

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNEKLERDE TOHUMLAMA SIRASI VE SONRASI  
GnRH VEYA hCG KULLANIMININ KAN SERUMU  
PROGESTERON DÜZEYLERİ VE GEBE KALMA  
ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Zahid PAKSOY**

**ELAZIĞ - 2008**

## ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ

Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cahit KALKAN



Danışman

### Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

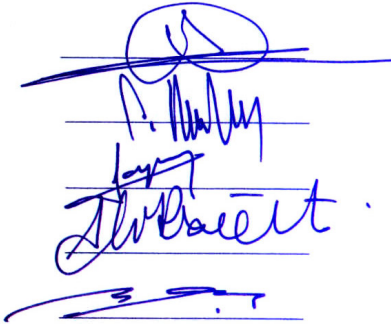
Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Prof. Dr. Tayfur BEKYÜREK

Doç. Dr. Ali RIŞVANLI

Doç. Dr. Mehmet ÇAY



## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım süresince her zaman yardımlarını gördüğüm, danışmanım Prof. Dr. Cahit KALKAN ile Anabilim Dalımız öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ, Prof. Dr. Ali Mükremin APAYDIN, Prof. Dr. Halis ÖCAL, Doç. Dr. Ali RİŐVANLI, Doç. Dr. Hamit YILDIZ, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin TİMURKAN ve Arő. Gör. Dr. Muhterem AYDIN'a ve Arő. Gör. Nevzat SAAT'e, laboratuvar, alet ve ekipmanlarından faydalanmama izin veren Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, Kahramanmaraş Hünkar Kuyumculuk ve Hayvancılık Őirketinin Yöneticisi Eőref ŐEKERLİ'ye ve 1317 numaralı proje ile bu çalıőmayı destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (FÜBAP) teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİL LİSTESİ .....	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
2. ABSTRACT .....	3
3. GİRİŞ .....	5
3.1. Östrüs Siklusu.....	6
3.2. Östrüs Siklusunun Evreleri .....	7
3.2.1. Proöstrüs.....	8
3.2.1.1. Folikül Dinamiği.....	8
3.2.2. Östrüs .....	9
3.2.3. Metöstrüs .....	10
3.2.3.1. Ovulasyon.....	10
3.2.4. Diöstrüs .....	12
3.3. Fertilizasyon .....	13
3.4. Erken Embriyonik Dönem .....	14
3.5. Embriyo Sinyalleri ve Gebeliğin Anne Tarafından Tanınması.....	15
3.6. Erken Embriyonik Ölüm.....	16
3.6.1. Endokrinolojik Nedenlere Bağlı Embriyonik Kayıplar .....	17
3.7. GnRH .....	19
3.7.1. GnRH'nın Yapısı ve Sentezi .....	19

3.7.2. GnRH'nın Analogları.....	21
3.7.3. GnRH'nın Klinik Kullanımı ve Uygulama yolları .....	22
3.8. hCG.....	23
3.8.1. hCG'nin Yapısı ve Sentezi .....	23
3.8.2. hCG'nin Klinik Kullanımı ve Uygulama Yolları .....	25
3.9. Tohumlama Öncesi GnRH ve hCG Kullanımı.....	26
3.10. Tohumlama Anında GnRH ve hCG Kullanımı.....	28
3.11. Tohumlama Sonrası GnRH ve hCG Kullanımı.....	30
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
4.1. Gereç .....	36
4.1.1. Bakım, Besleme ve Barınak .....	37
4.2. Yöntem.....	37
4.3. Kan Örneklerinin Toplanması .....	39
4.4. Progesteron Tayini.....	39
4.5. Gebelik Kontrolü .....	40
4.6. İstatistiki Analiz.....	40
5. BULGULAR .....	41
6. TARTIŞMA .....	48
7. KAYNAKLAR.....	54
8. ÖZGEÇMİŞ .....	63

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 1. GnRH'nın kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2. hCG'nin yapısı.....	24
Şekil 3. Çalışmanın yapıldığı çiftlik.....	36
Şekil 4. Grupların şematik gösterimi.....	38
Şekil 5. Progesteron miktarının hesaplanmasında kullanılan grafiklerden bir örnek.....	40
Şekil 6. Birinci gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.....	43
Şekil 7. Birinci gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri.....	43
Şekil 8. İkinci gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.....	44
Şekil 9. İkinci gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri. ....	44
Şekil 10. Üçüncü gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.....	45
Şekil 11. Üçüncü gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri. ....	45
Şekil 12. Dördüncü gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri. ....	46
Şekil 13. Dördüncü gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri. ..	46
Şekil 14. Kontrol grubundaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.....	47
Şekil 15. Kontrol grubundaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri. ..	47

## TABLO LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Tablo 1. Uygulama ve kontrol gruplarının gebelik durumları. ....	41
Tablo 2. Uygulama ve kontrol gruplarında gebe olan hayvanların progesteron düzeyleri. ....	42
Tablo 3. Uygulama ve kontrol gruplarında gebe olmayan hayvanların progesteron düzeyleri. ....	42

## 1. ÖZET

Süt sığırı işletmeciliğinde, ineklerden yılda bir yavru elde etmek ve doğum sonrası yapılan ilk suni tohumlamada gebe kalmalarını sağlamak çok önemlidir. Bu hedefe ulaşabilmek için reproduktif yönden sürüde herhangi bir problem bulunmaması gerekir. Postpartum dönemdeki ineklerde pek çok hastalık ve çevresel faktör döl veriminde azalmaya sebep olur. Son yıllarda, laktasyondaki süt sığırlarında, fertilitiyi artırmak için farklı teknikler kullanılmaktadır. Maternal ve fetal ilişkiyi düzenlemek, luteolizisi geciktirmek veya inhibe etmek, korpus luteumun salgıladığı progesteron hormonu konsantrasyonunu yükseltmek, aksesör korpus luteum oluşumunu uyarmak ve sonuç olarak gebe kalma oranlarını artırmak için en sık kullanılan yöntem gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve insan koryonik gonadotropini (hCG) hormonlarının uygulanmasıdır. Bu uygulamalar tohumlamadan önce, tohumlama ile birlikte veya tohumlamadan sonraki 1-15. günler arasında yapılmaktadır.

Bu çalışmada, GnRH veya hCG'nin tek başına ve birlikte suni tohumlama sırası ve sonrası 12. günde kullanımının, ineklerde gebelik oranları ve kan serumu progesteron düzeyleri üzerine olan etkisini araştırmak amaçlandı. Çalışmada materyal olarak, yaşları 2 - 3 olan ve reproduktif problemi olmayan 73 adet Holştayn ve 2 adet Montafon ırkı inek kullanıldı.

Tüm hayvanlar, postpartum 40 - 80. günler arasında gösterdikleri ilk östrüste rastgele beş gruba ayrılarak tohumlandı. Birinci gruba hem tohumlamayı takiben hem de 12. günde 10 µg buserelin asetat uygulandı. İkinci gruba tohumlama anında 10 µg buserelin asetat ve tohumlama sonrası 12. günde 1.500 IU hCG verildi. Üçüncü gruba; hem ST anında hem de tohumlamadan sonraki 12. günde hCG yapıldı. Dördüncü gruba tohumlamayla birlikte hCG ve 12. günde GnRH uygulandı. Beşinci grup, kontrol grubunu oluşturdu.

İneklerin gebelikleri, tohumlama sonrası 45-60. günlerde, rektal muayene ile teşhis edildi. Birinci, dördüncü ve beşinci grupta altışar inek gebe kalırken dokuzar tanesi gebe kalmadı. İkinci ve üçüncü grupta ise yedi inekte gebelik şekillenirken sekizinde gebelik oluşmadı.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada, tohumlama sırası ve sonrası 12. günde GnRH ve hCG uygulamalarının gebe kalma oranlarını artırmada başarılı olmadığı ve progesteron düzeylerinde istatistiksel anlamda önemli bir değişikliğe neden olmadığı tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** İnek, GnRH, hCG, gebelik oranları.

## 2. ABSTRACT

In dairy cattle farming, it is very important to have a calf from a cow within a year and provide it to remain pregnant at first insemination after parturition. For this purpose, there should not be any problem in the herd regarding reproductivity. Many diseases and environmental factors can decrease fertility in postparturient cows. Recently, different techniques have been used to increase the fertility rate in lactating dairy cows. GnRH and hCG hormone administrations are most commonly used method to arrange maternal and fetal relationship, retard or inhibit luteinization, increase the concentration of progesterone hormone released by corpus luteum and to stimulate the formation of accessory corpus luteum. These applications are performed before the insemination, during insemination or between 1-15 days post-insemination.

In this study, it was aimed at evaluating the effects of the administrations of GnRH or hCG's alone and together during and at the 12<sup>th</sup> day of insemination on pregnancy rates and serum progesterone in cows. As the materials of this study, 73 Holstein and 2 Brown Swiss cows of 2-3 years old with no reproductivity problem were used.

All animals were divided randomly into five groups and inseminated in the first oestrus period between the postpartum 40<sup>th</sup> – 80<sup>th</sup> days. The first group cows received 10 µg buserelin acetate both following and the 12<sup>th</sup> days of the insemination. The second group was given 10 µg buserelin acetate during the insemination and 1.500 IU hCG at the 12<sup>th</sup> day after the insemination. In the third group, hCG was applied immediately after and on the 12<sup>th</sup> day of the insemination. The fourth group cows were administered hCG immediately after and GnRH on the 12<sup>th</sup> day of the insemination. The last group was left as control.

The gestation of the cows was diagnosed between 45- 60 after insemination through rectal examination. Six cows from each of the first, fourth and fifth groups and 7 cows from each of the second and third groups were pregnant while the remaining 9 in the first three and 8 in the last two groups were not pregnant.

As a result, in this study, it is identified that GnRH and hCG administration during and at the 12<sup>th</sup> days after insemination period had no effect on pregnancy rate and caused no statistically significant alteration in progesterone level.

**Key Words:** Cow, GnRH, hCG, pregnancy rates.

### 3. GİRİŞ

Sütçü işletmelerde, ineklerden yılda bir yavru elde etmek ve doğum sonrası yapılan ilk suni tohumlamada gebe kalmalarını sağlamak çok önemlidir. Bu hedefe ulaşabilmek için reproduktif yönden sürüde herhangi bir problem bulunmamalıdır. Bununla birlikte postpartum dönemdeki ineklerde pek çok hastalık ve çevresel faktör, döl veriminde azalmaya sebep olur. Döl veriminde azalmanın sebepleri arasında; östrüsün zamanında tespit edilememesi, suböstrüs, anöstrüs, ovulasyonun gecikmesi, erken embriyonik ölümler, yüksek süt verimi, negatif enerji dengesi, yüksek çevre ısı ve çeşitli hastalıklar gibi faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerin sebep olduğu infertiliteyi azaltmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen günümüze kadar bu sorun tam olarak ortadan kaldırılamamıştır (6, 30, 32, 47, 80).

Bu nedenle, ovaryum fonksiyon bozukluklarının tedavisinde kullanılan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve insan koryonik gonadotropini (hCG), son yıllarda ineklerde östrüs ve ovulasyonun senkronizasyonu, özellikle de foliküler dalgaların kontrolü ve luteal dokuların uyarılması amacıyla yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Hatta çalışmaların çoğu, belirlenen zamanda tohumlamalar ile daha fazla gebelik oranı elde etme üzerine yoğunlaşmıştır. Böylece uzun zamandır araştırılan ve östrüs gözlemeyi sınırlandıran ve bununla ilişkili problemlere çözüm getiren yöntemler geliştirilmiştir (36, 122).

GnRH ve hCG uygulamalarının en önemlilerinin, suni tohumlamadan önce, tohumlama ile birlikte veya tohumlamadan sonraki 1-15. günler arasında yapılanlar olduğu bildirilmektedir. Çünkü ineklerde, özellikle erken embriyonik dönemde hormonal denge çok önemlidir. Sığır embriyolarının yaklaşık % 25'i gebeliğin ilk 3 haftası içinde ölmektedir. Bu dönemde, korpus luteum tarafından progesteronun salınımının devam etmesinin, embriyonun yaşamı için hayati olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle, araştırmacılar, siklusun farklı günlerinde değişik uygulamalar yaparak, erken gebelikte progesteron seviyesini yeterli

düzye de tutmaya çalışmışlardır. Bunlardan biri olan hCG uygulaması, Graaf folikülünün patlamasını sağlamak, korpus luteumun fonksiyon yetersizliklerini ortadan kaldırmak ve endojen progesteron üretimini en etkili seviyeye çıkarmak için, hayvanlara tohumlama sırasında veya luteal dönemde uygulanmış ve bazı çalışmalarda gebelik oranlarının arttığı bildirilmiştir (27, 90). Aynı şekilde, tohumlama öncesi, sırası ve sonrası farklı günlerde GnRH uygulamasıyla, folikülogenezisi, ovulasyonu ve luteal yapıları uyarmak suretiyle ineklerin gebe oranlarının artırılması hedeflenmektedir (73, 97, 119).

### **3.1. Östrüs Siklusu**

İnekler yıl boyu poliöstrik hayvanlardır. Gebe kalmadıkları sürece 18-24 gün aralıklarla kızgınlık gösterirler. Östrüs siklusu; hipotalamus, hipofiz, ovaryum ve uterus tarafından salınan hormonlarla kontrol ve idare edilir (60).

Östrüs siklusunun başlamasında GnRH en önemli rolü oynamaktadır. GnRH'nın salınımını etkileyen faktörler; gonadal steroidler, nörotransmitterler, yaş, mevsim, fotoperiyot, leptin, beslenme, stres ve hastalıklardır (24).

Hipotalamustan her 30-120 dakika aralıklarla salınan GnRH, hipofiz portal sistemine verilerek, adenohipofizden folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormon (LH) sentez ve salınımını uyarır. FSH etkisiyle ovaryumlarda foliküller büyüme başlar. Foliküler gelişim, dalgalar halinde gözlenir. Her dalgada gelişen birçok folikülden sadece biri dominant hale geçer, nadiren iki folikülün preovulatör aşamaya geçtiği de olur. Foliküler dalgadaki diğer foliküllerde büyüme veya atrezi evresi görülmez. Preovulatör folikülden üretilen östradiol, olumlu başa tepki suretiyle LH salınımını uyarırken FSH salınımını baskılar (32, 53, 80). Ancak FSH salınımı sadece östradiol ve GnRH tarafından düzenlenmez, ovaryum kökenli bir peptid hormon olan inhibin de östradiol gibi FSH salınımını baskılar. Ayrıca

foliküler sıvıda bulunan peptit hormonlardan aktivin, FSH salınımını uyarırken, follistatin inhibe eder (80).

Salgılanan östrojen, aynı zamanda hem genital kanalda fizyolojik değişikliklere hem de kızgınlık dış belirtilerine neden olur. İneklerde ovulasyon, LH pikinden 24-30 saat sonra meydana gelir. Ovule olan folikül yine LH etkisiyle yapısal ve fonksiyonel değişiklik geçirerek, korpus luteuma başkalaşır. Gelişen korpus luteumdan progesteron salgılanarak, hipotalamusa olumsuz başa tepki yapar ve GnRH'yı dolayısıyla FSH ve LH salgısını engelleyerek, östrüs davranışlarını ve ovaryumdaki foliküller faaliyetleri durdurur. Progesteron aynı zamanda uterusun kontraksiyonlarını engellemek ve endometriyumdaki bezleri uyarmak suretiyle, uterus sütü olarak adlandırılan sıvıyı salgılatarak, gebeliğe uygun bir ortam hazırlar ve gebeliğin devamını sağlar (13, 26, 51, 60, 80, 124)

Siklusun 16-18. günlerinde uterusu canlı bir embriyo yoksa, endometriyumdaki prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sentezlenerek, korpus luteumun regresyonuna sebep olur ve progesteron salgısını azaltır. Progesterondaki düşme LH pikine yol açar ve LH'daki bu artış, östradiol seviyesinin yükselmesiyle sonuçlanır. Luteolizis ilerlerken yeni bir preovulatör folikül gelişir ve siklus yeniden başlamış olur. Eğer hayvan gebe kalırsa prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sekresyonu engellenir ve progesteron miktarı gebeliği sürdürecektir düzeyde kalır (13, 18, 51, 53).

### **3.2. Östrüs Siklusunun Evreleri**

Östrüs siklusu ineklerde 4 evreye ayrılır. Bu evreler; proöstrüs, östrüs, metöstrüs ve diöstrüstür. Ayrıca, seksüel siklus, ovaryum fonksiyonları dikkate alınarak, foliküler ve luteal faz olmak üzere de ikiye ayrılabilir. Proöstrüs ve östrüs aşamaları siklusun foliküler fazını, metöstrüs ve diöstrüs aşamaları ise luteal fazını oluşturur (13, 53, 80).

### **3.2.1. Proöstrüs**

Östrüsten hemen önceki dönem olup, süresi 2-3 gündür ve reproduktif sistem aktivitesinde belirgin bir artış ile karakterizedir. Proöstrüs, fizyolojik olarak, korpus luteumun regresyonu ve progesteron seviyesindeki azalma sonucu GnRH'nın salgısıyla başlar. Bu dönemde, GnRH ve FSH etkisiyle ovaryumlarda foliküller büyüme başlar ve sonuçta gelişen foliküllerden östrojen salgılanarak hem genital kanalda fizyolojik değişikliklere hem de kızgınlık belirtilerine neden olur. Bu dönem, hayvanın çiftleşmeyi kabul etmesiyle son bulur (16, 19, 60, 80).

Proöstrüsteki inekler, diğer hayvanların üzerine atlama eğilimindedir. Kendi üzerine atlanılırsa durmaz, çiftleşmeyi kabul etmez. Uterus hafif bir şekilde büyür, endometriyum konjesyone ve ödemlidir. Serviksin portio vaginalisi gevşek ve hiperemiktir. Vulvada hafif ödem ve vaginal mukozada hiperemi vardır. (60, 80).

#### **3.2.1.1. Folikül Dinamiği**

İneklerde foliküler gelişim; endokrin etkileşim, intrafoliküler faktörler (östradiol, inhibin, aktivin, follistatin, insulin-like growth factor (IGF)/ insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)) ve hücre içi moleküler yapılar (sitokinler, reseptörler, sinyal transfer molekülleri, kopyalama ve büyüme faktörleri, enzimler, hücre siklus düzenleyicileri, hücresel komponentler ve apoptosisi kapsayan faktörler) ile gerçekleşir (36, 43, 80).

Sığırlarda foliküllerin gelişimi ve regresyonunun tabiatı üzerinde yapılan araştırmalarda, ultrasonografinin kullanılması ile foliküler dalgalar keşfedilmiştir. Foliküler dalga, 4-5 mm'den daha büyük çaptaki bir grup (3-6 adet) folikülün ortaya çıkması ile başlar. Her foliküler dalgada sadece bir folikül, dominant folikül olarak gelişmesine devam eder, diğer foliküller ise regresyona uğrar. Her bir foliküler dalgada aday, seçilmiş ve dominant

folikül evreleri vardır. Ovulasyonun oluşmayacağı dalga atrezia evresi ile tamamlanır. Dominant folikülün seçilmesi ise FSH'nin azalması ve LH'ya cevap verebilme yeteneği kazanılması ile olur. Luteal faz esnasında, en büyük (dominant) folikül ovule olmaz. Çünkü bu dönemde korpus luteum baskındır ve salgıladığı progesteron nedeniyle LH'nın dalgalar halinde salınımı kısıtlanır ve sonuçta folikül atreziye olur (1, 18, 33, 36, 43, 44, 53, 55, 80).

Bir seksüel siklus süresince, 2-4 arasında değişen sayıda foliküler dalga gelişir. İki dalgalı siklusa sahip ineklerde birinci dalga, siklusun ilk günü şekillenirken ikinci dalga onuncu gün civarında gözlenir. Üç foliküler dalgalı hayvanlarda birinci dalga siklusun ilk günü şekillenirken, ikinci dalga dokuz ve üçüncü dalga onaltıncı günlerde gözlenir. Son dalga ovulasyonla sonuçlanır. Foliküler gelişim dalgaları ve bunların evreleri östrüs ve ovulasyonun senkronizasyonunda oluşacak cevap için oldukça önemlidir (1, 18, 33, 36, 41, 53, 55).

### **3.2.2. Östrüs**

Östrüs, dişinin erkekle çiftleşmeyi kabul ettiği dönemdir. İneklerde süresi ortalama 12-18 saattir. Süre, düvelerde ineklerden biraz daha kısadır. Östrüsün başlama zamanını önceden kestirmek mümkün değildir. Bunun için en tipik belirti, hayvanın çiftleşmeyi kabul etmesidir. Proöstrüste olan belirtiler çok daha belirgin olarak gözlenir (13, 16, 60, 80).

Ovaryumların muayenesinde, regrese olmuş korpus luteum ve olgunlaşan Graaf folikülü bulunur. Uterus konjesyone, şişmiş, endometriyum ödemli ve uterusun tonositesi artmıştır ve rektal palpasyonda çok belirgin olarak hissedilir. Serviks bir kateter geçebilecek açıklığa ulaşmıştır. Vagina mukozası ödemli, parlak, hiperemik ve ıslaktır. Vaginanın tabanında çara birikintisi görülebilir. Vulva mukozası hiperemik ve dudakları ödemlidir. Çiftleşme isteğinin sona ermesi, östrüsün bittiğini gösterir (60, 80).

### 3.2.3. Metöstrüs

İneklerde ovulasyonun meydana geldiği ve korpus luteumun şekillendiği dönemdir. Hayvanın çiftleşme isteğinin bitmesi ile başlar. İneklerde genelde bir oosit ovule olur. Proöstrüs ve östrüs sırasında östrojen, endometriyumun damarlaşmasını artırır. Östrojen seviyesinin düşmesi ile birlikte oluşan kapillar damarların hasarı sonucu, uterusu az miktarda bir kanama şekillenir. Bu, metöstrüs kanaması olarak bilinir ve genellikle östrüs bittikten 35 - 45 saat sonra, düvelerde % 90, ineklerde ise % 45 oranında görülür. Uterus, serviks ve vagina kökenli salgılarda azalma vardır. Ovulasyon sonrası yine LH etkisi ile ovulasyon yerindeki luteal hücreler korpus luteumu oluşturur. Bu dönemde östrojen ve progesteron seviyeleri düşüktür. Korpus luteum, gelişmeye başlayıp progesteron salgılamak, artık metöstrüs süresi tamamlanır. Diğer bir deyişle metöstrüs, diöstrüsün hazırlık aşaması gibidir. İneklerde bu dönem 2-4 gün sürer (16, 19, 32, 60).

#### 3.2.3.1. Ovulasyon

İneklerde ovulasyon, östrüsün bitiminden 8-12 saat sonra kendiliğinden şekillenir. Ovulasyon, ovaryum üzerindeki Graaf folikülünün çatlaması sonucu oositin dışarı atılması ve oviduktun genişlemiş ucu tarafından yakalanması olarak tanımlanır. Olayı başlatan neden, ön hipofiz bezinden LH salgılanmasıdır (12, 26, 60). Oosit ve folikülün olgunlaşmasıyla birlikte LH ve FSH'nın östrüsün ilk 6-12 saati içerisinde yaptığı pik salınımından yaklaşık 24-30 saat sonra ovulasyonla sonuçlanacak üç olay başlar (49, 76).

1. Oositin nükleer ve sitoplazmik olgunlaşmasının tamamlanması,
2. Granuloza hücreleri arasındaki bağlantının zayıflaması ve oositin kumulus hücreleri ile birlikte folikül sıvısı içerisine serbest bırakılması,
3. Folikül duvarının incilmesi ve yapısının bozulması.

Dolaşımında, LH miktarındaki artıştan birkaç dakika sonra, ovaryumun kanlanması artma görülür. Buna bağlı olarak plazma proteinleri, kapillar ve postkapillar venüllerden sızarak ödeme yol açar ve lokal olarak, prostaglandinler, histamin, vazopressin ve kollagenaz salınır. Granuloza hücreleri daha fazla hiyalüronik asit üretir ve gevşek bir hal alır. Kollajen yıkımı, iskemi ve üstteki bazı hücrelerin ölmesi, folikül dış duvarında zayıflamaya yol açar. Buraya stigma denilir. Stigmanın folikül yüzeyinde görülmesi, ovulasyon olacağına dair işarettir. Ayrıca folikül içi sıvı basıncının artması ve düz kas hücrelerinin kasılması, folikül dış duvarının yırtılmasına ve ovulasyona neden olur (12, 19, 49).

Ovulasyon sonucunda, zona pellusida ve etrafındaki hücrelerle birlikte ovum ve bir miktar folikül içi sıvı ovidukta girer (12, 13).

Ovulasyonun endokrin olarak kontrolü, hipotalamus-hipofiz-ovaryum tarafından sağlanır. Bu bezler arasındaki etkileşimin bozulması, ovulasyonun oluşmaması ile sonuçlanır. Ovulasyon mekanizmasında oluşan aksamalar, çoğunlukla hormonal kaynaklı olup, hipofiz ön lobundan LH'nın yeterli düzeyde ve uygun zamanda salgılanmamasına bağlı olarak, ovulasyon gecikir veya hiç şekillenmez (6, 30, 80).

İneklerde östrüs bitiminden 24 saat sonra ovulasyonun meydana gelmemesi, ovulasyonun geciktiği anlamına gelir. Geciken olgularda, ovulasyon 24-48 saat sonrasına kadar şekillenir. Böyle durumlarda, östrüs sırasında tohumlanan ineklerde fertilizasyon şansı düşer. Ovulasyonun gecikmesi olgularının oranı hakkında çok az bilgi mevcuttur. Yapılan bir araştırmada bu oran % 18 olarak bulunmuştur. Bu vakaların % 85'inde gecikme 48. saatten önce şekillenirken, sadece % 15'inde iki günden daha uzun sürdüğü bildirilmiştir (30, 80). Repeat breeder ineklerde, bu problemin görülme oranının % 2'den daha az olduğu bildirilmektedir. Kış mevsiminde yeterli beslenemeyen sığırlarda, gecikmiş ovulasyon sık sık meydana gelmektedir. Ayrıca, stres faktörleri, hayvanları bu duruma predispoze hale

getirmektedir. Diğer bir sebep ise kalıtsallıktır. Örneğin Guernsey gibi bazı ırklarda daha sık oluşmaktadır (30).

Bireysel olarak ineklerde % 19.5, sürülerde ise % 5-45 arasında anovulasyon görülebilir. Güç doğum, ikizlik, abomazum deplasmanı ve doğum sonrası ilk bir hafta içinde görülen subklinik ketozis, anovulasyon için büyük bir risk faktörüdür (127). Anovulasyonun diğer bir sebebi de yaygın ova-bursal yapışmalardır. Bu yapışma sebebiyle, gelişen folikül, Graaf folikülü aşamasında kalır ve ovulasyon şekillenmez (30).

Anovulasyon olgularında; östrüs siklusu esnasında, normal bir şekilde büyüyerek Graaf folikülü aşamasına gelen folikülde ovulasyon şekillenmez. Östrüs bittikten iki gün sonra yapılan muayenede bu folikül gergin olarak hissedilir. Hatta tohumlamayı izleyen 18. güne kadar folikül maksimum büyüklüktedir. Bu durum, ya folikülün kiste dönüşümü ya da regresyonuyla sonuçlanır. Eğer regresyon oluşursa, gelişen diğer bir folikülde ovulasyon gözlenir (30).

Anovulasyon genellikle doğum sonrası dönemde görülmektedir. Puerperal dönemde, normal siklik ovaryum aktivitesi başlamadan önce, ovule olmayan foliküllere rastlanmaktadır. Bu foliküller 2-2.5 cm büyüklüğe ulaştığı zaman bile ovule ve luteinize olmazlar. Bazen folikül duvarında luteinizasyon görülebilir. Bu kistik yapı, aynen korpus luteum gibi fonksiyon görür ve 18-20 gün sonra regrese olarak, inekte beklenen zamanda östrüs meydana gelir (6, 30).

#### **3.2.4. Diöstrüs**

Diöstrüs, metöstrüsle birlikte luteal fazı oluşturur. Siklusun 5. gününde başlar. İneklerde yaklaşık 12-16 gün sürer ve östrüs siklusunun en uzun dönemidir. Korpus luteum, siklusun 14-16. günlerinde maksimum büyüklüğe ulaşır. Bu dönemde, gelişen korpus

luteumdan salgılanan progesteron, hipotalamusa olumsuz başa tepki yaparak GnRH'yı ve dolayısıyla FSH ve LH salgısını durdurarak östrüs davranışlarını ve ovaryumdaki foliküller faaliyetleri durdurur. Salınan progesteron etkisiyle ayrıca endometriyum bezleri uzar ve kıvrımlı bir hal alarak salgı yapar. Buna uterus sütü adı verilir. Uterus sütü, implantasyon öncesi dönemde embriyonun uterusda yaşaması ve beslenmesi için önemlidir (16, 51, 60).

Eğer inekte gebelik şekillenmemişse, siklusun 16-18. günlerinde uterustan salınan prostaglandin F<sub>2</sub> alfa etkisiyle korpus luteum regrese olur. Luteal regresyona bağlı olarak, progesteron seviyesi düşer. Progesteronun seviyesinin düşmesi hipotalamus ve hipofiz üzerindeki olumsuz başa tepkiyi kaldırır. Böylece siklus yeniden başlar. Gebelik şekillenirse, siklik korpus luteum, gebelik korpus luteumu olarak varlığına devam eder (18, 60).

### **3.3. Fertilizasyon**

Gebelik, fertilizasyon ile başlayıp yavrunun doğumu ile tamamlanan bir süreçtir. Yüz milyonlarca spermatozoondan sadece bir tanesinin, oosit içerisine girerek iki tane haploid (n) kromozumlu hücreden, diploid (2n) kromozumlu hücre oluşması olayına dölleme veya fertilizasyon denir (4).

Dölleme, evcil memelilerde oviduktun ampulla kısmında meydana gelir. Bir sperma hücresinin yumurta hücresine girmesiyle, mayoz bölünme dönemi sona erer ve yumurta kromozomlarının sayısı yarıya düşer. Böylece, ovum kaynaşmaya hazır hale gelmiş olur. Yumurta hücresine giren spermatozoonun kuyruğu erir ve spermatozoonun gövdesinde hücre bölünmesi için önem taşıyan sentrozomlar oluşur. Spermatozoaya ait spiral şeklindeki iplikçiklerden de mitokondriyumlar oluşur. Büyüyen baş kısmı yine aynı şekilde yarı sayıda (haploid) kromozom ihtiva eden erkek pronükleusunu oluşturur. Kromozomlar hücrenin ekvatorundaki bir düzey üzerinde sıralanırlar. Daha sonra her iki cinse ait erkek ve dişi

pronükleuslar birbirlerine doğru hareket ederler ve ovumun merkezinde birleşirler. Bu olay, yaklaşık olarak 12 saatte gerçekleşir. Sonunda pronükleuslar birbirleriyle kaynaşır (diploid) ve kromozom sayısı iki katına çıkar. Böylece zigot meydana gelir (65, 83).

### **3.4. Erken Embriyonik Dönem**

Zigot, “yarıklanma” adı verilen bir seri mitoz bölünme geçirir. İlk yarıklanma bölünmesi ile blastomer adı verilen 2 hücreli embriyo oluşur. İki hücreli embriyodaki her blastomer eşit büyüklüktedir. Her blastomer birbirini takip eden bölünmeler geçirir ve sonuçta 4, 8, 16 ... hücreli embriyo meydana gelir. Yarıklanma bölünmelerinin tamamı zona pellusida içinde şekillenir ve bu olay boyunca hücrenin hacmi değişmez. Blastomerler, sayılamayacak kadar çoğaldığında embriyo, morula olarak adlandırılır. Morulanın dış çeperindeki hücreler merkezdekilere göre sıkışmaya başlar. Bundan dolayı hücreler, iç ve dış olmak üzere iki farklı sınıfa ayrılır. İç kısımdaki hücreler arasında gap junction’lar, dış kısımdaki hücreler arasında da sıkı bağlantılar oluşur. Sıkı bağlantılar oluşuktan sonra, embriyo içerisinde sıvı toplanmaya başlar. Dış hücreler aktif olarak embriyo içerisine sodyum pompalar. İç hücreleri çevreleyen sıvıda iyon konsantrasyonu artar. Morula içerisinde iyonik güç arttığı için embriyo içerisine su difüzyonu başlar ve blastosel olarak bilinen sıvı dolu bir boşluk şekillenir. Bu boşluk oluştuğunda embriyo, blastosist olarak adlandırılır. Sıkı bağlantılar ve gap junction’lar, embriyoyu iki farklı hücre grubuna ayırır. Bunlar, iç hücre topluluğu ve trofoblast olarak bilinir. İç hücre topluluğundan embriyonun vücut kısmı gelişir. Trofoblast hücrelerinden de koriyon oluşur (65, 104).

Blastosist, mitoz bölünme geçirirken, blastosel içinde sıvı toplanmaya devam eder ve bundan dolayı embriyo içerisinde basınç artar. Büyüme ve sıvı toplanmasıyla eşzamanlı olarak trofoblast tarafından proteolitik enzimler üretilir. Bu enzimler zona pellusidayı zayıflatır. Son olarak blastosist kasılma ve gevşeme hareketleri yapar. Bu hareketler, aralıklı

oluşan bir basınca sebep olur. Devam eden büyüme ve enzimatik etkiye eşlik eden bu basınç, zona pellusidanın yırtılmasına neden olur. Zona pellusidada küçük bir yırtık oluştuğunda, blastosist dışarı çıkar. Hatching adı verilen bu sarkma olayı ineklerde 9-11. günlerde oluşur. Embriyo bu aşamadan sonra implantasyona kadar uterusu serbest olarak yaşar ve uterus sütü ile beslenir. İmplantasyon, ineklerde yaklaşık olarak ovulasyondan 30-35 gün sonra olur (19, 53, 65,104).

Gebeliğin erken aşamasında, 15-17. günler, kritik dönem olarak kabul edilir. Bu aşamadaki embriyonik ölümler, önemli düzeyde ekonomik zarara sebep olur. Bu dönem esnasında prostaglandin F<sub>2</sub> alfa üretimini engelleyecek sinyal gönderilmedikçe, endometriyum luteolitik prostaglandin F<sub>2</sub> alfa salınımını gerçekleştirecektir. Gebeliğin devamı için bu endometriyal prostaglandin F<sub>2</sub> alfa üretiminin engellenmesi gerekir. Bu kritik dönemin biyolojisi karışık ve çok farklı olaylardan etkilenir. Luteolizisin oluşması veya gebeliğin devamı, hem anneye hem de embriyoya ait hormonal, hücrel ve moleküler faktörlere bağlıdır. Suni tohumlama ve embriyo transferinde, gebelik oranlarını artırmak için bu kritik dönemde hormonal uygulamalar yapılır. Bu uygulamalarla, progesteron miktarını artırırken plazma östradiol 17 beta miktarını azaltmak ve endometriyumdan prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sentezini inhibe etmek amaçlanır (18).

### **3.5. Embriyo Sinyalleri ve Gebeliğin Anne Tarafından Tanınması**

Gebeliğin tanınması esnasında, luteolizisin engellenmesi, östradiol üretiminin inhibisyonu ile mümkündür. Çünkü, östradiolün varlığı luteolizis için zorunludur. Östradiol, prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sekresyonunu uyarmaktadır. Siklik hayvanlarla karşılaştırıldığında, gebe hayvanlarda folikül gelişim ve plazma östradiol konsantrasyonu daha azdır. Östradiolün, prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sekresyonunu, hücrel ve moleküler düzeyde nasıl uyardığı bilinmemektedir. Buna rağmen östradiol, luteoliziste merkezi bir role sahiptir. Bu sebepten

dolayı, antiluteolitik stratejiler geliştirilirken, kritik dönemde, luteolizisin geciktirilmesi veya inhibisyonu amacıyla östradiol düzeyinin azaltılması amaçlanır (18).

İneklerde, dolaşımdaki progesteron miktarı, gebeliğin tanınmasını sağlar. Bu durum, kritik dönemde gebeliğin tanınması için yüksek progesteron düzeyinin önemini gösterir. Gebeliğin tanınmasını sağlayan sebeplerden birisi, embriyo tarafından salınan “bovine interferon-tau”dur. Bovine interferon-tau, bovine trofoblast protein-1 (bTP-1) olarak da bilinir. Kritik dönemde, uterus lümenine salınan bovine interferon-tau, endometriyumdan prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sekresyonunu engeller. Progesteronun, bovine interferon-tau sekresyonunu uyarması, gebeliğin tanınmasını sağlayan muhtemel mekanizmalarından biridir. Gebeliğin kritik döneminde, daha yüksek miktarda progesteron düzeyine sahip olan ineklerde, embriyo tarafından daha fazla bovine interferon-tau üretilir (18, 104).

### **3.6. Erken Embriyonik Ölüm**

Embriyonik ölüm, reproduktif kayıpların en büyük kaynağı olarak bilinir. Gebeliğin ilk 3 haftalık aşamasında, birçok faktörün etkisiyle embriyonik ölümler meydana gelir. Eğer embriyonik ölümler 24-50 günler arasında oluşursa, geç embriyonik ölüm olarak adlandırılır (47, 98).

Genellikle gebeliğin ilk 3 haftasında, sağlıklı ineklerde bile, embriyoların % 25 veya daha fazlası, oviduktan uterusu geçerken gelişimine devam edemez. İneklerde fertilizasyon oranı, tek tohumlama ile yaklaşık % 90 iken, ortalama buzağılama oranı % 50-60 civarındadır (19, 47). Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada (125), tohumlama sonrası buzağılama oranının % 70 olduğu ve gözlenen % 30'luk embriyo kaybının % 65'inin 6 ile 18. günler arasında meydana geldiği bildirilmiştir. Embriyonik ölüm, 16-17. günden önce meydana gelirse, sonrasında inek, normal aralıklarla östrüs siklusu gösterir. Ancak embriyonik ölüm 16-17.

günden sonra meydana gelirse, siklusa geri dönme, daha uzun sürer ve siklus aralığı düzensizleşir (47).

İneklerde embriyonik ölüme sebep olan pek çok faktör vardır. Bunlar; endokrin, genetik, iç ve dış çevresel faktörler, iklim, stres, yaş, tohumlama zamanı, sperma kalitesi, enfeksiyöz etkenler, beslenme ve kromozomal anomalilerdir. Özellikle progesteron ve östrojendeki anormal hormon profilleri embriyo ölümüne sebep olur. Ayrıca, yüksek süt verimine sahip ineklerde, karaciğer kan akımının artması sebebiyle, steroid metabolizması daha hızlı olmakta, bu da siklusun luteal döneminde daha düşük progesteron düzeylerine sebep olmaktadır (14, 47).

### **3.6.1. Endokrinolojik Nedenlere Bağlı Embriyonik Kayıplar**

Düşük progesteron düzeyi, östradiol ve prostaglandin F<sub>2</sub> alfa'nın aşırı salınımına ve sonuçta embriyonun ölümüne yol açar. Gebeliğin anne tarafından tanınması için tohumlama sonrası erken dönemde, östradiol 17 beta veya prostaglandin F<sub>2</sub> alfa'nın luteolitik etkilerinin azaltılması zorunludur (55).

Ahmad ve ark. (2), tohumlamadan önceki dönemde düşük progesteron konsantrasyonunun, anormal foliküler gelişime neden olduğunu, ovulatör folikülde anormal oosit gelişimine yol açtığını ve nihayetinde erken embriyonik ölümlere sebep olduğunu ileri sürmektedirler. Başka bir araştırmacı ise (131) progesteron miktarındaki azalmanın, hem tohumlama öncesi hem de tohumlama sonrası dönemde olumsuz etkileri olduğunu bildirmektedir.

Luteal dönemde progesteronun yeterli miktarda salgılanması; sağlıklı bir ovulasyon, gelişen embriyonun beslenmesi ve yaşamını sürdürebilmesi için esastır. Aşağıda açıklanan sebeplerden dolayı, progesteron düzeyindeki düşüklükler, embriyonik ölümlere yol açar.

1. Ovulasyondan tohumlama sonrası 6. güne kadar olan dönemde, düşük progesteron seviyeleri, luteal dönem öncesinde, embriyonun 16 hücreli aşamaya ulaşmasına engel olur.
2. Östrüs öncesi dönemde progesteron yetersizse, uterus progesteron reseptörleri yönünden yoksun kalır. Bunun neticesinde, tohumlama sonrası 4-9. günlerde, aşırı prostaglandin F<sub>2</sub> alfa sekresyonu oluşarak, hem embriyotoksik hem de luteolitik etki yapar.
3. Gebeliğin tanınma günleri olan 14-17. günlerde, düşük gebelik oranının sebebi, progesteronun yetersizliği ve östradiolün fazlalığıdır.
4. Geç embriyonik dönemde (28-42. günler), düşük progesteron düzeyleri, yakında embriyonik ölümün olacağını gösterir (50, 55).

Korpus luteum tarafından üretilen oksitosin, endometriyumdan prostaglandin F<sub>2</sub> alfa salınmasını uyarır. Prostaglandin F<sub>2</sub> alfa üretimi, oksitosin reseptör sayısının belirli bir eşik değere ulaşmasına bağlıdır. Endometriyumdaki bu reseptörler yeterli sayıya ulaştığında, luteal oksitosin sekresyonuna cevap olarak, dalgalar halinde prostaglandin F<sub>2</sub> alfa salınımı başlar ve luteolizis gerçekleşir. Bu sebeple, gebeliğin maternal tanınması, luteolizisten önce oluşmalıdır (76, 104).

İneklerde blastosist tarafından üretilen spesifik proteinler (bTP-1), luteolizisi önleyen bir sinyaldir. Aynı zamanda bu proteinler “interferon” olarak da adlandırılır. bTP-1, endometriyum hücrelerinin, oksitosin reseptör üretimini inhibe eder. Sonuçta oksitosin, prostaglandin F<sub>2</sub> alfa salınımını uyaramaz. Ayrıca bTP-1, uterus bezlerinden protein üretimini artırır. Uterus lümenine salınan bu proteinler, embriyonun beslenmesini sağlar (104).

### 3.7. GnRH

#### 3.7.1. GnRH'nın Yapısı ve Sentezi

Hipotalamustan salınan GnRH, hipofizer seviyede gonadotropinlerin ve gonadal hormonların sentezini ve sekresyonunu kontrol eden bir dekaeptittir (Şekil 1). Son yıllarda, GnRH'nın, daha büyük bir molekül olan ve 56 amino asit içeren gonadotropin-releasing associated peptide'in (GAP) parçalanmasından oluştuğu gösterilmiştir (56, 102). GnRH, hipotalamusta, arkuatik nükleustan sentezlenir, aksonlar yoluyla eminentia medialis'e ulaşır ve burada depolanır (102, 121). Bilinen GnRH etkisi, GnRH-I tarafından yürütülmektedir (74). GnRH-I, hipotalamustan başka, gonadlar ve plasenta tarafından da üretilmektedir (102). GnRH-I'den 3 adet aminoasitle farklılık gösteren GnRH-II ise bütün omurgalılarda beyinde bulunur ve vücuttaki birçok farklı doku tarafından da üretilir (34). Beyinde bulunan GnRH-II, nöromodülatör olarak fonksiyon görür ve östrüs davranışını uyarır (74). Yeterli uyarımların gelmesi ile hipotalamus-hipofiz portal dolaşımına verilen GnRH, adenohipofize ulaşır ve buradan gonadotropik hormonlar olan FSH ve LH'nın sentez ve sekresyonunu uyararak, 2.5-3 saatlik bir zaman dilimi içerisinde, bu hormonların kandaki konsantrasyonlarını yükselterek gametogenez ve steroidogenez başlatır (5, 6, 30, 51, 112). LH sentezi için her 30 dakikada bir GnRH salınması gerekirken, FSH sentezi için 120 dakikada bir salınması yeterlidir (92).

GnRH, hedef hücredeki reseptörlerine bağlanmak suretiyle G-proteinlerinin alt familyasından olan Gq/G11'i aktive eder. Bu fosfolipaz C'nin aktivitesinde artışa sebep olur ve fosfoinozitolün parçalanması ile inozitol 1,4,5-trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) meydana gelir. IP3, hücre içi depolardan kalsiyum iyonlarının salınmasını sağlar. DAG ise protein kinaz C'yi aktive eder. Bütün bu olaylar gonadotropinlerin sentez ve salınımını sağlar (56, 92, 102).



### 3.7.2. GnRH'nın Analogları

GnRH analogları, agonistler ve antagonistler olmak üzere ikiye ayrılır.

**a) GnRH agonistleri:** GnRH daha önce belirtildiği gibi, dekaeptit yapıda olup ilk olarak Schally ve ark. tarafından 1971 yılında bulunmuştur (34). Yaklaşık 1.000 hipotalamik nöronun hipofiz portal sistemine salgınır (34, 74, 102). GnRH aminoasitlerinin önemli fonksiyonlarında görev alanlar 1, 2, 3, 6 ve 10 pozisyonunda olanlardır. Pozisyon 6'daki aminoasitler enzimatik klivajda, pozisyon 2 ve 3'tekiler gonadotropin salgınımında, pozisyon 1, 6 ve 10'da olanlar ise üç boyutlu yapının korunmasında görev alırlar. İki-dört dakika kadar kısa bir yarılanma ömrüne sahiptirler ve bu özellikleri 5-6, 6-7 ile 9-10 numaralı aminoasitler arasındaki bağların çabuk yıkılmasına bağlıdır (34). Altı numaralı glisin aminoasitinin D-aminoasitle yer değiştirmesi veya karboksi terminaline glisin-amid yerleştirilmesi uzun yarılanma ömrüne sahip GnRH agonistlerinin üretilmesini sağlamaktadır (34, 74).

Veteriner hekimlikte en sık kullanılan GnRH agonistleri; gonadorelin, buserelin, deslorelin, fertirelin, goserelin, leuprolide, lesirelin, nafarelin ve triptorelindir (86, 90). Histrelin, en güçlü GnRH agonistidir. Ancak ticari preparatı bulunmamaktadır (52).

**b) GnRH antagonistleri:** GnRH antagonistleri, GnRH hormonundaki aminoasitlerden birden çoğunun yer değiştirmesiyle ortaya çıkarılabilmektedir. GnRH antagonistleri ilgili reseptöre bağlandıktan sonra kompetitif inhibisyon yaparlar ve fizyolojik GnRH'nın bağlanmasına izin vermezler. Bundan dolayı agonistlere göre çok daha ani bir teropatik etki ortaya çıkar ve 24-72 saat içinde tüm etkinliklerini gösterirler. Antagonistlerin agonistlere göre önemli bir yan etkisi ise allerjik reaksiyonlardır. Bunun da sebebi histamin salgınımına yol açmalarıdır. Hidrofobik N ucunun ve bazik-hidrofilik C ucunun tarif edilen yan etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Aynı yan etki ikincil nesil GnRH

antagonistlerinde nispeten daha az olsa da halen mevcuttur. Bu yan etki üçüncü nesil GnRH antagonistlerinde 5, 6 ve 8 pozisyonundaki aminoasitlerin yer değişimiyle azalmıştır (34).

GnRH antagonist dekapeptidleri; abareliks, acylone, antide, antareliks, cetoreliks, degareliks, detireliks, ganireliks, itureliks, Nal-Glu, Nal-Lys, ornireliks ve tevereliks'tir (34, 45).

### **3.7.3. GnRH'nın Klinik Kullanımı ve Uygulama yolları**

GnRH; suni tohumlama anında, süperfollikülasyonu takiben, süperovulasyon çalışmalarında, ovulasyonun gecikmesi şüphe edilen hayvanlarda ve senkronizasyon sonrası ovulasyonu sağlamada, anöstrüslerde, foliküler ve luteal kistlerde, repeat breederlarda, embriyo naklinde ve retensiyonlu ineklerde tedavi amacıyla kullanılmaktadır (3, 5, 6, 10, 22, 62, 77, 78, 81, 120). Ayrıca, doğum sonrası dönemde GnRH yalnız başına veya prostaglandinlerle birlikte; ilk ovulasyonu, ilk östrüsü uyarmak ve dolayısıyla doğum-ilk östrüs aralığını kısaltmak amacıyla, yaygın olarak kullanılmaktadır. Böylece doğum gebe kalma aralığının kısaltılması ve hayvanların en uygun sürelerde tekrar gebe kalmalarının sağlanması hedeflenmektedir (73, 97, 119).

GnRH, repeat breeder ineklerin tedavilerinde kullanılmış ve bu tedavilerde çok değişik sonuçlar alınmıştır. Bazı araştırmacılar tohumlama ile birlikte kas içi olarak uygulanan GnRH'nın, döl tutmayan sütçü ineklerin gebelik oranlarını artırdığını bildirirken (10, 62), bir araştırmada da tohumlama öncesi ya da tohumlama ile birlikte GnRH uygulamasının, döl tutmayan sütçü ineklerin gebelik oranlarını artırmadığı belirtilmiştir (9). Bu uygulamalarda amaç, ovulasyonun gecikmesi ve anovulasyon durumlarına engel olmak ayrıca, tohumlama sonrası luteal dönemde yapılan uygulama ile korpus luteuma destek sağlamaktır (6).

GnRH kullanımıyla ayrıca, tohumlama sonrası ovaryumların uyarılarak luteal yapıların gelişiminin uyarılması ve embriyo yaşamı için büyük önem taşıyan progesteron düzeyinin yükseltilmesi amaçlanmaktadır. Çünkü ovaryum, zigotun oluşumundan implantasyona kadar olan sürede, progesteronun ana kaynağıdır. Bu dönemde endometriyum ve trofoblastların luteotropik etkileriyle korpus luteum, gebelik korpus luteumuna dönüşür. Eğer bu mekanizmada bir aksaklık meydana gelirse, yeterli miktarda progesteron üretilemez. Progesteron yetersizliği de erken embriyonik ölümlere neden olur. Bu sebeple gerek tohumlama sonrası ovulasyonu sağlamak, gerekse korpus luteumun fonksiyon yetersizliğini gidermek amacıyla GnRH sıkça kullanılmaktadır (5).

GnRH agonistleri intramusküler, intravenöz, intranazal ve subkutan yolla tatbik edilebilirken oral olarak kullanılmazlar. Oral yolla kullanılanlarda, biyoyararlanım % 0.1'dir. Çünkü, sindirim kanalında gastrointestinal peptidazlar tarafından parçalanmaktadır. Ağız yolu hariç, tüm uygulama yollarındaki sonuçlar birbirine benzemekle birlikte, en çok kullanılan uygulama yolu kas içi enjeksiyondur (34, 86).

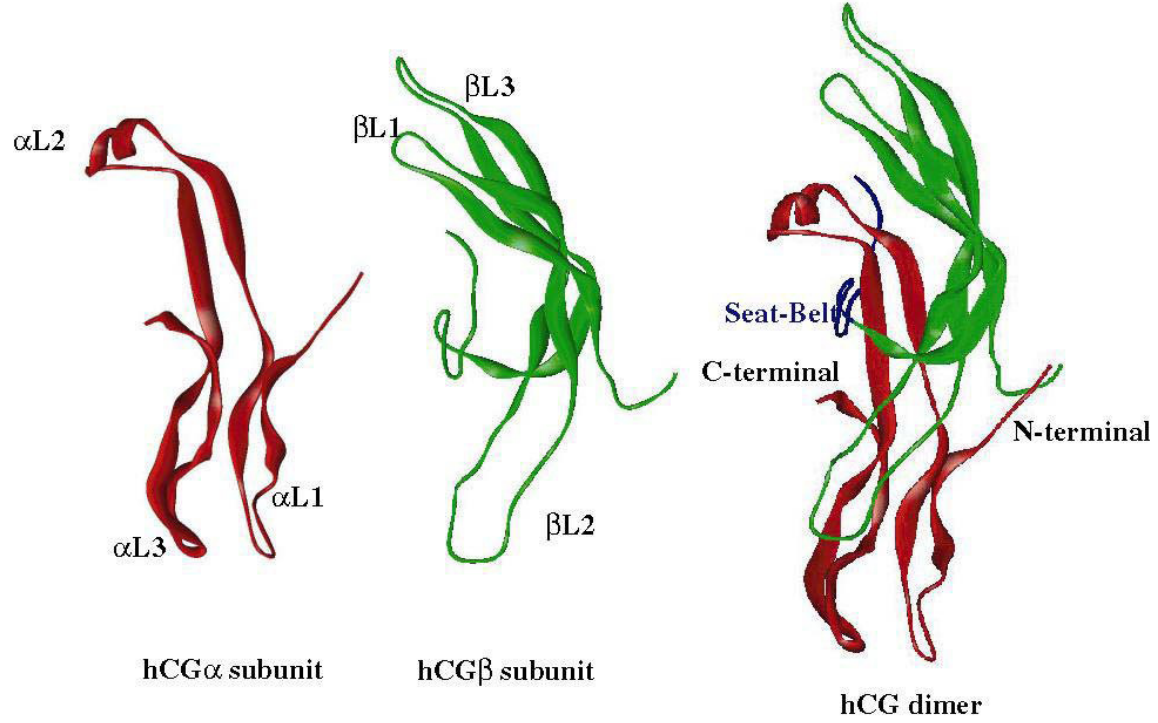
Veteriner hekimliğinde kullanılan GnRH analoglarının, kimyasal yapısına göre uygulama dozları da değişmektedir. Güçlü bir analog olan buserelinin 10 µg dozu yeterli iken fertirelin (50 µg) ve gonadorelin (500 µg) daha yüksek dozda aynı etkiyi sağlamaktadır. GnRH, molekül ağırlığının küçük olması sebebiyle antijenik uyarım oluşturmadığı gibi tekrarlanan enjeksiyonları da anafilaksiye yol açmaz (5, 6 , 87).

### **3.8. hCG**

#### **3.8.1. hCG'nin Yapısı ve Sentezi**

hCG; LH, FSH ve TSH gibi glikoprotein hormon ailesine dahil plasenta gonadotropinlerindedir. Birbirine nonkovalent bağlı  $\alpha$  ve  $\beta$  diye adlandırılan iki protein alt

ünitesinden oluşur. Alfa alt ünitesi 92 amino asit ve iki karbonhidrat zincirinden oluşurken,  $\beta$  alt ünitesi 145 amino asit ve 5 karbonhidrat zincirine sahiptir. hCG'nin, moleküler ağırlığı 38 kDa olup diğer glikoprotein hormonlara göre daha uzun yarı ömre sahiptir (46, 50, 57, 132).



**Şekil 2.** hCG'nin yapısı (58).

Gebe kadınların serum ve idrarı yüksek miktarlarda hCG içerir. hCG, insan plasentasının trofoblast hücreleri tarafından gebeliğin 7-10. haftaları arasında en çok üretilmekte ve miktarı 16. haftaya kadar sürekli azalmaktadır. Hücresel düzeyde, LH ve hCG'nin aktiviteleri, hücre plazma zarındaki LH / hCG reseptörüne bağlanmaları ile başlar. Hem LH hem de hCG, adenzin trifosfatı (ATP) siklik adenzin monofasfata (cAMP) dönüştüren adenilat siklaz enzimini uyarır. Adenzin monofasfat da kendisine bağımlı inaktif protein kinazı aktive eder. Protein kinaz da o hücreye özgü bazı enzimleri fosfatlamak suretiyle, onları inaktif durumdan aktif duruma getirir. hCG, korpus luteumdan progesteron ve

östrojen salınımını uyarır. Sonuçta gonadotropin sekresyonu inhibe edilir ve gebeliğin devamı sağlanır (25, 46, 50, 56, 57, 84).

hCG bütün gebelik süresince kana verilir. Ancak gebeliğin 6. gününden sonra ilk olarak kanda belirlenebilir. Bu nedenle, serum veya idrar hCG'sinden gebelik testinde faydalanılır (132).

### **3.8.2. hCG'nin Klinik Kullanımı ve Uygulama Yolları**

hCG primer olarak LH etkilidir ve çok sınırlı FSH etkisi de bulunmaktadır. Kolay elde edilebilmesi nedeniyle ucuz olup, koryonik gonadotropin preparatları ismi altında, liyofilize edilmiş formlarda bulunmaktadır (5). hCG, ineklerde luteotropik etki göstermektedir. Bu hormon, yalnız veya diğer hormonlarla yapılan kombinasyonlar şeklinde; hormonal kökenli anovulasyon olgularında, ovulasyonun gecikmesinde, senkronize edilen hayvanlarda ovulasyon şansını artırmada, korpus luteum oluşumunu destekleyerek serum progesteron düzeyini yükseltmede, foliküler kistlerde, suböstrüs olaylarında ve hakiki anöstrüs olgularında kullanılır (101).

İneklerde suni tohumlama anında, ovulasyonun uyarılması amacıyla 1.500 IU dozda hCG kas içi veya damar içi yolla kullanılmaktadır. Eğer patolojik bir sebepten dolayı ovulasyon şekillenmiyorsa, 1.000-2.500 IU dozda, damar içi yolla, tohumlama anında kullanılır. İneklerde, anovulasyon tedavisini takiben gözlenen östrüsteki ovulasyonun gerçekleşmesini sağlamada ve kistik ovaryum bozukluklarının tedavisinde, embriyo nakli çalışmalarında, ovulasyonların aynı zaman diliminde gerçekleşmesi için kullanılır (5, 6, 30).

Foliküler kistlerde, kist içine düşük dozda veya kas içine yüksek dozda uygulanır (6, 30).

Repeat breeder olarak adlandırılan fertilité düşüklüğüünün sebepleri arasında, fertilizasyon yetersizliği ve erken embriyonik ölümler yer almaktadır. Bunlar arasında da progesteron yetersizliği önemli bir yer tutmaktadır. Bu sayede erken gebelikte progesteron düzeyleri yüksek tutularak repeat breeder inekler tedavi edilmektedir (6, 30).

hCG, intravenöz, intramusküler, subkutan veya kist içi olarak kullanılmaktadır. Büyük molekül ağırlığı sebebiyle, yüksek veya devamlı düşük dozlarda kullanıldığında, antikor yapımını uyararak, etkisiz kalabildiği gibi, anafilaktik reaksiyonlara da sebep olabilir (6).

### **3.9. Tohumlama Öncesi GnRH ve hCG Kullanımı**

Tohumlama öncesi farklı zamanlarda GnRH ve hCG uygulaması yapılan birçok çalışmada, folikülogenezisi uyararak, ovulasyon öncesi LH pikinin başlatılarak ovulasyonu sağlamak, ovulasyon gecikmesi ve anovulasyon sorunlarının azaltmak, luteal progesteron düzeyini yükseltmek ve dolayısıyla embriyo için uterusu uygun ortam hazırlamak amaçlanmıştır (116, 117).

Yapılan bu çalışmaların önemli bir kısmında (9, 37, 72, 116, 117) istenilen gebelik oranları elde edilememekle birlikte, bir kısmında ise (10, 68, 73, 123) gebelik oranlarında artışlar sağlandığı bildirilmektedir.

Taponen ve ark. (116, 117)'nin yaptığı iki ayrı çalışmada ise ovulasyon öncesi LH pikinden önce GnRH uygulanarak ovulatör foliküllerden östradiol sekresyonu, ovulasyonun oluşumu, korpus luteumun gelişim ve fonksiyonu ile ovulasyon sonrası dominant folikülün gelişimi incelenmiş ve sonuçta bu uygulamanın luteal dönemi kısaltarak fertilitéyi azaltacağı kanısına varılmıştır.

Drew ve Peters (37), inekler üzerinde yaptıkları çalışmada, suni tohumlamadan 2-3 saat önce, ineklere 10 µg buserelin uygulamışlar ve bu uygulamanın gebelik oranlarını etkilemediğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada (68), 86 inek ve 23 düvede, tohumlamadan 8 saat önce, 100 µg cystorelin uygulamasının, bazı ineklerde preovulatör LH pikini başlattığını, gebe olan ve olmayan ineklerde, serum progesteron düzeyini etkilememekle birlikte, tüm hayvanlarda kontrol grubuna göre GnRH uygulamasının, gebelik oranlarını artırdığı belirlenmiştir.

Laktasyondaki 94 Holştayn inek üzerinde yapılan bir başka çalışmada da (123), yaz mevsiminde prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile senkronizasyon sonrası belirlenen östrüs anında 100 µg gonadorelin enjekte edilmiş ve 10-12 saat sonra tohumlama yapılmıştır. Uygulama sonucunda, luteal faz esnasındaki progesteron düzeyinin, GnRH ile tedavi edilenlerde önemli miktarda arttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada gebelik oranları tedavi grubunda % 28.6, kontrol grubunda ise % 17.9 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu zamanda yapılan GnRH enjeksiyonu ile luteal progesteron düzeyinin yükseldiği ve embriyo yaşamının desteklendiği sonucuna varmışlardır.

Yine repeat breeder ineklerde yapılan bir başka çalışmada (10), 30 ineğe, suni tohumlamadan 5 dakika önce 10 µg veya 20 µg buserelin kullanmış ve sonuçta 20 µg buserelin kullanımının gebelik oranlarını, kontrol ve diğer gruba göre artırdığı bildirilmiş, bu da LH artışına paralel olarak görülen ovulasyonlara bağlanmıştır.

Mee ve ark. (72), 325 inek üzerinde yaptıkları bir çalışmada ise, östrüste, östrüs belirlendikten 12-16 saat sonra, tohumlama anında ve tohumlamadan önce 100 µg cystorelin kullanmışlar, sonuçta, grupların hiçbirinde GnRH uygulamasının, gebelik oranlarını etkilemediği sonucuna varmışlardır.

Archbald ve ark. (9) ise, 585 repeat breeder inekte yaptıkları çalışmada, suni tohumlama anında veya tohumlamadan 9 saat önce 100 µg cystorelin kullanımının gebelik oranlarını etkilemediği sonucuna varmışlardır.

Tohumlama öncesi hCG kullanılan bir çalışmada (21), 236 düveye tohumlama öncesi 4. günde ve tohumlama sonrası 4. günde, ayrı ayrı veya birlikte 3.000 IU hCG uygulanmış ve hiçbir grupta gebelik oranlarının etkilenmediği ancak progesteron konsantrasyonlarının bu yapılan uygulamalar ile yükseldiği belirtilmiştir.

### **3.10. Tohumlama Anında GnRH ve hCG Kullanımı**

Süt ineği yetiştiriciliğinde, önemli bir sorun olan fertilité düşüklüğünü gidermek için, son yıllarda farklı protokoller halinde yapılan GnRH ve hCG uygulamalarında; ovulasyonu sağlamak, ovulasyon gecikmesi ve anovulasyon bozukluklarının önüne geçmek, luteal yapıları daha erken uyararak progesteron düzeyinin daha önce yükselmesi elde edilerek erken embriyonik ölümlerin hormonal kaynaklı olanlarının bir kısmının önlenmesi hedeflenmektedir. Bu çalışmaların çoğunda, tohumlama sırasında yapılan GnRH veya hCG uygulamalarıyla gebelik oranlarının arttığı bildirilirken (11, 31, 61, 62, 73, 103, 110, 111) bazı çalışmalarda etkisiz olduğu (28, 66, 113) iki çalışmada ise (7, 23) GnRH veya hCG uygulamalarının gebelik oranlarını düşürdüğü ileri sürülmektedir.

Kaygusuzoğlu ve Kalkan (61), 23 inekte yaptıkları çalışmada, tohumlamadan hemen sonra 100 µg gonadorelin uygulamışlar ve bu uygulamanın, gebe kalan ineklerde progesteron seviyelerini önemli derecede etkilemediğini, ancak gebe kalan ineklerin sayısını artırdığını bildirmişlerdir.

Ataman ve ark. (11), 24 düvede yaptıkları çalışmada ise, tohumlama anında buserelini kas içi yolla veya burun mukozasına püskürtmek suretiyle uygulamışlardır. Her iki yolla yapılan GnRH uygulamalarının da gebelik oranlarını artırdığını tespit etmişlerdir.

Bir başka çalışmada (73) spontan östrüslü ve prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile uyarılmış östrüslü 120 ineğe, 100 µg gonadorelin uygulanmıştır. Sonuçta, doğum sonrası 40. günden sonra aktif korpus luteum belirlenerek uygulanan prostaglandin F<sub>2</sub> alfa analoglarını takiben gözlenen östrüslerde, tohumlama anında, GnRH uygulanmasının, buzağılama ve tekrar gebe kalma aralığı ile ilk tohumlamada, gebe kalma aralığı üzerinde olumlu etki oluşturacağı kanısına varılmıştır.

Stevenson ve ark. (111), tek veya iki kez tohumlama yapılan repeat breeder ineklere tohumlama anında 100 µg GnRH uygulamışlar ve tek tohumlama yapılan hayvanlarda GnRH uygulamasının gebelik oranlarını artırdığını bildirmişlerdir.

Srivastava ve Kharche (110) tarafından 85 normal inekte yapılan çalışmada, suni tohumlama anında 10 µg veya 20 µg dozda buserelin uygulanmış ve 20 µg GnRH enjeksiyonu yapılan grupta daha yüksek gebelik oranı elde edildiği rapor edilmiştir. Aynı araştırmacılar (62), diğer bir çalışmalarında, 137 repeat breeder inekte, tohumlama anında, 10 µg veya 20 µg dozda buserelin kullanmış ve deney sonucunda 20 µg GnRH verilen grupta gebelik oranlarının daha yüksek olduğunu aktarmışlardır.

Selvaraju ve ark. (103) da repeat breeder ineklerde siklusun 0, 7, 14. günlerinde hCG enjekte etmişler ve suni tohumlama anı ile 14. günde hCG uygulamasının fertilitayı yükselttiğini bildirmişlerdir.

Das ve ark. (31), yine repeat breeder ineklerde yaptıkları çalışmalarında, suni tohumlamadan hemen sonra 3.000 IU hCG uygulaması ile elde edilen gebelik oranının % 83.33 olduğunu bildirmişlerdir.

Lewis ve ark. (66), 836 inek ve düvede yaptıkları çalışmada, hayvanları 4 gruba ayırarak; ilk gruba suni tohumlama ile birlikte plasebo + 15. gün plasebo, 2. gruba suni tohumlama ile birlikte GnRH + 15. gün plasebo, 3. gruba suni tohumlama ile birlikte plasebo + 15. gün hCG ve 4. gruba suni tohumlama ile birlikte GnRH + 15. gün hCG uygulamışlar ve bu uygulamalarda gebelik oranlarının etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Stevenson ve ark. (113) ise, 328 inekte yaptıkları çalışmada, tohumlama anında GnRH uygulanmasının, özellikle ilk tohumlamada gebelik oranlarını etkilemediğini ancak, sonraki tohumlamalarda kullanımının ise bu oranları artıracağı kanısına varmışlardır.

Diğer bir çalışmada (7), 66 inekte prostaglandin uygulaması ile östrüse gelen ineklere 100 µg gonadorelin veya 1.500 IU hCG verilmiş, GnRH ve hCG uygulananlarda gebelik oranlarının, kontrollere göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Çetin (28) ise, 20 inekte yaptığı çalışmada, tohumlama anında 1.500 IU hCG uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisi olmadığını bildirmiştir.

### **3.11. Tohumlama Sonrası GnRH ve hCG Kullanımı**

Tohumlama sonrası GnRH ve hCG enjeksiyonları, luteal dokunun desteklenmesi amacıyla, tohumlamadan 1-15 gün sonra yapılır. Böylece ovaryumlar üzerinde bulunan korpus luteumu oluşturan hücrelerin luteinleşmesi ve progesteron salgısının artırılması sağlanır. Bunun sonucunda luteal doku yetersizliklerinden kaynaklanan erken embriyonik ölümlere karşı koruma sağlanabilir (17, 30, 40, 91, 99, 129).

Birçok çalışmada çeşitli GnRH analogları ve hCG, gebelik oranlarını artırmak amacıyla, tohumlama sonrası 1-15. günler arasında, değişik dozlarda uygulanmıştır. Bunların birçoğunda gebelik oranlarının arttığı bildirilirken, etki mekanizmasına değişik yorumlar getirilmiştir. Ancak, çoğunlukla GnRH ve hCG'nin foliküler luteinizasyon veya aksesör

korpus luteum oluşumuna sebep olarak progesteron seviyesini artırdığı ve bu şekilde erken embriyonik ölümleri azalttığı vurgulanmıştır (29, 37, 40, 61, 64, 69, 70, 94, 101, 107). Bir kısım araştırmacılar ise, bu günlerde yapılan GnRH'nın gebelik oranlarını artırmadığını, ancak olumsuz etkilerinin de olmadığını belirtmişlerdir (15, 54, 59, 93, 96, 118, 126).

Yapılan bir çalışmada (29), 80 inekte, prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile senkronizasyondan sonra tohumlama anında, tohumlamayı takiben 12. günde ve suni tohumlama anı + suni tohumlama sonrası 12. günlerde, 10.5 µg buserelin enjeksiyonu yapılmış ve her uygulamanın da gebelik oranlarını (1. grup % 40, 2. grup % 35, 3. grup % 35, kontrol % 25) artırdığını, en iyi sonucun tohumlama sırasında GnRH uygulanması ile elde edildiği bildirilmiştir.

Erdem ve ark. (40), 40 düvede yaptıkları çalışmada tohumlama sonrası 12. günde 10 µg buserelin uygulamışlar ve deneme grubunda (% 70), kontrol grubuna göre (% 45) daha yüksek gebelik oranları elde etmişlerdir. Araştırmacılar sonuçta, bu uygulamanın, düvelerde luteal yetmezliklere bağlı olarak şekillenen embriyonik ölümleri önleyebileceği kanısına varmışlardır.

Lopez-Gaitus ve ark. (67), 1289 inekte yaptıkları bir çalışmada, bir gruba tohumlama anında, diğer bir gruba ise tohumlama anında ve 12. günde GnRH uygulamışlar ve uygulama sonucunda, kontrol grubunda % 20.6 gebelik elde edilmişken, tohumlama anında GnRH uygulanan grupta % 30.8, tohumlama anı + 12. günde GnRH uygulanan grupta ise % 35.4 gebelik oranı elde etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada da (64), bir gruba tohumlama sonrası 12 - 14. günlerde yalnız başına 10 µg buserelin, 2. gruba prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile oluşturulan östrüs sonrası tohumlamadan 12-14 gün sonra yine 10 µg buserelin verilmiş, her iki grupta da kontrol grubuna göre daha yüksek gebelik (% 60 - 44 ve % 62 - 40) elde edilmiştir.

Rettmer ve ark. (94), östrüs sonrası 11, 12, 13 ve 14. günlerde 200 µg fertirelin asetat uyguladıkları 745 düve ve inekte, uygulamanın her iki grupta da gebelik oranlarını artırdığını bildirmektedirler.

Süt ineklerinde yapılan bir başka çalışmada (89), birinci gruba tohumlama anında 10 µg buserelin enjeksiyonu, ikinci gruba suni tohumlama sonrası 12. gün aynı miktarda buserelin ve üçüncü gruba da tohumlama sonrası 8 veya 10. günde yine aynı miktar buserelin yapılmış ve sadece tohumlama sonrası 12. günde buserelin yapılan grupta, kontrol grubuna göre daha yüksek oranda gebelik elde edilmiştir (% 65 - 53).

Drew ve Peters (37), yaptıkları bir başka çalışmada, ineklere suni tohumlama sonrası 12. günde 10 µg buserelin verildiğinde gebelik oranının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ve bir diğer grupta ise, suni tohumlama sonrası 8-10. günde verilen buserelinin fertilitte üzerinde etkisiz olduğunu bildirmişlerdir.

Jubb ve ark. (59)'nın yaptıkları bir çalışmada suni tohumlama sonrası 11-13. günde yapılan 10 µg buserelin enjeksiyonunun, kontrol grubuna göre, daha kısa östrüs aralıklarına neden olmakla birlikte, gebelik oranları bakımından farksız olduğunu belirtmişlerdir.

Rettmer ve ark. (93), yaptıkları bir başka çalışmada, 38 düveye, tohumlama sonrası 11, 12 veya 13. günde uygulanan GnRH'nin etkisini araştırmışlar ve plasebo verilen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında gebelik oranlarının aynı olduğu, ama enjeksiyondan 4-12 gün sonra serum progesteron konsantrasyonunda artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Bir çalışmada da (107) 1619 inekte tohumlamadan 11 gün sonra 10 µg buserelin enjekte edildiğinde, gebelik oranının yükseldiği (tedavi % 60, kontrol % 50.6) bildirilmiştir.

Howard ve ark. (54), 565 inekte yaptıkları çalışmalarında suni tohumlama sonrası 5. günde yapılan GnRH enjeksiyonunun progesteron konsantrasyonunu 13. günde artırdığı, ancak gebelik oranlarında herhangi bir düzelmeyi görülmediğini bildirmişlerdir.

Isı stresi altındaki 105 inekte yapılan bir çalışmada (129), ovsynch protokolleri uygulanmış ve takiben yapılan suni tohumlamadan sonraki 5. veya 11. günlerde 100 µg cystorelin enjeksiyonu yapılmıştır. Sonuçta araştırmacılar, her iki günde de verilen GnRH'nın, serum progesteron konsantrasyonunu yükselttiğini ve gebelik oranlarını artırdığını tespit etmişlerdir.

Bartolome ve ark. (15) tarafından 831 inekte yapılan çalışmada ise, presynch ve ovsynch protokollerini takiben, 5. ve 15. günlerde iki GnRH enjeksiyonunun gebelik oranını azalttığı ama 5. veya 15. günlerde yapılan tek enjeksiyonun herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Rajamahendran ve Sianangama (91) tarafından yapılan çalışmada, 34 ineğe suni tohumlama anı, 7. veya 14. günlerde 1.000 IU hCG uygulanmıştır. Yapılan hCG enjeksiyonunun, aksesör korpus luteum oluşumunu indüklediği, plazma progesteron düzeyini artırarak erken embriyonik ölümleri azalttığı kanaatine varılmıştır.

Bir başka çalışmada da (99), 406 inekte östrüs senkronizasyonunu takiben yapılan suni tohumlamadan 5 gün sonra, 3.300 IU hCG uygulamasının, aksesör korpus luteum şekillenmesini uyararak, plazma progesteron konsantrasyonunu yükselterek gebelik oranlarını artırdığı kanaatine varılmıştır.

Diaz ve ark. (35), toplam 13 düvede prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile senkronizasyon sonrası gözlenen östrüsün 5. gününde 3.000 IU hCG uygulamışlar ve bu grupta 9-17. günler arasında progesteron konsantrasyonunun, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Tefera ve ark. (118), 156 inekte yapmış oldukları çalışmada, suni tohumlamadan 4 gün sonra 3.000 IU hCG veya 12 gün sonra 10 µg buserelin uygulamasında, gebelik oranları bütün gruplarda % 42 bulmuşlar ve sonuçta suni tohumlama sonrası luteal fonksiyonların uyarılmasının, embriyonik ölüm oranını azaltmadığını kanısına varmışlardır.

Shams-esfandabadi ve ark. (106) da toplam 158 inekte suni tohumlama sonrası 5. günde 3.000 IU hCG uygulamışlar ve uygulama sonucunda gebelik oranlarının artmadığını, ancak serum progesteron konsantrasyonunun kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bir başka çalışmada (126), 96 düvede senkronizasyonu takiben suni tohumlama ve sonrası 5. günde 3.300 IU hCG uygulanmış, hCG verilen düvelerde östrüs siklusunun 7-8. günlerinde kontrol grubuna göre progesteron düzeyinin yükseldiği ama gebelik oranında herhangi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

Toplam 62 inekte yapılan bir diğer çalışmada da (42), suni tohumlama sonrası 7. günde 2.500 IU hCG uygulamasının, östrüs siklusu uzunluğunu, kontrol grubuna göre uzattığı ancak gebelik oranlarını etkilemediği bildirilmiştir.

Eduvie ve Seguin (39) yaptıkları bir çalışmada, ilk olarak, toplam 22 ineği, 3 gruba ayırarak 1. gruba östrüs sonrası 9, 10 veya 11. günden başlamak suretiyle 7 gün aralıklarla 4 defa 10.000 IU hCG enjeksiyonu, 2. gruba ise 14 gün aralıkla 2 defa 10.000 IU hCG enjeksiyonu yapmışlar. Uygulamanın her iki grupta da kontrollere göre östrüs aralığını uzattığını tespit etmişlerdir. Çalışmanın 2. aşamasında ise 200 inekte ilk veya 2. tohumlama sonrası 10.000 IU hCG tek enjeksiyon şeklinde uygulanmış ve gebelik oranları hCG grubunda % 59, kontrolde % 63 olarak bulunmuştur. Sonuçta araştırmacılar, yaptıkları uygulamanın luteal fonksiyonu uzatmasına rağmen gebelik oranlarını artırmadığı kanısına varmışlardır.

Schmitt ve ark. (100), yaptıkları bir çalışmada, laktasyonda olmayan Holştayn ineklere, östrüsten 5 gün sonra GnRH ve hCG uygulamışlar ve 6 ile 13. günlerde progesteron düzeyi, hCG uygulanan grupta daha yüksek tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada ise, (17) 58 inekte suni tohumlama sonrası 5. günde 100 µg gonadorelin veya 2.500 IU hCG uygulanmış ve yapılan GnRH ve hCG tedavisi sonrası progesteron konsantrasyonlarının artmasıyla birlikte gebelik oranlarının arttığı bildirilmiştir.

Repeat breeder 56 inekte yapılan bir çalışmada (85), prostaglandin F<sub>2</sub> alfa analogu ile östrüs senkronizasyonu sonrası 72 ve 96. saatlerde suni tohumlama yapılmış, ayrıca, 72. saatte damar içi 1.500 IU hCG enjeksiyonu ile 96. saatten 30 dakika sonra gentamisin sülfat intrauterin yolla uygulanmıştır. Doğum oranı, tedavi grubunda (% 38,89 ± 1,37), kontrol grubundan (% 15,00 ± 1,83) önemli oranda daha yüksek bulunmuş ve repeat breeder ineklerde östrüs senkronizasyonu ile birlikte suni tohumlama sırasında hCG ve gentamisin uygulanarak doğum oranlarının artırılabilceği bildirilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada da (128) 82 repeat breeder inekte 4-6. günler arasında 1.500 IU hCG veya placebo uygulanmış ve gebelik oranları sırasıyla % 47,2 ve % 39,2 bulunmuştur. Yapılan tedavinin istatistiki anlamda repeat breeder ineklerde, gebelik oranlarını artırmadığı bildirilmiştir.

Tohumlama sırası ve sonrası 1-15. günlerde birlikte GnRH kullanılan çalışmalar yapılmış ve birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Suni tohumlama ile birlikte ve sonrası 1-15. günlerde hCG uygulanan çalışma ve GnRH + hCG'nin birlikte uygulandığı çalışma ise azdır (63, 66).

Bu çalışmada, GnRH veya hCG'nin tek başına ve birlikte suni tohumlama sırası ve sonrası 12. günde kullanımının ineklerde gebelik oranları ve progesteron düzeyleri üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Gereç

Çalışma, Kahramanmaraş ilinde bulunan Hünkar Kuyumculuk Hayvancılık Şirketine ait süt sığırı işletmesinde gerçekleştirildi. Çalışmaya, Temmuz 2006'da başlandı ve Ocak 2007'de bitirildi. Çalışmanın materyalini; 2-3 yaşlı, postpartum 40-80. günler arasında bulunan 73 adet Holştayn ve 2 adet Montafon ırkı primipar inek oluşturdu. Çalışma öncesi tüm hayvanların; kayıt, anamnez, inspeksiyon ve rektal yolla muayene edilerek reproduktif açıdan herhangi bir sorunları olmadığı anlaşıldı ve tohumlama öncesi tespit edilen en az bir östrüsları boşa geçirildi.



Şekil 3. Çalışmanın yapıldığı çiftlik.

#### **4.1.1. Bakım, Besleme ve Barınak**

Çiftlikte; inekler, serbest duraklı padoklarda barındırılmaktaydı. Hayvanların yemleme ve dinlenme alanları birbirinden ayrı, ayrıca hayvanların gezinmeleri için üstü açık gezinme alanları da mevcuttu.

Hayvanlara sağım dönemlerinde; mısır, buğday, arpa, buğday kepeği, mısır kepeği, mısır gluteni, soya küspesi, pamuk tohumu küspesi, vitamin tozu, mermer tozu, tuz ve aroma içeren kesif yemden verilmekteydi. Hayvan başına günlük kuru madde miktarını dengeleyecek kadar mısır silajı (20-25 kg), kuru yonca (4 kg) ve saman (3 kg) içeren kaba yemden verilmekteydi. Yemleme, sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa yapılmaktaydı.

#### **4.2. Yöntem**

Çiftlikte, östrüsün tespit edilmesi amacıyla, hayvanın adım sayısını pedometre aracılığıyla, radyofrekans dalgaları halinde sisteme gönderen ve aynı ineğin süt verim miktarını da göz önüne alarak, östrüste olup olmadığını bildiren AfiFarm Sürü Yönetim Sistemi Programı (AfiFarm System, SAE Afikim, Israel) kullanılıyordu. Ayrıca bakıcılar tarafından, günde 3 defa yarım saat süre ile inekler takip edildi. Bu şekilde hem Afifarm Sürü Yönetim Sistemi Programı hem de gözleme metodu kullanılmak suretiyle, ineklerde kızgınlık tespiti yapıldı.

Östrüs belirtisi gösteren hayvanlar, östrüsün ikinci yarımında tohumlandı. Bu hayvanlar aşağıdaki gibi 5 gruba ayrıldı.

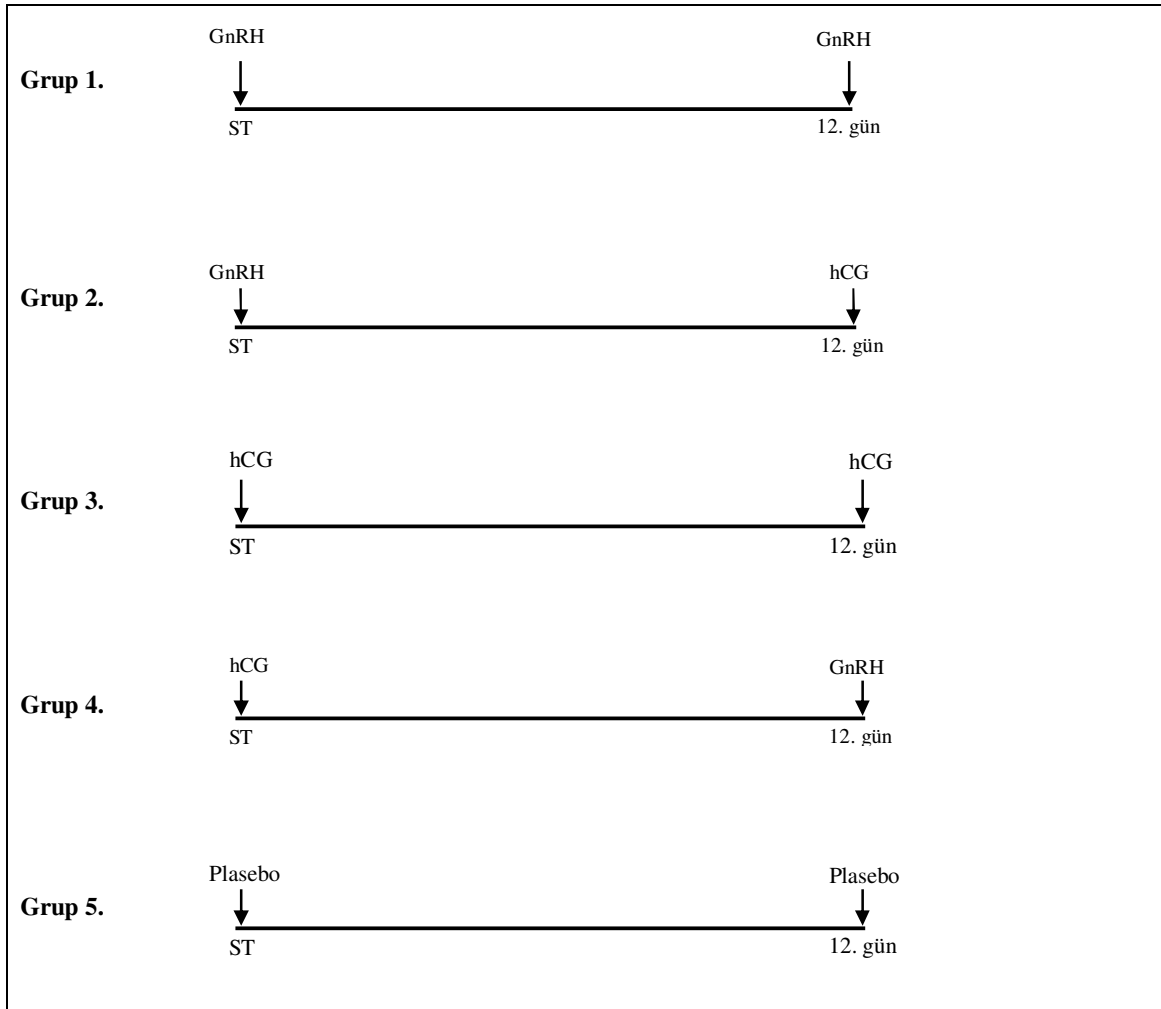
**1. Grup (n=15):** İneklerden östrüs gösterenler tohumlandı ve tohumlama ile birlikte ve tohumlama sonrası 12. günde 10 µg buserelin asetat (Receptal® , Intervet) kas içi enjekte edildi.

**2. Grup** (n=15): Suni tohumlama anında 10 µg buserelin asetat (Receptal<sup>®</sup> , İntervet) ve tohumlama sonrası 12. günde 1.500 IU hCG (Pregnyl<sup>®</sup> , Organon) kas içi enjekte edildi.

**3. Grup** (n=15): Hem suni tohumlama anında hem de tohumlamadan sonraki 12. günde 1.500 IU hCG (Pregnyl<sup>®</sup> , Organon) kas içi enjekte edildi.

**4. Grup** (n=15): Tohumlamayla birlikte 1.500 IU hCG (Pregnyl<sup>®</sup> , Organon) ve tohumlama sonrası 12. günde 10 µg buserelin asetat (Receptal<sup>®</sup> , İntervet) kas içi enjekte edildi.

**5. Grup** (n=15): Kontrol grubunu oluşturdu. Bu gruba hem tohumlama anında hem de tohumlamadan 12 gün sonra 2 ml serum fizyolojik kas içi enjekte edildi.



**Şekil 4.** Grupların şematik gösterimi.

### 4.3. Kan Örneklerinin Toplanması

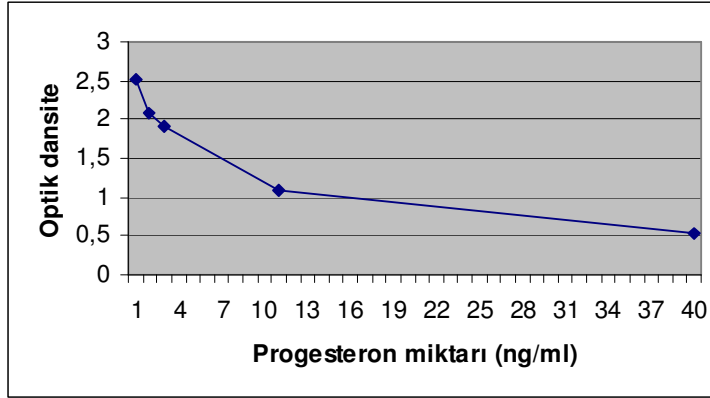
Tüm hayvanlardan suni tohumlama anında ve suni tohumlama sonrası 5, 10, 15 ve 21. günlerde olmak üzere 5 defa vena jugularisten steril bir kanülle, kan alma tüplerine, her defasında 10 ml kan alındı. Pıhtı oluşumundan sonra tüplerdeki kanlar 3000 devir/dk'da 10 dk. santrifüj edildi. Elde edilen serumlar 2 ml'lik serum saklama tüplerine aktarılarak -20 °C'de muhafaza edildi.

### 4.4. Progesteron Tayini

Kan serumlarındaki Progesteron miktarı ticari ELİSA kitleri (Diametra, Foligno, İtalya) kullanılarak ölçüldü (130).

Serum örnekleri ve standartlar çift çalışıldı. İlk olarak, serum örnekleri oda ısısında çözdürüldü ve karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra progesteron kiti içerisinde bulunan 5 tane standardın (S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>) her birinden ayrı ayrı mikropleytdeki kuyucuklara 50 µl konuldu. Kör kuyucuk adı verilen bir kuyucuk boş bırakıldı. Mikropleytde serum için ayrılan kuyucuklar içerisine 50 µl serum aktarıldı. Bu aşamalarda, gerek standartlar için gerekse kan serumları için ayrı mikropipet uçları kullanıldı. Takiben hem standartların hem de serum örneklerinin üzerine 50 µl konjugat ilave edildi ve 1 saat boyunca 37 °C' de bekletildi. Sonra her kuyucuktaki içerik 300 µl distile su ile yıkanmak suretiyle kaldırıldı. Bu yıkama işlemi iki defa yapıldı. Daha sonra 100 µl TMB-substrat ilave edildi ve karanlıkta, oda ısısında, 15 dakika boyunca bekletildi. On beş dakika tamamlandığında 100 µl stop solüsyon ilave edildi. Son olarak mikropleyt 450 nm'de okundu (Bio-tek, Winooski, VT, USA). Sonuçlar cihaza bağlı yazıcıdan alındı. Alınan sonuçlar aşağıda örneği bulunan ve her numune için kendi mikropleytinin hazırlanan grafiğinden ng/ml cinsinden progesteron miktarları belirlendi. Her

42 numune için çift olmak üzere bir mikropleyt kullanıldı ve aynı işlemler bunlarda da tekrar edildi.



**Şekil 5.** Progesteron miktarının hesaplanmasında kullanılan grafiklerden bir örnek.

#### 4.5. Gebelik Kontrolü

Gebelik kontrolleri tohumlama sonrası 45-60. günlerde, rektal muayene ile yapıldı.

#### 4.6. İstatistiki Analiz

Grupların progesteron düzeylerinin karşılaştırmalarında, Kruskal-Wallis varyans analizi ve alt grup karşılaştırmalarında, Mann-Whitney U testi kullanıldı. Gebelik oranları, Ki kare testi ile karşılaştırıldı (82). Ölçümler SPSS (SPSS for Windows 11.0) kullanılarak yapıldı.

## 5. BULGULAR

Çalışma sonucunda, birinci grupta 15 inekten 6'sı, ikinci grupta 15 inekten 7'si, üçüncü grupta 15 inekten 7'si, dördüncü grupta 15 inekten 6'sı ve beşinci grupta 15 inekten 6'sı gebe kaldı. Grupların gebelik oranlarının karşılaştırılmasında, gruplar arasındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edildi ( $P > 0.05$ ) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Uygulama ve kontrol gruplarının gebelik durumları.

Gruplar	n	Gebelik		%
		(+)	(-)	
1. GnRH + GnRH	15	6	9	40.0
2. GnRH + hCG	15	7	8	46.7
3. hCG + hCG	15	7	8	46.7
4. hCG + GnRH	15	6	9	40.0
5. Plasebo+Plasebo	15	6	9	40.0
<b>P</b>		—	—	—

— :  $P > 0.05$

Gebe olan hayvanlarda, gruplar arası progesteron düzeyleri bakımından, sadece 5. günde, 4. grup ile diğer gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edildi ( $P < 0.05$ ) ( Tablo 2).

**Tablo 2.** Uygulama ve kontrol gruplarında gebe olan hayvanların progesteron düzeyleri.

Gruplar	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	21. gün
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$
1	0,50 ± 0,10	3,44 ± 1,19 <sup>a</sup>	12,32 ± 4,64	13,94 ± 5,86	16,30 ± 5,78
2	0,73 ± 0,14	9,08 ± 3,08 <sup>a</sup>	16,98 ± 6,04	16,05 ± 3,27	12,47 ± 5,82
3	0,55 ± 0,12	5,56 ± 0,88 <sup>a</sup>	7,27 ± 1,70	9,76 ± 2,40	10,53 ± 4,52
4	0,28 ± 0,97	0,70 ± 0,26 <sup>b</sup>	5,18 ± 2,52	5,18 ± 1,20	7,18 ± 3,13
5	0,42 ± 0,16	6,68 ± 2,72 <sup>a</sup>	11,50 ± 3,27	15,12 ± 4,05	22,48 ± 4,94
<b>P</b>	—	*	—	—	—

\* : P < 0.05

— : P > 0.05

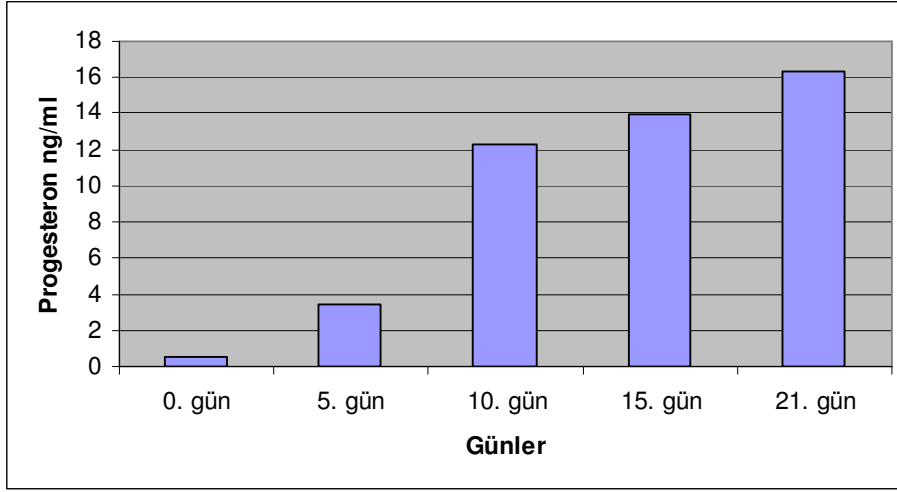
a, b: Aynı sütunda farklı harf içeren ortalamalar arası farklar önemlidir.

Gebe olmayan hayvanların, gruplar arası progesteron düzeyleri arasında önemli bir farklılık tespit edilemedi (P < 0.05) ( Tablo 3).

**Tablo 3.** Uygulama ve kontrol gruplarında gebe olmayan hayvanların progesteron düzeyleri.

Gruplar	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	21. gün
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$
1	0,43 ± 0,23	2,83 ± 1,09	5,37 ± 0,50	3,83 ± 1,94	2,43 ± 1,85
2	0,20 ± 0,14	9,95 ± 7,50	12,15 ± 8,41	10,83 ± 3,04	2,15 ± 1,82
3	0,15 ± 0,05	0,90 ± 0,10	2,20 ± 1,60	1,05 ± 0,05	0,80 ± 0,10
4	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,20	1,40 ± 0,90	5,60 ± 1,00	1,15 ± 0,35
5	4,60 ± 2,83	10,30 ± 3,04	15,28 ± 3,85	19,33 ± 5,64	11,45 ± 5,27
<b>P</b>	—	—	—	—	—

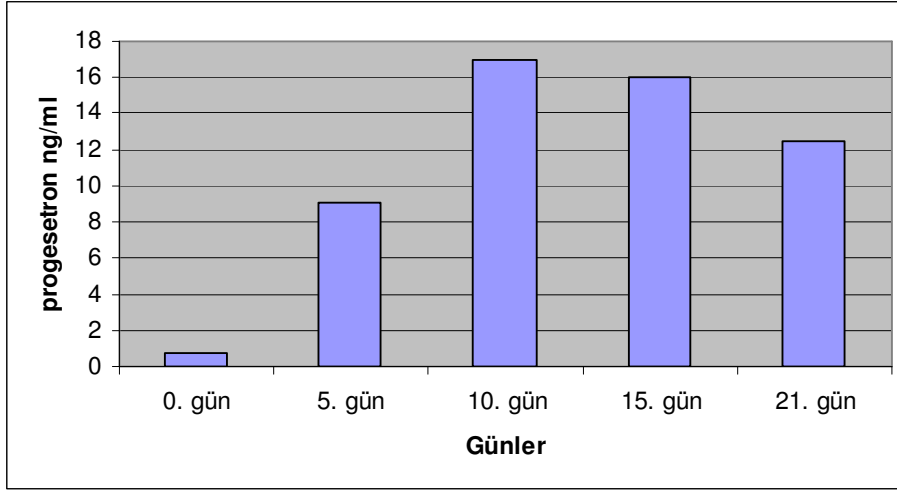
— : P > 0.05



Şekil 6. Birinci gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



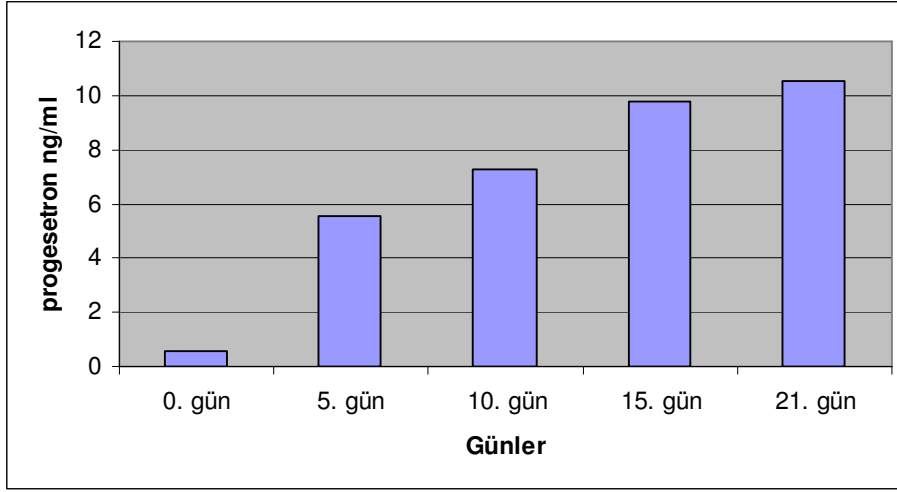
Şekil 7. Birinci gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



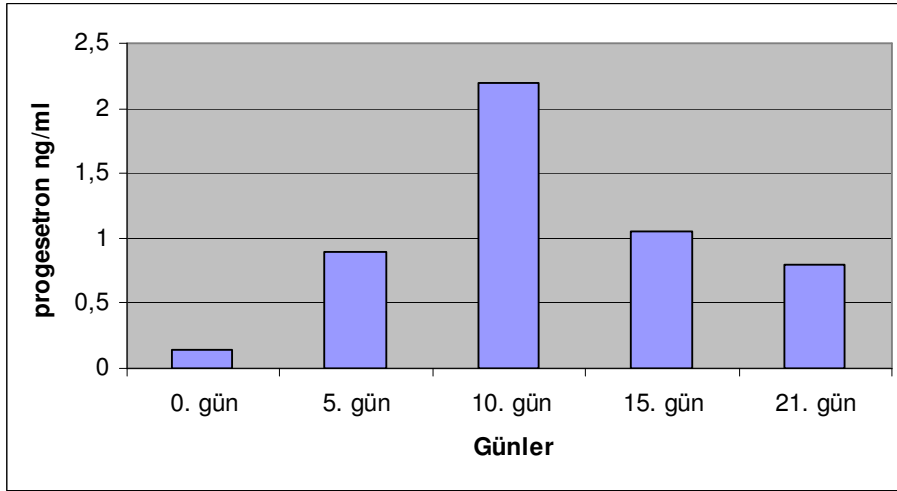
Şekil 8. İkinci gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



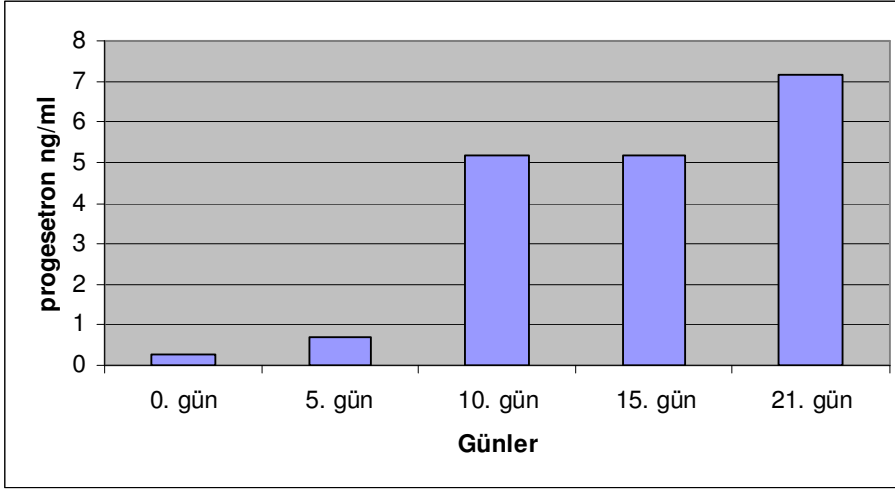
Şekil 9. İkinci gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



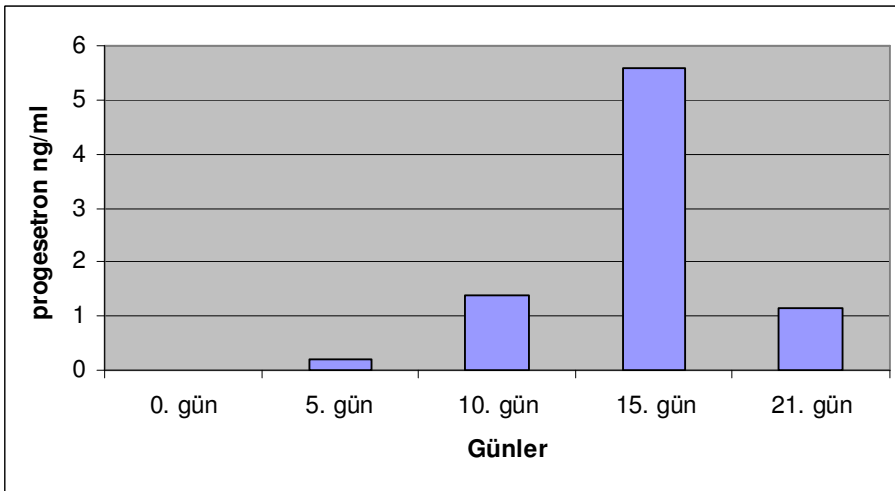
**Şekil 10.** Üçüncü gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



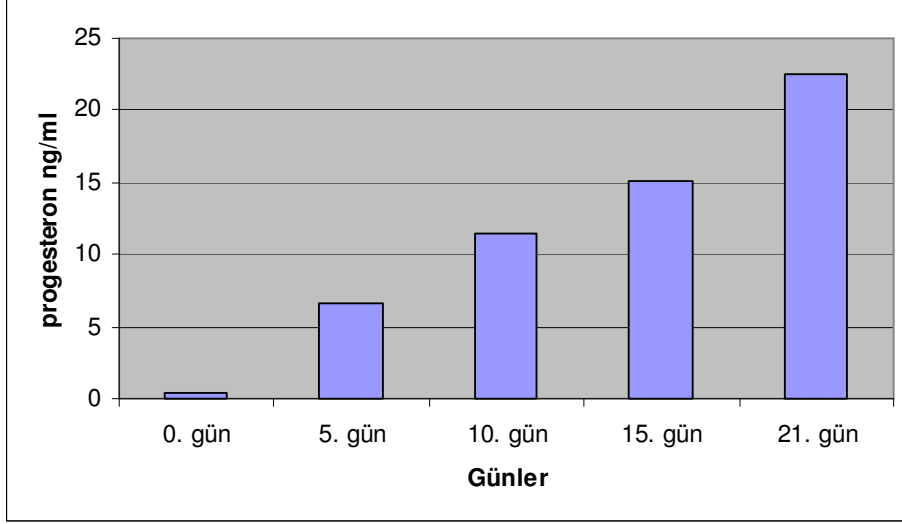
**Şekil 11.** Üçüncü gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



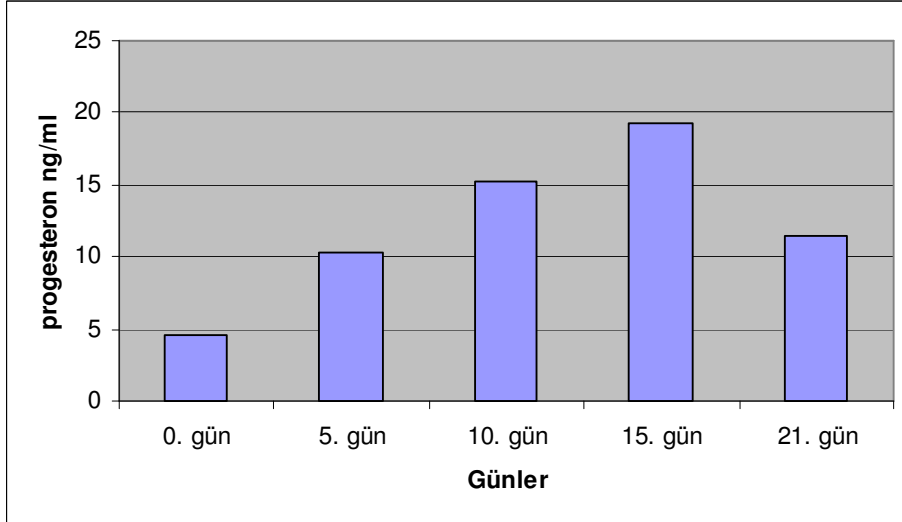
Şekil 12. Dördüncü gruptaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



Şekil 13. Dördüncü gruptaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



Şekil 14. Kontrol grubundaki gebe hayvanların kan serumu progesteron değerleri.



Şekil 15. Kontrol grubundaki gebe olmayan hayvanların kan serumu progesteron değerleri.

## 6. TARTIŞMA

Fertilite, ineklerde verimin en önemli ölçütüdür. Bu nedenle, ineklerin yapılan ilk tohumlamada gebe kalmaları arzu edilir. Ancak, ilk tohumlamayla elde edilen ortalama buzağılama oranı % 50-60 civarındadır (19, 47). Bu oranı artırmak için tohumlama anı ve tohumlama sonrası luteal dönemde GnRH ve hCG hormonları yaygın olarak kullanılmaktadır (27, 29, 31, 110).

Fertiliteyi yükseltmek amacıyla, suni tohumlama anında ve tohumlama sonrası 12. günde yapılan GnRH ve hCG uygulamalarıyla; folikülogenezisin uyarılması, preovulatör LH pikinin ve ovulasyonun tetiklenmesi, ovulasyon gecikmesi ve anovulasyon insidensinin azaltılması, luteal yapıların uyarılarak korpus luteumun oluşturulması, progesteron salgısının artırılması ve dolayısıyla erken embriyonik ölümlerin önlenmesi amaçlanır (35, 101, 116, 117).

Tohumlama anında GnRH ve analogları ile hCG'nin kullanıldığı birçok çalışmada, ineklerde gebelik oranlarının yükseldiği bildirilirken (27, 29, 31, 110), bazı araştırmalarda gebelik oranlarının etkilenmediği belirtilmiştir (28, 96, 113). Ayrıca, gebelik oranının olumsuz yönde etkilendiğini bildiren araştırmalar da vardır (7, 23).

Tohumlama sırası ve sonrası 12. gün civarında GnRH kullanılan çalışma oldukça sınırlıdır (29, 67, 95). Bu çalışmaların sonuçları da farklılık göstermektedir. Ryan ve ark. (96), ineklerde tohumlama anında veya tohumlama sonrası 12. günde GnRH uygulamışlar ve gebelik oranlarında bir artış olmadığını bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada (95) ise, tohumlama anında veya tohumlama anı ve sonrası 12. günde GnRH enjeksiyonu yapılmış ve neticede gebelik oranlarında bir değişiklik olmadığı rapor edilmiştir.

Çınar tarafından yapılan bir çalışmada (29), prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile senkronizasyondan sonra tohumlama anında, tohumlamayı takiben 12. günde ve suni tohumlama anı ve sonrası 12. günlerde GnRH enjeksiyonu yapılmış ve her uygulamanın da gebelik oranlarını artırdığı bildirilmiştir. Benzer bir çalışmada da Lopez-Gaitus ve ark. (67), tohumlama ile birlikte ve suni tohumlama sonrası 12. günde yapılan GnRH enjeksiyonunun, gebelik oranını artırdığını belirtmektedirler.

Tohumlama sonrası 12. günde yalnız başına GnRH yapılan çalışmalardan bir kısmında (37, 40) gebelik oranlarında artış olduğu tespit edilirken Szenci ve ark. (114) da tohumlama sonrası 12. günde GnRH yapılan ineklerde gebelik oranlarının değişmediğini bildirmektedirler. Yapılan iki ayrı çalışmada ise (37, 89) birinci gruptaki ineklere tohumlama sırasında, ikinci gruptaki ineklere suni tohumlama sonrası 8 veya 10. günde, üçüncü gruptaki ineklere ise 12. günde GnRH uygulaması yapılmış ve sadece 12. gündeki uygulama grubunda gebelik oranlarının arttığı ileri sürülmüştür.

Türkiye’de yapılan bir diğer çalışmada da (73) spontan östrüs gösteren ve prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ile senkronize edilen ineklere, tohumlamadan 6 saat önce ve tohumlama sırasında yapılan GnRH enjeksiyonunun gebelik oranlarını artırmadığı belirtilmiştir. Bir başka çalışmada Peters ve ark. (88), tohumlama sonrası 11-14. günler arası GnRH uygulanan 19 çalışmanın meta analizini yapmışlar ve her çalışmada, gebelik oranları arasında önemli farklılıklar tespit etmişlerdir. Bu farklılıkların da çevresel etkiler, bakım ve ırka bağlı olabileceğini bildirmektedirler. Bütün bu çalışmalara bakıldığında GnRH’nın etkisinde bir tutarsızlık görülmektedir. Ancak Peters ve ark. (88)’nin yapmış oldukları meta analizden ulaştıkları genel sonuç, 11-14. günler arası GnRH uygulamasının gebelik oranlarını artırdığı şeklindedir. Morgan ve Lean (75)’de yapmış oldukları meta analizde tohumlama anında yapılan GnRH uygulamalarının gebelik oranlarını artırdığını bildirmektedirler.

Sunulan çalışmada ise tohumlama sırası ve sonrası 12. günde GnRH uygulanan grupta % 40 oranında gebelik elde edilmesine rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda önemli bir fark bulunamamıştır. Elde edilen bu sonuç uygulama açısından benzeri olan Ryan ve ark. (95)'nin yaptıkları çalışma sonuçlarıyla paralellik gösterirken, Çınar (29)'ın yaptığı çalışmadan gebelik oranı bakımından daha yüksek (% 40 - % 35) olmasına rağmen, gebelik oranlarını artırmada başarısız bulunmuştur. Yine yapılan bu çalışmanın sonuçları, benzer bir çalışma olan Lopez-Gaitus ve ark. (67)'nin tohumlama sırası ve sonrası 12. günde GnRH uyguladıkları çalışmadan gebelik oranları itibariyle daha yüksek (% 35.4) olmasına rağmen, daha başarısız bulunmuştur.

Tohumlama sırası GnRH ve sonrası hCG yapılan sadece bir araştırma tespit edilmiştir. Bu çalışmada (66) 836 inek ve düve kullanılmış olup, tohumlama anında GnRH ve tohumlama sonrası 15. günde hCG uygulanmış ve uygulama sonucunda 124 hayvandan 65'inin (% 52.4) gebe kaldığı bildirilmektedirler. Çalışma sonucunda, tedavi grubu ile plasebo grubu arasında gebelik oranları bakımından bir fark tespit edilememiştir. Sunulan çalışmada ise, suni tohumlama anında GnRH ve sonrası 12. günde hCG uygulanan grupta % 46.7 gebelik oranı elde edildi ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise gebelik oranları açısından fark olmadığı belirlendi. Bu çalışmadaki GnRH + hCG ve plasebo + plasebo uygulanan gruplar arasındaki ilişki Lewis ve ark. (66)'nin bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmanın bir diğer grubunu oluşturan, tohumlama anında hCG ve tohumlama sonrası 12. günde GnRH uygulamasında % 40 gebelik elde edilmesine rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda fark bulunamamıştır. Tohumlama anında ovulasyonun uyarılması ve luteal dönemde luteal yapıların uyarılarak progesteron düzeylerinin diğer gruplarda olduğu gibi yükseltilerek, gebelik oranlarında artışların hedeflendiği bu uygulamanın bir benzeri, yapılan literatür taramalarında tespit edilememiştir.

Hem ovulasyonun uyarıldığı hem de luteal yapıların uyarılarak gebelik oranlarının artırılmasının hedeflendiği bazı çalışmalarda, tohumlama anında ve tohumlama sonrası hCG kullanılmıştır. Bu çalışmaların birinde (63) östrüs siklusunun 0 + 7 + 14. günlerinde, 0 + 5. günlerinde, 0. gün ve 5. günlerde olmak üzere 4 grupta hCG kullanılmış ve en yüksek gebelik oranının 0 + 7 + 14. günlerde hCG verilen grupta (% 35) olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte gebelik oranlarında önemli bir artış elde edilememiştir. Bir başka çalışmada Bruel ve ark. (20), östrüs siklusunun 4. günü 3.000 IU hCG enjeksiyonu, bir sonraki östrüste tohumlama sonrası 4. günde yine aynı miktar hCG uygulamış ve sonuçta gebelik oranlarında önemli artışlar (% 92-55) elde ettiklerini ileri sürmektedirler. Aynı araştırmacılar (21) yaptıkları benzer bir çalışmada da gebelik oranlarının etkilenmediğini bildirmektedirler. Selvaraju ve ark. (103), repeat breeder ineklere 0, 7, 14. günlerde hCG uygulamışlar ve suni tohumlama anı ile 14. günde yapılan hCG uygulamasının, gebelik oranlarını artırdığını bildirmektedirler. Benzer bir çalışmada da (91), siklusun 0, 7 ve 14. günlerinde tek enjeksiyon halinde hCG (1.000 IU) uygulanmış ve 7. gündeki uygulama grubunda, gebelik oranının, diğer gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sianangama ve Rajamahendran (108), tohumlama günü (0. gün), 7 ve 14. günlerde hCG uygulamışlar ve 7 ile 14. günlerde yapılan uygulamanın gebelik oranını yükselttiğini belirlemişlerdir.

Alan ve ark. (7), senkronizasyon sonrası östrüse gelen ineklere 1.500 IU hCG vermişler ve hCG uygulananlarda, gebelik oranlarının, kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu gözlemişlerdir. Çetin (28), tohumlama anında 1.500 IU hCG uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Tefera (118), yapmış olduğu çalışmada, suni tohumlamadan 4 gün sonra hCG (3.000 IU) veya 12 gün sonra GnRH (10 µg) uygulamasının, embriyonik ölüm oranını azaltmadığını belirtmektedir. Das ve ark. (31) ise repeat breeder ineklerde suni tohumlamadan hemen sonra 3.000 IU hCG uygulaması ile gebelik oranının oldukça yükseldiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada ise tohumlama sırası ve sonrası 12. günde hCG verilen grupta % 46.7 gebelik oranı elde edilmiş ancak kontrol grubuyla kıyaslandığında fark bulunamamıştır. Bu çalışma sonuçlarıyla Kharche ve Srivastava (63)'nın 0 + 7 + 14. günler 3 doz olarak hCG uyguladıkları ineklerdeki gebelik oranlarından daha yüksek (% 40 - % 35) olmakla birlikte benzer sonuç bulunmuştur.

Birçok araştırmacı tarafından, GnRH analogları ve hCG kullanılmak suretiyle yapılan çalışmalarda, , serum progesteron düzeylerini artırmak, erken embriyonik ölümleri azaltmak ve sonuçta gebelik oranlarını artırmak amaçlanmıştır. Farklı dozların kullanıldığı çalışmaların birçoğunda progesteron düzeyinin yükseldiği ancak gebelik oranlarında bir değişiklik olmadığı bildirilirken (21, 39, 54, 93, 106, 118, 126), gebelik oranlarının arttığını ama progesteron düzeyinin yükselmediğini (61, 68) veya progesteron düzeyindeki yükselmeye bağlı olarak gebelik oranlarının arttığını bildiren araştırmalar vardır (17, 91, 99, 123, 129). Sunulan bu çalışmada ise uygulama sonrası günlerde progesteron düzeylerinde istatistiksel anlamda önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak gebe olan hayvanlarda 4. grubun 5. gün değerleri ortalaması diğer gruplardan daha düşük bulundu. Bu farklılık, hayvanların gebe kalmaları nedeniyle test hatası olarak yorumlanabilir. Yine aynı şekilde kontrol grubundaki gebe olmayan hayvanların değerleri, diğer grupların aynı gün değerleriyle istatistiksel anlamda farklılık göstermemekle birlikte 0 ve 21. gün progesteron değerleri 1 ng/ml'nin üzerinde belirlenmiştir. Bunu da muhtemelen test hatası, östrüse 21. günde henüz girmediği veya hayvanların sağlıklı östrüs göstermediğine işaret ettiği şeklinde yorumlamak mümkündür. Ayrıca 1, 2 ve 4. grupların gebe olmayan hayvanlarında 21. günlerde progesteron değerleri ortalaması 1 ng/ml'nin üzerinde bulunmuştur. Bu değerlerin yüksekliği de muhtemelen test hatası, östrüse 21. günde henüz girmediği veya bireysel olarak 1-2 hayvanın embriyonik ölüm gösterdiğine yorumlanabilir.

Sonuç olarak, sunulan bu çalışmada, suni tohumlama sırası ve sonrası 12. günde GnRH + GnRH, GnRH + hCG, hCG + hCG ve hCG + GnRH uygulamalarının gebe kalma oranları ve progesteron düzeyleri üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ovulasyonun ve luteal yapıların uyarılması, kan serumu progesteron düzeylerinin yükseltilmesi ve bu yükselmeye bağlı olarak da gebelik oranının artırılması amacını taşıyan bu çalışmada; hedeflenen fertilitte değerlerine ulaşılamamıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Adams GP, Jaiswal R, Singh J and Malhi P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69 (1): 72-80.
2. Ahmad N, Schrick FN, Butcher RL, and Inskeep EK. (1995). Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biology of Reproduction* 52: 1129-1135.
3. Akar Y ve Apaydın AM. (2002). Retensiyon sekondinarumlu ineklerde postpartum 15. günde kullanılan GnRH'nin fertilite üzerine etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Veteriner)*, 16 (2): 167-175.
4. Aktümsek A. (2001). *Anatomi ve Fizyoloji*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
5. Alaçam E. (1999). Hormonların Klinik Kullanımları. "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite " Alaçam E (Editör). İkinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. 43-56.
6. Alaçam E. (1999). İnekte İnfertilite Sorunu. "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite " Alaçam E (Editör). İkinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. 267-290.
7. Alan M, Taşal İ, Karaca F ve Gülyüz F. (1998). Laktasyondaki sütçü ineklerde tohumlama sırasında GnRH ve HCG verilmesinin fertilite üzerine etkisi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 8 (1-2): 68-70.
8. Aparicio SAJR. (2005). Kisspeptins and GPR54 - The new biology of the mammalian GnRH axis. *Cell Metabolism* 1: 293-296.
9. Archbald LF, Sumrall DP, Tran T, Klapstein E, Risco C and Chavatte P. (1993). Comparison of pregnancy rates of repeat-breeder dairy cows given gonadotropin releasing hormone at or prior to the time of insemination (11) *Theriogenology* 39 (5): 1081-1091.
10. Ata A. (1997). Repeat breeder ineklerde GnRH uygulaması ve döl verimi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
11. Ataman MB, Aksoy M, Kaya A, Aral F, Yıldız C, Aköz M. (1998). Düvelerde suni tohumlama sırasında farklı yollardan uygulanan buserelin'in ovulasyon zamanı ve fertilite üzerine etkisi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 8 (1-2): 1-4.
12. Aytekin Y, Solakoğlu S ve Ahışalı B. (1998). *Temel Histoloji*. Barış Kitapçılık, Ankara.
13. Ball PJH and Peters AR. (2004). *Reproduction in Cattle*. Third Edition, Blackwell Publishing, Oxford.
14. Bartolome JA, Kamimura S, Silvestre F, Artech ACM, Trigg T and Thatcher WW. (2006). The use of a deslorelin implant (GnRH agonist) during the late embryonic period to reduce pregnancy loss. *Theriogenology* 65: 1443-1453.
15. Bartolome JA, Melendez P, Kelbert D, Swift K, McHale J, Hernandez J, Silvestre F, Risco CA, Artech ACM, Thatcher WW and Archbald LF. (2005). Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63: 1026-1037.

16. Bearden HJ and Fuquay JW. (2000). Applied Animal Reproduction. Fifth Edition, Prentice Hall, New Jersey.
17. Beltran MP, Vasconcelos JLM, Santos RM, Demetrio DGB, Barros CM and Wechsler FS. (2003). Effect of treatment with GnRH or hCG on day 5 after AI on conception rates in lactating Holstein cows during the summer. *Revista Brasileira de Reproducao Animal* 27 (3): 440-442.
18. Binelli M, Thatcher WW, Mattos R and Baruselli PS. (2001). Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56 (9): 1451-1463.
19. Bozdoğan Ö. (2000). Fizyoloji. Palme Yayıncılık, Ankara.
20. Breuel KF, Spitzer JC and Henricks DM. (1989). Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *Journal of Animal Science* 67 (6): 1564-1572.
21. Breuel KF, Spitzer JC, Thompson CE and Breuel JF. (1990). First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology* 34 (1): 139-145.
22. Chandra R, Sanwal PC, Majumdar AC and Ansari MR. (1997). Superovulation in dairy cows: Effect of GnRH Treatment. *Theriogenology* 47 (1): 167.
23. Chenault JR. (1990). Effect of fertirelin acetate or buserelin on conception rate at first or second insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 73: 633-638.
24. Clarke IJ and Pompolo S. (2005). Synthesis and secretion of GnRH. *Animal Reproduction Science* 88 (1-2): 29-55.
25. Cole LA. (1997). Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clinical Chemistry* 43 (12): 2233-2243.
26. Çavuşoğlu H and Yeğen BÇ (Çeviri Editörleri). (2007). Tıbbi Fizyoloji. Guyton AC and Hall JE (Editörler). Onbirinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 905-917.
27. Çetin H, Bozkurt T, Kaygusuzoğlu E, Rışvanlı A, Öcal H. (1999). İneklerde tohumlama sonrası 4. günde uygulanan human chorionic gonadotropin'in (HCG) gebelik oranı ve progesteron seviyelerine etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Veteriner)* 13 (3): 385-390.
28. Çetin H. (1996). İneklerde tohumlama ile birlikte hCG (human chorionic gonadotropin) uygulamasının kan progesteron düzeyine ve gebe kalma oranlarına etkisi. Doktora tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
29. Çınar M. (2002). PGF<sub>2</sub> alfa ile senkronize sütçü ineklerde tohumlama sırasında ve/veya tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilite üzerine etkisi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 12 (2): 31-34.
30. Çoyan K. ve Tekeli T. (1996). İneklerde Suni Tohumlama. Birinci Baskı, Bahçıvanlar Basım San. A.Ş., Konya.

31. Das PK, Deka KC, Biswas RK and Goswami J. (2007). Ovulatory disturbance and its therapeutic approach in repeat breeding crossbred cattle. *Indian Journal of Animal Sciences* 77 (1): 45-47.
32. Daşkın A. (2005). Sığırcılık İşletmelerinde Reprodüksiyon Yönetimi ve Suni Tohumlama. *Aydan Web Ofset*, Ankara.
33. De Rensis F and Peters AR. (1999). The control of follicular dynamics by  $PGF2\alpha$ , GnRH, hCG and oestrus synchronization in cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 34 (2): 49-59.
34. Demirel A, Bozdağ G ve Gürkan T. (2006). GnRH agonistleri ve antagonistleri: güncel yönleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 13 (2): 135-140.
35. Diaz T, Schmitt EJP, de la Sota RL, Thatcher MJ and Thatcher WW. (1998). Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *Journal of Animal Science* 76:1929-1936.
36. Dinç DA. (2006). İneklerde reproduktif verimliliği artırma programları. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 77 (2): 50-64.
37. Drew SB and Peters AR. (1994). Effect of buserelin on pregnancy rates in dairy cows. *Veterinary Record* 134 (11): 267-269.
38. Durmaz A ve Dikmen N. (2007). Kimyasal öpücük; kisspeptin. *Arşiv* 16 (3): 172-186.
39. Eduvie LQ and Seguin BE. (1982). Corpus luteum function and pregnancy rate in lactating dairy cows given human chorionic gonadotropin at middiestrus. *Theriogenology* 17 (4): 415-422.
40. Erdem H, Tekeli T ve Yenice M. (2002). Holstein ırkı düvelerde tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilité üzerine etkisi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 12 (2): 50-54.
41. Evans ACO. (2003). Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals* 38: 240-246.
42. Fantini Filho JC, Kozicki LE and Souza FP. (2004). Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on estrous cycle length and pregnancy rates in cattle. *Archives of Veterinary Science* 9 (2): 55-59.
43. Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, and Turzillo AM. (2001). Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biology of Reproduction* 65: 648-654.
44. Fortune JE. (1994). Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction* 50: 225-232.
45. Gobello C. (2007). New GnRH analogs in canine reproduction. *Animal Reproduction Science* 100 (1-2): 1-13.
46. Goodman HM. (2003). *Basic Medical Endocrinology*. Elsevier Inc. 423-456.
47. Gordon I. (2004). *Reproductive Technology in Farm Animals*. Cromwell Press, Trowbridge.
48. Gottsch ML, Clifton DK and Steiner RA. (2006). Kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 254-255: 91-96.

49. Hafez ESE and Hafez B. (2000). Folliculogenesis, Egg Maturation and Ovulation. "Reproduction in Farm Animals" Hafez B and Hafez ESE (Editors). Seventh Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 68-81.
50. Hafez ESE, Jainudeen MR and Rosnina Y. (2000). Hormones, Growth Factors, and Reproduction. "Reproduction in Farm Animals" Hafez B and Hafez ESE (Editors). Seventh Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 33-54.
51. Hassa O ve Aştı RN. (1997). Embriyoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd., Ankara.
52. Herbert CA and Trigg TE. (2005). Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science* 88 (1-2): 141-153.
53. Hopkins SM. (2003). Reproductive Patterns of Cattle. "McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction" Pineada MH (Editör). Fifth Edition, Iowa State Press, Iowa. 395-411.
54. Howard JM, Manzo R, Dalton JC, Frago F and Ahmadzadeh A. (2006). Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Animal Reproduction Science* 95 (3-4): 224-233.
55. Inskeep EK. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science* 82: E24-39.
56. İnan Y ve Gül M. (2002). Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
57. Janssens JPh, Russo J, Russo I, Michiels L, Donders G, Verjans M, Riphagen I, Den Bossche TV, Deleu M, Sieprath P. (2007). Human chorionic gonadotropin (hCG) and prevention of breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology* 269 (1-2) 93-98.
58. Jeoung M. (2003). Identification and characterization of the contact sites between human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor. Doctoral Thesis. University of Kentucky, Lexington, Kentucky.
59. Jubb TF, Abhayaratne D, Malmo J and Anderson GA. (1990). Failure of an intramuscular injection of an analogue of gonadotropin-releasing hormone 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rates in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal* 67 (10): 359-361.
60. Kalkan C ve Horoz H. (1997). Pubertas ve Seksüel Sikluslar. "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite " Alaçam E (Editör). İkinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. 13-30.
61. Kaygusuzoğlu E ve Kalkan C. (2000). İneklerde tohumlama sırasında uygulanan GnRH'nın gebelik oranları ve kan progesteron seviyesi üzerine etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Veteriner)* 14 (1): 015-022.
62. Kharche SD and Srivastava SK. (2007). Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Animal Reproduction Science* 99: 196-201.
63. Kharche SD and Srivastava SK. (2007). Fertility responses in repeat breeder dairy crossbred cows treated with human chorionic gonadotrophin. *Indian Journal of Animal Sciences*, 77 (4) : 297-299.

64. Lajili H, Humblot P and Thibier M. (1991). Effects of PGF<sub>2</sub>-alfa treatment on conception rates of dairy cows treated with a GnRH agonist 12 to 14 days after artificial insemination. *Theriogenology* 36 (2): 335-347.
65. Lawrence TLJ and Fowler VR. (2002). *Growth of Farm Animals*. Second Edition, Cromwell Press, Trowbridge.
66. Lewis GS, Caldwell DW, Rexroad CE, Dowlen HH and Owen JR. (1990). Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73 (1): 66-72.
67. López-Gatius F, Santolaria P, Martino A, Delétang F and De Rensis F. (2006). The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology* 65 (4): 820-830.
68. Lucy MC and Stevenson JS. (1986). Gonadotropin-releasing hormone at estrus: luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the periestrus and postinsemination periods in dairy cattle. *Biology of Reproduction* 35: 300-311.
69. Macmillan KL, Taufa VK, and Day AM. (1986). Effect of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle, III. pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Animal Reproduction Science* 11: 1-10.
70. Mann GE, Lamming GE and Fray MD. (1995). Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Animal Reproduction Science* 37 (2): 121-131.
71. Mckie R. (2005). Chemical kiss turns kids into adolescents. Erişim: (<http://www.guardian.co.uk/society/2005/jul/31/health.medicineandhealth>). Erişim tarihi: 21.07.2008
72. Mee M0, Stevenson JS, Scoby RK and Folman Y. (1990). Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *Journal of Dairy Science* 73 (6): 1500-1507.
73. Mehdikhani A ve Salmanoğlu MR. (1998). Postpartum problemsiz ineklerde prostaglandin F<sub>2</sub> alfa ve gonadotrophin releasing hormon kullanımının repröduktif performans üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 4 (1-2): 75-82.
74. Millar RP. (2005). GnRHs and GnRH receptors. *Animal Reproduction Science* 88 (1-2): 5-28.
75. Morgan WF and Lean IJ. (1993). Gonadotrophin-releasing hormone treatment in cattle: a metaanalysis of the effects on conception at the time of insemination. *Australian Veterinary Journal* 70: 205-209.
76. Morrow DA. (1986). *Current Therapy in Theriogenology* 2. WB Saunders Company, Philadelphia.
77. Nakao T, Sugihashi A, Kawata K, Nakamura H, Shirakawa J, Inuma M, Tsurubayashi M and Horiuchi S. (1985). Effects of an analog of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (ONO-1052) on cows with luteinized ovarian cysts following treatment with GnRH analog (fertirelin acetate). *Theriogenology* 24 (4): 425-433.

78. Nakao T, Tomita M, Kanbayashi H, Takagi H, Abe T, Takeuchi Y, Ochiai H, Moriyoshi M and Kawata K. (1992). Comparisons of several dosages of a GnRH analog with the standard dose of hCG in the treatment of follicular cysts in dairy cows. *Theriogenology* 38 (1): 137-145.
79. Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, ve Barreiro ML, Roa J, Sanchez-Criado JE, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L and Tena-Sempere M. (2004). Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology* 145: 4565-4574.
80. Noakes ED, Parkinson TJ, England GCW and Arthur GH. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Eighth Edition, Saunders Company, London.
81. Osawa T, Nakao T, Kimura M, Kaneko K, Takagi H, Moriyoshi M and Kawata K. (1995). Fertirelin and buserelin compared by LH release, milk progesterone and subsequent reproductive performance in dairy cows treated for follicular cysts. *Theriogenology* 44 (6): 835-847.
82. Özdamar K. (2003). *SPSS İle Biyoistatistik*. Kaan Kitabevi, Eskişehir.
83. Özden M. (1990). *Anatomi ve Fizyoloji*. Kadioğlu Matbaası, Ankara.
84. Öztürk M ve Yalçın A. (2002). *Farmakoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
85. Öztürkler Y, Uçar Ö, Yıldız S ve Güngör Ö. (2001). Repeat breeder ineklerde östrus sinkronizasyonu sonrası sun'i tohumlamaya bağlı hCG ve gentamisin uygulamasının doğum oranları üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 7 (2): 207-211.
86. Padula AM. (2005). GnRH analogues—agonists and antagonists. *Animal Reproduction Science* 88 (1-2): 115-126.
87. Peter AT. (1997). Infertility Due to Abnormalities of the Ovaries. "Current Therapy in Large Animal Theriogenology" Youngquist RS (Editor). First Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 349-353.
88. Peters A, Martinez TA and Cook AJC. (2000). A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 54: 1317-1325.
89. Peters AR, Drew SB, Mann GE, Lamming GE and Beck NF. (1992). Experimental and practical approaches to the establishment and maintenance of pregnancy. *Journal of Physiology and Pharmacology* 43 (4 Suppl 1): 143-152.
90. Peters AR. (2005). Veterinary clinical application of GnRH-questions of efficacy. *Animal Reproduction Science* 88 (1-2):155-167.
91. Rajamahendran R and Sianangama PC. (1992). Effect of human chorionic gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *Journal of Reproduction and Fertility* 95: 577-584.
92. Ramakrishnappa N, Rajamahendran R, Lin Y-M and Leung PCK. (2005). GnRH in non-hypothalamic reproductive tissues. *Animal Reproduction Science* 88: 95-113.

93. Rettmer I, Stevenson JS and Corah LR. (1992). Endocrine responses and ovarian changes in inseminated dairy heifers after an injection of a GnRH agonist 11 to 13 days after estrus *Journal of Animal Science* 70: 508-517.
94. Rettmer I, Stevenson JS and Corah, LR. (1992). Pregnancy rates in beef cattle after administering a GnRH agonist 11 to 14 days after insemination. *Journal of Animal Science* 70: 7-12.
95. Ryan DP, Kopel E, Boland MP and Godke RA. (1991). Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Theriogenology* 36 (3): 367-377.
96. Ryan DP, Snijders S, Condon T, Grealy M, Sreenan J, and O'Farrell KJ. (1994). Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotrophin releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Animal Reproduction Science* 34: 179-191.
97. Sabuncu A, Kaya H ve Tek Ç. (2003). Doğum sonrası anöstrus gösteren süt ineklerinde ovaryum aktivitelerinin PGF<sub>2</sub> alfa ve GnRH ile uyarılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 29 (2): 277-284.
98. Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA and Galvão KN. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science* 82-83: 513-535.
99. Santos JEP, Thatcher WW, Pool L and Overton MW. (2001). Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing holstein dairy cows. *Journal of Animal Science* 79: 2881-2894.
100. Schmitt EJP, Barros CM, Fields PA, Fields MJ, Diaz T, Kluge JM and Thatcher WW. (1996). A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. *Journal of Animal Science* 74: 1915-1929.
101. Schmitt EJP, Diaz T, Barros CM, De la Sota RL, Drost M, Fredriksson EW, Staples CR, Thorner R And Thatcher WW. (1996). Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle, with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Animal Science* 74: 1074-1083.
102. Schneider F, Tomek W and Gründker C. (2006). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology* 66 (4): 691-709.
103. Selvaraju M, Kathirvel K, Karthiyekan D, Lalitha N, Rajamuthu S and Chandrahasan C. (2003). Human chorionic gonadotropin administration in the treatment of repeat breeder cows. *Indian Veterinary Journal* 80 (10): 1006-1009.
104. Senger PL. (2003). *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Second Edition, Current Conception, Inc., Pullman. 284-303.

105. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR and Plant TM. (2005). Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 102: 2129-2134.
106. Shams-Esfandabadi N, Shirazi A, Mirshokrai P and Bonyadian M. (2007). Influence of hCG administration after AI on conception rates and serum progesterone concentration in cattle. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (16) : 2709-2713.
107. Sheldon IM, and Dobson H. (1993). Effect of gonadotrophin releasing hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. *Veterinary Record* 133: 160-163.
108. Sianangama PC and Rajamahendran R. (1992). Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 38 (1): 85-96.
109. Smith JT, Acohido BV, Clifton DK and Steiner RA. (2006). Kiss-1 neurons are direct targets for leptin in the ob/ob Mouse. *Journal of neuroendocrinology* 18: 298-303.
110. Srivastava SK and Kharche SD. (2002). Effect of GnRH on fertility in crossbred cows. *Indian Journal of Animal Sciences* 72 (6): 428-430.
111. Stevenson JS, Call EP, Scoby RK and Phatak AP. (1990). Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. *Journal of dairy science* 73 (7): 1766-1772.
112. Stevenson JS, Phatak AP, Rettmer I and Stewart RE. (1993). Post-insemination administration of receptal: follicular dynamics, duration of cycle, hormonal responses and pregnancy rates. *Journal of Dairy Science* 76 (9): 2536-2547.
113. Stevenson JS, Schmidt MK and Call EP. (1984). Gonadotropin-releasing hormone and conception of holsteins. *Journal of Dairy Science* 67 (1): 140-145.
114. Szenci O, Takacs E, Sulon J, De Sousa NM and Beckers JF. (2006). Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 66: 1811–1815.
115. Taponen J. (2003). Ovarian function in dairy cattle after gonadotropin-releasing hormone treatments during perioestrus. Doctoral Thesis. University of Helsinki, Helsinki.
116. Taponen J, Hjerpe P, Kopra E, Rodríguez-Martínez H, Katila T, Kindahl H. (2003). Premature prostaglandin F<sub>2</sub>α secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. *Theriogenology* 60: 379-393.
117. Taponen J, Katila T and Rodríguez-Martínez H. (1999). Induction of ovulation with gonadotropin-releasing hormone during proestrus in cattle: influence on subsequent follicular growth and luteal function. *Animal Reproduction Science* 55 (2): 91-105.
118. Tefera M, Chaffaux S, Thibier M and Humblot P. (2001). A short note: lack of effect of post-AI hCG or GnRH treatment on embryonic mortality in dairy cattle. *Livestock Production Science* 71 (2-3) 277-281.

119. Tek Ç, Kılıçarslan MR, Sabuncu A, Kaşıkçı G ve Alkan S. (2002). Postpartum ineklerde farklı PGF<sub>2</sub> $\alpha$  analoglarının (cloprostenol, dinoprost) ve GnRH'in östrus, serum östradiol 17  $\beta$ ve gebe kalma oranları üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 28 (2): 353-360.
120. Tekeli T. (1999). Embriyo Nakli. "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite" Alaçam E (Editör). İkinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. 81-97.
121. Thatcher WW, Drost M, Savlo JD, Macmillan KL, Entwistle KW, Schmitt EJ, De la Sota RL and Morris GR. (1993). New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. Animal Reproduction Science 33: 27-49.
122. Thatcher WW, Moreira F, Pancarci SM, Bartolome JA, Santos JEP. (2002). Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. Domestic Animal Endocrinology 23: 243-254.
123. Ullah G, Fuquay JW, Keawkhong T, Clark BL, Pogue DE and Murpheys EJ. (1996). Effect of Gonadotropin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating holsteins during heat stress. Journal Dairy Science 79 (11): 1950-1953.
124. Ulukaya E. (1997). Steroid Hormonlar. "Biyokimya" Tokullugil A, Dirican M ve Ulukaya E (Editörler). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
125. Vassilev N, Yotov S and Dimitrov F. (2005). Incidence of early embryonic death in dairy cows. Trakia Journal of Sciences 3 (5): 62-64.
126. Walker RS, Burns PD, Engle TE, Sides GE and Zalesky DD. (2005). Effects of human chorionic gonadotrophin administration on artificial insemination pregnancy rates in beef heifers. Professional Animal Scientist 21 (5): 361-364.
127. Walsh RB, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS and LeBlanc SJ. (2007). Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. Journal of Dairy Science 90: 315-324.
128. Walton JS, Halbert GW, Robinson NA and Leslie KE. (1990). Effect of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. Canadian Journal of Veterinary Research 54 (3): 305-308.
129. Willard S, Gandy S, Bowers S, Graves K, Elias A and Whisnant C. (2003). The effects of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. Theriogenology 59: 1799-1810.
130. Wisdom GB. (1976). Enzyme-immunoassay. Clinical Chemistry 22 (8): 1243-1255.
131. Wolfenson D, Roth Z and Meidan R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. Animal Reproduction Science 60-61: 535-547.
132. Yılmaz B. (1999). Hormonlar ve Üreme Fiziyojisi. Feryal Matbaacılık, Ankara.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Kahramanmaraş'ta doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Kahramanmaraş'ta tamamladım. 1997 yılında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandım ve aynı fakülteden 2002 yılında mezun oldum. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında 2002 yılında doktora başladım. 2003 yılında aynı anabilim dalına araştırma görevlisi olarak atandım. 2007 yılında Tarım Bakanlığına bağlı Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne Veteriner Hekim olarak atandım. Aynı yıl, Çevre ve Orman Bakanlığında, Uzman Yardımcısı olarak göreve başladım ve halen aynı göreve devam etmekteyim.