



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİÖSTRUS DÖNEMİNDE OLAN KÖPEKLERE GnRH ANTAGONİSTİ
(CETRORELİX) UYGULAMALARININ PROGESTERON DEĞERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hafize Tuğba YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Örsan GÜNGÖR

BURDUR-2013

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİÖSTRUS DÖNEMİNDE OLAN KÖPEKLERE GnRH ANTAGONİSTİ
(CETRORELİX) UYGULAMALARININ PROGESTERON DEĞERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hafize Tuğba YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Örsan GÜNGÖR

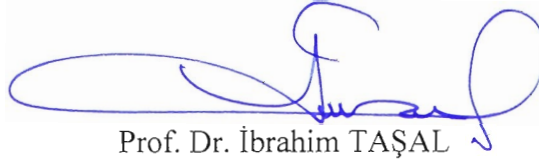
Bu Araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 161-YL 13 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2013

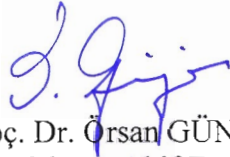
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Hafize Tuğba YÜKSEL tarafından **Doç. Dr. Örsan GÜNGÖR** yönetiminde hazırlanan **“Diöstrus Döneminde Olan Köpeklere GnRH Antagonisti (Cetrorelix) Uygulamalarının Progesteron Değerine Etkisinin Araştırılması”** başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 26 / 12 /2013



Prof. Dr. İbrahim TAŞAL
Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi
Başkan



Doç. Dr. Örsan GÜNGÖR
Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi
Jüri

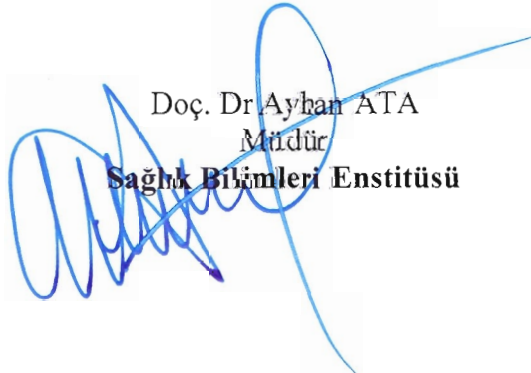


Doç. Dr. Erhan ÖZENÇ
Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Jüri

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu **20/01/2014** tarih ve **1/4** sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Ayhan ATA
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŐEKKÖR

“Döstrus Döneminde Olan Köpeklere GnRH Antagonisti (Cetrorelix) Uygulamalarının Progesteron Değerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez çalışmamın laboratuvar çalışmalarındaki desteklerinden dolayı, Prof. Dr. Hülya TÜRÜTOęLU, Doç. Dr. Dilek ÖZTÖRK ve Doç. Dr. Mehmet KAYA’ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma MAKÖ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0161YL-13 nolu proje olarak desteklenmiştir.

BEYAN

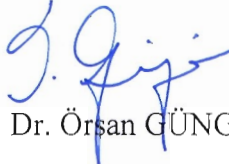
“Diöstrus Döneminde Olan Köpeklere GnRH Antagonisti (Cetrorelix) Uygulamalarının Progesteron Değerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



26.12.2013

Hafize Tuğba YÜKSEL

ONAY



Doç. Dr. Örsan GÜNGÖR

Danışman

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	ii
BEYAN SAYFASI	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
KISALTMALAR	ix
TÜRÇE ÖZET	x
İNGİLİZCE ÖZET	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ovulasyon ve Fertilizasyon	2
2.2. İmplantasyon, Plasentasyon ve Doğum Zamanlaması	3
2.3. Gebelik Süresi	4
2.4. Gebeliğin Dönemleri	4
2.4.1. Fertilizasyon ve Erken Embriyo Periyodu	4
2.4.2. İmplantasyon Sonrası Olgular: Geç Embriyo Periyodu	5
2.4.3. Fötus Periyodu	7
2.5. Gebelik Fizyolojisi ve Endokrinolojisi	7
2.5.1. Progesteron	9
2.5.2. LH	10
2.5.3. Prolaktin	11
2.5.4. Relaxin	12
2.5.5. Östradiol 17 β ve Corpus Luteumun Fonksiyonu	12
2.5.6. Kortizol	13
2.5.7. Prostaglandin	13
2.5.8. Plasental Gonadotropinler	13
2.6. Köpeklerde Gebeliğin Sonlandırılmasında Kullanılan İlaçlar	14
2.6.1. Östrojenler	14
2.6.2. Prostaglandinler	14

2.6.3. Glukokortikoidler	15
2.6.4. Ergot Alkaloidleri	16
2.6.4.1. Bromokriptine	16
2.6.4.2. Cabergoline ve Metergoline	17
2.6.5. Mifepristone (RU 486)	17
2.6.6. Aglepristone (RU534)	18
2.6.7. GnRH	19
2.6.7.1. GnRH Agonistleri	20
2.6.7.2. GnRH Antagonistleri	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3. 1. Hayvan Materyali	24
3.2. Köpeklerin Seksüel Siklusunun Döneminin Belirlenmesi	24
3.3. Köpeklere İlaç Uygulanması	24
3.4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Alınan Kanların Değerlendirilmesi	25
3.5. Elde Edilen Bulguların İstatistik Değerlendirmesi	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
7. KAYNAKLAR	33
8. EKLER	39
9. ÖZGEÇMİŞ	40

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

		Sayfa
ŞEKİL 2.1.	Köpeklerde ovulasyon ve fertilizasyon.	2
ŞEKİL 2.2.	Köpeklerde seksüel siklus ve gebelik boyunca meydana gelen hormonal değişiklikler	8
ŞEKİL 2.3.	Gebe köpeklerde, gebelik süresince östrojen, P4 ve LH hormon profili.	9
ŞEKİL 2.4.	Gebe köpeklerde, gebelik süresince rekaksin ve PRL profili.	11
ŞEKİL 2.5.	Cetrotide'in yapısal formülü.	23
RESİM 3.1.	Köpekler uygulanan Cetorelix asetatın ticari preparatı Cetrotide.	24
RESİM 3.2.	Progesteron değerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan ticari ELISA kitleri.	25
RESİM 3.3.	Köpeklerden elde edilen plazma örnekleri plaklara konulup ELISA okuyucuda okunduktan sonraki görüntü.	26

TABLÖLAR

		Sayfa
TABLO 2.1	Mevcut GNRH antagonist dekapeptitleri	22
TABLO 4.1	Araştırmada kontrol grubu olarak kullanılan köpeklerin P4 değerleri	27
TABLO 4.2	Araştırmada uygulama grubu olarak kullanılan köpeklerin P4 değerleri.	28
GRAFİK 4.1	Kontrol ve uygulama grubu ortalama P4 değerleri	28

KISALTMALAR

LH	Lüteinizing Hormon
MHz	Mega Hertz
ng	Nanogram
ml	Mililitre
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
CL	Korpus Luteum
PGFM	Prostaglandin F Metaboliti
P4	Progesteron
≥	Büyük ve eşit
mg	Miligram
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
PGE	Prostaglandin E
BID	Günde iki defa
LHRH	Lüteinizing Hormon Releasing Hormon
PRL	Prolaktin
PGF2α	Prostaglandin F 2 alfa
ELISA	Enzim Linked Immunosorbent Assay
°C	Santigrat derece
GAP	GnRH Associated Peptide

TÜRKÇE ÖZET

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

**Diöstrus Döneminde Olan Köpeklere GnRH Antagonisti (Cetrorelix)
Uygulamalarının Progesteron Değerine Etkisinin Araştırılması**

Hafize Tuğba YÜKSEL
Doğum ve Jinekoloji
Anabilim Dalı

Tez danışmanı
Doç. Dr. Örsan GÜNGÖR

BURDUR – 2013

ÖZET

Yapılan çalışmanın amacı, diöstrus dönemindeki köpeklere GnRH antagonisti uygulamalarının progesteron değerine etkisinin araştırılmasıdır. Araştırmada, seksüel siklusun diöstrus dönemindeki 15 dişi köpek kullanıldı. Bu köpekler rasgele olarak, uygulama grubunda 8, kontrol grubunda 7 köpek olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Kontrol grubuna alınan köpeklere herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Seksüel siklusun diöstrus döneminde olan köpeklere, diöstrusun 5-10. Gün aralığında GnRH antagonisti olan Cetrorelix, 5 gün süreyle deri altı yolla boyun derisi altına uygulandı. Progesteron değerinin belirlenmesi amacıyla tüm köpeklerden 5 gün süreyle (uygulamadan hemen önce kan alınıp sonra enjeksiyon yapılarak) günde bir olmak üzere kan alındı. İlaç uygulaması sonrasında köpeklerde herhangi bir yan etkiye rastlanmadı. Kontrol grubundaki köpeklerin, 5 gün süreyle alınan kanlardan elde edilen ortalama P4 değerlerine bakıldığında, günlük progesteron değerleri arasında önemli bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Uygulama grubundaki köpeklerin ortalama P4 değerleri 5. günde 1 ng/ml seviyesine yaklaştı. Kontrol ve uygulama gruplarındaki köpeklerin P4 değerlerine bakıldığında ilk (ilaç uygulanmadan alınan örnekler) ve ikinci gün değerleri arasında bir fark görülmedi ($p>0.05$). Üçüncü gün P4 değerleri arasındaki fark önemliydi ($p<0.05$). Dört ve 5. günlerdeki P4 değerleri arasındaki fark ise çok önemli bulundu ($p<0.001$).

Sonuç olarak, GnRH antagonisti olan Cetrorelix'in, lokal ve sistemik yan etkilere neden olmayan ve uygulama sonrası 5. gün içerisinde köpeklerde gebeliğin devamı için gereken P4' ü kritik değeri olan 2 ng/ml'nin altına düşürebildiği ortaya konuldu.

Anahtar kelimeler: Köpek, GnRH antagonist, progesteron

İNGİLİZCE ÖZET

**Mehmet Akif Ersoy University
Institute of Health Science**

**Master of Science Thesis
The Investigation of Effectiveness of a GnRH Antagonist Cetorelix to
Progesterone Levels on Bitches in Diestrus.**

**Hafize Tuğba YÜKSEL
Department of Obstetrics
and Gynaecology**

**Assoc. Prof. Örsan
GÜNGÖR**

BURDUR – 2013

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of GnRH antagonist administration to progesterone values in diestrus bitches. Fifteen diestrus bitches were used in research. These were randomly allocated to two groups, 8 bitches served as treatment group and 7 bitches served as controls. As a control group's bitches weren't made any medical administration. Bitches which were in term of diestrus of sexual cycle, was administered GnRH antagonist as s.c. during 5 days between 5 and 10 days of diestrus. For the determination of the progesterone values, the blood samples were taken from all bitches during 5 days one time per day (samples were taken before administration). None of the bitches presented side effect after drug administration. In control group, when blood was taken from bitches during 5 days was researched for main P4 values, didn't present significant difference among daily P4 values ($p>0.05$). P4 values of bitches of treatment group approached 1ng/ml on fifth day. When in control and treatment group's bitches was researched for P4 values, first and second day values weren't observed significant difference ($p>0.05$). Difference between P4 values were important on third day ($p<0.05$). Difference between P4 values were found very significant between fourth and fifth days ($p<0.001$).

As a result,, Cetorelix which is GnRH antagonist didn't cause local or systemic side effect and was revealed that 2 ng/ml which was critical P4 value for maintain bitches pregnancy, may reduce on fifth day after treatment.

Key words: Bitch, GnRH antagonist, progesterone

1. GİRİŞ

Evde beslenen hayvanların, insanların hayatındaki yeri ve önemi gittikçe artmaktadır. Başta kedi ve köpek olmak üzere, insanlarla beraber evde yaşamaya uyum sağlamaları ve ekonomik olarak önemlerinin artması nedeniyle, bu hayvanlar insanlar tarafından yetiştirilirler, beslenirler ve üretilirler.

Köpeklerin insanların yaşamında, hem hayatı kolaylaştırmak hem de ailenin bir ferdi gibi görünmeleri önemlerini daha da artırmaktadır. Ayrıca bu hayvanların kolay eğitilebilir olmaları güncel hayatta farklı amaçlarla yararlanılmalarına olanak sağlamaktadır. Ancak doğal ortamlarından farklı bir ortama uyum sağlamaya çalışmaları süreci bir takım sıkıntılar da beraberinde getirmektedir.

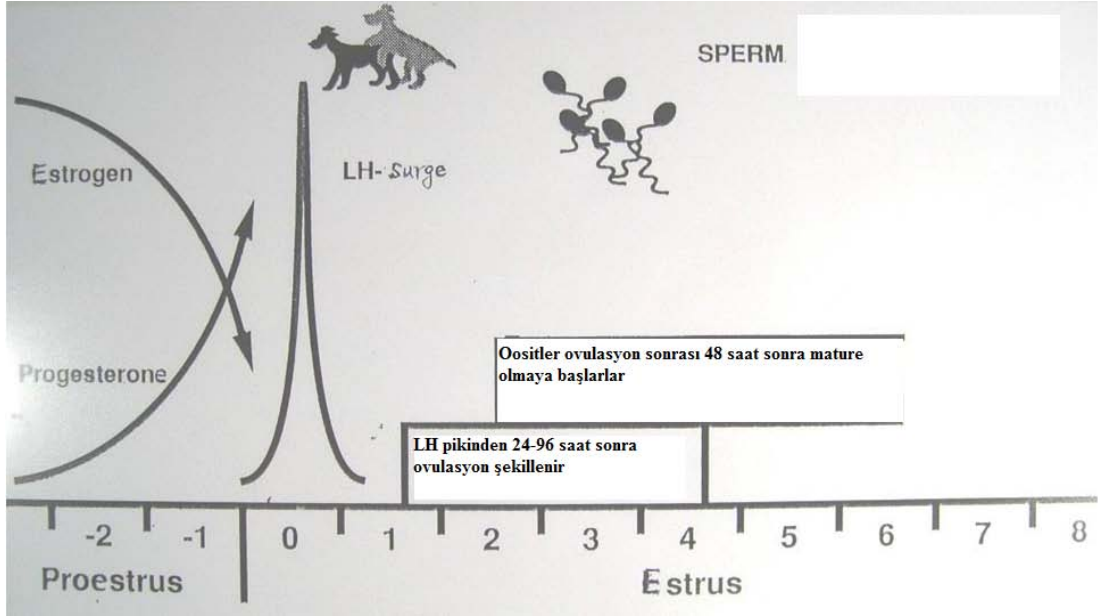
Köpeklerin kızgınlıklarının ortalama 9 gün sürmesi nedeniyle, istenmeyen ve kaçak çiftleşmelerle sıklıkla karşılaşılmaktadır. Bunun sonucunda köpeklerde istenmeyen gebelikler meydana gelmektedir. Köpeklerde, sıklıkla karşılaşılan istenmeyen gebeliklerin sonlandırılmasında yıllardır farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin hepsinin birbirlerine göre olumlu ve olumsuz yönleri vardır. Bu yöntemlerden bazıları hayvanların ömür boyu bir daha gebe kalmasını engelleyebildiği gibi, bazı yöntemler de mevcut gebeliğin sonlandırılmasını takiben tekrar gebe kalmasına olanak sağlar. Fakat hayvanlarının doğurganlığının devam etmesini isteyen daha sonra kontrollü bir şekilde köpeklerini çiftleştirerek kendi ırkından yavru almayı isteyen hayvan sahipleri operatif yöntemi tercih etmezler. Hayvanların kalıcı olarak doğurganlığını kaybetmesini istemeyen hayvan sahipleri için, istenmeyen gebeliği sonlandırmak amacıyla çeşitli farmakolojik ajanlar tercih edilir. Bu kimyasal maddeler gebeliğin farklı dönemlerinde farklı yöntemlerle uygulanmaktadır.

Bu tezin amacı, köpeklerde istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması amacıyla kullanılabileceği düşünülen GnRH antagonistlerinin kullanılabilirliğini ortaya koymak için yapılacak olan araştırmalara ön çalışması niteliğinde olmasıdır. Böylelikle GnRH antagonistlerinin uygulama sonrası kaçınıcı gün Progesteron değerini baskılayabildiği saptanacaktır. Bir başka deyişle gebeliğin sonlandırılması amacıyla kullanılmak istendiğinde GnRH antagonistlerinin istenilen etki tarihinden kaç gün önce uygulanması gerektiği belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovulasyon ve Fertilizasyon

Ovulasyon preovulatr LH pikinden yaklaşık 2-3 gün sonra kendiliğinden oluşur. Östrus davranışları ve çiftleşme ya ovulasyondan 5 gün önce veya ovulasyondan 3 gün sonra başlayabilir. Oositler mature olmamış primer oosit olarak atılırlar ve 2 veya 3 günlük periyottan sonra oviduktta mature olmaya başlarlar (Şekil 2.1). Oosit maturasyonunu takiben 2- 4 gün veya daha uzun süre köpek fertil kalır (8).



Şekil 2.1: Köpeklerde ovulasyon ve fertilizasyon.

Fertilizasyon erkek ve dişi gametin oviduktun ampullasında karşılaşmaları ve spermatozoonun ovuma penetrasyonu olayıdır. Fertilize ovum ovidukt içerisinde uterusu doğru yol alır ve bu sırada bölünerek çoğalır. Bu bölünmeler sonucu; blastosist olarak endometriyuma implante olmak üzere uterus lumenine ulaşır (9).

2.2. İmplantasyon, Plasentasyon ve Doğum Zamanlaması

İmplantasyon, ovulasyon zamanı dolaylarında başlatılan maternal endokrin değişiklikler tarafından zamanlanır ve genetik olarak farklı olan embriyonik dokularla maternal dokular arasında gelişen başarılı bir kaynaşmadır (9). Blastosistin dış tabakası olan trofoektodermin uterusun luminal epiteliyle etkileşime girmesiyle gerçekleşir (52). İmplantasyonun gerçekleşebilmesi için uterusun bir hazırlık dönemi geçirmesi gerekir. Bu döneme “implantasyon dönemi” denir. Endometriumda çeşitli yapısal, hücresel ve moleküler değişimler implantasyon döneminde gerçekleşir ve endometriyal kabul edişi sağlayan gerekli faktörler oluşur. Blastosistin zona pellusidasını kaybetmesinden sonra, trofoblast hücreleri yüzey çıkıntıları oluştururlar. Bunlar da birleşerek sinsityal trofoblastları oluştururlar. Başarılı bir implantasyon için uterusun ovaryum steroidlerince uyarılıp farklılaşması ve blastosistin aktivasyon evresine erişmiş olması gereklidir. Blastosistler yalnızca implantasyon döneminde luminal epitelle etkileşime girebilirler. Bunu belirleyense korpus luteumdan salgılanan progesteronun endometriyumundaki etkileri ve implantasyon öncesi görülen, östrojen plazma seviyesindeki ufak bir yükselmedir (47, 55).

İmplantasyon LH pikinden sonraki 13- 15. günlerde olmaya başlar (48, 51). Trofoblast bağlanması 21 gün civarında oluşur ve implantasyon 22 gün civarında tamamlanır. Yüksek çözünürlüklü (7- 10 Mhz) ultrases muayenesinde, embriyonik keselerin ilk teşhisi 18- 20. günlerde yapılır, embriyonik kitleler 21- 23. günlerde, fetal kalp hareketleri 24- 25. günlerde, zoner plasenta 28. günlerde ve fetal vücut hareketleri 35. günlerde saptanabilir. Plasenta da embriyo gibi büyümeye devam eder, embriyonun uzunluğu 38- 40. güne kadar plasental banttandan kısadır ve 42. günde plasental kuşaktan daha uzun olduğu görülür (9).

Plasentasyon endoteliochorial, zonar ve sirkumferensiyaldir. Chorioallantoik kutuplar ince ve transparan kalırken fetal trofoblast dokusunun kemeri çevresel hematomlarla gelişir. Çevresel hematomlar durağan kanın büyük birikintilerinden gelişir ki bunlar dış embriyonik sirkülasyondaki metabolit ve demiri absorbe eder. Gebelik uterus büyümesinin ayrımla 20-35. günler arasında elle yapılan palpasyonda, ultrasonografi ile 25. günden sonra ve radyografiyle 46. günden sonra

teşhis edilebilir. Biyokimyasal gebelik testleri c-reaktif protein ve fibrinojenin spesifik olmayan testlerini içerir ancak spesifik değildir. Serum relaksin testi 30. günden sonra tanımlayıcıdır (9).

2.3. Gebelik Süresi

Dişi köpeklerde gebelik süresi; çiftleşme göz önünde bulundurulduğunda 57-72 gün, LH dalgası kriter alındığında 64- 66 gün, ovulasyon kriter alındığında 62- 64 gün ya da sitolojik diöstrus başlangıcı kriter alındığında 56- 58 gün olmaktadır (7, 48).

2.4. Gebeliğin Dönemleri

Köpeklerdeki gebelik 3 periyoda bölünebilir: (1) Fertilizasyon ve erken embriyo periyodu (fertilizasyondan implantasyonun olduğu LH dalgasından sonraki yaklaşık 20-22. günlere kadar olan zamanı kapsar), (2) geç embriyo periyodu (implantasyondan sonraki fetal kalsifikasyon/ossifikasyona kadar ve fetal gelişmenin ve organogenezisin başlangıcına karşılıktır. 22 ila 45 günler arası dönemi kapsar) ve (3) fetus periyodu (fetal kalsifikasyon/ ossifikasyondan doğuma kadar olan dönemdir. 45. günden doğuma kadar olan süreci kapsar) (60).

2.4.1. Fertilizasyon ve Erken Embriyo Periyodu

Bu periyodun ilk kısmı oosit maturasyonu ile karakterizedir. Maturasyonun preovulator LH dalgasından 60 saat sonra olduğu tahmin edilir; bu nedenle maturasyon geç östrüsten diöstrusa kadar herhangi bir zamanda oluşabilir, bireysel sıklarda davranışsal değişikliklerin olduğu zamana bağlıdır. Köpeklerde birçok türün aksine, luteinizasyon ovulasyondan önce oluşur. Preovulator LH dalgasından önceki 2-3 gün boyunca; serum progesteron konsantrasyonlarındaki artış 0.4'ten 0.8 ng/ml' ye kadar tespit edilemez. Serum progesteron değeri LH dalgası zamanında 1-

3 ng/ml'dir ve ovulasyon zamanında köpeklerde ortalama 4-8 ng/ml'dir. Progesterondaki bu hızlı artış üreme süresi boyunca LH dalgasının oluşumu tahmininde, ovulasyon zamanının teşhisinde ve fertilizasyon için optimal açıklığın tespitinde kullanılabilir (6, 11).

Luteinizasyon sürecinin başlangıcındaki ani progesteron artışı, LH dalgasının uyarılması için gereklidir. LH dalgasındaki düzensizlikler ve ovulasyon, anormal luteinizasyonun bir sonucu olarak oluşabilir; bunlar hatalı östrus, anovulasyon, kısmi ovulasyon veya uzamış proöstrus ve infertilite gibi klinik durumların nedeni olabilir. Bu durumlar yaşlı köpekler ve bazı türlerde nispeten yaygındır. Köpeklerde primer oositler LH dalgasından yaklaşık 2 gün sonra ovule olur, 2-3 güne kadar sekonder oositin formasyon ve olgunluğuna ulaşır (60).

Morula blastosist içinde, oviduktun distalinde gelişir, ovulasyondan sonra yaklaşık 10-12. günlerde uterus girer. Blastosistler endometriuma hizalı olarak girerler. Bu mekanizmalar halen tamamen anlaşılmamıştır. Embriyolar uterus lümeninde bağlanmadan kalır, yüzer ve uterus kornuları içinde göç eder. Bu süreçte embriyo, gelişen korpus luteumdan dolayı artan progesteron konsantrasyonunun etkisi altında erken gelişen endometrial bezler tarafından üretilen uterus sütünden besinleri absorbe eder. Bu periyod boyunca özgürce yüzen embriyolar uterus sütündeki değişikliklere ve bütün tedavilere oldukça hassastır. Son implantasyon (fötal trofoblastlar tarafından endometriuma giriş) LH pikinden sonra yaklaşık 20 ila 22. günlerde oluşur. Bazı köpeklerde implantasyon alanlarındaki uterus kalınlaşması 14. gün olduğu belirtilmekle beraber bir çok köpekte 16 ila 20 günlerdedir (9).

2.4.2. İmplantasyon Sonrası Olgular: Geç Embriyo Periyodu

Endotheliochorial, zoner (sirküferensiyal), modifiye desidua plasenta yaklaşık 20 ila 22 günlerde gelişir. Çevresel hematomlar zoner bandın kenarlarından gözlemlenir ve maternal kandan oluşturulur, hemoglobin uteroverdin içinde metabolize edilir. Bu pigment siyah-yeşil renge sahiptir ve karnivor plasentasının karakteristiğidir (65).

Luteal fazın uzayan evrelerinde serum progesterondaki artışın oranı gebe olmayan ve gebe olan köpeklerde aynıdır. Bu nedenle progesteron testleri gebelik teşhisinde kullanılamaz (25).

Köpekte ovaryumlar gebelik boyunca gereklidir; ovarioektomi veya corpus luteumun eksizyonu hızlı abortusu beraberinde getirmektedir. Luteal hücreler ya endokrin, parakrin ya da otokrin kaynaklı luteotropinlere bağımlıdır. Köpeklerde 2 ana luteotropik hormon vardır ve bunlar da LH ile prolaktindir. Hipofizektomi gebe hayvanlarda abortu hemen uyarır ve gebe olmayan hayvanlarda plazma progesteron konsantrasyonunu düşürür. Ancak gebeliğin 10. gününden önce, hipofizektomi CL'un fonksiyonel olarak işlevini yitirmesine neden olur. Benzer olarak luteolitik ilaçlar (dopamin antagonistleri, GnRH antagonistleri veya prostoglandinler) da aynı periyot boyunca luteolizis ve CL'un fonksiyonel olarak işlevini yitirmesine neden olur. Bu olay LH veya prolaktin reseptörlerindeki değişikliklerinden bağımsız oluşur (19).

Progesteron konsantrasyonunun en az 2 ng/ml olması gebeliğin devamında kesinlikle gereklidir. Maksimum olmasına gerek yoktur, progesteron diöstrusunun 20 ila 30. günleri arasında yaklaşık 15-90 ng/ml' lik düzeye ulaşır sonrasında sürekli yavaş bir düşüş oluşur. Plazma progesteron konsantrasyonlarının kademeli şekilde düşüşü boyunca progesteron değeri hem östradiol hem de Prostaglandin F metabolit konsantrasyonlarının değişiminden bağımsız olarak oluşur. Prostaglandin F metabolit modelinde diöstrusta olan köpekler ve gebe köpekler arasında önemli değişiklikler vardır. Gebeliğin 30 ila 60. günlerinde gebe köpeklerde PGFM' lerinde yavaş artış olur, bunu doğumdan önceki artış takip eder ve sonra postpartum dönemde konsantrasyonu aniden düşer. Ancak gebe olmayan köpeklerde aynı süre boyunca PGFM' de yükselme yoktur (19).

Gebelik boyunca düşük progesteron konsantrasyonları oluşabilir. Bu düşüş özellikle 30 ila 35. günlerde metabolitlerin artmasıyla veya kusurlu ovaryumlarla progesteron konsantrasyonlarının yetersiz üretiminin nedeniyle olabilir (hipoluteolizm) (28). Bazı köpeklerde gebelikleri boyunca, gelişmiş CL tarafından salgılanan progesteron sekresyonu bozulabilir. Bu bozuklukların kaynağı tam olarak

anlaşılamamaktadır ancak relaksinin plasentadan anormal sekresyonu, yetersiz prolaktin üretimi veya diğer belirlenemeyen nedenlerden dolayı olabilir (27).

LH pikinden 20-22 gün sonra, gebelik tanısı daha kolay yapılabilir. Corpus luteum fonksiyonu bu süreçte direkt veya dolaylı olarak müdahale eden herhangi bir faktör veya tedaviye karşı hassas olmaya başlar. Fötüs hala her şeye son derece hassastır. Uygulanan teratojenler ve ilaçlar hem uterus fonksiyonlarını hem de fötüs gelişimini etkileyebilir. Gebeliğin bu dönemi boyunca abort kolaylıkla görülür veya uyarılabilir, eğer erken ölüm oluşursa fötüs rezorbe olur veya ossifikasyon/kalsifikasyondan sonra oluşan abortlarda fetüs dışarı atılır. Rezorbsiyon genellikle klinik olarak tespit edilemez, ancak ultrasonografi ile tespit edilebilir. Dışarıdan gelen ajanlara karşı fötüs sensitivitesinin en kritik olduğu dönem, embriyo dönemi sürecindeki organogenezis dönemidir ve bu periyod boyunca köpeğe hiçbir ilaç uygulanmamalıdır (59).

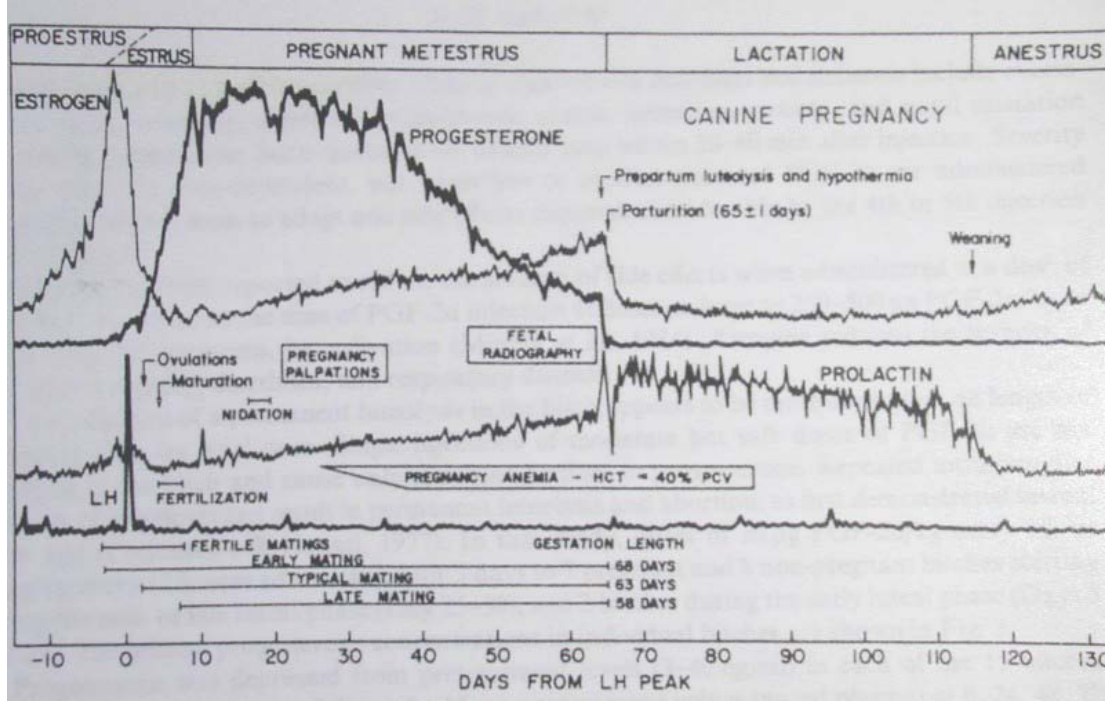
2.4.3. Fötüs Periyodu

Fötüs periyodu boyunca fötüsler çok iyi gelişir, kemikleşir ve vücut ağırlıkları yavaş ve katlanarak artar. CL hipofizin luteotropik desteğine son derece bağlıdır; prolaktindeki, LH'daki veya hormonal dengedeki herhangi bir değişiklik CL fonksiyonu üzerinde belirgin etkiye ve gebeliğin sonlanmasına neden olur (60).

2.5. Gebelik Fizyolojisi ve Endokrinolojisi

Gebe köpeklerle, gebe olmayan köpekler ovaryum siklusunun aynı evrelerinde karşılaştırıldığında birkaç endokrinolojik farklılık tespit edilmiştir. Bunlar; 25-30 günden sonra ikincil ılımlı artış gösteren progesteron ve östradiol konsantrasyonu, 30-35 güne kadar olan dönemde artış gösteren relaxin konsantrasyonu ve 30-35 güne kadar olan dönemde artış gösteren prolaktin hormonunu kapsar. Bunları laktasyonun 6-8. haftaları boyunca emzirmeye ilişkili olan artışlar izler; 30- 50 günler arasında akut faz proteinlerdeki gebeliğe bağlı

artışlar ve doğumu kapsayan değişikliklerle birlikte, kortizonda doğumdan kısa süre önce artış ve doğumda progesteronun ani düşüş göstermesi sırasında prolaktin dalgalanır (9), (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2: Köpeklerde seksüel siklus ve gebelik boyunca meydana gelen hormonal değişiklikler (34).

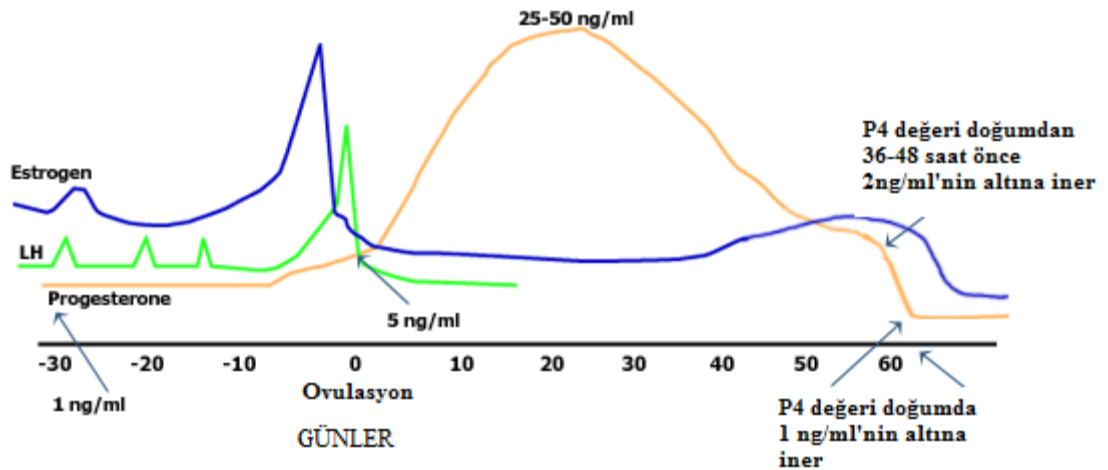
İmplantasyon sonrası fibrinojen ve diğer akut faz proteinleri artar. C- reaktif protein, uterusu trofoblast invazyonunu gösterebilir, gebelik spesifik değildir ve herhangi yangılı hastalığı bulunan köpeklerde de belirlenebilir. Fibrinojendeki indüklenmiş artış serum fibrinojen bozulma ürünlerinin artışı yansıtan yerel fibrinolitik aktivitenin eşzamanlı artışıyla kompanze edilir (5).

Yirmibeşinci ve 40. günler arasındaki gebelik ile ilgili progesteron ve östradiol sekresyon artışı plazma hacminin seyrelmesinden dolayı tam olarak yansıtılamaz. Prolaktin 30- 35. günlerde birçok gebe olmayan hayvanların sikluslarında görüldüğünden belirgin olarak daha yüksektir, geç gebelikte pik seviyeye yakın artar ve doğum süresince dalgalanır (60). Relaksin veya başka plasental hormonların prolaktindeki doğumsal yükselişini uyarıp uyarmadığı bilinmemektedir. Relaksin seviyesi 27 ve 30. günler arasında artar, 40- 50 gün dolaylarında pik yapar, yükselir ancak doğuma doğru düşer ve doğumdan sonra 1-6 haftada ölçülemeyecek seviyeye

kadar düşer. Relaksin seviyeleri normal ovarioektomi edilen gebe köpeklerde ekzojen progesterin olarak uygulanır. Ovarial üretim mümkün olmasına rağmen plasenta primer relaksin kaynağıdır (9).

2.5.1. Progesteron

Gebe olan köpeğin CL tarafından üretilen progesteron konsantrasyonundaki artışla, gebe olmayan köpeğin değerlerinin karşılaştırılmasında; gebelik boyunca fekal progesteron metabolitlerinin önemli artışı karakteristiktir. Plazma progesteron konsantrasyonları LH dalgasından sonra yaklaşık 20-30. gün en üst düzeye ulaşır ve gebe olan ve olmayan köpeklerin her ikisinde de 60-70 günler dolaylarında yavaşça bazal konsantrasyonlara düşer (Şekil 2.3.). Plazma progesteron konsantrasyonları karşılaştırılabilir olmasına rağmen, progesteron metabolitlerinin fekal değerlendirmesi gebelik durumunun farklarını açıkça ortaya koyar (25). Corpus luteum tarafından gebelikle ilişkili progesteron üretimi önemli ölçüde daha yüksektir, ancak periferde ve plasenta tarafından kullanıldığından hızla metabolize olur. Sadece yavru metabolizmasındaki progesteron metabolitlerinin miktarı gebe ve gebe olmayan hayvanlar arasındaki farkı açıklar. Bu farklar karnivorların diğer türlere göre farklılığını ortaya koyabilmek için önemlidir ve gebeliği izlemek amacıyla kullanılır(14).



Şekil 2.3: Gebe köpeklerde, gebelik süresince östrojen, P4 ve LH hormon profili (19)

Progesteronun sürekliliği, gebeliğin başlatılması ve devamı için gereklidir. Köpeklerde, plazma progesteron konsantrasyonları gebeliğin korunması için ≥ 2 ng/ml olmalıdır. Progesteron seviyesinin 48 saatten uzun süreyle kanda 2 ng/ml' nin altına düşmesiyle birlikte gebeliğin erken dönemlerinde abortus ya da embriyonik rezorbsiyon meydana gelmektedir (27). Progesteron; endometriyumun değişiklikleri ve endometriyal bez sekresyonları, endometriyal bütünlüğün sağlanması ve plasentanın bağlılığını sağlar. Ayrıca uterusun kontraktilesini baskılar. Özellikle östrojenlerin uterojenik aktivitesini önlemesi nedeniyle östral fazın sonunda düşer, fakat LH dalgasından sonraki yaklaşık 10-15. günlerde tekrar önemli bir artış yapar. Östrojenler, CL fonksiyonlarının sürdürülmesinde uyarıcı olarak ve progesteron sekresyonu ve progesteron reseptörlerini artırmak suretiyle rol oynayabilir (5).

2.5.2. LH

Uyarıcı faktörleri düzenleyen steroidogenezis sadece hipofiz orijindir. Karnivorlarda plasental veya embriyonik sekresyonlar gösterilmemiştir. LH ve prolaktinin ikisi de köpekte luteotropik olarak önerilmektedir; bu durumda prolaktin' in CL' un desteklenmesinde temel ve gerekli bir hormon olduğu görülmektedir (37).

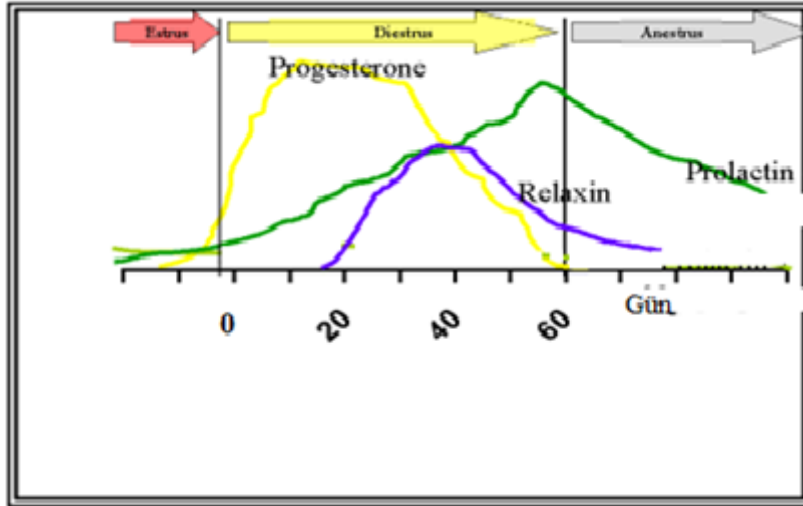
LH'nın hipofizdeki rolü daha az belirgindir ve bir ölçüde hala tartışmalıdır. Bazı çalışmalar (12, 13, 45), GnRH antagonistlerinin veya GnRH' nin baskılanmasından sonraki uygulamaları takiben CL'un engellendiğini göstermiştir. GnRH antagonist uygulamaları yeterli dozda olduğunda plazma LH konsantrasyonlarını engeller veya anti-LH antikörlerinin yüksek miktarlarının enjeksiyonuyla LH' a karşı pasif bağışıklık sağlanabilir (43). Daha sonraki çalışmalarda LH gebeliğin devamı için gerekli olmadığı gösterilmesine rağmen gebe hayvanlarda gebeliğin 30 veya 40. günlerinde birkaç gün enjekte edildiğinde progesteron sekresyonunu uyarır (10).

Daha öncede belirtildiği gibi köpeğin luteal fazı boyunca LH' nin rolü hala tartışmalıdır. Concannon (12), LH' nin köpeklerdeki ana luteotropik faktör olduğunu öne sürmüştür, oysa ki Okkens ve arkadaşları (40), prolaktinin primer luteotropik

faktör olduğu savunur. Yapılan bir araştırmada (60) prolaktin önleyici ve LH' nın eş zamanlı uygulanması CL' u desteklememiştir. Hipofizektomi uygulanmış köpek ve gelinciklerde yapılan önceki çalışmalarla benzer sonuçlar göstermiştir. GnRH agonist implantları, GnRH reseptörlerinin baskılanmasının yanı sıra LH salınımını baskılaması nedeniyle veya başka mekanizmalar nedeniyle gebeliği önleyebilir (26).

2.5.3. Prolaktin

Prolaktin, steroidogenezisin devam ettirilebilmesi için CL' u destekleyen ana hipofiz hormonu olarak görünür. Prolaktin konsantrasyonları gebeliğin ortasında artar ve doğum ile laktasyon arasında yüksek kalır (Şekil 2.4.). Ancak bireye bağlı, günlük ve/veya strese bağlı değişiklikler serum prolaktin konsantrasyonlarını gebelik tanısı için güvenilirmez kılar (43). Bununla birlikte dopamin antagonistleri prolaktin sekresyonunu inhibe ederek corpus luteumun fonksiyonunu azaltır ve luteolizise sebep olarak abortusa neden olurlar (60).



Şekil 2.4: Gebe köpeklerde, gebelik süresince rekaksin ve PRL profili.

2.5.4. Relaxin

Plasental relaxinin sirkülasyondaki konsantrasyonu, LH dalgasından sonraki yaklaşık 21-24. günlerde yükselir. Serum relaxin konsantrasyonu gebe olmayan (diöstrus) köpeklerde hiçbir zaman belirlenemez. Gebe köpeklerde, geç gebelikte (gebeliğin 40-50 gününde) pik konsantrasyonlara (5ng/ml) ulaşır (Şekil 2.4.). Relaxin konsantrasyonları doğumdan sonra düşer, ancak laktasyon sırasında en azından 30 güne kadar saptanabilirliği devam eder. Relaxin köpeklerde tespit edilmiş gebeliğe bağlı özel tek proteindir. Relaxin enzim immün testleri mevcuttur ve gebelik tanısı veya fötusun canlılığı testlerinde kullanılabilir. Ancak abortusu izleyen zamanlarda yanlış pozitif sonuçlar verebilir (60).

Relaksindeki artış prolaktindeki artıştan hemen öncedir veya eş zamanlı gözlenir. Relaxinin rolü henüz belli değildir ancak gebe hayvanların luteal hücreleri tarafından progesteron salgılanmasını teşvikte, CL'ü seviyesinde direk olarak etki veya prolaktin üretimi artışına karşı dolaylı etkide rol oynayabilir (38).

2.5.5. Östradiol 17 β ve Corpus Luteumun Fonksiyonu

Köpeklerde CL formasyonunda östradiolün rolü açıkça tespit edilmemiştir. Luteal fazın 10 ila 64. güne kadar olan östradiol 17 β 'nin artışı Steinetz ve ark. (54) ve Onclin ve Verstegen (43) tarafından rapor edilmiştir. Östradiolün konsantrasyonlarındaki artışın kaynağı bilinmemektedir ancak CL'dan köken alması muhtemeldir (39).

Diöstrusta olan köpeğin luteal olarak düzenlenmesi, birçok tanımlayıcı hormonun etkileşim içinde olduğu kompleks ve dinamik süreç olarak bilinmektedir. Bu hormonlardan en klasik olan progesteron ve prolaktindir. LH, östradiol ve relaxin spesifik olarak direk rol oynar veya bu luteotropik kompleksin temel bileşeni olarak rol oynar. Doğal progesteron, implantasyondan önce, ovarioektomi uygulanmadan önce ve sonra, derialtı implantlar ve enjeksiyon yoluyla uygulanmış, implantasyon normal şekilde oluşmuş ve gebelik doğuma kadar sürmüştür. Prolaktindeki artış, östrojenin sistemik konsantrasyonu olmamasına rağmen, hatta

LH ve FSH tipik bir konsantrasyon yanıtı karşısında bile gebelikteki konsantrasyonundan farklı değildir. Bu nedenle, prolaktin konsantrasyonlarındaki gebeliğe bağımlı artış maternal östrojenin varlığı veya artışına bağlı değildir (9).

Diöstrustaki köpeklerin endokrin düzenlenmesi, diğer türlerdeki gibi, genel düşüncelerden daha karmaşık olduğu görülmekte ve tamamen aydınlatılması hala sürmektedir. Endokrin faktörlere ek olarak otokrin ve/veya parakrin parametrelerin lokal olarak düzenleyici rolü bilinmemektedir (60).

2.5.6. Kortizol

Kortizol konsantrasyonu, doğum öncesi birkaç gün önce üst seviyeye ulaşır ve doğum sonrasında düşer. Kortikosteroid uygulanması geç gebelikte abortusu uyurabilir (41).

2.5.7. Prostaglandin

Gebeliğin sonunda, endojen prostaglandinler artar ve luteolitikdir. Eksojen Prostaglandin F2 α (PGF2 α), CL'un yaşına ve verilen doza ayrıca PGF2 α 'nın türüne bağlı olmak üzere, direk olarak CL regresyonuna neden olabilir (60).

2.5.8. Plasental Gonadotropinler

Plasental orijinli hiçbir gonadotropin köpeklerde tespit edilememiştir ve plasental progesteron sekresyonunu destekleyen kanıt yoktur. Ayrıca gebeliğin herhangi bir zamanındaki ovarioektomi abortus ile sonuçlanır (39).

2.6. Köpeklerde Gebeliğin Sonlandırılmasında Kullanılan İlaçlar

2.6.1. Östrojenler

Östrojenler istenmeyen çiftleşme sonrası doğru zamanda ve doğru dozda uygulandıkları takdirde oviduktun uterusla bağlantı yaptığı uterotubuler bağlantıyı keser, embriyonun oviduktta kalma süresini uzatır, gelişen embriyonun uterusla göçünü önler ve böylece de gebeliği önler (19). Yüksek dozda östrojen uygulamaları, embriyonun oviduktta tutulma zamanını uzatır ki bu da terapinin esas amacıdır (2). Bunlara ek olarak östrojenler zigot üstüne de direk dejeneratif etkilere sahip olabilmekte ve endometriumdaki implantasyon için gerekli olan gelişmelerin dönemini geciktirerek implantasyonu önlemektedirler (19).

Östrojen kullanılması köpeklerde birtakım istenmeyen yan etkilere neden olmaktadır. Aplastik anemi, kemik iliğinin baskılanması, uterus ve ovaryum patolojileri östrojenlerle tedavinin başlıca riskleridir (3, 56, 63).

2.6.2. Prostaglandinler

Prostaglandin veya onun analoglarından birinin uygulanmasından sonra plazma progesteron konsantrasyonu düşer ve köpeklerde gebelik sonlanır (18, 20).

Köpeklerde gebeliğin ilk 14-28 günleri arasında prostaglandinlerin corpus luteum üzerine luteolitik etkileri bulunmamaktadır. Bu süreden sonra prostaglandinlerin corpus luteum üzerindeki bu özelliği devam etmekle birlikte PGF_{2α}'nın küçük dozlarına bile cevap alınabilmektedir. Prostaglandin F_{2α}, başlangıçta düşük dozlarda (25- 30 µg/kg) ve sonra orta dozlarda (30-100µg/kg) günde 2-3 defa, s.c. X 6-9 gün süre ile uygulanarak abortus ya da rezorbsiyon uyarılabilmektedir (6, 18, 46). Ancak en iyi cevap çiftleşmeden yaklaşık 30 gün sonra alınabilmektedir. Ayrıca köpek sağlıklı ve 7 yaşından küçük olmalıdır (16, 50).

Yan etkilerinin azaltılması için her PGF₂ enjeksiyonunu takiben köpekler 20-30 dakikalık yürüyüşlere çıkarılmalı ayrıca köpekler her uygulamadan 1-2 saat sonra beslenerek kusma engellenmelidir (19).

Uygulamaya abort olana kadar devam edilmesi gerekliliği ve bunun yaklaşık 5-7 gün sürdüğü ancak olgulara bağlı olarak 2-10 gün arasında değişebildiği bildirilmiş ve yapılan çalışmada prostaglandin uygulanan bütün gebe köpeklerin uygulamanın başlamasından 9 gün sonra abortusu tamamladığı belirtilmiştir (33).

Prostaglandin uygulamaları ile birlikte intravaginal olarak uygulanan PGE ile yapılan yardımcı tedavinin abortun tamamlanması için gereken süreyi kısalttığı belirtilmiştir (19).

Intravaginal olarak uygulanan 1-3 mg/kg/gün dozundaki misopristolün serviksi yumuşattığı ve abortustan önce gerekli olan servikal dilatasyonu hızlandırdığı, tedavi periyodunu sadece PGF₂α kullanılan köpeklere göre 1 -2 gün kısalttığı belirtilmiştir (3).

Prostaglandin analoglarıyla yapılan çalışmalarda iyi sonuçlar alınmış ve daha düşük dozlarda kullanılmalarına karşın doğal PGF₂α göre daha a luteolitik ve ekbolik etkiye sahip olduğu, daha az yan etkilerin bulunduğu gözlenmiştir. Genellikle köpeklerde fluprostenol ve cloprostenolün kullanıldığı ve bunların çiftleşmeden 25 gün sonra uygulandığı takdirde abortif etkili olduğu bildirilmiştir (11, 19).

2.6.3. Glukokortikoidler

Bazen gebe köpeklerde trombositopeni, hemolitik anemi, poliartritis, sistemik lupus eritematozis gibi immun mediatör hastalıklar görülmektedir. Bu gibi durumlarda fötüsün sağlığı annenin sağlığından daha az öneme sahip olması nedeniyle glukokortikoidler gebeliğin sonlandırılması için kullanılabilir. Gebeliğin 30. gününde başlayan 10 günlük deksametazon (5mg dozda günde iki kere)

uygulanmasıyla intrauterin ölüm ve fetal rezorbsiyon, gebeliğin 45. gününde yani son 1/3'ünde yapılan uygulama ile de abort sağlandığı bildirilmiştir (19).

Normal doğumun mekanizmasında fetal kortizol sekresyonunda artışa ve PGF2 α 'nın luteolitik etkisine ihtiyaç vardır (19).

2.6.4. Ergot Alkaloidleri

Ergot alkaloidleri dopamin agonisti olarak etkisini gösterir. Prolaktin sekresyonunu hipotalamik dopamini baskılayarak düzenler. Köpeklerde prolaktin gebeliğin orta ve geç dönemlerinde gerekli olan bir luteotropik ajandır (42). Dopamin olmazsa prolaktin salınır, dopamin varsa prolaktin sekresyonu baskılanır. Ergot alkaloidleri dopamin sekresyonunu stimüle ederek indirek olarak prolaktin sentez ve sekresyonunu baskırlar. Köpeklerde normal luteal fonksiyon için hem prolaktine hem de LH'ya gereksinim vardır (17).

2.6.4.1 Bromokriptine

Bromokriptin bir dopamin agonistidir ve bromokriptin ile indüklenmiş hipoprolaktinemi ile luteal progesteron sekresyonu sonlanırken progesteron 1 ng/ml'nin altına düşer ve gebeliğin ikinci yarısında abort oluşur. Bromokriptinde olduğu gibi LH hormonu antiserumu uygulaması ile de, progesteronda düşüş sağlanarak abort oluşturulabilir (24).

Bromokriptin gebeliğin 30. gününden sonra uygulanarak abort sağlanabilir. Birinci yöntem gebeliğin 35. gününde başlayan 6 gün boyunca oral olarak günlük 0.1mg/kg doz uygulanmasıdır. İkinci uygulama ise 30. günden sonra 4 gün boyunca oral olarak 0.03mg/kg BID'dir Bununla birlikte PGF2 α ile kombine edildiğinde daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (24, 46).

Bromokriptin iştahsızlık ve/veya anoreksi yapar. Diğer yaygın etkileri ise kusma ve depresyondur. Uygulama öncesi antiemetikler verilebilir. Bu yan etkiler

prostoglandinle tedavi edilen köpeklerde gözlenen yan etkilere göre daha ciddi ve kalıcıdır (15).

2.6.4.2. Cabergoline ve Metergoline

Cabergoline ve metergoline bir dopamin agonistidir. Bir başka deyişle prolaktin inhibitörüdürler. Köpeklerde gebeliğin devamı için gerekli olan prolaktini baskılayarak gebeliğin sonlanmasına neden olurlar (42, 62).

Günde 5 mcg/kg dozda, günde 1 defa 5-7 gün süreyle kullanılan cabergoline, prolaktin konsantrasyonunda ani bir düşüşe sebep olarak ciddi sistemik yan etki yaratmadan köpeklerde abort yapar (42).

PGF2 α ile kombine olarak kullanılan cabergoline uygulaması ile çiftleşmeden sonraki daha erken günlerde de başarılı sonuçlar elde edilmiştir (42).

2.6.5. Mifepristone (RU 486)

Mifepristone bir progesteron reseptör antagonistidir (29, 53). Bu ilaç oral olarak aktif olup eğer gebeliğin 30. gününden sonra uygulanmaya başlanırsa köpeklerde güvenli ve etkili bir gebelik sonlandırıcısıdır. Ancak antiprogestinler kullanılarak abortun uyarılması çiftleşme gününden gebeliğin son dönemine kadar yapılabildiği halde 30. güne kadar yapılan uygulamalarda resorbsiyon, daha sonraki günlerdeki uygulamalarda ise abort gözlenmiştir (4). 32. günden sonra başlayan uygulamada mifepristone 2.5 mg/kg dozda BID 4-5 gün süresince kullanılabilir. Preovulatör LH pikinden 40-45 gün sonra ilaç uygulandığında serum progesteron konsantrasyonu 1mg/ml'nin altına düşer. Tedaviye başlandıktan 33.5 \pm 7.5 saat sonra doğumun ilk gözle görülebilir semptomları başlar. Üç ila dört gün içerisinde yan etki görülmezsizin gebelik sonlandırılabilir (15).

Mifepriston gebelik süresinin ortasında kullanıldığında köpeklerde abort oluşturur ve köpeklerde serum progesteron konsantrasyonu 2 ng/ml'nin altına

düşmeden önce bütün fütusların abortu gözlenir. Bu olay, bu ilacın bir progesteron reseptör antagonisti gibi rol yaptığını gösterir. Bu etki uterus düzeyinde olup luteal fonksiyona etkiden bağımsızdır. Gebeliğin sonlanmasının ardından sekonder olarak luteal fonksiyonda prematüre bir gerileme söz konusu olabilir (15).

Köpeklerde yapılan araştırmalarda progesteron reseptör blokörü uygulamalarında progesteronun azalmasının $PGF_{2\alpha}$ ile başlamadığı gözlenmiştir. Bu araştırmalarda progesteronun blokajı doğumun başlamasına, davranışsal değişimlere ve servikal açılmaya sebep olmuştur. Ancak P4 seviyesi değişmemiştir çünkü luteolizis köpeklerde $PGF_{2\alpha}$ 'ya bağlıdır (15).

2.6.6. Aglepristone (RU534)

Aglepristone, progesterone reseptör antagonisti olarak görev yapar. Progesteron reseptörlerine yüksek affinite göstererek bağlanır ve progesteronun biyolojik etkisini göstermesine engel olur. Yarışmalı bağlanarak etkisini gösterir. Buna bağlı olarak da doğum, aglepristone kullanılarak progesteron aktivitesinin blokajı ile başlatılabilir (30).

Aglepristone gebeliğin her döneminde kullanılabilir. Hatta hemen ovulasyon sonrası kullanılınca konsepsiyonu önler (64).

Köpeklere ovulasyon sonrası 30. günden itibaren (ultrases ile gebeliğin teşhisinden sonra) 24 saat arayla 2 uygulama, 10 mg/kg s.c. aglepristone uygulanmış, uygulamadan 4-7 gün sonra gebelik sonlanmış, hafif bir vaginal akıntı dışında hiçbir yan etki gözlenmemiştir. Ultrasonografik inceleme ile aglepriston'un fetal resorbsiyona değil de aborta yol açtığı gözlenmiştir. (31). Aglepristone uygulaması sırasında (10 mg/kg/24 saat ara ile, iki enjeksiyon) prolaktinin plazma konsantrasyonunda bir artış saptanmış, progesteronun konsantrasyonunda ise bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak tedavi bitiminde 8-34 gün içerisinde plazma progesteron konsantrasyonu 1 ng/ml altına düşmüştür (22).

Aglepristone'un, PGF2 α ile birlikte uygulanması köpekte doğumu uyarmak için yeterli olan diğer bir metottür: 10 mg/kg aglepristone uygulamasından 12 saat sonra 160 μ g/kg PGF2 α ve bundan 12 saat sonra aglepristone+PGF2 α uygulamasından 2 saat sonra amniotik sıvının vulval akıntısı, diğer 2 saatte ise ilk yavrunun abortu gözlenmiştir. Abortta bir duraksama durumunda oksitosin uygulaması ile devam sağlanabilmektedir.

2.6.7. GnRH

GnRH hipotalamustan salgılanan ve ön hipofizi uyarak gonadotropinlerin (FSH ve LH) salgılanmasını sağlayan 10 aminoasitten yapılmış polipeptid bir hormondur. Kimyasal yapısı ilk kez 1971 yılında Andrew V. Schally tarafından domuz GnRH' sının basit yapısı olarak ortaya konmuş ve daha sonra in vitro koşullarda sentez edilmiştir (Bu çalışma Nobel Ödülü kazanmıştır). Hipotalamusun özellikle arkuat nükleus bölümünden 56 aminoasitlik GAP adı verilen peptid hormon ile birlikte salgılanır. GnRH' nin içinde bulunduğu prohormon 8. kromozomun kısa kolunda bulunan gen tarafından kodlanır, 92 aminoasitten yapılmıştır, akson uçlarında enzimlerle parçalanarak iki aktif bileşene (GnRH ve GAP) ayrılır ve ön hipofizde kan dolaşımına verilir. Her iki hormon da FSH ve LH üzerine farklı derecelerde uyarıcı etki yaparlar. GAP prolaktin salınımını inhibe eder ve gonadotropin salınımını uyarır ancak fizyolojik etkileri detaylı olarak bilinmemektedir (35).

GnRH pulsları 71-216 dakikada bir olarak değişir, foliküler fazın sonlarında daha sık ve luteal fazın sonlarında daha seyrek olur. GnRH pulslarının nasıl düzenlendiği net olarak aydınlatılmamakla beraber stres, diyet ve iklimsel değişikliklerden etkilendiği bilinmektedir. Estrogen hipofiz ve hipotalamus düzeyinde etki ederek gonadotropinlerin pulslarının dalga boyunu değiştirebilir, pulsların frekansı üzerine etkisi yoktur. Plazma östrodiol düzeyi belli bir noktayı aşınca hipofiz üzerinde GnRH reseptörü sayısını artırır, inhibitör etki tersine döner ve preovulatr FSH ve LH piki olur. FSH ve LH pulsları GnRH pulslarına paralellik gösterir. Ovulasyon sonrasında korpus luteumdan salgılanan progesteron ise GnRH

pulsalarını azaltır, buna karşın GnRH ve LH dalga boyları artar böylece korpus luteum devamı için ortamda LH varlığı sağlanmış olur (35).

2.6.7.1. GnRH Agonistleri

GnRH epifiz tarafından FSH ve LH salgılanmasını uyararak, nörosekretör hücreler tarafından pulsatil şekilde sentezlenen ve salınan hipotalamik bir dekaeptittir (32).

GnRH analogları, deslorelin gibi, önce stimülasyon ve sonra reseptör down regülasyona neden olduklarından dolayı üreme döngüsünü engellemede kullanılabilir. Östrusun engellenmesinde derialtı implant şeklindeki uygulamalarla bir yıldan fazla süre için GnRH salınımının devamını sağlamada başarılı olmaktadır (26).

Köpeklerde östrus siklusunun ertelenmesi amacıyla kullanılan ve yan etkisi olmayan uzun etkili GnRH agonisti deslorelinin, gebeliğin devamı için gerekli olan progesteronu, LH hormonu salınımını baskılayarak ortadan kaldıracak olduğu düşünülmüştür. Köpeklerde LH, luteotrop hormon olarak gebelik süresince P4'ün luteal sekresyonunda gereklidir (5). Bu nedenle yavaş salınan GnRH agonistlerinin, LH hormonunu baskılaması nedeni ile gebeliğin sonlandırılması amacıyla kullanılabilirliği fikrine varılmıştır.

GnRH agonistlerinin uygulamasından sonra gonadotrop hormonların seviyesinde ani bir artışı (flare effect) takiben bu hormonların düzeyi en alt seviyeye iner (66). GnRH agonistleri, adenohipofizdeki reseptörleri sürekli uyararak duyarsızlaştırır ve bunun sonucunda da FSH ve LH salınımı ortadan kalkar (44, 45).

Köpeklerde istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması amacıyla yapılan araştırmada (26); GnRH agonistlerinin gebeliği sonlandırabildiği belirlenmiştir. Ayrıca uygulamanın, köpek üzerinde fazla enjeksiyon yapılmaması nedeni ile, diğer abortus indüklemesi uygulamalarından daha zahmetsiz, daha ucuz ve anne üzerinde daha az olumsuzluk meydana getirdiği de görülmüştür. Güngör ve ark. (26), uzun etkili GnRH analogu olan deslorelini köpeklere, deri altı yolla, çiftleşme sonrası 20-

25. günde uygulamışlar, uygulamayı takiben progesteron değerini 8. günde gebeliğin devamı için gerekli olan miktarın altına düşürdüğü ve 10. günde tek doz PGF_{2α} uygulaması ile birlikte kombine edildiğinde gebeliği sonlandırabildiğini belirtmişlerdir.

2.6.7.2. GnRH Antagonistleri

GnRH antagonistleri mevcut GnRH hormonundaki aminoasitlerden birden çoğunun yer değiştirmesiyle ortaya çıkabilmektedir. Mevcut GnRH antagonistleri ilgili reseptöre bağlandıktan sonra yarışmalı baskılama yaparlar ve fizyolojik GnRH'nın bağlanmasına izin vermezler. Bundan dolayı agonistlere göre çok daha ani bir terapötik etki ortaya çıkar (13, 32). Sirkülasyondaki gonadotropinler ve gonadal steroidler, antagonistlerin tek uygulamasından sonraki 2 saat içinde çok düşük seviyelere düşmektedirler (55, 58). GnRH antagonistleri 24-72 saat içinde tüm etkinliklerini gösterirler. Antagonistlerin agonistlere göre önemli bir yan etkisi; histamin salınımına neden olabileceğinden dolayı alerjik reaksiyonlardır. Hidrofobik N ucunun ve bazik/ hidrofilik C ucunun tarif edilen yan etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (13). Birinci nesil GnRH antagonistleri mast hücre degranülasyonu ve histamin salınımına neden olmaları nedeniyle kullanım alanları oldukça sınırlandırılmıştır. Ayrıca kısa yarılanma süreleri de günlük enjeksiyonlar gerektirmektedir (58). Aynı yan etki 2. nesil GNRH antagonistlerinde nispeten daha az olsa da halen mevcuttur. Bu yan etki üçüncü nesil GNRH antagonistlerinde 5, 6 ve 8 pozisyonundaki aminoasitlerin yer değişimiyle de beraber belirgin olarak azalmıştır (13). Üçüncü Nesil GnRH antagonistlerinin insanlarda ve köpeklerin de dahil olduğu hayvanlar gruplarında ne klinik ne de hematolojik yan etkisi yoktur (52, 58).

Çeşitli GnRH antagonistleri bulunmaktadır (Tablo 2.1.). Beşeri hekimlikte yaygın olarak kullanılmakla birlikte, hayvan sağlığında henüz kullanım alanı sınırlıdır. Antagonistler depo veya günlük deri altı kullanım amaçlı olarak geliştirilmişlerdir. Tek uygulama sonrası (0.25 mg sc.) Cetrorelix 1-2 saatte maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Ortalama yarı ömrü 20.6 saat,

biyoyaralanım %85 bulunmuştur. Tekrarlayan enjeksiyonlar sonrası ise Cetrorelix'in yarı ömrü 20-80 saat arasındadır (35).

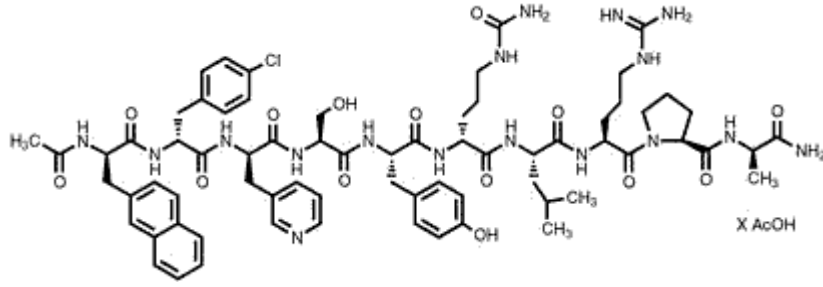
GnRH antagonistlerinin beşeri hekimlikteki endikasyonları; kontrasepsiyon (Seks hormonlarını ters olarak etkileyerek spermatogenezis ve ovulasyonun baskılanması), prostat kanseri, iyi huylu prostat hiperplazisi, meme kanseri, endometriozis, uterus fibroidleri, premenstrual sendrom, polikistik over sendromu, hirsutizm ve infertilite ayrıca ekzojen gonadotropinlerin uygulanmasıyla kontrol altına alınan endojen gonadotropinlerin baskılanması, özellikle yardımcı üreme tekniklerinde ovulasyon indüksiyonu olarak sıralanabilir (23).

Tablo 2.1: Mevcut GNRH antagonist dekapeptitleri (35).

Abarelix
Acyline
Antarelix
Cetrorelix
Degarelix
Ganirelix
Iturelix
Ornirelix
Antide

Cetrorelix

Cetrorelix asetat gonadotropin salgılatıcı hormonun antagonistik aktivitesine sahip sentetik bir dekapeptittir. Cetrorelix asetat 1, 2, 3, 6 ve 10 pozisyonundaki aminoasitlerin yer değiştirmesiyle oluşan doğal bir GnRH analogudur. Moleküler formülü Acetyl-D-3-(2'-naphthyl)-alanine-D-4-chlorophenylalanine-D-3-(3'-pyridyl)-alanine-L-serine-L-tyrosine-D-citruline-L-leucine-L-arginine-L-proline-D-alanine-amide' dir ve moleküler ağırlığı 1431.06' dır (21).



Şekil 2.5: Cetrotide'in yapısal formülü (21).

Cetrotide hipofiz hücrelerindeki membran reseptörlerine bağlanmak için doğal GnRH ile yarışır ve böylece doz bağımlı şekildeki FSH ve LH salınımını kontrol eder. İlk LH baskılanması 3 mg doz ve 0.25 mg dozun uygulanmasından sonra yaklaşık 1 saat içinde gerçekleşir. Bu baskılama devam eden tedavi tarafından sürdürülür ve LH üzerindeki baskılama FSH'dan daha belirgindir. Cetrotide'nde endojen gonadotropinlerin başlangıç salınımı tespit edilmemesi antagonistik etkiyle tutarlıdır (21).

Cetrotide luteinizan hormonu salgılatan hormonun (LHRH) antagonistidir. LHRH hipofiz hücrelerinin membranlarında bulunan reseptörlere bağlanarak endojen LHRH'nin bu reseptörlere bağlanmasını yarışmalı olarak engeller. Bu etki tarzıyla, cetrotide gonadotropinlerin (LH ve FSH) sekresyonunu baskılar (21).

Cetrotide doza bağımlı olarak hipofiz bezinden LH ve FSH'nin sekresyonunu baskılar. Baskılama hemen görülür ve başlangıçta uyarıcı bir etki görülmeden tedavi sürdüğü sürece de devam eder (21).

Cetrotide LH akımını ve bunun sonucu olarak da ovulasyonu geciktirir (21).

Cetrotide'in etki süresi doza bağımlıdır. Tek bir 3mg Cetrotide dozundan sonra etkinin en az 4 gün devam ettiği tespit edilmiştir. 4. günde baskılama yaklaşık %70'dir. Cetrotide'in etkisi, 24 saatte bir olmak üzere her enjeksiyonda 0.25 mg doz ile tekrarlanan enjeksiyonlarla devam ettirilir (21).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini, 2013 yılında, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne ve Ahmet Kurt Veteriner Kliniğine getirilen, seksüel siklusun diöstrus evresinde olan 15 dişi köpek oluşturdu. Bu köpekler rasgele olarak, uygulama grubunda 8, kontrol grubunda 7 köpek olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Araştırmada kullanılan köpeklerde yaş ve ırk özeliği aranmadı.

3.2. Köpeklerin Seksüel Siklusunun Döneminin Belirlenmesi

Köpeklerin östrus siklusları, seksüel siklusun hangi evresinde olduğu ve ovulasyon zamanları hasta sahibinden alınan anemnez ve gözlem yoluyla ayrıca vaginal sitoloji yöntemi (Papanicolaou) ile takip edilerek belirlendi.

3.3. Köpeklere İlaç Uygulanması

Kontrol grubundaki olarak uygulanan köpeklere herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Seksüel siklusun diöstrus döneminde olan köpeklere, diöstrusun 5-10. günde GnRH antagonisti olan Cetrotide (0.25 mg Cetorelix asetat, Sereno İlaç, Türkiye), (Resim 3.1), 5 gün süreyle 0.25 mg dozda deri altı yolla boyun derisi altına uygulandı. İlk uygulama çift doz (0.5 mg) olarak uygulandı.



Resim 3.1: Köpekler uygulanan Cetorelix asetatın ticari preparatı Cetrotide.

3.4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Alınan Kanların Değerlendirilmesi

Progesteron düzeyindeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla köpeklerden, ilaç uygulamasının hemen öncesinden başlanarak, günlük olarak 5 gün süreyle günde bir olmak üzere 5 kez 5 ml kan alındı. Alınan kanlar, 3000 d/dk'da 15 dk santrifüje (Hettich, Universal 3R) edilerek kan plazması ayrıldı ve değerlendirilinceye kadar - 20 °C'de saklandı. Plazma P4 değerleri ticari bir kit (Progesteron ELISA kitleri DRG International Inc., USA), (Resim 3.2 ve 3.3), kullanılarak belirlendi.



Resim 3.2: Progesteron değerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan ticari ELISA kitleri.



Resim 3.3: Köpeklerden elde edilen plazma örnekleri plaklara konulup ELISA okuyucuda okunduktan sonraki görüntü.

3.5. Elde Edilen Bulguların İstatistik Değerlendirmesi

Elde edilen verilerin hesaplanmasında SPSS® (SPSS, 17.0) programı kullanılmıştır. Verilerde ortalama değer ve standart sapma hesaplandı. Gruplar arası farklılıklar “Student T test” yöntemi ile karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

İlaç uygulaması sonrasında köpeklerde her hangi bir yan etkiye rastlanmadı.

Araştırmada elde edilen bulgular, çizelge ve grafikler halinde verilmiştir. Kontrol grubundaki köpeklerin, 5 gün süreyle alınan kanlardan elde edilen ortalama P4 değerlerine bakıldığında, günlük progesteron değerleri arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.1).

Tablo 4.1: Araştırmada kontrol grubu olarak kullanılan köpeklerin P4 değerleri (ng/ml).

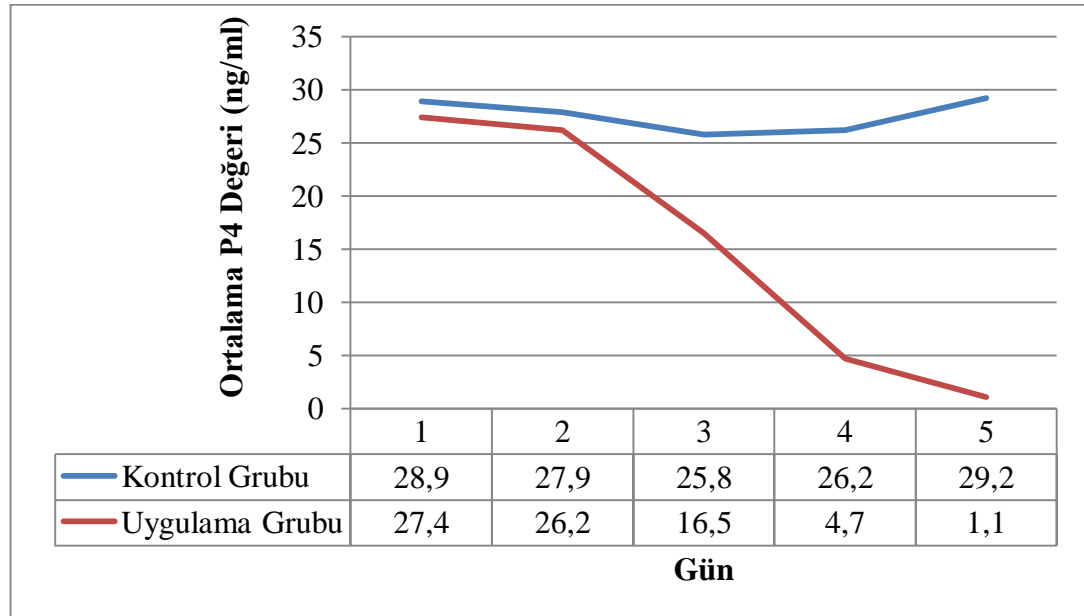
Köpeğin Adı	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
Patates	31.4	20.6	26.8	28	28.8
Lessy	19.5	19.2	14.4	15.5	26.1
Keş	40	40	40	40	40
Akan	28.6	33.2	24	25.5	25
Steffy	34.3	31.4	30.1	33.4	33.8
Gök	28.6	28	24.2	22.2	22
Şeker	20.3	23.5	21.7	19.2	19.5
Ortalama	28.9^a	27.9^a	25.8^a	26.2^a	29.2^a
	±	±	±	±	±
	7,3	7,4	7,8	8,4	7,0

Uygulama grubundaki köpeklerin, ortalama P4 değerlerinde, ilaç uygulaması yapılan günler ilerledikçe azalma belirlenmiş ve uygulama sonrası 5. günde 1 ng/ml seviyesine yakın bir değere yaklaştığı görülmüştür (Çizelge 4.2).

Tablo 4.2: Araştırmada uygulama grubu olarak kullanılan köpeklerin P4 değerleri (ng/ml).

Köpeğin Adı	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
Beyaz	31,20	40,00	18,60	2,60	0,80
Rot	21,10	20,10	10,70	3,00	1,20
Wiskey	19,40	20,10	7,80	2,90	0,70
Ada	24,40	24,10	15,00	5,00	1,20
Daisy	27,40	31,50	30,00	10,90	1,30
Sibe	40,00	36,10	27,10	6,60	1,20
Melek	30,00	20,50	10,60	2,90	1,10
Barış	26,40	17,80	12,60	4,10	1,00
Ortalama	27,4^a	26,2^a	16,5^b	4,7^c	1,0^d
	±	±	±	±	±
	6,4	8,4	8,1	2,8	0,2

^{a, b, c} : Aynı satırdaki farklı harfler P<0.01 olduğunu gösterir.



Grafik 4.1: Kontrol ve uygulama grubu ortalama P4 değerleri.

Kontrol ve uygulama gruplarındaki köpeklerin P4 değerlerine bakıldığında ilk (ilaç uygulanmadan alınan örnekler) ve ikinci gün değerleri arasında bir fark

görülmedi ($p>0.05$). Uygulama grubunda, üçüncü günden itibaren P4 değerleri arasındaki fark önemliydi ($p<0.05$). Dört ve 5. günlerdeki P4 değerleri arasındaki farkın ise çok önemli bulunmuştur ($p<0.001$, Grafik 4.1).

5. TARTIŞMA

Dişi köpeklerde pratik istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması için hızlı müdahalede bulunmak, etkili, güvenilir, yan etkisi olmayan ve tek uygulamayla abortif etki sağlamak esas amaçlardır. Köpeklerde istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması için çok fazla yöntem kullanılmakta, ancak hiçbiri belirtilen şartları tek başına sağlayamamaktadır. Bu nedenle halen farklı ilaç ve uygulama yöntemlerinin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmektedir (5). LH ve FSH salınımını direkt olarak inhibe eden GnRH antagonistleri de bu amaçla kullanılmaya başlanan ilaçlardan biridir. Ancak köpeklerde abortun uyarılması için yeterli araştırma yapılmamıştır ve bu nedenle GnRH antagonistlerinin köpek reproduktif sistemi üzerine etkileri üzerine yeterli bilgi yoktur (49). Bu araştırmanın amacı GnRH antagonisti olan Cetrorelix'in, köpeklerde erken gebelikte, istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması amacıyla kullanılabilirliğini ortaya koymak amacıyla bir ön çalışma niteliğinde olmasıdır.

GnRH antagonistleri, ilk kullanıldıkları yıllarda uygulandıkları bölgede ve generalize olarak yan etkilere neden oluyordu. Ödematöz şişkinliklere ya da neden oldukları mast hücre degranülasyonu ve histamin salınımını uyarması sonrasında aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden oluyordu. Ancak ikinci hatta üçüncü nesil antagonistler geliştirildikten sonra bu yan etkiler azaltılmış hatta alerjen etkileri tamamen ortadan kalkmıştır (58). Uygulama yapılan köpeklerde herhangi bir yan etkinin ortaya çıkmaması, araştırmada kullandığımız GnRH antagonisti olan Cetrorelix'in, son kuşak antagonistlerden biri olduğundan dolayıdır. Ayrıca Reissmann ve ark. (58) ve Demirel ve ark. (13), cetrorelixin daha az histamin sentezletici etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan araştırmada, araştırmaya dahil edilen köpekler diöstrus döneminde ve çoğunlukla da diöstrusun 5-10. günleri arasındaydı ve P4 değerleri ilk kan alındığında ortama 28 ng/ml (en düşük 14.4, en yüksek 40 ng/ml) civarındaydı. Johnston ve ark. (31), da köpeklerde P4 değerinin ovulasyondan önce yükselmeye başladığını ve östrus sonrası 15-25. günlerde en yüksek değerine ulaştığını (15-80 ng/ml) belirtmişlerdir.

Bir başka deyişle ilaç uygulamasını takiben 24 saat sonra P4 değerinin belirgin olarak azaldığı belirlendi. Demirel ve ark. (13), GnRH antagonistlerinin uygulanmasını takiben 24-72 saat sonra LH değerinin azalmaya başladığını belirtmişlerdir. Sunulan bu araştırmada da köpeklerde gebeliğin ilk yarısındaki luteotropik faktör olan LH'nın seviyesinin azalmasını takiben P4 değeri de düşmeye başladığı düşünülmektedir. Bununla birlikte Karacan ve Çamlıbel (35), GnRH antagonistlerinin luteinize granuloza hücrelerinden P4 üretimini direk olarak baskılayabileceklerini belirtmişlerdir. Yapılan bu araştırmada P4 değerindeki azalmaya GnRH antagonistlerinin P4 değerindeki azalmaya direk etkisinin olabileceği de düşünülmektedir.

Kontrol grubundaki köpeklerden 5 gün süreyle alınan kanlardan elde edilen ortalama P4 değerleri arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Uygulama grubundaki köpeklerin, ortalama P4 değerleri arasında günler ilerledikçe azalma belirlenmiş ve uygulama sonrası 5. günde köpeklerde gebeliğin devamı için gerekli olan değer olarak bilinen 2 ng/ml seviyesinin altına indiği görülmüştür. Bu durumun, Valiente ve ark. (58) belirttiği gibi, GnRH antagonistlerinin uygulanmasını takiben CL'un luteotropik etkiden yoksun kalarak lize olmasından dolayı şekillendiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen bulgular sonrasında, son kuşak GnRH antagonistlerinden olan Cetrorelix'in, lokal ve generalize yan etkilere neden olmayan ve köpeklerde güvenle kullanılabilir olan bir antagonist olduğu belirlendi. Cetrorelix'in uygulamasını takiben, P4 değerinin, 3. günden itibaren düşmeye başladığı ve 5. gün köpeklerde gebeliğin devamı için gereken kritik değer olan 2 ng/ml'nin altına düşürebildiği saptandı.

Özetle; modern bir GnRH antagonisti olan cetrorelix, fazla yan etkisi bulunmayan ve köpeklerde P4 değerini baskılamak amacıyla güvenle kullanılabilir bir ilaçtır. Ancak gebeliğin sonlandırılması amacıyla kullanılabilirliğinin ortaya konulması amacıyla daha kapsamlı araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Bagatell CJ, Conn PM, and Bremner WJ** (1993): Single-dose administration of the gonadotropin-releasing hormone antagonist, Nal-Lys (antide) to healthy men. *Fertil Steril.*, **60**, 680–685.
2. **Braakman A, Okkens AC, Haaften B** (1993): Medical methods to terminate pregnancy in the dog. *Comp Contin Educ Pratt Vet Small Anim Pratt.*, **15**, 1505-1512.
3. **Cain JL** (1998): Drugs used to treat reproductive disorders. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, **28**, 395-410
4. **Cetin Y, Macun HC, Beceriklisoy HB, Schäfer-Somi S, Aslan S** (2010): Intravaginal application of misoprostol improves pregnancy termination with cabergoline and alfaprostol in dogs. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, **123**, 236-242.
5. **Concannon PW** (2004): Contraception in dogs and cats. *29th World congress of the World Small Anim Vet Assoc*, Rodos, Greece.
6. **Concannon PW** (1986): Canine pregnancy and parturition. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, **16**, 453-475.
7. **Concannon PW, England G, Verstegen J**, (2000): Recent advances in small animal reproduction. Ed(s): P.W. Concannon, G. England, J. Verstegen and C. Linde-Forsberg. Publisher: *International Veterinary Information Service (www.ivis.org)*, Ithaca, New York, USA, (11.05.2011).
8. **Concannon PW, McCann JP, Temple M** (1989): Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J Reprod Fertil Suppl.*, **39**, 3-25.
9. **Concannon P, Tsutsui T, Shille V** (2001): Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy. *J Reprod Fertil.*, **57 Suppl**, 169–179.
10. **Concannon P, Verstegen J.** (1998): *Pregnancy in dogs and cats*. Ed(s): KNOBIL E, NEILL J, Encyclopedia of reproduction.: Academic Press, San Diego. p: 902-909.
11. **Concannon PW** (1986): *Current veterinary therapy, small animal practice*. 9th edition, W. B. Saunders Co. ; Philadelphia, p: 1218-1240.

12. **Concannon PW** (1993): Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J Reprod Fertil.*, **47**, 3–27.
13. **Demirel A, Bozdağ G, Gürkan T** (2006): GnRH agonistleri ve antagonistleri: Güncel Yönleri, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.*, **13(2)**, 135-140.
14. **Durrant BS, Ravida N, Spady T, Cheng A** (2006): New technologies for the study of carnivore reproduction. *Theriogenology*, **66**, 1729–1736.
15. **Eilts BE** (2002): Pregnancy termination in the bitch and queen. *Clin Tech Small An P.*, **17**, 116-123.
16. **England GCW** (1994), Hormonal manipulation of breeding in the bitch. *The Veterinary Annual*, **34**, 189-200.
17. **Erünal-Maral N, Aslan S, Findik M, Yüksel N, Handler J, Arbeiter K** (2004): Induction of abortion in queens by administration of cabergoline (Galastop) solely or in combination with the PGF₂alpha analogue Alfaprostol (Gabbrostim). *Theriogenology*, **61**, 1471-1475.
18. **Feldman EC, Davidson AP, Nelson RW, Nyland TG, Munro C** (1993): Prostaglandin induction of abortion in pregnant bitches after misalliance. *J Am Vet Med Assoc.*, **202**, 1855-1858.
19. **Feldman EC, Nelson RW** (1997): Canine female reproduction, Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, W.B. Saunders Co., Philadelphia, p:556-600.
20. **Fieni M, Fuhrer D, Tainturier JF, Bruyas, Dridi S** (1989): Use of PGF₂α analog, cloprostenol, for pregnancy termination in dogs. *J Reprod Fertil Suppl.*, **39**, 332-333.
21. **Final Draft Cetrotide:** http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2000/211971bl.pdf. Erişim Tarihi:06.09.2013.
22. **Galac S, Kooistra HS, Butinar J, Bevers MM, Dieleman SJ, Voorhout G, Okkens AC** (2000): Termination of mid-gestation pregnancy in bitches with aglepristone, a progesterone receptor antagonist. *Theriogenology*, **53**, 941-950.
23. **Gobello C** (2007): New GnRH analogs in canine reproduction., *Anim Reprod Sci.*, **100**, 1-13.

24. **Gobello C, Castex G, Corrada Y, Klima L, de la Sota RL, Rodríguez R** (2002): Use of prostaglandins and bromocriptine mesylate for pregnancy termination in bitches. *J Am Vet Med Assoc.*, **220**, 1017-1019.
25. **Gudermuth DF, Concannon PW, Daels PF, Lasley BL** (1998): Pregnancy-specific elevations in fecal concentrations of estradiol, testosterone and progesterone in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Theriogenology*, **50**, 237–248.
26. **Güngör Ö, Kaya M, Gürbulak K, Oral H, Kaya S, Kaçar C** (2010): Use of GnRH Agonist (Desloreline) in Combination with PGF2 α on the Termination of Pregnancy in Bitches. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.*, **16**, 903-908.
27. **Günzel-Apel AR, Hayer M, Mischke R, Wirth W, Hoppen HO** (1997): Dynamics of haemostasis during the oestrous cycle and pregnancy in bitches. *J Reprod Fertil Suppl.*, **51**, 185-93.
28. **Günzel-Apel AR, Zabel S, Bunck CF, Dieleman SJ, Einspanier A, Hoppen HO** (2006): Concentrations of progesterone, prolactin and relaxin in the luteal phase and pregnancy in normal and short- cycling german shepherd dogs. *Theriogenology*, **66**, 1431-1435.
29. **Heikinheimo O, Haukkamaa M, Lahteenmaki P** (1989): Distribution of RU486 and its demethylated metabolites in human. *J Clin Endocrinol Metab.*, **68**, 270-275.
30. **Hoffman B, Schuler G** (2000): Receptor blockers-general aspects with respect to their use in domestic animal reproduction. *Anim Reprod Sci.*, **60-61**, 295–312.
31. **Hoffmann B, Busges F, Engel E, Kowalewski MP, Papa P** (2004): Regulation of corpus luteum-function in the bitch. *Reprod Domest Anim.*, **39**, 232–240.
32. **Hull ME, Kenigsberg DJ**, (1987): Gonadotropin releasing hormone: function and clinical use. *Lab Manag.*, **25**, 51–58.
33. **Johnson CA** (1992): *False pregnancy, disorders of pregnancy, parturition and the postpartum period*. Ed(s): Nelson RW, Couto CG, *Essentials of Small Animal Internal Medicine*, Mosby Year Book, Boston, p:677-678.

34. **Johnston SD, Kustritz VR, Olson PNS** (2001): *Prevention and termination of canine pregnancy*. Ed(s): Johnston SD, Kustritz VR, Olson PNS, Canine and Feline Theriogenology. WB Saunders Company, Philadelphia, p: 168-192.
35. **Karacan M, Çamlıbel T** (2004): Gonadotropin Releasin Hormon analogları (agonistler/antagonistler) ve in vitro fertilizasyon sikluslarında kullanımı. *Kadın Doğum Dergisi*, **3(1)**, 330-344.
36. **Karten MJ, Rivier JE** (1986): Gonadotropin-releasing hormone analog design structure-function studies toward the development of agonists and antagonists: rationale and perspective. *Endocr Rev.*, **7**, 44–66.
37. **Kooistra HS, Okkens AC** (2002): Secretion of growth hormone and prolactin during progression of the luteal phase in healthy dogs: a review. *Mol Cell Endoc.*, **197**,167–172.
38. **Li Y, Huang C, Klindt J, Anderson LL** (1993): Stimulation of prolactin secretion in the pig: central effects of relaxin and the antiprogesterone RU 486. *Endocrinology*, **133**, 1205–1212.
39. **Nishiyama T, Tsumagari S, Ito M, Kimura J, Watanabe G, Taya K** (1998): Immunohistochemical study of steroidogenic enzymes in the ovary and placenta during pregnancy in the dog. *Anatom Histol Embryol.*, **28**, 125–129.
40. **Okkens AC, Bevers MM, Dieleman SJ, Willemse AH** (1990): Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog. *Vet Quart.*, **12**,193–201.
41. **Olsson K, Bergström A, Kindahl H, Lagerstedt AS** (2003): Increased plasma concentrations of vasopressin, oxytocin, cortisol and the prostaglandin F_{2α}. *Acta Physiologica Scandinavica*, **179**, 281-287.
42. **Onclin K, Silva LD, Verstegen JP** (1995): Termination of unwanted pregnancy in dogs with the dopamine agonist, cabergoline, in combination with a synthetic analog of PGF_{2α}, either cloprostenol or alphaprostol. *Theriogenology*, **43**, 813-822.
43. **Onclin K, Verstegen JP** (1997): In vivo investigation of luteal function in dogs: effects of cabergoline, a dopamine agonist, and prolactin on progesterone secretion during mid-pregnancy and diestrus. *Dom Anim Endocrin.*, **14**, 25–38

44. **Padula AM** (2005): GnRH analogues-agonists and antagonists, *Anim Reprod Sci*, **88**, 115-126.
45. **Padula AM, Macmillan KL** (2005): Restoration patterns for luteinizing hormone and ovarian function following treatment with GnRH agonist implants (deslorelin) for 7, 14 or 21 days in cycling dairy cows, *Anim Reprod Sci*, **87**, 11-24.
46. **Palmer CW, Post K** (2002): Prevention of pregnancy in the dog with a combination of prostaglandin F₂ α and bromocriptine. *Can Vet J*, **43**, 460–462.
47. **Paria BC, Lim H, Wang XN, Liehr J, Das SK, Dey SK** (1998): Coordination of different effects of primary estrogen and catecholestrogen on two distinct targets mediates embryo implantation in the Mouse. *Endocrinol.*, **139**, 5235-5246.
48. **Pretzer SD** (2008): Canine embryonic and fetal development: A review. *Theriogenology*, **70**, 300-303.
49. **Reissmann T., Schally A.V., Bouchard P., Riethmüller H., Engel J.** (2000): The LHRH antagonist Cetrorelix: a review. *Human Reprod*, Vol. 6, No. 4 pp. 322-331.
50. **Romagnoli S** (2006): Control of reproduction in dogs and cats: use and misuse of hormones. *World Congress WSAVA/FECA/CSAVA*, Prague, Czech Republic.
51. **Romagnoli SE, Camillo F, Novellini S, Johnson SD, Cela M** (1996): Luteolytic effects of prostoglandin F₂ α on day 8 to 19 corpora lutea in the bitch. *Theriogenology*, **45**, 397-403.
52. **Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID** (1999): Morphological evidence for the ‘implantation window’ in human luminal endometrium. *Hum Reprod.*, **14**, 1301-3106.
53. **Sarkar NN** (2002): Mifepristone: bioavailability, pharmacokinetics and use-effectiveness. *Eur J Obstet Gyn.*, **101**, 113-120.
54. **Steinetz BG, Goldsmith LT, Hasan SH, Lust G** (1990): Diurnal variation of serum progesterone, but not relaxin, prolactin, or estradiol-17 β in the pregnant bitch. *Endocrinology*, **127**, 1057–1063.

55. **Sunder S, Lenton E** (2000): Endocrinology of the Peri-Implantation Period. *Clinical Obstetrics and Gynaecology*, **14**, 789-800.
56. **Sutton DJ, Geary MR, Bergman JG** (1997): Prevention of pregnancy in bitches following unwanted mating: a clinical trial using low dose oestradiol benzoate. *J Reprod Fertil Suppl.*, **51**, 239-243.
57. **Tarlatzis BC, Bili H** (2004): Safety of GnRH agonists and antagonists. *Expert Opin Drug Saf.*, **3**, 39-46.
58. **Valiente C, Arias D, Blanco PG, Corrada Y, Gobello C, Sota PE** (2009): Comparison of two doses of the GnRH antagonist, Acyline, for pregnancy termination in bitches. *Reprod Dom Anim.*, **44(2)**, 156- 159
59. **Verstegen J, Silva LDM, Onclin K** (1996): Mise au point sur le diagnostic de gestation chez les carnivores domestiques. *Ann Med Vet.*, **140**, 81–98.
60. **Verstegen-Onclin K, Verstegen J** (2008): Endocrinology of pregnancy in the dog. *Theriogenology*, **70**, 291-299.
61. **Vickery BH, McRae GI** (1980): Synchronization of oestrus in adult female rats by utilizing the paradoxical effects of an LH–RH agonist. *J Reprod Fertil.*, **60**, 399–402.
62. **Wanke MM, Romagnoli S, Verstegen J, Concannon PW** (2002): Pharmacological Approaches to Pregnancy Termination in Dogs and Cats Including the Use of Prostaglandins, Dopamine Agonists, and Dexamethasone. In: *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, Ed(s): P.W. Concannon, G. England, J. Verstegen and
63. **Weiss DJ, Klausner JS** (1990): Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). *J Am Vet Med Assoc.*, **196**, 472-475.
64. **Wiebe VJ, Howard JP** (2009): Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. *Top Companion Anim M.*, **24**, 71-99.
65. **Wimsatt WA** (1975): Some comparative aspects of implantation. *Biol Reprod.*, **12**, 1-40.
66. **Wright PJ, Verstegen JP, Onclin K, Jochle W, Armour AF, Martin GB, Trigg TE** (2001): Suppression of the oestrous responses of bitches to the GnRH analogue deslorelin by progestin, *J Reprod Fertil Suppl.*, **57**, 263-268.

8. EKLER

8.1. Hasta Sahibi İzin Formu

HASTA SAHİBİ İZİN FORMU

.../.../201..

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Köpeğiniz bilimsel bir araştırmada kullanılmak istenmektedir. Köpeğinizin araştırmaya katılmasını isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağına çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Bu formu doldurup imzalamanız durumunda köpeğiniz araştırmada kullanılabilir.

Hasta Sahibinin Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon:

İmza

Hastanın Adı:

İrki:

Yaşı:

ARAŞTIRMANIN ADI NEDİR?

Diöstrus döneminde olan Köpeklere GnRH antagonisti (Cetrorelix) uygulamalarının progesteron değerine etkisinin araştırılması.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Bu araştırmanın amacı, GnRH antagonistlerinin, diöstrus evresindeki köpeklerde P4 değeri üzerine etkisini araştırmaktır. Böylelikle GnRH antagonistlerinin köpeklerde gebeliğin devamı için gerekli olan P4 hormonu üzerine etkisi ortaya konulacak ve gebe köpeklerde abortus/rezorbsiyon amacıyla kullanılabilirliğini araştırmak için yapılacak çalışmaların yol göstericisi olarak ön hazırlık niteliğinde olacaktır.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Köpeğin boyun derisi altına 1 ml'lik ilaç enjekte edilecek ve 5 gün boyunca günde 1 defa olmak üzere toplam 5 kez 5 ml kan alınacak

Sorumlu Araştırmacın

Adı ve Soyadı:

Telefonu:

İmzası:

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hafize Tuğba YÜKSEL
Doğum Yeri ve Yılı : Eskişehir-1987
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Uyruğu : T.C.
Telefon No : 5549086858
Elektronik Posta : vettugbayuksel@gmail.com
İletişim Adresi : 75. Yıl Mahallesi, Uğur Mumcu
Caddesi, No:21
Odunpazarı/ESKİŞEHİR



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans:

Yüksek Lisans: Akdeniz Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, 2010

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Ahmet Kurt Veteriner Kliniği (2 Yıl)

2.

...

Yayımları (SCI ve diğer makaleler):

1.

2.

...

Üyesi Olduğu Mesleki Kuruluşlar

1.

2.

...