

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

İNEKLERDE TOHUMLAMA SONRASI
UYGULANAN LESİRELİN ASETAT (GnRH
ANALOGU)'IN GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Coşkun CAN

2015

TEŞEKKÜR ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Hamit YILDIZ

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Prof. Dr. Hamit YILDIZ

Prof. Dr....Ali Said DURMUŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın planlanması ve yürütülmesi için her aşamasında bilgisi, tecrübesi ve önerilerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hamit YILDIZ'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, çalışmalarına katkılarından dolayı Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine teşekkür ederim. Çalışmam sırasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme sevgi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmamda kullanılan hormonları karşılayan Veteriner ve Tarım İlaçları A.Ş. (VETAŞ) Genel Müdürü ve firma yetkililerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
KISALTMALAR LİSTESİ	vi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Gonadotropin Salgılatıcı Hormonun Kimyasal Yapısı, Sentezi ve Metabolizması.....	3
3.2. GnRH'nın Agonistleri.....	4
3.3. Östrüs Siklusunda GnRH'nın Etkisi	5
3.4. Lesirelin Asetatın Metabolizması, Dozu ve Uygulama Yolları	6
3.5. Klinik Olgularda GnRH'nın Kullanımı.....	7
3.5.1. Foliküler kist tedavisinde GnRH kullanımı	7
3.5.2. Ovulasyonu uyarmak için GnRH kullanımı	8
3.5.3. Anöstrüslü hayvanlarda GnRH kullanılması	10
3.5.4. Postpartum ovaryum aktivitesinin uyarılmasında GnRH kullanılması.....	11
3.5.5. Embriyo transferinde süper ovulasyonu uyarmak için GnRH kullanılması	12
3.5.6. Repeat breeder ineklerde GnRH uygulanması.....	12
4. GEREÇ VE YÖNTEM	14
5. BULGULAR	15
6. TARTIŞMA	16
7. KAYNAKLAR	20
8. ÖZGEÇMİŞ	25

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1:** Epidural yolla GnRH uygulanan ineklerde gebelik oranları **15**
- Tablo 2:** Kas içi yolla GnRH uygulanan ineklerde gebelik oranları **15**

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1:** GnRH'nın kimyasal yapısı..... **3**
- Şekil 2:** Lesirelin asetatın kimyasal yapısı..... **6**

KISALTMALAR LİSTESİ

GnRH : Gonadotropin Uyarıcı Hormon

FSH : Follikül Uyarıcı Hormon

LH : Lüteinleştirici Hormon

PGF₂ α : Prostaglandin F2 alfa

CL : Korpus Lüteum

μ g : Mikrogram

1. ÖZET

Bu tezde, ineklere suni tohumlama ile birlikte farklı yollardan lesirelin asetat enjeksiyonlarının gebelik oranları üzerindeki etkisi araştırıldı. Materyal olarak postpartum 50-120. günler arasında kendiliğinden kızgınlığa gelen, düzenli aralıklarla seksüel siklus gösteren ve bu süreçte herhangi bir klinik bozukluk göstermeyen farklı ırk ve yaşta 180 inek kullanıldı.

Materyali oluşturan inekler rastgele 4 gruba ayrıldı. A grubunda bulunan (n= 50) hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra 50 µg lesirelin asetat üst epidural boşluğa uygulandı. B grubu (n=40), hayvanlara tohumlamadan sonra 2 ml serum fizyolojik üst epidural boşluğa uygulandı. C grubu (n=50), hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra 50 µg lesirelin asetat kas içi olarak enjekte edildi. D grubuna (n=40) ise, 2 ml serum fizyolojik kas içi uygulandı. A ve B grubunda hayvanların gebelik oranları (sırasıyla % 64, % 45) arasında farklılığın olduğu (P<0,05) görüldü. Kas içi uygulama yapılan C ve D grubunda gebelik oranları (sırasıyla % 60, % 52,5) yönüyle farkın olmadığı (P>0,05) belirlendi. Ayrıca, epidural ve kas içi GnRH uygulanan gruplar arasında da istatistiki bir farkın (P>0,05) olmadığı tespit edildi.

Sonuç olarak, kendiliğinden östrüse gelen ineklere tohumlama ile birlikte epidural yolla uygulanan GnRH enjeksiyonlarının gebelik oranlarını artırmada faydalı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnek, Lesirelin asetat, Epidural uygulama, Gebelik oranı

2. ABSTRACT

Effect on pregnancy rates of injected lecorelin acetate (GnRH analogue) after insemination in the cows

In the present thesis, the effects of lecorelin acetate injections applied in different ways along with the artificial insemination on the pregnancy rate of cows were investigated. As a material, 180 cows showing the spontaneous oestrus between 50-120 days after parturition and having the sexual cycle at regular intervals and not showing any clinical disorders during the treatment process were used.

The cows were randomly divided into 4 groups (A, B, C and D). Immediately after the artificial insemination, 50 µg lecorelin acetate was injected to the sacrococcygeal epidural space of the animals in the group A (n=50). The animals in the group B (n=40) were injected with 2 ml physiological saline solution by the same route applied to the animals in the group A. The animals in the group C (n=50) were injected with 50 µg lecorelin acetate by way of intramuscular immediately after the artificial insemination. The animals in the group D (n=40) were injected with 2 ml physiological saline solution by the same route applied to the animals in the group C. There was a significant difference ($P<0.05$) between the group A and B by the pregnancy rates of 64% and 45%, respectively. It was detected that there was no significant difference ($P>0.05$) in the pregnancy rates of the groups C and D (60% and 52.5%, respectively). In addition, no significant difference ($P>0.05$) was observed between the group A (applied epidural GnRH) and B (applied intramuscular GnRH).

As a result, it was concluded that administration of epidural GnRH injection along with the artificial insemination to cows showing spontaneous oestrus may be useful for increase the pregnancy rates.

Key Words: Cow, Lecirelin acetate, Epidural treatment, Pregnancy rate

Birçok memeli türünde GnRH'nın varlığı çeşitli ölçüm yöntemleri ile gösterilmiş, organizmadaki fonksiyonları ortaya konulmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile balıklar, kuşlar ve bazı egzotik hayvan türlerinde de doğal GnRH varlığı tespit edilmiş ve memeli türlerinde gözlenen GnRH formlarından farklı kimyasal yapıya sahip oldukları görülmüştür. Yani GnRH, türe özgü bir hormon değildir (1, 5).

Doğal GnRH, sadece hipotalamus ve hipofiz arasında bulunan portal dolaşıma salındığı ve adenohipofizde bulunan gonadotrop hücreler tarafından kullanıldığı için sistemik dolaşımda düzeyi belirlenmemektedir. Yarılanma ömrü çok kısa olup 2-8 dakika arasında değişirken, sentetik GnRH analoglarında bu süre 3 saattir. GnRH pik seviyeye ulaştıktan 6-7 saat sonra portal dolaşımdaki düzeyi belirlenemez. Kısa yarılanma ömrüne karşın hormonal aktivite saatlerce sürer. Hipofiz, karaciğer ve böbreklerde enzimatik parçalanmaya uğrar. Biyolojik aktivitesi önemli olmayan daha küçük peptit yapılı parçalara ayrılır ve idrarla dışarıya atılır (1, 5, 6).

3.2. GnRH'nın Agonistleri

Son 30 yıl boyunca 2000'den fazla GnRH analogunun geliştirildiği ve test edildiği bildirilmektedir (2). Biyoteknolojik yöntemler kullanılarak, doğal GnRH'nın aminoasit diziliminde farklılıklar oluşturulması, bazı aminoasitlerin çıkarılarak yenilerinin eklenmesi ya da proteinin tersiyer ve kuarterner yapılarını oluşturan kimyasal bağların değiştirilmesi ile GnRH'nın farklı agonistleri elde edilmiştir (2, 5). Elde edilen farklı agonistlerin klinik kullanımları, yarılanma ömürleri, uygulama yolları ve reseptör affiniteleri farklılık göstermektedir. GnRH'nın 100'ün üzerinde analogu, evcil hayvanlar, kuş ve balıklarda üreme siklusların düzenlenmesinde ve reproduktif verimlilik programlarında sıklıkla kullanılmaktadır (2, 5). GnRH agonistleri arasında buserelin asetat, lesirelin asetat, gonadorelin diasetat tetrahidrat, gonadorelin hidroklorit, goserelin asetat, nafarelin asetat, triptorelin, leuprolit asetat, histrelin asetat, fertirelin asetat ve deslorelin asetat bulunmaktadır (1, 2). Veteriner klinikte yaygın olarak kullanılan fertirelin, gonadorelin ve buserelinin etkilerinin, FSH ve LH'yı salgılatmaları bakımından karşılaştırılmasında, fertirelin asetat'ın eşit bir hacmi temel

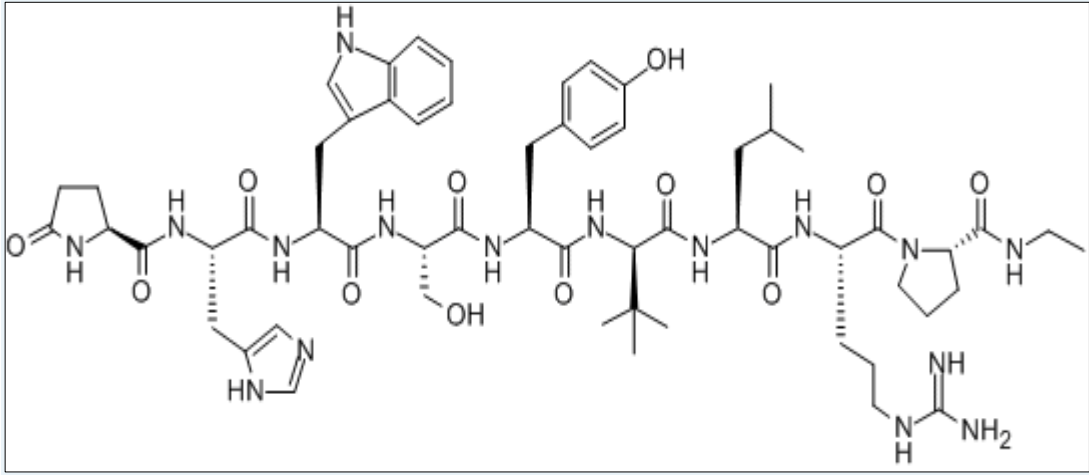
alındığında, fertirelinin gonadorelinden 2,5-10 kat, buserelinin ise fertirelinden 20-50 kat daha etkili olduğu bildirilmektedir (7, 8). Süper agonist olarak kabul edilen deslorelin, GnRH hormonundan 100 kat daha güçlü olduğu bildirilmektedir (2). Yapılan çalışmalarda, farklı agonistlerin genital organlarda meydana getirdiği gelişme, ovulasyon induksiyonu ve FSH ve LH'yı salgılatma kapasitelerinin farklı olduğu tespit edilmiştir (7, 8).

3.3. Östrüs Siklusunda GnRH'ın Etkisi

İneklerde pubertasin ve seksüel siklusların başlaması hipotalamus, hipofiz ve ovaryum eksenini tarafından salınan hormonlarca yapılmaktadır. Hipotalamusta bulunan sinir hücreleri tarafından sentezlenen GnRH cinsel uyarım ve gün ışığının etkisiyle salgılanmaya başlar. Portal dolaşıma yakın bir yerde depolanır. Uyarımların etkisiyle salgılanan GnRH, kana verilerek adenohipofizi uyarır. Bu etki ile önhipofizden FSH ve LH sanılarak kana verilir (1, 9). Kan dolaşımı ile ovaryumlara gelen FSH hormonu foliküler gelişmeyi başlatır. Ovaryum üzerinde çok sayıda primer folikül gelişerek, sekonder ve daha az sayıda tersiyer foliküle dönüşür. Tersiyer foliküllerden bir tanesi gelişerek büyümeye devam eder ve Graaf folikülü haline gelir. Graaf folikülünün iç duvarında bulunan teka interna ve granuloza hücreleri östrojen hormonunu salgılar. Östrojenler kana verildikten sonra taşıyıcı proteinler aracılığı ile hedef organlara gider. Östrojen hayvanda kızgınlığa ilişkin belirtilerin ortaya çıkmasına sebep olur. Kanda gittikçe artan östrojen seviyesi Graaf folikül üzerinde LH reseptörlerinin sayısını da artırır. Pik düzeye ulaşan östrojen bir taraftan inhibin aracılığıyla hipofiz ön lobunu negatif feed-back etkiyle uyararak FSH salınımını durdururken, diğer taraftan pozitif feedback ile de LH'nin salgılanmasına sebep olur. Böylece LH'nin etkisiyle hem ovulasyon şekillenir ve hem de granuloza ve teka hücrelerini luteinleştirerek korpus luteum oluşur. Kanda östrojen seviyesi düşer. Hayvan gebe kalırsa korpus luteum, progesteron salgılayarak gebeliğin devamını sağlar. Gebelik oluşmadığı zaman siklusun 16-18. günlerinde uterustan salgılanan PGF₂ α korpus luteumu regrese ederek siklus yeniden başlar (9-11).

3.4. Lesirelin Asetatın Metabolizması, Dozu ve Uygulama Yolları

Lesirelin'in doğal GnRH'dan farkı; dekaeptit değil, nonapeptit olması ve yapısının 10. pozisyonunda glisin yerine yüksek lipofilik etilamino grubunun yer almış olmasıdır. Bu yapı değişikliği özellikle hipofizial reseptörlerin seçiciliğini artırarak, FSH ve LH seviyelerinin yükselmesini ve doğal hormon ile 90 dakika olan sürenin 240 dakikaya kadar uzamasını sağlar (7, 8). Yani kimyasal yapıda oluşturulan farklılık, doğal GnRH'ya göre yarılanma ömrünü uzatarak, FSH ve LH salgısının daha uzun süre zirve seviyesinde kalmasını sağlamaktadır (8).



Şekil 2: Lesirelin asetatın kimyasal yapısı

GnRH agonistleri, damar içi, deri altı, kas içi, vajina içi, burun içi, uterus içi, dilaltı ve epidural boşluğa uygulanmak suretiyle klinikte kullanılmaktadır. Oral kullanımda, peptit yapıdaki hormon sindirim kanalında parçalandığından dolayı etkisizdir. GnRH agonistlerinin oral yol hariç diğer bütün uygulama yollarından elde edilen sonuçları benzer bulunmuştur (1, 2, 5, 12-16). GnRH'nın sentetik agonistleri, ovaryumda foliküler kist şekillenen ineklerin tedavisinde folikül içi yolla da enjekte edilebilmektedir. Son zamanlarda GnRH agonistlerinin epidural yolla uygulanmasının kas içi uygulamaya göre iyi bir alternatif yol olduğu bildirilmiştir. GnRH agonistlerinin epidural yolla uygulanmasının avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (9, 14, 17).

Bazı araştırmacılar (14, 17), epidural boşluğa uygulanan GnRH agonistlerinin daha hızlı ve güçlü etki gösterdiğini savunmaktadırlar. İneklere ovaryumların innervasyonu, direk olarak sempatik sinirlerle sağlanmaktadır.

Epidural boşluğa verilen adrenerjik aktiviteye sahip ilaçlar, doğrudan kendi reseptörlerini uyararak muhtemel etkinin oluşmasını sağlamaktadırlar (7, 9, 14). Koyun (18) ve sığırlarda (7) omurilik üzerinde yapılan çalışmalarda GnRH reseptör varlığı tespit edilmiştir.

Lesirelinin kimyasal yapısında 10. pozisyonda glisin yerine etilamino grubunun bulunması molekülün lipofilik özellikte olmasını sağlamaktadır. Bu özellik, molekülün epidural boşluk ve meninksleri geçerek omuriliğe daha etkin bir şekilde ulaşmasını sağlamaktadır (7, 14). Lesirelin, omurilikte bulunan GnRH reseptörlerinde hücre içi kalsiyum girişini artırır. Ovaryumları uyaran sempatik sinir sonlarında hücre içi kalsiyum girişinin artması ile norepinefrin salgılanarak, GnRH'nın ovaryum üzerine olan etkisi ortaya çıkmaktadır. Sempatik innervasyon, foliküler maturasyon, steroid salınımı ve ovulasyonda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, norepinefrin folikül duvarının kontraktilesini artırarak ovulasyon sonrası korpus hemorajikum ve korpus luteumun oluşmasını desteklemektedir (4, 15).

Lesirelin asetat foliküler kistli hayvanlarda 50-100 µg (14, 17, 19), ovulasyonu uyarmak (20-22), anöstrüs olguları (23, 24) ve repeat breederli ineklerde 50 µg dozda (25) uygulanmaktadır. GnRH'nın tekrar eden uygulamalarında molekül ağırlığının küçük olmasından dolayı bağışıklığın uyarılmadığı ve anaflaktik reaksiyonların oluşmadığı bildirilmektedir (26). Lesirelin asetat, uygulamadan sonra karaciğer, akciğer, plazma ve ön hipofizde metabolize edilir. Hayvansal dokularda 24 saat sonra varlığına rastlanmaz. İlacın plazma yarı ömrü 4-10 dakika ve ortalama biyolojik yarı ömrü ise 1-1,5 saat arasındadır. İdrarla vücuttan atılır.

3.5. Klinik Olgularda GnRH'nın Kullanımı

3.5.1. Foliküler kist tedavisinde GnRH kullanımı

Foliküler kist oluşan ineklerde GnRH hormonu yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hipofiz ön lobundan LH salgısını uyararak kistin patlamasına ya da luteinleşmesine sebep olmaktadır (1, 2). Sentetik GnRH analogların uygulanmasını izleyen 30 dk içerisinde LH salınımı başlar ve iki saat içerisinde de LH seviyesi zirve düzeyine ulaşır. LH konsantrasyonu 4-5 saat süresince yüksek düzeyde kalır ve sonra düşmeye başlar (15, 27). Uygulama sonrası progesteron

10-14 gün içinde luteal dönemdeki düzeye ulaşır. Hayvanlarda kızgınlık, uygulama sonrası 18-25. günler arasında görülür (28, 29).

Foliküler kistli ineklerde 100-500 mg arasında değişen dozlarda yapılan gonadorelin diasetat uygulamaları sonucu % 49-93 arasında değişen gebelik oranları, 20 µg buserelinin kas içi enjeksiyonu sonucu % 93'e ulaşmaktadır (30).

Postpartum ilk 90 günde ultrasonla foliküler kist tespit edilen ineklere 100 µg lesirelin asetat kas içi uygulandığında 7-8 gün sonra hayvanların % 75'inde kistik yapının kaybolduğu ve lüteal dokunun oluştuğu bildirilmektedir (19). Foliküler kist şekillenen hayvanlara epidural yolla lesirelin asetat uygulanan grupta gebelik oranlarının kas içi uygulama yapılan gruba göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (14). Benzeri şekilde yapılan başka çalışmada Rizzo ve ark. (17) foliküler kistli 30 Holştayn ineğe epidural yolla 50 µg lesirelin asetat uyguladıktan 8 gün sonra hayvanların % 82'sinin iyileştiğini bildirmektedirler. Sentetik GnRH analoglarının enjeksiyonu sonucu yaklaşık 8-16 gün içerisinde lüteinizasyon şekillenir. Uygulamayı takip eden 8. günde doppler ultrasonografik muayenede lüteinizasyon ve kist çevresinde yoğun bir vaskülarizasyon izlenmektedir (16, 17, 29). İlk uygulamada sonuç alınmadığı zaman 2. veya 3. kez GnRH uygulaması gerekebilmektedir (16, 19).

3.5.2. Ovulasyonu uyarmak için GnRH kullanımı

GnRH, LH salınımını ve ovulasyonu uyardığından; ineklerde suni tohumlama uygulamalarında, senkronizasyon protokollerinde ve ovulasyon gecikmesi durumlarında kullanılmaktadır (1, 2). Hayvanlarda gebelik oranını artırmak için GnRH tohumlama öncesi, tohumlama ile birlikte ve tohumlama sonrası olmak üzere üç dönemde uygulanabilmektedir. Tohumlama öncesi yapılan GnRH hormonu, ovaryum üzerinde folikülerin gelişmesine, olgunlaşmasına ve ovulasyona yardımcı olması amacıyla yapılmaktadır (31-33). Laktasyondaki Holştayn ineklere PGF₂α ile senkronizasyon yapılmadan bir hafta önce 8 µg buserelin asetat kas içi uygulamalarında kontrol grubuna göre ovulatör folikül gelişiminin yanı sıra ikinci bir dominant folikül gelişiminin olduğu ve ovulasyonun şekillendiği, östrojen düzeyinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (31). İneklere östrüs başladıktan sonra 3 saat içinde uygulanan GnRH ya da analogları östrüs-LH'nın zirve yapması, östrüs-ovulasyon arasındaki aralığın

kısalmasına, progesteron düzeylerini ve gebelik oranlarını artırdığı ve ovulasyonların ilk 30 saat içinde oluştuğu bildirilmektedir (34). Ancak, repeat breederli ineklere tohumlamadan 4-6 saat önce, kas içi yapılan buserelin asetat uygulamalarının gebelik oranları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (32).

Suni tohumlama ile birlikte yapılan GnRH enjeksiyonları ise, ilk 30 dk içerisinde LH salınımına neden olarak, tohumlama sonrası 8-12. saatlerde ovulasyonu uyararak fertilizasyon oranının artmasına yol açmaktadır (35). GnRH uyarısı ile salgılanan LH, ovulasyon sonrası lüteal hücreleri hızla geliştirerek gebeliğin devamı için gerekli olan progesteronu salgılatır. İneklerde infertiliteye sebep olan ovulasyonun gecikmesi, anovulasyon ve erken gebelik dönemindeki lüteal yetmezliğe bağlı hormonal yetersizlikleri ortadan kaldırmaktadır (36-39). Saha şartlarında, östrüs sürelerindeki değişkenlik ve östrüs tespitindeki zorluklar nedeniyle sürü bazında, GnRH uygulaması sonrası farklı gebelik oranlarının tespit edildiği bildirilmektedir (33).

Postpartum dönemde ilk tohumlama sonrası 100 µg GnRH' ın kas içi uygulandığı ineklerde gebelik oranlarını % 15-18 oranında, repeat breeder ineklere tohumlama sonrası aynı doz GnRH uygulamalarının kontrol grubuna göre % 25 oranında arttığını (37), aynı dönemde benzer doz uygulanan diğer bir çalışmada (38) gebelik oranının % 57, kontrol grubunda ise % 49 olduğu ve aralarında istatistiki bir farkın olduğu bildirilmektedir. Postpartum ilk 60. günde bulunan ineklere 100 µg GnRH kas içi uygulamasında gebelik oranları ve progesteron düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (36). Araştırmacılar postpartum dönemde yapılan ikinci ve üçüncü tohumlamalar sonrası 100 µg gonadorelin uygulamalarının gebelik oranlarını kontrole göre % 21 oranında artırdığı ve repeat breederli ineklerde daha olumlu sonuçlar vereceğini ileri sürmektedirler (39). Tohumlama ile birlikte uygulanan GnRH'nın gebelik oranlarını artırdığını bildirilirken, herhangi bir etkisinin olmadığını ifade eden araştırmalar da bulunmaktadır (35, 40, 41). Postpartum 28-64. günler arasında bulunan laktasyondaki 113 Holştayn ve Montofon ineğe tohumlama ile birlikte 10 µg buserelin asetatın kas içi uygulamalarında kontrol grubu ile gebelik oranlarının benzer olduğu ve fertilitiyi etkilemediği ileri sürülmektedir (40).

Laktasyondaki ineklere birinci ve ikinci tohumlama ile birlikte 25, 100 µg fertirelin asetat ya da 10 µg buserelin uygulamalarının gebelik oranları üzerinde, etkili olmadığı bildirilmektedir (41).

İneklere tohumlama sonrası uygulanan GnRH, diöstrüs ortasında oluşan dominant foliküllerin ovulasyonuna ya da lüteinizasyonuna neden olarak daha fazla sayıda korpus lüteum şekillenebilmesine sebep olmaktadır. Hızlı bir şekilde gelişen lüteal hücreler daha fazla miktarda progesteron üretilmesine yol açarak gebeliğin devamını sağlar (33). Tohumlama sonrası 4-5. günlerde kas içi 100 µg ya da 250 µg gonadorelin enjekte edilen ineklerde birden fazla korpus lüteumun oluştuğu, progesteron düzeylerini artırdığı, ancak gebelik oranları üzerinde bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (42, 43). Başka bir çalışmada, tohumlama sonrası 5. günde lesirelin uygulanan hayvanlarla kontrol grubu arasında gebelik oranlarında bir farkın olmadığı bildirilmektedir (44). Buna karşın, tohumlama sonrası 7. günde 10 µg buserelin asetatın kas içi uygulandığı hayvanlarda progesteron düzeylerinin değişmediği, fertilitite oranlarını artırdığı bildirilmektedir (45).

İneklere tohumlamalar sonrası 11-14. günler arasında GnRH kullanıldığında embriyonik ölüm oranını azaltabilmekte ve gebelik oranlarını artırabilmektedir (46, 47). Buna karşın normal ve repeat breeder ineklere lüteal evre ortalarında (11-13.gün) yapılan GnRH enjeksiyonlarının fertilititeyi iyileştirmede herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (48). Bazı araştırmacılar (49, 50) süt ineklerinde tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının erken embriyonik ölümlerin önüne geçerek gebe kalma oranını artırdığını ileri sürerken, bazı çalışmalarda, tohumlama sonrası 12. günde 50 µg gonadorelin (33) ya da 10 µg buserelin asetat (51, 52), kas içi uygulanan ineklerde gebelik oranlarının değişmediği bildirilmektedir.

3.5.3. Anöstrüslü hayvanlarda GnRH kullanılması

İneklerde hakiki anöstrüs olgularında ovaryum fonksiyonlarını uyarmak ve foliküler atrezilerin tedavisinde GnRH başarı ile kullanılmıştır. Doğum sonrası görülen ovaryum aktivitelerindeki bozukluğun, hipotalamus ve hipofiz fonksiyonlarında meydana gelen aksaklık sonucu şekillendiği ileri sürülmektedir (27, 53, 54).

Postpartum dönemde 55 gün geçmesine rağmen anöstrüs gösteren süt ineklerinde GnRH, GnRH + 10. gün PGF₂ α uygulamalarının buzağılama-ilk östrüs, buzağılama-ilk tohumlama, buzağılama-tekrar gebe kalma aralığını kısalttığı, GnRH uygulanan grupta gebelik oranlarının kontrol grubu ile aynı olduğu bildirilmektedir (53). Al-Dahash ve Bensassi (24), inaktif ovaryum nedeniyle gerçek anöstrüs gösteren 63 ineğe 50 μ g lesirelin asetatı kas içi uygulamışlar ve bir hafta içinde ineklerin % 85,7'sinin kızgınlığa geldiğini, tohumlama sonrası % 91,66'sının gebe kaldığını bildirmişlerdir.

3.5.4. Postpartum ovaryum aktivitesinin uyarılmasında GnRH kullanılması

Sütçü işletmelerde hayvanların yılda bir kez doğum yapmaları işletmenin karlılığı açısından istenen bir durumdur. Bunun gerçekleşmesi hayvanların postpartum dönemini sağlıklı bir şekilde geçirmelerine bağlıdır. Doğum-ilk östrüs, doğum-tohumlama ve doğum-tekrar gebe kalma sürelerinin uzamaması gerekir. Bu sürelerin normal fizyolojik sınırlar içinde seyretmesi için GnRH, PGF₂ α veya kombinasyonları kullanılmaktadır (3, 16, 55).

Sütçü ineklere postpartum 10-18. günlerde tek doz, postpartum 21-31. günlerde bulunan etçi ineklere ise, 10 gün ara ile iki doz halinde GnRH uygulamanın siklus aktivitesini uyardığı belirtilmektedir (56). Postpartum 28 ya da 40. günden sonra ineklere uygulanan GnRH, GnRH+PGF₂ α kombinasyonu doğum-ilk tohumlama, doğum-tekrar gebe kalma aralığını kısalttığı ve ilk tohumlamada gebelik oranlarını artırdığı bildirilmektedir (57, 58). Ancak, De Rensis ve ark. (59), postpartum süt ineklerinde 0. gün GnRH ve 6. gün PGF₂ α uygulamalarında saptanan dominant folikül ve gebelik oranları arasında istatistiksel anlamda kayda değer bir fark olmadığını bildirmektedirler. Postpartum 14-23. günlerde uygulanan GnRH ile ovaryum üzerinde gelişen foliküllerde daha erken ovulasyon meydana gelir. Böylece, tohumlama dönemine kadar daha fazla östrüs ve ovulasyonun oluşumunu sağlayarak, kistik ve inaktif ovaryum sorunlarından korunmasına yardımcı olur (3, 16, 56).

GnRH enjeksiyonlarının erken postpartum dönemde progesteron salgısına sebep olarak, başta piyometra olmak üzere genital kanal enfeksiyonlarına yol açabileceği göz önünde tutulmalıdır (55, 56).

3.5.5. Embriyo transferinde süper ovulasyonu uyarmak için GnRH kullanılması

Taşıyıcı ineklere embriyo transferinden hemen sonra ve transfer sonrası 4-7 gün sonra yapılan 8 µg buserelin asetat uygulamalarının gebelik oranları ve progesteron düzeyleri üzerinde bir etkisinin olmadığı ileri sürülmektedir (60, 61). Buna karşın, Chandra ve ark. (62), süperovulasyon oluşturulan melez ineklerde östrüs başlangıcında ve östrüsten 8 saat sonra 250 µg sistorelin deri altı uygulamalarının fertilizasyon oranları ve transfer edilebilir embriyo sayısını artırdığını bildirmektedirler.

3.5.6. Repeat breeder ineklerde GnRH uygulanması

İneklerde anovulasyon veya ovulasyonun gecikmesi döl tutmamaya sebep olmaktadır. Repeat breeder ineklerde gebelik oranını artırmak amacıyla, GnRH suni tohumlama ile birlikte kullanılmıştır. GnRH'ın uyardığı LH'in pik yaparak ovulasyona yardımcı olduğu ve sonraki lüteinizasyonu da uyardığı ileri sürülmektedir (16, 37). Bazı saha çalışmaları (37, 63, 64) bu yöntem ile bir ölçüde başarılı sonuçlar alındığını, bazıları ise dikkate değer bir sonuç vermediğini ileri sürülmektedir (2, 12, 32, 65). MacMillan ve ark. (47) repeat breeder ineklere GnRH ile yaptıkları bir çalışmada tohumlama sonrası 1-3, 4-6, 7-10 ve 11-13. günlerde yapılan uygulamalarda, sadece 11-13. günler arasında yapılan uygulamanın gebelik oranlarını artırdığını ileri sürmektedirler. Bir çalışmada, repeat breeder 55 inekte buserelin asetat tohumlama sırasında kas içi 20 µg, 40 inekte 10 µg kullanılmış ve 42 inek kontrol olarak izlenmiş ve sırasıyla elde edilen gebelik oranları % 87, 58 ve 48 olarak bildirilmiştir (63). Araştırmacılar GnRH'nın döl tutmayan ineklerde doza bağlı olarak gebelik oranlarını artırdığını ileri sürmektedirler. Repeat breederli birinci grup ineklere tohumlama ve sonrası 12. gün, ikinci grup ineklere tohumlama ve sonrası 16. gün buserelin asetatın kas içi uygulamalarında ve kontrol grubunda sırasıyla gebelik oranları % 83, 66 ve 33 olarak belirlenmiş olup, GnRH'nın siklus ortasında uygulanmasının luteotropik destekle erken embriyonik ölümleri engelleyerek gebelik oranlarını artırdığı bildirilmiştir (64). Buna karşın, repeat breederli ineklere tohumlamadan 4-6 saat önce (32), tohumlamadan 5-6 gün sonra (65) kas içi yapılan buserelin asetat

uygulamalarının gebelik oranları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, postpartum 50-120 günler arasında bulunan ineklere suni tohumlamadan hemen sonra üst epidural ve kas içi yolla uygulanan 50 µg lesirelin asetatın gebelik oranları üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tezde yaşları 3-8 arasında değişen 180 adet inek kullanıldı. Aile tipi işletmelerden hayvan ırkı gözetilmeksizin (52 adet Holştayn melezi, 56 adet Montafon ve 72 adet Simental melezi), postpartum 50-120. günler arasında kendiliğinden kızgınlık göstermiş ineklerden oluşturuldu. Çalışmaya alınan inekler, düzenli aralıklarla seksüel siklus gösteren ve herhangi bir klinik bozukluğu bulunmayan hayvanlar arasından seçildi.

Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrıldı. A grubunda bulunan (n= 50) hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra (ilk 10 dk içinde) üst epidural yolla 50 µg lesirelin asetat içeren preparattan 2 ml (Dalmarelin, 10 ml, 25 µg/ml, VETAŞ), B grubu (n=40), hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra 2 ml serum fizyolojik üst epidural yolla uygulandı. C grubunda (n=50), hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra 50 µg lesirelin asetat içeren preparattan 2 ml kas içi, D grubu (n=40) hayvanlara ise, suni tohumlamadan hemen sonra 2 ml serum fizyolojik kas içi olarak enjekte edildi.

Hayvanlarda östrüsün tespiti, hayvan sahiplerinden alınan anamnezin yanı sıra, vulvada ödem ve servikal mukus akıntısının gözlenmesi, hayvanların üzerine atlama veya diğer hayvanların atlamasına izin verme, rektal muayenede uterus tonosite artışı ve ovaryumlarında büyük Graaf folikülü varlığı esas alınarak yapıldı. Östrüs tespit edilen ineklerde tohumlama, rekto-vaginal yöntemle yapıldı.

Hayvanların gebelik muayeneleri suni tohumlama sonrası 30-35. günlerde B model real-time ultrasonografi cihazı (100 Falco, Pie Medical Netherlands) ile 7,5 MHz lineer prob kullanılarak yapıldı. Gebelik sonuçlarının istatistiksel değerlendirmeleri SPSS 21,0 bilgisayar programında Ki-kare testi kullanılarak yapıldı (66).

5. BULGULAR

Tohumlamadan hemen sonra epidural ve kas içi GnRH uygulaması yapılan gruplar ile kontrol olarak kullanılan gruplarda hayvan sayıları ve gebelik oranları Tablo 1 ve 2’de verilmiştir. Buna göre, A ve B grubunda hayvanların gebelik oranları yönüyle istatistiksel olarak farklılığın bulunduğu ($P<0,05$) tespit edildi. Çalışmada kas içi GnRH uygulaması yapılan C ve D grubunda bulunan hayvanların gebelik oranları arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı ($P>0,05$) belirlendi. Ayrıca, epidural (A grubu) ve kas içi (C grubu) GnRH uygulanan gruplar arasında da kayda değer bir değişikliğin ($P>0,05$) bulunmadığı saptanmıştır.

Tablo 1: Epidural yolla GnRH uygulanan ineklerde gebelik oranları

Gebelik oranları					
	A grubu		B grubu		P
	%	sayı	%	sayı	
Hayvanlar	64 ^a	32/50	45 ^b	18/40	0,05

a,b: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0,05$)

Tablo 2: Kas içi yolla GnRH uygulanan ineklerde gebelik oranları

Gebelik oranları					
	C grubu		D grubu		P
	%	sayı	%	sayı	
Hayvanlar	60	30/50	52,5	21/40	-

- : Gruplar arasındaki fark önemli değildir ($P>0,05$)

6. TARTIŞMA

İneklerde gebelik oranlarındaki artışta GnRH, ovulasyonu uyararak ya da preovulatör LH'nin uyarımı ile östrüs başlangıcı ve ovulasyon arasındaki süreyi kısaltarak etkisini göstermektedir (34, 67). Tohumlamadan hemen sonra değişik GnRH analoglarının farklı dozlarda uygulandığı hayvanlarda birbirinden farklı gebelik oranları bildirilmektedir (25, 38, 40).

Bazı araştırmalarda GnRH uygulamalarının gebelik oranlarını artırdığı ileri sürülmektedir (25, 34, 38, 39, 68). Postpartum dönemde sağlıklı ineklere tohumlama sonrası kas içi GnRH uygulamalarında gebelik oranlarının % 15-21, aynı doz GnRH repeat breederli ineklerde % 25 oranında artırdığı bildirilmektedir (37, 39). Yapılan bir çalışmada (38) 100 µg dozda kas içi fertirelin uygulamalarında gebelik oranı % 57,2, kontrol grubunda % 49,7 olduğu ve aralarında istatistiki bir farkın olduğu bildirilmektedir. Postpartum ilk 60. günde bulunan ineklere kas içi 100 µg GnRH uygulamasında gebelik oranları ve progesteron düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (36). Anjum ve ark. (25) repeat breederli melez ineklere tohumlama sonrası 50 µg lesirelin asetat kas içi uygulamalarında gebelik oranı % 68,75, kontrol grubunda ise % 37,5 gözlemlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada (20), tohumlama sonrası lesirelin asetat uygulanan 21 hayvandan 13'ünün gebe kaldığını ve uygulamanın gebelik oranlarını artırdığını bildirmektedirler.

Yukarıdaki çalışmaların aksine tohumlama sonrası GnRH uygulamalarının gebelik oranları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildiren birçok çalışma vardır (35, 40, 41, 67, 69). Postpartum 28-64. günler arasında bulunan laktasyondaki 113 adet ineğe tohumlamadan hemen sonra 10 µg buserelin asetat kas içi uygulamalarında (40) gebelik oranlarının % 46, kontrol grubunda % 49,5, kas içi 100 µg gonadorelin uygulamasında gebelik oranı % 68, kontrol grubunda % 66 olduğu (67), gebelik oranları ve progesteron düzeyleri üzerinde GnRH'in bir etkisinin olmadığını bildirilmektedir. Lopez-Gatius ve ark. (69), 429 ineğe 100 µg gonadorelin uygulamalarında gebelik oranı % 30,8 ve kontrol grubunda % 20,6 olduğunu ve aralarında bir farkın olmadığını bildirmektedirler. Diğer bir çalışmada (41) laktasyondaki ineklere postpartum 60-120. günlerde tohumlama ile birlikte 25, 50, 75 ve 100 µg fertirelin asetat ya da 10 µg buserelin

uygulamalarında ve kontrol grubunda gebelik oranları sırasıyla, % 43,6, 41,4, 41,6, 39,4, 39,7 ve 48,2 olduğunu ve gruplar arasında bir farkın bulunmadığı bildirilmektedir. Çalışmada kullandığımız GnRH analogu olan lesirelin asetat ile ilgili araştırmalarda ise, tohumlama sonrası 5. günde lesirelin asetat uygulamalarında (44) ve postpartum 60-80. günler arasında tohumlama sonrası lesirelin asetat uygulanan hayvanlarda (21) gebelik oranı ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamda bir farkın olmadığı bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada, ineklere doğum sonrası 50-120. günler arasında tohumlama ile birlikte kas içi 50 µg lesirelin asetat uygulamalarında gebelik oranı % 60, kontrol grubunda % 52,5 olduğu ve aralarında anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi. Çalışmada elde edilen bu gebelik oranları bazı araştırmacıların (21, 40, 67, 69) bulguları ile paralellik gösterirken, bazı araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olmadığı (34, 39, 69) tespit edildi. Sonuçlar arasındaki farklılığın, bazı araştırmacıların (39, 58) belirttiği gibi ineklerin vücut kondüsyonundaki farklılıktan, östrüsün tam olarak tespit edilmemesi, donmuş olan spermanın çözdürülmesi ve suni tohumlama uygulamasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

GnRH ile ilgili yapılan çalışmalarda oral yol hariç, kas içi, deri altı, damar içi, intranazal, intravajinal, sublingual ve epidural yolla kullanılmıştır (1, 2). Yapılan çalışmaların çoğunda GnRH uygulaması kas içi yolla yapılmıştır. Foliküler kistli hayvanlarda GnRH'nin kas içi ile epidural yol uygulama şekli karşılaştırmalarında, epidural uygulamanın daha iyi sonuç verdiği ileri sürülmüştür (14). Hayvanlarda gebelik oranlarını artırmak için tohumlama ile birlikte epidural yolla GnRH uygulamasına ilişkin çalışmalar bulunmamaktadır. Ancak, foliküler kistli hayvanların tedavisinde GnRH epidural yolla kullanılmıştır (14, 15, 17, 70).

Postpartum 60-120. günler arasında bulunan ve foliküler kist şekillenen hayvanlara üst epidural ve kas içi yolla 50 µg lesirelin asetat uygulamalarında, hayvanların östrüse gelme (sırasıyla, % 75 ve % 57) ve gebelik oranlarının (sırasıyla, % 93 ve % 76) kas içi uygulamaya göre daha yüksek olduğunu tespit edilmiştir (14, 15, 17). Benzeri şekilde yapılan başka bir çalışmada (70) doğum sonrası ilk 60 gün içinde bulunan ve foliküler kist şekillenen ineklere epidural ve

kas içi 50 µg lesirelin asetat uygulamalarında östrüse gelme sırasıyla, % 81,2, 59,4 ve gebelik oranları sırasıyla, % 75, 53,1 olduğunu ve epidural enjeksiyonlarda daha iyi netice alındığı bildirilmektedir. Sunulan tezde tohumlama ile birlikte lesirelin asetatın epidural (A grubu, % 64) ve kas içi (C grubu, % 60) uygulama arasında gebelik oranları yönüyle bir farkın olmadığı tespit edildi. Elde edilen sonuçların araştırmacıların bulgularından farklı olmasının nedeni GnRH'nin farklı olgularda kullanılmasından kaynaklanabilir.

Epidural olarak uygulanan GnRH'nin bu etkisine ilişkin değişik görüşler bulunmaktadır. Dolan ve ark. (18) epidural boşluğa uygulanan GnRH'nin serebrospinal sıvı aracılığı ile merkezi sinir sistemine ve buradan hipotalamus ve hipofiz bezine ulaştığını belirtmektedirler. Epidural yolla uygulanan GnRH kan akımına karışarak beyine ulaşır, ancak omurilik ve ovaryum üzerinde oluşturduğu direk bir lokal mekanizma ile folikülün çözülmesine yol açtığı ileri sürülmektedir (14). Başka bir çalışmada (71) lesirelin, omurilik bulunan GnRH reseptörlerinde hücre içi kalsiyum girişini artırır. Ovaryumları uyaran sempatik sinir sonlarında hücre içi kalsiyum girişinin artması ile norepinefrin salgılanmaktadır. Salgılanan norepinefrin, foliküllerin duvarında kontraktilitenin artmasını, ovulasyon sonrası granülasyon dokusunun düzenlenmesi ve lüteal dokunun gelişmesini sağlamaktadır (16, 17, 72). Epidural yolla uygulanan GnRH'nin ovulasyon üzerindeki etki mekanizmasına ilişkin araştırmacıların (14, 18, 71) ortaya koyduğu düşüncelere katılmakla beraber bu konu ile ilgili olarak etki mekanizmasını ortaya koyan ayrıntılı farmakodinamik ve farmakokinetik araştırmaların yapılmasında fayda bulunmaktadır.

Araştırmacılar (14, 15, 17) foliküler kistli ineklere üst epidural yolla lesirelin asetat kullanırken, kontrol olarak kullanılan hayvanlara epidural olarak serum fizyolojik kullandıkları hayvanların hiç birinin kızgınlığa gelmediğini belirtmektedirler. Sunulan tezde, tohumlama ile birlikte epidural 50 µg lesirelin asetat enjekte ettiğimiz grupta gebelik oranı % 64, kontrol grubunda ise bu oran % 45 olarak belirlendi. Her iki grup arasında istatistiki olarak farklılığın olduğu ($P<0,05$) tespit edildi.

Sonuç olarak, kendiliğinden kıızgınlığa gelen hayvanlara tohumlamadan hemen sonra st epidural yolla uygulanan GnRH enjeksiyonlarının gebelik oranlarını artırmada faydalı olduğu kaanatine varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. Scheiber MD, Liu JH. "The Use of Gonadotropin-Releasing Hormone to Induce Ovulation". <https://www.glowm.com/.../cd/.../v5c071.html/> 30.10.2014.
2. Padula AM. GnRH analogues-agonists antantagonists. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 115-126.
3. Ramakrishnappa N, Rajamahendran R, Lin YM, Leung PCK. GnRH in non-hypotalamic reproductive tissues. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 95-113.
4. Singh R, Graves ML, Roskelley CD, Giritharan G, Rajamahendran R. Gonadotropin releasing hormone receptor gene and protein expression and immunohistochemical localization in bovine uterus and oviducts. *Dom Anim Endocrin* 2008; 34: 319-326.
5. Clarke IJ, Pompolo S. Synthesis and secretion of GnRH. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 29-55.
6. Fields SD, Gebhart KL, Perry BL, et al. Influence of standing estrus before an injection of GnRH during a beef cattle fixed time AI protocol on LH release, subsequent concentrations of progesterone, and steroidogenic enzyme expression. *Dom Anim Endocrin*. 2012; 42: 11-19.
7. Millar RP. GnRHs and GnRH receptors. *Animal Reproduction Science*. 2005; 88: 5-28.
8. Schneider F, Tomek W, Gründker C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology*, 2006; 66: 691-709.
9. Peters A R, Lamming G E. Hormone patterns and reproduction in cattle. *In Practice* 1983; 5: 153-157.
10. Lawhead JB, Baker M. *Introduction to Veterinary Science*. 2nd Edition, Delmar Gengage Learning, USA. 2010.
11. Akers RM., Denbow DM. *Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. 2nd Edition, Johan Wiley and Sons Inc. UK. 2013.
12. Herbert CA, Trigg TE. Application of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 141-153.
13. Bas S, Pinto CG, Day ML, Schuenemann GM. Effect of intrauterine administration of gonadotropin releasing hormone on serum LH concentrations in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2012; 78: 1390-1397.
14. Annalisa R, Debora C, Maddalena M, et al. Epidural vs intramuscular administration of leirelin, a GnRH analogue, for the resolution of follicular cysts in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2011; 126: 19–22.
15. Rizzo A, Spedicato M, Mutinati M, et al. In vivo and in vitro studies of the role of the adrenergic system and follicular wall contractility in the pathogenesis and resolution of bovine follicular cysts. *Theriogenology* 2011; 76: 1526-1531.
16. Peters AR. Veterinary clinical application of GnRH-of questions of efficacy. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 155-167.

17. Rizzo A, Minoia G, Trisolini C, et al. Renin and ovarian vascularization in cows with follicular cysts after epidural administration of a GnRH analogue. *Anim Reprod Sci* 2009; 116: 226-232.
18. Dolan S, Evans NP, Richter TA, Nolan AM. Expression of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone receptor in sheep spinal cord. *Neurosci. Lett* 2003; 346: 120–122.
19. Silva AM, Moreira RJC, Fernandes CAC, et al. Treatment of ovarian cysts in cattle with lecorelin acetate. *Anim Reprod Sci* 2012; 9: 591.
20. Şekerden Ö, Uraz H, Söğüt Ö. Kilis İneklerinde Kan Progesteron Testi Kullanılarak Erken Gebelik Teşhis İmkanları. *Hayvansal Üretim* 2009; 50(2): 29-32.
21. Martin R, Schmausser M, Seidl S, Schmauder S, Mansfeld R. Use of Lecirelin to improve insemination efficiency of dairy cattle. *Praktische Tierarzt* 2005; 86(12): 914-919.
22. Masiulis M, Zilinskas H, Rutkauskas A, Riskeviciene V. Effect of synthetic GnRH analogues on ovarian follicular growth dynamic and oestrus. *Medycyna Wet* 2007; 63(8): 922-923.
23. Khan Q, Rehman ZU, Samo MU, et al. The effect of PGF_{2α} analogue with or without GnRH on fertility rate of anestrus kundhi buffalo. *J Anim Plant Sci* 2012; 22: 51-54.
24. Al-Dahash SYA, Bensassi MF. Treatment of some infertility problems in cows using Dalmarelin and Dalmazin. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences. Supplement II*, 2009; 23: 255-257.
25. Anjum IA, Usmani RH, Tunio MT, Abro SH. Improvement of Conception Rate in Crossbred cattle by using GnRH Analogue Therapy. *Pakistan Vet J* 2009; 29: 93-94.
26. Kumar N. “Hormonal appraoach for reproductive management in bovine”. drnishantblogging.blogspot.com/7.11.2014.
27. Souza AH, Cunha AP, Silva EPB, et al. Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: Efficacy based on induction of ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles. *Theriogenology* 2009; 72: 271-279.
28. Probo M, Comin A, Mollo A, et al. Reproductive performance of dairy cows with luteal or follicular ovarian cysts after treatment with buserelein. *Anim Reprod Sci* 2011; 127: 135-139.
29. Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *J Anim Reprod* 2014; 81: 170-185.
30. Parkinson T. Infertility in the cow: structural and functional abnormalities, management deficiencies and non-specific infectiones. *Arthur’s Veterinary Reproduction and Obstetric* 8 th edition, London: W.B. Saunders 2001: 383-472.
31. Wolfenson D, Thatcher WW, Savio JD , Badinga L , Lucy MC. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology* 1994; 633–644.

32. Amiridis GS, Tsiligianni T, Dovolou E, et al. Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *Theriogenology* 2009; 72: 542-548.
33. Szenci O, Takacs E, Sulon J, Souza NM, Beckers JF. Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2006; 66: 1811-1815.
34. Kaim M, Bloch A, Wolfenson D, et al. Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses, and conception. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2012–2021.
35. Mee MO, Stevenson JS, Scoby RK. Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *J Dairy Sci* 1990; 73: 1500-1507.
36. Lee CN, Critser JK, Ax RL, Folman Y. Changes of luteinizing hormone and progesterone for dairy cows after gonadotropin-releasing hormone at first postpartum breeding. *J Dairy Sci* 1985; 68, 1463–1470.
37. Lee CN, Maurice E, Ax RL, et al. Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows. *American J Vet Res* 1983; 44: 2160–2163.
38. Nakao T, Narita S, Tanaka K, et al. Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analog. *Theriogenology* 1983; 20: 111–119.
39. Stevenson JS, Schmidt MK, Call EP. Gonadotropin-releasing hormone and conception of Holsteins. *J Dairy Sci* 1984; 67: 140–145.
40. Gumen A, Keskin A, Yilmazbas-Mecitoglu G, et al. Effects of GnRH, PGF2 α and oxytocin treatments on conception rate at the time of artificial insemination in lactating dairy cows. *Czech J Anim Sci* 2011; 56(6): 279–283.
41. Chenault JR. Effect of fertirelin acetate or buserelin on conception rate at first or second insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1990; 73: 633–638.
42. Howard JM, Manzo R, Dalton JC, Frago F, Ahmadzadeh A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days later artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2006; 95: 224-233.
43. Leslie KE, Bosu WT, Lissemore K, Kelton D. The effects of gonadotrophin releasing hormone administration four days after insemination on first-service conception rates and corpus luteum function in dairy cows. *Can J Vet Res* 1986; 50(2): 184-187.
44. Kaçar C, Yıldız S, Pancarcı ŞM, et al. Effect of Administration of Lesireline Five Days After Artificial Insemination on Pregnancy Rates and Luteal Function in Cows. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2007; 13(2): 139-142.
45. Kaygusuzoglu E, Yildiz H, Kaya M, Cenesiz M. Effect of GnRH Administered 7 Days after Insemination on Serum Progesterone, Luteinizing Hormone and Duration Estrous Cycle with Pregnancy Rates in Heifer. *J Anim Vet Advances* 2010; 9(9): 1400-1405.

46. Yıldız H, Kaygusuzođlu E, Kaya M, Çenesız M. Effect of Post-Mating GnRH Treatmet on Serum Progesterone, Luteinizing Hormone Levels, Duration of Estrous Cycle and Pregnancy Rates in Cows. *Pakistan Vet J* 2009, 29(3): 110-114.
47. Macmillan KL, Taufa VK, Day AM. Effects on an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim Reprod Sci* 1986; 11: 1-10.
48. Jayakumar C. Vahıda AM. Effect of administration of GnRH analogue at midluteal phase. *Indian Vet J* 2000; 77: 454-455.
49. Çınar M. PGF₂ alfa ile senkronize sütçü ineklerde tohumlama sırasında ve/veya tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilitite üzerine etkisi. *Hayv Aras Derg* 2002; 12: 31-34.
50. Erdem H, Tekeli T, Yenice M. Holstein ırkı düvelerde tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilitite üzerine etkisi. *Hayv Aras Derg* 2002; 12(2): 50-54.
51. Elibol E, Uçar M, Yılmaz O. Ovsynch Uygulanan İneklerde Sun'ı Tohumlama Sonrası 12. Günde Yapılan GnRH Enjeksiyonunun Gebelik Oranına Etkisi. *Kocatepe Vet Derg* 2009; 2: 13-18.
52. Paksoy Z, Kalkan C. The effect of GnRH and hCG used during and after artifiical insemination on blood serum progesterone levels and pregnancy rate in cows. *Kafkas Üni Vet Fak Derg* 2010; 16 (3) : 371-375.
53. Sabuncu A, Kaya HH, Tek Ç. Doğum sonrası anöstrüs gösteren süt ineklerinde ovaryum aktiviterinin PGF₂α ve GnRH ile uyarılması. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 2003; 29: 277-284.
54. Salmanođlu R. İnaktif ovaryumlu ineklerde progestagen tedavisiyle birlikte PMSG veya GnRH uygulamalarının fertilititeye etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1998; 45: 145-150.
55. Mehdikhani A, Salmanođlu MR. Postpartum problemsiz ineklerde PGF₂α ve GnRH kullanımının reproduktif performans üzerine etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 1998; 4: 75-82.
56. Yavas Y, Walton JS. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows. *Theriogenology* 2000; 54, 1-23.
57. Tallam SK, Kerbler TL, Leslie KE, et al. Reproductive performance of postpartum dairy cows under a highly intervenient breeding program involving timed insemination and combinations of GnRH, prostaglandin F₂ alpha and human chorionic gonadotropin. *Theriogenology* 2001; 56(1): 91-104.
58. Momcilovic D, Archbald LF, Walters A, et al. Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and/or prostaglandin F₂α (PGF₂α) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology* 1998; 50(7): 1131-1139.

59. De Rensis F, Allegri M, Seider GE. Estrus synchronization and fertility in postpartum dairy cattle after administration of human chorionic gonadotrophin and prostaglandin F 2 alpha analog. *Theriogenology* 1999; 52(2): 259-269.
60. Macmillan KL, Taufa VK, Hayman DL. Effects of injecting GnRH seven days before using FSH to superovulate cows. *Theriogenology* 1997; 47: 1-175.
61. Ellington JE, Foote RH, Farrell PB, et al. Pregnancy rates after the use of a gonadotropin releasing hormone agonist in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 1991; 36(6): 1035–1042.
62. Chandra R, Sanwal PC, Majumdar AC, Ansari MR. Superovulation in dairy cows: effect of GnRH treatment. *Theriogenology* 1997; 47: 1-167.
63. Kharche SD, Srivastava SK. Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Anim Reprod Sci* 2007; 99: 196-201.
64. Dodamani MS, Honnappagol SS. Therapeutic Management of Repeat Breeder HF X JR Cows Employing Buserelin Acetate. *Karnataka J Agri Sci* 2004; 17(2): 306-308.
65. Khoramian B, Farzaneh N, Garoussi MT, Mohri M. Comparison of the effects of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin or progesterone on pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder dairy cows. *Res Vet Sci* 2011; 90: 312-315.
66. Hayran M, Özdemir O. *Bilgisayar, istatistik ve tıp. 2. Baskı: Medikomat hekimler yayın birliği, 1996*
67. Perry GA, Perry BL. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. *Theriogenology* 2009; 71: 775-779
68. Kaygusuzoglu E, Kalkan C. İneklerde tohumlama sırasında uygulanan GnRH'nin gebelik oranları ve kan progesteron seviyesi üzerine etkileri. *Fırat Üni Sağıl Bil Derg* 1998; 14, (1): 15-22.
69. Lopez-Gatius F, Santolaria P, Martino A, Deletang F, Rensis FD. 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* 2006; 65: 820–830.
70. Robbe D, D'Ottavio M, Sciorsci RL. Terapia della cisti follicolari della bovina. *Obiettivi e Documenti Veterinari (O. D. V)*, 2002; 7/8: 19–24.
71. Gajewski Z, Thun R, Faundez R, Pawlinski B. The influence of α -adrenergic receptors stimulator and blockers and beta-blocker on the ovary and endocrinological activity in heifers during ovulation. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57(8): 173–188.
72. Espey LL. Ovarian contractility and its relationship to ovulation: a review. *Biol Reprod* 1978; 19: 540–551.

8. ÖZGEÇMİŞ

Burdur ilinde 1985 yılında doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Kahramanmaraş'ta, lise öğrenimimi Adıyaman'da tamamladıktan sonra 2011 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldum. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda 2012 yılında Yüksek Lisans eğitimime başladım. Elazığ Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü adına Elet Et ve Et Ürünleri Limited Şirketinde Yetkilendirilmiş Veteriner Hekim olarak çalışmaktayım.