

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

İNEKLERDE ERKEN GEBELİK FAKTÖRÜ'NÜN (EGF) TESPİTİYLE GEBELİĞİN TEŞHİSİ

DOKTORA TEZİ

Arş. Gör. Atilla YILDIZ

F.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ

88677
ELAZIG-1999

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1- ÖNSÖZ.....	I
2- GİRİŞ.....	1
3- MATERYAL VE METOT.....	11
4- BULGULAR.....	16
5- TARTIŞMA VE SONUÇ.....	22
6- ÖZET.....	25
7- SUMMARY.....	26
8- KAYNAKLAR.....	27
9- ÖZGEÇMİŞ.....	47
10- TEŞEKKÜR.....	48

ÖNSÖZ

Kârlı süt ve et üretimi için, üremenin verimliliği esastır. Üreme faaliyetinin sürekli ve düzenli seyretmesi, sütçü ve etçi sığır yetiştiriciliğinde iyi yönetimin en önemli özelliklerinden birisidir. Her hayvanın gebelik durumlarının hızlı ve doğru olarak belirlenmesi, üremeye ait sürü sağlığı programı için zorunludur. İşletmenin verimliliği için, üretimde zaman kaybının, uygun tedavi ya da ayıklama ile giderilmesi, çiftleşme veya tohumlamayı müteakiben, gebe olmayan hayvanların erkenden belirlenmesi gerekir. Ayrıca, satılık hayvanların belirlenmesi, sigorta işlemleri ve ekonomik hayvan üretiminin yönetimine yardımcı olmak için de gebelik teşhisine ihtiyaç duyulur.

Erken dönemde gebeliğin teşhis edilebilmesi için; Erken Gebelik Faktörü'nün (EGF) belirlenmesinde Rozet İnhibisyon Testi (RIT), tohumlamayı izleyen dönemde kızgınlığın tekrarlanmaması, süt ya da kan progesteron düzeyinin ölçülmesi, ultrason veya rektal yolla uterusun muayenesi gibi birçok teknikler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bugüne kadar kesin olarak, embriyonik ölümlerin zamanı ve teşhisine imkân veren bir klinik yöntem mevcut değildir. Fertilizasyonu izleyen erken dönemlerde (16. güne kadar) şekillenen embriyonik ölümler, siklusun seyir ve süresini etkilemediği için, bu tip hayvanlardaki embriyo kayıpları döl tutmama olarak değerlendirilmektedir. Bu sebeple, hem döllenenin tanınmasını, hem de embriyonik ölümleri incelemek için, gebeliğin seyri boyunca sürekli görüntülenmesini sağlayan cerrahi olmayan bir teknik çok değerli olacaktır. Embriyonun yaşadığının ilk belirtisi EGF'dir.

Çalışmada, ineklerde tohumlama sonrası kan serumunda; 7. ve 21. gündeki EGF ile 21. gündeki progesteron ve 45. gündeki rektal muayene bulguları değerlendirilerek, elde edilecek gebelik oranları arasındaki ilişkinin ve erken gebelik teşhisinde, EGF bulgularının kullanılıp kullanılmayacağını araştırılması amaçlandı.

GİRİŞ

Evcil hayvanlarda erken gebelik teşhisi, yetiştirici açısından pratik önemi yanı sıra, fertilitite kontrol programları için de bilimsel yönden önemlidir. İnfertilitenin bir sonucu olan zaman kaybının önlenmesinde, hayvanların uygun tedavi ya da gebe olmayan hayvanların erken ayrımı ile yetiştiriciye birkaç tercih hakkı sağladığından, çiftleşme ya da tohumlamadan kısa bir süre sonra, erken gebelik teşhisine ihtiyaç duyulur. Ayrıca satılık hayvanların değerini belirlemek, sigorta işleri, tohumlama programındaki pahalı hormon kullanım israfını azaltmak ve ekonomik hayvan üretimine yardımcı olmak için de gebelik teşhisine ihtiyaç duyulmaktadır (59). Bu sebeple, sürü sağlığı programı için, sürüyü oluşturan hayvanların gebelik durumlarının erken ve doğru olarak belirlenmesi zorunludur (38).

Evcil hayvanlarda gebelik teşhis metodlarının temel dayanağı olan esaslar 4 grupta toplanabilir:

a- Direkt olarak rektal yolla ya da abdominal palpasyonla, radyografi ve ultrasonografi ile yavru, yavru suları ya da zarlarının tespiti (103, 149).

b- Karın hacminde artma, uterus arterlerinin çapında büyüme, uterusun yerinin değişmesi, vagina epitelinin incelmeye ve meme bezlerinin hacminde artış gibi gebeliğe bağlı olarak dışide şekillenen fiziksel değişikliklerin belirlenmesi (9, 56, 153).

c- Progesteron, östrojen ve koriyonik gonadotropinler gibi gebeliğe bağlı hormonal değişikliklerin tespiti (3, 18, 49, 50, 118).

d- Tohumlamayı müteakip östrüsün yokluğu ve huyun yumuşaması gibi gebelikle ilgili hormonal değişimlere bağlı olarak, anada şekillenen sekonder davranış değişikliklerinin tespiti (117).

Doğrudan gebelik teşhis metodlarında hata ihtimali genellikle çok azdır (38). Uygun gebelik tespit metodunun seçimi, türlere, gebeliğin dönemine, metodun maliyetine ve doğruluğuna göre değişmektedir (13, 64, 87, 92, 125, 155).

Rektal muayene, radyografi ve ultrason tekniklerini kapsayan klinik gebelik teşhis metodları; yavru, yavru zarları, yavru sularının ve gebelikle ilgili korpus luteumun belirlenmesi esasına dayanır (46, 76, 87, 157).

İneklerde, gebeliğin pozitif belirtilerinin en kolay rektal yolla palpe edilir olması, bu yolla gebeliğin erken dönemde tespit edilmesi, ekonomik ve pratik olması ve sonucun anında alınması, ayrıca yardımcı alet ve malzemeye gerek duyulmaması yönüyle günümüzde hâlâ geçerli teşhis yöntemidir (59, 103, 110).

Tohumlama sonrası 18 ile 24. gündeki rektal muayenede, ovaryum üzerindeki gebelik korpus luteumunun tespiti ile ineklerde, yaklaşık %80-90 bir doğrulukla gebeliğin teşhis edilebileceği bildirilmiştir (117).

İneklerde, 35-70. günlerde uterustaki fluktuasyona bakılarak gebelik, doğru ve güvenilir olarak tespit edilebilir (59). Drost ve ark.(36), gebeliğin 41 ve 45. günleri arasında rektal muayene ile gebelik teşhisi dikkatli bir şekilde yapıldığında, doğru ve güvenli sonuç verdiğini bildirmektedirler.

Rektal muayenede, gebeliğin 50. gününden sonra uterusun hacminin ve fötüsün, yaklaşık 75. günden sonra plasentomların ve 3.5 aydan sonra gebeliğin bulunduğu kornu uteriye besleyen a. uterina media'nın çapındaki büyüme ve fremitusun algılanmasıyla da gebelik teşhisi yapılmaktadır (1).

Laboratuvar yöntemiyle gebelik teşhisi, ana ya da embriyo tarafından üretilen maddelerin; ananın kanı, sütü, salyası ve idrarı gibi vücut sıvılarında, kimyasal ve immunolojik yöntemlerle belirlenmesi temeline dayanır (10, 35, 44, 62, 154, 163).

İmmunolojik teknikler, embriyo, plasenta, uterus ya da ovaryumlar tarafından üretilen ve ana kanına, idrarına, salyasına, sütüne, gaita veya kılına geçen maddelerin (östrojen, progesteron, koriyonik gonadotropinler gibi) seviyelerinin belirlenmesine dayanır (44, 51, 59, 78, 83). İmmunolojik testler iki çeşittir. Birincisi, gebelikle ilişkili olarak sadece gebe hayvanlarda bulunan ve gebe hayvan plasentası tarafından salgılanan eCG ve hCG gibi koriyonik gonadotropinlerin tespitidir. İkincisi ise gebelik dışında da bulunan ve düzeyleri gebelikte değişen progesteron, östrojen gibi maddelerin belirlenmesidir (1, 43, 78, 80, 83, 123).

Gebeliğe bağlı olarak vücut sıvılarında miktarları değişen hormonlardan progesteronun RIA veya EIA ile ölçümü, şimdiye kadar çiftlik hayvanlarında en yaygın kullanılan erken gebelik teşhis metodu olmuştur (2, 4, 5, 65, 77, 85, 101). Erken gebelikte, gebeliğin uterustan salgılanmasına sebep olduğu antiluteolitik faktörler, endometriyum'dan $PGF_{2\alpha}$ salgısını durdurarak, ovaryum'daki korpus luteum'un regresyonunu engellemektedir. Buna bağlı olarak gebe hayvanlarda tohumlamayı izleyen 19-21. günlerde progesteron düzeyi düşmeyip, doğuma kadar artarak sekresyonu devam etmektedir. Hayvan gebe kalmamışsa, korpus luteum'un lize olması sonucu, aşımı izleyen 19-21. günlerde, progesteron miktarı çok düşük düzeylerde seyredecektir (1, 37, 84). Bu sebeple gebe olmayan hayvanlarda, progesteron azalacağından, kan ve süt gibi sıvılarda progesteron miktarı ölçülerek, gebelikleri hakkında karar verilebilmektedir (15, 47, 74, 111, 116, 135). Normal olarak örnekler, tohumlamadan bir östrüs siklusu uzunluğu sonrasında alınır. İneklerde 19-24. günler arası, ortalama olarak da 21. gün örnekleme günü olarak seçilmektedir (112, 160). Bu örnekleme zamanında, gebe olmayan hayvanlarda progesteron düzeyi düşmesine karşılık, gebe hayvanlarda yüksektir. Gebe ineklerde 21. günde kan progesteron düzeyi her zaman 2 ng/ml'den fazla olup, genellikle 5-8 ng/ml kadardır. Gebe olmayanlarda ise bu düzey 0.5 ng/ml ya da daha düşük seviyededir (2, 54, 126, 148).

Vücut sıvılarındaki progesteron hormonunun yoğunluğunun siklusun proöstrüs ve östrüs dönemlerinde düşük, luteal dönem ve gebelik boyunca yüksek düzeylerde olması; bu hormonun gebe ve gebe olmayan, östrüste ve östrüste olmayan hayvanları belirlemek için kullanımını sağlamıştır (19, 27, 101, 139).

İneklerde tohumlama sonrası 19-26. günlerde, RIA yöntemiyle kan progesteron miktarına göre, gebe olanlar %49-91, gebe olmayanlar da %90-100 doğrulukla tespit edilebilmektedir (2, 26, 52, 65, 74, 133).

Vücut sıvılarındaki yüksek progesteron düzeyleri, fonksiyonel bir korpus luteumun varlığını gösterir. Progesteronun dolaşımdaki düşük seviyeleri, fonksiyonel bir korpus luteumun yokluğuna delalet eder. Şayet inek son tohumlamayı müteakip 21. günde gebe ise fonksiyonel bir korpus luteuma sahiptir ve bu sebeple de dolaşımında progesteronun seviyesi yüksektir. Eğer son tohumlamayı müteakip 21. günde gebe değilse, korpus luteumun regresyona uğramış olması ve hayvanın östrüse dönmesi gerekir. Ancak, son tohumlamayı müteakip 20-21. günde, yüksek progesteron düzeyine sahip ineklerin %25 kadarı daha sonra gebe bulunmamaktadır. Bu durum, örnekleme zamanının uygun olmaması, yanlış zamanda tohumlama, östrüs siklusunun normalden uzun ya da kısa sürmesi (% 30 kadarında östrüs siklusu 17 günden daha az, ya da 25 günden daha fazladır.), rektal palpasyonla gebeliği teyit etme zamanına kadar geçen sürede meydana gelen erken embriyo ölümleri, korpus luteumun kalıcı hale geçmesi ve ovaryumun luteal kistleri gibi sebeplerden kaynaklanır (14, 45, 56, 86, 124, 137).

Yukarıda belirtilen sebeplerden dolayı, progesteronun vücut sıvılarındaki yükselmiş seviyesi, her zaman gebeliğin varlığını belgelemez. Bununla birlikte, uygun şartlarda (serumun alınması, saklanması, analiz esnasında test hatalarının yapılmaması gibi) vücut sıvılarında progesteronun düşük düzeyde ölçülmesi hayvanın %100 gebe olmadığını belgeler. Bu sebeple, kanda progesteron testi, gebelerden daha ziyade, gebe olmayanların

teşhisi için daha güvenlidir ve rektal palpasyona göre çok daha erken dönemde, gebe olmayan hayvanların tespitine imkân verir (2, 60, 126, 148).

Ana Kanında Gebelikle İlişkili Maddeler

Erken gebelik esnasında; Erken Gebelik Faktörü (EGF), Gebelikle İlişkili Glikoprotein (GİG), Gebeliğe Özgü Protein (GÖP), Erken Gebelikle İlişkili Protein (EGİP), Erken Gebelikle İlişkili Trombositopeni (EGİT), Trombosit Uyarıcı Faktör (TUF) gibi maddeler ana kanından elde edilmiştir ve bu maddeler gebelik boyunca ana kanında değişik düzeylerde bulunurlar (25, 69, 81, 151, 162, 164).

İmplantasyondan önce embriyo tarafından üretilen erken gebelik faktörü ve diğer immun baskılayıcı faktörler, ananın hücrel bağışıklık cevaplarını baskılamada bir rol oynayabilir ve böylece embriyonun ana tarafından reddi önlenir (17, 30, 42, 48, 102, 140).

Erken Gebelik Faktörü (EGF):

Gebeliğin çok erken safhasında, memeli türlerinin serum ve idrarında bulunan, döllenme ve embriyonun yaşamını devam ettirebilmesi için öneme sahip olduğu açıklanan EGF, ilk olarak farelerde belirlenmiştir (7, 71, 93, 97). Erken Gebelik Faktörü olarak adlandırılan bu maddenin varlığı, laboratuvar ve deney hayvanlarının (fare, tavşan) yanısıra; insan, koyun, sığır, at, köpek ve domuzlarda, ve bazı yabani memeli türlerinde de gösterilmiştir (28, 55, 66, 67, 68, 70, 115, 144). Tohumlama sonrası ananın kan dolaşımında farede 6., tavşanda 16., domuz ve koyunda 24., insan ve inekte 48. saatlerde belirlenmiştir (21, 40, 58, 96, 121, 132). Çiftleşme ya da tohumlamadan sonra, ilk olarak EGF'nin görülmesi sebebiyle, fertilizasyonun şekillenip şekillenmediğinin belirlenmesi, erken gebelik teşhisi, embriyonun canlılığının tespiti ve fertilitenin kontrolü çalışmalarında pratik uygulamaları olabileceği fikrini doğurmuştur (29, 57, 90, 94, 134).

EGF'nin serumda bulunma zamanı türlere göre değişmekle birlikte, birçok türde, fertil çiftleşmeyi müteakip ilk 24 saat içinde serumda teşhis edilebilir ve embriyonun alınması ya da ölümünden sonra dolaşımından hızla kaybolur (71, 129).

EGF gebelikte ovaryum ve embriyodan salgılanmaktadır. Farelerde fekondasyondan sonraki 4-6 saat içerisinde embriyo tarafından salgılanan EGF tespit edilmeye başlanır ve gebeliğin 15-16. gününde kaybolur. Ovaryumlardan salgılanan EGF ise 7. güne kadar devam eder (72, 80, 92, 95).

EGF üretimi, döllenmiş yumurtadan bir işaretle başlatılır, bu da spermin ovuma giriş zamanıyla eştir (24). Ovum faktörü de denilen işaret maddesi, prolaktinin katılımcı etkisine ihtiyaç duyar. Prolaktinin oynadığı rol bilinmemekle birlikte, hem in vivo, hem de in vitro ovaryumdan EGF'nin salınımı için esastır (93). Anada hafif bir trombositopeniye sebep olması sebebiyle, ovum faktörünün, çiftleşmeden sonraki 10 gün içinde belirlenebilen Embriyo Kökenli Trombosit Uyarıcı Faktör (ETUF)'le benzer olabileceği izlenimini uyandırmaktadır (79, 104, 105, 107, 108, 145).

Döllenmiş yumurtanın bulunduğu vasatta EGF'nin varlığı ve immun baskılayıcı etkinliği, bu faktörün erken safhada, gelişmekte olan embriyonun bir ürünü olduğunu gösterir (17, 98).

Üretilen tümör hücrelerinin çoğalması üzerine, anti-EGF monoklonal antikor uygulamasının hücre çoğalmasını baskılaması, EGF'nün hücre bölünmesinin direkt ürünü olduğunu ortaya koyar (113).

Kısaca EGF, karaciğer hücre rejenerasyonunun, hücre bölünmelerinin, tümör hücrelerinin, trombosit aktivasyonunun (uyarımının), ve mineral yağla uyarılmış granülomun bir ürünüdür (93, 113, 114).

Fare, koyun ve insanlardaki EGF'ye dair çalışmalar, EGF'nin bazı özelliklerini ortaya çıkarmıştır. EGF'nin başlıca

özelliklerinden biri, jel filtrasyonundan sonra, serbest ya da taşıyıcı bir proteinle birlikte, farklı molleküler ağırlıklı bir madde oluşturmaktadır. EGF % 40'lık ammonium sulphate'la iki bileşene ayrılabilir. %40'lık ammonium sulphate'la çözünen kısım EGF-A'ya özdeştir. EGF-B'ye tekâbül eden kısım çözünmez maddedir. EGF-A, sadece EGF-B'nin varlığında lenfositte bağlanır. EGF-A, östrüs ve gebelik esnasında oviduct'ta oluşturulur. Ovaryum tarafından EGF-B'nin üretimi ise sadece gebeliğe bağlıdır ve hipofiz ile zigotun ortak etkilerinin bir sonucudur (20, 23, 24, 31, 32, 73, 88, 106, 158, 165).

EGF'nin saf olarak elde edilmesinde; kan serumu, idrar, plasenta ve fare ovaryum-oviduct kültür vasatı kullanılmıştır (17, 20, 33, 159). Koyunlarda tespit edilen EGF, iki farklı molleküler ağırlıklı yapıya sahip bir proteindir. EGF serumda, hem taşıyıcı molleküle bağlı, hem de serbest olarak bulunmaktadır. Taşıyıcıya bağlı EGF, implantasyon öncesi dönemde hakimdir ve 250.000 molleküler ağırlığa sahiptir. Kanda bulunan serbest formu ise, implantasyondan sonra baskındır ve yaklaşık 20.000 mollekül ağırlığına sahiptir ve polimerler şeklinde bulunur. Aynı genel özellikler çalışılan tüm türlerde gösterilmiştir (31, 71).

Çiftleşmeden sonra ilk 24 saat içinde sırasıyla 20.000 ile 250.000 molleküler ağırlığa sahip erken gebelik faktörünün iki şekli bulunurken, daha sonra yaklaşık 50.000 molleküler ağırlığa sahip üçüncü şekil hakim olmaktadır. 250.000 molleküler ağırlıklı şekil gebe ve gebe olmayan koyunların serumlarında mevcut taşıyıcı mollekülün çıkarılmasıyla 50.000'li şekle dönüştürülebilir (31).

EGF, ana ile yavru arasında erken immunolojik ilişkide bir rol oynamaktadır. EGF'nin, gebeliğin ilk döneminde ana lenfositinin immun özelliğini baskılar nitelikte bir immun düzenleyici rolü vardır ve ana organizmasında fötüsün hayatını sürdürmesine imkân tanır. Embriyonun in vitro gelişmesi için EGF şart olmamasına rağmen, anti-EGF monoklonal antikoruyla in vivo EGF'nin etkisizleştirilmesi, embriyo taslağının gelişmesini

geciktirir (93). Anti-EGF antikorunun varlığında, in vitro ortamda embriyonun, 2 hücreli safhadan, blastosit safhasına kadar gelişiminin kesintisiz sürmesi, gebeliğin implantasyon öncesinde EGF'nin dolaylı yollardan etkiğini göstermektedir (6).

Anti-EGF antikoru bulunmayan in vitro ortamdaki embriyo gelişmesine göre, anti-EGF içeren kültür vasatında bulunan embriyoların gelişimindeki gecikme; EGF'nin, embriyoya karşı anaya ait bazı istenmeyen etkileri ortadan kaldırdığı izlenimini uyandırmaktadır (6, 136). Bu baskılayıcı faktörlerle ananın immun cevabının etkisizleştirilmesi olabilir. Diğer bir deyişle, EGF, lenfositlerden baskılayıcı faktörleri salıverir ve bu, sıra ile gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonunu baskılayabilir (122).

Tümör hücrelerinin çoğalması üzerine anti-EGF monoklonal antikor uygulamasının etkisine dair araştırmalarda, hücre çoğalmasının devam etmesinde, EGF'nin doğrudan bir rolünün olduğu belirlenmiştir (6). Araştırmalar, EGF'nin otokrin bir büyüme faktörü gibi bir fonksiyona sahip olduğunu ve bağışıklığı düzenleyici bir madde olarak rol oynadığını göstermiştir (6, 113, 131). Tümörlerde, hücre bölünmesinde EGF'ye niçin ihtiyaç duyulduğu tam olarak belli değildir. Ancak, EGF'nin hücre dizisine girerek hücreyi aktive ettiği ya da alternatif olarak hücre dizisinin devamı için EGF'ye ihtiyaç duyduğu düşünülmektedir (93).

İmplantasyon öncesi dönemde EGF, embriyonun canlılığının devamında dolaylı bir rol oynamaktadır. Bu rolde EGF, lenfositlerden baskılayıcıları salıverir ve buna bağılı olarak gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonunu engelleyip, embriyoya zarar verebilecek olan anaya ait hücrelerden sitokinlerin salınımını durdurarak, embriyo üzerinde oluşacak zararlı etkiyi önler (93). Bununla birlikte EGF, bir büyüme faktörü olarak etki yapar ve büyümenin aktif safhasında embriyo hücrelerinin korunmasına da yardım edebilir. Ayrıca, immun düzenleyici bir madde olarak da rolü vardır (22, 134).

EGF'nin tespit edilmesi, rozet inhibisyon testi (RIT) ile yapılmaktadır (71, 128). Bu test, antilenfosit seruma ait yeteneğin, T lenfositleri ile heterolog eritrositler arasında, spontan rozet oluşumunu inhibe etmesine dayanır (71). RIT, bir biyolojik kompleks tahlili olup, biyolojik karışım kompleksinde (serumda), EGF teşhisidir (100). Lenfositler bir komplement kaynağının varlığında farklı eritrositlere maruz bırakıldıklarında, rozet oluşturmak için lenfositlerin küçük alt grupları, eritrositlere bağlanır. Bu rozetleri oluşturan lenfositlerin yeteneği, antilenfosit serum (ALS) tarafından doza bağımlı biçimde inhibe edilebilir ve böylece Rozet İnhibisyon Titre'si, verilen ALS'a göre belirlenebilir (29).

RIT, dalak hücreleriyle EGF'nin inkübasyonu ile başlayan ve rozet şekillenmesinin engellenmesiyle sonuçlanan olayların kademeli bir serisidir. Kademeli serideki her basamakta identifiye edilmemesine rağmen, lenfosit EGF'nin bağlanmasını müteakip kalıtsal olarak sınırlı iki baskılayıcı faktörün (EGF_{B1} =Erken Gebelik Faktörü Baskılayıcı 1 ve EGF_{B2} =Erken Gebelik Faktörü Baskılayıcı 2) salındığı görülmüştür (119, 120).

Fertilizasyon başarısızlığı ile erken gebeliğin sürmemesi arasında ayırım yapabilen bir metodun, sığır yetiştiriciliğine ait çalışmalarda faydalı olacağı açıktır. Bazı infertilite olgularında, infertilitenin fertilizasyon başarısızlığından mı, yoksa erken embriyonik ölümlerden mi kaynaklandığının ortaya konmasında RIT bir belirleyici olarak kullanılabilir (96, 129, 143, 162).

Gebeliğe özgü protein B gibi çeşitli proteinler, daha çok gebeliğin implantasyondan sonraki döneminde salgılandığından, bu proteinlere bakarak implantasyon öncesi embriyo canlılığını değerlendirmek mümkün değildir (12, 13, 44, 54, 99, 129).

Fertilizasyondan sonra hızla ortaya çıkması, gebeliğin ilk üçte ikilik dönemi boyunca varlığını sürdürmesi ve embriyonun ölümü ya da cerrahi olarak uzaklaştırılmasını takiben hızla ortadan kaybolması gibi EGF'nin özellikleri, erken gebelik teşhisi için güçlü bir belirleyici olarak ve embriyo canlılığını izlemeye

bir araç olarak kullanılabilceğini gösterir (53, 100, 121, 141, 142, 152).

Yasuda ve ark. (161), sun'î tohumlamadan 15 gün sonra ineklerden alınan serum örneklerinde, rozet inhibisyon testi değerini gebelerde ortalama 6.6 ± 1.28 , gebe olmayanlarda ise 2.0 ± 0.94 olarak tespit etmişlerdir.

EGF ile gebelik teşhisi konan hayvanlarda, daha sonraki günlerde EGF'nin tespit edilememesi, embriyonik kaybın en erken ve en önemli göstergesidir (40, 58, 89, 91, 100, 130). Tabii ya da sun'î tohumlamadan sonra fertilizasyon oranı genelde %85-95 olarak bildirilirken, tohumlama sonrası 42. günde bu oran %50-60'lara düşmektedir (34, 69). Bu düşüşten embriyonik kayıplar sorumludur. İneklerde embriyonik ölümlerin, fertilizasyondan sonra tedricen oluştuğu görülür (61, 136). İneklerde, gebeliğin başlangıcından itibaren 42. güne kadar olan (erken ve geç embriyonik) dönemde, embriyo ölümlerinin oranı % 7-65 olarak bildirilmiştir (8, 11, 16, 34, 82, 127).

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, küçük aile tipi işletmeciliğe ait; yaşları 3-8 arasında değişen, üreme yönünden herhangi bir klinik bozukluğu bulunmayan, tabii östrüslerinde sun'i olarak tohumlanan, toplam 60 İsviçre Esmeri inek kullanıldı. Hayvanlardan, tohumlamayı izleyen 7 ve 21. günlerde vena jugularis'ten steril kan alma tüplerine 10 ml kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri, pıhtı teşekkül edinceye kadar (takriben 2 saat) oda ısısında bekletildi. Pıhtı oluşan örnekler, çizilerek oda ısısında, serum vermesi için 3 saat kadar bekletildi. Tüpün üst kısmında toplanan serumlar, steril santrifüj tüpüne aktarılarak, 1600 devir /dk'da, 30 dakika süre ile santrifüje edildi. Serumlar; EGF ve progesteron tespitinde kullanılmak üzere iki ayrı serum saklama tüpüne aktarıldı. Daha sonra, EGF tespitinde kullanılacak serumlar, 30 dakika süreyle etüvde 56°C'de inaktive edildikten sonra, -20°C'de muhafaza edildi. Progesteron ölçümü için kullanılacak serum örneğine inaktivasyon işlemi uygulanmaksızın RIA ile progesteron analizi işlemine kadar -20°C'de saklandı.

EGF'nin Ölçülmesi:

Serumda EGF'nin aktivitesi, RIT ile Sakonju ve ark. (125)'nin tarif ettiği metodla yapıldı. RIT ile EGF aktivitesinin tayininde aşağıda açıklanan prosedürler izlendi.

Lenfosit süspansiyonu: Lenfositler, El-Et kesimhanesinden günlük olarak kesilen İsviçre Esmeri boğanın dalağında elde edildi. Alınan dalak steril DME/F-12 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium Nutrient Mixture F-12) (SIGMA) vasatı içinde laboratuvara getirildi. İçinde PBS (Phosphate Buffer Solution)(PBS: NaCl 8 gr, PCl 0.2 gr, Na₂HPO₄ 1.15 gr, KH₂PO₄ 0.2 gr, dH₂O 1 lt.) bulunan petri kutusunda dalak bir makasla parçalanarak, dalak hücreleri süspanse edildi. Dalak hücreleri süspansiyonu bir tülbentten süzöldükten sonra 1000 devir/dk'da 15 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı döküldü ve pelet hücrenin üzerine PBS ilâve edildi. Yıkama işlemi iki defa tekrarlandı. Son yıkamadan sonra elde edilen pelet hücrelerinin üzerine, 10 ml

eritrosit lize edici eriyiği (0.85 gr NH_4Cl , 0.1 gr KHCO_3 , 100 ml dH_2O) eklendi. Eritrositlerin lize olması için oda ısısında 15 dakika inkubasyon yapıldı. Süspansiyon tekrar santrifüje edilerek lenfositler pelet hücre halinde elde edildi. Lenfosit hücreleri PBS ile iki defa yıkandı. Lenfositler 3×10^8 hücre/ml olacak şekilde PBS'de süspansiyon edildi.

Antilenfosit serum: Daha önce açıklandığı şekilde hazırlanan 3×10^8 hücre/ml yoğunluğundaki lenfosit hücreleri, Freund'un complete adjuvantı'yla (SIGMA) eşit hacimde emülse edildi. Tavşanlara, 0.5 ml lenfosit süspansiyonundan 6-10 yerden deri altı yoluyla enjekte edildi. Enjeksiyonu izleyen 28 gün sonra, 3 gün süreyle her defasında intravenöz olarak, 4×10^7 hücre içeren 0.5 ml PBS solusyonundan enjekte edildi. Son enjeksiyondan 11 gün sonra kulak venasından kan alındı ve 1600 devir/dk'da, 30 dakika süreyle santrifüje edildi. Ayrılan serum, etüvde 30 dakika süreyle, 56°C 'de inaktive edildi. İnaktive edilen bu serum $200 \mu\text{l}$ 'lik birimler halinde ependorf tüplerine aktarılarak -20°C 'de muhafaza edildi.

Koyun eritrositleri: Bir akkaraman koçundan sodyum sitratlı tüplere alınan kan, $+4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi. Her teşhis için eritrositler PBS ile 6 defa yıkandı ve %5 fetal buzağı serumu (SIGMA) ilave edilmiş, DME/F-12'le (SIGMA) ml'de 1×10^8 hücreli son hacim oluşturuldu.

Kobay Serumu: Kan, 6 adet yetişkin erkek kobaydan, kalp punksiyonu yoluyla alındı. Kanın üzeri parafilmle kapatılarak, buzda muhafaza edildi ve en kısa sürede $+4^\circ\text{C}$ 'de, 1000 devir/dk'da, 20 dakika süreyle santrifüje edilerek serumu ayrıldı. Kobay serumu, yıkanmış koyun ve sığır eritrositleri, eşit hacimlerde 2 saat kadar absorbe edildikten sonra, 15 dakika süreyle 1600 devir/dk'da santrifüje edilerek eritrositler ayrıldı. Üste kalan kısım $150 \mu\text{l}$ miktarlara ayrılarak -30°C 'de muhafaza edildi. Bu serum, kullanımdan hemen önce sadece 1 kez çözdürüldükten sonra, %5 fetal buzağı serumu içeren 5 hacim DME/F-12'le seyreltilti.

Serumda lenfositin preinkübasyonu: İki hacim PBS ile dilüe edilmiş her 1 ml serum örneğinde 1.5×10^6 hücre, 37°C 'de 30 dakika kadar inkübe edildi. İnkübasyon sonrası lenfositler PBS ile iki kez yıkandı ve %5'lik fetal buzağı serumunu içeren, DME/F-12'le 1×10^7 'lik son hacim oluşturuldu.

Rozet inhibisyon testi: Seri olarak $1/1 \times 10^3$ ten $1/128 \times 10^3$ oranına kadar ikili sulandırılmış antilenfosit seruma (ALS); dilüe test serumu ile inkübe edilen lenfosit süspansiyonu (0.1 ml) ve dilüe kobay serumu ilâve edilerek, 90 dakika süreyle 37°C 'de inkübe edildi. Rozet, koyun eritrositinin ilavesiyle oluşturulup, karışım 5 dakika süreyle, 120 devir/dk'da santrifüje edildi ve hafifçe çalkalanarak yeniden süspansiyon oluşturulup pipetlendi. Üç ya da daha fazla eritrosite bağlı lenfosit, rozet olarak kabul edildi. Tüm bölmelerdeki rozetler hemositometre ile sayıldı. Rozet İnhibisyon Titre'si, kendi (dahili) kontrolüyle (antiserumsuz 2 tüpteki rozet miktarıyla) karşılaştırıldığında rozet sayısında en az %25'lik bir azalmaya sebep olan antilenfosit serum dilüsyonunun karşılığı olarak alındı. Bu titre, $\text{ALS} \times 10^{-3}$ sulandırma karşılığının $1/500$ 'le çarpılarak 2 temeline göre logaritması olarak gösterildi. Örneğin, %75 ya da daha az rozet şekillenmesini veren ALS dilüsyonu $1:128 \times 10^{-3}$ ise, o zaman Rozet İnhibisyon Titre 8 olacaktır.

RIA ile kan serumu progesteron tayini:

Yirmibirinci günde alınan kan serumu örneklerinde, progesteron düzeyleri ng/ml olarak double RIA metodu ile belirlendi (63, 109). Kan serumu progesteron seviyelerinin ölçülmesinde, coated tüp metodu (Coat-A-Count®, Diagnostic Corporation (DPC), U.S.A.) kullanıldı. RIA ölçüm cihazı olarak, Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan gamma counter kullanıldı.

Önce iki adet 12×75 mm polypropylen tüp üzerine NSB (Nonspecific Binding) yazılarak spora yerleştirildi. Daha sonra progesteron kitiyle gelen, yüzeyi tavşan antiprogesteron immunoglobulinleri ile kaplı tüplere çift olmak üzere, sıra ile A,

B, C, D, E, F ve G yazılıp spora kondu. Müteakiben numunelerin konulacağı diğer tüplere de çift olmak üzere, 1, 2, 3, 4, ... yazılarak spora yerleştirildi ve pipetleme işlemine geçildi.

Pipetleme işleminde sırasıyla:

NSB 1, 2 tüplerine	100 μ lt	A	Kalibratörü
A1, A2	" "	A	"
B1, B2	" "	B	"
C1, C2	" "	C	"
D1, D2	" "	D	"
E1, E2	" "	E	"
F1, F2	" "	F	"
G1, G1	" "	G	"

1, 2, 3, ... olarak numaralandırılan her tüp çiftine de 100 μ lt progesteron düzeyi ölçülecek kan serum örnekleri konuldu. Serum örnekleri tüplere konmadan önce, oda ısısında çözündürüldü ve homojenliği sağlamak amacıyla mikserle karıştırıldı. Pipetleme işleminin bu safhasında her kalibratör ve her kan serumu örneği için ayrı mikropipet uçları kullanıldı. Daha sonra tamamının pipetleme işlemi, azami 10 dk da bitecek şekilde, bunların üzerine 1.0 ml Progesteron I¹²⁵ ilave edilerek mikserle karıştırıldı. Spordaki tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak, oda ısısında 180 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüplerin ağızlarındaki parafilm alınıp, tüp içindeki sıvıların birbirine karışmasını önlemek için, spor ani hareketle ters çevrilerek içindeki sıvılar boşaltıldı ve absorban kağıt üzerine ters çevrildi. Kalan sıvının akması için spor bu şekilde 5 dakika bırakıldıktan sonra, 10'arlı olarak tüpler bir dakika süre ile gamma counter'da sayıldı. Sonuçlar sayaçdan ng/ml olarak alındı.

Rektal palpasyon ile gebeliklerin kontrolü:

Tohumlanan hayvanların gebelikleri, tohumlamayı izleyen 45. günde rektal palpasyon ile kontrol edildi.

Veri analizi:

Tohumlamadan sonra 7 ve 21. gündeki serum EGF'sine ait RIT'leri 4'ün üzerinde olan inekler gebe kabul edildi. Yirmibirinci günde serum progesteron konsantrasyonları, Alaçam ve ark. (2)'nin yaptığı çalışmadaki 2.3 ng/ml düzeyi esas alınarak, gebe olan ve olmayanlar belirlendi. Testin doğruluk oranı, değerlendirmeye alınan hayvanlara ait RIT ve P4 bulgularının, palpasyon bulgularına bölünmesiyle elde edilen değer, 100 ile çarpılması sonucu elde edildi. Yedinci gündeki EGF aktivitesine ait titre 4'ün üzerinde iken, 21. gündeki titre 4'ün altına indiğinde aradaki fark ile 21. gün EGF düzeyi 4'ün üzerinde olmasına rağmen 45. gündeki rektal muayene sonucunda gebe bulunmayanlar, embriyonik kayıp olarak değerlendirildi. Rozet İnhibisyon Titre'leri ve progesteron miktarları, rektal muayene sonuçlarıyla mukayese edilerek embriyonik ölümler değerlendirildi. Veriler t ve bağımlı grupta χ^2 testleriyle analiz edildi (41, 146). Veriler ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak sunuldu.

BULGULAR

Tohumlamayı izleyen 7. gündeki EGF bulgularına göre, 60 inekten 53'ünün (%88.3) gebe, 7'sinin (%11.7) gebe olmadığı tespit edildi (Tablo 1).

Tohumlamayı izleyen 21. gün EGF sonuçlarına göre 60 ineğin 41'i (%68.3) gebe ve 19'unun (%31.7) gebe olmadığı görüldü (Tablo 1).

Yirmibirinci gündeki progesteron düzeyine bakılarak yapılan gebelik teşhisinde 60 inekten 43'ünün (%71.7) gebe, 17'sinin (%28.3) gebe olmadığı görüldü (Tablo 1).

Sun'i tohumlamayı izleyen 45. günde yapılan rektal palpasyonda 60 inekten 29'unun (%48.3) gebe, 31'inin (%51.7) ise gebe olmadığı belirlendi (Tablo 1).

Rektal muayene sonuçları esas alınarak yapılan değerlendirmede, 7. gün EGF, 21. gün EGF ve 21. gün progesteron ölçümlerine göre, elde edilen sonuçların doğruluk oranları; Sırasıyla gebelerde %54.7, %70.7 ve %67.4; gebe olmayanlarda ise her üç metotta da %100 olarak bulundu. (Tablo 2).

Rektal muayene sonuçları temel alındığında, gebe ve gebe olmayan ineklere ait serum örneklerinde yapılan ölçümlerde, 7. gündeki rozet inhibisyon titreleri (RIT) arasında istatistiksel yönden önemli bir farklılık bulunmakla birlikte ($P < 0.01$), 21. günde alınan örneklerde farkın çok daha önemli olduğu görüldü ($p < 0.001$) (Tablo 3).

Gebe hayvanlarda RIT'si, 7. ve 21. günlerde 4'ün üzerindeydi ve 4'ün altına düşmedi. Tohumlamayı izleyen 45. gündeki rektal palpasyonda gebe olmayanların RIT'leri 3 farklı formda görüldü (Tablo 4).

1. Yedinci ve 21. günde RIT'si 4'ün altında olanlar (7 hayvan).

2. Rozet İnhibisyon Titre'si 7. günde 4'ün üzerinde olup 21. günde 4'ün altına düşenler (12 hayvan).

3. Yedinci ve 21. günde Rozet İnhibisyon Titre'si 4'ün üzerinde olmasına rağmen 45. günde gebe olmadığı tespit edilenler (12 hayvan).

Rozet İnhibisyon Titre'lerine göre EGF değerlendirilmesi Tablo 4'de özetlenmiştir.

Tohumlama sonrası 45. günde gebe olan ineklerde, 21. gündeki ortalama progesteron değeri 5.69 ± 0.22 ng/ml iken, gebe olmayanlarda 1.66 ± 0.26 ng/ml olduğu ve aralarındaki farkın önemli olduğu görüldü ($p < 0.001$).

Yirmibirinci gündeki progesteron değerleri ile Rozet İnhibisyon Titre'leri arasında fark önemsizken ($p > 0.05$), 7. gündeki RIT ile 21. gündeki progesteron değerleri arasında farkın önemli olduğu görüldü ($p < 0.01$).

Rozet İnhibisyon Titre'leri 4'ün altında olan ve EGF değerlendirmesine göre gebe olmadığı sonucuna varılan 7 inekten 6'sında ortalama progesteron değeri 0.08 ± 0.01 ng/ml olduğu ve geriye kalan bir hayvanda ise progesteron yoğunluğunun 1.22 ng/ml olduğu görüldü.

Şekil 1-4'de, koyun eritrositleri ile boğa lenfositleri arasındaki çeşitli rozet oluşumu görüntüleri sunuldu.

Tablo 1: Yedinci ve 21. gün EGF, 21. gün P₄ ve 45. güne ait rektal muayene bulguları

İnek Sayısı	45. Gün Palpasyon Bulguları		7. Gün EGF Bulguları		21. Gün EGF Bulguları		21. Gün P ₄ Bulguları	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
60	29	31	53	7	41	19	43	17

(+): Gebe

(-): Gebe değil

Tablo 2: 45. gündeki rektal palpasyon (RP) sonuçlarına göre tohumlama sonrası 7 ve 21. gündeki EGF ve 21. gündeki P₄ ölçümlerinin gebe ve gebe olmayanları belirlemedeki doğruluk oranları

Gebelik Testleri	45. gündeki rektal palpasyon sonuçlarına göre testlerin doğruluk yüzdesi (%)	
	Gebe	Gebe Değil
7. gün EGF/ 45. gün RP	54.7	100
21. gün EGF/ 45. gün RP	70.7	100
21. gün P ₄ / 45. gün RP	67.4	100

Tablo 3: Rektal muayene sonuçlarına göre gebe ve gebe olmayan ineklerdeki 7. ve 21. güne ait Rozet İnhibisyon Titre'leri

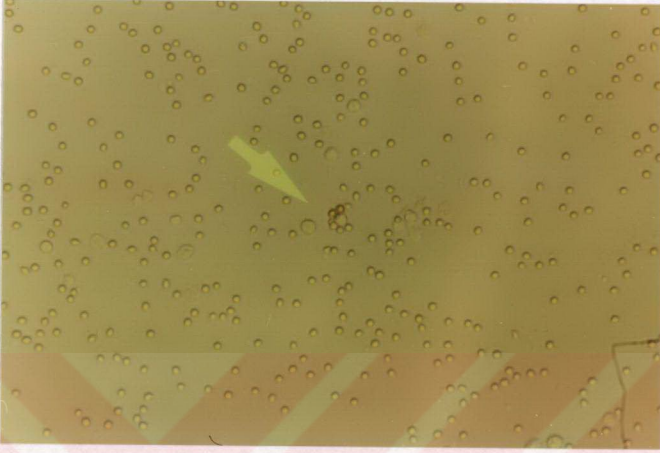
R. Palpasyon Bulguları	Hayvan Sayısı	Rozet İnhibisyon Titre'leri	
		7. Gün	21. Gün
Gebe	29	5.79 ± 0.10	5.76 ± 0.12
Gebe Değil	31	4.90 ± 0.26	3.80 ± 0.33
Fark		P<0.01	P<0.001

Tablo 4: Yedi ve 21. gündeki RIT, 21. gündeki P₄ konsantrasyonu ve 45. gün rektal palpasyon sonuçlarının değerlendirilmesi

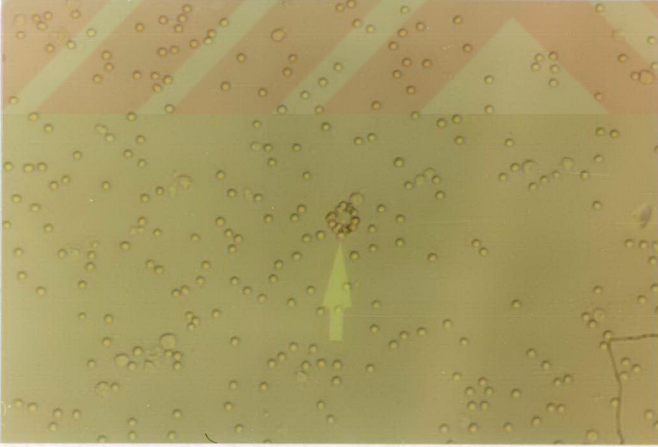
İnek Sayısı	R I T		P ₄ (ng/ml)	Rektal Palpasyon	Yorum
	7. Gün	21. Gün			
7	<4 (-)	<4 (-)	<2.3 (-)	(-)	Fertilizasyon başarısızlığı ya da 7. güne kadar şekillenen erken embriyonik ölüm ?
10	>4 (+)	<4 (-)	<2.3 (-)	(-)	Erken embriyonik ölüm ? (7-16. günlerde)
29	>4 (+)	>4 (+)	>2.3 (+)	(+)	Gebelik
2	>4 (+)	<4 (-)	>2.3 (+)	(-)	Geç embriyonik ölüm ? (16-21. günlerde)
12	>4 (+)	>4 (+)	>2.3 (+)	(-)	Geç embriyonik ölüm ? (21. günden sonra)

(+) : Gebe

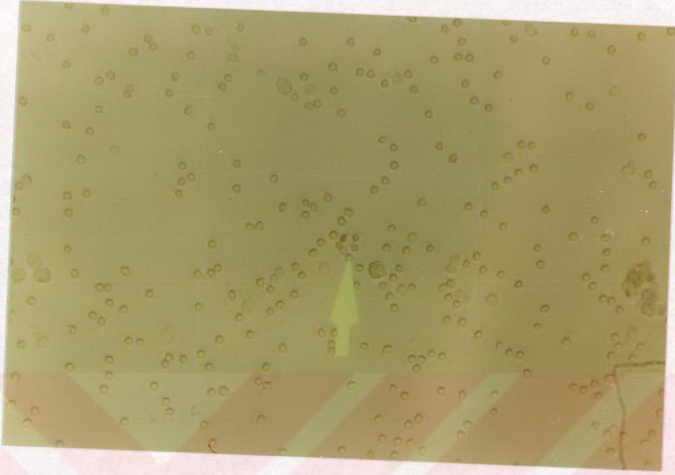
(-) : Gebe değil



Şekil 1: İnek lenfositleri ile koyun eritrositleri arasında oluşan hale şeklindeki bir E-rozetin mikrofotograf (x320) görüntüsü.



Şekil 2: İnek lenfositleri ile koyun eritrositleri arasında oluşan tam E-rozetin mikrofotograf (x320) görüntüsü.



Şekil 3: İnek lenfositini ile 5 adet koyun eritrositi arasında oluşan E-rozetin mikrofotograf (x320) görüntüsü.



Şekil 4: İnek lenfositini ile koyun eritrositleri arasında oluşan tam E-rozetin mikrofotograf (x320) görüntüsü.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tohumlama sonrası gebe kalan ve kalmayan hayvanların en erken dönemde tespiti önemlidir. İnek yetiştiriciliğinde amacın her yıl bir buzağı elde etmek olduğu göz önünde tutularak, doğum ile yeni bir gebeliğin şekillenmesi arasındaki sürenin mümkün olduğunca uzamaması için, özellikle gebe kalmayan hayvanların teşhisine imkân veren yöntemler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (3). Günümüzde erken gebelik teşhisinde kullanılan yöntemler içinde RIT ile EGF tespiti, bu konuda erken sonuç almayı sağlayan uygulamadır (150).

Yasuda ve ark. (161), sun'i tohumlamadan 15 gün sonra, ineklerden alınan serum örneklerinde, gebe hayvanlardaki Rozet İnhibisyon Titre'sini ortalama 6.6 ± 1.28 , gebe olmayanlarda ise 2.0 ± 0.94 olarak tespit etmişlerdir. Sakunju ve ark.(125) da sun'i tohumlamayı müteakip 6-9. günlerdeki ortalama Rozet İnhibisyon Titre'sini gebelerde, 6.25 ± 0.89 , gebe olmayanlarda ise 5.33 ± 2.16 ; 13-16. günlerdeki Rozet İnhibisyon Titre'lerini ise gebe ve gebe olmayanlarda sırasıyla 6.63 ± 0.92 ve 3.50 ± 1.05 olarak belirlemişler ve ineklerde 13-16. günlerdeki gebe ve gebe olmayan hayvanların Rozet İnhibisyon Titre'leri arasındaki farkın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Shimizu ve ark. (132) da sun'i tohumlamayı izleyen 15. günde, gebe ve gebe olmayan ineklerin Rozet İnhibisyon Titre'leri arasındaki farkın önemli olduğunu açıklamışlardır. İto ve ark. (58), in vitro fertilizasyon sonrası 6-7. günlerde blastosit gelişimi olanlarda, serum EGF aktivitesi oranının, olmayanlardan önemli ölçüde ($p < 0.05$) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada da tohumlama sonrası 7. günde elde edilen verilerin (gebelerde 5.79 ± 0.10 , gebe olmayanlarda 4.90 ± 0.26), yukarıda zikredilen çalışmaların bulgularıyla uyum içerisinde olduğu görüldü.

Süt ya da kanda progesteron tayininin, ineklerde erken gebelik teşhisi için kullanılabileceği, ilk olarak gösterildikten sonra, RIA ya da EIA tekniği ile progesteron tayini gebeliği teyit etmek için geniş ölçüde kullanılmaktadır. Özellikle gebe olmayan hayvanların, tohumlamayı izleyen 3. haftada, kan ve sütlerindeki

nanogram düzeyindeki progesteron hormonu ölçümleri ile yüksek oranda tanınabilmesi, RIA tekniğini tercih edilecek bir hale getirmektedir (2). Gebe hayvanlarda tohumlamadan sonraki 21. günde elde edilen progesteron değerlerine ait çalışmalarda (2, 39, 133, 139) progesteron düzeyinin 2.3 ile 14 ng/ml arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu çalışmada gebe hayvanlarda tohumlamadan sonraki 21. günde elde edilen progesteron değerleri (4.07-8.54 ng/ml), Shin ve ark.(133)'nın tespitlerinden (3-5 ng/ml) biraz daha yüksek olup, yukarıda anılan diğer çalışmalarda bildirilen değerlere yakındır.

İneklerde östrüsün belirlenmesi ve tohumlama zamanı iyi planlanmamışsa, embriyonik ölüm şekillenmişse ya da luteal kistler oluşmuşsa, gebelik teşhisi ile ilgili progesteron test sonucu yanıltıcı olabilir. Bununla birlikte gebe olmayan hayvanlarda korpus luteum, siklusun 16-18. günlerinde uterustan salgılanan PGF α etkisiyle regrese olacağından, kan progesteron seviyesi düşer. Ancak, progesteron östrüstaki hayvanlarda düşük seviyelerdedir. Bu zamanda yapılan örnekleme, tekrar östrüs gösteren inekleri ayırt etmeye imkân vereceğinden, 21. gündeki progesteron miktarının tespiti, gebeliğin tahmininden ziyade, gebe olmayanların belirlenmesinde daha çok güvenilir olmaktadır. Bazı araştırmacılar (2, 65, 74, 75, 147, 149), %87-%100 oranında bir doğrulukla, gebe olmayanları belirlemişlerdir. Bu çalışmada da gebe olmayanlar %100'lük bir doğrulukla tespit edildi.

Sakunju ve ark (125), gebe ineklerde 5'in üzerinde olan RIT'lerinin, embriyoların alınmasından 3 gün sonra 4'ün altına düştüğünü göstermişlerdir. Bu bulgu, Rozet İnhibisyon Titre'lerinin, ineklerde doğrudan doğruya embriyonun canlılığını yansıttığının göstergesidir ve oluşturulan aborttan sonra, inekte EGF aktivitesinin bulunmaması sebebiyle, embriyonik kaybın en erken belirleyicisidir. Bu çalışmada, 21. gün progesteron ölçümü sonucu, gebe olmayan hayvanların %41.2'sinin, 7. gün EGF aktivitelerinin 4'ün altında olduğu görüldü. Bu, daha ziyade fertilizasyonun şekillenmemesi ya da erken embriyonik ölüm şekillendiği şüphesini uyandırmaktadır. Yirmibirinci gün

progesteron ölçümü sonucuna göre gebe olmayan hayvanların %58.8'inde ise, 7. gündeki EGF aktivitesine ait titre 4'ün üzerinde iken, 21. günde 4'ün altına düştü. Bu, embriyonun gelişmemesini yansıtır ve EGF üretimiyle, erken embriyonik ölümlerin ilişkili olduğunu göstermektedir.

Birkısım araştırmacılar (34, 138, 156), tabii ya da sun'i tohumlamadan sonra fertilizasyon oranını %85-95 olarak bildirirlerken, tohumlama sonrası 42. günde gebelik oranının sadece %50-60 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da 7. gündeki EGF aktivitesine ait RIT'i fertilizasyon olarak değerlendirildiğinde, %88.3 oranında bir fertilizasyonun şekillendiğinin tespit edilmesi, bu bulguları doğrulamaktadır.

Barth ve Horsch (11), embriyonik ölümlerin %10'dan %65'e kadar çıkabileceğini, Diskin ve Sreenan (34) ise embriyonik ölümlerin %30'dan fazla olduğunu bildirmektedirler. Yapılan bu çalışmada da tohumlamayı izleyen 45. gündeki embriyo kayıpları %45.3 bulundu. Ancak, 7. gündeki RIT bulgularının fertilizasyon olarak değerlendirilmesi dolayısıyla bu oranın, gerçek embriyonik ölüm oranından biraz daha düşük olması muhtemeldir.

Sonuç olarak, tüm kantitatif yöntemler gibi, laboratuvar donanımına gerek duyulması, saha şartlarında uygulanmasının güçlüğü, olumsuz bir yön olmakla birlikte, ineklerde tohumlama sonrası EGF aktivitesinin ölçülmesi, fertilizasyon başarısızlığını ve erken embriyonik kayıpların ortaya konmasında değerli bir yöntem olarak kullanılabilir. Tohumlamayı izleyen 7. günde RIT kullanılarak, EGF teşhisi yardımıyla, özellikle gebe olmayan ineklerin kısa sürede belirlenip yeniden tohumlanmaları mümkün olabilir.

Kısaca, tohumlamadan sonraki 7. günde gebe ve gebe olmayan inekler arasında, Rozet İnhibisyon Titre'leri arasında önemli bir fark olduğundan ($p < 0.01$), EGF aktivitesine bakılarak gebeliğin, diğer metotlara göre, daha erken dönemde teşhisinin yapılabileceği kanaatine varıldı.

ÖZET

Bu çalışmada, ineklerde tohumlama sonrası kan serumunda, 7. ve 21. gündeki Erken Gebelik Faktörü (EGF) ile 21. gündeki progesteron ve 45. gündeki rektal muayene bulguları değerlendirilerek, elde edilecek gebelik oranları arasındaki ilişkinin ve erken gebelik teşhisinde, EGF bulgularının kullanılıp kullanılmayacağı araştırılması amaçlandı.

Altmış İsviçre Esmeri inek materyal olarak kullanıldı. Tohumlamayı izleyen 7. ve 21. günlerde EGF aktivitesi, 21. günde progesteron ölçümü için kan örnekleri alındı ve kan serumu EGF aktivitesi Rozet İnhibisyon Testi (RIT) ile, kan serumu progesteron düzeyi ise radioimmunoassay (RIA) metoduyla belirlendi. RIT'nde, Rozet İnhibisyon Titre'si 4'ün üzerinde olanlar gebe, 4 ve 4'ün altında olanlar ise gebe değil olarak değerlendirildi. Progesteron düzeyleri 2.30 ng/ml'den yüksek olanlar gebe, düşük olanlar gebe değil şeklinde kabul edildi.

RIT ve progesteron sonuçları, tohumlamayı izleyen 45. gündeki rektal muayene bulgularıyla karşılaştırıldı.

Rektal muayene sonuçları esas alınarak yapılan değerlendirmede, 7. ve 21. gün EGF, 21. gün progesteron ölçümlerine göre elde edilen sonuçların doğruluk oranları sırasıyla; gebelerde %54.7, %70.7 ve %67.4, gebe olmayanlarda ise her üç erken gebelik teşhis metodunda da %100 olarak bulundu. Erken embriyonik ölümler, EGF ve progesteron ölçümleri sonuçlarına dayanan, erken gebelik teşhis sonuçlarını önemli ölçüde etkiledi. Fertilizasyon oranı %88.3 (53) iken, bunun %45.3'ünde (24) embriyonik ölüm şekillendiği görüldü.

Sonuç olarak, EGF aktivitesinin ölçülmesinin erken gebelik teşhisi ve gebeliğin devam edip etmediğinin kontrolü amacıyla kullanılabileceği, RIT ve progesteron ölçümlerine dayanan erken gebelik teşhisi metodlarının, gebe olanlardan ziyade, gebe olmayanları ortaya koymada daha güvenilir olduğu kanaatine varıldı.

SUMMARY

Early Pregnancy Diagnosis by Early Pregnancy
Factor (EPF) in the Cows

The aim of this study was to investigate a possible relationship between the serum activity of early pregnancy factor (EPF) on the days 7 and 21 and the blood serum levels of progesterone on the day 21 following insemination and day 45 rectal examination findings in cows. Possible use of EPF parameter in early diagnosis of pregnancy was also sought.

Sixty Brown Swiss cows were used in this study. Blood samples were collected on the days 7 and 21 for EPF activity and on the day 21 for progesterone analysis. Serum EPF and progesterone levels were determined by Rosette Inhibition Test (RIT) and radioimmunoassay, respectively. In the RIT analysis, findings above 4 were accepted as pregnant and those equal or below 4 as non-pregnant. The cows with serum progesterone levels above 2.30 ng/ml were evaluated as pregnant.

RIT and serum progesterone levels were compared with the rectal examination findings on the day 45 following insemination.

Based on the rectal examination findings, accuracy of day 7 and 21 EPF and day 21 progesterone results were as follows: 54.7%, 70.7% and 67.4%, respectively, in the pregnant cows. All three parameters proved to be 100% accurate in the non-pregnant animals. Early embryonic deaths significantly affected the diagnosis of early pregnancy results based on the serum EPF and progesterone parameters. Although fertilisation rate was 88.3% of the cows embryonic deaths occurred in 45.3% of the fertilized cows.

In conclusion, these findings suggest that determination of EPF activity may be used for diagnosis of early pregnancy and for monitoring continuation of pregnancy. RIT and progesterone analysis methods may be more reliably used for determination of the non-pregnant cows than the pregnant ones.

KAYNAKLAR

1. Alaçam, E. (1997). Gebelik Tanısı, 93-101., Ed E. Alaçam, in " Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", Medisan yayınevi, Ankara.
2. Alaçam, E., Tekeli, T. ve Sezer, A.N. (1987). İneklerde Erken Gebelik Tanısı Amacıyla Kan ve Sütte Progesteron Hormonu Düzeylerinin Araştırılması. S.Ü. Vet. Fak. Derg., 3 (1) 13-23.
3. Alaçam, E., Tekeli, T. ve Türkarslan, T. (1987). İneklerde Erken Gebeliğin Enzim İmmunoassay Kiti ile Pratik Tanısı. L.H.A.E.D., 27 (1-4) 12-18.
4. Alan, M. (1990). İneklerde İmmunolojik Yöntemlerle Gebelik Tanısı. TİGEM, 5 (30) 22-25.
5. Antal, T., Faluhelyi, S., Szabo, I., Janaky, T., Toth, I., Faredin, I. and Laszlo, F. (1987). Monitoring the Reproduction of Cows by Direct Radioimmunoassay of Progesterone in Serum and Milk. Acta Vet. Hung., 35 (4) 383-390.
6. Athanasas-Platsis, S., Morton, H., Dunglison, G.F. and Kaye, P.L. (1991). Antibodies to Early Pregnancy Factor Retard Embryonic Development in Mice In Vitro. J. Reprod. Fert., 92, 443-451.
7. Athanasas-Platsis, S., Quinn, K.A., Wang, T.Y., Rolfe, B.E., Cavanagh, A.C. and Morton, H. (1989). Passive Immunization of Pregnant Mice Against Early Pregnancy Factor Causes Loss of Embryonic Viability. J. Reprod. Fert., 87, 495-502.
8. Ball, P.J.H. (1978). The Relationship of Age and Stage of Gestation to The Incidence of Embryo Death in Dairy Cattle. Res. Vet. Sci., 25 (1) 120-122.

9. Ball, P.J.H. and Paters, A.R. (1987). Reproduction in Cattle. 100-106., Robert Hartnoll Ltd. Bodmin, Cornwall.
10. Bamberg, E., Choi, H.S. and Mostl, E. (1986). Ostrogenbestimmung im Kot zur Trachtigkeitsdiagnose bei Pferd, Rind, Schwein, Schaf und Ziege. Tierärztl. Umschau., 6, 406-408.
11. Barth, T. and Horsch, F. (1983). Occurrence, Diagnosis and Avoidance of Embryonic and Fetal Losses in Cattle. Vet. Bull., 53 (3) 304-305.
12. Beal, W.E., Lukaszewska, J.H. and Hansel, W. (1981). Luteotropic Effects of Bovine Blastocysts. J. Anim. Sci., 52, 567-575.
13. Beas, F., Boric, M.A., Iniguez, G., Ferrando, G., Munoz, B. and Maragano, M. (1991) A New Bovine Placental Protein: A Possible Early Pregnancy Marker. Archivos de Zootecnia, 40 (147) 197-200.
14. Beghelli, V., Boiti, C., Parmigiani, E. and Barbacini, S. (1986). Pregnancy Diagnosis and Embryonic Mortality in the Cow. 159-167, in "Embryonic Mortality in Farm Animals", Ed. J.M. Sreenan and M.G. Diskin, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands.
15. Belluzzi, S. et Leopold, A. (1985). Livelli Plasmatici di Progesterone dal 20 al 24 Giorno Dopo la Fecondazione e Gravidanza Nella Bovina. Atti della Societa Italiana di Buoiatria, 17, 431-436.
16. Berger, G. (1990). Hinweise zur Ermittlung der Häufigkeit der Embryonalen Mortalität Mittels Progesteronbestimmung. (Kurzmitteilung). Monatshefte für Veterinarmedizin, 45 (21) 761-762.
17. Bose, R., Cheng, H., Sabbadini, E., McCoshen, J., Mahadevan, M.M. and Fleetham, J. (1989). Purified Human Early Pregnancy Factor from Preimplantation Embryo Possesses

Immunosuppressive Properties. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 160, 954-960.

18. Busch, W., Bamberg, E., Jahn, H.G., Maass, P. und Neums, D. (1990). Untersuchung zur diagnostischen Aussagekraft der Trachtigkeitsdiagnose mittels Östrogenbestimmung in Kot und Milch bei Rindern sowie Kot und Blut bei Schweinen. *Monatshefte-fur-Veterinarmedizin*, 45 (12) 434-438.

19. Carriere, P.D. and Lee, B. (1994). Direct Radioimmunoassay of Progesterone in Bovine Plasma Using Danazol (17-Alpha-2,4-Pregnandien 20-yno(2,3-d)isoxazol-17-ol) as a Displacing Agent. *Can. J. Vet. Res.*, 58 (3) 230-233.

20. Cavanagh, A.C. (1984) Production In Vitro of Mouse Early Pregnancy Factor and Purification to Homogeneity. *J. Reprod. Fert.*, 71, 581-592.

21. Cavanagh, A.C. (1996). Identification of Early Pregnancy Factor as Chaperonin 10: Implications for Understanding its Role. *Rev. Reprod.*, 1 (1) 28-32.

22. Cavanagh, A.C. and Morton, H. (1994). The Purification of Early Pregnancy Factor to Homogeneity from Human Platelets and Identification as Chaperonin 10. *Eur. J. Biochem.*, 222 (2) 551-560.

23. Cavanagh, A.C., Morton, H., Athanasas-Platsis, S., Quinn, K.A. and Rolfe, B.E. (1991). Identification of a Putative Inhibitor of Early Pregnancy Factor in Mice. *J. Reprod. Fert.*, 91, 239-248.

24. Cavanagh, A.C., Morton, H., Rolfe, B.E. and Gidley-Baird, A.A. (1982). Ovum Factor: a First Signal of Pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2 (2) 97-101.

25. Cavanagh, A.C., Rolfe, B.E., athanasas-Platsis, S., Quinn, K.A. and Morton, H. (1991). Relationship between

Early Pregnancy Factor, Mouse Embryo-Conditioned Medium and Platelet-Activating Factor. *J. Reprod. Fert.*, 93, 355-365.

26. Choi, H.S., Rittmannsperger, F., Mayer, P. und Bamberg, E. (1976). Fruhtrachtigkeitsdiagnose beim Rind mit Hilfe der Plasmaprogesteronbestimmung. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 63 (1) 14-17.

27. Christensen, D.S., Hopwood, M.L. and Wiltbank, N.J. (1974). Levels of Hormones in the Serum of Cycling Beef Cows. *J. Anim. Sci.*, 38 (3) 577-583.

28. Clark, I.Q., Orozco, C., Cock, I.E. and Clarke F.M. (1994). The 'Early Pregnancy Factor' Revisited: the Effect of Ammonium Sulfate on the Capacity of Pregnant Mouse Sera at Express Activity in the Rosette Inhibition Assay. *J. Reprod. Fert.*, 100, 297-289.

29. Clarke, F.M. (1992). Identification of Molecules and Mechanisms Involved in the 'Early Pregnancy Factor' System. *Reprod. Fertil. Dev.*, 4, 423-433.

30. Clarke, F.M., Morton, H. and Clune, G.J.A. (1978). Detection and Separation of Two Serum Factors Responsible for Depression of Lymphocyte activity in Pregnancy. *Clin. Exp. Immun.*, 32, 318-323.

31. Clarke, F.M., Morton, H., Rolfe, B.E. and Clunie, G.J.A. (1980). Partial Characterisation of Early Pregnancy Factor in the Sheep. *J. Reprod. Immunol.*, 2 (3) 151-162.

32. Clarke, F.M., Orozco, C., Perkins, A.V., Cock, I., Tonissen, K.F., Robins, A.J. and Wells, J.R.E. (1991). Identification of Molecules Involved in the 'Early Pregnancy Factor' Phenomenon. *J. Reprod. Fert.*, 93, 525-539.

33. Clarke, F.M., Wilson, S., McCarthy, R., Perkins, A. and Orozco, C. (1987). Early Pregnancy Factor: Large-Scale Isolation of RIT-Active Polypeptides from Ovine Placental Extracts. *J. Reprod. Immunol.*, 10 (2) 133-156.

34. Diskin, M.G. and Sreenan, J.M. (1980). Fertilization and Embryonic Mortality Rates in Beef Heifers after Artificial Insemination. *J. Reprod. Fert.*, 59 (2) 463-468.
35. Dobeli, M. and Zerobin, K. (1983). Pregnancy Diagnosis in the Cow, Sheep, Goat, Sow and Mare by Progesterone Measurements in Blood, Milk and Saliva. [Abstract] Zurich, Switzerland. Proceedings of the Third International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, June 13-15, 1983, 127-128.
36. Drost, M., Franco, O.J. Shille, V.M., Thatcher, M.J. and Thatcher, W.W. (1982). The Effect of Pregnancy Diagnosis per Rectum on Early Embryonic Death in the Cow. Proceedings. XIIth World Congress on Diseases of Cattle, the Netherlands, Volume I. 623-627.
37. Durdevic, D., Vukovic, D., Vaic, D. and Gvozdic, D. (1990). Comparative Studies on Oestrus and Early Pregnancy in Cows by Determining the Progesterone Content of Milk and Serum by RIA and EIA Methods. *Veterinarski Glasnik*, 44 (2) 157-164.
38. Elmore, R.G. (1988). Pregnancy Diagnosis and Parturition. 65-80., in: "Fertility and Infertility in Veterinary Practice", Ed. by J.A. Laing, W.J. Bringley Morgan, W.C. Wagner, 4th ed., Great Britain at the University Press, Oxford.
39. Eraldo, S., Bono, G. et Fanti, C. D. (1973). Possibilita' di Diagnosi di Gravidanza Nella Bovina Mediante la Valutazione del Tasso Plasmatico del Progesterone al 19 deg -22 deg Giorno Dalla Fecondazione. *Atti della Societa Italiana di Buiatria*, 5, 500-510.
40. Fan, X.G. and Zheng, Z.Q. (1997). A Study of Early Pregnancy Factor Activity in Preimplantation. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 37 (5) 359-364.

41. Feldman, D. and Gagon, J. (1985). StatViewTM, BrainPower, Inc., Calabasas, C.A.
42. French, L.R. and Northey, D.L. (1983). Inhibitory Effect of the Bovine Conceptus on Lymphocyte Stimulation. *J. Anim. Sci.*, 57 (2) 456-465.
43. Gao, Y., Short, R.V. and Fletcher, T.P. (1988). Progesterone Concentrations in Plasma, Saliva and Milk of Cows in Different Reproductive States. *Br. Vet. J.*, 144 (3) 262-268.
44. Godkin, J.D., Lifsey, B.J. and Gillespie, B.E. (1988). Characterization of Bovine Conceptus Proteins Produced During the Peri- and Postattachment Periods of Early Pregnancy. *Biol. Reprod.*, 38, 703-711.
45. Gowman, E.W., Etches, R.J., Bryden, C. and King, G.J. (1982). Factor Affecting Accuracy of Pregnancy Diagnosis in Cattle. *J. Dairy Sci.*, 65, 1294-1302.
46. Hanzen, C. et Laurent, Y. (1991). Application de L'echographie Bidimensionnelle au Diagnostic de Gestation et a L'evaluation de L'incidence de la Mortalite Embryonnaire Dans L'espece. *Ann. Méd. Vét.*, 135 (7) 481-487.
47. Hasler, J.F., Bowen, R.A., Nelson, L.D. and Seidel, J.R. (1980). Serum Progesterone Concentrations in Cows Receiving Embryo Transfers. *J. Reprod. Fert.*, 58, 71-77.
48. Hedge, U.C. (1991). Immunomodulation of the Mother during Pregnancy. *Med. Hypotheses.*, 35 (2) 159-164.
49. Henderson, K.M., Camberis, M. and MacMillan, K.L. (1995). Evaluation of 'CONFIRM' as a Method to Verify Pregnancy in Dairy Cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 55, 91-93.
50. Henderson, K.M., Camberis, M., Simmons, M.H., Starrs, W.J. and Hardie, A.H.M. (1994). Application of Enzyme Immunoassay to Measure Oestrone Sulphate Concentrations in

Cows' Milk During Pregnancy. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 50 (3-4) 189-196.

51. Henderson, K.M., Karanikolas, M., Kenealy, L. and Macmillan, K.L. (1994). Concentrations of Oestrone Sulphate during Pregnancy in Milk from Jersey and Friesian Dairy Cows Differing in Milk Yields and Composition. *New Zealand Veterinary Journal*, 42 (3) 89-92.

52. Holness, D.H., Ellison, J.A., Sprowson, G.W., Carvalho, A. de and De Carvalho, A. (1977). Aspects of Fertility in Friesland Dairy Cows with Particular Reference to the Concentration of Progesterone in Peripheral Plasma. *Rhodesian Journal of Agricultural Research*, 15 (2) 109-117.

53. Hubel, V., Straube, W., Loh, M., Wodrig, W., Weber, A. and Klima, F. (1989). Human Early Pregnancy Factor and Early Pregnancy Associated Protein before and after Therapeutic Abortion in Comparison with Beta-hCG, Estradiol. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 94 (1-2) 171-176.

54. Humblot, P., Camus, S., Martal, J., Charlery, J., Jeanguyot, M., Thibier, M. and Sasser, R.G. (1988). Pregnancy Specific Protein B, Progesterone Concentrations and Embryonic Mortality during Early Pregnancy in Dairy Cows. *J. Reprod. Fert.*, 83, 215-223.

55. Hunter, R.H.F. (1989). Differential Transport of Fertilised and Unfertilised Eggs in Equine Fallopian Tubes: a Straight Forward Explanation. *Vet. Rec.*, 125, 11, 304.

56. Hussain, P.M. and Khan, C.K.A. (1979). Exfoliative Cytology and Biopsy of Vagina in Pregnant Cows. *Kerala Journal of Veterinary Science*, 10 (2) 230-233.

57. Igarashi, S. (1986). Clinical Significance of Early Pregnancy Factor. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, 38 (6) 896-902.

58. Ito, K., Takahashi, M., Kawahata, K., Goto, T., Takahashi, J. and Yasuda, Y. (1998). Supplementation Effect of Early Pregnancy Factor-Positive Serum into Bovine *In Vitro* Fertilization Culture Medium. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 39, (6) 356-361.
59. Jainudeen M.R. and Hafez, E.S.E. (1993). Pregnancy Diagnosis, 446-459, Ed. by E.S.E. Hafez, in: "Reproduction in Farm Animals" 6th ed., Lea and Febiger, Philadelphia.
60. Karagiannidis, A.K. (1990). Factors Affecting the Accuracy of Early Pregnancy Diagnosis in Cattle by RIA of Progesterone in Milk. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 41 (2) 84-99.
61. Kastelik, J.P., Northey, D.L. and Ginther, O.J. (1991). Spontaneous Embryonic Death on Days 20 to 40 in Heifers. *Theriogenology*, 35 (2) 351-363.
62. Kavani, F.S., Dwarkanath, P.K. and Vyas, K.K. (1983). Early Pregnancy Diagnosis in Cattle. *Indian J. Anim. Reprod.*, 4 (1) 70-72.
63. Kaygusuzoğlu, E. (1997) İneklerde Tohumlama Sırasında Uygulanan GnRH'nin Gebelik Oranları ve Kan Progesteron Seviyesi Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
64. Kharche, K.G. and Nair, S. (1988). Present Status of Early Pregnancy Diagnosis in Bovine., *Livestock Adviser*, 13 (5) 21-25.
65. Kishimoto, Y., Kato, H. and Mitani, M. (1987). Enzyme Immunoassays of Progesterone in Bovine Plasma and Skim Milk and its Application to Early Pregnancy Diagnosis. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 40 (3) 161-164.

66. Klima, F., Katzwinkel, S., Tiemann, U., Mehlis, B., Kauffold, P. und Pitra, Ch. (1990). Untersuchungen zum Frühträchtigkeitsfactor beim Rind. *Fertilität*, 6, 61-65.

67. Klima, F., Schadow, D., Frölich, K., Lengwinant, Th., Baugatz, C., Pielowski, Z., Seidel, B. und Göltenboth, R. (1994). Nachweis eines Bovinen Trächtigkeitproteins bei Cerviden und dessen Eignung zur Charakterisierung phylogenetischer Verwandtschaftsbeziehungen. *Verh. ber. Erkr. Zootiere*, 36, 67-72.

68. Klima, F., Schadow, D., Schröder, H.D. and Pitra, Ch. (1993). Detection of Bovine Early Pregnancy Factor (EPF) Active Polypeptide in Different Species of Mammals. *EOS-J. Immunol. Immunopharmacol*, 8 (3-4) 189-192.

69. Klima, F., Tiemann, U., Pitra, C.H. and Kauffold, P. (1987). Serological Detection of Early Pregnancy in Cattle and Partial Characterization of a Serum Glycoprotein Associated with Early Pregnancy. *J. Reprod. Immunol.*, 11, 31-39.

70. Klima, F., Tiemann, U., Schadow, D., Fasinski, M., Savoly, S.B., Loose, R. and Pitra, C. (1992). Bovine Early Pregnancy Factor (EPF) Activity Dependent on a 67-kDa Polypeptide. *J. Reprod. Immunol.*, 21, 57-70.

71. Koch, E. (1986). Early Pregnancy Factor: its Significance as an Indicator of Fertilization and Embryonic Viability. 74-92, in "Embryonic Mortality in Farm Animals", Ed. J.M. Sreenan and M.G. Diskin, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands.

72. Koch, E. and Ellendorf, F. (1985). Prospects and Limitations of the Rosette Inhibition Test to Detect Activity of Early Pregnancy Factor in the Pig. *J. Reprod. Fert.*, 74, 29-38.

73. Koch, E., Morton, H. and Ellendorff, F. (1983). Early Pregnancy Factor: Biology and Practical Application. *Br. Vet. J.*, 139 (1) 52-58.

74. Kovacevic, R., Krsmanovic, L., Maric, D., Perkucin, R., Veselinovic, S. and Mandic, L. (1985). Use of a Progesterone Test in Early Pregnancy Diagnosis-Analysis of the Incidence of False Positive Results. *Acta Veterinaria*. 35 (5-6) 267-272.
75. Laing, J.A., Eastman, S.A.K. and Boutflower, J.C. (1979). The Use of Progesterone Concentrations in Milk and Plasma for Pregnancy Diagnosis in Cattle. *Br. Vet. J.*, 135 (2) 204-209.
76. Lamprecht, M., Gregory, R.M. and Mattos-R.C. (1995). Diagnostico Ultra-Sonografico de Gestacao em Bovinos., *Arquivos da Faculdade de Veterinaria. UFRGS*, 23, 53-61.
77. Langley, O.H., Power, M.J., Diskin, M.G. and Sreenan, J.M. (1987). Measurement of Progesterone in Whole Blood Using a Rapid ELISA Test. *Ir. Vet. J.*, 41 (7-8) 311-313.
78. Larter, N.C., Rajamahendran, R. et Sivakumaran, K. (1994). Immunoreactive Faecal Progestins as Indicators of Reproductive Status. *Vet. Rec.*, 134 (18) 474-475.
79. Lash, G.E. and Legge, M. (1997). Induction of Early Pregnancy Factor Activity in Vitro by Platelet-Activating Factor in Mice. *J. Reprod. Fertil.*, 109 (2) 187-191.
80. Lash, G.E., Legge, M. and Fisher, M. (1997). Synthesis of Early Pregnancy Factor Using Red Deer (*Cervus Elaphus*) as a Delayed Implantation Model. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 14 (1) 39-43.
81. Leipe, S., Straube, W. and Droese, B. (1988). Pregnancy Determination by the Detection of Early Pregnancy Associated Protein. *Zentralbl Gynakol.*, 110 (17) 1059-1064.
82. Leopold, A. et Seren, E. (1975). Indagine Sull'incidenza Della Mortalita Embrionale Nella Bovina di Razza Frisona. *Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie*, 29, 354-361.

83. Liu, X.Y., Chen, F.J., Guo,D.Z., Song, X,H. and Zhang,Y.G. (1988). Early Pregnancy Diagnosis in Dairy Cows Based on Hair Progesterone Analysis. *International J. Anim. Sci.*, 3 (2) 123-127.
84. Lukaszewska, J. and Hansel, W. (1980). Corpus Luteum Maintenance During Early Pregnancy in the Cow. *J. Reprod. Fert.*, 59, 485-493.
85. Madureira, E.H., Barnabe, R.C., Pinto,P.A., Barnabe,V.H. and Martins Sobrinho E.O. (1990). Progesterone Concentrations Measured by Radioimmunoassay in Blood Plasma and In Fat-Free Milk of Gir Breed Cows (*Bos Indicus*). Determinations during Oestrous Cycle. Early Pregnancy Diagnosis. *Brazilian J. of Vet. Res. and Anim. Sci.*, 27 (2) 247-253.
86. Maurer, R.R. and Chenault, J.R. (1983). Fertilization Failure and Embryonic Mortality in Parous and Nonparous Beef Cattle. *J. Anim. Sci.*, 56 (5) 1186-1189.
87. Mee, J.F., Ryan, D.P. and Condon, T. (1994). Ultrasound Diagnosis of Pregnancy in Cattle. *Vet. Rec.*, 134 (20) 532.
88. Mehta, A.R., Eassaly, T.E. and Aggarwal, B.B. (1989). Purification and Characterization of Early Pregnancy Factor from Human Pregnancy Serum. *J. Biol. Chem.*, 264, 2266-2271.
89. Mesroglu, M. and Dieterle, S. (1993). Embryonic Losses after In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 72 (1) 36-38.
90. Mesroglu, M., Maas, D.H. and Schneider, J. (1988). Early Abortion Rate in Sterility Patients: Early Pregnancy Factor as a Parameter. *Zentralbl. Gynakol.*, 110 (9) 555-561.
91. Mesroglu, M., Schneider, J. and Maas, D.H. (1988). Early Pregnancy Factor as a Marker for the Earliest

Stages of Pregnancy in Infertile Women. *Hum. Reprod.*, 3 (1) 113-115.

92. Mialon, M.M., Renand, G., Camous, S., Martal, J. and Menissier, F. (1994). Detection of Pregnancy by Radjoimmunoassay of a Pregnancy Serum Protein (PSP60) in Cattle. *Reproduction, Nutrition, Development*, 34 (1) 65-72.

93. Morton, H., Cavanagh, A.C. Athanasas-Platsis, S., Quinn, K.A. and Rolfe, B.E. (1992). Early Pregnancy Factor has Immunosuppressive and Growth Factor Properties. *Reprod. Fertil. Dev.*, 4, 411-422.

94. Morton, H., Clunie, G.J.A. and Shaw, F.D. (1979). A Test for Early Pregnancy in Sheep. *Res. Vet. Sci.*, 26 (2) 261-262.

95. Morton, H., Morton, D.J. and Ellendorff, F. (1983). The Appearance and Characteristics of Early Pregnancy Factor in the Pig. *J. Reprod. Fert.*, 68, 437-446.

96. Morton, H., Nancarrow, C.D., Scoramuzzi, R.J., Evison, B.M. and Clunie, G.J.A. (1979). Detection of Early Pregnancy in Sheep by The Rosette Inhibition Test, *J.Reprod. Fert.*, 56, 75-80.

97. Morton, H., Rolfe, B., Clunie, G.J. (1977). An Early Pregnancy Factor Detected in Human Serum by the Rosette Inhibition Test. *Lancet*, 1, 394-397.

98. Nahhas, F. and Barnea, E. (1990). Human Embryonic Origin Early Pregnancy Factor before and after Implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 22 (3-4) 105-108.

99. Naivar, K.A., Ward, S.K., Austin, K.J., Moore, D.W. and Hansen, T.R. (1995). Secretion of Bovine Uterine Proteins in Response to Type 1 Interferons. *Biol. Reprod.*, 52 (4) 848-854.

100. Nancarrow, C.D., Evison, B.M., Scaramuzzi, R.J. and Turnbull, K.E. (1979). Detection of Induced Death of Embryos in Sheep by the Rosette Inhibition Test. *J. Reprod. Fert.*, 57 (2) 385-389.
101. Nebel, R.L., Whittier, W.D., Cassell, B.G. and Britt, J.H. (1982). Comparison of on-Farm and Laboratory Milk Progesterone Assays for Identifying Errors in Detection of Estrus and Diagnosis of Pregnancy. *J. Dairy Sci.*, 70, 1471-1476.
102. Newman, M.J. and Hines, H.C. (1980). Stimulation of Maternal Anti-Lymphocyte Antibodies by First Gestation Bovine Fetuses. *J. Reprod. Fert.*, 60, 237-241.
103. Noakes, D.E. (1996). Pregnancy and its Diagnosis, p 63-109., Ed. G.H. Arthur, D.E. Noakes, H. Pearson, T.J. Parkinson, in "Veterinary Reproduction and Obstetrics" Seventh Edition, W.B. Saunders Company Limited, London, England.
104. O'neil, C. (1985). Examination of the Causes of Early Pregnancy-Associated Thrombocytopenia in Mice. *J. Reprod. Fert.*, 73, 567-577.
105. O'neil, C. (1985). Thrombocytopenia is an Initial Maternal Response to Fertilization in Mice. *J. Reprod. Fert.*, 73, 559-566.
106. Orozco, C., Clark, I.Q., Cock, I.E. and Clarke, F.M. (1994). A Description of the Basic System of Components in Pregnant Mice Sera Responsible for 'Early Pregnancy Factor' Activity. *J. Reprod. Fert.*, 100, 291-297.
107. Orozco, C., Cock, I., Perkins, A.V. and Clarke, F.M. (1990). Platelet-Activating Factor and Serum Components from Oestrous Mice Co-Operate to Mimic the Activity of 'Early Pregnancy Factor' in the Rosete Inhibition Assay. *J. Reprod. Fert.*, 88, 447-454.
108. Orozco, C., Perkins, T. and Clarke, F.M. (1986). Platelet - Activating Factor Induces the Expression of Early

Pregnancy Factor Activity in Female Mice. *J. Reprod. Fert.*, 78 (2) 549-555.

109. Öcal, H. (1991) İneklerde İntrauterin İlaç Uygulamasının Ovaryum Faaliyetleri ve Uterus Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

110. Paisley L.G., Mickelsen, W.D. and Frost, O.L. (1978). A Survey of the Incidence of Prenatal Mortality in Cattle Following Pregnancy Diagnosis by Rectal Palpation. *Theriogenology*, 9 (6) 481-491.

111. Pennington, J.A., Schultz, L.H. and Hoffman, W.F. (1985). Comparison of Pregnancy Diagnosis by Milk Progesterone on Day 21 and Day 24 Postbreeding: Field Study in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 68 (10) 2740-2745.

112. Pope, G.S. Majzlik, I., Ball, P.J.H. and Leaver, J.D. (1976). Use of Progesterone Concentrations in Plasma and Milk in the Diagnosis of Pregnancy in Domestic Cattle. *Br. Vet. J.*, 132, 497-506.

113. Quinn, K., Athanasas-Platsis, S., Wong, T.Y., Rolfe, B.E., Cavanagh, A.C. and Morton, H. (1990). Monoclonal Antibodies to Early Pregnancy Factor Perturb Tumour Cell Growth. *Clin. Exp. Immunol.*, 80 (1) 100-108.

114. Quinn, K.A., Cavanagh, A.C., Hillyard, N.C., McKay, D.A. and Morton, H. (1994). Early Pregnancy Factor in Liver Regeneration after Partial Hepatectomy in Rats: Relationship with Chaperonin 10. *Hepatology*, 20 (5) 1294-1302.

115. Quinn, Z.H. and Zheng, Z.Q. (1987). Detection of Early Pregnancy Factor in Human Sera. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 13 (1) 15-18.

116. Rajamahendran, R. Burton, B. and Shelford, J. (1993). A Field Study on the Usefulness of Milk Progesterone Determination to Confirm Estrus and Pregnancy of Dairy Cows in

the Fraser Valley Area of British Columbia. *Can. Vet. J.*, 34 (6) 349-352.

117. Roberts, S.J. (1971). *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases, (Theriogenology)*, Second edition, Ithaca, New York.

118. Roche, J.F., Ireland, J.J., Boland, M.P. and McGeady, T.M. (1985). Concentrations of Luteinising Hormone and Progesterone in Pregnant and Non-pregnant Heifer. *Vet. Rec.*, 116, 153-155.

119. Rolfe, B., Quinn, K., Athanasas, S., Cavanagh, A. and Morton, H. (1989). Genetically-Restricted Effector Molecules Released by Human Lymphocytes in Response to Early Pregnancy Factor. *Immunol. Cell. Biol.*, 67 (3) 205-208.

120. Rolfe, B.A., Athanasas-Platsis, S., Hoskin, M.J., Morton, H. and Cavanagh, A.C. (1995). Purification and Partial Characterization of an Early Pregnancy Factor-Induced Suppressor Factor (EPS-S1). *Am. J. Reprod. Immunol.*, 33 (6) 485-494.

121. Rolfe, B.E. (1982). Detection of Fetal Wasage. *Fert. Steril.*, 37, 655-660.

122. Rolfe, B.E., Cavanagh, A.C., Quinn, K.A. and Morton, H. (1988). Identification of Two Suppressor Factors Induced by Early Pregnancy Factor. *Clin. Exp. Immunol.*, 73 (2) 219-225.

123. Romagnolo, D. and Nebel, R.L. (1993). The Accuracy of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Latex Agglutination Progesterone Test for the Validation of Estrus and Early Pregnancy Diagnosis in Dairy Cattle. *Theriogenology*, 39 (5) 1121-1128.

124. Ruiz, F.J., Oltenacu, P.A. and Smith, R.D. (1989). Evaluation of on-Farm Milk Progesterone Tests to Determine

Nonpregnant Cows and to Prevent Insemination Errors. *J. Dairy Sci.*, 72 (10) 2718-2727.

125. Sakonju, I., Enonoto, S., Kamimura, S. and Hamana, K. (1993). Monitoring Bovine Viability with Early Pregnancy Factor. *J. Vet. Med. Sci.*, 55 (2) 271-274.

126. Sauer, M.J., Foulkes, A., Worsfold, A. and morris, B.A. (1986). Use of Progesterone 11-Glucuronide-Alkaline Phosphatase Conjugate in a Sensitive Mikrotitre-Plate Enzymeimmunoassay of Progesterone in Milk and Its Application to Pregnancy Testing in Dairy Cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 76, 375-391.

127. Saunders, R.W. (1977). Field Evidence of Embryonic Loss. *Biochemical Society Transactions*, 5, (2) 447-448.

128. Sekiguchi, S., Kusanagi, M., Watanabe, K. and Shimogori, Y. (1992). A Study of Pregnancy Diagnosis Making Use of the Rosette Inhibition Test in the Pig. *Animal Science and Technology*, 63 (3) 310-317.

129. Shahani, S.K., Moniz, C., Chitlange, S. and Meherji, P. (1992). Early Pregnancy Factor (EPF) as a Marker for the Diagnosis of Subclinical Embryonic Loss. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 99 (3) 123-128.

130. Shahani, S.K., Moniz, C.L., Bordekar, A.D., Gupta, S.M. and Naik, K. (1994). Early Pregnancy Factor as a Marker for Assessing Embryonic Viability in Threatened and Missed Abortions. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 37 (2) 73-76.

131. Shahani, S.K., Moniz, C.L., Gokral, J.S. and Meherji, P.K. (1995). Early Pregnancy Factor (EPF) as a Marker for Detecting Subclinical Embryonic Loss in Clomiphene Citrate-Treated Women. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 33 (5) 350-353.

132. Shimizu, K., Goto, T., Takahashi, J. and Yasuda, Y. (1990). Detection of Early Pregnancy Factor in Cattle and its Clinical Application. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 43 (5) 325-329.

133. Shin, W.J., Kim, H.S. and Lee, K.S. (1981). A Study on Early Pregnancy Diagnosis in Korean Native Cattle. Research Reports of the Office of Rural Development. Suweon Livestock and Veterinary, 23, 64-67.
134. Shu-Xin, H. and Zhen-Qun, Z. (1993). A Study of Early Pregnancy Factor Activity in Sera of Patients with Unexplained Spontaneous Abortion. Am. J. Reprod. Immunol., 29 (2) 77-81.
135. Sobiraj, A., Seyrak Intas, K., Wollgarten, B. und Taday, B. (1995). Die Anwendungseignung Aktueller Milchprogesteron-Schnelltests für Rinder im Vergleich zur Einer Laborgebundenen Routinemethode. Tierärztliche Praxis, 23 (1) 32-36.
136. Spinks, N.R. and O'neil, C. (1988). Antagonists of Embryo-Derived Platelet-Activating Factor Prevent Implantation of Mouse Embryos. J. Reprod. Fert., 84, 89-91.
137. Sreenan, J.M. and Diskin, M.G. (1983). Early Embryonic Mortality in The Cow: its Relationship with Progesterone Concentration. Vet. Rec., 112 (28) 517-521.
138. Sreenan, J.M. and Diskin, M.G. (1986). The Extent And Timing of Embryonic Mortality in the Cow. 1-7, in "Embryonic Mortality in Farm Animals", Ed. J.M. Sreenan and M.G. Diskin, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands.
139. Sreenan, J.M. and Gosling, J. (1975). Peripheral Plasma Progesterone Levels in Cycling and Pregnant Beef Heifers. Ir. Vet. J., 29 (6) 105-108.
140. Straube, W. (1989). Early Embryonal Signals. Zentralbl. Gynakol., 111 (10) 629-633.
141. Straube, W., Hubel, V., Loh, M. and Leipe, S. (1989). Human Early Pregnancy Factor: Serum Concentrations before and after Therapeutic Abortion in Comparison with Beta-

hCG and an Early Pregnancy Associated Protein. Arch. Gynecol. Obstet., 246 (2) 115-119.

142. Straube, W., Romer, T., Zeenni, L. and Loh, M. (1995). The Early Pregnancy Factor (EPF) as an Early Marker of Disorders in Pregnancy. Zentralbl. Gynakol., 117 (1) 32-34.

143. Straube, W., Tiemann, U., Loh, M. and Schutz, M. (1989). Detection of Early Pregnancy Factor (EPF) in Pregnant and Nonpregnant Subjects with the Rosette Inhibition Test. Arch. Gynecol. Obstet., 246 (3) 181-187.

144. Sueoka, K. Dharmarajan, A.M., Michael, E., Atlas, S.J. and Wallach, E.E. (1988). Detection of Early Pregnancy Factor (EPF) Using the Rabbit Ovary and Oviduct Perfused In Vitro. J. Reprod. Fert., 84 (1) 325-331.

145. Sueoka, K., Dharamarajan, A.M., Miyazaki, T., Atlas, S.J. and Wallach, E.E. (1988). Platelet Activating Factor-Induced Early Pregnancy Factor Activity from the Perfused Rabbit Ovary and Oviduct. Am. J. Obstet. Gynecol., 159, 1580-1584.

146. Sümbüloğlu, K. ve Sümbüloğlu, V. (1989). Biyoistatistik, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.

147. Thibier, M., Petit, M. and Humblot, P. (1978). Use of Progesterone Concentrations in Peripheral Plasma or Milk in Cattle Herd Management. Control of Reproduction in the Cow. A Seminar in the EEC Programme of Coordination of Research on Beef Production held at Galway, September 27-30, 1977, 576-595.

148. Thirapatsukun, T., Entwistle, K.W. and Gartner, R.J.W. (1978). Plasma Progesterone Levels as an Early Pregnancy Test in Beef Cattle. Theriogenology, 9 (4) 323-332.

149. Thompson, J.A., Marsh, W.E., Etherington, W.G., Moment, H.W. and Kinsel, M.L. (1995). Evaluation of the

Benefits of the Timing of Pregnancy Testing by Transrectal Palpation in Dairy Cattle. *J.A.V.M.A.*, 207, (11) 1462-1465.

150. Threlfall, R.W. (1994). Immunosuppressive Early Pregnancy Factor (ISEPF) Determination for Pregnancy Diagnosis in Dairy Cows. *Theriogenology*, 41, 317.

151. Tiemann, U., Kanitz, W., Klima, F. und Falge, R. (1992). Untersuchung des Embryo-derived Platelet Activating Factor und des Early Pregnancy Factor in Rahmen des Embryotransfers beim Rind. *Reprod. Dom. Anim.*, 27, 257-262.

152. Tinnenberg, H.R., Staves, R.P., Hanf, V., Scholz, W., Semm, K. and Mettler, L. (1985). Use of a Modified Test System to Determine Early Pregnancy Factor (EPF) Levels in Patients with Normal First Trimester Pregnancy and after Therapeutic Abortion. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 442, 551-557.

153. Tsolov, S. (1977). Vurkhu Vibratsiyata na Matochnite Arterii Prez Vreme na Bremennostta Pri kravata. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, 14 (9) 80-85.

154. Veena, T. and Narendranath, R. (1993). An Ancient Egyptian Pregnancy Test Extended to Cattle. *Current Science*, 65 (12) 989-990.

155. Waldmann, A. (1993). Enzyme Immunoassay (EIA) for Milk Progesterone Using a Monoclonal Antibody. *Anim. Reprod. Sci.*, 34 (1) 19-30.

156. Weigelt, B., Weigelt, R., Barth, T., Bach, S., Eulenberger, K. und Schulz, J. (1988). Untersuchungen zur embryonalen Mortalität in einer Milchkuhherde. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 43 (5) 157-160.

157. White, M.E., LaFaunce, N. and Mohammed, H.O. (1989). Calving Outcomes for Cows Diagnosed Pregnant and Nonpregnant by per Rectum Examination at Various Intervals after Insemination. *Can. Vet. J.*, 30 (11) 867-870.

158. Wilson, S., McCarthy, R. and Clarke, F. (1983). In Search of Early Pregnancy Factor: Characterisation of Active Polypeptides from Pregnant Ewes' Sera. *J. Reprod. Immunol*, 5 (5) 275-286.
159. Wilson, S., McCarthy, R. and Clarke, F. (1984). In Search of Early Pregnancy Factor: Characterisation of Active Polypeptides Isolated from Pregnant Ewes' Sera. *J. Reprod. Immunol.*, 6 (4) 253-260.
160. Wishart, D.F., Head, V.A., and Horth, C.E. (1975). Early Pregnancy Diagnosis in Cattle. *Vet. Rec.*, 96, 34-38.
161. Yasuda, Y., Moriyama, Y. and Takahashi, J. (1991). Immunoreproductive Study on Cattle, with Special Reference to Detection of Early Pregnancy Factor (EPF) and its Clinical Application. *Journal of the Faculty of Agriculture, Iwate University*, 20 (3) 231-247.
162. Yoshioka, K., Iwamura, S. and Kamomae, H. (1995). Application of Anti-Bovine CD2 Monoclonal Antibody to the Rosette Inhibition Test for Detection of Early Pregnancy Factor in Cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, 57 (4) 721-725.
163. Zoli, A.P., Beckers, J.F., Wouters Ballman P., Closset, J., Falmagne, P. and Ectors, F. (1991). Purification and Characterization of a Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 45 (1) 1-10.
164. Zoli, A.P., Guilbault, L.A., Delahaut, P., Ortiz, W.B. and Beckers, J.F. (1992). Radioimmunoassay of a Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein in Serum: its Application for Pregnancy Diagnosis. *Biol. Reprod.*, 46 (1) 83-92.
165. Zou, X., Su, B. and Wei, D. (1994). Isolation and Characterization of Early Pregnancy Factor. *Chin. Med. Sci. J.*, 9 (1) 34-37.

ÖZGEÇMİŞ

1965 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi Elazığ'da tamamladım. 1983 yılında girdiğim Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden, 1989 yılında mezun oldum. Askerliğimi 1990-91 yıllarında 8. Piyade Tümen Komutanlığında, karargah muayene komisyon üyeliğinde Veteriner Hekim Asteğmen/Teğmen olarak yaptım. 1992-93 yılında Elazığ'ın Hankendi Nahiyesi'nde özel veteriner hekim olarak klinik çalıştırdım. 1993 yılının Ekim ayında, F. Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda doktora başladım. Haziran 1994'te aynı anabilim dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve iki çocuk babasıyım.



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin Deveci olmak üzere, doktora eğitimim süresince bilgilerinden yararlandığım anabilim dalımızın öğretim üyeleri Prof. Dr. Ali Mükremin Apaydın, Prof. Dr. Cahit Kalkan, Doç. Dr. Halis Öcal ile Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerine, Viroloji Laboratuvarı alet ve malzemelerinden faydalanma imkanı sağlayan ve laboratuvar analizinde her zaman yardımcı olan Prof. Dr. Yusuf Bolat ile Arş. Gör. Hakan Bulut'a, RIA ile analizlerin yapılmasında laboratuvar imkânlarını bize açan Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Necip İlhan ve öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İhsan Halifeoğlu'na ve bu çalışmayı 215 nolu proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi Araştırma Fonu (FÜNAF)'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.