



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
VDJ-YL-2014-0001

**SÜTÇÜ DÜVELERDE MELOKSİKAM'IN SUNİ
TOHUMLAMA SONRASI FARKLI UYGULAMALARININ VE
DOZLARININ GEBELİK ORANINA ETKİLERİ**

Eyyüp Hakan UÇAR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN

AYDIN-2014

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
VDJ-YL-2014-0001**

**SÜTÇÜ DÜVELERDE MELOKSİKAM'IN SUNİ
TOHUMLAMA SONRASI FARKLI UYGULAMALARININ VE
DOZLARININ GEBELİK ORANINA ETKİLERİ**

Eyyüp Hakan UÇAR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN

AYDIN-2014

ÖNSÖZ

İneklerden yılda bir yavru elde etmek, düvelerin de pubertasa erişince uygun olan en kısa zamanda tohumlanarak gebe kalmalarını sağlamak, ekonomik sığır yetiştiriciliğinde en önemli amaçlardan biridir. Bu sebeple hayvanların ilk tohumlamada gebe kalmaları arzulanır.

Sığırlardaki ovulasyon bozuklukları (ovulasyon gecikmesi, anovulasyon), fertilizasyonda başarısızlık (fertilizasyonun oluşmaması), genital organ enfeksiyonları, erken embriyonik ölümler, östrusun tam tespit edilememesi ve dolayısıyla zamanında tohumlamanın yapılamaması ve hormonal dengesizlikler veya yetersizlik, ya doğum ile gebe kalma aralığını uzatarak ya da yapılan tohumlamalarda gebe kalmaya engel olarak, infertiliteye sebep olmaktadır.

Bu fertilitate problemleri için bir takım uygulamalar yapılarak bu problemlerin önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Gonadotropin Salgılatıcı Hormon ve Human Chorionic Gonadotropin, tohumlama anında veya sonrasında farklı günlerinde uygulanarak ovulasyona yardımcı olması ve luteinizasyonu uyarması, aksesorkorpusluteum oluşumunu stimule ederek progesteron hormonunu desteklemesi etkilerinden faydalanılmaktadır. Progesteron uygulaması ile bu hormonun yetersizliği bulunan hayvanlarda konsantrasyon artırılarak gebeliğin devam etmesi amaçlanmaktadır.

Son yıllarda bu uygulamalara ilave olarak erken embriyonik dönemde Prostaglandin $F_2\alpha$ sekresyonunu baskılayarak korpusluteumun lizisini engellemek suretiyle gebeliğin devam etmesi sağlanmaktadır. Bu amaçla Non-steroid Anti-inflamatuar ilaçlar kullanılmaktadır. Bu grup ilaçlar, siklooksijenaz enzimlerinin (COX-1 ve COX-2) inhibisyonu ile Prostaglandin $F_2\alpha$ üretimini önleyerek gebeliğin maternal tanınma sürecinde korpusluteumun lize olmasını engellemektedirler. Flunixin megluminin gebelik üzerine pozitif etkili olduğu belirtilmektedir. Yarılanma ömrü daha uzun olan selektif COX-2 inhibitörü meloksikam ise Prostaglandin $F_2\alpha$ üretimini engellemesi yanında, COX-2'yi de uzun süre baskılaması nedeniyle gebelik oranına olumlu etkisinin olmadığı vurgulanmaktadır.

Bu çalışmada, meloksikamın dozu yarıya indirilmiş ve bu yarı dozu tek ve iki doz şeklinde uygulanmıştır. Bu uygulama ile COX-2 aktivitesi üzerine etkisini azaltmak, Prostaglandin F₂α'nın sekresyonunu daha uzun süre baskılayarak gebelik oranı ve progesteron konsantrasyonu üzerine nasıl bir etki meydana getireceğini araştırmak amaçlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1.Östrus Siklusu ve Foliküler Dinamik.....	1
1.1.1. Proöstrus (18-21. günler).....	2
1.1.2. Östrus (0. gün).....	2
1.1.3. Metöstrus (1-4. günler).....	2
1.1.4. Diöstrus (5-17. günler).....	3
1.1.5. Foliküler Dinamik.....	3
1.1.6. Fertilizasyon.....	5
1.2. Embriyonik Dönem.....	6
1.3. Prostaglandin F ₂ Alfa (PGF ₂ α) ve Etki Mekanizması.....	7
1.3.1. Ovulasyonda Prostaglandin Etkisi.....	9
1.3.2. Luteolizis ve Prostaglandin Etkisi.....	10
1.3.3. Gebeliğin PGF ₂ α Sekresyonu Üzerine Regülatör Etkisi.....	13
1.3.4. Oksitosinin Luteal Regresyondaki Etkisi.....	14
1.4. Gebeliğin Anne Tarafından Tanınması.....	15
1.4.1. İnterferon Tau'nun (IFNT) Antiluteolitik Etkisi.....	16
1.5. Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar.....	19
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
2.1. Hayvan Materyali.....	27
2.2. Senkronizasyon Protokolü ve Çalışma Dizaynı.....	27
2.3. İstatistiksel Bulgular.....	28
3. BULGULAR.....	29
3.1. Gebelik Muayenesi Bulguları.....	29

	Sayfa
3.2.Labaratuvar Bulguları.....	30
3.2.1. Gebe Hayvanların Labaratuvar Bulguları.....	31
3.2.2. Gebe Olmayan Hayvanların Labaratuvar Bulguları.....	32
4. TARTIŞMA.....	34
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	37
ÖZET.....	38
SUMMARY.....	39
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	49
TEŞEKKÜR.....	50

KISALTMALAR

P4	Progesteron Hormonu
E2	Östrojen Hormonu
OT	Oksitosin Hormonu
OTR	Oksitosin Reseptörü
E2 α	Östrojen Reseptörü
CL	KorpusLuteum
GnRH	Gonadotropin Salgılayıcı Hormon
FSH	FolikülStimule Edici Hormon
LH	Luteinleştirici Hormon
PGF ₂ α	Prostaglandin F ₂ alfa
IFNT	İnterferon Tau
PG	Prostaglandin
NSA	Non-steroidantienflamatuar
NSAİİ	Non-steroidantienflamatuar ilaç
COX-1	Siklooksijenaz 1 Enzimi
COX-2	Siklooksijenaz 2 Enzimi
bTP-1	Sığır Trophoblast Protein-1
oTP-1	Koyun Trophoblast Protein-1
PGHS-2	Prostaglandin H-sentaz 2
roIFN-T	Rekombinant koyun interferon tau
LPO	Lipoksijenaz
FM	FlunixinMeglumin
SC	Subkutan
TSH	Tiroit Uyarıcı Hormon
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge 3.1	Tüm hayvanların gebelik muayenesi sonuçları.....	29
Çizelge 3.2	Tüm gruplardaki P4konsantrasyon oranları ile gebelik oranları.....	30
Çizelge 3.3	Sadece gebe olan hayvanların P4konsantrasyonları.....	31
Çizelge 3.4	Gebe olmayan hayvanların P4konsantrasyonları.....	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

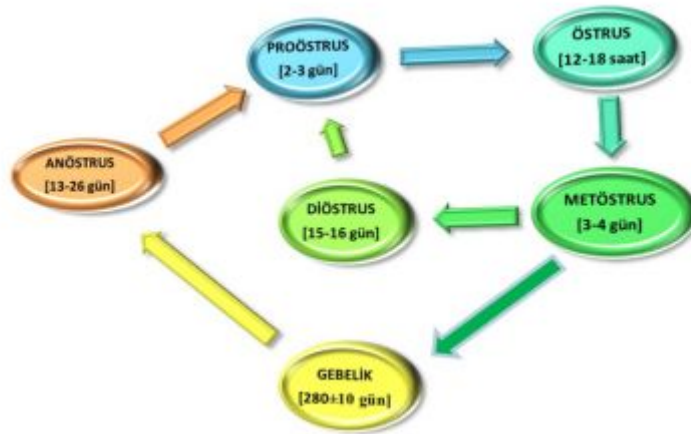
	Sayfa
Şekil 1.1	İneklerde Östrus Siklusu..... 1
Şekil 1.2	İneklerde Foliküler Dalga..... 4
Şekil 1.3	Embriyo gelişiminin bağlantı öncesi şematik gösterimi..... 5
Şekil 1.4	Embriyonik Dönem..... 7
Şekil 1.5	Araşidonik Asit Kaynaklı Ürünler Şeması..... 8
Şekil 1.6	Siklooksijenaz Ürünler..... 9
Şekil 1.7	CL ve uterus arasındaki ilişki açısından yapılan çalışmalar..... 11
Şekil 1.8	Maternal tanımlama ve luteolizis..... 12
Şekil 1.9	PGF ₂ α'nın ovaryum arterlerine geçişi..... 13
Şekil 1.10	Ruminantlarda IFN-T..... 18
Şekil 1.11	Non-Steroid Antienflamatuvar İlaçların Sınıflandırılması..... 20
Şekil 2.1	Tek doz Meloksikam grubunda çalışma dizaynı..... 28
Şekil 2.2	İki doz Meloksikam grubunda çalışma dizaynı..... 28
Şekil 3.1	P4 Düzeyindeki değişiklikler..... 33

1.GİRİŞ

1.1. Östrus Siklusu ve Foliküler Dinamik

Pubertasa ulaşan sağlıklı düveler ile gebe olmadıkları dönemlerde inekler, belirli zaman aralıkları ile tekrarlanan ve dış belirtileri ile de fark edilebilen erkeği kabul etme davranışları gösterirler (Bülbül 2004). Dişi hayvanların belli fizyolojik ve psişik belirtiler göstererek erkeği kabul etme durumuna **kızgınlık (östrus)** denir. İneklerde bir östrus döneminden, takip eden diğer östrus dönemine kadar geçen süre **östrus siklusu** ya da **seksüel siklus** olarak tanımlanır (Çoyan 1994).

Östrus siklusu pubertas döneminde başlar ve yalnızca gebelikte kesintiye uğramak koşuluyla hayvanların bütün seksüel yaşamları boyunca devam eder. Dişi sığırlar poliöstrik hayvanlardır ve yıl boyunca östrus gösterme eğilimindedirler. Düvelerde siklusun uzunluğu ortalama 20 gündür (18-22 gün). İneklerde ortalama 21 gündür (18-24 gün) (Ak ve ark 2005). Bu süre siklus boyunca görülen foliküler dalga sayısına bağlı olarak birkaç günlük değişimler göstermektedir. Son yıllarda iki foliküler dalganın geliştiği siklusların 19–20 gün, üç foliküler dalganın geliştiği siklusların 21–22 gün, dört foliküler dalgalı siklusların ise 23 gün sürdüğü bildirilmektedir (Çimen 2008).



Şekil 1.1 İneklerde Östrus Siklusu (Anonim 2014)

Östrus siklusu yaygın olarak biri diğerine bağlı olan proöstrus (18-21. günler), östrus (0. gün), metöstrus (1-4. günler) ve diöstrus (5-18. günler) olarak 4 evreye ayrılmaktadır (Çoyan ve Tekelli 1996, Cirit 2002, Daşkın 2005). Bazı araştırmacılar ise

östrüs siklusunu, proöstrus ve östrusu içine alan "**östrojenik** veya **folliküler faz**" ve metöstrus ve diöstrüsü içine alan "**progostatif** veya **luteal faz**" olmak üzere iki periyoda ayırmayı tercih etmektedirler (Roberts 1991, Cirit 2002).

1.1.1. Proöstrus (18-21. günler)

Östrusten hemen önceki dönem olup, süresi 2-3 gündür ve reproduktif sistem aktivitesinde belirgin bir artış ile karakterizedir. Proöstrus, fizyolojik olarak, korpus luteum (CL) regresyonu ve Progesteron (P4) seviyesindeki azalma sonucu, Gonadotropin Salgılayıcı Hormon'un (GnRH) salgısıyla başlar. Bu dönemde, GnRH ve Folikül Stimule Edici Hormon (FSH) etkisiyle ovaryumlarda foliküler büyüme başlar ve sonuçta gelişen foliküllerden östrojen (E2) salgılanarak hem genital kanalda fizyolojik değişikliklere hem de kızgınlık belirtilerine neden olur. Bu dönem, hayvanın çiftleşmeyi kabul etmesiyle son bulur (Bearden ve Fuquay 2000, Noakes ve ark 2001).

1.1.2. Östrus (0.gün)

Östrus, dişilerin endokrinolojik, fizyolojik ve psikolojik etkiler altında çiftleşmek için erkeği kabul ettikleri dönemdir. İneklerde östrus ortalama 12-18 saat sürer, fakat farklılıkların olabileceği daima göz önüne alınmalıdır (Ak ve ark 2005).

1.1.3. Metöstrus (1-4.günler)

Ovulasyon sonrası aktif CL oluşma safhasıdır. Bu dönemdeki inekler boğanın aşmasına izin vermezler. Östrojen hormonunun etkisiyle uterus hiperemi oluşur ve hiperemi ile birlikte kılcal damarlardan diapedez yoluyla dışarı sızan kan uterus lümeninde toplanarak çamaşır ile karışık olarak dışarı atılır. Metöstrus kanaması genellikle östrustan yaklaşık 48 saat sonra görülür ve suböstrustaki hayvanların seksüel aktivitelerinin dışarıdan tanınabilen nadir semptomlarından biridir. Metöstrus kanamaları ineklerin erken veya geç tohumlandığının bir ölçüsü olabilir. Tohumlamadan 2 gün sonra görülen kanama tohumlamanın uygun zamanda yapıldığını gösterir. Ovulasyon, metöstrusta genellikle östrus semptomlarının bitiminden 8-12 saat sonra meydana gelir (Ak ve ark 2005).

Uterus, serviks ve vagina kökenli salgılarda azalma vardır. Ovulasyon sonrası yine Luteinleştirici Hormon (LH) etkisi ile ovulasyon yerindeki luteal hücreler CL'ü oluşturur. Bu dönemde E2 ve P4 seviyeleri düşüktür. Korpus luteum, gelişmeye başlayıp P4 salgılayarak, artık metöstrus süresi tamamlanır. Diğer bir deyişle metöstrus, diöstrusun

hazırlık aşaması gibidir. İneklerde bu dönem 2-4 gün sürer (Bearden ve Fuquay 2000, Daşkın 2005).

1.1.4. Diöstrus (5-17.günler)

Diöstrus, metöstrus ile birlikte luteal fazı oluşturur. Östrus siklusunun en uzun dönemi olan diöstrus yaklaşık 12-16 gün sürer. Korpus luteum, siklusun 14-16. günlerinde maksimum büyüklüğe ulaşır. Bu dönemde, gelişen CL'dan salgılanan P4, hipotalamusa olumsuz başa tepki yaparak GnRH'u ve dolayısıyla FSH ve LH salgısını durdurarak östrus davranışlarını ve ovaryumdaki foliküler faaliyetleri durdurur. Salınan P4 etkisiyle ayrıca endometriyum bezleri uzar ve kıvrımlı bir hal alarak salgı yapar. Buna **uterus sütü** adı verilir. Uterus sütü, implantasyon öncesi dönemde embriyonun uterusta yaşaması ve beslenmesi için önemlidir (Bearden ve Fuquay 2000).

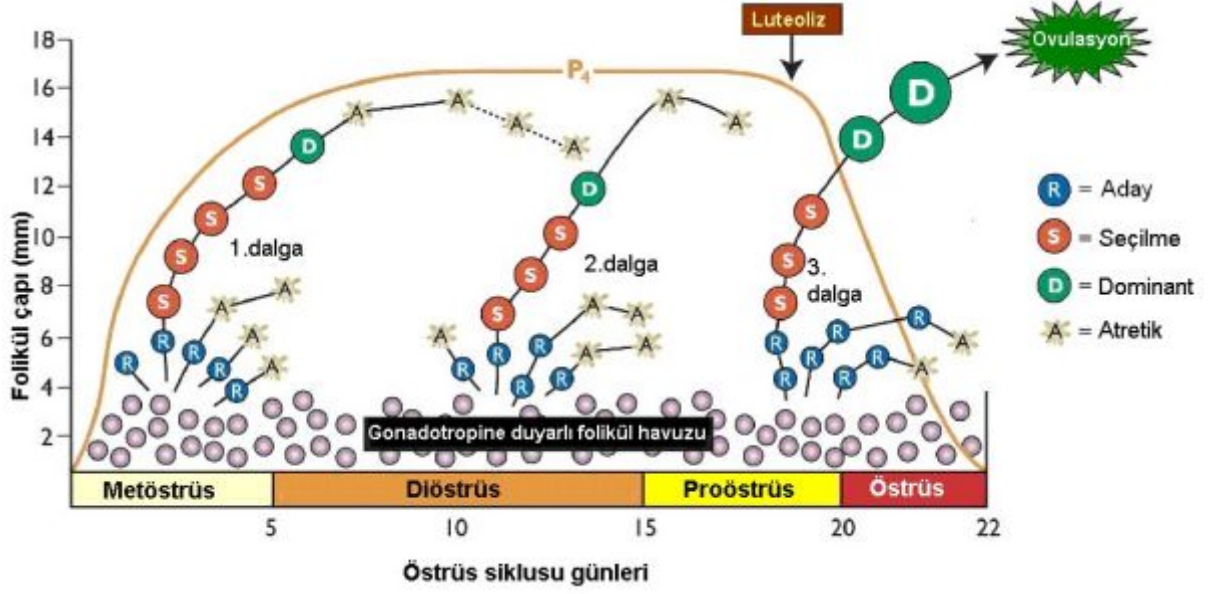
Eğer inekte gebelik şekillenmemişse, siklusun 16-18. günlerinde uterustan salınan PGF₂ α etkisiyle CL regrese olur. Luteal regresyona bağlı olarak, P4 seviyesi düşer. P4'un seviyesinin düşmesi hipotalamus ve hipofiz üzerindeki olumsuz başa tepkiyi kaldırır. Böylece siklus yeniden başlar. Gebelik şekillenirse, siklik CL, gebelik CL'u olarak varlığına devam eder (Binelli ve ark 2001).

1.1.5. Foliküler Dinamik

Bir inekte siklus sırasında iki veya üç foliküler dalga görülebilir. İki dalgalı siklusta; birinci dalga ovulasyon günü (1. gün) başlar. Dominant folikül 6 gün büyür (büyüme fazı), izleyen 6 günde aynı ölçüde kalır (statik faz) ve sonra regrese olur. İkinci dalga 10. günde başlar ve dominant folikül Graaf folikülüne kadar gelişir. İki dalgalı inekte; birinci dalganın dominant folikülünün statik fazı (6-12. günler) ile ikinci dalganın ovulasyondan bir gün önceki folikülünün büyüklüğü arasında önemli bir fark yoktur (15.8-16.2 mm). Böylece siklusun 4. gününden, izleyen ovulasyona kadar en az 1 adet büyük folikül (>12 mm) mevcuttur. Bununla beraber, preovulator folikül tanısı ancak siklusun sonunda bulunduğu konulabilir.

Üç dalgalı siklusta ise, birinci, ikinci ve üçüncü dalgalar, 0, 9 ve 16. günlerde başlar. İlk iki dalganın dominant folikülü ovulasyon göstermez, üçüncü dalganın dominant folikülü ise Graaf folikülü aşamasına ulaşır. Siklustaki dalga adedi siklusun uzunluğu ile

ilgilidir. Üç dalgalı sıklusta luteal faz (19.2 gün) ve ovulasyonlar arasındaki süre (22.8 gün), iki dalgalı sıklusa kıyasla daha uzundur (Alaçam 2005).



Şekil 1.2. İneklere ait Foliküler Dalga (Senger 2003)

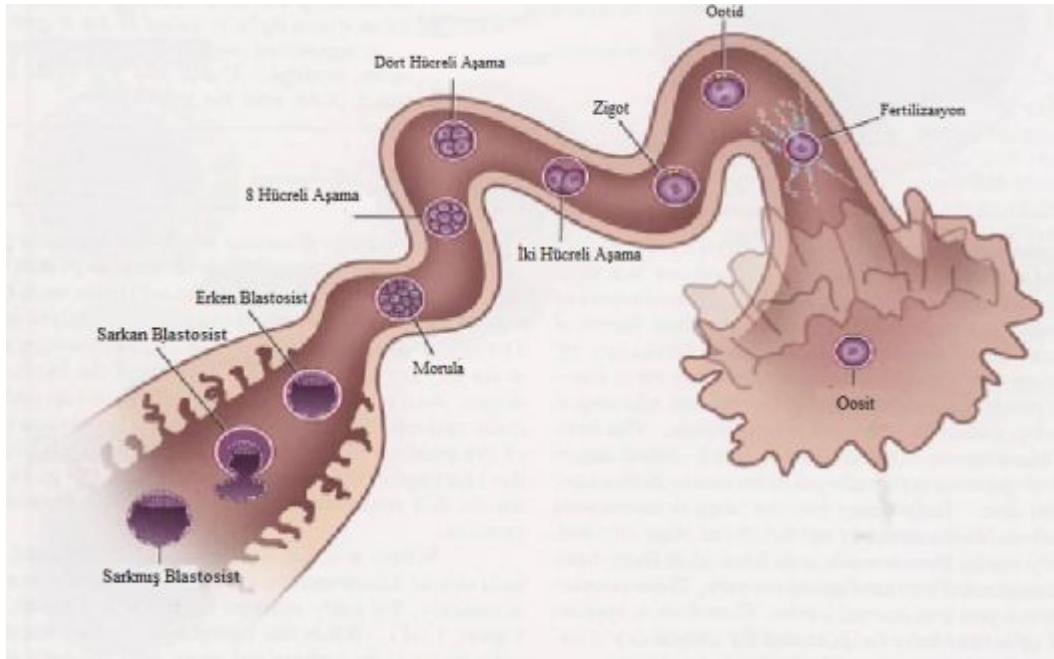
Kimi araştırmacılar ineklerde iki foliküler dalga (Ahmad ve ark 1997, Burke ve ark 2000), kimileri ise üç foliküler dalga görüldüğünü (Ahmad ve ark 1997, Burke ve ark 2000, Bellmann ve ark 2001) ileri sürmektedirler. Bu arada 4 foliküler dalgadan (Rhodes ve ark 1995) söz edenler de bulunmaktadır (Kantiz 2007).

Hem iki, hem de üç dalgalı sıklusta dominant folikül, ancak CL regrese olduğunda Graaf folikülü haline alır. Dominant folikülde son olgunlaşma ve ovulasyon luteal regresyonu takiben ve preovulator LH yükselmesinden sonra şekillenir. Ovulasyon gösterecek folikülün büyümesi izleyen siklusun ilk dalgasını geciktirir ve izleyen dalga ovulasyon günü başlar. Foliküler dalgalar sadece siklik ineklerde görülmez. İki aylıktan itibaren prepubertal dönemde ve gebe ineklerde de şekillenir. Gebe düvelerde ya da P4 verilen gebe olmayan düvelerde, foliküler dalgalar düzenli aralıklarla devam eder (dalgalar arasındaki süre ortalama 8-10 gün). Gebe ineklerin hemen hepsinde en az bir adet (>12 mm) büyük folikül bulunabilir. Gebe inekler arasında östrüs gösterme oranı %1-10 (ortalama %7) olarak belirlenmiştir. Sütçü ineklerde doğumdan sonra ilk dominant folikül 12±8.9 günlerde şekillenir. Vücut kondisyonu iyi ineklerde ilk dominant folikül %70-80 ovulasyona ulaşabilir (Alaçam 2005).

1.1.6. Fertilizasyon

Gebelik, fertilizasyon ile başlayıp yavrunun doğumu ile tamamlanan bir süreçtir. Yüz milyonlarca spermatozoondan sadece bir tanesinin, oosit içerisine girerek iki tane haploid (n) kromozomlu hücreden, diploid (2n) kromozomlu hücre oluşması olayına **döllenme** veya **fertilizasyon** denir (Aktümsek 2001).

Ovumun fertil ömrü 20-24 saattir. Ovaryumdan atılan ovum yaklaşık 15 dakika süre ile infundibulumda kalır ve bundan yaklaşık 1-1,5 saat sonra da fertilizasyon bölgesi isthmusa gelir. Ovulasyondan sonra isthmusa gelene kadar bile fertilité yeteneği hızla düşmeye başlar ve döllenmeyen ovumun fertilizasyon yeteneği uterusu ulaştığında tamamen kaybolmuştur. Fertil ömrünün sonlarında döllenbilse bile, ovumun implantasyon yeteneği kaybolmuştur ve embriyonik kayıpların büyük bir kısmı bu yaşlı ovum fertilizasyonuna bağlıdır (Daşkın 2005).



Şekil 1.3. Embriyo gelişiminin bağlantı öncesi şematik gösterimi (Senger 2003)

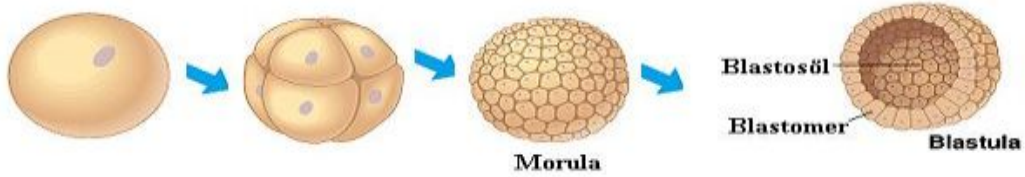
Spermatozoonların fertilité yeteneği kazanması (kapasitasyon) için dişi genital kanalında ihtiyaç duydukları zaman yaklaşık 5 saattir. Spermatozoonların fertil yaşam süresi ise dişi genital kanalında yaklaşık 30-48 saattir. Ancak fertil yaşam süresi, fertilité ile karşılaştırılarak ölçülen ve dişi genital kanalında saatler ilerledikçe hızla azalan maksimum bir süreyi ifade eder ve spermatozoonların motilitelerinden çok daha önce bu özelliklerini kaybederler (Daşkın 2005).

1.2. Embriyonik Dönem

Embriyonik dönem, fertilizasyondan sonra zigotun bölünerek embriyoyu oluşturması ile başlar. Zigot, ortalama 0.2 mm çapında, zona pellucida içerisinde tek hücresi olan ve bölünüp çoğalarak buzağıya dönüşebilecek potansiyele sahip bir organizmadır. İlk bölünme sonrası iki hücreli embriyo şekillenir ve bu hücreler blastomer olarak adlandırılırlar. Daha sonra bölünmeye devam eden blastomerler sırasıyla 4, 8 ve daha sonra 16 hücreli bir yapıya (morula) dönüşürler. Bu döneme kadar hücre sayısı artmakla birlikte, embriyo halen aynı hacimde bir sitoplazmaya sahip bulunmaktadır. Morula aşamasında hücreler iç taraf ve dış taraf hücreler olmak üzere ayrılmaya başlarlar. İç taraftaki hücreler arasında gap junction, dış taraftaki hücreler arasında ise tight junction şekillenmeye başlamaktadır. Tight junction şekillenmesi sonucu, embriyo içerisine sıvı toplanması başlar ve zona pellucida içerisinde sıvı ile dolu bir boşluk şekillenir. Bu boşluk blastosel olarak adlandırılır. Blastosel fark edilir büyüklüğe ulaştınca embriyo blastosist olarak adlandırılmaktadır. Blastosist aşamasında polar kısımda bir grup hücre ileride embriyo taslağını oluşturmak üzere değişikliğe uğrarken (inner cell mass: iç hücre kümesi), diğer hücreler (trofoblast) ekstra embriyonik zarlar ve plasentanın oluşumuna katılmak üzere blastoselin etrafını sararlar. Devam eden mitozis ve blastosel içerisine sıvı akımı, embriyonun büyümesine ve basıncın artmasına neden olmaktadır. Bunun yanında trofoblastik hücreler tarafından proteolitik enzimler salgılanır ve bu enzimler sayesinde zona pellucida direnci zayıflamaya başlar ve blastosistin kontraksiyonları sonucu yırtılır. Bu açıklık içerisinden blastosist hücreleri dışarıya çıkarlar ve uterus içerisinde serbest yüzen bir yapı kazanırlar (hatching: sarkma) (Senger 2003). Genişlemeye (ekspansiyon) devam eden embriyo yaklaşık 13. günde hızla uzayarak (elongation) sırasıyla küresel, oval ve filamentöz biçimlere değişimler gösterir. Gebeliğin 13. gününde ortalama 5 mm uzunluğunda, 1 mm çapındaki embriyo, 16. günde gebe kornunun tamamını kaplar (Ergene 2009).

Gelişimin ilk haftası sonunda embriyo blastosist aşamasındadır ve bu dönemde % 7-16 arasında bir embriyonik ölüm ya da dejenerasyon görülebileceğini bildirilmektedir. İkinci haftanın sonunda bildirilen embriyo ölümleri %6-44 arasında değişiklik göstermektedir. Gelişimin 3. haftası gebeliğin anne tarafından tanınması ve gelişimin devamı için kritik bir dönemdir. Gelişimin 16. gününden önce meydana gelen embriyonik ölümler sonrasında ineklerin hiç tohumlanmamış gibi östrus gösterdikleri, daha sonraki

günlerde meydana gelen embriyonik ölümlerde ise iki östrus arası sürenin uzadığı belirtilmektedir. Üçüncü hafta sonundaki embriyonik kayıpların %3-33 oranında olduğu bildirilmiştir. Dört ve 8. haftalar arasındaki gelişme ise organların şekillenmesi ile karakterizedir. Bu gelişme boyunca embriyonik ölümlerin %19-42 oranında olduğu tespit edilmiştir. Embriyonik dönem (45 gün) sonundaki gebelik oranlarının yaklaşık buzağılama oranları ile aynı olduğu bildirilmiştir (King 1991).



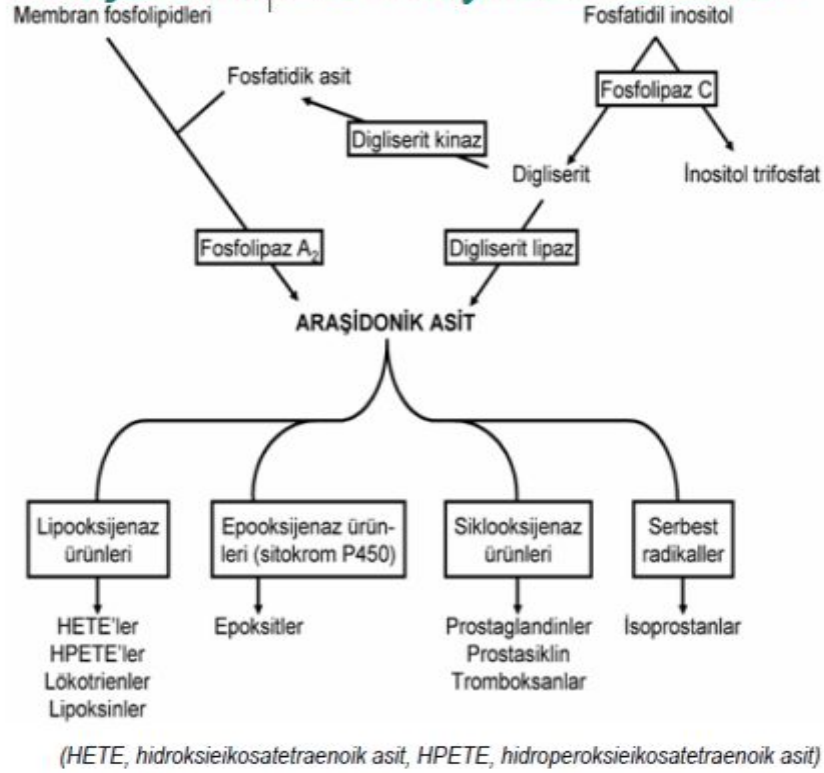
Şekil 1.4. Embriyonik Dönem (Senger 2003)

Konseptus uterustan, trofoblasta zarar verilmeden, en geç 18. günde toplanabilmektedir. Bu günden sonra trofoblast ve uterus epitelyumu arasında hücresel bağlantılar kurulmaya başlamaktadır (apozisyon). İnterkarunkular endometrium ile karşı karşıya gelen trofoblastta küçük çıkıntılar oluşur ve uterus bezlerinin açıklıklarına doğru ilerler. Böylece trofoblast ve uterus epitelyumu arasında bir hareketsizlik sağlanır. Apozisyon, embriyonik alanda başlar, konseptusun uçlarına doğru yayılarak gebeliğin 21-22. günlerinde tamamlanır. Daha sonra uterus mikrovilluslarının trofoblastik hücrelerinin plazma zarlarına penetrasyonu ile karakterize adezyon aşamasına geçilir. Plasentanın şekillenmesi ile embriyonal dönem, 42-45. günlerde tamamlanır (Guillomot 1995).

1.3 Prostaglandin F₂ Alfa (PGF₂α) ve Etki Mekanizması

Prostaglandinler (PGs), organizmada üç, dört ya da beş çift bağ içeren 20 karbonlu doymamış yağ asitlerinden türerler. Bunlar; **eikosatrienoik asit**, **eikosapentaenoik asit** ve **eikosatetraenoik asit (araşidonik asit)**'lerdir. Bunlar oluşurken ikişer çift bağ kaybederler ve sırasıyla **dienoik**, **trienoik** ve **monoenoik** nitelikteki **prostaglandinler**, **prostasiklinler** veya **tromboksanlar** meydana gelir. Memelilerde iki çift bağ içeren (dienoik) PGs'in en önemli kaynağı araşidonik asittir. Araşidonik asit, hücre zarında diğer iki yağ asitlerine oranla daha çok bulunur. Dolayısıyla memeli vücudunda en çok bulunan PGs'de araşidonik asitten oluşanlardır.

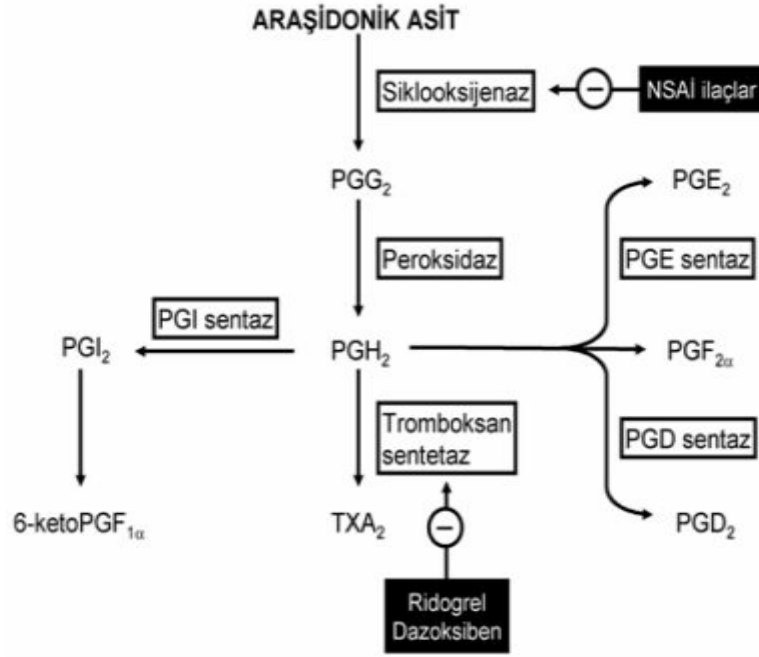
Araşidonik Asit Kaynaklı Ürünler



Şekil 1.5. Araşidonik Asit Kaynaklı Ürünler Şeması (Süzer 2009)

Araşidonik asit, aynı zamanda alınan besinlerdeki linoleik asitten de türemektedir. Besinlerle alınan bu yağ asitlerinin büyük bir kesimi fosfolipitlerin yapısına girer. Prostaglandin oluşumunda kullanılan yağ asitlerinin başlıca kaynağı hücre zarı fosfolipidleri, daha az olarak da diğer lipid bileşiklerdir. Memelilerin hemen bütün doku hücrelerinde PG oluşur ve beden sıvılarına salınır. Hücre zarı fosfolipitlerindeki araşidonik asit, fosfolipaz A₂ enzimi etkisi ile serbest hale gelir. Serbest hale geçen araşidonik asit ise hemen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimi ile alt ürünlerine dönüşür. Siklooksijenaz enzimi ile PGG₂ oluşur. Bazı non-steroid antiinflamatuar (NSA) ilaçlar siklooksijenaz salınımını kısıtlayarak dokulardan PG salınımını azaltır. Buna karşın katekolaminler, serotonin ve östrojenler, enzimin etkinliğini artırır. PGG₂ daha sonra hidroksiperoksidaz etkisi ile PGH₂'ye dönüşür. PGG₂ ve PGH₂'ye siklikendoperoksitler de denir. E, D ve F grubu prostaglandinler PGH₂α'den oluşur. PGF₂α'nın enzim etkisi olmaksızın PGH₂'nin doğrudan doğruya indirgenmesi sonucunda oluştuğu sanılmaktadır.

Siklooksijenaz Ürünleri



Şekil 1.6. Siklooksijenaz Ürünler (Süzer 2009)

Prostaglandinler (PGs) oluştuğu dokularda depo edilmez, oluşur oluşmaz hemen salınırlar, etkisini oluştuğu dokularda ya da bu dokuların yakınında yerel olarak gösterirler ve etkileri çok değişiktir. Prostaglandinler, tiroit uyarıcı hormon (TSH), adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve LH etkilerinin tiroit, böbreküstü bezi korteksi ve yumurtalıklar ya da testisler gibi hedef dokulara ulaşımında rol oynar. Bu trofik hormonlar hücre zarındaki reseptöre bağlanır. Bu durum prostaglandin sentetaz enzimi etkinliğinin artmasına neden olur ve böylece PG oluşumu artar. Prostaglandinler de büyük olasılıkla kendine uygun özel bir PG reseptörü aracılığıyla hedef hücre zarındaki adenilat siklazı etkin hale getirir. Sonuçta PG etkisi ile artan siklik AMP hedef hücrelerin işlevini artırır. Buna karşın hücrenin işlevi baskı altında tutulursa, siklik AMP’de azalma söz konusudur. Prostaglandinler hemen her hücrede siklik AMP’ye etkimektedir (Türker ve Kayaalp 2013).

1.3.1. Ovulasyonda Prostaglandin Etkisi

Ovulasyondan sonra olgun folikülün yerinde CL gelişir ve buradan P4 salınımı artar. Diğer yandan gelişen ve olgunlaşan folikülün granuloza hücrelerinden ovulasyondan önce

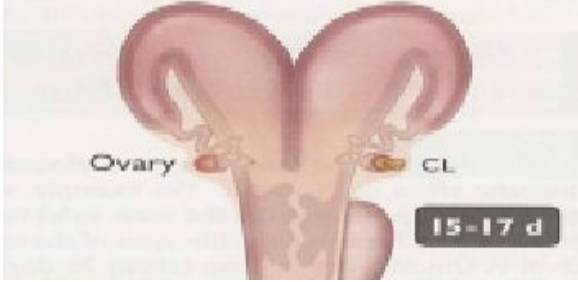

büyük oranda $PGF_2\alpha$, PGE_2 ve artan oranda $17-\beta$ östradiol salınır. $17-\beta$ östradiol, endometrium hücrelerinin sitozolündeki kendine özgü özel bir reseptöre ($17-\beta$ östradiol reseptörleri) bağlanır. Bu karmaşık oluşum, hücrenin çekirdeğine taşınır ve burada DNA'yı etkileyerek haberci RNA (hRNA) oluşumunu hızlandırır. hRNA da oksitosin reseptörleri oluşumunu uyarır. Oksitosin, bu reseptörleri etkin hale getirir. Birçok aşamadan sonra $PGF_2\alpha$ oluşur ve ritmik olarak salınır. Özet olarak; $17-\beta$ östradiol uterus, $PGF_2\alpha$ oluşumunda bir artışa neden olur ve ovulasyondan önce $PGF_2\alpha$ düzeyi belirgin olarak yükselir. Yükselen $PGF_2\alpha$ düzeyinin ovulasyon sırasında folikül duvarındaki zayıf bir yerden yumurtanın atılmasını sağlayan kasılma mekanizmasını etkin hale getirdiği sanılmaktadır. Ovulasyondan hemen önce plazma LH düzeyindeki ani yükselmenin, bu sırada artan $PGF_2\alpha$ düzeyi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Artan bu PG'in büyük bir olasılıkla hipotalamusta LH salgılatıcı hormon, bunun da ön hipofizden LH salınımını kolaylaştırdığı sanılmaktadır (Türker ve Kayaalp 2013).

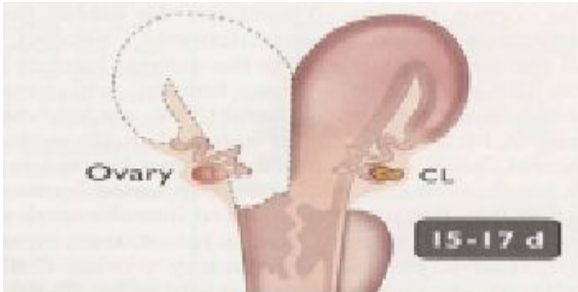
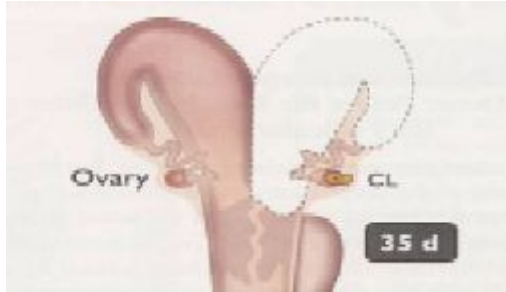
1.3.2. Luteolizis ve Prostaglandin Etkisi

Luteolizis uterus, hipotalamus, hipofiz ve ovaryumlar arasında etkileşimlerin olduğu kompleks bir mekanizmadır. $PGF_2\alpha$ 'nın endometrium epitel hücrelerinden pulsatil olarak salgılanarak luteolizise neden olduğu bilinmektedir (Güzeloğlu 2006). Luteolizis, öncelikle P4 üretiminin durması ile başlayan **fonksiyonel** ve bunu takiben CL'un regresyonu ile oluşan **yapısal luteolizis** olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir. İneklerde, CL'un bulunduğu taraftaki kornu uterusun operasyonu ile uzaklaştırıldığında, CL ömrü ve dolayısıyla östrus siklus süresinin uzaması nedeniyle $PGF_2\alpha$ 'nın CL üzerindeki etkisinin tek taraflı olduğunu belirtilmektedir (McCracken ve ark 1999).

Aşağıda gösterilen çalışmalardan çeşitli önemli bulgular ortaya çıkmıştır (Şekil 1.7). CL ile aynı taraftaki kornu uteri uzaklaştırıldığında, CL yaşam süresi normal siklustan 2 kat daha uzun olmaktadır (yaklaşık 35 gün). Ancak CL'un karşı tarafındaki kornu uteri uzaklaştırıldığında, CL yaşam süresinde çok az bir etki oluşmaktadır. Tam histerektomi ile kısmi histerektominin etkileri şekil 7'de gösterilmiştir. İlk olarak CL lize olması için uterus bulunması gerekmektedir. Bu sebeple, uterus, luteolizisi sağlayan bazı maddeleri üretmektedir. İkinci olarak, CL ile aynı taraftaki uterus kornusunun uzaklaştırılması CL yaşam süresini uzatmakta, karşı taraftaki kornu uteri uzaklaştırıldığı takdirde CL yaşam süresi etkilenmemektedir. Uterusun aynı tarafta CL bulunan ovaryum üzerine direkt olarak

lokal etkisi açıktır. Bu çalışma bize gösteriyor ki; 1)Lutealizisten uterus sorumludur, 2)Uterus ovaryumun yanında olmalıdır (Senger 2003).

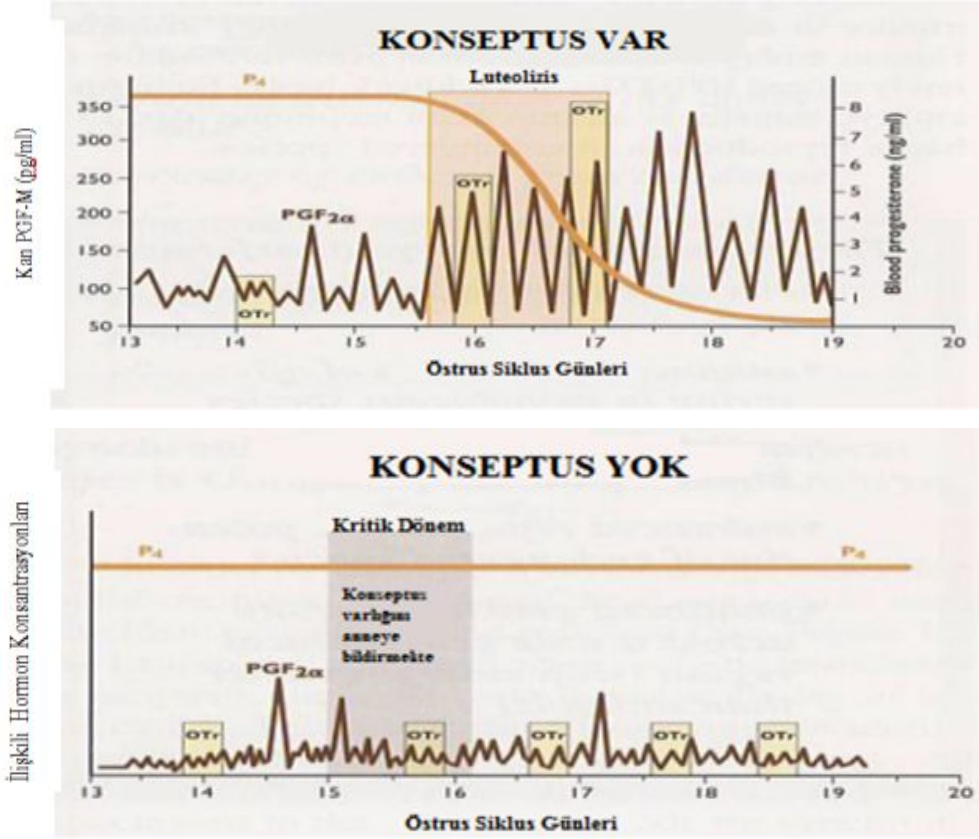
Dokunulmamış Uterus	Tam Histerektomi
	
<p>Dokunulmamış uterusu, CL'un yaşam süresi normal siklik olan ile aynı</p>	<p>Total histerektomi ile CL'un yaşam süresi normal gebelik süresi ile aynı</p>

Kısmi Histerektomi (Kontralateral CL)	Kısmi Histerektomi (İpsilateral CL)
	
<p>Histerektomi yapılmayan kornu tarafındaki CL'un yaşam süresi normal siklik olan ile aynı</p>	<p>Histerektomi yapılan kornu tarafındaki CL'un yaşam süresi normalden daha uzun</p>

Şekil 1.7. CL ve uterus arasındaki ilişki açısından yapılan çalışmalar (Senger 2003).

Oksitosin, pozitif feedback ile uterustan $PGF_2\alpha$ salınımına neden olmaktadır. Ancak erken luteal dönemde P4, östradiolün endometrium üzerinde OTR ekspresyonunu uyarıcı etkisini baskılayarak, dolaylı olarak OT etkisini engeller. "**Progesteron priming**" olarak

adlandırılan bu dönemde hücre zarında yağ asitlerinin birikimi artar ve prostaglandin sentez aktivitesi yükselerek $PGF_2\alpha$ salınımına zemin hazırlanır (McCracken ve ark 1999).

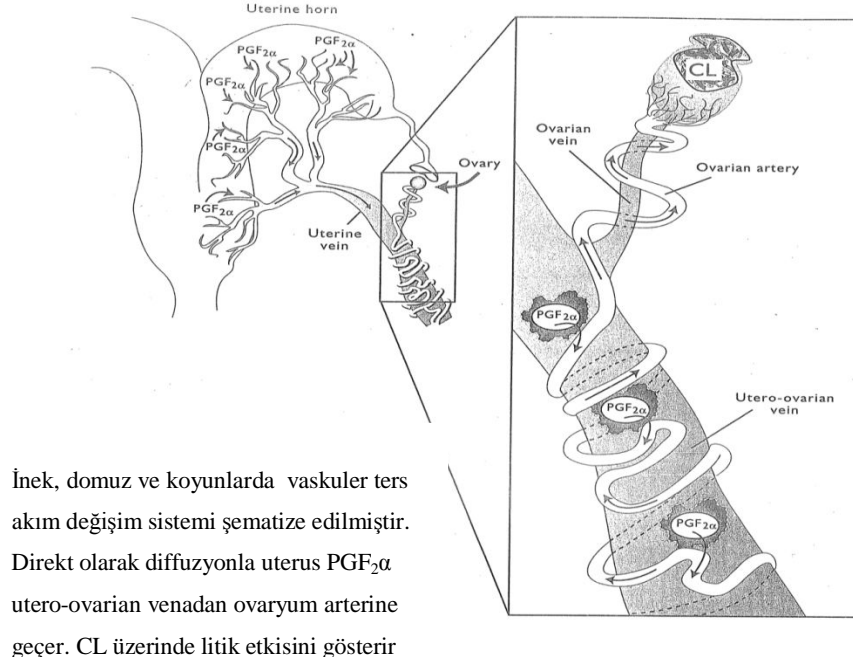


Şekil 1.8. Maternal tanımlama ve luteolizis (Senger 2003)

Progesteron, östrus siklusunun yaklaşık olarak 12. gününden itibaren endometriumdaki kendi reseptörlerini baskılayarak duyarsız hale getirir. Bunu takiben, ovaryumda gelişmekte olan folikülden kaynaklanan östradiol, endometriumda önce $ER\alpha$ ve sonra OTR konsantrasyonunun artmasına neden olur. Ayrıca, östradiol tarafından hipotalamustaki OT salınım merkezi uyarılarak nörohipofizden sık aralıklarla OT salınımı başlatılır. Oksitosinin bu şekilde salınımı neticesinde;

- 1) Endometriumdan düşük miktarlarda $PGF_2\alpha$ salınır.
- 2) $PGF_2\alpha$, CL üzerindeki duyarlılığı yüksek $PGF_2\alpha$ reseptörlerini uyarır ve CL'dan oksitosin salınmasına neden olur.
- 3) Luteal OT endometriumdan yüksek miktarda $PGF_2\alpha$ salınımını uyarır.

4) CL'daki duyarlılığı düşük $PGF_{2\alpha}$ reseptörleri uyarılarak progesteron salınımı durdurulur (McCracken ve ark 1999).



İnek, domuz ve koyunlarda vasküler ters akım değişim sistemi şematize edilmiştir. Direkt olarak diffüzyonla uterus $PGF_{2\alpha}$ utero-ovarian venadan ovaryum arterine geçer. CL üzerinde litik etkisini gösterir

Şekil 1.9. $PGF_{2\alpha}$ 'nın ovaryum arterlerine geçişi (Senger 2003)

$PGF_{2\alpha}$ 'nın luteolizise neden olan hücresel mekanizması konusunda çeşitli teoriler vardır. Genel görüş; leukotrienler veya endothelin-1 vasıtası ile CL'a giden kan akışında azalma ve steroidogenik akut regülator (StAR) protein aktivitesinin engellenmesidir (McCracken ve ark 1999, Niswender ve ark 2000). Progesteron üretiminde en önemli noktanın, kolesterolü mitokondriye taşıyan StAR proteini olduğu, $PGF_{2\alpha}$ 'nın kolesterol taşınımını kısıtlayarak P4 sentezini engellediği ve dolayısıyla luteolizise sebep olduğu ifade edilmektedir (Niswender ve ark 2000).

1.3.3. Gebeliğin $PGF_{2\alpha}$ Sekresyonu Üzerine Regulator Etkisi

İneklerde $PGF_{2\alpha}$ sekresyonunun dinamiği, erken gebelik döneminde östrusun aynı safhasında olan gebe olmayan hayvanlara göre değişiklik gösterir (Parkinson ve ark 1990, Thatcher ve ark 1989). Erken gebelik döneminde $PGF_{2\alpha}$ sekresyonunun zayıflamasına ilişkin östrus siklusunun geç safhalarında oluşan OTR'nin indüksiyonu engellenir (Jenner ve ark 1991). Gebe ve siklik hayvanlar, lipid metabolizmaları ve endometriumdaki intrasellüler regülasyon yollar bakımından farklıdır (Danet-Desnoyers ve ark 1994).

Luteal dönemin sonuna doğru, luteolitik mekanizmanın harekete geçmesinde, uterusta embriyonun varlığı etkilidir. Döllenmeyi takiben uterusa inen embriyonun salgıladığı antiluteolitik etkili bovine interferon-tau (IFNT), uterustan $PGF_2\alpha$ 'nın salınımını durdurarak, CL fonksiyonunun devamını sağlar. Ayrıca, embriyonun salgıladığı PGE_2 de CL fonksiyonunun devamı üzerine etkili olmaktadır (Hafez 1993, Meyer ve ark 1995).

1.3.4. Oksitosinin Luteal Regresyondaki Etkisi

İneklerde, tabii luteolizis sırasında, ovaryum kaynaklı OT ve uterusta sentezlenen PG'in eş zamanlı olarak salgılandığı ileri sürülmektedir (McCracken ve ark 1999, Silva ve ark 1991). Tabii luteoliziste OT'in, PG sentez ve salınmasını uyarabilmesi için, endometriyumda yeterli sayıda OTR'ne ihtiyaç vardır (McCracken ve ark 1999). Luteal dönem boyunca, ovaryumda şekillenen foliküler gelişmedeki dalgalanmaya bağlı olarak salgılanan E2, endometriyumdaki OTR sayısında artışa sebep olur. (Jenner ve ark 1991, Mann ve Lamming 1992, Parkinson ve ark 1990). Diöstrüs sonlarında seviyesi düşen P4 ile OTR konsantrasyonları arasında negatif bir ilişki bulunurken, kanda seviyesi artan E2 ile ise pozitif bir ilişki vardır. Ayrıca luteolizisin meydana gelmesinde, endometrial OTR'leri anahtar bir rol oynamaktadır (Jenner ve ark 1990, Parkinson ve ark 1992). Ovaryum venalarına verilen luteal kökenli OT, endometriyumdaki OTR'leri ile birleşerek, endometriyumdan $PGF_2\alpha$ sentez ve salgılanmasını uyarmaktadır (Jenner ve ark 1991, Mann ve Lamming 1992, Yıldız 2000).

Oksitosin, endometrial epitel hücre zarı üzerindeki reseptörüne bağlanarak buradaki G-proteinleri aktive eder ve buna bağlı olarak Fosfolipaz C (PLC) enzimi aktif hale gelir. Aktif hale gelen PLC hücre zarında bulunan phosphatidylinositol (PIP2) ayrıştırarak, inositol triphosphate (IP3) ve diacylglycerol (DAG) olmak üzere iki metabolit açığa çıkarır. Bu metabolitlerden IP3, endoplazmik retikulum üzerindeki IP3 reseptörüne bağlanarak kalsiyum salınımına yol açar. Diğer metabolit DAG ise kalsiyum ile birlikte protein kinaz C'yi (PKC) aktif hale getirir (Niswender ve ark. 2000). Serine ve threonine kinaz özelliği olan PKC, substratı olan moleküllerin serine veya threonine amino asitleri üzerinden fosforilasyonuna neden olur. Daha sonra hücre içi sinyal iletim sistemi ile mitogen-activated protein kinaz (MAPK) sistemini uyarır. Bu sistemin Prostaglandin H-sentaz 2 (PGHS2) transkripsiyonuna (Pru ve ark 2001) ve Fosfolipaz A₂(PLA₂) fosforilasyonuna (Lin ve ark 1993) sebep olduğu bilinmektedir.

PLA₂ sitoplazmada bulunan, aktivitesi kalsiyuma bağı olan bir enzimdir. Kalsiyum tarafından uyarılan IP₃, PLA₂'nin aktivitesini artırır. Daha sonra PLA₂ sitoplazmadan hücre zarına geçer ve hücre zarı fosfolipidlerinden araşidonik asiti (AA) serbest hale getirir. Serbest formdaki AA ise PGHS-2 enzimi tarafından önce PGH₂ ve sonra PGE₂, PGF₂α, PGD₂ ve PGI₂ gibi eikosanoidlere dönüştürülür (Clark ve ark 1991).

1.4. Gebeliğin Anne Tarafından Tanınması

Ruminantlarda gebeliğin tanınması ve devamlılığında uterus, ovaryum (Korpus luteum= CL) ve embriyo/fetus arasında yakın bir ilişki vardır. Uterus endometriumundan salgılanan ve luteolitik bir hormon olan PGF₂α'nın episodik olarak salgılanmasına bir yanıt oluşur ve bu yakın ilişki sonucu CL'un luteolizisi önlenmiş olur. Ruminantlarda gebeliğin oluşmasıyla CL'un fonksiyonel yaşamı devam ederken trofoblastlardan (parakrin tarzı bir rol oynar) luteolizis için gerekli olan PGF₂α'nın pulsatil salınımını önleyici bir mekanizma ortaya çıkar. Ruminantlarda gebeliğin tanınması için oluşan bu mekanizmaya (sinyale) Interferon Tau (IFNT) denir (Tuncer 2003).

IFNT, 172 aminoasitli omega (w) interferonlarının (IFN) alt sınıfına dahildir. Koyun IFNT (oIFNT), başlangıçta Trophoblastin veya Protein X diye adlandırılmış ve daha sonra Koyun Trophoblast Protein-1 (oTP-1) ve Sığır Trophoblast Protein-1 (bTP-1) olduğu saptanmıştır. Çünkü ruminant embriyo/fetuslarının trofektodermilerinden, implantasyon öncesi salgılanan ilk büyük proteinlerdir. DNA'nın klonlanması ve aminoasit dizilişlerinin belirlenmesinden sonra bu proteinler Tip-1 IFN'lar gibi tanımlanmışlar ve daha sonra Uluslararası Interferon Birliği tarafından Yunan alfabesinden tau(τ) simgesiyle adlandırılmışlardır. IFNT'nun fonksiyonel IFN'lar gibi antiviral, antiproliferatif ve immunomodülatör etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Blazer ve Spencer 1997).

IFNT, diğer Tip 1 interferonlarda olduğu gibi viral enfeksiyonları önler, hücre üremesini azaltır, fakat diğer Tip 1 interferonların aksine viral enfeksiyonlar IFNT'unun salınımına neden olmaz ve ayrıca IFNT vücutta sınırlı sayıda yerden salgılanır (Roberts ve ark 1992). Ruminantlarda IFNT, embriyonun blastosit safhasından uterus duvarına tutunduğu implantasyona kadar olan preimplantasyon süresince (Guillomot ve ark 1990) trofektodermi tek çekirdekli hücrelerinden salgılanır (Roberts 1996). Günümüzde bilinen 12 çeşit inek IFNT geni bulunmaktadır.

IFNT, interferonların (IFN) alt tiplerindendir ve uzun aminoasit sıralaması ile gebeliğin tanımlanmasında önemli bir rol oynarlar. Sığır ve koyunlarda IFNT multiple mRNA'lardan oluşmuş ve yaklaşık olarak 1 Kb uzunluğundadır. Koyun ve sığır nükleusunun DNA'sının alt bölümünde 4-5 tane IFNT geni bulunmuştur ve sondaj metodu ile yapılan araştırmalar sonucunda bunların IFN_w (omega) ve IFNT oldukları anlaşılmıştır. Bazı araştırmacılar (Blazer ve Spencer 1997, Spencer ve ark. 1996), aynı metotla inceledikleri IFNT geninin at, domuz, lama, yunus, fare, tavşan ve insanda aynı olmadıklarını saptamışlardır. Gebeliğin erken tanımlanabilme periyodu süresince IFNT'nun etkili üretimi, gebeliğin anne tarafından tanınması için tek ve özel bir mekanizmadır (Blazer ve Spencer 1997, Roberts ve ark 1992, Spencer ve ark 1996).

1.4.1. İnterferon Tau'nun (IFNT) Antiluteolitik Etkisi

IFNT'nun PGF₂ α sekresyonunu hangi hücrel mekanizmalarla durdurduğu konusunda değişik teoriler vardır. Bunlar;

1)IFNT, PGF₂ α biyosentezinde rol alan moleküllerin ekspresyonunu baskılayacak şekilde gen ekspresyonunu düzenleyebilir. Örneğin IFNT, PG biyosentezinde önemli rolü olan PGHS-2'nin ekspresyonunu in vitro olarak inhibe etmektedir (Binelli ve ark 2001, Thatcher ve ark 2001).

2)IFNT, luteolizis başlaması için gerekli olan endometrial ER α ve OTR'nü kodlayan genlerin transkripsiyonunu baskılamaktadır (Spencer ve Bazer 2002, Güzelöglü ve ark 2004a).

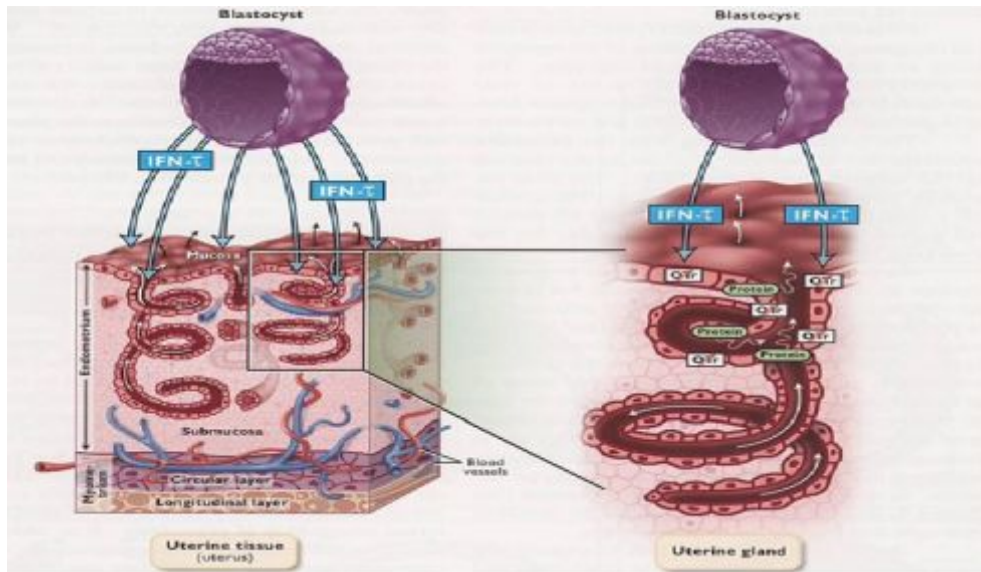
IFNT'nun tek biyolojik etkisi, onun antiluteolitik aktivitesidir. Gebeliğin anne tarafından tanınma periyodu süresince diğer bir deyimle 10-21. günler arasında koyunda yavrunun mononükleer trofoblast hücrelerinden IFNT salgılanır. oIFNT'nun salınımı konseptusun morfolojik olarak değişimiyle yaklaşık 10. günde başlar ve sferikal düzeyden (312 ng/ml uterus sıvısı) tubular düzeye kadar (1380 ng/ml) ve 12-13. gündeki filamentöz forma kadar (4455 ng) değişim görülür. Siklustaki koyunlarda, örneğin luteolitik periyottan önceki 48-72. saatlerde yapılan başarılı bir embriyo transferi (yaklaşık 12. günde) sonucunda 14-16. günlerde IFNT'nun salınımı görülür ve PGF₂ α 'nın pulsatil salınımı ve luteolizis önlenmiş olur. Koyunlarda siklusun 12-14. günlerinden sonra ya yüksek purifiye oIFNT veya rekombinant koyun interferon tau'nun (roIFNT) intrauterin infüzyonları sonucunda CL'un yaşamı uzar ve böylece iki östrus arası süre uzar. Bu

nedenle ruminantların embriyo/fetuslarıyla, antiluteolitik gebelik tanınma faktörünün üretilmesinde IFNT'nun tek başına etkili olduğu kabul edilir. IFNT uterus venlerinde veya lenflerinde saptanamayabilir. Bu nedenle, onun antiluteolitik etkisinin endometrial epitelyum üzerinde lokal etkili olduğu kabul edilir. Kızgınlıktaki koyun, sığır ve keçiler arasında intrauterin olarak roIFNT'nun enjeksiyonu, luteolitik mekanizmanın gelişimini engeller. Luteolitik periyot süresince, kızgınlıktaki koyunların endometrial epitelyumunda OTR'lerinin boşalımı artar (Blazer ve Spencer 1997, Roberts ve ark 1992, Spencer ve ark 1996, Vallet ve ark 1990). Östrus siklusunun 15. gününde oksitosin reseptörlerinin (OTR) varlığında oIFNT'nun, OTR ile endometriyumda bir rekabet halinde bulunmadığı, OTR'leri için ya endometrial inositol fosfat metabolizmasının oksitosin (OT) uyarımını baskıladığı veya endometrial PGF₂ α sekresyonunun, OT ile uyarımını baskıladığını bildirilmektedir. Özetle, kızgınlıktaki koyunların endometriumu 11-12. gün ile 14. günler öncesinde IFNT'dan korunmasızdır. Örneğin kızgınlıktaki koyunların endometrial lümenal epitelyumunda (LE) OTR'leri artmadan 2-3 gün önce, PGF₂ α 'nın luteolitik pulsatil salınımları ve inositol fosfolipid metabolizmasının sonucunda OTR ve OT salınımı durdurulur. Erken gebelik süresince, endometrial OTR'leri çok azdır ve OT uterusdan PGF₂ α 'nın pulsatil salınımını sağlamayabilir. Fakat erken gebelik süresince PGF₂ α 'nın basal sekresyonu, siklus süresince salgılanan miktarına göre çok yüksektir (Meyer ve ark 1995).

Kızgınlıktaki sığırlara 15-21. günler arası intrauterin olarak bCSP'nin (inek serum protein) verilmesi ile östruslar arası sürenin 23-24 günden 30-39 güne kadar uzamasına neden olur ve PGF₂ α 'nın uterusdan salınması baskılanır. Sığır endometriumu PG'lerin biyosentezini inhibe edici faktörler içerir ki bu gebelik ve östrus siklusu süresince aktif haldedir. Fakat gebeliğin 16-31. günleri arası bu baskılayıcı aktivite en yüksek seviyededir. bCSP'nin endometrial üretimi sonucunda PG'lerin sentezinin inhibe edildiği gösterilmiştir. Koyunda olduğu gibi, prostaglandin E (PGE) sığır embriyo/fetusundan üretilir ve luteal koruyucu rol oynadığı kabul edilir. Sığır embriyo/fetusları sınırlı miktarlarda progesteron, androstenedione ve estradiol ile birlikte 5 β androgenler ve progestinleri üretirler, fakat bunların gebeliğin devamındaki rolleri henüz açıklanamamıştır (Blazer ve Spencer 1997, Roberts ve ark 1992, Spencer ve ark 1996).

In vivo olarak östrus siklusunda, erken gebelik süresince PGHS-2 ekspresyonu ve aktivitesinin nasıl düzenlediğini belirleyen fazla sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Normalde PGHS-2 proteini, koyun ve inek endometriumunun yüzey epiteli ve onun altındaki stroma hücreleri (Boos 1998, Güzeloğlu ve ark. 2004a) ile az miktarda yüzeysel glanduların epitel hücrelerinde bulunmaktadır (Charpigny ve ark 1997, Kim ve ark 2002). Siklik ineklerde PGHS-2, siklusun 1-12. günleri arasında düşük seviyede, 13-21. günleri arasında ise yüksek seviyelerde üretilmektedir. PGHS-2 protein konsantrasyonu siklusun yaklaşık 16-18. günlerinde en yüksek seviyeye ulaşır (Arosh ve ark 2002). Aynı şekilde, koyun endometriumunda da PGHS-2 protein miktarının en yüksek olduğu dönem siklusun 10-16. günleri arasındadır (Charpigny ve ark 1997, Salamonsen ve Findlay 1990). PGHS-2 proteini siklusun sonuna doğru siklik koyun ve inekte tamamen kaybolurken, ilginç bir şekilde gebe koyun ve inek endometriumunda yüksek oranda bulunmaya devam etmektedir (Charpigny ve ark 1997, Güzeloğlu ve ark 2004a). Normalde $PGF_2\alpha$ salınımının durdurulması ve CL ömrünün uzatılması için PGHS-2 ekspresyonunun azalması beklenirken, tam aksine gebe uteruslarda miktarının artması, maternal kabulün bu safhasının çok kompleks bir mekanizma ile yürütüldüğünü göstermektedir.



Şekil 1.10. Ruminantlarda IFNT. IFNT inek ve koyunlarda blastositin trafoblastik hücrelerinden üretilir. Uterusun endometrial hücrelerinde OTR üretimini engellemede rol oynar ve OT, $PGF_2\alpha$ sentezini stimule edemez. Ek olarak, IFNT uterus bezlerinden proteinlerin üretimini sağlar (Senger 2003).

IFNT'nun prostaglandin sentez mekanizması üzerine çok farklı etkileri olduğu in vitro çalışmalarla belirlenmiştir. Örneğin, IFNT endometriumun stroma hücrelerinde

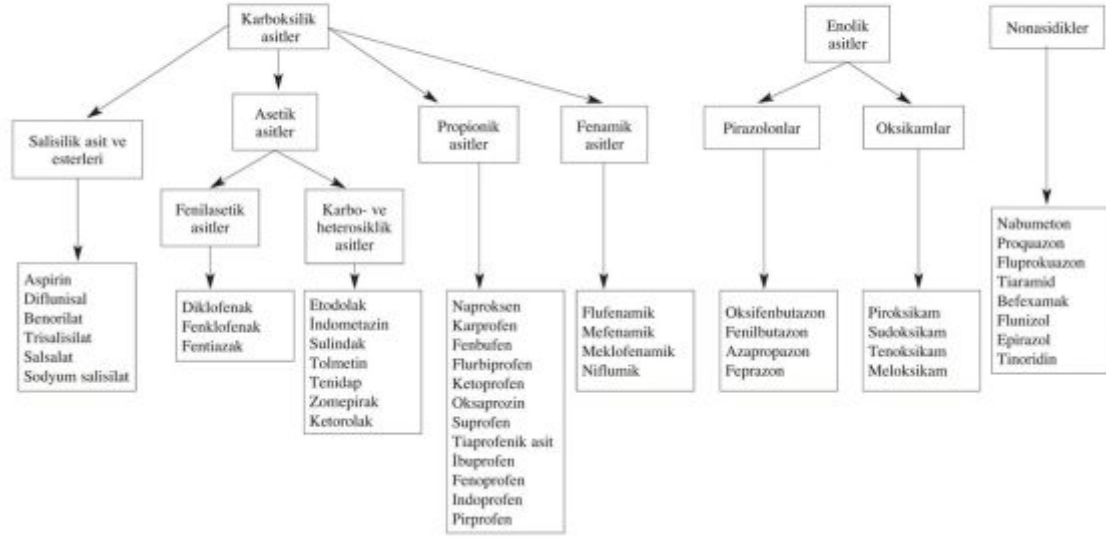
PGHS-2 ekspresyonunu, PGF₂α ve PGE₂ salınımını artırırken; epitel hücrelerinde tam tersi bir etki göstermiştir (Xiao ve ark. 1998). Ayrıca Asselin ve ark. (1997) IFNT'nun endometrium epitel hücrelerinden salgılanan prostaglandin türünü F₂α'dan E₂'ye çevirdiğini ileri sürmektedirler. IFNT in vitro olarak farklı dozlarda farklı etkilere yol açmaktadır. Güzeloğlu ve ark. (2004b) inek endometrial epitel hücrelerinde düşük dozlarda uygulanan IFNT'nun (<5ug/ml) F₂α salınımını ve PGHS-2 ekspresyonunu azalttığı halde, IFNT'nun (>5pg/ml) yüksek dozlarda uygulanmasının ne PGF₂α salınımını ne de PGHS-2 ekspresyonunu azaltmadığını bildirmektedirler.

Sığırlarda gebelik, endometrial PGF₂α sentezi inhibitörünün (EPSI) seviyesinin yükselmesiyle sonuçlanır. Linoleik asit, araşidonik asitle rekabet halindedir ve siklooksijenaz enzimi ile endometrial PG üretimini azaltır. bIFNT vasıtasıyla linoleik asitin endometriumdan artma mekanizması anlaşılammıştır. Koyun endometriumunda EPSI'ye benzer bir yapı saptanamamıştır ve bu olay kızgınlıktaki koyunlara göre gebelerde basal PGF₂α seviyesinin daha yüksek oluşu ile açıklanmaktadır. Erken gebelik döneminde phospholipase A₂ (PLA-2) baskılayıcı aktivitesinin fazlalaşması "lipocortin" ve/veya "annexin" familyasından proteinlerin salınımının artmasının oIFNT'nun bir cevabı olduğu savunulmaktadır (Blazer ve Spencer 1997, Roberts ve ark 1992, Spencer ve ark 1996, Wathes ve Lamming 1995).

1.5. Non-Steroid Antienflamatuvar İlaçlar

Non-steroid antienflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), narkotik olmayan analjezikler olarak da adlandırılmaktadır. Bu grup ilaçların büyük bir bölümü analjezik, antipretik ve antienflamatuvar etkili olmakla birlikte, az bir bölümü sadece analjezik, antipretik etkiye sahiptir. Bu ilaçlar eokosanoidleri inhibe etmeleri sonucunda merkezi ateş, yangı ve reagrasyonu engellemektedir. Analjezik, inflamatuvar, antiendotoksemik, antitrombik, antikanserojen ve kondroprotektif etkileri bulunmaktadır. İyi bilinen siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LPO) inhibitör etkilerine ilave olarak, hücre zarı, lenfosit, nötrofil fonksiyonları ve lizozomal enzim salınımı gibi olayları etkileyebildiği belirtilmektedir (Satılmış ve Bilgili 2013).

NSAİİ'ler kimyasal yapılarına göre, plazma yarı ömürlerine göre ya da COX enzim inhibisyonlarına göre sınıflandırılabilir (Altuğ 2013).



Şekil 1.11. Non-Steroid Antienflamatuvar İlaçların Sınıflandırılması (Şentürk 2013)

Eikozanoidlerin kaynağını teşkil eden araşidonik asit, hücre membranındaki fosfolipidlerden fosfolipaz A₂ enzimi aracılığı ile koparılır. NSAİİ'lar ise, COX enzimini inhibe ederek inflamasyona aracılık eden COX ürünlerinin sentezini azaltırlar. Bu ilaçların antienflamatuvar etki güçleri ile COX enzimini inhibe etme potansiyeli arasında sıkı bir korelasyon vardır. Daha güçlü antienflamatuvar etki gösteren glukokortikoidler ise fosfolipaz A₂ enzimi üzerine inhibitör etki göstererek, sadece COX ürünlerinin değil, aynı zamanda LO ürünlerinin sentezini de azaltırlar (Şentürk 2013).

1991 yılında Daniel L. Simmons tarafından COX-2 enzimi bulunmuş ve böylece COX enziminin en az iki formunun olduğu ortaya konmuştur. Bunlardan COX-1 yapısal bir enzimdir ve birçok normal fizyolojik olayda düzenleyici rol oynar. PG ve tromboksanın fizyolojik etkilerinden COX-1 tarafından sentez edilen prostanoidler sorumludur. COX-2 inflamasyonda eksprese edilen bir enzimdir ve COX-2'nin inhibisyonu NSAİİ'ların istenen etkilerine yol açabilir. NSAİİ'ların bu 2 enzim üzerine olan seçicilikleri aynı değildir ve büyük farklılıklar gösterir. Selektif olmayan inhibisyonda COX-1 enzim inhibisyonuna bağlı yan etkiler ortaya çıkarken, selektif inhibisyonda inflamasyon yan etkiler olmadan baskılanabilir. COX-1 ve COX-2 izoformlarının yapısal benzerliği % 60'dır ve her iki izoformun da araşidonik asitten PG oluşturma potensleri aynıdır. Yapılan çalışmalar, COX-2/COX-1 oranı düşük olan ilaçların yan etki profillerinin diğerlerine göre daha düşük olduğunu ortaya koymuştur. Klasik NSAİİ her iki enzimi birden inhibe ederken, COX-2

inhibitörleri indüklenebilir COX-2'yi inhibe etmekte ve yapısal yan etki ortaya çıkmaksızın inflamasyonu baskılamaktadır. Bu yaklaşımla COX inhibitörleri şöyle sınıflandırılmaktadır (Şentürk 2013).

1. COX-1 spesifik ajanlar: Düşük doz Aspirin gibi, COX-2 inhibiyonu yapmadan COX1 inhibisyonu yapanlar.

2. COX non-spesifik ajanlar: Konvansiyonel NSAİİ'ler, her iki enzimi de inhibe ederler.

3.COX-2 selektif ajanlar: Klinik terapötik dozlarda insan ve hayvanda COX-2 inhibisyonu yaparken, artan dozlarda belirginleşen COX-1 inhibisyonuna neden olurlar (meloksikam, nabumetane, nimesulid vb).

4.COX-2 spesifik ajanlar: Maksimum terapötik dozda dahi klinik olarak anlamlı COX inhibisyonuna neden olmayan ajanlar (selekoksib, rofekoksib vb) (Şentürk 2013).

İneklerde tohumlama ve embriyo transferi sonrası gebeliğin devamı CL ve PGF₂α arasındaki hormonal mekanizmalara bağlıdır. Embriyonun gelişmesi ve gebeliğin devamı PGF₂α'nın uterus endometriumundan salınımının engellenmesi ve luteal yapının fonksiyonel olarak varlığının devamı ile mümkün olmaktadır (Satılmış ve Bilgili 2013).

Embriyonun trofoblast hücrelerinden salgılanan IFNT uterus endometriumundan PGF₂α'nın salgısını azaltarak CL'un ömrünü uzatmaktadır (Güzeloğlu 2006). Bu dönemde embriyoda yeterli büyüme olmaz ise salgılayacağı IFNT'da yetersiz olacak ve dolayısıyla uterus endometriumundan PGF₂α salgılanmasını baskılayamayacaktır. PGF₂α sentez mekanizmasının özel olarak durdurulması gebelik oranını artırmaktadır. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar bu durumu CL'un ömrünün uzamasıyla birlikte kalitesi zayıf veya yavaş gelişen embriyoların uterusu tutunma oranını artırarak sağladığını belirtmektedirler (Güzeloğlu ve ark 2007, Scenna ve ark 2005).

Son zamanlarda PGF₂α sentezini durdurmaya yönelik fluniksin meglumin (FM) gibi NSAİİ'lerin uygulandığı görülmektedir (Scenna ve ark 2005). Fluniksin meglumin (FM, 3 pridin karboksilik asit) NSAİİ grubunda yer alan analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik ve antiprostoglandin etkilere sahip ilaçtır. NSAİİ içerisinde en güçlü etkiye sahiptir. FM'in

analjezik ve antipiretik etki mekanizması kesin belli olmamakla beraber antiprostoglandinik etkisiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Traş ve ark 1995).

Flunüksin meglumin, etki tarzını araşidonik asitin Prostaglandin G_2 'ye (PGG_2) dönüşümünü katalizleyen siklooksijenaz enzim sistemini inhibe ederek gösterir. Prostaglandinler dokularda normal olarak bulunan kimyasal maddelerdir, ancak yangısal olaylarda seviyeleri artar ve organizmada istenmeyen durumlar (yangı, ateş ve ağrı gibi) ortaya çıkar. Flunüksin meglumin yangının belli başlı belirtilerinin ortaya çıkmasından sorumlu PG'lerin sentezini baskılar. Böylece ağrı, yangı ve ateş semptomlarını azaltır veya tamamen yok eder. Kas içi, damar içi uygulamalarında plazma yarılama ömrü 1,6 saat olarak bulunmuş, plazmada 8 saat, idrarda 48 saat süreyle ölçülebilmektedir. Sığırlardaki dağılım yarı ömrü 0,3 saat, atılma yarı ömrü de 8-10 saat olarak bulunmuştur. Sütteki kalıntı miktarı 9 saat sonrasında 0.05-0.06 mg/L gibi düşük bir seviyededir (süt için MRLS 0,04 mg/L'edir). Vücuttan ağırlıklı olarak idrarla (%14 kadarı), az olarak da gaita ile atılır (Anonim 2014).

Luteolitik bir hormon olan $PGF_2\alpha$ endometriumun epitel hücrelerinde sentezlenir ve OT hormonu, endometriumdaki reseptörlerine bağlanarak bu sentez ve salgılama olayını düzenler. İneklerde doğal aşımından sonraki 5-8. günler arasında uygulanan FM, OT ile uyarılan PG, FM salınımını ve OT ile indüklenen embriyonik ölümleri engellemektedir. Oksitosinin ortaya çıkması, uterus endometriumundan $PGF_2\alpha$ salgısını stimüle etmesine bağlı olarak embriyonun gelişimini yavaşlatır ve hatta ölümüne neden olur (Lemaster ve ark 1999).

Flunüksin megluminin oral uygulamaları da uterustan $PGF_2\alpha$ sentezini ve salınımını engellemektedir. Yapılan bir çalışmada; FM granüllerini günde iki, üç veya dört defa siklusun 15. gününden itibaren 9 gün süreyle düvelerin rasyonlarına ilave edildiğinde, siklusun 5-6 gün uzadığı tespit edilmiştir (Odensvik ve ark 1998).

Scenna ve ark. (2005) embriyo transferinden hemen önce ya da sonra 10 ml FM uygulandığında gebelik oranı üzerine oldukça olumlu bir etki yaptığı ve grad-2 embriyoların transferinde kontrol grubuna göre % 5 ilave bir gebelik artışı görüldüğü ifade edilmektedir. Başka bir çalışmada (Purcell ve ark 2005) ise kontrol grubuna göre ortalama % 10 daha fazla gebelik elde edilmiştir.

Ake-Lopez ve ark. (2005), koyunlarda FM uygulamasının siklus ve luteal evre uzunluğu, kuzulama oranı ve karlılık üzerine yaptıkları çalışmalarında; plazma P4 seviyesinin siklusun 11. gününde düşmeye başlaması nedeniyle, FM uygulamasına 9-10. günlerde yani luteolizisten önce başlanması gerektiğini ifade etmişlerdir. Progesteronun en önemli etkisinin gebeliğin şekillenmesi ve IFNT sekresyonunun uyarılması olduğu belirtilmektedir. İnterferon T'nun esas fonksiyonunun, endometriumdan PGF₂α salınımının durdurulması olduğu belirtilmektedir.

Goda ve ark. (2005), in vitro embriyo kültür mediumuna % 0.005 oranında FM kattıkları çalışmada, FM katılmayan gruba göre gelişen blastosist kalitesinde olumlu etkisinin görüldüğünü bildirmektedirler.

Sığır endometriumunda yüksek oranda araşidonik asit bulunmakta ve araşidonik asit kolaylıkla PGF₂α'ya dönüştürülebilmektedir. Uterusta artan PG seviyesi ile embriyo kalitesi ve gebelik oranları arasında negatif bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir. PGF₂α sentezi sitosolik fosfolipaz A₂ aktivitesi ile araşidonik asitin membran fosfolipitlerinden ayrılmasıyla başlar. Serbest araşidonik asit siklooksijenaz enzimleri (COX-1, COX-2) aktivitesi aracılığıyla prostaglandin G₂ ve prostaglandin H₂'ye (PGH₂) dönüştürülür. PGF sentaz da PGH₂'den PGF₂α'ya dönüştürülür. FM'in hem COX-1'i hem de COX-2'yi inhibe ederek PGF₂α sentezini engellediği bildirilmiştir (Doğruer ve ark 2007).

Doğruer ve ark. (2007) tarafından, döl tutmayan 20 baş holstein ırkı düve ile yaptıkları çalışmada, tohumlama sonrası 15. günde düveler tesadüfi örnekleme yolu ile iki gruba ayrılmış. Deneme grubunda (n=10) bulunan düvelere tohumlamalardan sonraki 15. günün akşamı ve 16. günün sabahında 12 saat arayla iki kez 1.1 mg/kg dozunda Flunixin meglumin kas içi enjekte edilmiş. Kontrol grubu (n=10) düvelere herhangi bir uygulama yapılmamış. Tohumlamalardan 29 gün sonra ultrasonografi ile yapılan gebelik muayenelerinde, deneme grubunda 5 (% 50), kontrol grubunda 2 (% 20) düvenin gebe olduğu tespit edilmiş. Sonuç olarak döl tutma problemi bulunan düvelerde tohumlama sonrası 15-16. günlerde FM uygulamalarının gebelik oranı üzerine olumlu katkı sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

Hayvanlar strese tabii tutulduklarında embriyonik ölümlerin arttığı belirlenmiştir. Ülkemizde stres faktörlerinin daha fazla olduğu, beslenme, bakım ve barındırma koşullarından kaynaklanan streslerden dolayı embriyonik ölümlerin oranı oldukça

yüksektir. Embriyonun implantasyon evresi öncesinde çeşitli tipteki streslere karşı çok duyarlı olduğu, korku-heyecanın en önemli stres faktörleri arasında görülebileceği varsayılmaktadır. Stres durumlarında hayvanlarda adrenal hormonlar, norepinefrin, epinefrin ve kortizol seviyesinde, tıpkı PG miktarındaki gibi, artışlar şekillenmektedir. Annenin gebeliği algılama zamanı tohumlamadan sonraki 14. günde başlar ve PG hormonu, luteolizis ve maternal gebelik algılanmasında çok önemli görevler üstlenir. İneklerde maksimum fertilité için, tohumlamadan sonra ve gebeliğin tanımlandığı süreç içinde aşırı PGF₂ α veya östradiol gibi luteolitik etkiyi uyaran hormonların kontrol altına alınması gerekir.

PGF₂ α sentezi fluniksin meglumin uygulanan etçi ve sütçü ineklerde 24 saat süreyle göze çarpacak biçimde baskılanır. Fluniksin meglumin araşidonik asidin PGF₂ α 'ya dönüşümünü engelleyerek siklooksijenazı inhibe eden güçlü bir non-steroidal ve anti-inflamatuvar ajandır.

PGF₂ α sentezini erken embriyonik dönemde durdurarak luteolizisi engellemek amacıyla FM gibi diğer bir NSAİİ olan ve yarılanma ömrü FM'e göre daha uzun olan Meloksikam kullanılmıştır. Meloksikam, oksikam grubundan nonsteroid antienflamatuvar bir etkin maddedir. Analjezik, antiromatizmal, antipiretik, antienflamatuvar ve antiöksudatif etkilere sahiptir. İndüklenebilir siklooksijenaz olan COX-2 yangı olayına yol açan farklı etki ve etkenler tarafından proinflamatuvar etkili prostaglandinlerin oluşumuna yol açar. Meloksikam analjezik, antiromatizmal, antipiretik, antienflamatuvar ve antiöksudatif etkilerini yangı mediatörleri olan prostaglandinlerin sentezini inhibe ederek göstermektedir. Meloksikam 0,5 mg /kg dozda SC uygulamayı takiben 6 -8 saat sonra 2,1 μ g/ml'lik doruk plazma seviyesine ulaşır. Biyoyararlanımı deri altı uygulamada %92'dir. Yarılanma ömrü yaklaşık 26 saattir. Meloksikam %98 oranında plazma proteinlerine bağlanır. En yüksek ilaç konsantrasyonuna karaciğerde, böbrekte ve safrada rastlanır. Meloksikam vücuttan %50 oranında idrar ile, geriye kalanı ise dışkı ile atılmaktadır.

Friton ve ark. (2004) tarafından solunum yolu enfeksiyonlarının antibakteriyal tedavisine ek tedavi olarak Meloksikam ve FM kullanımı karşılaştırılmış ve Meloksikamın tek doz SC uygulaması klinik olarak FM'nin günlük olarak kullanımından daha etkili olduğu belirlenmiş. Benzer şekilde, ovariohisterektomi operasyonu sonrası meloksikam 72 saat yeterli analjezi sağladığı belirtilmiş. Buna ilaveten, düvelerde intravenöz (İV) uygulaması sonrası meloksikamın yarılanma süresi 35 saatten fazla olduğu görüldüğü

belirtilmiş. Daha önce ile yapılan 12 saat ara ile çift doz FM uyguladıkları çalışmalarından tecrübe edinerek, tek doz uygulamanın veteriner hekim ve üretici açısından daha rahat olduğu belirtilmiştir. $PGF_2\alpha$ 'nın sekresyonunda erken gebeliğin kritik döneminde FM'ne benzer ve uzun inhibisyonunu meloksikam ile sağlanırsa, meloksikam bu amaç için daha uygun olabileceği belirtilmiş. Bu nedenle Güzeoğlu ve ark (2007), çalışmalarında, FM'in yerine, selektif COX-2 inhibitörü olması nedeniyle ve hayvanlar arasında luteolizis başlama zamanındaki bireysel farklılıklar da göz önünde bulundurularak yarılanma ömrü daha uzun olmasından dolayı yine bir non-steroid antiinflamatuvar olan meloksikamın uygulanabilirliği belirlenmeye çalışmışlar. 15 ve 18 aylık 85 Holştayn ırkı düvede yapılan çalışmada tedavi grubuna tohumlama sonrası 15. gün öğlen derialtı meloksikam uygulamışlardır. Düvelerde tohumlama sonrası 15. günde yapılan tek doz meloksikam uygulaması önemli ölçüde gebelik oranını azaltmış, daha önceki FM çalışmalarına zıt olarak meloksikamın gebelik için zararlı olduğunu belirtmişler. Kontrol grubunda %52, deneme grubunda %24,3 oran belirlenmiş. Bu zararlı etkinin en makül açıklaması olarak meloksikamın COX-2 aktivitesi üzerine inhibisyon etkisinin süresi olabileceği belirtilmiş. Meloksikamın uzun yarılanma süresine sahip olduğu ve 72 saatin üzerinde etkili olduğu belirtilmiş. Çalışmada meloksikam uygulaması düveleri 15. gün öğle vakti yapılmış. Bu da COX-2 aktivitesinin en az 18. güne kadar baskılandığı anlamına geldiğini belirtilmiş. Güzeloğlu ve ark. (2004) ve Bilby ve ark. (2006) COX-2'nin gebe ineklerde tohumlama sonrası 17. günde endometriumun luminal epitelinde yüksek ekspres olduğunu göstermişler. Aynı şekilde, Charpigny ve ark.(1997) koyunlarda gebelik durumuna bakılmaksızın 15. günde COX-2 ekspresyonunda artış olduğunu, fakat 17. günde bu ekspresyonun gebe olmayan koyunlarda sonlandığını, gebe koyunlarda ekspresyonun devam ettiğini bildirmişlerdir. Bunlar gebelik oluşumunun başlangıcında, kritik erken gebelik periyodunda COX-2'nin aktivitesinin önemini gösterdiğini belirtmişlerdir. Uzun süreli COX-2 inhibisyonunun peri-implantasyon sürecini engelleyerek gebelik oranını azaltmış olabileceğini ifade ederek, kısa yarılanma ömrüne sahip FM uygulamaları ile embriyonik mortalite oranın düşürürken, yarılanma süresi uzun olan meloksikam ile mortalite oranının arttığını belirtilmişlerdir. Bu erken embriyonik dönemdeki kritik süreçte hızlı ve geçici etkilerin uterusu işlediğini belirterek, $PGF_2\alpha$ 'nın implantasyon sürecinde gerekli olduğunu, $PGF_2\alpha$ 'nın pulsatil sekresyonunun luteolizis sürecinde bazal seviyeye kadar azaltılması gerektiğini, fakat COX-2 aktivitesinin tam olarak baskılanmaması gerektiğini belirtmişlerdir.

NSAİİ olan FM'in gebelik oranını artırdığı, diğer bir NSAİİ olan meloksikamın gebelik oranı üzerine olumsuz etkisinin bulunduğu belirtilmiştir. Olumsuz etkinin sebebi olarak meloksikamın yarılanma süresinin uzun olması ve COX-2 aktivitesini FM'e göre selektif olarak daha uzun süre baskılaması gösterilmiştir. Fakat meloksikam uygulamasının progesteron üzerine etkisinin olup olmadığı araştırılmamıştır.

Sunulan çalışmada, meloksikamın dozu yarıya indirilmiş ve bu yarı dozu tek ve iki doz şeklinde uygulanmıştır. Bu uygulama ile meloksikamın, COX-2 aktivitesi üzerine etkisini azaltmak, PGF₂α'nın sekresyonunu daha uzun süre baskılayarak gebelik oranı ve progesteron konsantrasyonu üzerine nasıl bir etki meydana getireceğini araştırmak amaçlanmıştır.

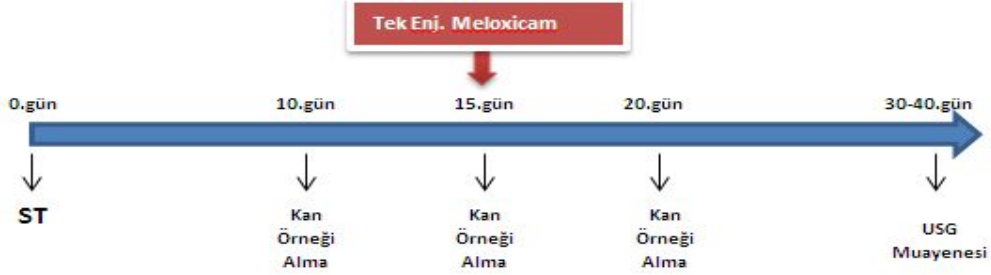
2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini, 15-16 aylık, toplam 75 adet Holştayn ırkı düve oluşturdu. Çalışmanın yürütülmesi Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından (ADÜ-HADYEK) B.30.2.ADÜ/050.04/2011/007 sayılı karar ile uygun bulundu. Çalışma, Aydın ilinin merkez ilçesinde bulunan bir işletmeye ait düveler üzerinde gerçekleştirildi. Hayvanlar 3 eşit gruba ayrıldı. Gruplar, tohumlama sonrası tek doz Meloksikam uygulanan (1MG, n=25), iki doz Meloksikam uygulanan (2MG, n=25) ve herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu (KG, n=25) olarak adlandırıldı.

2.2. Senkronizasyon Protokolü ve Çalışma Dizayını

Çalışmaya dahil edilen tüm düvelere, senkronizasyon amacıyla PGF₂ α (Dinoprost-Dinolytic-Pfizer) enjeksiyonu 5 mg dozda İM olarak uygulandı. Enjeksiyon sonrasında klinik östrus gösteren düveler tohumlandı. Tek enjeksiyon Meloksikam grubundaki hayvanlara tohumlama sonrası 15. gün saat 12:00'da 0.25 mg/kg dozunda tek doz Meloksikam (Metacam-Bohringer İngelheim, Almanya) SC olarak uygulandı. 2MG grubundaki hayvanlara da 15. gün saat 20:00'de 0.125 mg/kg ve 16. gün saat 08:00'da 0.125 mg/kg olmak üzere 2 doz Meloksikam SC olarak enjeksiyonları gerçekleştirildi. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Gruplardan, serum P4 değerlerini belirlemek amacıyla kan örnekleri alınması için rastgele olarak yedi düve seçildi. Gruplardan seçilen 7'şer hayvandan tohumlama sonrası 10-15 ve 20. günlerde vena jugularisten holder kullanılarak steril kanüller ile 10 ml vakumlu serum tüplere kan örnekleri alındı. Serum tüpleri daha sonra soğutmalı santrifüjde (+4°C) 3000 devir/dk'da 20 dakika santrifüje edildi. Serumlar 1,5 ml'lik ependorflara aktararak, daha sonra serum P4 analizi için -20°C'de muhafaza edildi. Çalışma dizayını Şekil 2.1 ve Şekil 2.2'de özetlendi.



Şekil 2.1. Tek doz Meloksikam grubunda çalışma dizeyni



Şekil 2.2. İki doz Meloksikam grubunda çalışma dizeyni

2.3. İstatistiksel Analiz

Klinik muayene, gebelik muayenesi ve ELİSA yöntemi ile serum örneklerinden elde edilen P4 değerleri sonucunda elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri yapıldı. Serum P4 konsantrasyonlarının grup, grup zaman ve zaman açısından değerlendirilmesinde GLM tekrarlayan ölçümler analizinden yararlanıldı. Gebelik durumları ve enjeksiyon sayısına bağlı olan değişimin değerlendirilmesinde de kıkare testi uygulandı. İstatistiksel analizler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

3.1. Gebelik Muayenesi Bulguları

Tüm hayvanlarda gebelik muayeneleri tohumlama sonrası 35-45. günlerde ultrason ile yapıldı. Ultrason ile yapılan gebelik muayenesi 60. gün yapılan rektal muayene ile teyit edildi. Gruplardaki hayvanlara ait gebelik bulguları Çizelge 3.1’de gösterildi.

Çizelge 3.1 Tüm hayvanların gebelik muayenesi sonuçları

1MG			2MG			KG		
	Kulak No	Gebelik		Kulak No	Gebelik		Kulak No	Gebelik
1	0174	BOŞ	1	9050	BOŞ	1	5740	GEBE
2	2146	GEBE	2	5387	GEBE	2	1064	GEBE
3	9109	BOŞ	3	2178	GEBE	3	2408	GEBE
4	6666	GEBE	4	2200	GEBE	4	1702	BOŞ
5	3981	BOŞ	5	9257	BOŞ	5	4401	BOŞ
6	1365	BOŞ	6	2893	GEBE	6	9257	GEBE
7	7120	GEBE	7	8204	BOŞ	7	1865	BOŞ
8	0706	GEBE	8	7246	BOŞ	8	5319	GEBE
9	4321	GEBE	9	4454	GEBE	9	0925	BOŞ
10	2309	BOŞ	10	1776	BOŞ	10	0705	GEBE
11	9474	BOŞ	11	1772	BOŞ	11	2408	GEBE
12	8868	BOŞ	12	2121	GEBE	12	9473	BOŞ
13	5044	BOŞ	13	4652	GEBE	13	2190	GEBE
14	7625	BOŞ	14	4454	GEBE	14	8869	BOŞ
15	0438	GEBE	15	5741	GEBE	15	2147	GEBE
16	0473	GEBE	16	0818	GEBE	16	9858	GEBE
17	7120	GEBE	17	5385	GEBE	17	1965	BOŞ
18	6164	GEBE	18	0824	BOŞ	18	1967	BOŞ
19	3981	GEBE	19	0434	GEBE	19	1013	BOŞ
20	IŞIL	GEBE	20	3705	GEBE	20	6772	GEBE
21	1704	GEBE	21	3702	GEBE	21	6769	GEBE
22	1696	GEBE	22	3703	BOŞ	22	1705	GEBE
23	3704	BOŞ	23	6783	GEBE	23	1701	GEBE
24	1713	GEBE	24	6778	GEBE	24	3708	BOŞ
25	1697	GEBE	25	6774	BOŞ	25	1706	GEBE

Gruplardan 1MG’da gebelik muayenesi sonucunda, 25 düveden 15’inin gebe olduğu, 2MG’da 25 düveden 16’sının gebe olduğu, KG’nda ise 25 hayvandan 15’inin gebe olduğu belirlendi. Gruplar arası gebelik yüzdeleri 1MG’nda %60, 2MG’nda %64, KG’nda %60 olarak tespit edildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) fark bulunmadı.

3.2. Laboratuvar Bulguları

Üç gruptan 7’şer hayvandan tohumlama sonrası 10,15 ve 20. günlerde alınan kan örneklerinden elde edilen serumların ELİSA yöntemi ile P4 analizleri yapıldı. Meloksikamın tek ve iki doz uygulandığı gruplardaki hayvanlara ait ortalama P4 düzeylerinin tohumlama sonrası meloksikam enjeksiyon günlerine göre dağılımı ve gebelik yüzdeleri Çizelge 3.2’de özetlendi.

Tablo 3.2. Tüm gruplardaki P4 konsantrasyon oranları ile gebelik oranları

GRUPLAR	P4 ÖLÇÜM GÜNLERİ			GEBELİK (%)
	10. GÜN	15. GÜN	20. GÜN	
	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	
1MG	3,32 ± 1,47 (1,64 – 6,33)	3,22 ± 1,40 (1,40 – 5,05)	2,80 ± 0,90 (1,12 – 3,63)	85,7
2MG	3,20 ± 1,20 (1,62 – 4,65)	3,17 ± 1,71 (1,53 – 5,63)	3,10 ± 2,02 (1,22 – 7,05)	71,4
KG	3,53 ± 2,15 (1,67 – 7,52)	3,41 ± 2,09 (1,52 – 7,77)	3,41 ± 1,56 (1,11 – 6,01)	85,7

Meloksikamın tek doz uygulandığı gruptaki hayvanların 10. gün kan P4 düzeylerinin ortalama $3,32 \pm 1,47$ ng/ml, iki enjeksiyon grubunda ise ortalama $3,20 \pm 1,20$ ng/ml, kontrol grubu hayvanlarında ise ortalama $3,53 \pm 2,15$ ng/ml olduğu belirlendi. Onuncu gün serum P4 konsantrasyonlarında gruplar arası istatistiksel bir farkın olmadığı ($p>0,05$) tespit edildi. On beşinci gündeki serum P4 konsantrasyonlarının 1MG, 2MG ve KG’nda sırasıyla $3,22 \pm 1,40$ ng/ml, $3,17 \pm 1,71$ ng/ml ve $3,41 \pm 2,09$ ng/ml olduğu belirlendi. Gruplarda bulunan hayvanların 20. gün serum P4 seviyelerinin sırasıyla $2,80 \pm 0,90$ ng/ml, $3,10 \pm 2,02$ ng/ml ve $3,41 \pm 1,56$ ng/ml olduğu ve grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak

farklılık olmamakla birlikte, kontrol grubunda bulunan hayvanların uygulama gruplarına göre P4 konsantrasyonlarının yüksek olduğu görüldü.

Tüm gruplarda ultrasonografi ve elle yapılan muayene bulguları ışığında belirlenen gebelik yüzdeleri arasında istatistiksel bir anlamlılığın ($p>0,05$) olmadığı belirlendi. (Şekil 3.1)

3.2.1. Gebe Hayvanların Laboratuvar Bulguları

Her üç grup içerisinde gebe olduğu belirlenen hayvanların serum P4 değerleri ve tohumlama sonrası meloksikam enjeksiyon günleri içerisindeki dağılımları Çizelge 3.3.'de sunuldu.

Çizelge 3.3. Sadece gebe olan hayvanların P4 konsantrasyonları

GRUPLAR	P4 ÖLÇÜM GÜNLERİ			
		10. GÜN	15. GÜN	20. GÜN
	n	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)
1MG Gebe Döveler	6	3,36 ± 1,61 (1,64– 6,33)	2,97 ± 1,35 (1,40 – 5,05)	3,08 ± 0,55 (2,40 – 3,63)
2MG Gebe Döveler	5	3,51 ± 1,21 (1,62– 4,65)	3,49 ± 1,89 (1,53– 5,63)	3,78 ± 2,01 (2,29 – 7,05)
KG Gebe Döveler	6	3,98 ± 1,97 (1,73 – 7,52)	3,74 ± 2,08 (1,91 – 7,77)	3,51 ± 1,45 (2,16 – 6,01)

Gebe olduğu belirlenen ve 10.gün serum P4 konsantrasyonları ölçülen 1MG, 2MG ve KG'nda bulunan dövelerin sırasıyla $3,36 \pm 1,61$ ng/ml, $3,51 \pm 1,21$ ng/ml ve $3,98 \pm 1,97$ ng/ml olduğu belirlendi. 2MG grubunda bulunan hayvanların 10.gün serum P4 ortalamasının 1MG'ndaki ve KG'ndaki hayvanların ortalamaları ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu ($p<0,05$) farkın anlamlı derecede düşük olduğu belirlendi. Onbeşinci gün serum P4 düzeylerinin 1MG, 2MG ve KG'nda sırası ile $2,97 \pm 1,35$ ng/ml, $3,49 \pm 1,89$ ng/ml ve $3,74 \pm 2,08$ ng/mL olduğu ve grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılığın ($p>0,05$) bulunmadığı belirlendi. Benzer şekilde 1MG, 2MG ve KG'da bulunan

hayvanların 20. gün P4 değerlerinin sırasıyla $3,08 \pm 0,55$ ng/ml, $3,78 \pm 2,01$ ng/ml ve $3,51 \pm 1,45$ ng/ml olduğu gruplar arasında da farklılığın ($p < 0,05$) olmadığı belirlendi.

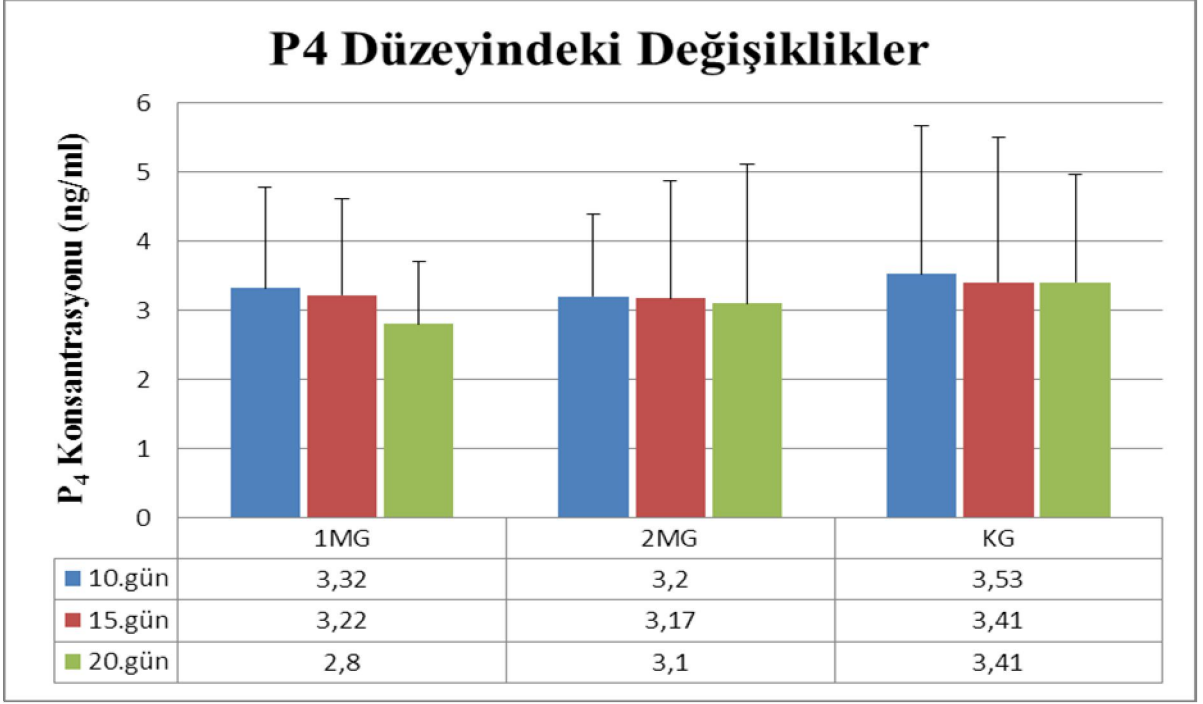
3.2.2. Gebe Olmayan Hayvanların Laboratuvar Bulguları

Gebe olmadığı belirlenen ve 60. günde rektal muayene ile gebelikleri teyit edilen hayvanların serum P4 düzeyleri 10, 15 ve 20. günlerde yapılan örneklemeler ve analizlerle belirlendi. Ortalama serum P4 konsantrasyonlarının gebe olmayan hayvanlardaki grup ve günlere göre dağılımları Çizelge 3.4’de sunuldu.

Çizelge 3.4. Gebe olmayan hayvanların P4 konsantrasyonları

GRUPLAR	P4 ÖLÇÜM GÜNLERİ			
	10. GÜN	15. GÜN	20. GÜN	
	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	$\bar{X} \pm SD$ (min – max)	
1MG Gebe Olmayan Döveler	1	$3,10 \pm 0$ (3,10)	$4,71 \pm 0$ (4,71)	$1,12 \pm 0$ (1,12)
2MG Gebe Olmayan Döveler	2	$2,41 \pm 1,04$ (1,67 – 3,14)	$2,37 \pm 1,18$ (1,54 – 3,21)	$1,37 \pm 1,18$ (1,22 – 1,51)
KG Gebe Olmayan Döveler	1	$1,67 \pm 0$ (1,67)	$1,52 \pm 0$ (1,52)	$1,11 \pm 0$ (1,11)

Gebe olmayan hayvanların 10. gün serum P4 konsantrasyonları 1MG (1 düve), 2MG (2 düve) ve KG’nda (1 düve) sırası ile $3,10$ ng/ml, $2,41 \pm 1,04$ ng/ml ve $1,67$ ng/ml, 15. gün P4 konsantrasyonları $4,71$ ng/ml, $2,37 \pm 1,18$ ng/ml ve $1,52$ ng/ml, 20.gün P4 konsantrasyonları ise $1,12$ ng/ml, $1,37 \pm 1,18$ ng/ml ve $1,11$ ng/ml oldukları belirlendi. Onuncu, 15. ve 20. günlerde elde edilen bu değerlerin gruplar arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı belirlendi.



Şekil 3.1. P₄ Düzeyindeki değişiklikler

4. TARTIŞMA

Gebeliğin ilk 45 günlük dönemi “Embriyonik Dönem” olarak tarif edilmektedir. Fertilizasyon ile gebeliğin 45. günü arasındaki kayıplar “Embriyonik Mortalite” olarak ifade edilmektedir. Embriyonik mortalite sütçü ve etçi sığır yetiştiriciliğinde düşük gebelik oranlarının, genetik ilerleme ve verim kayıplarının başlıca nedenleridir. İlk tohumlamada oluşmayan gebeliklerin yaklaşık %80’i tohumlama sonrası 6-18. günler arasında oluşan embriyonik kayıplardan meydana geldiği bildirilmektedir. Geriye kalan kayıpların %10-15’i 18-50. günler arasında oluşur. Embriyonik kayıplar 16-17. günden önce şekillenirse siklus normal olarak devam ederken; bu günlerden sonra oluşan kayıplarda sikluslar uzamakta ve düzensiz östrüs siklusları oluşmaktadır (Daşkın 2005).

Embriyonik ölüm nedenleri arasında, genetik bozukluklar, annenin yaşı, enfeksiyöz hastalıklar, sperma kalitesi, ısı stresi, laktasyon, immünolojik faktörler, beslenme yetersizlikleri gibi birçok faktörün yanı sıra endokrin faktörler, siklik E2-P4 dengesizlikleri ve P4 yetersizlikleri bulunmaktadır (Paksoy 2008, Kuran 2010, Ergene 2009, Daşkın 2005).

Peters yaptığı bir çalışmada (1996), tohumlama sonrası fertilizasyon oranını %90 tespit etmesine rağmen, 10-13. günler civarında gebelik oranının yaklaşık %80’e düştüğünü bildirmektedir. Bunun sebebini embriyonun gelişimindeki başarısızlık olarak göstermektedir. Ayrıca 19. gün civarında bu oranın, luteolizisin embriyo tarafından engellenememesi ve embriyo gelişimi için yeterli progesteron sekresyonunun olmaması sonucu, %60-65’lere gerilediğini tespit etmiştir. Sonuç olarak, erken embriyonik ölümlerin daha sık olarak embriyonun luteolizisi engelleyememesi sonucu şekillendiğini ileri sürmektedir.

Erken embriyonik ölümleri engellemek amacı ile son yıllarda gebeliğin anne tarafından tanınması süresinde $PGF_{2\alpha}$ salgılanmasını engellemek için NSAİİ kullanılırken, yeterli P4 desteği sağlamak üzere P4, GnRH veya hCG hormonu uygulamaları önerilmektedir (King 1990, Mann 2002). GnRH uygulamaları ile östrüs siklusunun luteal fazında aksesör CL oluşumunun uyarılması, plazma P4 konsantrasyonlarının artırılmasına yönelik bir stratejidir. GnRH ve hCG, luteal fazda dominant folikülün ovulasyonuna neden olmaktadır. Bu sayede aksesör bir CL oluşturulup ilave bir P4 kaynağı şekillenmektedir.

GnRH ve analoglarının bu etkisi ovaryumda dominant folikülün bulunduğu 4-6 ve 11-13. günlerde en yüksek düzeyde olmaktadır. Ayrıca, 11-13. günlerde sözü edilen etkinin mevcut foliküllerden östradiol üretiminin engellenmesi de söz konusudur. Bu etki ile oksitosin reseptör sayısındaki artış ve PGF₂ α üretimi azalmaktadır (Schmitt ve ark. 1996).

Progesteron desteği için uygulanan GnRH, HCG ve P4 uygulamalarının yanı sıra embriyonik ölümleri engellemek için kullanılan yöntemlerden biri de NSAİİ'lerin uygulanmasıdır. Bu ilaçlar, COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe eder, PGF₂ α sentezini engelleyerek, gebeliğin maternal tanımlanma dönemindeki kritik süreçte luteolizisi engelleyerek gebeliğin devam etmesini sağlar. Bu sebeple sunulan çalışmada da bu etkisinden faydalanmak üzere bir NSAİİ olan meloksikam kullanılmıştır.

NSAİİ, siklooksijenaz enzimlerinin (COX-1 ve COX-2) inhibisyonu ile PGF₂ α üretimini önleyerek gebeliğin maternal tanımlanma sürecinde CL lize olmasını engellemektedirler. vDaha önce gerçekleştirilen çalışmalarda, flunixin meglumin'in gebelik üzerine pozitif etkisi olduğu bildirilmektedir (Güzeloğlu ve ark. 2004, Doğruer ve ark. 2007). Bununla birlikte, yarılanma ömrü daha uzun olan selektif COX-2 inhibitörü meloksikamın ise PGF₂ α üretimini engellemesi yanında, COX-2'yi de uzun süre baskılaması nedeniyle gebelik oranına olumlu etkisinin olmadığı vurgulanmaktadır. Bu sebeple sunulan çalışmada, meloksikam daha önce uygulandığı dozun yarısı kullanılarak gebe oranı üzerindeki olumsuz etkisinin ortadan kaldırılması hedeflenmiştir. Çalışma gruplarındaki 25'er hayvanın gebelik oranları arasında bir fark bulunmamış (p>0.05) ve dozun yarıya düşürülmesinin gebelik oranları üzerindeki negatif etkisinin olmadığı bu çalışmada da görülmemiştir.

Yapılan literatür taramalarında, NSAİİ uygulamalarında P4 ölçümü yapılan çalışmalara rastlanılmamıştır. Özellikle meloksikam ile yapılan çalışmalarda, uygulamanın gebeliğin devamından sorumlu P4 üzerine etkisi araştırılmamıştır. Sunulan bu çalışmada, gruplardaki hayvanların rastgele seçilen 7'şer tanesinden P4 ölçümleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar tablo 4'te verilmiştir. Her ne kadar P4 değerleri arasındaki fark önemli bulunmasa da tek doz uygulama yapılan grupta (10. gün 3,32 \pm 1,47, 15. gün 3,22 \pm 1,40, 20. Gün 2,80 \pm 0,90), kontrol grubuna (10. gün 3,53 \pm 2,15, 15. gün 3,41 \pm 2,09, 20. Gün 3,41 \pm 1,56); 2 doz uygulama yapılan grupta (10. Gün 3,20 \pm 1,20, 15. gün 3,17 \pm 1,71, 20. gün 3,10 \pm 2,02) tek doz uygulama yapılan gruba göre daha düşük seyrettiği dikkati çekmektedir. Bu

da yapılan uygulamalarının P4 üzerine olumsuz bir etkisinin olabileceğini ve gebelik oranlarında düşme meydana getirebileceğini akla getirmektedir.

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Sığır yetiştiriciliğinde kritik dönem olarak kabul edilen 15-17. günlerde fetusun yolladığı sinyalle, ekzojen olarak destek olmak suretiyle korpus luteumun lize olma aşamasını atlama amacıyla meloksikam uygulamasının bu çalışmada; gebelik oranları üzerine olumlu bir etkisi tespit edilememiştir. Fakat benzer çalışmalarda elde edilen sonuçlardan farklı olarak, gebelik oranlarında düşme de görülmemiştir.

Yine sunulan çalışmada, çalışmaya dahil edilen hayvanların 7'şer tanesinden yapılan progesteron ölçümlerinde, kontrol grubuna göre, çalışma gruplarında progesteronun daha düşük (istatistiki olarak önemli değil) seyrettiği belirlenmiştir. Bu da yapılan uygulamaların progesteron konsantrasyonu üzerine olumsuz bir etkisinin olabileceğini akla getirmektedir.

Bu sebeple, materyal sayısı artırılarak daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada, siklusun 15 – 17. günlerinde Non Steroid Antienflamatuar ilaç olan meloksikamın yarı dozda kullanımı ile uzun yarılanma süresinin $PGF_2\alpha$ salınımını baskılanması ve COX-2 enziminin uzun süre inhibisyonu neticesi oluşan olumsuz etkiyi de ortadan kaldırmak amaçlanmıştır.

Çalışmada, 15-16 aylık yaşta, toplam 75 adet Holştayn ırkı düve kullanıldı. Düvelere, senkronizasyon amacıyla doğal $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu uygulandı. Enjeksiyon sonrasında klinik östrus gösteren düveler tohumlandı. Hayvanlar eşit 3 gruba ayrıldı. Gruplar, sırasıyla tek doz Meloksikam uygulanan grup (n=25), iki doz Meloksikam uygulanan grup (n=25) ve kontrol grubu (n=25) olarak adlandırıldı. Birinci çalışma grubundaki hayvanlara tohumlama sonrası 15. gün 0.25 mg/kg tek doz Meloksikam; derialtı olarak uygulandı. İkinci çalışma grubundaki hayvanlara ise 15 ve 16. günlerde 12 saat arayla 0.125 mg/kg iki doz Meloksikam derialtı yolla verildi.

Tohumlamalardan sonraki 35-45. günlerde yapılan gebelik muayenelerinde, tek doz meloksikam grubunda, birinci çalışma grubunda 15, ikinci çalışma grubunda 16 ve kontrol grubunda ise 15'inde gebelik tespit edildi. Gruplar arası gebelik yüzdeleri sırasıyla %60, %64 ve %60 olarak tespit edildi. Gebelik oranları arasında istatistiki fark belirlenmedi ($p > 0.05$). Meloksikamın tek doz uygulandığı gruptaki hayvanların 10. gün kan P4 düzeylerinin ortalama $3,32 \pm 1,47$ ng/ml, iki doz meloksikam grubunda ortalama $3,20 \pm 1,20$ ng/ml, kontrol grubunda ise ortalama $3,53 \pm 2,15$ ng/ml olduğu belirlendi. Onuncu gün serum P4 konsantrasyonlarında gruplar arası istatikselsel bir farkın olmadığı ($p > 0.05$) tespit edildi. On beşinci gündeki serum P4 konsantrasyonlarının sırasıyla $3,22 \pm 1,40$ ng/ml, $3,17 \pm 1,71$ ng/ml ve $3,41 \pm 2,09$ ng/ml olduğu ve gruplar arası istatistikselsel fark olmadığı belirlendi. Gruplarda bulunan hayvanların 20. gün serum P4 seviyelerinin sırasıyla $2,80 \pm 0,90$ ng/ml, $3,10 \pm 2,02$ ng/ml ve $3,41 \pm 1,56$ ng/ml olduğu ve grup ortalamaları arasında istatistikselsel olarak farklılık olmamakla birlikte, kontrol grubunda bulunan hayvanların uygulama gruplarına göre P4 konsantrasyonlarının yüksek olduğu görüldü.

Sonuç olarak; 15. gün yarı dozda tek veya iki enjeksiyon olarak uygulanan meloksikamın gebelik oranı üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı, P4 düzeylerinde ise istatistiki olarak önemli bulunmasa da azaltıcı etkisi olabileceği gözlemlendi.

Effects of Different Treatments and Doses of Meloxicam After Insemination Pregnancy Rate at Dairy Heifers

SUMMARY

In this study, it was aimed to eliminating of negative effect following suppressing $\text{PGF}_2\alpha$ and long-term inhibition of COX-2 enzymes by using of half dosage -non-steroidal anti-inflammatory drug meloxicam at 15 – 17th day of the cycle.

A total of 75 Holstein heifers aged between 15-16 months were used in the study. Natural $\text{PGF}_2\alpha$ were injected to the heifers for oestrus synchronising. After injections, the heifers showed clinical oestrus behaviours were inseminated artificially. Animals were grouped as in 3 equal groups. The groups were meloxicam with single dosage (n=25), with two dosages (n=25) and control group (n=25), respectively. In the first study group, animals were received as single meloxicam injection 0.25 mg/kg at 15th day post insemination. In second group, they were received meloxicam injections 0,125 mg/kg at 15th and 16th days post insemination subcutaneously.

During pregnancy diagnosis examinations between 35 and 45 days after inseminations, pregnancies were recorded in 15 heifers in first study group, 16 heifers in second study group and 15 heifers in control group. Pregnancy rates in study groups were determined as 60%, 64% and 60%, respectively. No significant differences in pregnancy rate of groups were determined ($p > 0.05$). The mean blood P4 concentrations at 10th day were 3.32 ± 1.47 ng/ml, $3,20 \pm 1,20$ ng/ml and $3,53 \pm 2,15$ ng/ml in the animals of single dose-meloxicam, two dose-meloxicam and control groups, respectively. There was no statistical differences in the mean blood P4 concentrations at 10th day among the groups ($p > 0.05$). The mean blood serum P4 concentrations at 15th day were detected as 3.22 ± 1.40 ng/ml, 3.17 ± 1.71 ng/ml and 3.41 ± 2.09 ng/ml in the study groups, respectively and there was no statistical differences in the mean blood P4 concentrations ($p > 0,05$). At day of 20th, P4 concentrations of animals in each group were 2.80 ± 0.90 ng/ml, 3.10 ± 2.02 ng/ml and 3.41 ± 1.56 ng/ml and there was no statistical difference between mean P4 values of each group, however P4 concentrations in control group animals were higher than both meloxicam groups.

As a result, it was determined that both meloxicam applications on day 15 has no positive effects on pregnancy rates, and also possible non-significantly decreasing effects on the progesterone levels.

KAYNAKLAR

Ahmad N. Townsend EC. Dailey RA. Inskeep, E.K.: Relationship of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. Anim. Reprod. Sci. 49; 1997, 13-28

Ak K, İleri K, Cirit Ü. Sığırlarda Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama. Vetaş Bülten; 2005, Sayı:13: 5-8

Ake-Lopez R, Seguerra Correa JC, Quintal F. Effect of flunixin meglumine on the corpus luteum and possible prevention of embryonic loss in Pelibuey ewes. Small Rumin Res.; 2005, 59: 83-7

Ake-Lopez R, Segura-Correa JC, Quintal-Franco J. Effect of flunixin meglumine on the corpus luteum and possible prevention of embryonic loss in pelibuey ewes, Small Ruminant Research 59; 2005, 83-87

Aktümsek A. Anatomi ve Fizyoloji. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 2001

Alaçam E. Evcil Hayvanlarda Doğum Ve İnfertilite, Medisan Yayınevi 2005, 27

Alaçam E. İneklerde Postpartum Fizyolojik Süreç ve Follikül Dinamiği, Çiftlik Hayvanlarında Üreme Sempozyumu, İzmir; 2005, p.5

Altuğ ÖC. Non-Steroid Antienflamatuar İlaçların Ağrı Kesici Olarak Etkinlikleri, Danışman: Prof.Dr. Sezgin ULUKAYA, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı; 2013

Anonim. <http://bavet.com.tr/hayvan-sagligi/ciftlik-hayvanlari/fundamin/>. Erişim Tarihi: 03.11.2014

Anonim. <http://baytarizm.blogspot.com.tr/2013/02/ineklerde-seksuel-siklus.html>, Erişim Tarihi:03.11.2014

Arosh JA, Apreni J, Chapdelaine P, Sirois J Fortier MA. Expression of Cyclooxygenases 1 and 2 and Prostaglandin E Synthase in Bovine Endometrial Tissue during the Estrous Cycle. Biol, Reprod.; 2002, 67, 161-9

Asselin E, Bazer FW, Fortier MA.. Recombinant Ovine and Bovine Interferons tau Regulate Prostaglandin Production and Oxytocin Response in Cultured Bovine Endometrial Cells, Biol. Reprod., 1997, 56, 402-8

Bearden HJ, Fuquay JW. Applied Animal Reproduction. Fifth Edition, Prentice Hall, New Jersey; 2000

Bellmann A. Follikeldynamik und korrespondierende Hormonkonzentrationen beim Rind unter dem Einfluss eines, GnRH-Agonisten in Depotformulierung (Decapeptyl® Depot). Univ. Leipzig, Diss., 2001

Bilby TR, Güzeloğlu A, MacLaren LA, Staples CR, Thatcher WW. Pregnancy, Bst and omega-3 fatty acids in lactating dairy cows: II. Gene expression related to maintenance of pregnancy. Journal Dairy Science; 2006, 89,3375-3385

Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS. Antiluteolytic Strategies to Improve Fertility in Cattle. Theriogenology; 2001, 56 (9): 1451-1463

Blazer FW, Spencer TE, Ott TL. Interferon Tau : A Novel pregnancy recognition signal. Am.J.Reprod.immuN; 1997, 37 : 412 – 420

Burke CR, Day M, Bunt CR, Macmillan KL. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. J. Anim. Sci. 78; 2000,145-151

Bülbül B. Saha şartlarındaki ineklerde farklı östrüs senkronizasyon yöntemlerinin fertilité üzerine etkisini araştırılması, Doktora tezi, S.Ü. Sağlık Bilimleri Enst; 2004, Konya

Charpigny G, Reinaud P, Tamby JP, Creminon C, Martal J, Maclouf J, Guillomot M. Expression of Cyclooxygenase-1 and -2 in Ovine Endometrium during the Estrous Cycle and Early Pregnancy. Endocrinology; 1997, 138,2163-71

Cirit Ü. Siyah Alaca İneklerde PGF₂ α ve GnRH'nın Farklı Kombinasyonları ile Östrüs Senkronizasyonu Çalışmaları, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı Doktora Tezi; 2002, İstanbul

Clark JD, Un LL, Kriz RW, Ramesha CS, Sultzman LA, Lin AY, Milona N, Knopf JL. A Novel Arachidonic Acid-Selective cytosolic PLA2 contains a Ca^{2+} -Dependent Translocation Domain with Homology to PKC and GAP. Cell; 1991, 65, 1043-51

Çimen M. Ovulasyonları Senkronize Edilmiş İnek Ve Düvelerde Tek Ve Çift Tohumlamanın Gebelik Oranına Etkilerinin Karşılaştırılması, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi; 2008, Kayseri

Çoyan K, Tekeli T. İneklerde suni tohumlama. Birinci Baskı, Bahçıvanlar Basım San. A.S., Konya; 1996

Çoyan K. Evcil Hayvanlarda Seksüel Sikluslar Alınmıştır “Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun’i Tohumlama Doğum ve İnfertilite” Editör E.Alaçam; 1994, 25-36, Dizgievi, Konya

Danet-Desnoyers G, Wetzeis C, Thatcher WW. Natural and Recombinant Bovine Interferons Regulate Basal and Oxytocin-Induced Secretion of PGF_2 Alpha and PGE_2 by Endometrial Epithelial and Stroma Cells. Reprod., 1994, Fertil. Dev., 6, 193-202

Daşkın A. Sığırcılık İşletmelerinde Reprodüksiyon Yöntemi Ve Suni Tohumlama, Aydan Ofset Ankara; 2005: 18

Doğruer G, Sarıbay MK, Karaca F. Repeat breeder sorunlu düvelerde flunixin meglumin uygulamalarının gebelik oranı üzerine etkisi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, Cilt 21; Sayı 6 2007, 263-268

Doğruer G, Sarıbay MK, Karaca F. Repeat Breeder Sorunlu Düvelerde Flunixin Meglumin Uygulamalarının Gebelik Oranı Üzerine Etkisi, MKÜ Üniversitesi Veteriner Fakültesi; 2007, p.21

Ergene O. Repeat Breeder İneklerde Tohumlamayı İzleyen Farklı Günlerde PRID ve GnRH ile Sağaltım Girişimleri. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Programı; 2009, Ankara

Friton GM, Cajal C, Ramirez-Romero R, Kleemann R. Clinical efficacy of meloxicam (metacam) and flunixin meglumine as adjuncts to antibacterial treatment of respiratory disease in cattle, Beri Munch Tierarztl Wochenschr; 2004, 117, 304-309

- Goda S, Hamano S, Miyamura M, Dochi O, Koyama H. Effect of flunixin meglumine in co-culture medium on the development of *in vitro* matured and fertilized bovine embryos. *Reprod Fertil Dev.*; 2005, 17 (2): 219
- Guillomot M, Michel C, Gaye P, Charlier N, Trojan J, Martal J. Cellular Localization of an Embryonic Interferon, Ovine Trophoblastin and its mRNA in Sheep Embryos during Early Pregnancy. *Biol. Cell.*; 1990, 68,205-11
- Guillomot M. Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. *J. Reprod. Fétil. Suppl.*; 1995, 49: 39-51
- Güzeloğlu A, Bilby T, Meikje A, Kamimura S, Kowalski A, Michel F, MacLaren LA, Thatcher WW. Pregnancy and Bovine Somatotropin in Non-lactating Dairy Cows: II. Endometrial Gene Expression Related to Maintenance of Pregnancy. *J. Dairy Sci.*; 2004a, 87,3268-79
- Güzeloğlu A, Erdem H, Sarıbay MK, Thatcher WW, Tekeli T. Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. *Vet. Rec.*; 2007, 160: 404-6
- Güzeloğlu A, Michel F, Thatcher WW. Differential Effects of Interferon-t on the Prostaglandin Synthetic Pathway in Bovine Endometrial Cells Treated with Phorbol Ester. *J. Dairy Sci.*; 2004b, 87, 2032-41
- Güzeloğlu A. İneklerde Gebeliğin Maternal Kabulü Sürecinde Anti-Luteolizisin Moleküler Mekanizması, *Vet. BU. Derg.*; 2006, 22,1-2: 83-88
- Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animals*. 4th Ed., Lea and Febiger; 1993, Philadelphia
- Jenner LJ, Parkinson TJ, Lamming GE. Uterine Oxytocin Receptors in Cyclic and Pregnant Cows. *J. Reprod. Fert.*; 1991, 91,49-5
- Kanitz W. Follicular dynamic and ovulation in cattle, *Arch. Tierz., Dummerstar*, 46; 2003, 2, 187-198
- Kim S, Choi Y, Bazer FW, Spencer TE. Effects of the Estrous Cycle, Pregnancy and Interferon-t on Cyclooxygenase 2 (COX-2) Expression in Ovine Endometrium. *Biol. Reprod. Suppl.*; 2002, I, 66,417

King WA (1990) Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Adv Vet Sci Comp Med.*, 34: 229-250

King WA. Embryo-mediated Pregnancy Failure in Cattle. *Can. Vet. J.*; 1991, 32: 99-103

Kuran M. Çiftlik hayvanlarında embriyonik kayıpların azaltılmasına yönelik yapılan çalışmalar, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölüm Erişim Adresi: http://4uzbk.sdu.edu.tr/4UZBK/HYB/4UZBK_009.pdf Erişim Tarihi: 15.12.2010

Lemaster JW, Seals RC, Hopkins FM, Schrick FN. Effects of administration of oxytocin on embryonic survival in progesterone supplemented cattle. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*; 1999, 57(4): 259-68

Lin LL, Wartman M, Un AY, Knopf JL, Seth A, Davis RJ. cPLA₂ is Phosphorylated and Activated by MAP kinase. *Cell*; 1993, 72, 269-78

Mann GE (2002) Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine. 22. World Buiatrics Congress. Hannover. P:300-306.

Mann GE, Lamming GE. Steroid Hormone Manipulation in the Control of Luteolysis in Cattle. *J. Reprod.*; 1992, *Fert.*, 9, Abst. 32

McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Lúteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event, *Physiol.Rev.*; 1999, 79, 263-324

Meyer MD, Hansen PJ, Thatcher WW, Drost M, Badinga L, Roberts RM, Li J, Ott T, Bazer FW. Extension of Corpus Luteum Lifespan and Reduction of Uterine Secretion of Prostaglandin F₂ alfa of Cows in Response to Recombinant Interferon- τ . *J. Dairy Sci.*; 1995, 78 (9), 1921-1931

Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev*; 2000, 80: 1-29

Noakes ED, Parkinson TJ, England GCW, Arthur GH. Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. Eighth Edition, Saunders Company, London; 2001

Odensvik K, Gustafsson H, Kindalh H. The effect on luteolysis by intensive oral administration in heifers. *Anim Reprod Sci.*; 1998; 50: 35-44

- Paksoy Z. İneklerde tohumlama sırası ve sonrası gnrh ve hcg kullanımının kan serumu ve progesteron düzeyleri ve gebe kalma oranları üzerine etkisi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2008, Elazığ
- Parkinson TJ, Jenner LJ, Lamming GE. Comparison of Oxytocin/Prostaglandin F₂ alfa Interrelationships in Cyclic and Pregnant Cows. J. Reprod.; 1990, Fert., 90, 337-345.
- Parkinson TJ, Wathes DC, Jenner LJ, Lamming GE. Plasma and Luteal Concentrations of Oxytocin in Cyclic and Early-Pregnant Cattle. J. Reprod.; 1992, Fert., 94, 161-167
- Peters AR. Embryonic mortality in the cow, Anim. Breed Abstr.; 1996, 64, 587-598
- Pru JK, Rueda BR, Austin KJ, Thatcher WW, Guzeloğlu A, Hansen TR. Interferon-Tau Suppresses Prostaglandin F₂ Alpha Secretion Independently of the Mitogen-Activated Protein Kinase and Nuclear Factor Kappa B pathways. Biol. Reprod.; 2001, 64, 965-73
- Purcell SH, Beal WE, Gray KR. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. Theriogenology; 2005, 64: 867-78
- Rhodes FM, De´Ath G, Entwistle KW. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. Anim. Reprod. Sci. 38; 1995, 265-277
- Roberts RM, Cross JC, Leaman DW. Interferons as Hormones of Pregnancy. Endoc. Rev.; 1992, 13:432-52
- Roberts RM, Liu L, Alexenko AP. New And Atypical Families of T I Interferons in Mammals: Comparative Functions, Structures and Evolutionary Relationships. Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol.; 1997, 56. 287-325
- Roberts RM. Interferon-tau and Pregnancy. J. Interferon Cytokine Res.; 1996, 16, 271-3
- Roberts SJ. Veterinary Obstetrics and Genital Disease (Theriogenology) 3.ed. Reprinted, Edward Brothers, Inc, Michigan, 1991
- Salamonsen LA, Fmdlay JK. Immunocytochemical Localization of Prostaglandin Synthase in the Ovine Uterus during the Estrous Cycle and in Early Pregnancy. Reprod. Fért. Dev.; 1990, 2:311-9

Satılmış M, Bilgili A. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçların Yeni Kullanım Seçenekleri, Erciyes Üniv.Vet.Fak.Derg; 2013, 10(1) 63-71

Scenna FN, Hockett ME, Towns TM, Saxton AM, Rohrbach NR, Wehrman ME, Schrick FN. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. Prostaglandins Other Lipid Mediators; 2005, 78: 38-45

Schmitt EJP, Barros CM, Fields PA, Fields MJ, Diaz T, Kluge JM, Thatcher WW. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. Anim. Sci. 74:1996, 1915-1929.

Senger PL. Pathways to Pregnancy and Parturition, 2nd Ed. Washington State University Research & Technology Park, USA; 2003

Silva WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson L. Hormonal Regulation of Prostaglandin F₂ alfa During Luteolysis in Ruminants. Biol. Reprod.; 1991, 45, 655-663

Spencer TE, Bazer FW. Biology of the progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. Front. Biosci., 7:2002, 1879-1898

Spencer TE, Ott TL, Bazer FW. T-Interferon: Pregnancy Recognition Signal in Ruminants. Proc.Exp.Biol.Med.,; 1996, 213 (3): 215- 29

Süzer Ö. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların farmakolojisi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı; 2014 Erişim Adresi:önersuzer.com Erişim Tarihi: 24.11.2014

Şentürk T. Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar ;
<http://ichastaliklariromatoloji.medicine.ankara.edu.tr/files/2014/02/Non-Steroid-Anti-%C4%B0nflamatuvar-%C4%B0la%C3%A7lar-NSA%C4%B0%C4%B0.pdf>, Erişim Tarihi: 21.09.2013

Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. Concepts for the regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology; 1989, 31: 149-164

Thatcher WW, Güzeloğlu A, Mattos R, Bineli M, Hansen TR, Pru JK. Uterine-Conceptus Interactions and Reproductive Failure in Cattle. *Theriogenology*; 2001, 56, 1435-50

Traş B, İzci C, Elmas M. Fluniksin meglumin (finadyne)'in eklem sıvısına geçiş oranının belirlenmesi, *Vet. Bil. Derg*; 1995,11,1:65-66

Tuncer PB. Gebelik Tanınmasında İnterferon Tau (INF- τ), *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*; 2003, 43 (1) 47-60

Türker RK, Kayaalp SO. Eikozanoidler (Araşidonik Asid Metabolitleri) ve Diğer Otakoidler,

<http://tippedu.cumhuriyet.edu.tr/Donem3/KomiteIIISolunumDolasimSistemleri/Farmakoloji/SerdarSoydan/EiKOZANOiDLER2.doc>, Erişim Tarihi: 12 Ocak 2013

Vallet JL, Lamming GE, Batten M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and oestradiol in the ewe. *J.Reprod.Fertil.*; 1990, 90 : 625 – 634

Wathes DC, Lamming GE. The oxytocin receptor, luteolysis and the maintenance of pregnancy. *J.Reprod.Fertii.*; 1995, 49 : 53 – 67

Xiao CW, Uu JM, Sirois J, Goff AK. Regulation of Cyclooxygenase and Prostaglandin F Synthase Gene Expression by Steroid Hormones and Interferontau in Bovine Endometrial Cells. *Endocrinology*, 1998, 139,2293-9

Yıldız H. İneklerde Oksitosin Enjeksiyonlarının Luteal Regresyon Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, Türkiye. 2000

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılının Ekim ayında Tokat'da doğdum. İlköğrenimini Bayındır Atatürk İlkokulu'nda, orta öğrenimini Tire Kutsan Anadolu Lisesi'nde, lise öğrenimini Özel Yamanlar Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde üniversite eğitimine başladım. 2008 yılında üniversite eğitimini tamamladım. 11/2008-11/2009 tarihleri arasında yedek subay olarak askerlik görevini yerine getirdim. 2009/2010 bahar yarıyılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladım. 2011-2012 güz döneminde yüksek lisans eğitimini bırakarak aynı anabilim dalında doktora eğitimine başladım. 2011-2012 bahar döneminde yüksek lisans eğitimine tekrar başlayarak doktora eğitimi ile birlikte yarım kalan yüksek lisans eğitimine de devam ettirdim. Temmuz 2012 yılında araştırma görevlisi kadrosunu aldım. Halen araştırma görevlisi olarak görevime devam etmekteyim.

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca çalışmalarımda desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN'e,

Eğitimim boyunca desteklerini gördüğüm Anabilim Dalı hocalarım Doç. Dr. Bayazıt MUSAL, Doç. Dr. Güneş ERDOĞAN, Doç. Dr. Hakkı Bülent BECERİKLİSOY ve Yrd. Doç. Dr. Bilginer TUNA'ya,

Her zaman bana her konuda destek olan aileme,

Çalışmalarımda hayvan materyal temini açısından yardımcı olan Vet. Hek. Hidayet YAMAN ve Vet. Hek. Feyyaz KOCAARSLAN'a

Progesteron ölçümleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Gamze TOSUN'a

Elde edilen verilerin istatistiksel analizinde yardımcı olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Hasan ERDOĞAN'a ve Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Hüseyin Bilgin BİLGİÇ'e

TEŞEKKÜR EDERİM.