1995). Sunulan çalışmada diöstrüsün ilerleyen günlerinde hipoekojen alanların görülmesi, bahsi geçen araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdi (England vd., 2003; Yılmaz, 2005). Diğer taraftan, diöstrüsün ilerleyen günlerinde hipoekoik ekojenitede bulunabilen luteal yapıların ayrımlarının yapılabilmesi noktasında, operatör deneyiminin belirleyici olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda, anekojenden hipoekojene olan değişimlerin fark edilmesinde takipli ultrasonografi muayenelerinin daha etkin olabileceği ileri sürülmektedir.

Proöstrüsün ilk birkaç gününde, Nyquist sınır en düşük ayarda olsa bile çoğu ovaryumun renk kodlu kan akışının tespit edilemediği belirtilmektedir. Foliküler fazın ilerleyen aşamalarında ise ovaryum içindeki renk piksellerinin sayısı, kapsamı ve yoğunluğunun giderek arttığı, böylece vazkularizasyonun izlenme durumunun da arttığı ifade edilmektedir (Köster vd., 2001). Vermeulen (2009) foliküler fazın ilk bir kaç gününde ovaryumlarda renk piksellerinin çok zor tespit edilebildiğini vurgulamaktadır. Foliküler fazın ilerlemesiyle, ovaryum içindeki renk piksellerinin sayısı, kapsamı ve yoğunluğunun giderek arttığı bildirilmektedir. Piksel yoğunluğundaki bu artışlar ise LH zirvesi civarında meydana gelmektedir (Vermeulen 2009). Ovulasyondan yaklaşık bir gün önce ve takip eden günlerde ovaryum kan akışında artış olduğu ifade edilmektedir (Pellerito ve Polak,

2012). Köpeklerde LH zirvesi, fizyolojik olarak proöstrüs döneminin bittiğini gösteren önemli bir bulgudur. Diğer taraftan, ovulasyonun da LH zirvesinden yaklaşık 2-3 gün sonra şekillenmesinin beklendiği ifade edilmektedir (Kalkan ve Öcal, 2013). Sunulan çalışmada, proöstrüsün erken ($2,14 \pm 0,17$), orta ($2,16 \pm 0,40$) ve geç ($2,40 \pm 0,26$) dönemlerinde vaskülarizasyonun arttığı gözlenmekle birlikte istatistiksel olarak farklılık oluşmadığı belirlendi. Bununla birlikte, yukarıda söz edilen çalışmalardan farklı olarak erken proöstrüs döneminde ovaryumlarda vaskülarizasyonun varlığının tespit edilebildiği görüldü. Bunun nedeninin, sunulan çalışmada proöstrüs döneminde değerlendirilen olguların, anöstrüs evresinden proöstrüs dönemine geçişlerinin kesin olarak bilindiği olgulardan oluşmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Proöstrüs dönemindeki hayvanların, proöstrüs kanaması başlamış ve hasta sahibinin bu durumdan kaynaklı kısırlaştırma isteği ile getirilen olgular olması, foliküler fazın başlangıç zamanının değerlendirilememiş olmasına neden olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan, proöstrüs dönemindeki kan progesteron düzeylerinin de bu yaklaşımı desteklediği görülmektedir. Dolayısıyla, Doppler ultrasonografik muayenelerin proöstrüs döneminde günlük olarak gerçekleştirilmesi gerektiği ve bu muayenelerin vajinal sitoloji ve/veya kan progesteron muayeneleri ile desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Proöstrüs dönemi köpeklerde 2-22 gün arasında sürebilen, geniş aralıklı ve değişken bir dönemdir. Bununla birlikte, LH zirvesi zamanı da köpekler arasında farklılık göstermektedir (Kalkan ve Öcal, 2013). Çoğu köpekte maksimum renklenmenin LH dalgalanmasından iki gün sonra, tahminen ovulasyon gününde yahut takip eden diğer günlerde görüldüğü ifade edilmektedir (Vermeulen, 2009). Barbosa vd. (2013) renkli Doppler ultrasonografi ile yapılan ovaryum muayenelerinde ovulasyon günü ve takip eden günlerde ovaryumda kan akışında artış olduğunu bildirmektedirler. Yine farklı araştırmacılar, ovulasyondan yaklaşık bir gün önce ve takip eden günlerde ovaryumda kan akışında artış olduğunu aktarmaktadırlar (Pellerito ve Polak, 2012). Bergeron vd. (2013) LH zirvesi öncesi ve takip eden sonraki günlerde ovaryum dokusunun vaskülarizasyonu sonucunda oluşan renk piksellerini değerlendirdikleri çalışmalarında, LH zirvesinden önceki 3 gün, LH zirvesi ve takip eden 4 gün boyunca renk piksellerinde kademeli bir artış olduğunu vurgulamaktadırlar. Mansour vd. (2020), ovulasyon gününden 4 gün sonrasına kadar gün aşırı gerçekleştirdikleri muayeneler sonrasında,

proöstrüsün sonundan ovulasyona kadar olan süreçte kanlanmanın kademeli olarak arttığını, ovulasyon gününde maksimum düzeye ulaştığını ve ovulasyondan sonraki birkaç gün boyunca artan vaskülarizasyon miktarının düzeyini koruduğunu gözlemlediklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada değerlendirilen olguların ovulasyon öncesi ve takip eden günlerde günlük olacak şekilde muayeneleri yapılmayarak sadece muayene zamanındaki ovaryum vaskülarizasyonu skorlandı. Her ne kadar kan progesteron düzeylerine göre ovulasyon ile ilgili yorumlar yapılabilecek olsa da ovulasyonun gerçekleşme zamanı ile ilgili kesin bir hüküm ifade edilememektedir. Diğer taraftan, sitolojik olarak östrüs döneminde olduğu tespit edilen hayvanlarda ovaryum vaskülarizasyon skorlamasının diğer dönemlere göre istatistiksel olarak fark oluşturacak düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi. Sunulan çalışma ile Doppler ultrasonografide elde edilen yüksek vaskülarizasyonun, köpeklerde östrüs döneminin teşhisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Günlük olarak yapılacak muayeneler ile ovulasyon zamanı ile ilgili de yorumların gerçekleştirilebileceği ileri sürülmektedir. Buna ek olarak, foliküler fazın ilerlemesiyle ovaryumlardaki kanlanmanın artması durumunun, diğer araştırmacıların (Köster vd., 2001; Vermeulen 2009; Pellerito ve Polak, 2012; Barbosa vd., 2013; Bergeron vd., 2013; Mansour vd., 2020, Yousry vd., 2022) çalışmaları ile paralellik göstermesi nedeniyle foliküler fazın başlangıcı ile östrüs dönemi sürecinin düzenli bir şekilde takip edilmesinin, günlük muayenelerin önemli olduğunu ortaya koyduğu düşünülmektedir.

Sitolojik muayenesinde diöstrüs döneminde çıkan köpeklerde, diöstrüsün birinci gününden yaklaşık 10 gün sonra tekrar Doppler ultrasonografi muayenesi yapıldığında hala yüksek kan akışının izlendiği belirtilmektedir (Vermeulen 2009). Diğer taraftan, Yousry vd. (2022) LH zirvesinin takibiyle ovaryumların vaskülarizasyonlarını subjektif olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, LH zirvesi öncesindeki 5 gün boyunca kanlanmanın kademeli olarak arttığını, maksimum kanlanmanın LH zirvesinin olduğu gün gerçekleştiğini, ilerleyen günlerde ise kanlanmanın kademeli olarak azaldığını bildirmektedirler. Sunulan çalışmada, muayeneler sonucunda yapılan skorlamalarda erken diöstrüs evresinde ($1,75 \pm 0,31$) ve diöstrüs döneminde ($1,90 \pm 0,23$) izlenen skorlamaların östrüs dönemine ($3,60 \pm 0,16$) göre düşük olduğu ve proöstrüs dönemleri (erken, $2,14 \pm 0,17$; orta, $2,16 \pm 0,40$; geç $2,40 \pm 0,26$) ile istatistiksel olarak fark

oluşturmadığı gözlemlendi. Elde edilen bulguların Yousry vd. (2022)'nin LH zirvesi sonrası ilerleyen günlerde kanlanmanın kademeli olarak azaldığı bulgusu ile uyumlu olduğu izlenirken, kanlanma düzeyinin diöstrüs döneminin ilerleyen zamanlarında azalma eğiliminde olacağı ileri sürülmektedir. Luteal fazın ileri evrelerinde B mod ultrasonografide korpus luteumun ekojenitesinin mevcut ovaryum dokusundan farklı olmayacağı ve luteal dokunun ayırt edilmesindeki zorluklardan dolayı (England vd. 2003), östrüs boyunca ve sitolojik olarak diöstrüsün başladığı gün ve takip eden günlerdeki Doppler ultrasonografik değerlendirilmelerin daha güvenilir bulgular ortaya koyabileceği düşünülmektedir.

Bir kitlenin ovaryum kökenli olduğunu, uygun konumu, böbreklere kaudal olması ve kornu uteri ile ilişkili olması gibi durumlar doğrulayabilmektedir. Aynı zamanda kitlenin ilişik olduğu bölgenin doğrulanabilmesi için Renkli Doppler ultrasonografi de kullanılabilir. Ultrasonografi muayenelerinde ovaryumlar genellikle tek taraflı büyümüş şekilde izlenebilmektedir. Ovaryumlarda gözlenen lezyonlar, homojen yapıya sahip kompakt ya da içinde sıvı dolu boşluklar bulunan kistik yapılar şeklinde bulunabilmektedir. Bu lezyonlar, ovaryum tümörlerinin farklı türlerini ya da evrelerini gösterebilmektedir. Genellikle heterojen bir görünüm izlenirken normal görünümde bozulmalar oluşabilmektedir. Yapısal açıdan katı olabilirken ayrıca içinde küçük kistler de bulunabilmektedir (Russo vd., 2021). Ultrasonografi, ovaryum kitlelerinin tespiti için hassas bir yöntem olarak kabul edilebilmektedir. Ancak ultrasonografi muayenelerinin tümör tipinin kesin olarak doğrulanmasında yeterli olmadığı da belirtilmektedir (Russo vd., 2021). Tümörler ultrasonografik görünümüne göre kompakt (adenokarsinom, tekoma), kompakt-kistik bileşenli (adenokarsinom, granuloza hücre tümörü, disgerminom) ve kistik (adenom, teratoma) olarak sınıflandırılabilir (Diez-Bru vd., 1998). Teratomlar genellikle kistik yapıda olup saç, deri, ter bezleri, kıkırdak, kemik ve diş gibi farklı yapılar içerebilmektedir. Bu doku farklılıklarının etkisiyle heterojen görünüme sahip olup anekoik alanları içerisinde barındırabilmektedir (Russo vd., 2021). Renkli Doppler ultrasonografinin ise ovaryum kitlelerini tanımlamada yardımcı olabileceği bildirilmektedir (Rowan vd., 2017). Sunulan çalışmada, B mod görüntülemeye sol ovaryumu sağ ovaryuma göre daha büyük, Doppler ultrasonografide daha fazla vaskülarizasyonun izlendiği, postoperatif muayenede ise sol ovaryumun diğer

ovaryuma göre oldukça büyük ve sert olduğu bir olgu ile karşılaşıldı. Ovaryumlarda uzunlamasına yapılan kesitlerde sol varyum medullasında bolca irin ve kıl yumağı görüldü. Sağ ovaryumun ise fizyolojik yapısını koruduğu ve luteal yapılar içerdiği saptandı. Bu bulgular doğrultusunda da neoplastik yapıya sahip olan sol ovaryumda teratoma teşhisi konuldu. Çalışmada elde edilen bulguların diğerk araştırmacıların (Diez-Bru vd., 1998; Rowan vd., 2017; Russo vd., 2021) bulguları ile uyumlu olduğu gözlemlendi. Sunulan çalışmada, Doppler ultrasonografi ile neoplastik yapının türünün teşhis etmede tek başına etkili olamayacağı ileri sürülmekle birlikte, her iki ovaryum arasında belirgin vaskülarizasyon farkları olması durumunda neoplastik yapılardan şüphelenilmesi gerektiği düşünülmektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmada, köpeklerde seksüel siklus dönemlerinin tespitinde serum progesteron ölçümlerinin tek başına değerlendirilmesi ile özellikle östrüs ve diöstrüsün erken dönemlerinde kesin sonuçlar ortaya çıkaramayabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan, progesteron ölçümlerine ek olarak kornifikasyonun izlendiği vajinal sitolojik muayene sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi ile östrüs ve diöstrüs dönemlerinin ayrımlarının kolaylıkla yapılabileceği ileri sürülmektedir. Ovaryumların Doppler ultrasonografi ile muayenelerinde, diöstrüs ve proöstrüs dönemlerinde benzer seyreden vaskülarizasyonun proöstrüste ovaryumlarda izlenen anekoik foliküller ve diöstrüs döneminde izlenen hipoeoik lüteal yapıların B mod ile tespit edilmesi ile ayırt edilebileceği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, östrüs döneminde izlenen yüksek düzeydeki vaskülarizasyonun siklusun tespitini sağlayabileceği ancak, ovulasyonun şekillenmiş olabileceğinin göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmektedir. Köpeklerde Doppler ultrasonografi ile seksüel siklus tespitinde tek bir muayene yapılacaksa, kan progesteron değerleriyle birlikte vajinal sitolojik muayene sonuçlarının değerlendirilmesi gerektiği, daha doğru sonuçlar almak için muayenelerin teşhis netleşinceye kadar günlük devam ettirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Aires, L. P. N., Gasser, B., Silva, P., Da Silva, P. D. A., Silveira, M. V., Carneiro, R. K., Feliciano, M. A. R. (2021a). High-definition ultrasonography in the evaluation of the reproductive tract of bitches during the follicular phase of the estrous cycle. *Anim Reprod Sci*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106870>
- Aires, L.P.N., Gasser, B., Silva, P., Del'Aguila-Silva, P., Yamada, D. I., Carneiro, R. K., Feliciano, M. A. R. (2022). Ovarian contrast-enhanced ultrasonography and Doppler fluxometry in bitches during the postovulatory estrus and corpora lutea formation. *Theriogenology*, 194: 162-170.
- Aires, L.P.N., Pavan, L., Gasser, B., Silva, P., Cristina, M., Maronezi, P. D. A. D. S., Feliciano, M. A. R. (2021b). Ultrasonographic aspects of the uterus and ovaries of bitches during the estrous cycle—paper review. *Rev Bras Reprod Anim*, 45(1): 3-11.
- Ajadi, T., Omoshaba, E., Olaleye, S. (2019). Plasma progesterone and vaginal bacterial flora at different stages of estrous cycle in breeding bitches. *Alex J Vet Sci*, 61(1): 15-21.
- Alkan, K. K., Ceylan, A., Alkan, H., Ozen, D., Bayraktaroglu, A. G., Kaymaz, M. (2019). Immunohistochemical and qPCR determination of the expression and serum level of anti-Müllerian hormone in pre-pubertal, intact and ovarian remnant syndrome detected bitches. *Reprod Domest Anim*, 54, 979–986.
- Alkan, K. K., Çiftçi, M. F., Yeşilkaya, Ö. F., Satılmış, F., Tekindal, M. A., Alkan, H. 2020. Pyometralı köpeklerde laktat dehidrogenaz, tam kan ve bazı serum biyokimya parametreleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Eurasian J Vet Sci*, 36: 204–213.
- Anim Pract*, 42(3): 423-437.
- Antonov, A. L. (2017). Application of Exfoliative Vaginal Cytology in Clinical Canine Reproduction. *Bulg J Vet Med*, 20(3): 193-203.
- Arlt, S. (2018). Canine ovulation timing: A survey on methodology and an assessment on reliability of vaginal cytology. *Reprod Dom Anim*, 53: 53-62.
- Aslan, S., Bollwein, H., Stolla, R. (2008). İneklerde follikül, corpus luteum, ovaryum kistleri olgularında renkli doppler ultrasonografi aracılığıyla vaskülarizasyon değişikliklerinin incelenmesi. *Vet Fak Derg*, 55(2): 89-94.
- Bante, N. K., Sahatpure, S. K., Bawaskar, M.S., Raghuwanshi, D.S. (2023). Determination of Ovulation Timing by Vaginal Cytology Using Different Stains. *Indian Vet J*, 15(2): 135-137
- Barbosa, C. C., Souza, M. B., Scalercio, S. R., Silva, T. F., Domingues, S. F., Silva, L. D. (2013). Ovarian and uterine periovulatory Doppler ultrasonography in bitches. *Pesqui Vet Bras*, 33: 1144-1150.
- Barstow, C., Wilborn, R. R., Johnson, A. K. (2018). Breeding soundness examination of the bitch. *Vet Clin Nort Am Small Anim Pract*, 48(4): 547-566.
- Basu, S., Mishra, R. M., Bandyopadhyay, S. K., De, D.K. (2011). Vaginal Cytology in Different Phases of Estrus Cycle in Bitch. *Indian Vet J*, 3(1): 29-31
- Bergeron, L. H., 2010, Evaluation Of Ovary Ultrasonography and Vaginal Impedometry for Monitoring Periovulatory Events in The Bitch, Master of Science, 124, Canada.
- Bergeron, L. H., Nykamp, S. G., Brisson, B. A., Madan, P., Gartley, C. J. (2013). An evaluation of B-mode and color Doppler ultrasonography for detecting periovulatory events in the bitch. *Theriogenology*, 79(2): 274-283.
- Bollwein, H., Heppelmann, M., Lüttgenau, J. (2016). Ultrasonographic Doppler use for female reproduction management. *Vet Clin Nort Am Food Anim Pract*, 32(1): 149-164.
- Bulut, G. (2021). Evaluation of Functional Structures in the Ovaries Pre and Post Ovulation by Doppler Ultrasonography in Bitches. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 16(2): 219-224.

- Cole, R., Hespel, A. M. (2020). Ultrasound: Physical Principles of Ultrasound Imaging. In: Feline Diagnostic Imaging. Eds: Holland, M., Hudson, J., SPi Global, India, p:27-35.
- Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim Reprod Sci*, 124(3-4): 200-210.
- da Silva, M. L. M., de Oliveira, R. P. M., de Oliveira, F. F. (2020). Evaluation of sexual behavior and reproductive cycle of bitches. *Braz J Dev*, 6(11): 84186-84196.
- Davidson, A. P., Baker, T. W. (2009). Reproductive Ultrasound Of The Bitch And Queen. *Top Companion Anim Med*, 24(2): 55-63.
- De Carvalho, C. F., Magalhães, J. R., Magalhães, A. M., Guimarães, K. C. D. D. S., de Moraes, R. S., de Sousa, D. B., do Amaral, A. V. C. (2021b). Pulsed-wave Doppler Ultrasound in canine reproductive system–Part 2: use in the routine. *Res Soc Dev*, 10(5): <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.15352>.
- De Carvalho, C. F., Magalhães, J. R., Martins, A. M., Guimarães, K. C. D. D. S., de Moraes, R. S., de Sousa, D. B., do Amaral, A. V. C. (2021a). Pulsed-wave Doppler ultrasound in canine reproductive system–Part 1: technical aspects. *Res Soc Dev*, 10(5): <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.15348>.
- de Freitas, L. A., Mota, G. L., Silva, H. V. R., Carvalho, C. F., da Silva, L. D. M. (2016). Can maternal-fetal hemodynamics influence prenatal development in dogs?. *Anim Reprod Sci*, 172: 83-93.
- Dieterich, J. (1994). *Anwendung der Sonographie zum direkten Ovulationsnachweis und zur Erhebung zyklischer Ovarbefunde bei der Hündin* (Doctoral dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover).
- Diez-Bru, N., Garcia-Real, I., Martinez, E. M., Rollan, E., Mayenco, A., Llorens, P. (1998). Ultrasonographic appearance of ovarian tumors in 10 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 39(3): 226-233.
- Dinç, D. A. (2008). Ultrason Fiziği ve İneklerde Reprodüktif Ultrasonografi. Pozitif Matbaacılık, Konya.
- Eker, K., Salmanoğlu, M. R., Kaya, D. (2003). Siklusun değişik aşamalarındaki dişi köpeklerin ovaryumlarının ultrasonografi ile saptanması, ovariohisterektomi operasyonu öncesi (in-vivo) ultrasonografi ile elde edilen ölçülerin, operasyon sonrası (in-vitro) kompas ölçüleri ile karşılaştırılması. I. *Türk Veteriner Jinekoloji Kongresi, Konya-Türkiye*, 4-6.
- England, G. C. W. (1995) Small animal reproductive ultrasonography (1 st ed). In: Goddard, P.J. (ed) Veterinary ultrasonography. Cab International, Cambridge.
- England, G. C. W., Allen, W. E. (1989). Ultrasonographic and histological appearance of the canine ovary.
- England, G. C. W., Russo, M., Freeman, S. L. (2009). Follicular dynamics, ovulation and conception rates in bitches. *Reprod Dom Anim*, 44: 53-58.
- England, G. C. W., Yeager, A., Concannon, P.W. (2003) Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch. In: Recent advances in small animal reproduction. www.ivis.org. Erişim Tarihi: 14.03.2024
- England, G.C.W. (1995) Small animal reproductive ultrasonography (1 st ed). In: Goddard, P.J. (ed) Veterinary ultrasonography. Cab International, Cambridge.
- Erdoğan, G. (2018) Veteriner Jinekolojide Doppler Ultrasonografi Kullanım Alanları, *Türk Klin J Vet Sci Obstet Gynecol*, 4(1): 43-49.
- Feldman, E. C., Nelson, R. W. (2004). Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed., Elsevier Inc, United States of America, p: 752-774.
- Feliciano, M. A. R., Nepomuceno, A. C., Cardilli, D. J., Coutinho, L. N., Oliveira, M. E. F., de Almeida, V. T., Vicente, W. R. R. (2013). B-mode ultrasound and Doppler mode for early-stage pregnancy diagnosis in shi-tzu bitches. *Acta Sci Vet*, 41(1): 1-6.
- Ferreira, J. C., Ignácio, F. S., de Meira, C. (2011). Doppler ultrasonography principles and methods of evaluation of the reproductive tract in mares. *Acta Sci Vet*, 39(1): 105-111

- Gallego, L.S., Masserdotti, C. (2016). Reproductive System. In: Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide. Eds: Raskin, R.E., Meyer, D.J. 3rd ed., Elsevier Inc., China, p: 313-352
- Ginther, O. J., Utt, M. D. (2004). Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *J Equi Vet Sci*, 24(12): 516-526.
- Ginther, O.J. (2007). Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography. Equiservices, USA
- Gloria, A., Contri, A., Carluccio, A., Robbe, D. (2018). Blood periovulatory progesterone quantification using different techniques in the dog. *Anim Reprod Sci*, 192: 179-184.
- Gorgas, D. (2016). Physical Principles. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Ultrasonography. Eds: Barr, F., Gaschen, L., 3rd ed., Parkson Graphics, India, p:1-14
- Groppetti, D., Aralla, M., Bronzo, V., Bosi, G., Pecile, A., Arrighi, S. (2015). Periovulatory time in the bitch: What's new to know?: Comparison between ovarian histology and clinical features. *Anim Reprod Sci*, 152: 108-116.
- Gündüz, M.C., Yüksel, M. (2013). Genital Organların Muayenesi. İçinde: Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji. Eds: Kaymaz, M., Fındık M., Rışvanlı A., Köker A., Medipres Matbaacılık, Malatya, s: 63-80.
- Haji, M., Ahmed, F. A., Lalrintluanga, K., Talukdar, D. J., Doley, P. J., Behera, S., Sarma, K. (2018). The Role of Estrogen and Progesterone Hormone on Vaginal Cytology in Bitch. *International J Livestock Research*, 8(09): 241-247.
- Hayer, P. J. (1991). Untersuchungen zur sonographischen Darstellbarkeit der Follikelreifung, Ovulation und Gelbkörperanbildung beim Hund.
- Hayer, P., Günzel-Apel, A. R., Lüerssen, D., Hoppen, H. O. (1993). Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch. *J Reprod Fertil Suppl*, 47: 93-100.
- Herzog, K., Bollwein, H. (2007). Application of Doppler Ultrasonography in Cattle reproduction. *Reprod Dom Anim*, 42: 51-58.
- Hewitt, D., England, G. (2000). Assessment of Optimal Mating Time in The Bitch. *In Pract*, 22(1): 24-33.
- Holubiev, O. V., Skliarov, P. M., Pérez-Marín, C. C., Mylostyyi, R. V., Vakulyk, V. V., Suslova, N. I. (2023). Advantages and difficulties of ultrasound analysis to determine the fertile period in bitches. *Theoretical Applied Vet Med*, 11(2): 14-20.
- Jurczak, A., Janowski, T. (2018). Arterial ovarian blood flow in the periovulatory period of GnRH-induced and spontaneous estrous cycles of bitches. *Theriogenology*, 119: 131-136.
- Kalkan, C., Öcal, H. (2013). Üreme Fizyolojisi. İçinde: Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji. Eds: Kaymaz, M., Fındık, M., Rışvanlı, A., Köker, A., Medipres Matbaacılık, Malatya, s:27-62
- Köster, K., Poulsen Nautrup, C., Güzel-Apel, A. R. (2001). A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch. *Reprod*, 122: 453-461.
- Kumar, K., Sengupta, D., Sheetal, S. K., Kumar, A. (2023). Vaginal Cytology: Method for Detection of Estrus in Canine. *Pharma Inno*, 12(3): 1493-1494.
- Kustritz M. V. R. (2020). Vaginal Cytology in the Bitch and Queen. In: Vaginal Cytology. Eds: Sharkey, L. C., Radin, M. J., Seelig, D., 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., USA, p: 552-558
- Kustritz, M. V. R. (2012). Managing the reproductive cycle in the bitch. *Vet Clin Nort Am Small Lamb*, C., Boswood, A. (2005). Doppler ultrasound examination in dogs and cats: 1. The principles. *Pract*, 27(4): 183-189.
- Lévy, X., Fontbonne, A. (2007). Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. *Rev Bras Reprod Anim*, 31(1): 128-134.
- Liu, I. L., Lee, C. H., Shih, P. C., Wang, S. L. (2020). Accuracy and patient acceptance of vulvar stamp smear for estrous cycle evaluation in dogs. *Taiwan Vet J*, 46: 95-99.
- MacNeill, A. L. (2017). Cytology of The Reproductive System. In: Small Animal Cytologic Diagnosis. Eds: Barger, A. M., MacNeill, A. L., Taylor Francis Group, USA, p: 433-454

- Mali, A. B., Mehar, R. M., Kapane, S. H., Hadimani, M. R. (2022). Scanning the Future: Veterinary Reproductive Ultrasonography. *Anim Reprod Update*, 2(1): 82-89
- Mansour, A., Abdeldjelil, M. C., Khellaf, D. K., Adel, A. (2020). Color-Doppler Ultrasonography to Predict the Moment of Ovulation in the Bitch. *Adv Anim Vet Sci*, 8(7): 709-714
- Mantis, P. (2008). Ultrasonography of the urinary and genital system of the dog and cat.
- Mattoon, J.S., Berry, C.R. (2021). Fundamentals of Diagnostic Ultrasound. In: Small Animal Diagnostic Ultrasound. Eds: Mattoon, J.S., Sellon, R.K., Berry, C.R., 4nd ed., Elsevier Inc., China, p: 1-48
- Maulik, D. (2005). (ed) Doppler Ultrasound Obstetric and Gynaecology. 2th ed., Springer Verlag, Berlin, p: 1-17.
- Meomartino, L., Greco, A., Di Giancamillo, M., Brunetti, A., & Gnudi, G. (2021). Imaging Techniques in Veterinary Medicine. Part I: Radiography and Ultrasonography. *Eur J Radiol Open*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejro.2021.100382>
- Nesa, N. L. M. S., Trilaksana, I. G. N. B., Puja, I. K. (2022). Vaginal cytology and receptivity to mating behaviour of Kintamani bitch during the proestrus to estrus phase. *Int J Vet Sci Anim Husband*, 7(3): 38-41.
- Nicolás-Barceló, P., Facchin, M., Martínez-Taboada, F., Barrera, R., Cristóbal, J. I., González, M. A., Durán-Galea, A., Macías-García, B., Duque, F. J. (2021). Effects of Sedation with Medetomidine and Dexmedetomidine on Doppler measurements of ovarian artery blood Flow in Bitches. *Anim*, 11(2): 1-8.
- Noakes, D. E., Parkinson, T.J., England, G. C. W., (2019). Veterinary Reproduction and Obstetrics. 10nd ed., Elsevier Inc., China, p: 27-31.
- Oglat, A. A., Matjafri, M. Z., Suardi, N., Oqlat, M. A., Abdelrahman, M. A., Oqlat, A. A. (2018). A Review of Medical Doppler Ultrasonography of Blood Flow in General and Especially in Common Carotid Artery. *J Med Ultrasound*, 26(1): 3-13
- Pellerito, J., Polak, J. F. (2012). Duplex ultrasound evaluation of the uterus and ovaries. *Introduction to Vascular Ultrasonography. 6th edition. Philadelphia. Elsevier*, 540-58.
- Petridis, I. G., Barbagianni, M. S., Ioannidi, K. S., Samaras, E., Fthenakis, G. C., Vloumidi, E. I. (2017). Doppler ultrasonographic examination in sheep. *Small Rumin Res*, 152: 22-32.
- Pollard, R., Hecht, S. (2015). Female Reproductive Tract. In: Atlas of Small Animal Ultrasonography. Eds: Penninck, D., d'Anjou, M., 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., USA, p: 403-421
- Renton, J. P., Boyd, J. S., Harvey, M. J. A., Ferguson, J. M., Nickson, D. A., Eckersall, P. D. (1992). Comparison of endocrine changes and ultrasound as means of identifying ovulation in the bitch. *Res Vet Sci*, 53(1): 74-79.
- Rota, A., Vannozzi, I., Marianelli, S., Gavazza, A., Lubas, G. (2016). Laboratory and Clinical Evaluation of a FEIA Method for Canine Serum Progesterone Assay. *Reprod Dom Anim*, 51(1): 69-74.
- Rowan, C., Cuddy, L., Bryan, J., Shiel, R., Hoey, S. (2017). Imaging diagnosis computed tomography findings in a case of metastatic ovarian adenocarcinoma in a dog. *Vet Radiol Ultrasound*, 58(6): E60-E63.
- Russo, M., England, G. C., Catone, G., Marino, G. (2021). Imaging Of Canine Neoplastic Reproductive Disorders. *Anim*, 11: 1-12
- Siena, G., Milani, C. (2021). Usefulness of Maternal and Fetal Parameters for the Prediction of Parturition Date in Dogs. *Anim*, 11(3): 1-17.
- Simon, S., Ramanathan, A., Ghosh, K. N. (2022). Doppler ultrasonographic assessment of maternal and foetal blood flow in canine pregnancy and its application in the critical management of gestation. *Indian J Anim Res*, 56(7): 811-821.
- Szatmári, V., Sótonyi, P., Vörös, K. (2001). Normal Duplex Doppler Waveforms Of Major Abdominal Blood Vessels In Dogs: A Review. *Vet Radiol Ultrasound*, 42(2): 93-107.

- Umamageswari, J., Sridevi, P., Joseph, C. (2018). Doppler Indices Of Umbilical Artery, Utero-Placental Artery And Fetal Aorta During Normal Gestation In Bitches. *Indian J Anim Reprod*, 39(1): 41-43.
- Vermeulen, M. A. E., 2009, Ovarian Color-Doppler Ultrasonography to Predict Ovulation in the Bitch, Louisiana State University, Master Thesis, 30p, Louisiana.
- Viana, J. H. M., Arashiro, E. K. N., Siqueira, L. G. B., Ghetti, A. M., Areas, V. S., Guimarães, C. R. B., Fernandes, C. A. C. (2018). Doppler ultrasonography as a tool for ovarian management. *Anim Reprod*, 10(3): 215-222.
- Wallace, S. S., Mahaffey, M. B., Miller, D. M., Thompson, F. N., Chakraborty, P. K. (1992). Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. *Am J Vet Res*, 53(2): 209-215.
- Yılmaz, O., 2005, Köpeklerde Ovaryumların Ultrasonografik ve Postoperatif Muayeneleri, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 63s, Afyonkarahisar.
- Yousry, M., Fadel, M. S., Sosa, G. A., El-Naby, A. S., Agag, M. A. (2022). Exploring of Ovulation Time in Bitches by Utilizing Cytological Survey and Doppler Ultrasonography. *Benha Vet Med J*, 42(1): 86-89



