T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

BİR GnRH ANALOĞU OLAN DESLORELİN İMPLANTININ KEDİLERDE REPRODÜKSİYONA ETKİSİ

TUĞBA SEVAL FATMA TOYDEMİR

DANIŞMAN
Prof. Dr. M. RAGIP KILIÇARSLAN

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

04 / 03 / 2008

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum	: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı	: Doğum ve Jinekoloji
Programın seviyesi	: Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒
Anabilim Dalı	: Doğum ve Jinekoloji
Tez Sahibi	: Tuğba Seval Fatma Toydemir
Tez Başlığı	: Bir GnRH Analoğu Olan Deslorelin İmplantının Kedilerde Reprodüksiyona Etkisi
Sınav Yeri	: İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Sınav Tarihi	: 22 / 02 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1.Prof. Dr. Adem Şenünver, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

2.Prof. Dr. M. Kemal Soylu, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı

3.Prof. Dr. Kemal Ak, İstanbul Üniversitesi (tez izleme komitesi üyesi), Veteriner Fakültesi, Sun'i Tohumlama ve Reprodüksiyon Anabilim Dalı

4.Prof. Dr. M. Ragıp Kılıçarslan (tez danışmanı), İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

5.Doç. Dr. Çağatay Tek (tez izleme komitesi üyesi), İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Tuğba Seval Fatma TOYDEMİR

İTHAF

Sevgili arkadaşım Lerna Özkaya'ya

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca beni her zaman destekleyen Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Adem ŞENÜNVER'e, hocam Prof.Dr.M.Ragıp KILIÇARSLAN'a, Prof.Dr.Huriye HOROZ KAYA'ya, bilimsel eleştiri ve yorumlarını benimle paylaşan sevgili hocam Prof.Dr.Kemal AK'a, tezimin hormon ekstraksiyonu için hiç düşünmeden bana laboratuarlarını açan değerli Fizyoloji Anabilim Dalı üyelerine ve Doç.Dr.Erdal MATUR'a, istatistiksel analizlerdeki yardımları için Dr.Bülent EKİZ'e, RIA analizleri için gamma counter cihazını kullanmamı sağlayan Dr.Ümit CİRİT'e, RIA analizleri esnasındaki yardımlarından dolayı Dr.Kazım Güvenç'e ve destekleri için Anabilim Dalındaki bütün öğretim görevlilerine ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Fekal ekstraksiyonların yapılması konusunda zaman zaman ümitsizliğe düştüğümde bana manen destek olan ve bildiği şeyleri paylaşmaktan hiçbir zaman çekinmeyen sevgili Dr.Janine BROWN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam esnasında yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve bana her zaman destek olan annem Kadriye ASILSOY, teyzem Keriman ASILSOY ve ağabeyim Ilgaz TOYDEMİR'e ve ailemin diğer değerli mensuplarına teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-526/21102004

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİ
ÖZET ..... Xİİİ
ABSTRACT ..... XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
1.1. Tezin Konusu 1
1.2. Tezin Amacı 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Hipotalamus 4
2.2. Hipotalamo-hipofizier Portal Sistem 4
2.3. GnRH 5
2.4. GnRH'nın Nöyronal Göçü 7
2.5. GnRH Tipleri ve Reseptörleri 8
2.6. GnRH Analogları 10
2.7. GnRH Agonistleri ve Hipofizer Down Regülasyon 15
2.8. Dişi Kedilerde Reprodüktif Anatomi, Fizyoloji ve Endokrinoloji 20
2.8.1. Dişi Kedilerde Reprodüktif Anatomi 20
2.8.1.1. İnternal Genital Organlar 20
2.8.1.2. Eksternal Genital Organlar 24
2.8.2. Dişi Kedilerde Reprodüktif Fizyoloji ve Endokrinoloji 25
2.8.2.1. Puberte ve En Uygun Üreme Yaşı 25
2.8.2.2. Mevsime Bağlı Kızgınlık (Östrus) Gösterme ve Fotoperiodizm 27
2.8.2.3. Östrus Siklusunun Evreleri 29
3. GEREÇ VE YÖNTEM 42

3.1. Gereç 42
3.1.1. Hayvan Materyali 42
3.1.2. Bakım Koşulları ve Beslenme Düzeni 42
3.2. Yöntem 43
3.2.1. Araştırma Gruplarının Oluşturulması 43
3.2.2. Çalışmanın Hazırlık Dönemi 43
3.2.3. Çalışma Dönemi 44
3.2.3.1. Östrus Davranışlarının Gözlenmesi 45
3.2.3.2. Fekal Numunelerin Toplanması ve Ekstraksiyonu 46
3.2.3.3. Ekstraksiyon İşlemi 46
3.2.3.4. RIA Analizleri 47
3.2.3.5. Ovariyohisterektomi ile Reprodüktif Organların Elde Edilmesi, Morfolojik Muayenesi, Tartımı ve Histolojik Doku Takibi İçin İşlenmesi 47
3.2.3.6. İstatistik Analizler 48
4. BULGULAR 53
4.1. Genel Bulgular 53
4.2. İmplantasyon Sahasındaki Değişimler 54
4.2.1. Fekal Östradiol Değerleri 56
4.2.2. Davranışsal Bulgular 66
4.2.3. Ovaryum ve Uterus Morfolojisi ve Histopatolojisi 71
4.2.3.1. Morfolojik Bulgular 71
4.2.3.2. Histopatolojik Bulgular 73
5. TARTIŞMA 85
KAYNAKLAR 93
ETİK KURUL KARARI 101
ÖZGEÇMİŞ 102

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4-1: Megestrol Asetat Uygulama Döneminde Gruplar Arasındaki Fekal Östradiol Düzeyleri ve Önemlilik Kontrolleri. 56
Tablo 4-2: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Gruplar Arasında Fekal Östradiol Seviyelerinin Farklılık Gösterdiği Günler ve Önem Kontrolleri. 57
Tablo 4-3: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Östrus Gösterip Çiftleşen İki Kedideki İmplantasyondan Sonraki İlk Bir Ay Fekal Östradiol Değerleri. 63
Tablo 4-4: Gruplara Ait Vücut Ağırlıkları, Ovaryum ve Uterus Ağırlıkları ve Histolojik Parametreler ve Önemlilik Kontrolleri. 75
Tablo 4-5: Gruplara Ait Vücut Ağırlıkları, Ovaryum ve Uterus Ağırlıkları ve Histolojik Parametreler Arasındaki Korrelasyon. 76

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: GnRH'nın Moleküler Yapısı. 5
Şekil 2-2: GnRH Agonist ve Antagonistlerinin Etki Biçimi. 13
Şekil 2-3: Deslorelin'in Amino Asit Dizilişi. 17
Şekil 2–4: Dişi Kedide Reprodüktif Kanalın Şematik Gösterimi 20
Şekil 2-5: Dişi Kedide Alt Reprodüktif Kanalın Longitudinal Kesimi. 23
Şekil 2-6: Kedide Östrus Davranışları ve Çiftleşme. 32
Şekil 3-1: Sol Altta Plasebo İmplant İmplantörü, Sağ Altta Suprelorin İmplantörü. 49
Şekil 3-2: Deslorelin İmplantının Uygulanışı. 49
Şekil 3-3: Grup 1'de Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Davranışsal Östrus Gösterip Dokuz Gün Süreyle Çiftleştirilen 1 Numaralı Kedi. 50
Şekil 3-4: Grup 1'de Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Davranışsal Östrus Gösterip On Gün Süreyle Çiftleştirilen 18 Numaralı Kedi. 50
Şekil 3-5: Fekal Numune Alımı Öncesinde Kedilerin Metabolik Kafeslere Alınması. .51
Şekil 3-6: Poşetlenmiş Fekal Numunenin Metal Bir Çubuk Yardımıyla Karıştırılarak Homojenizasyonu ve Yabancı Cisimlerin Uzaklaştırılması, Numunenin Tartımı, Vortekslenmesi ve En Son Santrifüj Edilerek Ekstraktın Elde Edilmesi. 52
Şekil 4-1: İmplantasyon Sahasındaki Değişimler. 55
Şekil 4-2: Grup 1'de Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Düzeyi. 60
Şekil 4-3: Grup 2'de Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Düzeyi. 61
Şekil 4-4: Grup 3'te Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Düzeyi. 62
Şekil 4-5: 1 Numaralı Kedide Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Seviyeleri. 64
Şekil 4-6: 18 Numaralı Kedide Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Seviyeleri. 64
Şekil 4-7: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra İki Ay Süreyle Östrus Davranışları Gösteren Kedide Tüm Çalışma Boyunca Fekal Östradiol Değerlerindeki Değişimler. .65

Şekil 4-8: Deslorelin İmplantasyonundan 3,5 Ay Sonra Östrus Belirtileri Saptanan ve Bir Daha Tüm Çalışma Boyunca Davranışsal Östrus Göstermeyen 14 Numaralı Kedinin Fekal Östradiol Düzeyleri.....65
Şekil 4-9: Deslorelin İmplantasyonundan 16,5 Ay Sonra Fekal Östradiol Seviyelerinde Artış Saptanan 13 Numaralı Kedinin Tüm Çalışma Boyunca Gösterdiği Fekal Östradiol Düzeyleri.....66
Şekil 4-10: Gruplar Arasında Kuyruğu Yana Alma Frekansı.....67
Şekil 4-11: Gruplar Arasında Lordoz Pozisyonu Alma Frekansı. 68
Şekil 4-12: Gruplar Arasında Aşırı Miyavlama Frekansı.....69
Şekil 4-13: Gruplar Arasında Değişik Objelere Sürtünme Davranışı Frekansı.....70
Şekil 4-14: Grup 3'teki Bir Kedinin Ovaryumundaki Folliküler Yapılar.....71
Şekil 4-15: Değişik Gruplardaki Kedilere Ait Ovaryumlar.....72
Şekil 4-16: Grup 3'te Oldukça Kalın Bir Yapıda Olan Uterus. 72
Şekil 4-17: Değişik Gruplardaki Kedilere Ait Uteruslar. 73
Şekil 4-18: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerde İnaktif Yapıdaki Ovaryum (Herhangi Bir Antral Follikül veya Korpus Luteum Gözlenmiyor).....77
Şekil 4-19: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerde Oldukça Fazla Sayıda Olan Ovaryum Korteksindeki Primordial ve Primer Folliküller ve Primordial Folliküllerin Altında Kümeleşen Ovarien İnterstisyel Hücreler.....77
Şekil 4-20: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerin Bir Kısmında Ovarien Doku İçerisinde Oldukça Yaygın Olarak Görülen Ovarien İnterstisyel Hücrelerin Ovaryum Dokusunu İstila Etmiş Görünümü (Ovarien İnterstisyel Hücre Hiperplazisi). 78
Şekil 4-21: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerin Bir Kısmında Yoğun Olarak Görülen Yumak Oluşturmuş Görünümdeki Ovarien İnterstisyel Hücreler. 78
Şekil 4-22: Grup 1'deki 13 Numaralı Kedide 0,81×0,8 mm Ölçülerindeki İnaktif Korpus Luteum.....79
Şekil 4-23: Grup 1'deki 14 Numaralı Kedide 1,04×0,82 mm Ölçülerindeki İleri Derecede Vakuolleşmeler Gösteren Korpus Luteum ve Küçük Antral Folliküller. 79
Şekil 4-24: Ovaryum Korteksindeki Çeşitli Aşamalardaki Folliküler Yapılar.....80
Şekil 4-25: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerin Ovaryum Kesitlerinde Hemen Hemen Hiç Görülmeyen, Grup 3'teki Kedilerde İse Sıklıkla Rastlanılan Antral Follikül.....80
Şekil 4-26: Grup 3'teki Bir Kedide Biri 2,69 mm, Diğeri 2,49 mm Çaplarındaki Aktif Korpus Luteumlar. 81

Şekil 4-27: Grup 3'teki Kedilerde Görülen Aktif Ovaryum Yapısı, Primordial Follikül Sayısı Oldukça Azalmış, İçi Boşluklu Kesitler Büyük Antral Folliküller Gösteriyor…81
Şekil 4-28: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerde Gözlemlenen ve Çok Az Sayıda Endometrial Bez İçeren İnaktif Yapıdaki Endometrium (Bez Yapılarının Arasındaki Bağ Dokusuna Dikkat). 82
Şekil 4-29: Grup 3'teki Folliküler Fazdaki Bir Kedide Kübik Epitel Yapısına Sahip Şişkin Endometrial Bezleri İçeren Endometrium. 82
Şekil 4-30: Grup 3'te Luteal Fazdaki Bir Kedide Yalancı Çok Katlı Epitel Yapısına Sahip, Uzun ve Dallanmalar Gösteren Endometrial Bezleri İçeren Endometrium.....83
Şekil 4-31: Grup 1'deki Bir Kedide Hafif-Orta Derecede Kistik Yapılanmalar Gösteren Endometrium Bezleri.....83
Şekil 4-32: Grup 1 ve 2'deki Kedilerde Oldukça İncelmiş Yapıdaki Tek Katlı Epitele Sahip Endometrial Bezler. 84
Şekil 4-33: Grup 3'teki Folliküler Fazdaki Bir Kedide Tek Katlı Kübik Epitele Sahip Endometrial Bezler.....84
Şekil 4-34: Grup 3'teki Luteal Fazdaki Bir Kedide Yalancı Çok Katlı Epitele Sahip Uzamış Endometrial Bezler. 84

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

CL: Corpus luteum.

GnRH: Gonadotropin releasing hormone.

GnRHR: Gonadotropin releasing hormone reseptörü.

FSH: Follikül uyarıcı hormon.

KL: Korpus luteum.

LH: Lüteinize edici hormon.

LRH: Luteinizing hormone releasing hormone.

MA: Megestrol asetat.

ÖZET

Toydemir, TSF. (2008). Bir GnRH Analoğu Olan Deslorelin İmplantının Kedilerde Reprodüksiyona Etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul.

Çalışmanın amacı deslorelin implantlarının sun'i aydınlatma yapılan bir çevrede erkek kedi varlığında dişi kedilerde östrusları ve çiftleşmeleri güvenli bir şekilde baskılayıp baskılayamayacağını ve deslorelin implantının lokal ve baskılama süreci sonrasında reprodüktif organlar üzerindeki histopatolojik etkilerini bulmaktır. Çalışmada 28 adet dişi kedi ve 3 adet erkek kedi kullanılmıştır. Grup 1'deki kedilere (n=14) 9,5 mg'lık deslorelin implantı (Suprelorin, Peptech Animal Health, Avustralya), Grup 2'deki kedilere (n=7) üç doz halinde -14, 0, +14. günlerde 5 mg megestrol asetat komprime (Derma-Chat, Novartis, France) ve 9,5 mg deslorelin implantı, Grup 3'teki kedilere (n=7) ise plasebo implant uygulanmıştır. Kediler düzenli olarak östrus belirtileri yönünden gözlemlenmiş, östradiol konsantrasyonları fekal numunelerle takip edilmiştir. On sekizinci ayın sonunda kediler tartılarak ovariyohisterektomi operasyonu uygulanmış, elde edilen reprodüktif kanallar tartılarak morfolojik muayeneden geçirilmiştir. Ovaryumlar primordial, primer ve antral follikül ve korpus luteum sayıları, endometrium endometrial bez sayısı ve lümen ve bez epitelyumunun epitelyal karakteristikleri yönünden değerlendirilmiştir. İstatiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi, Duncan testi ve Pearson korrelasyon metodu kullanılmıştır ($p<0,05$). İmplantasyon öncesi ve sonrasında alınan numunelerin ortalaması sonucu fekal östradiol seviyesi Grup 1'de 128,48±19,97 ng/g, Grup 2'de 90,44±7,16 ng/g, Grup 3'te 283,26±39,21 ng/g olarak bulunmuştur. İmplantasyonlardan hemen sonra östradiol konsantrasyonlarında Grup 2'deki bir kedi hariç tüm kedilerde artış görülmüştür. Grup 1'de iki kedi implantasyon sonrası östrus göstermiş ve çiftleştirilmiş fakat gebelik bulunamamıştır. İlk defa Grup 1'deki bir kedide 16,5 ay sonra östradiol pik yapmıştır. Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerde bir kedi hariç tüm çalışma boyunca östrus belirtileri görülmemiştir. Grup 1 ve Grup 2'de ovaryumların inaktif ve Grup 3'e göre daha küçük, kornu uterilerin daha ince olduğu bulunmuştur. Vücut ağırlığı, ovaryum ve uterus ağırlıkları, endometriyal bez, primordial ve primer follikül, antral follikül ve KL sayıları gruplar arasında belirgin ölçüde farklı bulunmuştur (sırasıyla $p<0,05$, 0,01, 0,01, 0,001, 0,001, 0,001). Deslorelin implantları başarılı bir şekilde 18 aylık çalışma dönemi boyunca dişi kedilerde östradiol sekresyonunu ve östrus davranışlarını baskılamıştır. GnRH agonistlerinin ovaryumun interstisyel dokusu üzerine olan etkilerinin belirlenebilmesi için daha çok araştırılma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler:Dişi kedi, deslorelin, östrus, fekal, ovaryum ve uterus histopatolojisi.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-526/21102004

ABSTRACT

Toydemir, TSF. (2008). The Effects of GnRH Analogue Deslorelin Implants on Reproduction in Domestic Cats. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Obstetrics and Gynaecology, pHD Thesis, İstanbul.

The aim of this study was to find deslorelin implants safely supresses estrous behaviour and matings under artificial fluorescent illumination in queens with a presence of a tomcat and the local and genital tract tissue side effects of deslorelin implants. In this study, 28 domestic queens and 3 tom cats were used. Group 1 (n=14), queens were received a 9.5 mg deslorelin implant (Suprelorin, Peptech Animal Health, Australia), Group 2 (n=7), queens were received a 5 mg megestrol acetate comprime (Derma-Chat, Novartis, France) at -14, 0, +14th days of the study and a 9.5 mg deslorelin implant and Group 3 (n=7) queens were only given a placebo implant. Queens were observed regularly for estrous behaviour and estradiol concentrations were detected by fecal hormone analysis. After eighteen month trial queens were weighed and ovariohysterectomized. Reproductive tracts collected at the surgery firstly weighed then examined grossly. The ovaries were examined for primordial, primary, antral follicles and corpus luteum. The endometrium was evaluated histologically for the endometrial gland number and the luminal and glandular epithelial layer characteristics for epithelial lining. For the statistical analysis Oneway variance analysis, Duncan test and Pearson correlation methods were used (P<0,05). Before and after deslorelin implantations fecal estradiol concentrations averaged in Group 1 128.48±19.97 ng/g, Group 2 90.44±7.16 ng/g and Group 3 283.26±39.21 ng/g. After implantation an initial increase in estradiol concentrations occured in all treated queens except one queen in Group 2. Two queens in Group 1 showed estrus after deslorelin implantation and allowed to mate with toms, but no pregnancy were determined. An increase in fecal estradiol concentration was found after 16.5 month of implantation in a queen in Group 1. Group 1 and Group 2 queens have no signs of estrous behaviour throughout the study period, except one queen in Group 1 after 3.5 month of deslorelin implantation. Ovaries from Group 1 and 2 were inactive and smaller then Group 3, and uterine horns were thinner than those from Group 3. Body weight, ovarium and uterus weights, endometrial gland number, primordial and primary follicles, antral follicles and CL number were found significantly different between the groups (P values of <0.05, 0.01, 0.01, 0.001, 0.001, 0.001, respectively). Deslorelin implants successfully supressed estrus behaviour and estradiol secretion in queens for 18 months of study period. Further investigations are needed to demonstrate the effects of GnRH agonists on ovarian interstitial tissue.

Key Words: Queen cat, deslorelin, estrus, fecal, ovarian and uterine histopatology.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T-526/21102004

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Tezin Konusu

Uzun süreli geri dönüşümlü kontrasepsiyonda kullanılan GnRH analoğu deslorelin implantlarının, dişi kedilerde beklenen östrusu yalnız veya megesterol asetatla kombine edilerek kullanıldığında baskılama süresi ve deslorelinin ovarien aktivite ve ovaryum-uterus ağırlığı ve histopatolojisi üzerine etkilerinin saptanması.

1.2. Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı, kedilerde uzun süreli deslorelin salınımı yapan implantlarla, östrusların erkek kedi varlığında güvenli bir şekilde baskılanıp baskılanamayacağını, çiftleşmeler olursa bunların sonuçlanan bir gebelik oluşturup oluşturmayacağını ve yine erkek kedi varlığında 12 saat aydınlık-12 saat karanlık bir ortamda bulundurulan dişi kedilerde östrusun ortaya çıkış süresini belirlemektir.

Progestinlerin kontraseptif olarak kullanımları ve tekrarlayan östruslar, endometriyal hiperplaziye ve meme tümörlerine sebep olabilmektedir (Munson ve ark., 2001, Romagnoli ve Concannon, 2003). Köpek ve kedilerde progesteron veya eksojen progestinler büyüme hormonu sekresyonunun artışına sebep olabilir. Hipofiz asidofillerinden büyüme hormonunun sekresyonu artar ve eğer progestagen uyarım devam ederse, bu büyüme hormonunun aynı zamanda meme bezinden de salgılanmasına sebep olur. Bu yüzden progestinler, köpek ve kedilerde meme bezinin hiperplazisi ve neoplazisini direkt veya büyüme hormonu üretimini artırarak indirekt olarak uyarabilirler. Yine köpek ve kedilerde progesteron tedavisine bağlı olarak kanda glikoz artışı tespit edilmiştir. Diabetojenik etkinin mekanizması büyüme hormonu sekresyonundaki artışa bağlanabilmiştir. Artmış serum büyüme hormonu konsantrasyonları insülin rezistansına sebep olmaktadır. Bütün bunlara ek olarak, adrenokortikal baskılanma, akromegali, doğumun gecikmesi, lokal deri lezyonları ve davranışsal değişim progestinlerle tedavide gözlenebilen diğer yan etkilerdir (Romagnoli ve Concannon, 2003).

İdeal bir kontraseptif, genital kanal dokularına direkt steroidal bir etkisi olmadan ovarien fonksiyonu baskılayabilmelidir (Munson ve ark., 2001). Reprodüksiyonun kontrolünde GnRH agonistlerinin kullanımı geniş olarak incelenmiş ve çok iyi bir

potansiyel bulunmuştu; fakat uzun süreli bir antifertilite ajanı ortaya konulamamıştı (Trigg ve ark., 2001). Deslorelin, GnRH agonisti, uzun süreli kullanımda implant formunda bulunabilmekte ve yan etki göstermeksizin hipofizdeki gonadotropların GnRH reseptörlerinin downregülasyonunu sağlayarak erkek ve dişi köpeklerde reprodüktif fonksiyonları başarılı bir şekilde baskılayabilmektedir (Bertschinger ve ark., 2001, Munson ve ark., 2001, Trigg ve ark., 2001, Wright ve ark., 2001). Yine hayvanat bahçelerinde ve vahşi yaşam ünitelerinde bulunan vahşi karnivorların geçici kontrasepsiyonuna veya agresyonun baskılanmasına ihtiyaç duyulmaktadır ve bu amaçla deslorelin implantları kullanılabilmektedir (Bertschinger ve ark., 2001). Avustralya'daki makropodidlerin (kangurular ve wallabiler) ve koalaların populasyon artışını kontrol etmede, zehirleme ve vurarak öldürme gibi gittikçe artan halk karşıtlığı kazanan letal kontrol tekniklerine alternatif olarak (Herbert ve ark., 2004a, Herbert ve ark., 2004b), erkek deniz aslanlarında ise çiftleşme döneminde görülen agressif davranışları baskılamada ve buna bağlı olarak dişi deniz aslanı mortalitesini azaltıp, populasyonunu koruyarak türü tehlike altında olan hayvanların korunmasında kullanılabilmektedir (Atkinson ve ark., 1998). Ekstansif besi sığırcılığı yapılan işletmelerde boğalarla aynı ortamı paylaşan düve ve ineklerde, östrus sikluslarının kontrollü ve geri dönüşümlü olarak baskılanmasını ve istenilen zamanda tohumlamaların yapılabilmesini sağlamaktadır (D'Occhio ve ark., 1996, D'Occhio ve ark., 2002).

Bu sayılan bazı kullanım alanlarının dışında, deslorelin implantları dişi kedilerde de benzer bir şekilde follikülogenesisin baskılanmasında kullanılmış ve kontrol kedileri tüm çalışma boyunca östrus göstermesine karşın, tedavi yapılan bireyler arasında ilk östrusun gözlenme süresi çok değişken bulunmuştur (4-14 ay). On üçüncü ayda ortama erkek bir kedinin konmasının östrus baskılanmasını engellemediği belirtilmiş, fakat deslorelin implantasyonunun hemen akabinde, tüm kedilerde görülen östrusun köpeklerde olduğu gibi çiftleşme ve gebelikle sonuçlanıp sonuçlanmayacağı, eğer gebelik oluşursa yavrulamanın ve yavruların normal olup olmayacağı irdelenmemiştir. Bu nedenle çalışmada, kedilerdeki deslorelin uygulamalarında sözü geçen eksiklikleri gidermek ve başlangıçta görülen östrusların, uygun bir kısa etkili progestin kullanarak baskılanmasıyla, kedilerde güvenilir bir kontraseptif etki sağlanabilecektir. Çalışmanın, reprodüktif faaliyetlerin rutin sterilizasyon operasyonlarından farklı olarak geri dönüşümlü olarak baskılandığı ve kistik endometriyal hiperplazi, meme tümörleri ve

diyabet gibi pek çok hastalıklara sebep olabilen progestinlerin yan etkilerinden uzak, reprodüktif fonksiyonları baskılayıcı bir prosedür ortaya çıkarması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipotalamus

Hipotalamus, nöyral sinyalleri hormonal sinyallere dönüştüren merkezi bir çeviricidir (Ginther, 1992 pp.51-54). Hipotalamustan salınan salgılatıcı hormonlar, ön hipofiz lobundan hormon salınımını uyarırlar. Ön hipofizden salınan bu hormonlarda çevresel hedef iç salgı bezlerinde hormon üretimini uyarır. Çevresel iç salgı bezinden salınan hormon düzeyinin kanda yükselmesi uzun süreli olumsuz geri bildirimle ön hipofizi doğrudan ya da hipotalamustaki nöyrosekretör hücreleri etkileyip salgılatıcı hormon salınımını azaltarak dolaylı yoldan ön hipofizden trofik hormon ve sonuçta da kendi salınımını kısıtlar (Yaman, 1996 pp.83, Yılmaz, 1999 pp.13-20).

Çevresel faktörler (örn. gün uzunluğu, feromonlar), nöyral veya pineal sinyallerle hipotalamusa etki ederek, analiz edilip hormonal sinyallere çevrilirler. Bu hormonal sinyallerden en önemli olanı gonadotropin salgılatıcı hormondur (GnRH). GnRH'nın hipofiz ön lobu üzerindeki etkisi, hipofiz ve reprodüktif sistemde pek çok hormonal olaylara sebep olur ve vücut içerisindeki değerlendirilmelerin sonucu hormonal geriye bildirimlerle tamamlanır (Ginther, 1992 pp.51-54).

2.2. Hipotalamo-hipofizier Portal Sistem

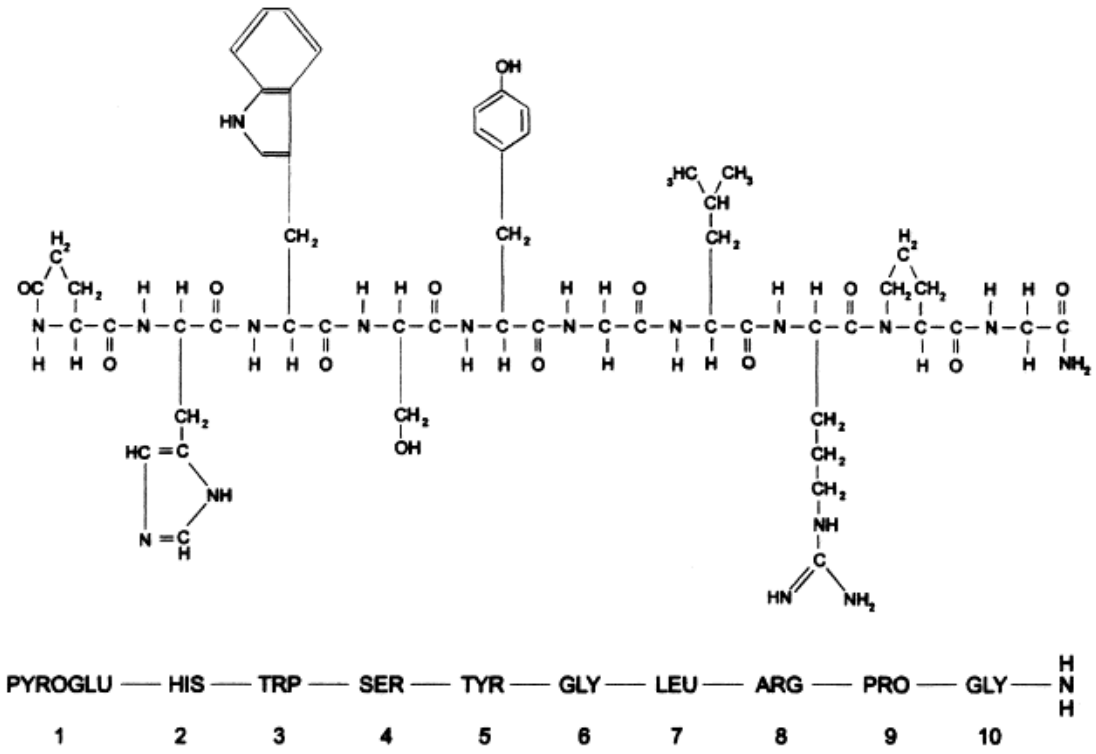
Hipotalamus'ta üretilen maddeler, hipofizin ön lobuna portal damarlardan oluşan bir sistem aracılığıyla taşınırlar. Bu taşınan maddeler arasında GnRH'da vardır. Uygun hormonal ve nöyronal ipuçlarına yanıt olarak aksonlar nabızsal olarak GnRH'yı hipofizin ön lobuna taşıyan hipotalamo-hipofizier portal sisteme salgılar (Ginther, 1992 pp.51-54).

GnRH molekülleri hipofize nabız dalgaları halinde ulaştırılırlar (Huckle ve Conn, 1988, Ginther, 1992 pp.51-54, Hazum ve Conn, 1988). Nabız fenomeninden dolayı, GnRH'yla uzun süreli veya yüksek dozda yapılan tedaviler, çoğu türde tamamen ters bir cevaba sebep olabilirler. Yüksek dozlarda yapılan tedavinin etkisi down-regülasyon olarak isimlendirilir ve sürekli salınım sistemlerinin desteğiyle insanlarda kontraseptifler olarak çok etkilidirler. Tek tırnaklı olmayan türlerde kronik tedaviler, gonadotropin prodüksiyonunu baskılar ve dişide geniş spektrumda reprodüktif fonksiyonları inhibe eder; folliküler gelişme, ovulasyon, luteal fonksiyon ve gebelikte

bunlar arasındadır, tedaviden sonra siklik aktivitenin geriye döndüğü belirlenmiştir (Ginther, 1992 pp.51-54).

2.3. GnRH

Reprodüktif hormonal şelalenin merkezi başlatıcısı olan ve reprodüksiyonu düzenleyen GnRH (aynı zamanda luteinize edici hormon salgılatıcı hormon–LHRH veya LRH-olarakta adlandırılır), ilk defa domuz hipotalamusundan 1971 yılında izole edilmiş bir dekapeptittir (Şekil 2.1). Tüm vertebralıların reprodüksiyonunun kontrolünde önemli olan GnRH, memelilerdeki reprodüktif fonksiyonların düzenlenmesinde merkezi role sahiptir (Ginther, 1992 pp.51-54, Schally, 1999, D'Occhio ve ark., 2000, Gorbman ve Sower, 2003, Millar, 2005 Metallinou ve ark., 2007). GnRH tüm vertebralıların ve bazı vertebralı olmayan canlıların beyinlerinde bulunur, burası GnRH'nın dişilerde ve erkeklerde reprodüksiyonu regüle edici rol oynadığı yerdir (Roth ve ark., 2001, Temple ve ark., 2003).



Şekil 2-1: GnRH'nın Moleküler Yapısı. (Schally, 1999).

Dekapeptit GnRH seçili hipotalamik çekirdekler ve diğer nöyral yapılarda ortaya çıkar. GnRH'yı yapan hipotalamik nöyronlar aksonal çıkıntılarını, hipotalamusun orta bazal bölümündeki kapillar damar yataklarına gönderirler. Bu akson hudutları zengin bir şekilde GnRH içeren veziküller tarafından kuşatılmıştır ve GnRH çok çeşitli nöyral ve humoral uyarılara yanıt olarak hemen bitişikteki bu vaskuler bölüm içerisine salınır (Adams, 2005). GnRH hipotalamusun özelleşmiş nöyronlarında öncü polipeptid yapıdan enzimatik işlemlerle oluşturulur ve toplanan depo granüller içerisinde aksonlar boyunca aşağıya doğru ilerleyerek, median eminensiyanın eksternal kısmına gelir (Millar, 2005). Nöyropeptid, median eminensiyadan senkronize ve nabızsal dalgalar şeklinde, hipotalamo-hipofizier portal damarlar içerisinde hipofizer gonadotropların eksteriorundaki spesifik reseptörlere bağlandığı ön hipofize doğru yol alır (nöyrohemal portal sistem) (Hazum ve Conn, 1988, Huckle ve Conn, 1988, Gorbman ve Sower, 2003, Adams, 2005). Burası GnRH'nın gonadotrop hücrelerin yüzeyindeki GnRH reseptörleriyle etkileşime girdiği yerdir (Adams, 2005). Gonadotrop hücrelerde GnRH, spesifik hücre-yüzey reseptörlerine bağlanır ve bu da sırasıyla GnRH mikroagregasyon ve internalizasyonunu, ikinci mesajcının aktivasyonunun kısa yolların oluşması için sinyal vermesini, lüteinize edici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormonun (FSH) sentezleri ve salınımını tetikler (D'Occhio ve ark., 2000).

Gonadotrop hücrelerin uyarılması, gonadotropik hormonlar, LH ve FSH'nın sentezine ve sekresyonuna sebep olur. GnRH içeren nöyronların aktivitesinin ara ara kesilmesi önemli bir durumdur. Sonuç olarak GnRH'nın portal damarlar içerisine salınımı nabızsaldır ve bunu izleyen gonadotropin sekresyonuda aynı şekilde aralıklıdır. Endojen GnRH sekresyonunun aralıklı bir tabiata sahip oluşu gonadotropin fonksiyonunun sürekliliği için gereklidir (Adams, 2005). GnRH reseptörlerinin GnRH'yla bağlandıktan sonraki internalizasyonu, gonadotrop hücrelerde GnRH'ya karşı geçici bir duyarsızlaşmaya sebep olur (D'Occhio ve ark., 2000). GnRH veya uzun etkili GnRH agonistlerinin uygulanışı, telafi edici bir GnRH reseptör sentezi artışı olmadan, tahminen GnRH reseptörlerinin hücre içine alınışları ve parçalanmalarının hızlanması sonucu gonadotropin sentezi ve sekresyonunu azaltmaktadır (Adams, 2005). Normal koşullar altında, yeni GnRH reseptörleri sentezlenir ve gonadotrop hücrelerin yüzeyine geri döner, bu sebeple GnRH'dan oluşan uyarılma durumunu eski haline çevrilir (D'Occhio ve ark., 2000). Devamlı olarak uyarım aynı zamanda GnRH reseptörünü kritik öneme sahip hücre içi ikinci mesajcı yollarından ayırabilir. Her iki

durumda da devamlı ve kalıcı GnRH uyarımının fizyolojik etkisi, gonadotropların çalışamaz duruma gelmesine ve gonadotropin sekresyonunun zayıflamasına yol açar (Adams, 2005).

Dolaşımdaki yarılanma ömrü 2-4 dakika olan GnRH yaklaşık olarak 1000 kadar nöyronun bitiş noktalarından senkronize nabız dalgaları şeklinde her 20-30 dakikada bir hipofizyal portal sisteme salınmaktadır (Schally, 1999, Millar, 2005). Her GnRH nabız dalgası, LH dalgası oluşturmaktadır fakat FSH oluşturup oluşturmadığı belirsizdir. GnRH nabız sıklığı ovulasyon oluşturacak LH dalgasının olduğu dönemde en fazla, ovarien siklusun luteal fazında ise en düşüktür. LH depolanıp, GnRH'ya bağlı olarak salınıma uğrarken, FSH yapıldıkça salınmaya eğilimlidir ve salınımı daha çok biyosentezine bağlıdır (Millar, 2005).

GnRH'nın humoral yapı içerisindeki önemi, GnRH veya normalde GnRH tarafından tetiklenen kritik hücre içi sinyalleşme yolları bileşenlerinin eksikliği bulunan bireylerin fenotiplerinde, gonad gelişimi, olgunlaşması ve fonksiyonlarında ortaya çıkmaktadır. Şimdiye kadar evcil türlerin hiçbirinde doğmasal GnRH eksikliği görülmemiş olmasına rağmen, bazı sıçan türlerinde GnRH'yı kodlayan bir genin noksanlığı bulunmuştur. Genetik noksanlık hpg mutasyonu olarak adlandırılır, çünkü etkilenen hayvanlar ileri derecelerde hipogonadizm gösterirler. Buna benzer bir şekilde embriyonik gelişim esnasında olfaktör alandan hipotalamusa GnRH içeren nöyronların hatalı veya tam olmayan göçü hipogonadizme sebep olur (Adams, 2005).

2.4. GnRH'nın Nöyronal Göçü

Embriyonik dönemde GnRH nöyronları nazal kompartmandan köken alırlar, olfaktor sinirler boyunca sribriform tabakaya göç ederler, oradan ise ön beyine doğru kaudale yön değiştirerek hipotalamustaki son duraklarına ulaşırlar. GnRH nöyronlarının bu durumu nöyronları endokrin hipotalamustan köken alan tirotropin salgılatıcı hormon veya kortikotropin salgılatıcı hormon gibi diğer hipotalamik salgılatıcı faktörlerden farklıdır (Wierman ve ark., 2004).

Olfaktör alandan veya çevresinden köken alan GnRH nöyronlarının varlığı, 10-11. embriyonik günlerde farede, 12-13. embriyonik günlerde sıçanda ve 5,5-6,5 embriyonik haftalarda ise primatta peptid GnRH'nın üretimi veya mRNA ile belirlenebilir. GnRH nöyronunu belirleyici tek şey GnRH olduğu için, birincil GnRH nöyron populasyonunun gerçek atası belirsizdir (Wierman ve ark., 2004).

GnRH nöyronlarının sayısı oldukça azdır (erişkin farede ~800, primatta veya insanda ise sadece birkaç bin). Bazı araştırmacılar göç esnasında GnRH nöyron populasyonunun fazla olduğunu ve 15. embriyonik günde farede bu sayının ~1500 olduğunu belirtmişlerdir. Nöyronlar sribriform tabakaya ulaşıncaya kadar olfaktör sinirlere bitişik olarak göç ederler. Sribriform tabakada olfaktör soğanı çevreleyen olfaktör fiberler GnRH nöyronları tarafından takip edilirken kaudale ve rostrale dönerek ön beyinde sonlanırlar. GnRH nöyronları farede 12-17. embriyonik günlerde sribriform tabakayı geçerler ve kemirgenlerde göçlerini doğumla beraber, primatlarda ise doğumdan sonra 6-8 haftalıkken tamamlarlar (Wierman ve ark., 2004).

GnRH ifadesindeki nöyronların bazal ön beyinde ikinci bir populasyona daha sahip olduğu bazı araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Bu hücreler olfaktör alandan göçe uğramamışlardır ve kesin rolleri biraz çelişkilidir. Öte yandan çalışmalar göstermektedir ki bu GnRH nöyron alt populasyonu kemirgenlerde reprodüktif fonksiyondan çok reprodüktif çiftleşme davranışlarını düzenleme rolüne sahiptir (Wierman ve ark., 2004).

GnRH üretimindeki gelişimsel ve reprodüktif düzensizlikler, GnRH üretiminde bir eksiklik veya uygun olmayan nöyronal göç gibi sebepler tarafından oluşturulabilir. Bunlar arasında nöyronlardaki GnRH geninin mutasyonları, hücrelerin hatalı yapışması veya göç moleküllerinin hatalı üretimi ve yol gösterici olarak işlev gören değişmiş salgılatıcı proteinler sayılabilir (Wierman ve ark., 2004).

GnRH nöyronlarının normal olarak göç etmesindeki bir başarısızlık reprodüktif eksenin yetersiz aktivasyonuna ve geciken pubertal maturasyona veya hiç olmamasına sebep olur (Wierman ve ark., 2004; Adams, 2005)

2.5. GnRH Tipleri ve Reseptörleri

GnRH'nın birbirini izleyen NH_2- ve COOH- terminal noktalarına sahip yirminin üzerinde dekapeptid formu identifiye edilmiştir. Bu terminal noktalar reseptör bağlanması ve aktivasyonu için esansiyeldir. Memelilerde GnRH'nın iki formu bulunur, gonadotropin regülasyonunu sağlayan GnRH I ve nöyromodülatör olarak ortaya çıkan ve seksüel davranışları uyaran GnRH II. GnRH'lar aynı zamanda reprodüktif dokularda ve parakrin/otokrin rolü olduğu varsayılan tümörlerde de bulunmaktadır (Schally, 1999, Millar, 2005).

Birincil rolü LH ve FSH'yı düzenlemek olan memelilerden izole edilmiş hipotalamik GnRH'nın kendine özgü bir yapısı olduğu düşünülürken, vertebralılarda oldukça çeşitli formlarının olduğu ortaya çıkmıştır. Bu şekilde yirmi üç değişik formunun bulunduğu ve bunların yapısal farklılığa sahip olduğu gösterilmiştir (Millar, 2005, Gobello, 2007). GnRH'nın isimlendirilmesi ilk izole edilen türe göre yapılmıştır. Memelilerdeki GnRH formu (memeli GnRH veya GnRH I olarak isimlendirilir) en iyi karakterize edilmiş olanıdır ve aralıklarla median ventral ön beynin anterior bölümündeki nöyronların düşük aralıklarla çalışmasıyla üretilir (Roth ve ark., 2001). Vertebralıların çoğunda en az iki, genellikle ise üç tane GnRH formu bulunmaktadır. En yaygın olanı ise ilk defa tavuk beyninden izole edilen "chicken" GnRH II (cGnRH II)'dir. Mürekkep balığından insana kadar yapısını tamamen korumuş olduğu için cGnRH II, büyük olasılıkla en erken evrim geçiren formdur ve kritik fonksiyonlara sahiptir. GnRH'nın hipofizyotropik formu GnRH I olarak adlandırıldığından, tavuktan elde edilen bu ikinci form günümüzde Tip II GnRH (GnRH II) olarakda adlandırılır. GnRH II orta beyinde, anatomik olarak sınırlı bir hücre populasyonu içerisinde bulunmaktadır (Schally, 1999, Millar, 2005, Roth ve ark., 2001). Vertebralı türlerin çoğunda GnRH'nın üçüncü bir formu daha bulunur (somon GnRH) ve GnRH III olarak adlandırılır. GnRH'ların gen deşifrasyonu analizi de bu genel sınıflandırmayı desteklemektedir (Temple ve ark., 2003, Millar, 2005, Pawson ve McNeilly, 2005).

GnRH'da oksitosin hormonu gibi membran reseptörlerine bağlanarak ikinci mesajcının yardımıyla intrasellüler sinyal salınımlarına sebep olur. GnRH ve oksitosin reseptörleri, G-protein çifti reseptörlerin oluşurduğu büyük ailenin üyeleridir ve yedi transmembran bölgeye sahiptirler (Hoffmann ve Schuler, 2000). GnRH'da olduğu gibi GnRH reseptörleride koordineli gen duplikasyonlarına uğrarlar, mesela çoğu vertebralıda bulunan ve kendisine ait ligandları bulunan birbirine benzer reseptör subtipleri gibi (Millar, 2005). Beyinde GnRH peptidinin pek çok formu bulunmasına karşılık, GnRH için iki sınırlı reseptör bulunmaktadır (Tip I ve Tip II GnRHR) ve her ikiside memeli beyinlerinde bulunmaktadır (Hoffmann ve Schuler, 2000). İlginç bir şekilde insanda ve diğer bazı memelilerde (örn; şempanze, koyun, sığır) Tip II GnRH reseptörü susturulmuş durumdadır. Öte yandan GnRH I ve GnRH II, Tip I reseptörle farklı etkiler oluşturan (liganda özgü sinyalleşme) birbirinden bağımsız rollere sahip gibi gözükmektedirler. Ligand-reseptör etkileşimleri ve reseptördeki yapısal değişimler reseptör aktivasyonuyla alakalıdır ve kısmi olarak tanımlanabilmiştir (Millar, 2005).

Reseptör bağlama deneyleri ortaya çıkarmıştır ki, tip II GnRH reseptörü, GnRH I'e göre GnRH II'ye daha yüksek düzeyde seçicilik göstermektedir. Bu tanımlayıcı bilginin ötesinde, GnRH II'nin fonksiyonu tam olarak ortaya konulamamıştır; fakat reprodüktif davranışları etkileyen bir nöyromodülatör olduğu düşünülmektedir (Roth ve ark., 2001). İnsan genomunda bulunan GnRH'nın iki formu (GnRH I ve GnRH II) ve reseptörleri hipotalamustan uzakta, insan ovaryumunun çeşitli bölümlerinde bulunmaktadır. Gonadal steroidler, gonadotropinler ve hatta GnRH'nın kendisi, insan ovaryumundaki GnRH/GnRHR sistem gen dağılımı düzenlemesini kontrol etmektedir. GnRH'nın bu iki tipi, parakrin ve otokrin olarak ovarien steroid yapımını etkiler, proliferasyonda azalmaya ve ovarien hücrelerde apostosise sebep olurlar (Metallinou ve ark., 2007).

2.6. GnRH Analogları

GnRH analogları hayvanlarda reprodüksiyonun kontrolünde oldukça geniş bir klinik kullanım alanına sahiptir. Son otuz yılda GnRH'nın 3000'in üzerinde analoğu geliştirilmiş ve denenmiştir (Schally, 1999, Padula, 2005). Evcil hayvan yetiştiriciliğinde kullanımı oldukça yaygın olan GnRH ve GnRH analogları daha çok dişi hayvanlarda fertilitenin ve reprodüktif olayların kontrolünde kullanılırken, GnRH agonist ve antagonistleri erkek hayvanlarda da artan bir şekilde fertilitenin, davranışların ve üreme kapasitesinin değiştirilmesinde kullanılmaktadır (Adams, 2005).

GnRH tabanlı fertilite idaresinde GnRH agonistleri, antagonistleri ve aşılamaları üzerine yoğunlaşılmaktadır. Bu metodların hepsi büyük bir potansiyele sahiptir (Herbert ve Trigg, 2005). Güçlü agonistlerin oluşturulmasında harcanan çabalar sonuç vermiş, GnRH'nın 6 ve 10. pozisyonunda ki iki amino asidin yerinin değiştirilmesiyle doğal hormondan 200 kere daha güçlü agonistler oluşturulmuştur ve bu güçlü bileşikler süperagonistler olarak adlandırılmışlardır (Schally, 1999, Gobello, 2007).

Oldukça güçlü agonistlerin ise sürekli hayvanlara verilmesiyle agonistlerin fertilite karşıtı sonuçları ortaya çıkmıştır. Bir agonistin gücünün değerlendirilebilmesi, çoğunlukla kullanılan hayvan modeline bağlıdır ve hayvan türleri arasında aynı agonist için değişen sonuçlar bildirilebilmektedir. GnRH molekülünün daha fazla güce ve yarılanma ömrüne sahip olması beklentisiyle oluşturulan analogların GnRH reseptörlerine bağlanabilme kabiliyeti ve agonistlerde buna ilaveten aktivasyonun geliştirilmesine odaklanılmıştır. Antagonistlerde ise reseptörlere bağlanma oldukça kuvvetli olmasına rağmen reseptör aktivasyonu oluşturmamaktadırlar. Agonistin gücü,

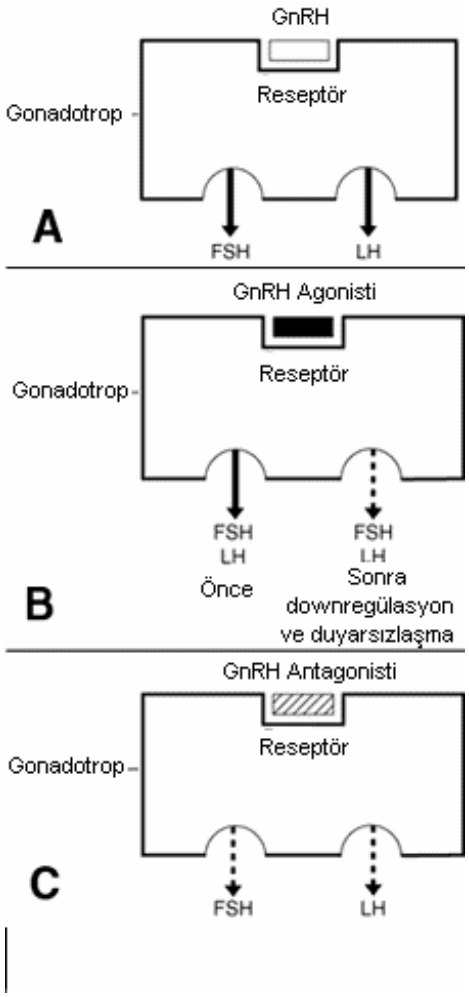
dozu ve yapılan tedavi süresi arasındaki etkileşimler agonistin birincil etkilerinin mi, yoksa fertilite karşıtı etkilerinin mi ortaya çıkacağını geniş ölçüde belirler. GnRH'nın sentetik analoglarının peptid karakterinde olmasından dolayı oral verilimlerinde gastrointestinal sistemde parçalanmaya uğrarlar ve biyo yararlanımları oldukça düşer (% 0,1 biyoyararlılık). Bu nedenle kullanımlarında parenteral bir veriliş sistemine ihtiyaç duyulmuştur (Padula, 2005, Gobello, 2007). Günümüzde oral olarak aktif, peptid yapıda olmayan GnRH antagonistleri geliştirilmiştir ve bu şekilde kullanılabilirlikleri ve faydaları artırılmıştır (Millar, 2005; Padula, 2005). Öte yandan GnRH antagonistlerinin geliştirilmesi, üretim maaliyetlerinin çok yüksek olması ve uygulandıklarında önemli miktarda histamin salınımına sebep olmalarıyla alakalı olarak agonistlerin gerisinde kalmıştır. GnRH antagonistleri oldukça hidrofobik bir yapıya sahip olduklarından çözülme kabiliyetleri sınırlıdır ve enjeksiyon alanında nodül oluşumuna sebep olurlar. Yine mast hücre degranülasyonuna sebep olmaları ödem ve anaflaktik reaksiyonlara neden olabilir. GnRH agonistleri hayvanlarda reprodüksiyonun kontrolünde birincil etkileri veya fertilite karşıtı etkileri olsun geniş bir klinik kullanım alanına sahiptir, fakat antagonistlerin gelişimi yavaştır ve kullanım alanı agonistlere göre daha kısıtlıdır (Padula, 2005, Gobello, 2007). GnRH agonistleri ve antagonistleri hormona bağlı hastalıkların tedavisinde, yardımcı üreme tekniklerinde ve yeni çağ kontraseptifleri olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Millar, 2005).

Kontrasepsiyonda istenen arzulanan hedef GnRH'dır, çünkü GnRH gonadotropların üzerindeki reseptörlere yüksek düzeyde ve spesifik bir bağlanabilirlik gösterir. GnRH'nın gonadotrop seviyesinde, hipofizer-gonadal ekseni direkt baskılamasıyla reprodüksiyonu durdurması üç değişik yol vasıtasıyla olmaktadır:

1) GnRH agonistlerinin kronik olarak uygulanması GnRH reseptörlerinin down regülasyonuna ve hipofizer gonadotropların duyarsızlaşmasına yol açar,
2) GnRH'ya karşı yapılan immunizasyon, GnRH'nın hipofizyal portal kanda antikorlar tarafından yok edilmesine sebep olur,
3) GnRH antagonistlerinin kullanımıyla, endojen GnRH'nın bağlanması gereken hipofizer GnRH reseptörlerinin bloke edilmesi sağlanır.

Daha yeni bir fenomen ise, hipofizdeki reseptörleri bozan GnRH toksin birleşimlerinin geliştirilmesidir (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH analogları hipofizdeki gonadotropik hücrelerin üzerinde bulunan GnRH reseptörlerinin aşırı uyarımını sağlayarak etki ederler (Konstanski ve ark., 2001). GnRH'nın doğal sonucuyla karşılaştırılınca, GnRH agonistlerinin iki ayırt edici özelliği, agonistlerin GnRH reseptörlerine karşı daha yüksek affiniteye sahip olmaları ve sirkülasyondaki yarılanma ömürlerinin daha uzun olmasıdır. GnRH agonistlerinin bu özellikleri aslında doğal GnRH'dan daha düşük dozlarda kullanımlarına olanak sağlar. GnRH agonistlerine maruz kalmak gonadotrop hücre fonksiyon bozukluğuna yol açar ve hipofizdeki gonadotropin içeriğinde azalma meydana gelir (Aspden ve ark., 2003). GnRH agonistiyle sürekli tedavi esnasındaki gonadotropin sekresyonu iki fazla karakterize olur. Tedavinin birkaç gün sürebilen akut fazı, plazma LH ve FSH'daki ani, yüksek artışlarla karakterizedir ve bu olayı bazal hormon konsantrasyonlarına dönüş izler. GnRH reseptörlerinin sürekli GnRH agonistine maruz kalması LH'nın nabızsal sekresyonunun blokajına sebep olan kronik faza girilmesine yol açar. İkincisi gonadotrop hücrelerdeki ikinci mesajcı kısa yollarındaki bağlantıyı çözer. LH ve muhtemelen FSH nabızsal sekresyonundaki eksiklik, GnRH agonisti sirkülasyonda eşik konsantrasyonda kaldığı sürece devam eder (D'Occhio ve ark., 2000, Konstanski ve ark., 2001). GnRH antagonistleri ise GnRH reseptörlerine tutunabilmek için endojen GnRH ile yarışır ve reseptörlere bağlanıp bloke ederek endojen GnRH'nın reseptörleri uyarmasını engeller. Sonuç olarak gonadotropinlerin ve buna bağlı olarak seks steroidlerinin salınımını ani olarak düşürür (Schally, 1999) (Şekil 2.2).



Şekil 2-2: GnRH Agonist ve Antagonistlerinin Etki Biçimi.

GnRH etkisiyle gonadotrop hücrelerden FSH ve LH salınımını (A), GnRH agonistinin gonadotrop hücrelerdeki reseptörlere bağlanarak önce FSH ve LH salınımını sağlaması ve ardından görülen downregülasyon (B), GnRH antagonistinin gonadotrop hücrelerdeki GnRH reseptörüne bağlanarak reseptörü etkisiz hale getirmesi (C). (Moghissi, 2000).

GnRH'ya dayalı uzun dönem fertilite kontrol ajanları insanlarda, evcil hayvanlarda ve yabani hayatta reprodüksiyonun idaresinde kullanım alanı bulmuştur. Çiftlik hayvanlarında reprodüktif aktivitenin kontrolü, evcil kedi ve köpeklerde olduğu gibi davranışın ve fertilitenin idaresinde önemli bir konudur. Eskiden fertilite kontrolü şirurjikal sterilizasyonla yapılmaktaydı, fakat şirurjikal sterilizasyon yöntemleri operasyon esnasında çıkabilecek problemler, operasyona bağlı travmalar ve ölüm riskinin olabilmesi gibi dezavantajlara sahiptir. Bu yüzden bazı türlerde bu şekilde

kalıcı sterilizasyon bir dezavantaj oluşturabilmektedir. GnRH'ya dayalı uzun dönem fertilite kontrol ajanlarıyla fertilite kontrolü, yüksek değere sahip fakat arzulananın üzerinde sayıda olan vahşi yaşam türlerinin idaresinde de popüler bir fikir haline gelmiştir. Burada amaç populasyonun fertilitesini düşürerek, populasyon boyutlarını küçültmektir. GnRH memelilerde oldukça iyi korunmuş bir yapıda olduğundan, fertilite kontrol teknolojisi çeşitli türlerde geniş uygulamalara sahip bu hormon üzerine yapılanmıştır (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH agonistleri hipofizer-gonadal eksenin fonksiyonunu baskılayan çok güçlü ilaçlardır, fakat bu ilaçların günümüze kadar uygun bir periyotta yeterli salınımları sağlanamamaktaydı. Bu kriterlere uyan ve GnRH analoğu deslorelini uzun dönem salabilen bir formülasyon erkek ve dişi köpeklerde reprodüktif fonksiyonları baskılamada ve agresyonu önlemede kullanılmaktadır (Trigg ve ark., 2001).

Bir GnRH analoğu olan goserelin, sirkülasyondaki östradiol ve progesteron seviyelerini düşürerek, objektif cevap veren hayvanlarda meme tümörü boyutlarını küçültmüştür. Goserelin hipotalamus-hipofiz-ovaryum eksenini bloke eder, sonuç olarak dişi köpeklerdeki hormona bağlı meme tümörlerini tedavide kullanışlı olabileceği bildirilmektedir (Lombardi ve ark., 1999).

GnRH agonist biyoimplantları, ekstansif ortamda bulundurulan genç düvelerde ilk gebeliğin zamanının belirlenmesinde güçlü bir uygulama alanı bulmaktadır. Doza bağlı bir çalışmada, belli miktarlarda deslorelin içeren biyoimplantlar, folliküler büyümeyi baskılamış, ovulasyonu ve doza bağlı olarak 12 aya kadar gebeliği engellemiştir (D'Occhio ve ark., 2000).

Eksojen olarak verilen GnRH, aygırlarda ve ovulasyon ve anovulasyon sezonundaki kısraklarda LH salınımını, anovulasyon dönemindeki kısraklarda ise FSH salınımını uyarır. İlk yapılan GnRH ovulasyon indüksiyonu denemeleri, atların da diğer türlere benzediğini göstermiştir ve bu yüzden terapötik dozların nabızsal bir şekilde verilmesine ihtiyaç duyulmuştur (Ginther, 1992 pp.51-54).

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogları, hormona bağlı çeşitli insan hastalıklarında da kullanılmaktadır. Bunlar arasında önemli olanlardan bazıları prostat kanseri ve endometriosistir. GnRH süperagonistleri (Leuprolide, triptorelin, goserelin ve buserelin gibi), bu hastalıkların tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır. Reseptörlerin hiperstimülasyonuyla başlangıç fazında testosteron ve androjen veya östrojen

seviyelerinin yükselmesine, daha sonra da reseptörlerin down regülasyonuna sebep olur. Sonuç olarak LH ve FSH salınımı bloke olur ve sekonder olarak testosteron veya östrojenlerin gonadlardan sentez ve salınımı önlenmiş olur. Süperagonistler uzun süredir başarılı bir şekilde kullanılmaktadır, bu insanların daha sonra çocukları da olmaktadır. Fertiliteye dönüşte bir problem yaşanmamaktadır (Schally, 1999, Konstanski ve ark., 2001). GnRH agonistleri semptomatik leimyomalı kadınlarda da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yalnız yapılan GnRH agonist tedavisine göre yükek dozda uygulanacak olan agonistlerin steroidlerle kombine edilerek daha az dozda kullanılması pek çok dezavantajı ortadan kaldırır ve leimyoma olan kadınlarda tümör hacmini düşürdüğü gibi klinik semptomların da azalmasını sağlar. GnRH agonistleri miyoma bağlı anemi oluşmuş veya tümör nedeniyle uterus hacmi oldukça artmış olan hastalarda operasyon öncesi endikasyon alanı bulmaktadır (Broekmans, 1996).

2.7. GnRH Agonistleri ve Hipofizer Down Regülasyon

GnRH agonistleri, GnRH'nın bazı bölgelerinde enzimatik yıkımlanmalarla değişime uğramış, GnRH'ya benzeyen peptidlerdir. Bu şekilde değişime uğramış olmaları GnRH agonistlerinin peptidazlara dayanıklılığını ve reseptör bağlanma düzeylerini artırarak, dolaşımda daha uzun süre kalmalarını sağlar. Pozisyon 6'daki glisinin yerine bir D-amino asitin girmesi ve C-terminal glisinamid kalıntısının bir etilamid grubuyla yer değiştirmesi agonistleri doğal GnRH'ya göre 200 kez daha güçlü yapabilmektedir. GnRH agonistleri orijinal olarak infertilitenin tedavisi için geliştirilmelerine rağmen, zıt bir şekilde reprodüksiyonu baskılamışlardır, çünkü hormonun nabızsal bir seyir halinde verilmesinin öneminin farkına varılamamıştır. Bu keşif bugün GnRH agonistlerinin kullanımının, kontrasepsiyon ve hormona bağlı hastalıkların tedaviside olmak üzere pek çok endikasyona sahip olmasını sağlamıştır (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH antagonistlerinin uygulanmasıyla meydana gelen gonadotrop fonksiyonundaki hızlı azalmanın aksine, GnRH agonistleri GnRH reseptörlerine yüksek düzeylerde bağlanır ve GnRH'nın oluşturduğu sellüler yanıtı taklit ederler. Bu yanıt gonadotropinlerin sentezini ve sekresyonunu artıran ikinci mesajcı sinyalleşmesinde artış ve GnRH reseptörünün hücre içine alınışı ve parçalanışının hızlanmasını içermektedir. Bunlara ek olarak sürekli GnRH ile veya uzun etkili GnRH agonistleriyle

yapılan uyarım, reseptörü gonadotrop hücrelerdeki kritik ikinci mesajcı yollarından ayırır (Lapolt ve ark., 1992, Adams, 2005).

GnRH agonist tedavisi başlangıcında FSH ve LH konsantrasyonlarında birkaç gün sürebilen belirgin artış meydana gelir (akut faz), bu faz hormonların bazal seviyelerine dönmesiyle son bulur. Sürekli olarak agoniste maruz kalmak, gonadotrop hücrelerin yüzeylerindeki GnRH reseptörlerinin down regülasyonu ve ikinci mesajcı sistemlerinin ayrılmasıyla sonuçlanır ve LH'nın nabızsal aralıklarla olan sekresyonu bozulur. Bunların sonucunda β-subunit mRNA üretiminin baskılanmasıyla da alakalı olarak LH ve FSH sentezlerinde azalma olur. Bu durumlar normal hipofiz fonksiyonunu etkiler, mesela endojen GnRH'a karşı hipofizer yanıtı bozar. Bu değişimlerin son noktası ise gonadal steroid konsantrasyonundaki düşüştür. Dişilerde buna folliküler gelişim için gereken eşik değerin altındaki baskılanmış FSH salınımının, folliküler gelişimin ve östrojen tarafından oluşturulan pozitif geriye bildirim mekanizması ve ovulasyonun durması eşlik eder. Sirkülasyondaki GnRH agonist değerleri eşik değerin üzerinde olduğu sürece LH sekresyonundaki eksiklik devam eder (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH agonist tedavisinde başlangıçta görülen gonadotropin salınımı bazı türlerde östrusa sebep olabilmektedir. Kedilerde bu tüm hayvanların fekal östrojen konsantrasyonlarında östrus benzeri artışlarla karakterizedir (Munson ve ark., 2001). Köpeklerde östrus, plazma progesteron konsantrasyonları <5ng/ml'nin altındaysa genellikle 4-8 gün içerisinde oluşur. Agoniste bağlı olarak oluşan bu östrus, dişi köpeklerde agonist uygulamasından önce progesteron uygulamasıyla baskılanabilmektedir (2mg/kg vücut ağırlığına oral olarak agonist uygulamasından bir hafta önce ve sonra) (Wright ve ark., 2001). Dişi köpeklerde yapılan başka bir çalışmada ise anöstrustaki köpeklerde deslorelin implantı uygulamasından önce yapılan progesteron uygulaması köpeklerde implantasyon sonrasında görülen proöstrus ve östrus belirtilerini beş köpekten sadece bir köpekte engelleyebilmiştir (Sung ve ark., 2006). Çalışmalar değişik türlerdeki hayvanlarda yapılmalıdır, art arda yapılan progesteron ve GnRH agonist tedavisi vahşi hayvanlarda agonistin oluşturduğu östrusu önlemektedir. Agonistin oluşturduğu östrus pek çok türde gözlenmesine rağmen, tüm hayvanlar çiftleşmeye izin veren bir östrus davranışı göstermezler; örneğin dişi çitalar ve aslanlar (Herbert ve Trigg, 2005).

Deslorelin:

Deslorelin dokuz peptidden oluşan sentetik bir GnRH agonistidir ve tipik bir GnRH agonisti yapısındadır (Şekil 2.3).

pyroGlu^{1}–His^{2}–Trp^{3}–Ser^{4}–Tyr^{5}–**D–Trp^{6}**–Leu^{7}–Arg^{8}–Pro^{9}–**Nhethylamide**

Kısaltılmış şekli

[D-Trp^{6}, Pro^{9}-NEt]GnRH

Şekil 2-3: Deslorelin'in Amino Asit Dizilişi. (Silvestre, 2003).

Des-A^{b} ön eki, peptidde (^{b}) belli bir pozisyonda bulunan amino asit (A) kalıntısının yok edildiğine işaret etmektedir. Deslorelin, GnRH amino asit yapısında 6. pozisyondaki glisinin yerine D-triptopanın gelmesiyle oluşmuştur. Bu özellik deslorelinin sirkulasyondaki yarılanma ömrünü artırır. Örneğin, insanlarda deslorelin GnRH'ya göre üç kez daha yavaş plazmadan kaybolur, başlangıç plazma konsantrasyonlarının yarısına ulaşması 18 dakika sürer. Diğer bir yapısal karakteristik özelliği, deslorelin'in GnRH reseptörüne olan ilgisini ve bağlanabilirliğini artıracak olan amino ucundaki glisinin kaldırılmasıdır. (Padula, 2005, Silvestre, 2003).

Isıya karşı dayanıklılık GnRH'nın başka bir özelliğidir. Deslorelin bilhassa solüsyon içerisindeyken stabilitesini korumaktadır, 6°C'de saklandığında tahmini ömrü yirmi yıldan fazladır. Beş yıl süreyle yüksek ısılarda (25, 40 ve 50°C) saklanırsa sadece az miktarda bir yapısal bozulma meydana gelir (Padula, 2005).

Verilme Yöntemi:

GnRH agonistlerinin fertilite kontrolü uygulamalarındaki gücü (potansiyeli) hemen hemen 30 yıldır biliniyor olmasına rağmen hayvanlar için başarılı ticari bir ürünün geliştirilebilmesi, uygun verici bir sistemin geliştirilmesindeki eksikliğe bağlı olarak sınırlı kalmıştır. Son yıllarda kullanımı kolay biyolojik olarak geçimli GnRH agonist formülasyonları geliştirilmiştir. Maliyeti düşük olan ve GnRH agonistini yeterli miktarlarda uzun süreler yayabilen bu formülasyonlar uzun süreli fertilite kontrolünde engellerin üstesinden gelmektedir (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH agonistlerinin avantajlarından biri, adjuvantların kullanılmasına gerek kalmadan tek enjeksiyonla kontrasepsiyonun sağlanabilmesidir. Agonistlerle tedavinin şu ana kadar tesbit edilmiş hiçbir yan etkisi yoktur. Bazı hayvanlarda enjeksiyon sahasında lokal reaksiyon gelişebilir, örneğin kedilerde implantasyon sahasında 3-5 gün süren minimal ödem meydana gelmiştir, fakat bu etkiler çok yaygın değildir ve geçicidir (Munson ve ark., 2001; Herbert ve Trigg, 2005). Köpeklerde ise 55 hayvanın ve bunu takip eden 387 köpeğin tedavisinin ardından enflamasyon veya ödem belirtileri görülmemiştir (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH agonisti tedavisinin köpeklerde, koyunlarda, marmoset maymunlarında, makaklarda ve kadında geçici olarak ovarien siklusları baskıladığı gösterilmiştir. Bu türlerde ovarien siklusların baskılanması folliküler gelişimin inhibisyonu ve sonuç olarak östradiol ve progesteron konsantrasyonlarında düşüş ve östrusun inhibisyonuyla karakterizedir (Herbert ve ark., 2004a).

GnRH agonist implantlarının ovarien aktiviteyi baskılaması ve gebelikleri önlemesi, ekstansif koşullarda bulunan düve ve ineklerde de denenmiştir (D'Occhio ve ark., 1996; D'Occhio ve ark., 2002). Bulgular göstermektedir ki GnRH agonist implantları ovarien aktiviteyi baskılamakta gerekli pratik teknoloji potansiyeline sahiptir (D'Occhio ve ark., 2002).

Uzun Süreli Fertilite Kontrolü:

GnRH agonist formülasyonlarının uygulanışı pek çok türde uzun süreli ve geri dönüşümlü olarak hipofizer ovarien ekseni baskılayabilmektedir. Son yıllarda uzun süreli fertilite kontrolünde GnRH tabanlı teknolojilerin kullanımı bir yıla kadar GnRH agonisti salınımı yapan depo formülasyonların geliştirilmesi ve ticarileştirilmesiyle büyük bir ilerleme kaydetmiştir (Herbert ve Trigg, 2005).

Uzun etkili GnRH analoglarının erkek ve dişi köpeklerde uygulanması, bir yılı aşan süre ile bu hayvanlarda reprodüktif fonksiyonu geri dönüşümlü olarak baskılayabilmektedir (Trigg ve ark., 2001; Wright ve ark., 2001). Başka bir çalışmada dişi köpeklerde östrus baskılanması 27 aya kadar gözlemlenmiş, fakat köpeklerin tedavi başlangıcındaki östrus siklusunun fazıyla implantın etki süresi arasında bir bağlantı kurulamamıştır (Trigg ve ark., 2001). Yine köpeklerde yapılan bir çalışmada, GnRH agonist implantı yerleştirildikten sonra gözlenen proöstrus ve östrus benzeri cevabın progestinlerle inhibe edilip edilemeyeceği ve meydana gelen östrusun fertil olup

olmadığı ve doğumda canlı yavrular elde edilip edilemeyeceği araştırılmıştır. Bu çalışmada çiftleşen dört köpekten ikisi gebe kalmış, fakat gebelikler 40. gün civarında düşük progesteron plazma konsantrasyonlarına bağlı olarak abortla sonuçlanmıştır (Wright ve ark., 2001).

Çeşitli çalışmaların sonuçları göstermektedir ki, daha uzun süreli fertilite kontrolü benzer formülasyonlar içerisinde yüksek dozlar kullanılarak elde edilebilir. Erkek köpeklerde agonist dozuyla (mg kg^{-1}) baskılanma süresi arasında pozitif bir ilişki vardır. Benzer bir ilişki düvelerde de gözlenmiştir. Doza bağlı süre artışının sebep veya sebepleri tam olarak anlaşılamamıştır. Yavaş bir salınım sistemindeki yüksek bir agonist başlangıç dozu, teorik olarak kritik olan eşik değerin üzerinde kalan salınım hızıyla uzun süreli olarak down regülasyon oluşumuna yol açabilir. Yüksek doz uygulanımlarında hipofizin daha uzun sürede kendine gelebildiğide başka bir olasılıktır. GnRH agonistinin oluşturduğu hipofizer down regülasyonun doza bağlı ilişkisinin esas sebebi daha çok araştırma gerektirmektedir. Tüm türlerde doza bağlı uzun süreli down regülasyon görülmemektedir (Herbert ve Trigg, 2005).

GnRH agonist tedavisi sırasında östrus sikluslarının yeniden ortaya çıkışı bireyler arasında oldukça farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılık GnRH tarafından oluşturulmuş down regülasyona her bireyin genetik variyasyonlarının duyarlılığı olabilir. Düşük doz uygulamalarında bireyler arasındaki variyasyon oldukça fazladır, bu da doza bağlı olarak verilen yanıtta farklılıklar olabileceğine işaret eder. Belli dozda verilen agonist, bazı bireyler için eşik değerin altında olabilir. Alternatif bir hipotez ise implant üretim sürecinde farklılıklar olabileceğidir (Herbert ve Trigg, 2005).

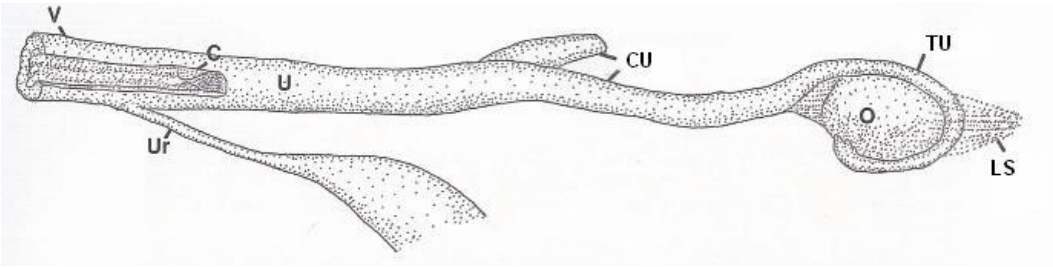
Uzun etkili GnRH agonist tedavisi sırasında tedaviden etkilenmeyen ve siklus göstermeye devam eden hayvanlar farklı bir grup oluştururlar. Bu hayvanlar uygulamaya yanıt vermeyen hayvanlardır. Düzenli olarak progesteron konsantrasyonları veya ovarien siklusların izlenemediği geniş tabanlı çalışmalarda bu hayvanların grup içerisinde oluşturduğu yüzdenin tesbit edilebilmesi oldukça güçtür. Örneğin; bir bireyde oldukça kısa süreli bir etki oluştuysa bu bir yanıt vermeme olayı mıdır yoksa başka bir sebepten dolayı östrus siklusuna geri dönüşmüdür? Bazı populasyonlarda (düve, vahşi köpek) yanıt vermeyenler grubu mevcuttur ve küçük bir yüzdeye sahiptir. Bu variyasyonun sebebi büyük olasılıkla genetiktir, hayvanların daha yüksek dozlarla tekrar tedavi edilmesi kontraseptif bir yanıt sağlamamaktadır (Herbert ve Trigg, 2005).

Deslorelin gibi agonistlerin uzun süreli (bir yıl) salınımı, sürü hayvancılığında olduğu gibi, evcil pet hayvanı hekimliğinde de uygulama alanı bulmaktadır (Herbert ve Trigg, 2005).

2.8. Dişi Kedilerde Reprodüktif Anatomi, Fizyoloji ve Endokrinoloji

2.8.1. Dişi Kedilerde Reprodüktif Anatomi

Kedilerde ilk sun'i tohumlama 1970'lerde yapılmış olmasına rağmen, dişi kedi genital anatomisi iyi bir şekilde tarif edilememiştir. Dişi kedideki reprodüktif anatomiyi tarif etmek için sınırlı sayıda ve tamamlanmamış çalışmalar vardır (Zambelli ve Cunto, 2005). Dişi kedide reprodüktif sistem internal olarak ovaryumlar, cornu uteriler, uterus, cervix ve vaginadan, eksternal olarak ta vulvadan meydana gelmektedir (Samuelson, 2007 pp.442-443) (Şekil 2.4).



Şekil 2-4: Dişi Kedide Reprodüktif Kanalın Şematik Gösterimi.

Cervix (C), ovaryum (O), ligamentum süspansorium (LS), uterus (U), cornu uteri (CU), tuba uterina (TU), üretra (Ur), vagina (V). (Samuelson, 2007).

2.8.1.1. İnternal Genital Organlar

Ovaryum:

Kedilerde ovaryumlar küçük, uzunlamasına oval şekilde ve düzleşmiş bir yapıdadır. Ortalama uzunluğu ise yaklaşık 1 cm kadardır. Her bir ovaryum kendi tarafındaki böbreğin kaudal açısıyla iştiraktedir veya çok kısa bir mesafe (yaklaşık 1-2 cm) gerisindedir. Böylelikle ovaryumlar üçüncü ve dördüncü lumbar vertebraların tam altında uzanmaktadır, diğer bir deyişle son kostayla ilium arasındaki çizgide tam orta noktadadırlar (Ellenport, 1975 pp.1576-1584).

Köpeklerdekinin aksine ovaryumlar parsiyel olarak peritondan oluşmuş kese, ovarian bursa içerisindedir. Bu keseyi oluşturan iki katman yağ, bağ doku ve düz kas ipliklerinden oluşmaktadır ve cornu uteriye doğru ilerleyerek mesosalpinksi oluştururlar. Kedi ovaryumunda hilus belirgin olarak görülmemektedir (Ellenport, 1975

pp.1576-1584). Ovaryum mesovaryuma ilave olarak ligamentum suspensorii ovarii ve ligamentum proprium ovarii adlı iki tane daha bağa sahiptir. Geriye doğru ligamentum proprium ovarii olarak devam eden ligamentum suspensorii ovarii, her bir ovaryumun kraniyal kutbu ile son kostanın hemen gerisindeki bölgede, dorsal vücut duvarı arasında yer alan, ovaryuma ait damarları ve sinirleri kapsayan bir yapıdır (Sontaş, 2005).

Tuba uterina:

Dişi genital kanalın ovaryuma en yakın kısmı olan tuba uterina, ovaryumdan çıkan ve cornu uteriye doğru uzanan boru şeklinde biri sağda diğeri solda yer alan iki organdır. Ovulasyonla ovaryumdan atılan ovum, önce bu kanalın ampul şeklinde geniş olan başlangıç bölümüne (ampulla tube) gelir. Tuba uterina döllenmenin gerçekleştiği yer olması bakımından da önemli bir organdır (Tanyolaç, 1993 p.147, Dursun, 1996 p.161-177).

Tuba uterinanın iki ucu vardır. Bir ucu ovaryuma bir ucuda uterusa dönüktür. Ovaryumun ekstremitas tuberiasına dönük ucu, huni tarzında belirgin bir genişleme gösterdiği için burası infundibulum tuba uterina olarak adlandırılmıştır. İnfundibulumun tam ortasında ostium abdominale tuba uterinae adı verilen bir delik bulunur. Bu delik periton boşluğuna açılır. İnfundibulumun kenarlarını muntazam olmayan, az çok uzun, ışınsal bir manzara gösteren saçaklar kapsar. Bu oluşumlara fimbria tubae denir. Fimbria tubaeların biri hariç tümü serbest ve yüzücü durumda olup, fimbria ovarica, epithelium superficiale ile ovaryumun ekstremitas tuberiasına tutunur (Dursun, 1996 p.161-177).

Tuba uterinanın infundibulumdan sonraki kısmına ampulla tuba uterina, belirgin bir sınır göstermeden devam eden kesimine ise isthmus tuba uterinae denir. Tuba uterinanın uterusa açıldığı kesime pars uterina denir. Bu bölüm çok kısadır ve ostium uterinum tubae adı verilen dar bir delik ile cornu uteri boşluğuna açılır (Dursun, 1996 p.161-177)

Uterus:

Uterus döllenmiş yumurtayı barındıran, özellikle ovaryum hormonlarının kontrolü altında yumurtanın implantasyonunu sağlayan içi boş kassel ve bezsel bir organdır (Dursun, 1996 pp.161-177).

Uterus evcil hayvanlarda önden arkaya doğru sıralanmış üç parçaya ayrılır. Bunlar cornu uteri, corpus uteri ve cervix uteridir. Cornu uteriler birbirinden biraz uzaklaşmış, biri sağ diğeri sol olmak üzere iki tanedir. Genişlikleri hemen hemen aynıdır ve abdomen içerisinde düz bir şekilde uzanmaktadır. Corpus uteriden V şeklinde iki kola ayrılan ve böbreklere doğru giden cornular, ligamentum latum uteri ile sublumbal bölgenin ve pelvis boşluğunun iki yan duvarına bağlanırlar. Cornu uterilerin kaudal bölümleri peritonla iştirak halindedir (Ellenport, 1975 pp.1576-1584; Dursun, 1996 pp.161-177).

Uterusun ortada yer alan parçası corpus uteridir (Dursun, 1996 pp.161-177). Cornulara nazaran oldukça kısa bir yapıya sahiptir (Ellenport, 1975 pp.1576-1584). Corpus uteri abdomen kısmen de pelvis boşluğunda yer alır. Corpus uterinin iki kenarı (margo uteri dexter et sinister) ve iki yüzü (facies dorsalis ve facies ventralis) vardır. Kenarlarının özellikle arka kesimleri ligamentum latum uterinin bağlandığı yerlerdir. Pürüzsüz ve dışbükey olan yüzlerinden facies dorsalis rektum ve diğer bağırsak bölümleri ile, facies ventralis ise idrar kesesi ve jejunum kıvrımları ile temas halindedir (Dursun, 1996 pp.161-177).

Cervix uteri uterusun vagina ile birleşen kesimidir. Dıştan uterus ve vagina arasında belirgin bir sınır oluşturmaz fakat vaginaya kıyasla oldukça kalın bir duvar yapısına sahiptir (Ellenport, 1975 pp.1576-1584; Dursun, 1996 pp.161-177). Cervix, corpus uteri ve vagina arasında oblik bir pozisyona sahiptir. Vulvanın 40-45 mm anteriorunda bulunan cervix, vaginayla geniş açı oluşturacak şekilde şekillenmiştir. Kedilerdeki ürogenital sinus cervixin dar bir yapıya sahip olmasına sebep olur (Zambelli ve Cunto, 2005).

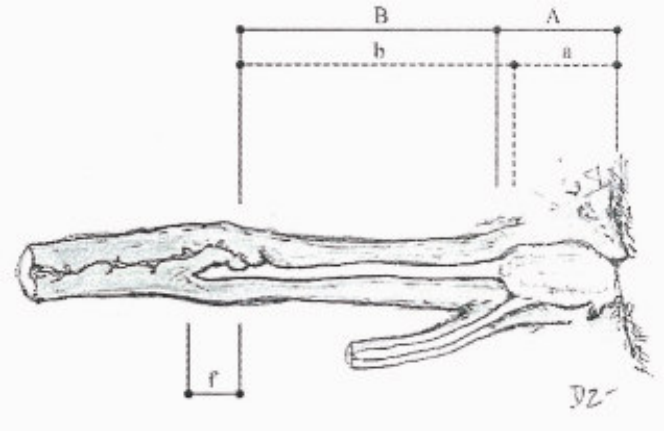
Cervix uteri vaginaya doğru bir çıkıntı oluşturur. Bu çıkıntıya portio vaginalis denir. Portio vaginalisin ortasında yer alan deliğe ostium uteri externum denir. Bu delik cervix uteri ile vagina arasındaki iştirakı sağlar. Cervix uterinin cavum uteri ile iştirakını sağlayan delik ise ostium uteri internumdur. Ostium uteri internum ile ostium uteri externum arasındaki kanala da canalis cervicis uteri denir. Bu kanal çok kısa olduğundan adı geçen iki delik adeta birleşmiş gibidir. Kanalı döşeyen mukoza pembe beyaz yahut sarımtırak renktedir (Dursun, 1996 pp.161-177).

Cervix ve sekresyonları vaginayla uterus arasındaki önemli bariyerlerdir ve sperm geçişinin düzgün olabilmesi için esansiyeldir. Cervikal kanalın açıklığıyla ilgili

değişimler pek çok türde bilinmesine rağmen, kedilerde vaginanın oldukça küçük olmasından dolayı cervix izlenememektedir (Zambelli ve Cunto, 2005).

Vagina:

Vagina cervix uteri ile pudendum femininum (vulva) arasında yer alır. Tamamıyla pelvis boşluğunda yer alan vagina üstte rektum ve canalis analis ile, altta vesica urinaria ve urethra ile komşudur. Köpeklerdekinin aksine oldukça düz, horizantal bir yapı gösterir (Dursun, 1996 pp.161-177; Feldman ve Nelson, 2004 p.1016). Vaginanın ön ucu cervix uteriye dayanır. Cervix'in portio vaginalisinin etrafında genel olarak derin annuler şekilde bir çıkmaz oluşur, buna fornix vaginae adı verilir (Dursun, 1996 pp.161-177). Kedilerde vaginal fornix, cerviksin ventrolateralinde bulunmaktadır. Fornix uzunluğu folliküler faz esnasında değişmekte, vaginanın cerviksle arasındaki iç yükseklik (vaginanın iç çapı) ve cervical-vaginal açı genişliği azalırken fornix uzunluğu artmaktadır. Bu değişimler, vaginanın dorsal medial kıvrımındaki artışa bağlı olarak oluşmaktadır (Şekil 2.5) (Zambelli ve Cunto, 2005).



Şekil 2-5: Dişi Kedide Alt Reprodüktif Kanalın Longitudinal Kesimi.

Ürogenital Sinus (A), vagina (B), vestibulum (a), vagina (b), forniks (f). (Zambelli ve Cunto, 2005).

Vestibulum vaginae:

Vestibulum vaginae, vagina ile rima pudendi (vulva) arasındaki bölümdür ve önde ostium vaginale ile sınırlanır (Dursun, 1996 pp.161-177). Vestibulum vaginae, vaginayı üretral giriş noktasından itibaren eksternal genital açılımla birbirine bağlar

(Ellenport, 1975 pp.1576-1584). Köpeklerdekinin aksine kedilerde vestibulum vaginae oldukça düz, horizontal bir anatomik yapıya sahiptir. Vestibulo-vaginal birleşim noktası elastik değildir ve oldukça dardır (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Dorsal median kıvrımla daha da sınırlandırılmış oldukça dar lumene sahip olan vaginayla kıyaslandığında vestibulum geniş bir yapıya sahiptir (Zambelli ve Cunto, 2005).

Embriyonik dönemde erkeklerdeki üretranın homoloğu olan embriyonik ürogenital sinustan gelişen vestibulum vagina (Ellenport, 1975 pp.1576-1584), dişi kedilerde tam bir ürogenital sinus karakterindedir ve varlığı ilk defa 1993 yılında teyit edilmiştir (Zambelli ve Cunto, 2005). Ürogenital sinus dar ve genişleme özelliği olmayan vaginaya doğu uzanan 1-2 cm uzunluğunda bir yapıdır. Ürogenital sinus 4 mm'lik bir endoskopik probun geçişine izin verebilirken, vaginadan ancak 1 mm'lik bir prob geçebilmektedir. Ürogenital sinusun anteriör kısmının uyarılması, koitustakine benzer vokalizasyona sebep olur (Zambelli ve Cunto, 2005).

Vestibulumun ventralinde üretral açıklığı içinde bulunduran bir üretral tüberkulum vardır. Bu tüberkulumun tam ortasından üretra dışarıya açılır. Vestibulum vaginanın mukozası glandulae vestibulares denilen bezleri kapsar. Bu bezler gladulae vestibularis major ve glandulae vestibulares minores olarak ikiye ayrılır. Glandulae vestibularis major köpeklerde yokken, kedilerde vestibulumun lateral yüzünde bulunur ve delikleri gözle görülebilir. Salgısını bir kanalla vestibulum vaginanın yan duvarına akıtır. Salgısı dış genital yolları kayganlaştırıcı ve yağlayıcı bir rol oynar. Glandulae vestibulares minores kedilerde genellikle bulunur ve ventral olarak orta çizgi boyunca yer alırlar (Ellenport, 1975 pp.1576-1584, Dursun, 1996 pp.161-177).

Dişi köpeklerde erkekte corpus spongiosum penisin karşılığı olan ve vestibulum vaginae ile pudendum femininum sınırında bulunan erektil yapıya sahip "bulbus vestibuli" kedilerde bulunmamaktadır (Ellenport, 1975 pp.1576-1584, Dursun, 1996 pp.161-177).

2.8.1.2. Eksternal Genital Organlar

Vulva:

Vulva (pudendum femininum) dişi genital sistemin en dış kesimidir. Anüsün hemen altında yer alan vulva, deri kıvrımından oluşmuş iki dudak labium pudendi (vulvae) oluşur. İki dudak arasındaki yarığa da rima pudendi denir. Her bir labium

pudendi dıştan içe doğru deri, kas tabakası ve mukozadan oluşur. İki labium pudendi, biri yukarıda, diğeri aşağıda iki kavşak ile birbirine geçer. Bu kavşaklar commissura labiorum dorsalis ve commissura labiorum ventralistir (Dursun, 1996 pp.161-177). Dişi köpeklerde vulvar labiumların boyutu oldukça değişebilmesine ve genişleyebilmesine rağmen, kedilerde tüylerle kaplı olan vulva, göreceli olarak östrojene duyarsızdır ve proöstrus ve östrus zamanında bile değişime uğramaz (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

2.8.2. Dişi Kedilerde Reprodüktif Fizyoloji ve Endokrinoloji

Dişi kediler uzayan fotoperiyoda bağlı olarak üreyen, mevsime bağlı poliöstrik hayvanlardır. Gün ışığındaki artışa bağlı olarak siklik aktivite gösterirler ve sun'i ışık uygulaması mevsime bağlı siklik aktiviteyi değiştirebilir (Concannon ve ark., 1989, Axner, 2006, Long, 2006 pp.81-82, Romagnoli, 2006, Silva ve ark., 2006).Yıl boyunca kedilerin siklik aktivite gösterebilmeleri için en az 10 saat süreyle ışıklı bir ortamda bulunmaları gerekirken, gün içinde en fazla 8 saat ışık altında bulunan hayvanlarda östrus baskılanmaya uğrar ve anöstrus şekillenir (Axner, 2006; Romagnoli, 2006).

Kısa süren günlerin ardından artan gün ışığına maruz bırakılan kedilerde östrus indüksiyonu oluşturulabilir (Hurni, 1981). Gün uzunluğunun değiştirilmesi kedilerde rutin olarak östrus veya anöstrusun oluşturulmasında kullanılmaktadır. Öte yandan duyusal uyarımlar, görsel-işitsel ve olfaktör (koklama) iletişim gibi çevresel faktörler kedilerin seksüel davranışlarını etkiliyor gibi gözükmektedir (Silva ve ark., 2006).

Köpeklerden farklı olarak kedilerde genellikle çiftleşmeyle oluşan ovulasyon (provoke-refleks ovulasyon), kendiliğinden (spontan) olarakta şekillenebilmektedir (Gudermuth ve ark., 1997, Axner, 2006, Romagnoli, 2006, Pelican ve ark., 2007). Kedi reprodüktif siklusunun evreleri proöstrus, östrus, interöstrus (postöstrus), diöstrus ve anöstrustur (Banks, 1986 pp.795-801, Pineda, 1989 pp.487-502, Verstegen, 1998 pp.11-16, Little, 2003, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Axner, 2006, Long, 2006 pp.81-82, Romagnoli, 2006).

2.8.2.1. Puberte ve En Uygun Üreme Yaşı

Puberteye ulaşma yaşı:

Dişi kedilerde puberteye gelme yaşı oldukça değişkendir ve ilk östrus 4-18.aylar arasında görülebilir. Ortalama olarak puberteye ulaşma yaşı ise 6-9. aylar arasındadır

(Broers, 1993 pp.163-182, Verstegen, 1998 pp.11-16, Long, 2006 pp.81-82). Seksüel olgunluğa ulaşmadaki bu değişkenlik şu sebeplere bağlıdır:

- Vücut ağırlığı: Dişi kediler erişkin vücut ağırlıklarının %80'ine ulaştığında (2,3-2,5 kg) siklus göstermeye başlarlar ve ilk sikluslarını ortalama 7 aylıkken gösterirler. Melez kedilerde puberteyi etkileyen en önemli faktör vücut ağırlığıdır (Banks, 1986 pp.795-801, Alaçam, 1998 pp.437-448, Verstegen, 1998 pp.11-16, Noakes ve ark., 2001 pp.37-39, Little, 2003, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Long, 2006 pp.81-82).

- Doğum zamanı ve fotoperiod: Puberteye ulaşma yaşı kedinin doğduğu zamana bağlı olarak ta değişebilmektedir. Dişi kedi uzayan fotoperioda (artan gün ışığı) bağlı olarak kızgınlık göstermektedir. Eğer yavru kedi kızgınlık göstermek için yeterli vücut ağırlığına güz veya kış aylarında ulaştıysa gün ışığının artmaya başladığı bahar aylarına kadar kızgınlık göstermez (Verstegen, 1998 pp.11-16, Noakes ve ark., 2001 pp.37-39, Long, 2006 pp.81-82). Seksüel olgunluğa ve siklik aktiviteye ulaşmadan sorumlu ana faktör, gün uzunluğuna bağlı olarak alınan gün ışığının miktarı ve süresi olup, dışarıda serbestçe dolaşan kediler, eğer sun'i ışık uygulaması yapılmıyorsa üretimhanede yetiştirilen veya sürekli evde tutulan kedilere göre daha çabuk puberteye ulaşırlar (Pineda, 1989 pp.487-502, Verstegen, 1998 pp.11-16, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Seksüel aktivite dışarıda serbest dolaşan kedilerde fotoperioda bağlı olduğundan, puberteye gelme yaşı yıl içerisinde dişi kedinin doğduğu zamandan etkilenebilmektedir (Broers, 1993 pp.163-182). Örneğin; haziran ayında doğan kedi yavruları yeterli vücut ağırlığına sahiplerse ocak ayında seksüel olgunluğa ulaşırlar, böylelikle 6 aylıkken ilk kızgınlıklarını göstermiş olurlar. Yıl içinde daha erken doğan kedi yavruları (mart ayı), anöstrus süresince pubertal ağırlığa ve yaşa ulaşmalarına rağmen takip eden ocak-şubat aylarına kadar östrus göstermezler. Bu nedenle puberte yaşı 6 aylıktan 10 aylığa kadar değişebilmektedir (Banks, 1986 pp.795-801, Onay, 2003).

- Irk: Puberteye ulaşma yaşı pedigri kedilerinde oldukça değişkendir (Noakes ve ark., 2001 pp.37-39). Şunu kesin olarak söyleyebiliriz ki, seksüel olgunluğa erişme herediter olabilir ve ırklara göre kediler daima erken veya gecikmiş puberte gösterirler. Örneğin Siyam ve Birmanya kedisi gibi kısa tüylü kedi ırkları, genellikle 18 aylık olmadan önce kızgınlık göstermeyen uzun tüylü kedi ırklarından İran kedilerine göre daha erken gelişirler ve 5 aylıkken ve düşük bir vücut ağırlığına sahipken puberteye ulaşırlar (Verstegen, 1998 pp.11-16, Noakes ve ark, 2001 pp.37-39, Long, 2006 pp.81-82). Bu nedenle puberteye gelmede genetiğin önemli bir rol oynadığı söylenebilir (Long, 2006 pp.81-82). Subjektif olarak ise safkan kedilerin, yerli veya karışık ırklara göre daha geç puberteye ulaştıkları düşünülmektedir (Onay, 2003, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

En uygun üreme yaşı:

Dişi kediler 14 yaşına kadar veya daha uzun süreyle seksüel aktiviteye sahiptirler (Alaçam, 1998 pp.437-448), fakat kediler için en uygun üretim zamanı 1,5 ile 7 yaşları arasındadır. Dişi kedilerin yaşları ilerledikçe reprodüktif problemleri de artar. Yedi-sekiz yaşından büyük kediler düzensiz siklus göstermeye eğilimlidirler, bir batında doğurdukları yavru sayısı azalır, yavrulardaki doğmasal kusurlar ve abortlar artar. Bir yaşından küçük genç kediler ise, düzensiz sikluslar gösterebilirler ve nasıl seksüel davranışlar içerisinde bulunacakları erişkin kedilerle karşılaştırıldıklarında daha az tahmin edilebilir (dışarıdan belirlenemeyen düzensiz sikluslar) (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

2.8.2.2. Mevsime Bağlı Kızgınlık (Östrus) Gösterme ve Fotoperiodizm

Erişkin dişi bir kedi mevsime bağlı poliöstrus gösterir ve mevsime bağlılık ışık süresiyle alakalıdır (kedi pozitif olarak fotoperiodiktir) (Silva ve ark, 2006). Anöstrus köpeklerde mevsime bağlı değilken, kedilerde anöstrus mevsim değişimine bağlı olan gün uzunluğuyla belirlenir (fotoperiodizm) (Banks, 1986 pp.795-801). Siklus gebelik veya hastalık nedeniyle kesilene kadar dişi kedi üreme sezonu boyunca tipik olarak sürekli kızgınlık gösterir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Little, 2005).

Serbest dolaşan melez kediler ve yabani kediler mevsime bağlı poliöstrus gösterirler ve bu hayvanlarda anöstrus güz sonunda başlar. Artan gün ışığı reprodüktif

aktivitenin yeniden başlamasını sağlayan en önemli faktördür ve ilk östrus genellikle yılın en kısa gününün hemen ardından görülür. Eğer günlük olarak sürekli 14 saat ışklandırma sağlanırsa seksüel aktivite yıl boyunca devam eder ve fotoperiodun bu şekilde idare edilmesi, melatonin üretiminin *circadian* ritmini değiştirir. Işıklandırma düzeni 14 saatten 8 saate indirilirse siklik aktivite hemen durur. Yaz başında görülebilen östrus aktivitesindeki azalma gerçek bir anöstrustan çok yılın erken döneminde çiftleşmeye bağlı olarak oluşan gebelik veya laktasyona bağlıdır (Noakes ve ark., 2001 37-39).

Üreme sezonu boyunca kediler eğer gebelik veya yalancı gebelik oluşmazsa 2-3 haftada bir kızgınlık gösterirler (Banks, 1986 pp. 795-801, Verstegen, 1998 pp.11-16). Kuzey yarımkürede üreme sezonu genellikle günlerin uzamaya başladığı ocak ayında başlar ve Eylül ayına kadar devam eder (Banks, 1986 pp.795-801). Şubat-mart aylarında ise östrus görülme sıklığı artar. Daha ılıman bölgelerde ise tüm yıl boyunca çiftleşmeler görülebilir (Pineda, 1989 pp.487-502; Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Değişik bölgelerde bulunan çeşitli ırklar arasında bazı değişimler meydana gelebilirsede, ovarien aktivitenin başlaması ve sürdürülmesinde en önemli faktörün gün ışığı uzunluğu olduğu bilinmektedir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Uzun tüylü kediler kısa tüylü kedilere nazaran fotoperioda daha duyarlıdır ve kış sezonu boyunca kısa tüylülerin %40'ı anöstrus gösterirken, uzun tüylülerin %90'ı anöstrus gösterir (Banks, 1986 pp.795-801; Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Sun'i ışık kedilerde normal ovarien aktiviteyi değiştirir. En az 10 saat süreyle sun'i ışıklandırmaya (4×4 m'lik bir odada, 100 watt'lık bir ampule eşdeğer) maruz bırakılan kediler yıl boyunca siklus (östrus) gösterebilirler (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Kontrollü ışıklandırma yapılan kedi kolonilerindeki kediler yıl boyunca östrus gösterirken, östrus görülme sıklığı mart, temmuz ve ekim aylarında artar. Ev kedileri de ışıklandırma miktarına bağlı olarak, üreme sezonu olsun veya olmasın, üretimhanelerdeki kediler gibi yıl boyunca östrus gösterebilirler (Pineda, 1989 pp.487-502). Kedi üretimhanelerindeki veya evlerdeki kedilerin uzayan anöstrus göstermelerinin ana sebebi ise yetersiz ışıklandırmadır (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Pek çok türde prolaktin ve melatonin hormonlarının aydınlık-karanlık devinimine bağlı olarak değiştikleri bilinmektedir. Prolaktin hipotalamusun kontrolü altında bulunan ön hipofizden, melatonin de ışık yokluğunda hipofiz bezinden sekre edilir. Diğer pek çok türde olduğu gibi kedide de prolaktin konsantrasyonları karanlık altında geçen saatlerde daha yüksektir. Bu da prolaktin sekresyonunun gün içerisindeki ritmini belirler. Melatonin sekresyonuda karanlık periyodu süresince artış gösterir. Melatonin fotoperiod daki değişimlere prolaktine göre daha duyarlıdır, mevsime bağlı olarak oluşan ışık süresinde azalma melatoninin salınma süresinde artışa sebep olur. Mevsime bağlı anöstrus süresince bu hormonların seviyeleri artmış olduğundan, ovaryumlardaki folliküler gelişme baskılanır. Laboratuar çalışmaları göstermiştir ki, ekzojen melatonin uygulamaları ovarien aktiviteyi baskılamaktadır, fakat bu baskılama kısa süren fotoperioda bağlı olarak oluşan baskılanmayla aynı derecede değildir. Öte yandan prolaktin ve/veya melatonin konsantrasyonlarının fotoperioda bağlı anöstruslara sadece etki mi ettiği yoksa sebebini mi oluşturduğu hala tam olarak bilinmemektedir (Banks, 1986 pp.795-801).

Hurni 1981'de dişi kedilerde yaptığı çalışmada ise kedileri beş gruba ayırarak, her gruba ayrı fotoperiod uygulamış, bu şekilde fotoperioda bağlı olarak yıl içerisinde yavrulama ve bir batına düşen yavru sayısını araştırmıştır. Buna göre kısa günlerin ardından artırılan gün ışığı (günde 12 saat veya daha fazla) östrus oluşumunu sağlamaktadır. Artan gün ışığı uygulamasından önceki kısa günlerin sayısı ne kadar fazla olursa ortaya çıkan östrus reaksiyonuda o kadar kuvvetli olmaktadır. Kısa gün-uzun gün periyodu yılda en az altı kez başarıyla tamamlanabilmektedir. Öte yandan düzenli olarak 12 saat aydınlık/12 saat karanlık uygulanan kedilerde yavru sayısı daha fazla olmaktadır.

2.8.2.3. Östrus Siklusunun Evreleri

Dişi bir kedi mevsime bağlı poliöstriktir ve provoke ovulasyon görülür. Bunların sonucu olarak dişi kedide reprodüktif siklusun karakteristikleri çiftleşme olup olmadığına göre oldukça değişir (Pineda, 1989 pp.487-502).

Dişi kedi ve köpekler genel olarak östrus siklusunu meydana getiren birbirinden ayrı dört büyük faza sahiptirler: Proöstrus, östrus, diöstrus ve anöstrus. Öte yandan mevsime bağlı olarak şekillenen poliöstrus ve ovulasyonun genelde provoke ovulasyon karakterinde oluşu, kedi östrus siklusunun fazlarını köpeklerinkinden ayırmaktadır.

Normal bir kedi interöstrus, postöstrus veya nonöstrus olarak adlandırılan beşinci bir faza daha sahiptir (Banks, 1986 pp.795-801, Pineda, 1989 pp.487-502, Little, 2003, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Little, 2005, Axner, 2006, Silva ve ark., 2006)

Aslında diöstrus eğer çiftleşme olmazsa iki östrus periyodu arasındaki periyod yani interöstrustur. Anöstrus mevsime bağlı ovarien inaktivite periyodudur. Bu yüzden çiftleşme sezonu boyunca mevsimsel anöstrus görülünceye kadar östrus ve interöstrus görülür. Eğer kedi östrustayken steril bir çiftleşme gerçekleşir ve ovulasyon olursa veya spontan ovulasyon meydana gelirse korpus luteum oluşur. Bu luteal faza diöstrus denir. Bu yüzden, kedide östrus siklusu boyunca gerçekleşmesi mümkün üç olasılık vardır:

1. Proöstrus, östrus (çiftleşme yoksa), interöstrus
2. Proöstrus, östrus (steril çiftleşme), diöstrus, interöstrus
3. Proöstrus, östrus (fertil çiftleşme), gebelik (Banks, 1986 pp.795-801).

Proöstrus:

Tanımı: Proöstrus fazı genellikle erkek kedilerin dişi tarafından cezbedildiği fakat dişinin erkeği kabul etmediği dönem olarak tanımlanabilir. Bu dönem folliküler fonksiyonun, östrojen sentezi ve sekresyonunun başladığı, vaginal eksfoliyatif sitolojinin değişime uğradığı ve çiftleşme ve gebeliğe hazırlanılan dönemdir. Bu dönem sona erdiğinde dişi kedi erkek kedinin kendisiyle çiftleşmesine izin verir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Klinik belirtiler ve süresi: Kedilerde köpeklerdeki gibi dış belirtiler çok belirgin olmadığı için, proöstrus ve östrusu birbirinden ayırt edebilmek oldukça güçtür (Verstegen, 1998 pp.11-16). Proöstrus, dişi kedinin boynunu ve kafasını sürekli değişik objelere sürmesi ve ara sıra yüksek sesle miyavlamasıyla kendini belli eder. Dişi erkeğin çiftleşmesine izin vermez. Bu davranış biçimi dişi erkeği kabul edinceye kadar 1-2 gün sürebilir, fakat oldukça kısa süren bir dönem olduğu için genellikle farkedilmez (Banks, 1986 pp.795-801, Broers, 1993 pp.163-182, Romagnoli, 2006).

Erkek bir kedinin yanına konulduğunda proöstrustaki bir kedi östrustaki bir kediden ayırt edilebilir. On iki saatten iki güne kadar sürebilen proöstrusun farkedilmesinin güç olmasının sebebi belirtilerinin görülemeyebilmesinden kaynaklanır (bazen tek belirti sürekli ilgi isteyen bir davranış biçimi olabilir). Dişi köpeklerde proöstrusa bağlı pekçok değişim meydana gelirken dişi kedilerde bu belirtiler görülmez

(örneğin; dişi köpekte proöstrus 5-9 gün sürer, vaginal kanama, vulvaların kabarması ve vaginal sitolojide buna bağlı değişimler meydana gelir) (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Hormonal değişimler: Proöstrusun başlangıcında 1 mm'den küçük olan folliküller, folliküler gelişimin artmasıyla östrus başlangıcına kadar 1,5 mm'ye kadar ulaşır. Anöstrus veya interöstrustaki bir kedide plazma östrojen konsantrasyonu genellikle 15 pg/ml'nin altındadır. Folliküler fazla beraber östrojen konsantrasyonu 20 pg/ml'ye kadar çıkar. Proöstrusun ortaya çıkışı, folliküler büyüme ve sekresyonla alakalı olarak sirkülasyondaki östrojen konsantrasyonundaki ani artışlarla bağlantılıdır. Plazma östrojen konsantrasyonunun iki dalga halinde 40 pg/ml değerine yükselmesi genellikle 24 ile 48 saatten kısa sürer. Kedide folliküler büyümenin ve seksüel olarak erkeği kabul etmenin bu şekilde ani kısa süren bir tabiata sahip oluşu, dişi bir köpek için tipik olan birbirini izleyen, kademeli değişimlerle kontrast oluşturur (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

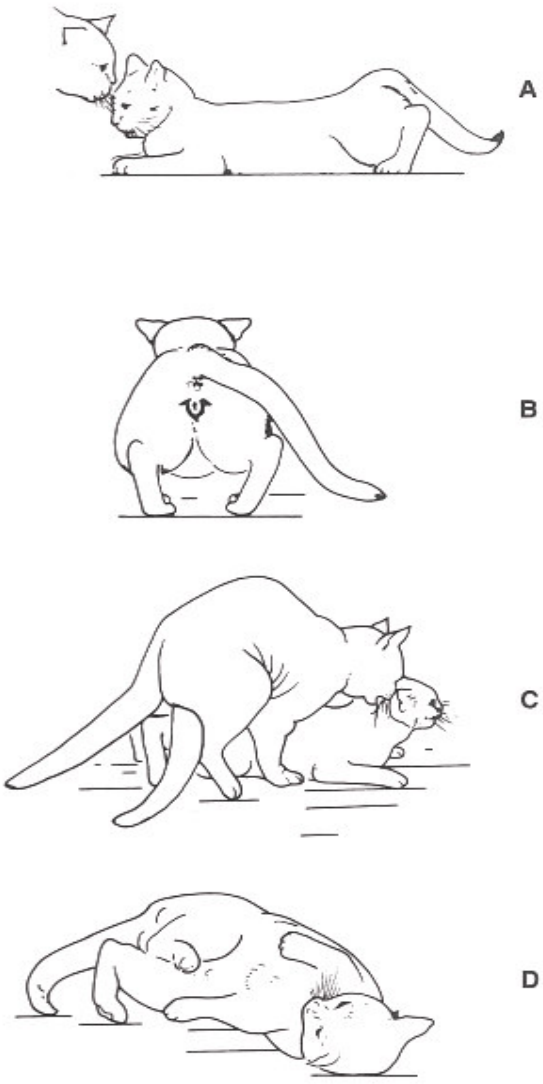
Östrus ve Folliküler Faz:

Tanımı: Dişi kedide östrus çiftleşmenin olduğu dönem olarak tanımlanabilir. Bu yüzden bu faz yalnızca dişi kedinin erkek kediye verdiği davranışsal yanıtla kendini belli edebilir. Östrus dişi kedinin erkeği kabul etmesi ve çiftleşmeye izin vermesiyle başlar ve bu davranış sona erdiğinde biter. Anöstrustan östrusa geçişteki davranış değişimleri çok çabuk olabilir ve genellikle on iki saatle yirmi dört saatten daha az sürer (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Klinik belirtileri: Dişi kedideki östrojen konsantrasyonundaki hızlı yükseliş, östrus için belirleyici olan davranışların aniden ortaya çıkmasını sağlar. Genellikle belirgin bir proöstrus fazı göstermeyen dişi kedi proöstrustaki gibi sürekli olarak kafasını ve boynunu değişik cisimlere sürer, sırtüstü yerde yuvarlanma hareketleri yaparak sırtını ve bedenini yere sürter. Daha sık ve yüksek sesle miyavlar, sıklıkla iniltiye benzer bir ses çıkarır. Genellikle daha aktif bir hale gelir, sık sık idrarını yapar ve evden kaçmaya çalışabilir. Bazıları sahiplerine karşı olduğundan fazla ilgi gösterirken, diğer bazı kediler ise bu dönemde bir miktar agresifleşebilirler.

Östrustaki bir kedi erkek kediyi gördüğü zaman, sahibi tarafından okşandığında veya sadece kendiliğinden çiftleşme pozisyonuna geçebilir. Ön bacaklarını alçaltıp, arka bacaklarını geriye doğru uzatarak, bedenini alçaltır ve lordoz pozisyonu alır. Bu esnada

pelvisini yükseltip, kuyruğunu yana alarak perineal bölgeyi açığa çıkarır ve erkek kediyle temas ettiği zaman arka ayaklarıyla çiftleşmeye özel basış hareketleri yapar (Noakes ve ark., 2001 pp.37-39, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027) (Şekil 2.6).



Şekil 2-6: Kedide Östrus Davranışları ve Çiftleşme.

Lordoz (A), kuyruğu yana alma (B), çiftleşme (C), çiftleşme sonrası yuvarlanma (D). (Feldman ve Nelson, 2004).

Eksternal genital organların görünümünde genellikle hiçbir değişim olmaz, tipik belirtiler olarak bazen vulvada ödem, pembeleşme ve seröz hafif bir vaginal akıntı görülebilir ve anöstrustaki bir kediden farklı olarak vulva hafif bir açılma gösterebilir (Verstegen, 1998 pp.11-16, Noakes ve ark., 2001 pp.11-16).

Folliküler faz: Köpeklerdeki düşen serum östradiol konsantrasyonuyla başlayan östrustan farklı olarak, kedide östrus folliküler aktivitenin pik yaptığı dönemde görülür (Romagnoli, 2006). Dişi kedinin östrus davranışı içerisinde olmasının sebebi folliküler östrojen sentezi ve sekresyonuyla alakalıdır. Ovaryumlar folliküler fazda 2-3 mm çapındaki folliküllerle beraber genişler. Dişi kedide östrus, yalnızca seksüel davranışlarına bakılarak saptanabilirse de, folliküler faz veya diğer bir deyişle folliküler fonksiyonun aktif olduğu dönem, fizyolojik bir olaydır ve plazma östrojen konsantrasyonunun biokimyasal olarak ölçülmesiyle de tesbit edilebilir. Anöstrus veya interöstrus periyodu süresince pek çok kedi 12-15 pg/ml'nin altında plazma östrojen konsantrasyonuna sahipken, plazma östrojen konsantrasyonunun 20 pg/ml'nin üzerine çıkması folliküler aktivitenin göstergesidir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Folliküler fazın ortalama uzunluğu yaklaşık olarak 7,5 gündür ve süresi 3 ile 16 gün arasında değişebilir (Banks, 1986 pp.795-801, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Axner, 2006, Romagnoli, 2006) Ovulasyon olsun veya olmasın çiftleşme folliküler fazın süresini değiştirmez. Ovulasyonun ardından folliküllerin fonksiyonel korpus luteumlara dönüşmesine rağmen, bu açıdan kendine has olan kediler birkaç gün süreyle daha çiftleşmeyi kabul ederler (Banks ve Stabenfeldt, 1982, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Folliküler faz esnasında plazma östrojen konsantrasyonu hızlı bir şekilde yükselir, üç dört gün boyunca yüksek kalır ve aniden azalmaya başlar. Folliküler fazın başlamasından sadece bir gün önce plazma östrojen konsantrasyonu 12-15 pg/ml'nin altındadır. Folliküler fazın ilk gününde 25 pg/ml olan östrojen konsantrasyonu, üçüncü günde artarak 45 pg/ml, beşinci günde biraz daha yükselerek 50 pg/ml, yedinci günde azalarak 20-25 pg/ml ve sekizinci günde 10 pg/ml değerlerine düşer. Ortalama östrojen konsantrasyonunun sekizinci günde 15 pg/ml'nin altında olması, ovulasyonun olmadığı düşünülürse interöstrusun ilk günü olarak kabul edilir. Folliküler faz esnasında ortalama plazma östrojen konsantrasyonu 50 pg/ml'den biraz daha yüksek olabilir ve 25 pg/ml ile 80 pg/ml arasında değişebilir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Folliküler fazın bitişi plazma östrojen konsantrasyonundaki ani düşüş ile karakterizedir. Pik seviyedeki östrojen değerleri genellikle 2-3 gün içerisinde 20 pg/ml'nin altına düşer. Hormon konsantrasyonunun düşmeye başlaması, ovulasyonun

indüksiyonu veya kedinin çiftleştirilmeye çalışılmasıyla ortadan kaldırılamaz (Feldman ve Nelson, 2004 pp. 1016-1027).

Ovulasyon gerçekleşmemiş bir östrus evresinde, korpus luteum şekillenmediğinden diğer bir ovarien hormon olan progesteron bazal seviyede (1 ng/ml) kalmaktadır (Banks, 1986 pp.795-801).

Çiftleşme veya vaginanın mekanik bir stimülasyonu olmadığı sürece, östrus boyunca hipofizde LH sekresyonu bazal seviyelerde kalır (Banks, 1986 pp.795-801).

Çiftleşme ve ovulasyon: Çiftleşme esnasında erkek kedi dişi kediyi dişleriyle boynundan yakalayarak üzerine çıkar ve çiftleşme için hazırlanırken dişi kedi arka ayaklarıyla sürekli basış hareketleri yapar (Alaçam, 1998 pp.437-448, Noakes ve ark., 2001 pp.37-39). Koitus yaklaşık olarak 10 saniye sürer ve dişi kedi birleşme esnasında yüksek, tiz bir ses çıkartır. Bu ses çiftleşmenin başarılı bir şekilde tamamlandığının kanıtıdır. Çiftleşmenin hemen ardından erkek kediden yere yatmaya çalışarak kurtulmayı başaran dişi kedi bu esnada veya kurtulduktan hemen sonra erkek kediye pati atar. Bu hareket dişi kedinin tipik olarak çiftleşme sonrası yaptığı bir harekettir ve "after reaction" olarak adlandırılır. Erkek kediden kurtulan dişi oldukça hareketlidir, yerde yuvarlanma hareketleri yapar ve sık sık vulvasını yalar. Bu sırada erkeğin çiftleşme yaklaşımlarını hep geri çevirir. Dişinin koitus sonrası gösterdiği bu davranışlar sona erdiğinde erkek kedi yeniden çiftleşmek için dişiye doğru hamle yapar ve ilk yarım saatle bir saat içinde eğer çift rahatsız edilmezse birçok kez çiftleşme gerçekleşir (Noakes ve ark., 2001 pp.37-39, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Kustritz, 2005).

Kedilerde ovulasyon provoke karakterde olduğu için çiftleşme ovulasyonu tetiklemekte önemli bir unsurdur. Kopulasyon esnasında dişi kedinin vulvasında bulunan reseptörler uyarılır ve bu uyarılma hipofiz ön lobundan LH salınımına sebep olur. Kedilerin sadece %50'sinde ilk çiftleşmeden sonra ovulasyon görülür. Ovulasyon oluşturabilecek uygun miktarda LH salınımı için ise birden çok çiftleşme gerekmektedir. LH'nın ovulatör dalgası, çiftleşmeden sonra birkaç dakika içerisinde başlar, iki saatte pik yapar ve sekiz saatte tekrar bazal seviyeye düşer. LH'nın pik yaptığı dönemdeki konsantrasyonlarının 90 ng/ml'yi aştığı bildirilmektedir. LH konsantrasyonu pik seviyeye ulaşmadan önce ne kadar fazla çiftleşme olursa, bu LH seviyesinde ek yükselişlere sebep olur. Öte yandan dört saat veya daha uzun sürelik bir

periyotta çok sayıda çiftleşme meydana gelmişse, bundan sonra çiftleşme sayısındaki artış LH konsantrasyonlarında ek bir yükselişe sebep olmaz. Bu olayın sebebibin hormon havuzu hipofizdeki yetersizlik veya GnRH'ya karşı duyarsızlık gelişiminin sonucu olduğu düşünülmektedir (Noakes ve ark., 2001 pp.37-39).

Kedilerde ovulasyon "ya hep ya hiç" şeklinde bir fenomen olduğu için, LH konsantrasyonunun belirgin bir seviyeye ulaşması tüm folliküllerin patlamasına yol açacaktır. Melez kedilerde ortalama ovulasyon oranı dört iken, bu oran değişik kedi ırkları arasında oldukça değişkendir (Noakes ve ark., 2001 pp.37-39).

Kesin sınırlarla refleks ovulatör olarak tanımlayamayacağımız evcil kedilerde ovulasyon bazen erkek kedi yokluğunda da gerçekleşebilir (Pelican ve ark., 2007, Gudermuth ve ark, 1997, Noakes ve ark., 2001 pp.37-39). Vulvada bulunan reseptörlere benzer reseptörler aynı zamanda lumbar bölge çevresinde ve arka bacaklarda da bulunmaktadır ve dişi kedinin diğer dişi kediler veya kastre erkek kediler tarafından aşılmaya çalışılmasıyla veya sadece bu bölge civarındaki bir okşanmayla bile bu reseptörler uyarılabilirler (Noakes, 2001 pp.37-39). Spontan ovulasyonun grup halinde barındırılan kedilerde dişi dişiye uyarımlardan meydana geldiği hipotez edilse de, evde tek bulunan kedilerde de spontan ovulasyonun oldukça yüksek oranlarda oluştuğu bildirilmiştir (Pelican ve ark., 2007). Gudermuth ve arkadaşları (1997), grup halinde barındırılan bir yaşındaki dişi kedilerde (n=15) spontan ovulasyonun insidensini araştırmış, serum ve fekal örneklerdeki progesteron artışının tespitiyle dört buçuk ayı aşan bir sürede kedilerin %87'sinde spontan ovulasyon olduğunu saptamışlardır. Çalışmanın son 1,5 ayında ayrı bir kafes içerisinde erkek kedinin ortama konması ise 10 günlük bir periyotta spontan ovulasyon oranını %0-%22'den, %33-%57'ye çıkarmıştır. Sonuç olarak erkek kedinin çiftleşme olmadan da belirgin bir spontan ovulasyon oluşturucu etkisi olduğu kanaatine varmışlardır.

Ovulasyon oluşturacak LH salınımı üzerine çiftleşme sayısının etkisi:

Östrustaki bir kedi çiftleştirildiğinde 10 dakika içerisinde hipofizden LH salınımı olur. Çiftleşmeye bir yanıt olarak LH salınım miktarı şu sebeplerden dolayı değişir;

1. Çiftleşmenin meydana geldiği folliküler fazın kaçıncı gününde olunulduğu,

2. Koital temas sayısı ve
3. Koital temas sıklığı.

Östrusun ilk gününde iki veya üç kere çiftleşen kediler ovulasyon oluşturacak yeterli LH salınımı göstermeyebilirler. Hipofizden salınacak LH miktarı, ovulasyon meydana getirebilmek için yetersiz kalabilir. Östrusun üçüncü gününde sadece bir kez çiftleşmelerine izin verilen kedilerde ovulasyon sadece %50 civarındadır. Öte yandan, östrusun üçüncü gününde dört veya daha fazla sayıda çiftleşmesine izin verilen hayvanlarda genellikle ovulasyon oluşturabilecek kadar LH salınımı olmaktadır. Fakat ovulasyon oluşturabilmek için gerekli olan en uygun çiftleşme sıklığı henüz belirlenememiştir (Schmidt ve ark., 1983, Banks, 1986 pp.795-801).

Çiftleşme sonrası LH salınımı oldukça değişkenlik göstermektedir. Bazı LH profilleri kısa süreli ani bir çıkış gösterirken, diğer bazıları uzun süreli bir salınım gösterir. Bu durum kedinin içinde bulunduğu folliküler fazın evresiyle östrus davranışlarının ortaya çıkması arasında yetersiz bir bağlantı olmasından kaynaklanır. Bazı kediler folliküler fazın ilk gününde kızgınlık gösterirken, diğerleri ikinci, üçüncü, hatta dördüncü güne kadar kızgınlık semptomları göstermeyebilir. Eğer bir kedi folliküler fazın erken döneminde östrus gösterirse, hipofiz bu dönemde yetersiz kalıp ovulasyon oluşturacak miktarda LH salınımı yapamayabilir. Çiftleşmelerin bir saat içerisinde toplanması çiftleşmeden sonra en erken 25 saat içerisinde ovulasyona sebep olabilirken daha fazla süreye yayılmış daha az çiftleşme sayısı ovulasyonun gecikmesine sebep olabilir (Concannon ve ark., 1980, Banks, 1986 pp.795-801).

Hipofizden LH salınımı ovulasyonun uyarılmasına ek olarak, korpus luteum oluşumunu ve progesteron salınımını da uyarır. Çiftleşmenin ardından 5. veya 6. günlerde yükselmiş olan progesteron düzeyi ovulasyonun olduğunun göstergesidir. LH'nın follikül rupturunu sağlayan mekanizmayla, LH'nın lüteinizasyona sebep olan ve progesteron sekresyonunu başlatan mekanizma arasında fark bulunmaktadır (Banks, 1986 pp.795-801).

Koital temasın östrus süresi üzerine etkisi: Lüteinizan hormon salınımını artıran faktörlerin seksüel davranışları kontrol eden merkezleri de etkilediği hipotez edilmektedir. Vaginal bir stimülasyon, spinal afferent sinir yollarıyla hipotalamusa gelir ve burada hormonal (GnRH) bir sinyale dönüştürülür. Çiftleşmenin ardından GnRH salınımı seksüel kabul edilebilirliği artırabilir veya süresini uzatabilir. Koital temas,

ovulasyon olsa bile dişi kedinin hemen östrustan çıkmasına sebep olmazken, dişinin çifleşmeye izin verdiği dönemin de kısalmasına neden olmaz (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Östrusun ortaya çıkışında mizacın etkisi: Davranışsal östrusun olmayışı veya östrus davranışlarının oldukça uzun sürmesi "normal" folliküler faza sahip sağlıklı kedilerde gözlemlenebilmektedir. Plazma hormon (östrojen) düzeylerine bakılarak tahmin edilen zamanlarda östrus davranışlarının ortaya çıkmayışı, ürkek ve sosyal skala içerisinde düşük bir yeri olan dişi kedilerde görülebilir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Aynı zamanda ürkek bir kedi yeni bir ortama konulduğu zamanda östrusta olduğu vaginal sitoloji ve ösrtojen seviyeleriyle belirlenmiş olsa bile östrus davranışları göstermeyebilir. Bazı dişi kediler de sadece erkek kedilerin varlığında östrus davranışları gösterebilirler. Bu yüzden izole edilmiş, yalnız bırakılmış bir kedi farkedilemeyen bir östrus dönemine girebilir (Banks, 1986 pp.795-801). Bu dişileri basit olarak anormal olarak tanımlamak oldukça güçtür. Bir sezon boyunca davranışsal östrus göstermeyen pek çok kedi takip eden dönemlerde normal östrus davranışları gösterebilir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Uzayan östrus davranışları ise sonradan normal veya fertil olduğu gösterilen dişi kedilerde nadiren de olsa görülebilen bir diğer davranış şeklidir. Bazı durumlarda uzayan östrus, olgunlaşan folliküllerden kaynaklanan dalgalanmaların üst üste gelmesi ve bu sebeple artan plazma östrojen konsantrasyonlarına sürekli maruz kalmalar sonucunda ortaya çıkabilir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Ovaryumlardaki düzenli siklik fonksiyona rağmen üç hafta veya daha fazla süren süreğen östruslar meydana gelebilir. Bu durumda dişi kedi sürekli seksüel olarak çiftleşmeye izin verse de, hormon analizleri birbirinden farklı folliküler gelişme ve gerilemelere bağlı dalgalanmaların olduğunu göstermektedir (Banks, 1986 pp.795-801). Bu kedilerin östrojen konsantrasyonları, daha tipik, tekrarlanan seksüel davranış kalıpları gösteren dişi kedilerden ayırt edilemez. Kedi topluluğu içinde düşük bir yüzdeye sahip bu tip kedilerin plazma östrojen konsantrasyonlarıyla seksüel davranışları arasında koordinasyon olmayışının sebebi günümüzde halen açıklanamamıştır (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

İnteröstrus:

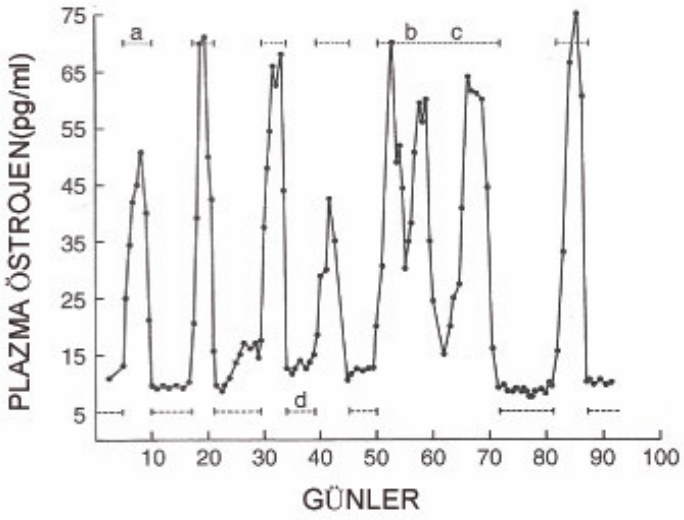
Tanımı: Kediler poliöstrik hayvanlardır ve ovarien aktivite sezonu boyunca tekrarlayan östruslar gösterirler (Concannon ve ark., 1989, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Folliküler fonksiyon dalgalarıyla alakalı olan seksüel aktivite fazı, kısa süren seksüel veya reprodüktif inaktivite periyodlarıyla birbirinden ayrılır. Çiftleşmenin veya spontan ovulasyonun olmadığı aktif folliküler dalgalar arasındaki periyodlarda ovaryumların hormonal olarak inaktif olduğu düşünülür ve bu inaktivite dönemleri, interöstrus aralıkları veya interöstrus periyodları olarak adlandırılır (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

İnteröstrus periyodunun süresi ve bu süre içerisinde meydana gelen hormonal değişimler: Çiftleşmenin veya spontan ovulasyonun olmayışı durumunda kızgınlık dönemleri, reprodüktif sezon içerisinde 10-14 günde bir gözlenir (Verstegen, 1998 pp.11-16, Brown, 2006, Long, 2006). Folliküler fonksiyondaki duraklamayı izleyen interöstrus periyodu, plazma östrojen konsantrasyonlarının 20 pg/ml'nin altına ani düşüşüyle karakterizedir. En az iki, en fazla on dokuz, ortalama sekiz-dokuz gün süren interöstrus periyodu esnasında östrojen konsantrasyonu düşük veya bazal seviyede görülür (Banks, 1986 pp.795-801, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). İnteröstrus döneminin süresi ırka, çevresel faktörlere ve diğer dişi kedilerle sosyal etkileşimlere bağlı olarak değişebilir (Pineda, 1989 pp.487-502). Bu dönemde diğer bir ovarien hormon olan progesteron hormonunun seviyesi ovulasyon olmadığı zaman 1 ng/ml'nin altındadır (Banks, 1986 pp.795-801).

Koital temasın etkisi: İnteröstrus periyodunun süresi büyük olasılıkla ovulasyon oluşturamamış olan bir koital temas durumundan etkilenmeyecektir. Çiftleşme olmuş fakat ovulasyon gerçekleşmemiş dişi kedilerdeki interöstrus periyodunun süresi çiftleşmemiş kedilerin interöstrus süresine göre daha kısadır (sekiz güne karşın on gün) (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

İki veya daha fazla folliküler fazdan oluşan östrus: Bazı kediler interöstrus aralığı göstermeyebilir (tipik siklik folliküler fonksiyonun yanında, östrus aktivitesi iki veya daha fazla fazdan oluşabilir) (Şekil 2.7). Bu kediler hormonal bir interöstrus periyodu geçirirler fakat beklenildiği gibi davranışsal bir interöstrusa girmezler. İnteröstrusa tipik bazal plazma östrojen konsantrasyonları 20 pg/ml'nin altında olmasına rağmen östrus davranışları görülür. Bu kedilerin folliküler fazlarındaki östrojen

dalgaları, bir kural olarak, davranışsal interöstrus gösteren normal kedilerinkinden farklı değildir. Öte yandan diğer interöstrusa özgü hormonal ve davranışsal belirtileri göstermeyen kedilerde en düşük östrojen konsantrasyonunun 20 pg/ml'den yüksek kaldığı siklik östrojen dalgalanması gözlenir. Bu sonuncu durumda, interöstrus aralığı olmadan kalıcı östrus davranışını anlamak kolaydır, çünkü dişi kedi sürekli olarak folliküler östrojen sekresyonunun etkisi altındadır (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).



Şekil 2-7: Bir Kedinin Östrus Siklusunda Oluşabilecek Çeşitli Östrojen Sekresyon Modelleri.

Genellikle 2-10 gün süren normal uzunluktaki östrus (a), östrojen konsantrasyonlarının 20 pg/ml'nin altına düşmemesi sonucu iki veya daha fazla folliküler fazdan oluşan östrus (b), interöstrus periyodu görülmeden meydana gelebilen östrus (c), genellikle 3-15 gün süren interöstrus periyodu (d) (Feldman ve Nelson, 2004).

İnteröstrusta davranış biçimi: İnteröstrus periyodu kedinin normal davranışlarına dönüşüyle karakterizedir. Bu dönemde erkeği cezbetmeyen dişi kedi, çiftleşmez ve östrus için tipik olan davranışları göstermez. Sürtünme, yuvarlanma ve miyavlama kaybolur (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Öte yandan bazen kedilerde bu dönemde folliküler dalgaların üst üste gelmesi sonucu östrojen konsantrasyonları düşmeyebilir ve buna bağlı olarak dişi kedi sürekli östrusta gibi

gözükebilir. Bu fenomen genellikle yanlış bir şekilde "nimfomani" veya uzayan östrus olarak adlandırılır (Verstegen, 1998 pp.11-16).

Diöstrus:

Tanımı: Diöstrus progesteron hakimiyetinin olduğu faz olarak tanımlanabilir. Bu dönemde dişi kedi korpus luteum oluşup progesteron salgılanmaya başlamadan önce çiftleşmiş, benzer bir şekilde vaginal stimülasyona uğramış veya spontan ovulasyon geçirmiştir (Wildt ve ark., 1981, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Kedide gebelik oluşmadan da luteal faz meydana gelebilmektedir. Bu durumda ovum steril bir erkekle (vazektomize veya infertil) çiftleşme sonucunda fertilize edilememiştir veya ovulasyonun sun'i olarak (mekanik olarak vaginanın uyarılması, hCG veya LH enjeksiyonları) meydana gelmesi sağlanmıştır (Banks, 1986 pp.795-801). Ovulasyon oluşumundan 24 ile 48 saat içerisinde korpus luteum fonksiyonel hale gelir ve progesteron salgılamaya başlar (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Kedide ovulasyon olduğu fakat gebe olmadığı düşünülürse, bu durumda plazma östrojen konsantrasyonları bazal seviyeye düşerken plazma progesteron seviyeleri artar. Plazma progesteron konsantrasyonunun 1-2 ng/ml'den büyük oluşu diöstrusa işaret eder ve 14-18 gün içerisinde 20 ng/ml'nin üzerine çıkar (Banks, 1986 pp.795-801, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027). Bu dönem süresince üç hafta boyunca progesteron seviyesi gebeliktekiyle benzerdir, fakat 35-40. günler civarında 1 ng/ml'nin altına düşer (Banks, 1986 pp.795-801).

Ovaryumlar ten renginden portakal rengine kadar değişen renklerde birden fazla sert 35-37 gün fonksiyonel kalan korpus luteumlar içerir. Luteal fonksiyonun gerilemeye başlamasıyla, plazma progesteron seviyesi de bazal seviyelere düşer. Dişi kedinin tekrar östrus gösterebilmesi için 35 güne kadar süren bir periyot gerekebilir. Siklik düzendeki bu gecikme bireyler arasında farklılık gösterebilir ve mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Diöstrusta endometriumun kalınlaşmasından ötürü uterus en genişlemiş halindedir. Kornular şişkindir ve serosa altında düzensiz, palpasyonla hissedilebilen, tirbuşon şeklinde şişkinliklere sahiptir. Vagina, vestibulum vagina ve vulva normal görünüştedir (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

Anöstrus:

Tanımı: Anöstrus klinik olarak reprodüktif istrirahat dönemidir. Anöstrustaki kediler artık erkek kedileri cezbetmezler, seksüel davranışlar veya aktif ovarien

foksiyona işaret eden herhangi bir şey göstermezler. İnteröstrustan farklı olarak daha uzun süren anöstrusta, ovaryumlar gerçek bir istirahat halindedir. Anöstrustaki bir kediyle ovariohisterektomi geçirmiş bir kediyi birbirinden ayırt edebilmek oldukça güçtür (Verstegen, 1998 pp.11-16, Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Long, 2006 pp.81-82, Romagnoli, 2006).

Süresi ve mevsime bağlılığı: Anöstrus tipik olarak ekim ayında başlar ve aralık ayının sonunda sona erer (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027, Romagnoli, 2006). Gün ışığının oldukça kısa olduğu (kış sezonu) yerlerde yaşayan veya günde 4-6 saatlik ışığa maruz kalan kedilerde ortaya çıkar (Verstegen, 1998 pp.11-16). Anöstrusa bazı kedilerde veya kedi kolonilerinde yaz ortasında (temmuz-ağustos arası) başladığı ve ocak ayına kadar sürdüğü bildirilmişir. Kediler arasında bireysel faklılıklar oldukça yaygındır. Günlerin kısalmaya başlamasına yaz mevsiminin sıcağı da eklenince anöstrus ortaya çıkabilmektedir. Anöstrus genellikle kışı takip eden dönemde, günlerin uzamaya başlamasıyla sona erer (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1017).

Bu dönemde görülen reprodüktif inaktivitenin sebebi hipofiz bezinden melatonin salgılanmasıdır. Melatonin karanlık saatlerde sekre edilir ve hipotalamustan GnRH salınımını baskılar. Bu yüzden ön hipofizden ovaryumları stimüle edecek gonadotropinler (FSH ve LH) salınamaz (Long, 2006 pp.81-82).

Anöstrusun ortaya çıkışı kedilerin en az on saat süreyle sun'i ışığa (4×4 m odada, 100 watt'a eşit bir lambayla) maruz bırakılmasıyla geciktirilebilir, bu şekilde bazı kediler yıl boyunca siklik aktivite gösterebilirler. Öte yandan bu hayvanlar sun'i ışıklandırmaya rağmen kasım-aralık aylarında yine de anöstrusa girebilirler (Feldman ve Nelson, 2004 pp.1016-1027).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın materyalini 1-5 yaş arasındaki İstanbul ili içerisinde sokaklardan toplanan veya çeşitli sebeplerle sahipleri tarafından terk edilen kısırlaştırılmamış, daha önce normal gebelikler geçirdiği bilinen veya fizyolojik olarak belirli sürelerde kızgınlık göstermiş olduğu çalışma öncesinde kızgınlıklarının takibi yapılarak saptanmış olan 28 adet erişkin dişi kedi (23'ü kısa, 5'i uzun tüylü) oluşturdu. Bu esas materyale ilave olarak, çiftleştirmelerde kullanılmak üzere 3 adet erkek kedi çalışma ortamında bulunduruldu. Kediler implantların takıldığı tarih 07 Ocak 2006'dan yaklaşık sekiz ay önce çalışmanın bulunduğu ortama alındılar.

3.1.2. Bakım Koşulları ve Beslenme Düzeni

Çalışmaya alınan kediler İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalındaki büyük hayvan bokslarının bulunduğu yerde kedi bakımı ve çalışma koşullarının getirdiği düzen dahilinde oluşturulan odada barındırıldılar ve tüm çalışma 12 saat aydınlık-12 saat karanlık bir ortamda gerçekleştirildi. Çalışma başlangıcından itibaren ortamda her zaman bir erkek kedi bulunduruldu. Erkek kedi dişi kedilerin bulunduğu odanın içerisinde telden bir oda oluşturularak buraya konuldu ve bu sayede dişilerden ayrı, fakat dişilerin duyup görebileceği erkek kedinin yaydığı feromonların dişi kediler tarafından algılanması sağlandı.

Fekal numunelerin toplanabilmesi için her kedi haftada iki kere olmak üzere (üç günde bir), 0,5 m^3 hacminde olan metabolik kafeslere alındı. Hayvanların kafes stresini en aza indirmek için kediler numunenin toplanacağı günün önceki akşamında saat 19.15'te kafeslere alındılar.

Çalışma boyunca tüm kediler erişkin kediler için üretilmiş ticari kuru pellet bir mamayla (Tami Ami Adult Cat Food, ANF, USA) *ad libitum* olarak beslendi ve tüketecekleri su her zaman taze olarak hazır bulunduruldu.

Numune alınan günler dışında hayvanların sosyalizasyonları ve fiziksel aktivasyonları için tüm kediler çalışma odasında gün boyunca 14 m^2'lik alan içerisinde serbest bırakıldılar.

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırma Gruplarının Oluşturulması

Toplanan kedilerin, ilk önce kısır olup olmadıklarının belirlenebilmesi açısından laparatomi yapılabilecek olan bölgeleri traş edilerek ensizyon izi arandı. Bu şekilde ensizyon izine sahip olan kediler direkt olarak bulundukları bölgelere bırakıldılar. Yine çalışma için engel teşkil edebilecek bir unsur olan gebelik durumu ise öncelikle abdominal palpasyon daha sonra ultrasonografi yöntemiyle tespit edilmeye çalışılarak, gebelik (+) bulunan kediler çalışmaya dahil edilmediler.

Tüm bu sayılan unsurlardan arı olan kediler, karantina odasında yaklaşık 1,5-2 ay kadar bulundurulduktan sonra, çalışma ortamına alındılar ve burada da çalışma öncesinde ortalama 8 ay kadar bulundurulduktan ve östrus takipleri yapıldıktan sonra çalışmaya dahil edildiler.

Çalışmaya dahil edilen hayvanlar rastgele olarak üç gruba ayrıldı. Gruplar çalışmanın amaçladığı değerlere ulaşabilmek maksadıyla iki deney grubu ve bir kontrol grubu olarak belirlendi. Oluşturulan gruplardan Grup 1'deki kedilere (n=14) 9,5 mg deslorelin implantı uygulandı, implantın uygulanmasından sonra görülebilen östrus indüksiyonu safhasında fiziksel olarak östrus gösteren kedilerin çiftleşmelerine izin verildi. Grup 2'deki kedilere (n=7) implantasyondan sonra oluşabilecek östrusları baskılamak amacıyla deslorelin implantının uygulanmasının iki hafta öncesinde başlanarak, implantasyondan iki hafta sonrasına kadar iki haftada bir olmak üzere 5mg/kedi dozunda megesterol asetat oral olarak verildi. Grup 3'teki kediler (n=7) ise kontrol grubu olarak ayrıldı ve plasebo implant uygulandı.

3.2.2. Çalışmanın Hazırlık Dönemi

Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanlar ilk önce karantina odasına alınarak buradayken tüm antiparaziter ilaçlamaları ve aşılamaları yapıldı. Bu amaçla kedilere endoparaziter invazyonun yok edilmesi ve ilaçların birbirlerini antagonize etmemeleri için belirli aralıklarda antihelmentik ilaç kombinasyonu (Helmipar şurup; piperazin, Saba İlaç Sanayii, Türkiye, Kontil süspansiyon; pirantel pomat, Hüsnü Arsan İlaçları A.Ş., Türkiye, Anipracit enjektabl; prazikuantel, Bavet, Türkiye) uygulandı. Bu ilaçlamalara ek olarak dış paraziter invazyona karşı fipronil (Frontline sprey veya spot-on damla, Merial, Lyon, Fransa) uygulaması yapıldı.

Antiparaziter uygulamalardan sonra tüm hayvanlar aşı prosedürüne uygun olarak feline rhinotracheitis, calicivirus ve panleukopeni enfeksiyonlarına karşı (Tricat, İntervet) ve kuduza karşı (Rabies, İntervet) aşılandılar.

Çalışma odasında deney koşullarının sağlanabilmesi amacıyla ortam aydınlatması sabah saat 07.30'da açılmak, akşam saat 19.30'da kapanmak üzere 12 saat aydınlık-12 saat karanlık olacak şekilde bir zaman saati vasıtasıyla ayarlandı. Aydınlatmada yerden 2 m 20 cm yüksekte olacak şekilde yerleştirilen floresan lambalar kullanıldı (Philips daylight, Polonya).

Yine deney odasının belli bir ısıda kalmasını sağlamak üzere tavan ısıtıcılarından yararlanıldı ve bu ısıtıcılar bir termostata bağlandı (ortam sıcaklığı ~ 15-17°C). Odanın havalandırılmasını sağlamak amacıyla tavana bir aspiratör takıldı. Çalışma odasının tümü 16 m² olmakla beraber (4m×4m), numune alım günlerinin dışında hayvanların serbestçe dolaşabilmeleri için oda bir tel vasıtasıyla 14 m² ve 2 m² olmak üzere ikiye bölündü ve bu 2 m²'lik alanda erkek kedi bulundurularak dişi kedilerin erkeği görmesi ve teması sağlandı. Ancak tüm aşılamaları biten hayvanlar özel olarak hazırlanmış bu odaya konuldular.

3.2.3. Çalışma Dönemi

Östrus takipleri yapılmış olan kedilerden implantasyonun yapılmasından üç hafta öncesinden başlanarak haftada iki kere olmak üzere fekal numuneler toplanmaya başlandı. Grup 1'deki (n=14) kedilere 9,5 mg'lık deslorelin implantı (Suprelorin, Peptech Animal Health, Avustralya), Grup 2'deki kedilere (n=7) 9,5 mg'lık deslorelin implantı (Suprelorin, Peptech Animal Health, Avustralya) ve 5 mg/kedi dozunda oral olarak megestrol asetat komprime (Derma-Chat, Novartis Sante Animale S.A.S., Rueil-Malmaison, Fransa), Grup 3'teki kedilere (n=7) ise plasebo implant (Placebo implant, Peptech Animal Health, Avustralya) uygulandı. Grup 2'deki kedilere megestrol asetat deslorelin implantasyonundan iki hafta önce, implantasyondan 18 saat önce ve implantasyondan iki hafta sonra verildi. İmplantasyonlardan önce 14 saat aç bırakılan kedilerin hiçbiri implantların yerleştirilmesi esnasında anestezi altına alınmadı, fakat çoğunun sedasyonuna ihtiyaç duyuldu. Yirmibeş kedi 2,3 mg/kg IM dozunda ksilazin hidroklorid (Alfazyne; Egevet, Türkiye) ile sedasyona alındı, üç kedide ise sedasyona ihtiyaç duyulmadı. İmplantın uygulanacağı bölge olarak önceden tespit edilen interskapular bölgenin biraz kraniyali, implantasyon öncesinde traş edilip povidon iyot

solüsyonuyla antisepsisi yapıldıktan sonra, alkolle silinerek implantasyona hazır hale getirildi. Tüm implantasyonlar aynı gün subkutan olarak yapıldı (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2). İmplantasyonların yapıldığı gün kediler ayrı olarak kafeslere alındı ve sedasyondan çıkmaları beklendi. Sedasyonu nötralize etmek için başka bir ilaç kullanılmadı. İmplantasyonlardan sonra kedilerden haftada iki kere olmak üzere fekal numuneler alınmaya devam edildi ve toplanan numuneler ekstraksiyon işlemine kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

Deslorelin implantasyonundan iki gün sonra davranışsal östrus gösteren iki kedi (#1, #18) kedilere özgü davranış kalıpları doğrultusunda dönüşümlü olarak üç erkek kediyle de *ad libitum* olarak östrus süreleri boyunca dokuz ve on gün süreyle çiftleştirildi (Şekil 3.3, Şekil 3.4). Çiftleştirmelerden bir ay sonra abdominal palpasyonla ve ultrasonografiyle gebelik muayeneleri yapıldı. Deslorelin implantasyonundan 3,5 ay sonra östrus gösteren kedi (#14), erkek kedinin yanına iki gün süreyle çiftleşmesi için bırakıldı.

3.2.3.1. Östrus Davranışlarının Gözlenmesi

Çalışma dönemince 28 kedinin östrus belirtileri her gün kedilerin populasyon içerisinde gözlenmesiyle, üç günde bir ise manuel olarak kedilerde arka bacakların ve vulvanın uyarılması, sırtın ve lumbar bölgenin okşanmasıyla tespit edildi (Silva ve ark., 2006). Erkek kedinin dişi kedilerle aynı odada bulunmasından dolayı östrusta olan dişilerin erkeğe ilgi göstermesi ve erkeğin önünde çiftleşme pozisyonu almaları ve de östrustaki dişi kedilerin diğer ovarien aktivite gösteren dişi kediler tarafından aşılmaya çalışılması da östrusların tespiti esnasında göz önünde bulunduruldu. Elle yapılan muayene öncesinde kedilerin strese girmemeleri için ürkütülmemesine özen gösterildi, muayene için zorla yakalanmaya çalışılmadılar ve muayene esnasında bulunduruldukları ortamın dışına çıkarılmadılar. Östrus gözlemleri esnasında kuyruğu yana alma, lordoz pozisyonu gösterme, değişik objelere sürtünme, yerde yuvarlanma hareketleri yapma, aşırı miyavlama, aşırı ve sık sık ürinasyon, vaginada nemlilik veya ele alınma esnasında sinirlenme, memnuniyetsizlik ve kaçmaya çalışma gibi davranışlar doğrultusunda değerlendirmeler yapıldı (Michel, 1993, Roth ve ark., 1995, Silva ve ark., 2006).

Her gün yapılan genel gözlemlerin yanında on sekiz ay üç haftalık çalışma süresince her bir kedi için 197 östrus muayenesi yapıldı. Östrus belirtilerinden tüm

östrus gösteren kedilerde en belirgin ve kolay olarak belirlenebilen kuyruğu yana alma, lordoz, aşırı miyavlama ve değişik objelere sürtünme gibi klasik östrus belirtileri manuel olarak yapılan muayenelerde değerlendirilerek, kediler bu belirtiler yönünden 0 (yok), 0,5 (şüpheli veya azalmış aktivite), 1 (belirgin aktivite) olarak puanlamaya tabi tutuldu. Sayılan belirtilerin olmayışı ve muayeneler esnasında hayvanların rahatsızlanmaları, tırmalamaları ve kaçmaya çalışmaları seksüel aktivitenin yokluğu şeklinde değerlendirildi.

3.2.3.2. Fekal Numunelerin Toplanması ve Ekstraksiyonu

Fekal numuneler deslorelin implantasyonundan üç hafta öncesinden başlayarak çalışma bitinceye kadar haftada iki kere olmak üzere çalışma boyunca toplanıldı.

Fekal numunelerin toplanabilmesi amacıyla kediler her biri 0,5 m³ olan metabolik kafeslere alındılar (Pelican ve ark., 2005). Numune alımı için akşamları ışıklar kapanmadan önce kafeslere alınan kedilerin kafes stresini en aza indirebilmek için kafeslerde her zaman su ve bir miktar mama hazır bulunduruldu, kafeslere feçesle bulaşmayı önlemek için kum konulmadı (Şekil 3.5).

Numuneler defekasyondan mümkün olduğu kadar kısa süre sonra alınmaya çalışıldı. Genellikle sabah kafes muayenesinde tespit edilerek toplanan numuneler, defekasyon olmamışsa kedilerin gün içerisinde sürekli gözlemlenmesiyle kafeste veya kedi kafes stresi yaşıyor ve dışkısını kafese yapmıyorsa o gün sebest bırakılarak kuma defekasyonu esnasında numunelerin toplanması sağlandı.

Toplanan numuneler üzerinde numunenin alındığı tarih ve kedilerin isimlerinin yazılı olduğu 6×7 cm ebadında mini plastik kilitlenebilir poşetlere 5 g'dan az olmamak üzere alındı ve ekstraksiyon işlemine kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.2.3.3. Ekstraksiyon İşlemi

Ekstraksiyon işlemi öncesinde gün içerisinde çalışılacak numuneleri eritmek için derin dondurucudan çıkartılan numuneler oda sıcaklığında (genellikle 17-20°C) 4-6 saat kadar bekletildi.

Numunelerin homojenizasyonunun sağlanabilmesi ve feçes içerisindeki tüy yumağı gibi yabancı cisimlerin uzaklaştırılabilmesi için kedilerin numaralarının ve isimlerinin yazılı olduğu 28 bölmeye sahip muşambadan bir örtü hazırlandı. Çalışılacak numuneler bu zemin üzerinde parmak uçlarıyla üzerine bastırarak veya metal bir çubuk

yardımıyla ezilerek karıştırıldı ve tüy yumaklarından temizlendi. Hazır hale gelen homojen numunelerden bir miktar alınarak hassas terazide (maks. 6200 g, min. 0,5 g, Precisa Instruments, İsviçre) 0,6 g tartıldı ve bu miktar 12×75 mm'lik polisteran tüplere aktarıldı. Tüp üzerine 2 ml %90'lık metanol (Gradient grade methanol, Merck, Almanya) eklenerek, tüpün ağzı kapatıldı ve kısa bir süre dışkıyla metanolün karışımını sağlamak amacıyla seri hareketlerle çalkalandı. Tüm numunelerde aynı işlemler yapıldıktan sonra, numuneler multivortekse (Multi-Vortex V-32, Biosan, Almanya) yerleştirilerek 30 dakika süreyle 2500 devirde vortekslenmeleri sağlandı. Vorteksleme işlemi bittikten sonra numuneler santrifüje (Labofuge 500, Almanya) aktarılarak 2000 rpm'de 20 dakika santrifüje edildi (Rolland ve ark., 2005) Santrifüj işleminden sonra çöken partiküllerin üzerinde kalan sıvının 1000 µl'si pipetlenerek üzerinde numune alım tarihi ve kedi numarasının yazılı olduğu eppendorflara aktarıldı ve üzerlerine 1000 µl phosphate buffer saline (PBS tablets, Sigma-Aldrich, Almanya) eklenerek derin dondurucuda RIA analiz işlemlerine kadar bekletildi (Şekil 3.6).

3.2.3.4. RIA Analizleri

Fekal ekstrakt içerisindeki östradiol seviyesinin belirlenebilmesi amacıyla radioimmunoassay yönteminden yararlanıldı. Fekal östradiol konsantrasyonları, tavşanlarda östradiole karşı üretilmiş poliklonal antikorların sığır serum albumin tamponu (BSA) ile tamponlanmış serumu kullanılarak hazırlanmış I^{125} işaretli ticari östradiol kiti (Ultra-Sensitive Estradiol RIA, Diagnostic System Laboratories, USA) ile belirlendi. Analiz hassasiyeti 2,2-750 pg/ml arasındaydı, intra- ve inter-assay variyasyon katsayısı ise %10'dan küçüktü. Ölçümler Genesys gamma counter cihazıyla (Genesis LTi., USA) her tüp için 1 dakika süreyle yapıldı.

3.2.3.5. Ovariyohisterektomi ile Reprodüktif Organların Elde Edilmesi, Morfolojik Muayenesi, Tartımı ve Histolojik Doku Takibi İçin İşlenmesi

Çalışma süresi sonunda tüm gruplardaki kedilere ovariyohisterektomi operasyonu uygulandı. Bunun için operasyon öncesinde vücut ağırlığı tespit edilen kediler önce 2,3 mg/kg IM dozunda ksilazin hidroklorid (Alfazyne, Egevet, Türkiye) ile sedasyona, ardından 10 mg/kg IM dozunda ketamin hidroklorid (Alfamine, Egevet, Türkiye) ile genel anesteziye alındılar. Operasyon öncesi v. cephalica antebrachiinin punksiyonu ile 22 G kateter kullanılarak intravenöz kateterizasyon yapıldı ve operasyon süresince kedilerin 100 ml serum izotonik alması sağlandı. Operasyonların tümü median

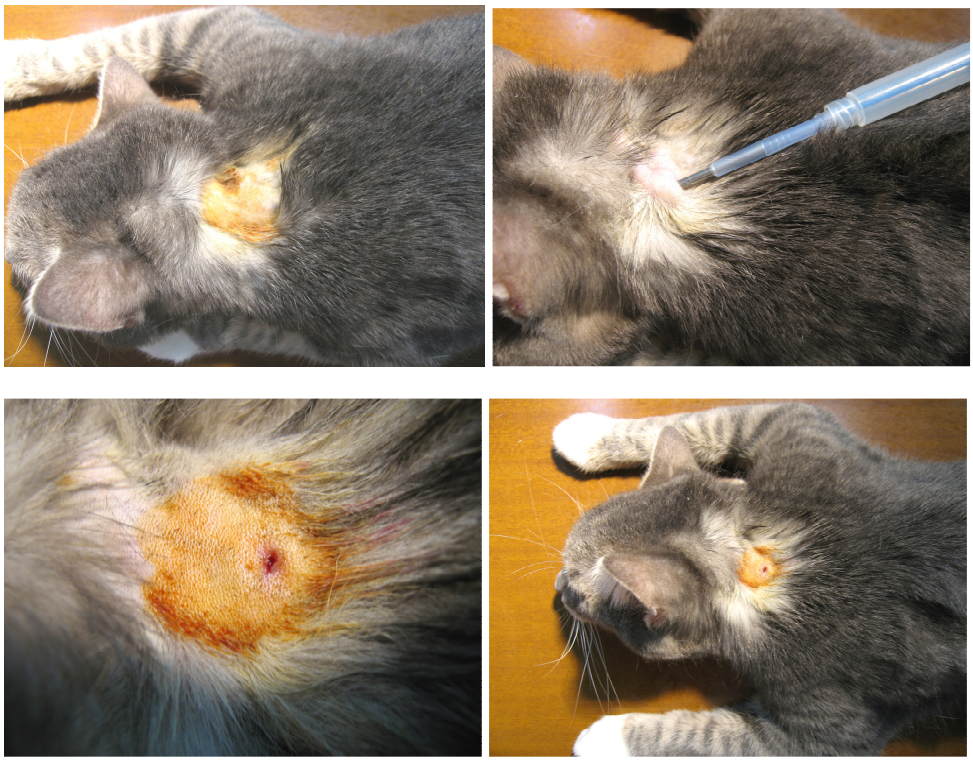
hattan göbek deliğinin biraz gerisinden yapılan ensizyonla gerçekleştirildi. Herhangi bir doku parçası kalmasını önleyebilmek için ovaryumlar ve korpus uteri krome katgütle atılan iki ligatür arasından ligamentlerin ve uterusun kesilmesiyle abdominal boşluktan uzaklaştırıldı. Operasyon sonuna ve tartım işlemine kadar ~30-45 dakika kadar soğuk termosta bekletilen ovaryumlar ve uterus, kabaca ovaryumlardaki folliküler yapılar ve korpus luteumun varlığı, uterus ise kornu uterilerin kalınlığı ve kornu uterilerdeki anormal kalınlaşmalar yönünden değerlendirildi. Morfolojik değerlendirmeden sonra hassas terazide (maks. 6200g, min. 0,5g, Precisa Instruments, İsviçre) tartılan ovaryum ve uterus, %10'luk tamponlanmış histolojik derece formol (Histologic Grade Formol, Sigma-Aldrich, Almanya) içerisinde tespit edildi. Histopatolojik değerlendirmeler için ovaryumların uzun eksenlerinden geçen bir kesitle tüm yarıları, uterusların ise değişik seviyelerden geçen üçer parçaları takibe alındı. Alınan materyal rutin doku takibinden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5-7 μm kalınlığındaki kesitler hematoksilen-eozin yöntemiyle boyanıp ışık mikroskobuyla incelendi. İnceleme sırasında ovaryumlarda ×10 büyütme altında (2,17 mm²) üç alan incelendi. Primordial ve primer foliküller, antral foliküller ve korpus luteumlar sayılarak ortalamaları alındı. Endometriumlarda ise ×20 büyütme altında (0,54 mm²) bez yapıları sayılarak ortalamaları alındı. Endometrial bez ve lümen epitel hücrelerinin yüksekliği ve sitoplazmik vakuolleşme gösterip göstermedikleri ve endometrial bez yapılarının uzunluğu yönünden değerlendirilmeler yapıldı (Chatdarong ve ark., 2005, Roth ve ark., 1995). Sayısal incelemeler "Olympus Soft Imaging System Analysis FIVE" görüntü analiz sistemi kullanılarak yapıldı.

3.2.3.6. İstatistik Analizler

Çeşitli dönemlerde gruplara ait östradiol düzeylerinin ve davranış parametrelerinin karşılaştırılması amacıyla "tek yönlü varyans analizi" uygulanmıştır. Analiz sonuçlarına göre önemlilik bulunması durumunda hangi gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu belirlemek amacıyla "Duncan testi" yapılmıştır ($p<0,001$).

Vücut ağırlığı, ovaryum ve uterus ağırlığı ve ovaryum ve uterusun histolojik özellikleri arasındaki korrelasyonu saptamak amacıyla SPSS program paketinde Pearson korrelasyon metodu uygulanmıştır.

Şekil 3-1: Sol Altta Plasebo İmplant İmplantörü, Sağ Altta Suprelorin İmplantörü.

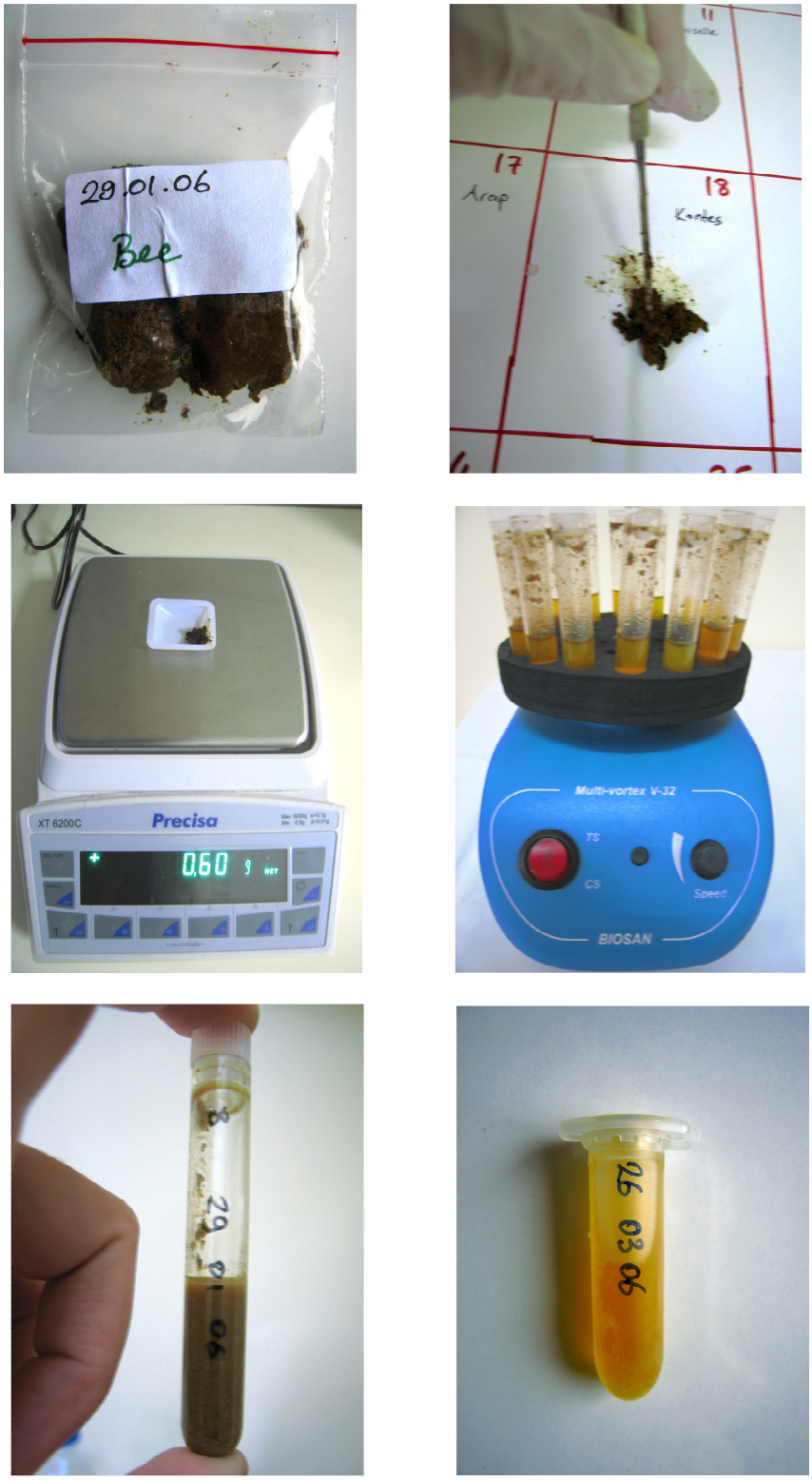


Şekil 3-2: Deslorelin İmplantının Uygulanışı.

Şekil 3-3: Grup 1'de Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Davranışsal Östrus Gösterip Dokuz Gün Süreyle Çiftleştirilen 1 Numaralı Kedi.

Şekil 3-4: Grup 1'de Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Davranışsal Östrus Gösterip On Gün Süreyle Çiftleştirilen 18 Numaralı Kedi.

Şekil 3-5: Fekal Numune Alımı Öncesinde Kedilerin Metabolik Kafeslere Alınması.



Şekil 3-6: Poşetlenmiş Fekal Numunenin Metal Bir Çubuk Yardımıyla Karıştırılarak Homojenizasyonu ve Yabancı Cisimlerin Uzaklaştırılması, Numunenin Tartımı, Vortekslenmesi ve En Son Santrifüj Edilerek Ekstraktın Elde Edilmesi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Bulgular

Grup 1'deki 1 ve 18 numaralı kediler implantasyon uygulamasından 2-3 gün sonra östrus göstermiş ve bu kedilerin kedilere özgü normal seksüel davranış kalıpları doğrultusunda gün içerisinde dönüşümlü olarak üç erkek kediylede kızgınlıkları bitene kadar on gün süreyle *ad libitum* çiftleşmeleri sağlanmıştır. Çiftleştirmeler sonlandıktan bir ay sonra abdominal palpasyon ve ultrasonografiyle gebelik muayeneleri yapılmış ve gebelik (-) bulunmuştur. Takip eden haftanın sonunda kedilere ikinci kere ultrasonografiyle bakılmış, yine gebeliğe dair bir bulgu bulunamamış ve sonuç gebelik (-) olarak değerlendirilmiştir. Çiftleştirmelerden sonra gebeliğin bulunduğuna dair belirtiler (meme hiperplazisi ve süt sekresyonu, karında büyüme ve gerginlik, belirgin kilo artışı, huyun yumuşaması gibi) gözlenmemiş, yine bu süre zarfında vaginadan gelen herhangi bir akıntı görülmemiştir.

Grup 1 ve Grup 2'deki diğer kediler implantasyondan hemen sonra ve tüm çalışma boyunca hiçbir şekilde tam manasıyla davranışsal östrus göstermemişler ve bu nedenle bu kediler erkek kedilerle çiftleştirilememiştir. Grup 1'deki 17 numaralı kedi implantasyondan sonra 1,5-2 ay süresince bazı östrus davranışları göstermiş, fakat bu davranışlar tam olarak östrus olarak değerlendirilmemiştir. Yine Grup 1'deki 14 numaralı kedi implantasyondan üç buçuk ay sonra kuyruğu yana alma, lordoz, sürtünme gibi östrus belirtileri göstermiş ve bunun üzerine çiftleşmesi için iki gün erkek kedinin yanına konmuş fakat çiftleşme gerçekleşmemiştir. Kedinin yeniden muayenesi yapılmış, ikinci muayenede östrus belirtilerinin hemen hemen hiç olmadığı, sadece bir miktar sevilmeye karşı ilgisinin normale göre fazla olduğu görülmüştür ve bu belirti de çok kısa süre içerisinde kaybolmuştur.

Grup 3'teki kediler tüm çalışma boyunca normal siklik aktiviteye sahiptiler ve östrus fazları esnasında östrus semptomlarının tüm belirtilerini (aşırı miyavlama, yuvarlanma, sürtünme, lordoz ve kuyruğu yana alma gibi) göstermişlerdir.

Grup 2'deki 20 numaralı kedi deslorelin implantasyonundan bir ay sonra, üçüncü megestrol asetat uygulamasından ise yaklaşık olarak iki hafta sonra hayali gebelik benzeri belirtiler göstermiş, diğer gruplardan dört kediyi yavrusu olarak sahiplenmiş ve bu kedileri bir hafta kadar emzirmiştir. Bu süre zarfında yine kendi

yavrularını diğer kedilerden korumuş, onları sürekli taşımaya çalışmış ve yavrularından ayrıldığında ise huzursuzlanmış ve yüksek sesle miyavlayarak yavrularını aramıştır. Yapılan meme muayenesinde memelerin oldukça hiperplazik olduğu ve masajla süt geldiği görülmüştür. Bu olayı sonlandırmak için diğer kedilerden bir süre sonra ayrılmış ve bir aydan fazla süreyle tek olarak bir kafeste tutulmuştur. Sütü geriletmek için herhangi bir medikasyona ihtiyaç duyulmamıştır.

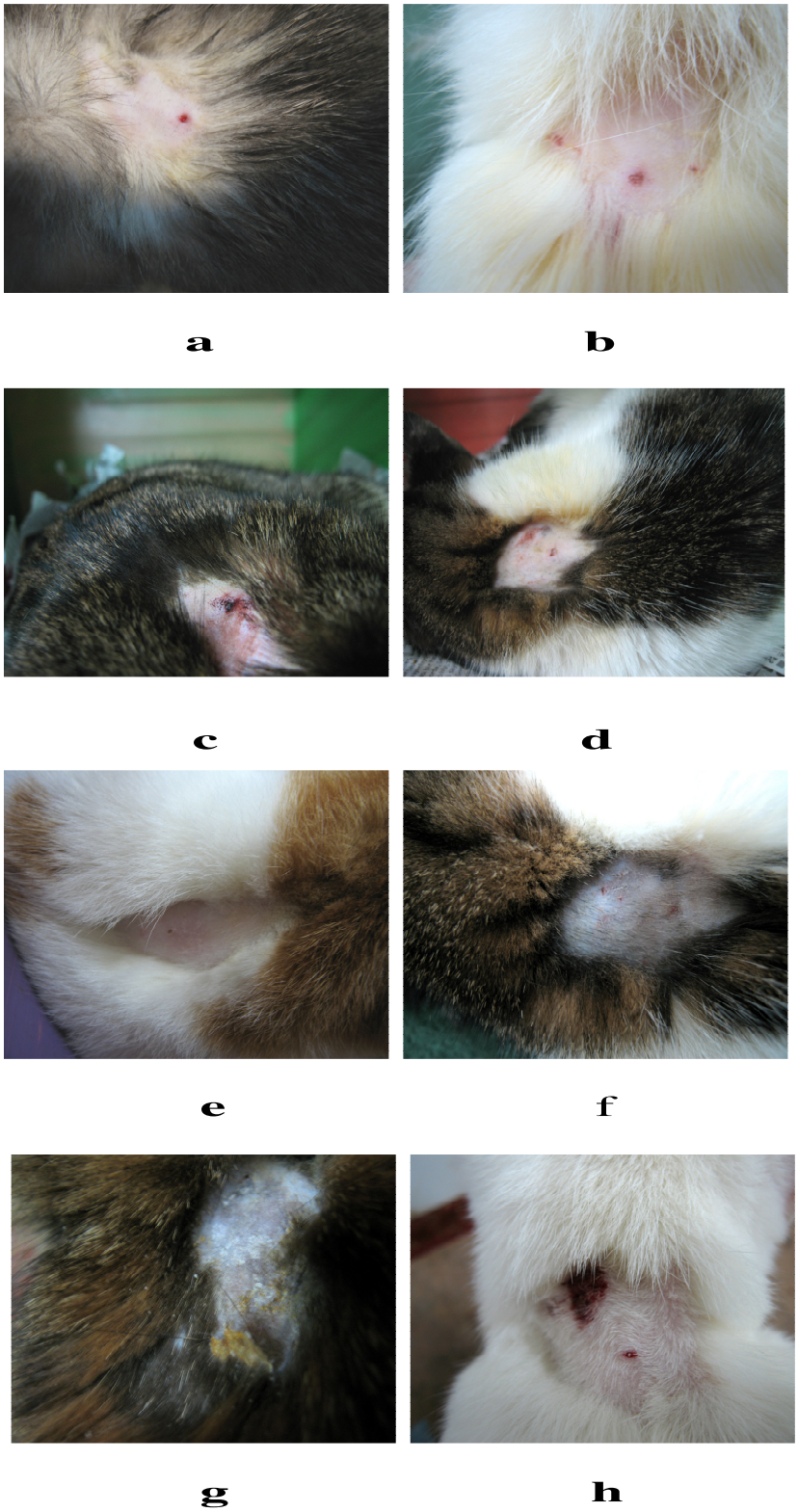
Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerin Grup 3'teki kedilere göre çalışma süresince daha az aktif oldukları ve çalışma sonunda çoğu kedinin belirgin olarak kilo aldığı fark edilmiştir. Grup 3'te, kediler arasında çalışma süresince ve/veya bitiminde belirgin bir kilo değişimi olmamıştır.

4.2. İmplantasyon Sahasındaki Değişimler

İmplantasyon sahasında implantasyonların hemen akabinde implant kanülü bir delik oluşturmuş (Şekil 4.1; a), çoğu kedide hemoraji gözlenmezken bazı kedilerde buradan hafif kapiller hemoraji meydana gelmiştir. Kanülün oluşturduğu bu delik 12-24 saat içerisinde yapışarak kapanmıştır (Şekil 4.1; b, d). Hemoraji olan kedilerde implantasyondan bir gün sonra yapılan kontrollerde implantasyon deliğindeki kanın kuruyarak deliği kapattığı görülmüştür (Şekil 4.1; c).

Bazı kedilerde implant kanülünün travması sonucu implantasyon sahasında bir gün gibi kısa sürede gerileyen çok hafif ödem gözlenmiştir. Genel olarak tüm kediler dermatolojik yönden implantasyonu iyi tolere etmişler ve implantasyon sahasında ödematöz şişkinlik, enfeksiyona bağlı yara şekillenmesi ve benzeri bir durum gözlenmemiştir. Uygulamadan on gün sonra yapılan muayenelerde implantasyon deliği izinin çoğu kedide tamamen kaybolduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1; e, f). Ancak uygulamadan 10 gün kadar sonra bir kedide kaşımaya bağlı olarak traş edilen bölgede eroziv yara, iki kedide ise deride pullanma görülmüştür (Şekil 4.1; g, h).

İmplantasyonlardan sonra tüm hayvanlarda deri altında sert ve elastikiyetsiz olarak hissedilen deslorelin implantı, çalışma sonunda tamamen kaybolmuştur veya palpasyonla hissedilemiyecek derecede küçülmüştür.



Şekil 4-1: İmplantasyon Sahasındaki Değişimler.

İmplantasyondan hemen sonra (a), implantasyondan bir gün sonra (b, c, d), implantasyondan on gün sonra implantasyon sahasının görünümü (e, f, g, h).

4.2.1. Fekal Östradiol Değerleri

Çalışma boyunca toplanan fekal numunelerin analizi sonucu, deslorelin implantı uygulaması öncesi tüm gruplar arasında fekal östradiol seviyelerinde istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır.

Grup 2'de 1. MA uygulamasından on gün önce 643,03±68,98, yedi gün önce 418,37±141,13, üç gün önce 291,68±89,8 olan fekal östradiol ortalaması, uygulamadan bir gün sonra 29,67±24,26 olarak bulunmuştur. İlk MA uygulamasından sekiz gün sonra 221,64±119,27 değerlerine yükselen östradiol, on birinci günde 415,89±104,47 değerlerine ulaşmıştır. Grup 2'de ilk MA uygulamasından on dört gün sonra yapılan ikinci MA uygulamasından ve deslorelin implantasyonundan sonraki gün 634,11±93,9 olarak bulunan östradiol gruplar arasında farklılık göstermiş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Grup 2'deki MA uygulamalarından sonraki fekal östradiol değerlerinin Grup 1 ve Grup 3'deki değerlerle karşılaştırması ve aralarındaki önemlilik kontrolleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Megestrol Asetat Uygulama Döneminde Gruplar Arasındaki Fekal Östradiol Düzeyleri ve Önemlilik Kontrolleri.

Fekal Östradiol (ng/g)	**Grup 1 (n=14)**	**Grup 2(n=7)**	**Grup 3 (n=7)**	**F**
	Ort.±s.h.	Ort.±s.h.	Ort.±s.h.	
1. MA uygulamasından bir gün sonra	368,08±101,23	29,67±24,26	235,92±129,3	2,587 ö.d.
2. MA uygulamasından bir gün sonra	863,74^{a}±19,68	634,11^{b}±93,9	840^{a}±25,88	6,949**
2. MA uygulamasından dört gün sonra	628,44±99,99	592,29±118,77	494,43±146,68	0,339 ö.d.
3. MA uygulamasından on gün sonra	113,72^{b}±32,11	56,16^{b}±7,48	395,13^{a}±108,8	8,91**

Ort. ortalama, s.h. standart hatayı ifade etmektedir.

ö.d.: Aynı satırda yer alan ortalamalar arasındaki farklılık önemli değildir ($p>0,05$).

a, b: Aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (**=$p<0,01$).

Deslorelin implantasyonundan sonra Grup 2'deki bir kedi hariç tüm kedilerde fekal östradiol seviyeleri bir gün içerisinde pik seviyeye ulaşmış ve implantasyondan yaklaşık bir hafta sonrasına kadar yüksek seviyelerde kalmıştır. İmplantasyon sonrası çalışma dönemi süresince fekal östradiol düzeyleri genel olarak Grup 3'te, Grup 1 ve Grup 2'ye göre oldukça yüksek seyrederken, bu farklılık sadece bazı dönemlerde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Tablo 4.2).

Tablo 4-2: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Gruplar Arasında Fekal Östradiol Seviyelerinin Farklılık Gösterdiği Günler ve Önem Kontrolleri.

Fekal Östradiol (ng/g)	Grup 1 (n=14)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	F
	Ort.±s.h.	Ort.±s.h.	Ort.±s.h.	
1. Gün	863,74^{a}±19,68	634,11^{b}±93,9	840^{a}±25,88	6,949**
24. Gün	113,72^{b}±32,11	56,16^{b}±7,48	395,13^{a}±108,8	8,910**
27. Gün	178,22^{b}±58,49	54,70^{b}±9,64	415,66^{a}±121,4	4,805*
36. Gün	103,26^{b}±43,8	38,51^{b}±7,95	299,82^{a}±104,55	4,153*
45. Gün	145,73^{b}±44,96	77,55^{b}±13,39	539,1^{a}±156,48	8,287**
48. Gün	208,61^{b}±80,4	104,43^{b}±26,8	534,89^{a}±172,24	3,745*
52. Gün	149,6^{b}±86,06	13,07^{b}±11,35	636,79^{a}±123,11	9,904***
55. Gün	42,21^{b}±4,75	41,06^{b}±5,34	293,56^{a}±115,74	7,321**
83. Gün	74,20^{b}±36,84	82,36^{b}±20,19	326,99^{a}±128,12	4,308*
87. Gün	53,77^{b}±12,68	48,06^{b}±7,08	374,13^{a}±121,28	10,503***
94. Gün	41,86^{b}±6,11	43,87^{b}±7,89	159,42^{a}±71,38	4,014*
101. Gün	55,74^{b}±23,86	38,01^{b}±4,54	404,2^{a}±175,37	5,916**
112. Gün	46,58^{b}±11,76	36,98^{b}±2,78	230,96^{a}±125,02	3,394*
227. Gün	35,7^{b}±3,38	35,41^{b}±3,12	105,97^{a}±27,62	9,411***
245. Gün	11,51^{b}±1,31	21,1^{b}±6,78	30,3^{a}±8,78	3,887*
303. Gün	22,76^{b}±1,65	32,82^{b}±4,08	57,93^{a}±16,82	5,531*
320. Gün	103,87^{b}±41,1	140,74^{b}±51,92	379,26^{a}±137,66	3,799*
331. Gün	26,98^{b}±3,13	32,88^{b}±2,31	54,94^{a}±12,07	5,708**
334. Gün	51,34^{b}±7,38	42,75^{b}±4,23	162,09^{a}±66,67	4,314*
354. Gün	51,02^{b}±9,61	41,67^{b}±4,6	383,82^{a}±132,62	9,796***
358. Gün	38,9^{b}±3,07	37,32^{b}±3,52	309,49^{a}±123,35	7,522**

Tablo 4-2: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Gruplar Arasında Fekal Östradiol Seviyelerinin Farklılık Gösterdiği Günler ve Önem Kontrolleri (Devam).

Fekal Östradiol (ng/g)	Grup 1 (n=14)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	F
	Ort.+s.h.	Ort.+s.h.	Ort.+s.h.	
362. Gün	$39,43^{b}\pm19,57$	$12,55^{b}\pm1,58$	$133,96^{a}\pm48,88$	4,377*
369. Gün	$42,21^{b}\pm4,94$	$42,52^{b}\pm3,35$	$265,47^{a}\pm133,76$	4,321*
387. Gün	$84,03^{b}\pm16,31$	$70,05^{b}\pm7,07$	$398,54^{a}\pm106,75$	12,656***
390. Gün	$73,98^{b}\pm18,51$	$57,36^{b}\pm14,77$	$411,35^{a}\pm98,2$	16,227***
397. Gün	$71,13^{b}\pm22,12$	$34,99^{b}\pm3,84$	$218,09^{a}\pm89,63$	4,063*
401. Gün	$57,46^{b}\pm18,48$	$36,5^{b}\pm4,18$	$234,12^{a}\pm83,01$	6,355**
404. Gün	$75,81^{b}\pm15,3$	$72,52^{b}\pm18,05$	$473,58^{a}\pm133,11$	13,044***
411. Gün	$110,31^{b}\pm60,9$	$40,24^{b}\pm4,38$	$341,12^{a}\pm112,71$	3,743*
418. Gün	$72,61^{b}\pm28,35$	$39,77^{b}\pm4,54$	$249,28^{a}\pm87,55$	5,058*
425. Gün	$46,32^{b}\pm10,56$	$51,07^{b}\pm5,78$	$173,38^{a}\pm79,44$	3,608*
429. Gün	$50,93^{b}\pm13,46$	$68,57^{b}\pm13,52$	$183,56^{a}\pm77,71$	3,645*
432. Gün	$36,67^{b}\pm5,9$	$32,24^{b}\pm2,98$	$153,43^{a}\pm59,96$	5,824**
450. Gün	$58^{b}\pm13,84$	$63,07^{b}\pm9,5$	$440,47^{a}\pm151,69$	9,469***
453. Gün	$116,5^{b}\pm16,61$	$130,18^{b}\pm83,18$	$501,71^{a}\pm123,04$	9,747***
457. Gün	$159,64^{b}\pm59,19$	$76,32^{b}\pm32,32$	$446,48^{a}\pm126,4$	5,102*
460. Gün	$172,55^{b}\pm57,62$	$66,55^{b}\pm19,37$	$622,12^{a}\pm112,98$	13,914***
464. Gün	$135,34^{b}\pm41,58$	$41,18^{b}\pm11,78$	$466,41^{a}\pm98,37$	12,571***
467. Gün	$159,34^{b}\pm49,11$	$95,25^{b}\pm25,03$	$338,82^{a}\pm63,3$	4,557*
485. Gün	$223,92^{b}\pm65,29$	$128,47^{b}\pm43,84$	$595,1^{a}\pm94,33$	9,096**
504. Gün	$148,03^{b}\pm34,54$	$37,47^{b}\pm15,51$	$471,26^{a}\pm125$	10,438***
511. Gün	$81,76^{b}\pm19,76$	$96,51^{b}\pm32,04$	$265,05^{a}\pm46,61$	10,224***
522. Gün	$88,85^{b}\pm18,29$	$104,42^{b}\pm32,08$	$493,62^{a}\pm147,38$	10,324***

Ort. ortalama, s.h. standart hatayı ifade etmektedir.

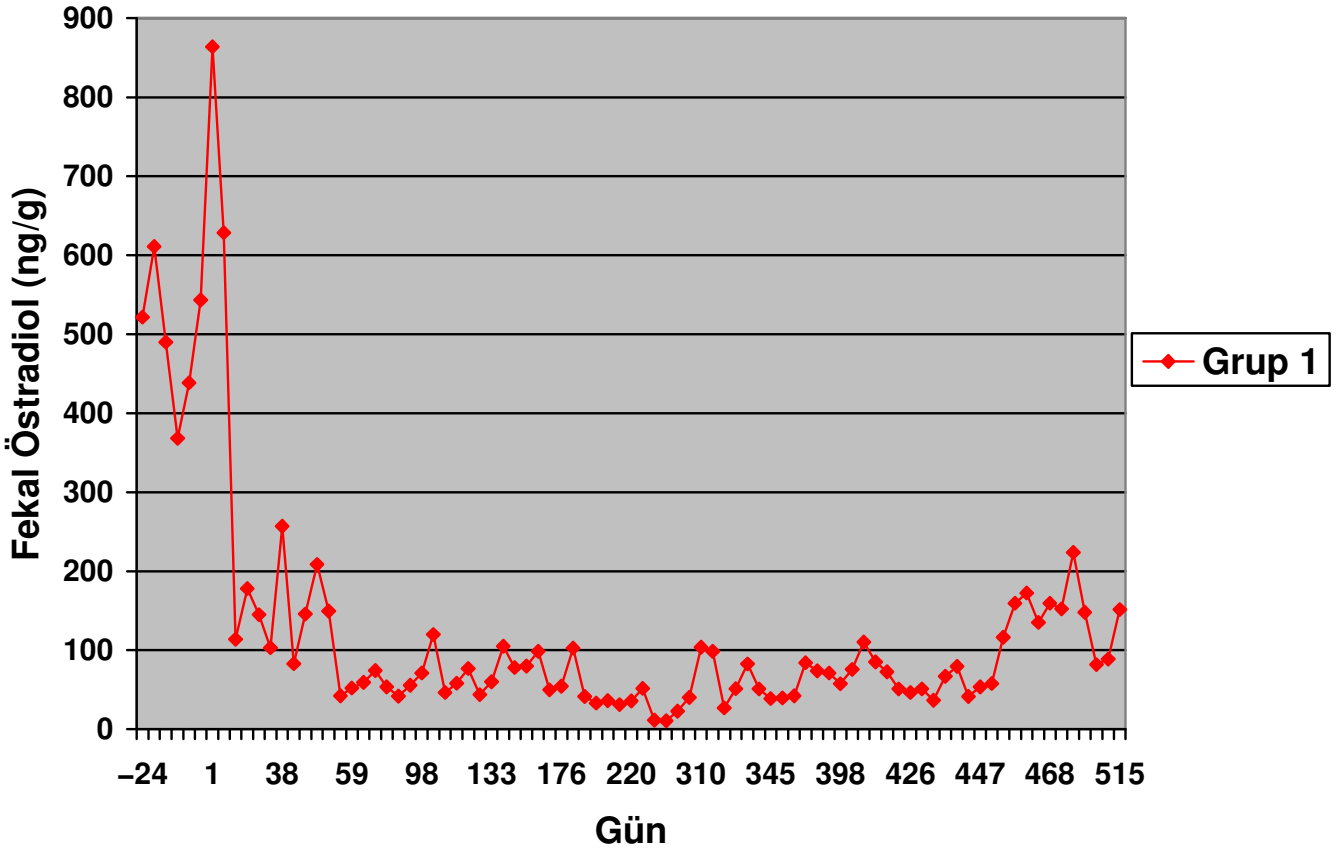
a, b: Aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (*=p<0,05, **=p<0,01, ***=p<0,001).

Deslorelin implantasyonundan önce ve sonra kedilere ait tüm dönemlerdeki fekal östradiol ortalamalarından grup ortalamaları elde edilerek tüm çalışma boyunca grupların gösterdiği fekal östradiol seviyelerine ulaşıldı. Buna göre fekal östradiol

seviyesi ortalaması Grup 1'de (n=14) 128,48±19,97, Grup 2'de (n=7) 90,44±7,16, Grup 3'te (n=7) ise 283,26±39,21 olarak bulunmuştur.

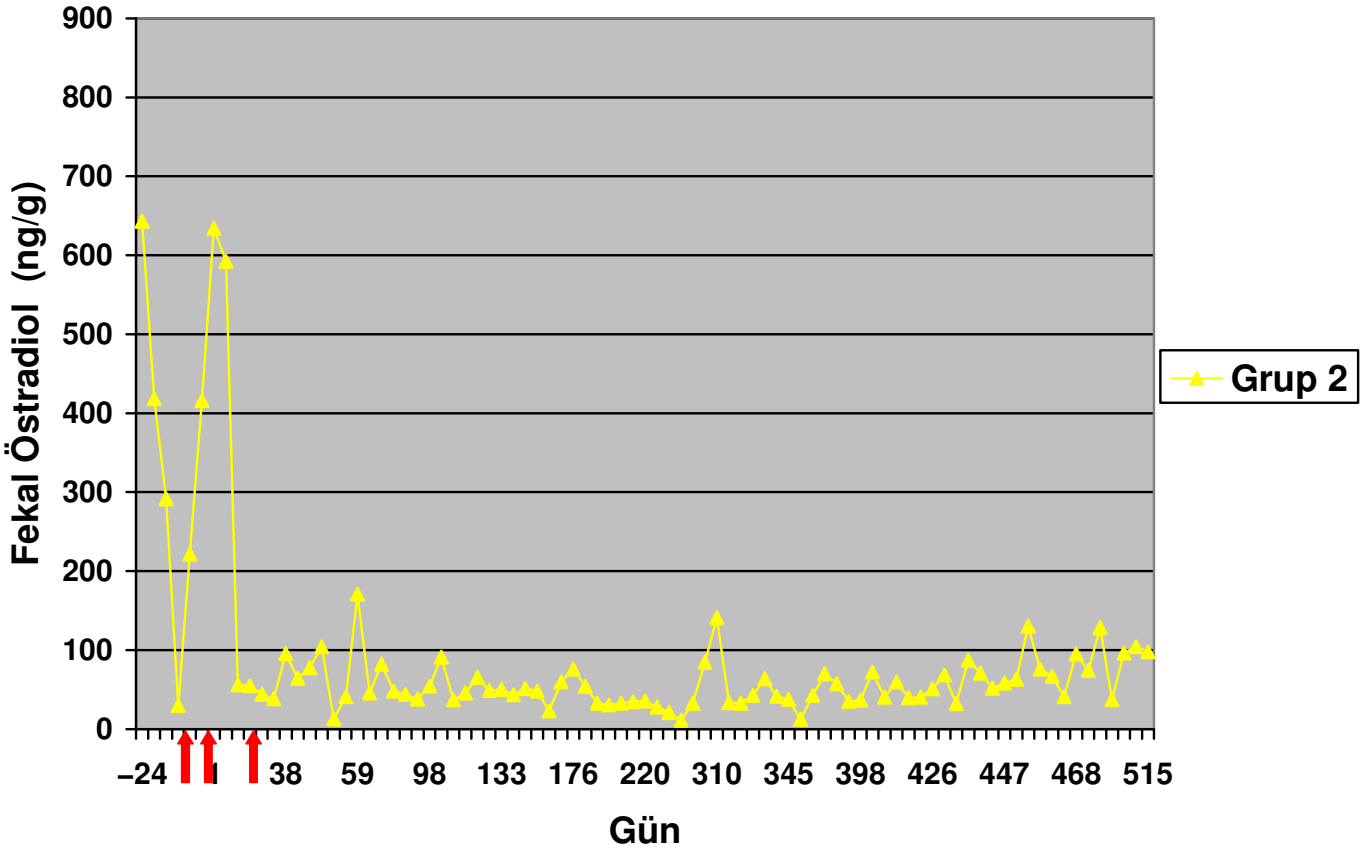
Grup 3'te implantasyonlar sonrası altı ay kadar yüksek seyreden fekal östradiol seviyeleri, sun'i aydınlatma sistemi kullanılıyor olmasına rağmen haziran ayı başından itibaren yaz aylarında belirgin bir düşüş göstermiş, bu düşüş eylül ayı sonunda östradiol seviyelerindeki yükselişlerle normale dönmüştür. Bu dönem süresince kediler tamamen anöstrusa girmemişlerdir, fakat östrus siklusları oldukça uzamıştır.

Tüm çalışma boyunca (implantasyon öncesi ve sonrası) gruplardaki fekal östradiol seviyesindeki zamana bağlı değişimler Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te şematize edilmiştir.



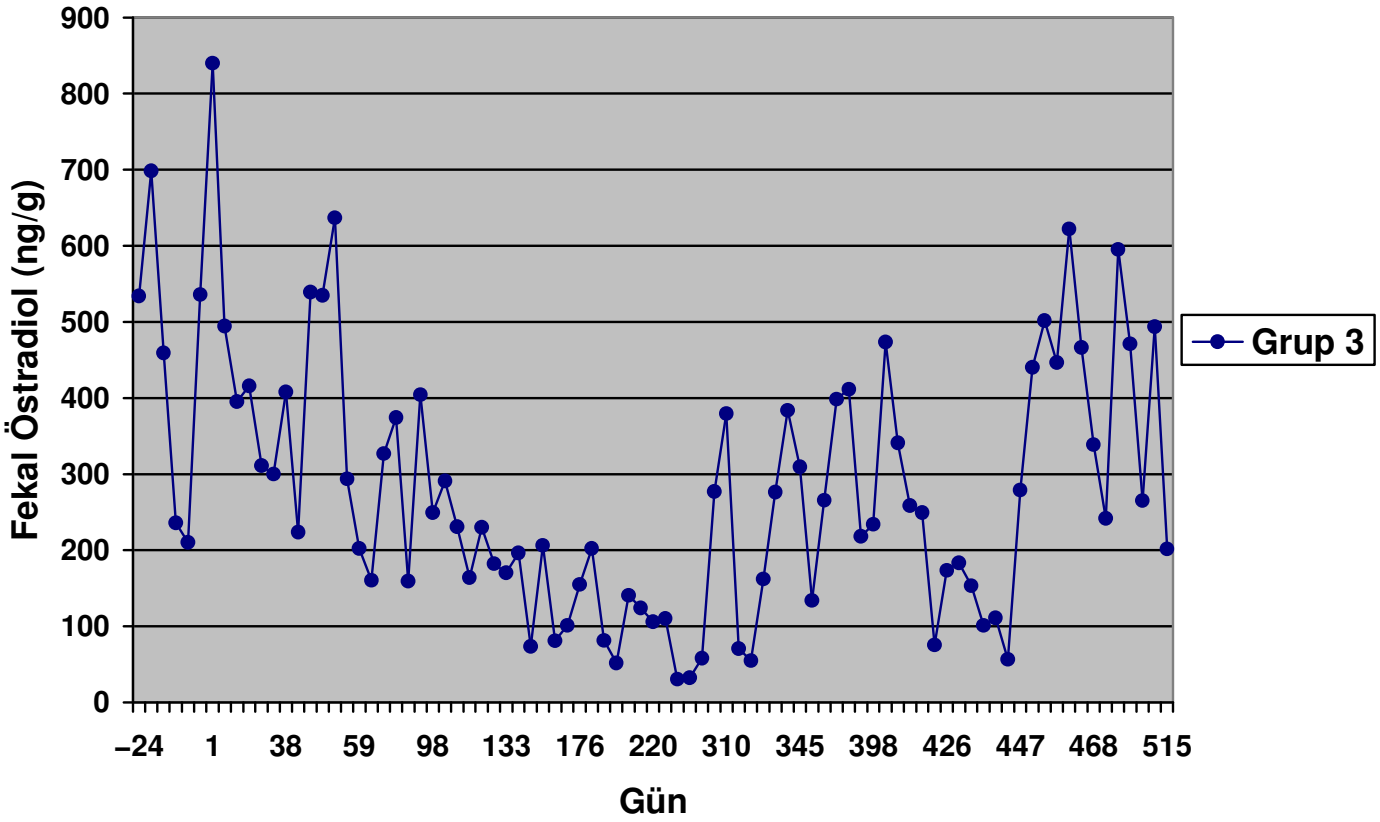
Şekil 4-2: Grup 1'de Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Düzeyi.

Grafik deslorelin uygulamasından üç hafta öncesini ve on sekiz ay sonrasını göstermektedir. 1. gün deslorelin implantasyonundan sonraki günü ifade etmektedir.



Şekil 4-3: Grup 2'de Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Düzeyi.

Grafik deslorelin uygulamasından üç hafta öncesini ve on sekiz ay sonrasını göstermektedir. Kırmızı oklar, -14, 0 ve +14. günlerde yapılan MA uygulamalarını simgelemektedir.



Şekil 4-4: Grup 3'te Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Düzeyi.

Grafik deslorelin implantasyonundan üç hafta öncesini ve on sekiz ay sonrasını göstermektedir. 1. gün deslorelin implantasyonundan sonraki günü ifade etmektedir.

Grup 1'de deslorelin implantasyonundan 2-3 gün sonra östrus davranışları gösteren ve östrus süresi boyunca gün içerisinde dönüşümlü olarak üç erkek kediyle de çiftleşmelerine izin verilen, fakat buna rağmen gebelik oluşmayan iki kedinin implantasyondan sonraki bir ay içerisindeki fekal östradiol değerleri Tablo 4.3'de verilmiştir.

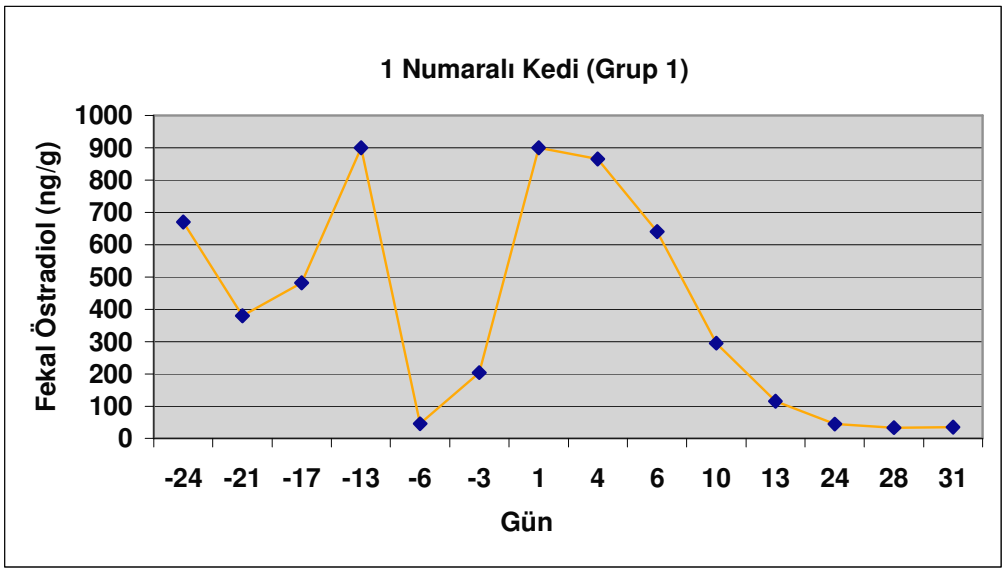
Tablo 4-3: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra Östrus Gösterip Çiftleşen İki Kedideki İmplantasyondan Sonraki İlk Bir Ay Fekal Östradiol Değerleri.

Fekal Östradiol (ng/g)	#1	#18
1. Gün	900	772,8
4. Gün	865,47	702,9
6.Gün	640,36	600,91
10. Gün	294,42	110,61
13. Gün	115,16	93,44
24. Gün	44,76	58,8
28. Gün	33,48	132
31. Gün	35,64	56,16

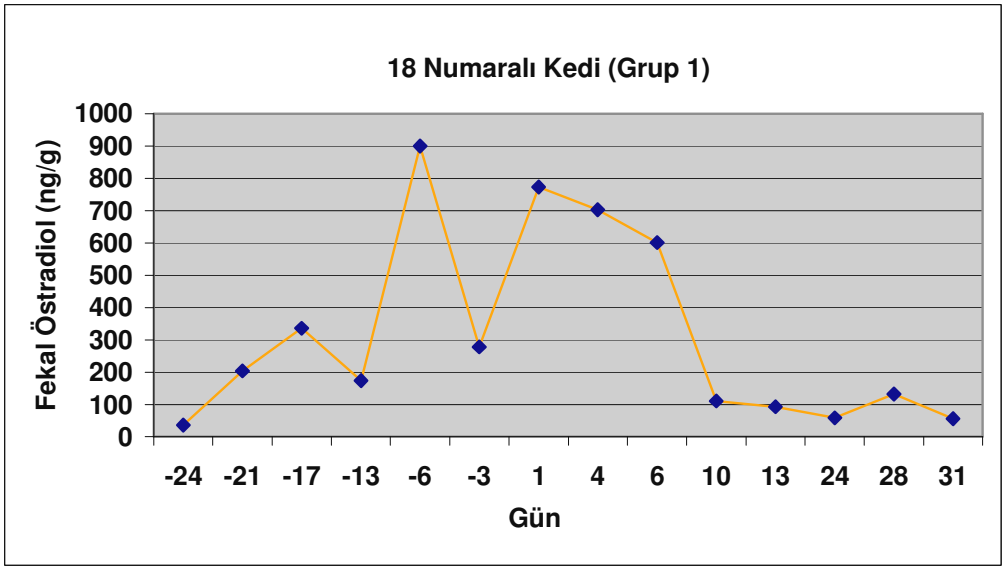
Günler deslorelin implantasyonundan sonraki günleri ifade etmektedir.

İmplantasyondan sonraki 13. günde iki kedide de östrus bitmiştir.

Bu kedilerden 1 numaralı kedide deslorelin implantasyonundan önceki üç hafta süresince fekal östradiol değerlerinin iki kez, 18 numaralı kedide ise bir kez pik değerlere ulaştığı saptanmıştır. İki kedide de implantasyondan bir gün sonra oldukça yüksek bulunan fekal östradiol seviyesi, implantasyondan sonraki bir hafta içerisinde kademeli olarak azalmış ve bir ayın sonunda bazal seviyelere inmiştir. İki kedinin bu dönemlerdeki fekal östradiol değişimleri Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterildiği gibidir.

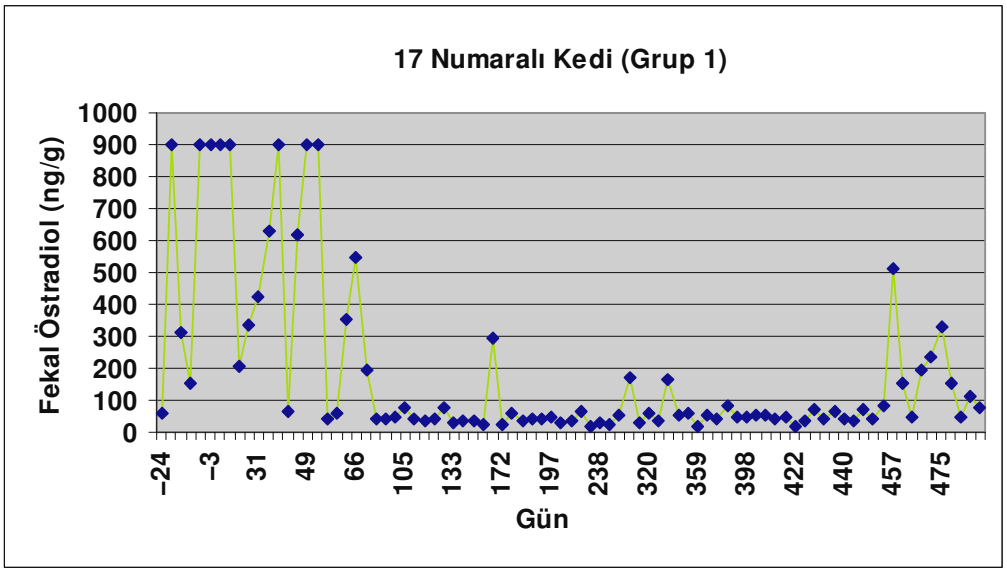


Şekil 4-5: 1 Numaralı Kedide Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Seviyeleri.

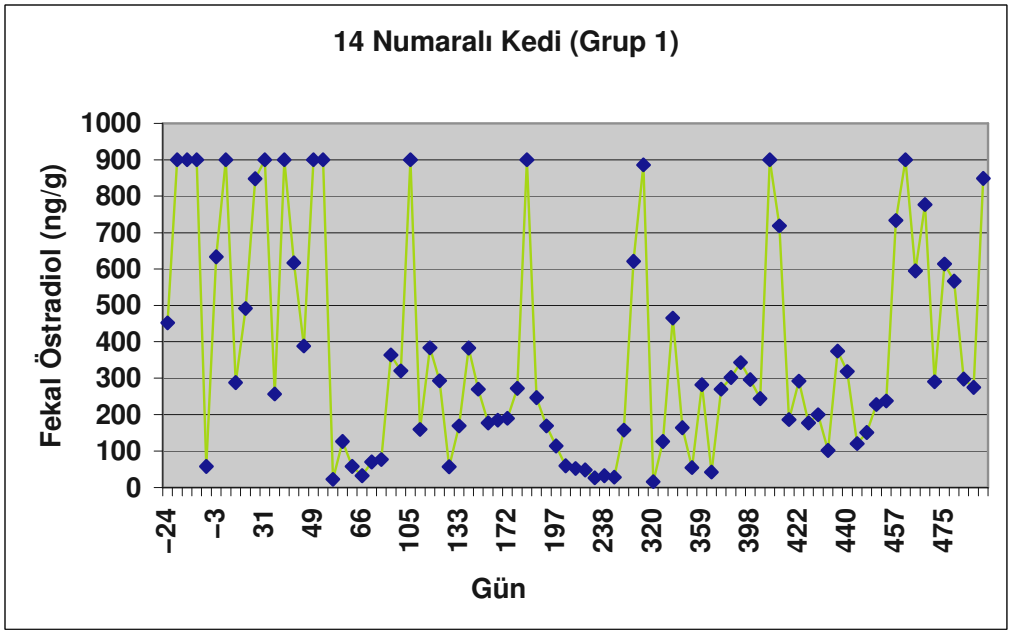


Şekil 4-6: 18 Numaralı Kedide Deslorelin İmplantasyonu Öncesinde ve Sonrasında Fekal Östradiol Seviyeleri.

Grup 1'de deslorelin implantasyonundan sonra iki ay süreyle östrus benzeri davranışlar gösteren 17 numaralı kedinin tüm çalışma boyunca gösterdiği fekal östradiol değişimleri Şekil 4.7'de gösterildiği gibidir. Grup 1'de deslorelin implantasyonundan üç buçuk ay sonra ilk defa östrus belirtileri saptanan, fakat bu dönemde çiftleşmeyen ve bir daha tüm çalışma boyunca östrus davranışları saptanamayan 14 numaralı kedinin tüm çalışma boyunca gösterdiği fekal östradiol değişimleri Şekil 4.8'deki gibidir.

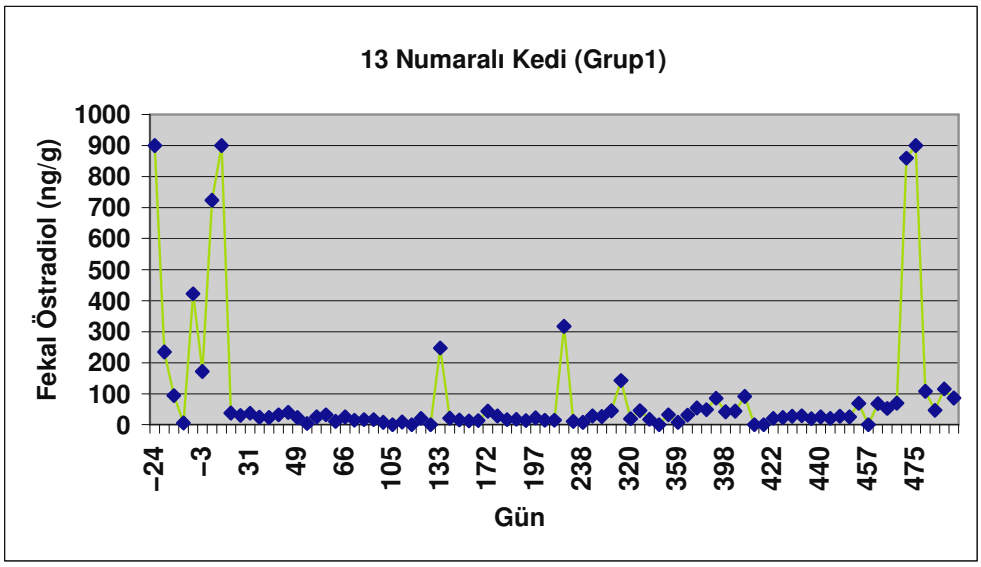


Şekil 4-7: Deslorelin İmplantasyonundan Sonra İki Ay Süreyle Östrus Davranışları Gösteren Kedide Tüm Çalışma Boyunca Fekal Östradiol Değerlerindeki Değişimler.



Şekil 4-8: Deslorelin İmplantasyonundan 3,5 Ay Sonra Östrus Belirtileri Saptanan ve Bir Daha Tüm Çalışma Boyunca Davranışsal Östrus Göstermeyen 14 Numaralı Kedinin Fekal Östradiol Düzeyleri.

Tüm çalışma boyunca davranışsal östrus göstermeyen, fakat ovaryum histolojisinde gerilemekte olan korpus luteum saptanan 13 numaralı kedinin fekal östradiol değerlerinde deslorelin implantasyonundan 16,5 ay sonra sonra östradiol seviyesinin pik düzeylere ulaştığı görülmüştür (Şekil 4.9).

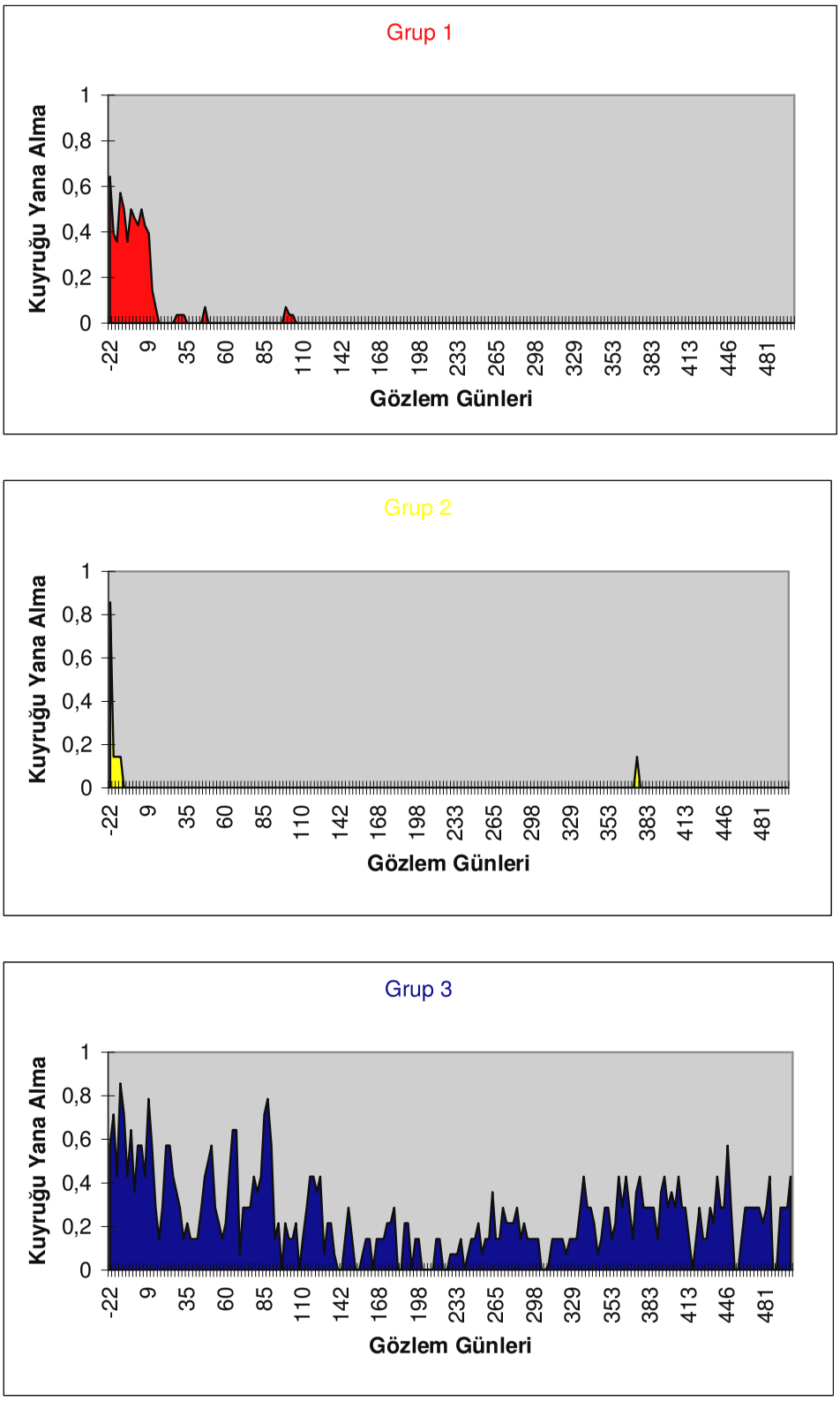


Şekil 4-9: Deslorelin İmplantasyonundan 16,5 Ay Sonra Fekal Östradiol Seviyelerinde Artış Saptanan 13 Numaralı Kedinin Tüm Çalışma Boyunca Gösterdiği Fekal Östradiol Düzeyleri.

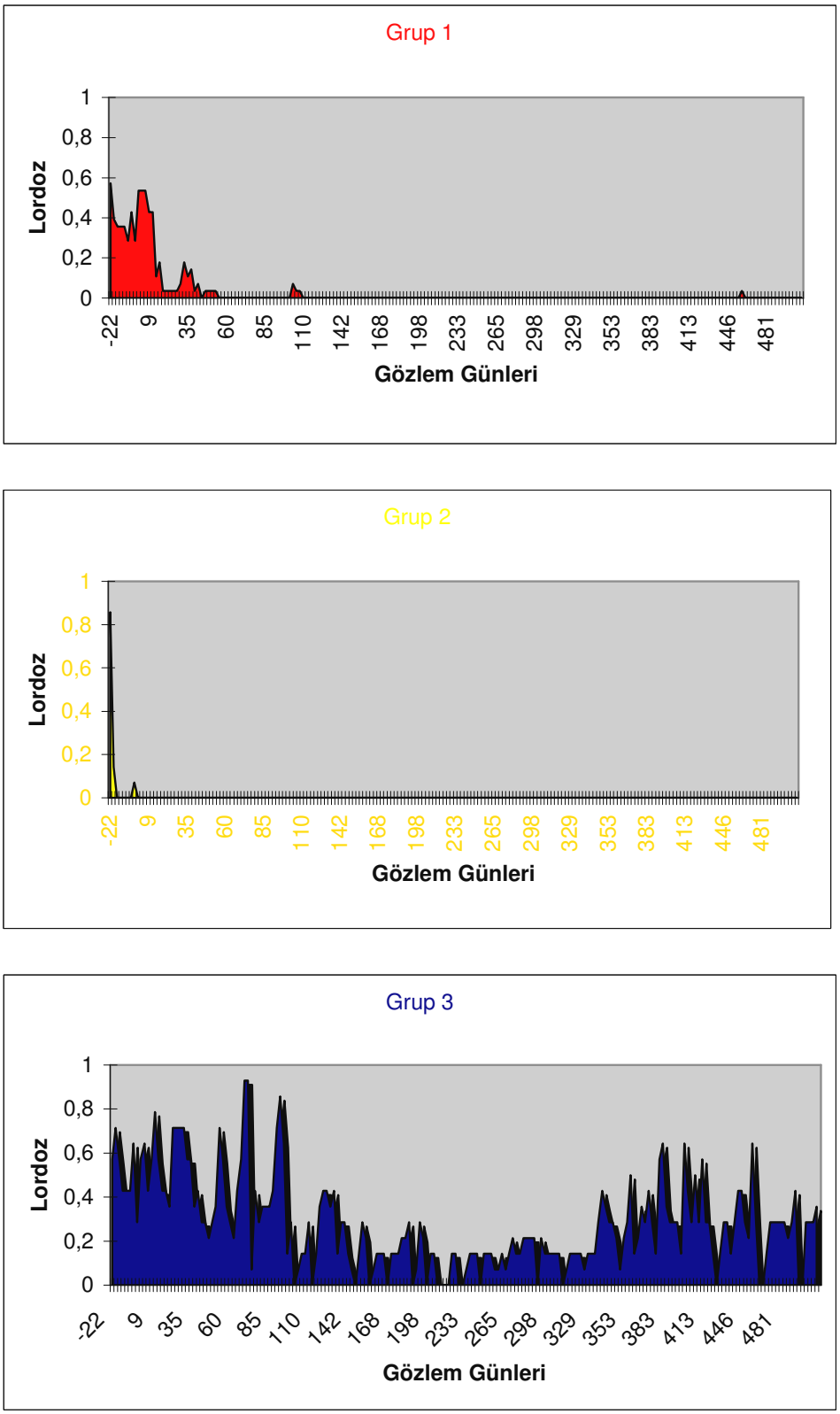
4.2.2. Davranışsal Bulgular

Her gün yapılan genel gözlemler ve üç günde bir yapılan bireysel davranış muayeneleriyle Grup 1 (n=14) ve Grup 2 (n=7)'deki kedilerde deslorelin implantasyonu sonrasında tüm çalışma boyunca hiçbir östrus belirtisine rastlanılmamıştır. Grup 1'de deslorelin implantasyonundan iki gün sonra östrus davranışları gösterip çiftleştirilen 1 ve 18 numaralı kediler hariç, 17 numaralı kedide de iki ay kadar östrus belirtileri görülmüştür. Grup 1'de implantasyondan 3,5 ay sonra östrus davranışları gösteren 14 numaralı kedi tüm çalışma boyunca bir daha davranışsal östrus göstermemiştir. Grup 3'teki (n=7) kediler bulundukları östrus siklusunun fazına bağlı olarak belirli aralıklarla östrus belirtilerinin tümünü göstermişlerdir. Yalnız yaz aylarında östrus davranışları fekal östradiol seviyelerindeki düşüşe paralel bir şekilde bir miktar azalmıştır.

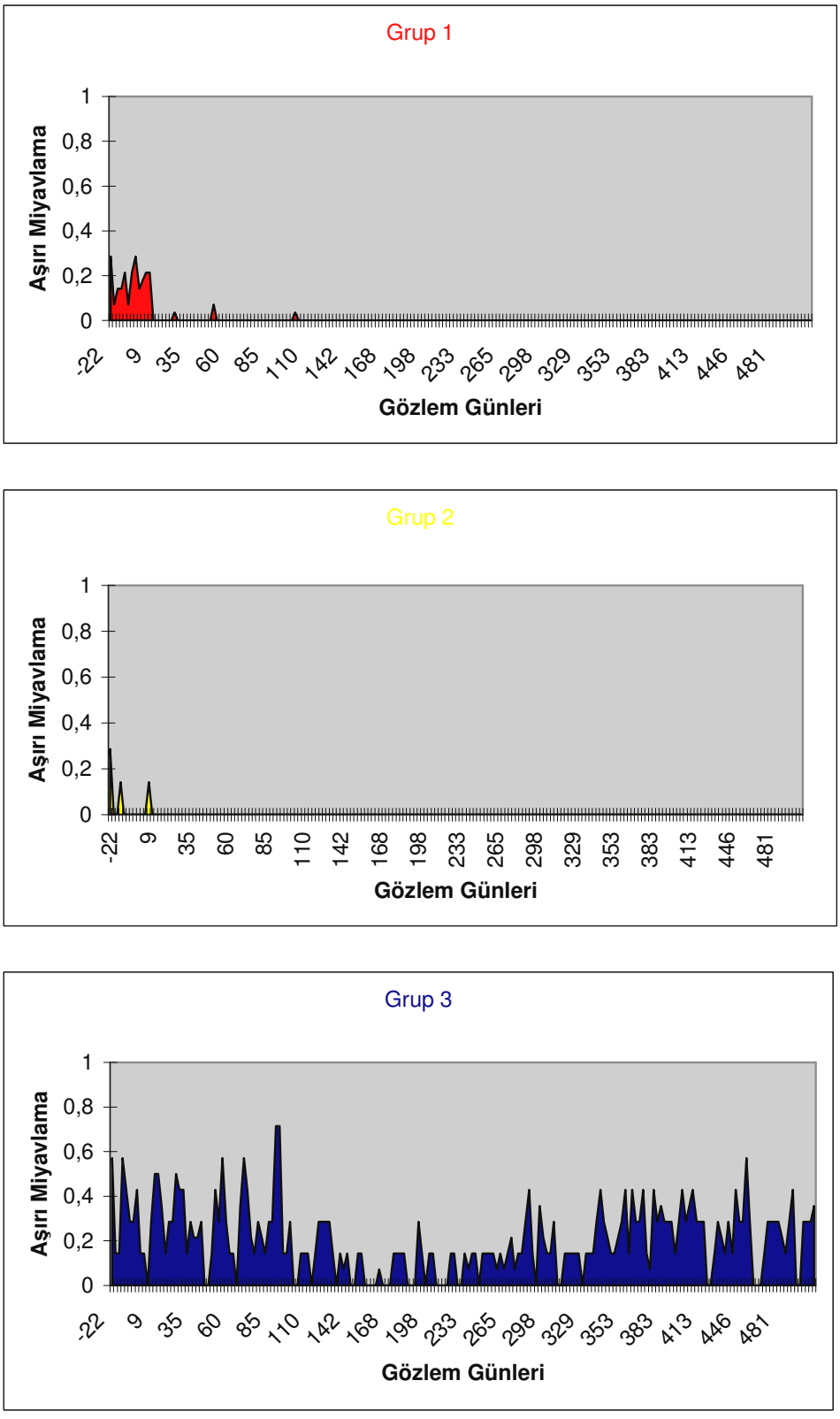
Kuyruğu yana alma, lordoz, aşırı miyavlama ve değişik objelere sürtünme gibi östrusu gösteren davranışlar doğrultusunda fekal numune alımlarına paralel olarak yapılan değerlendirmelerin gruplar arasındaki karşılaştırması Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.



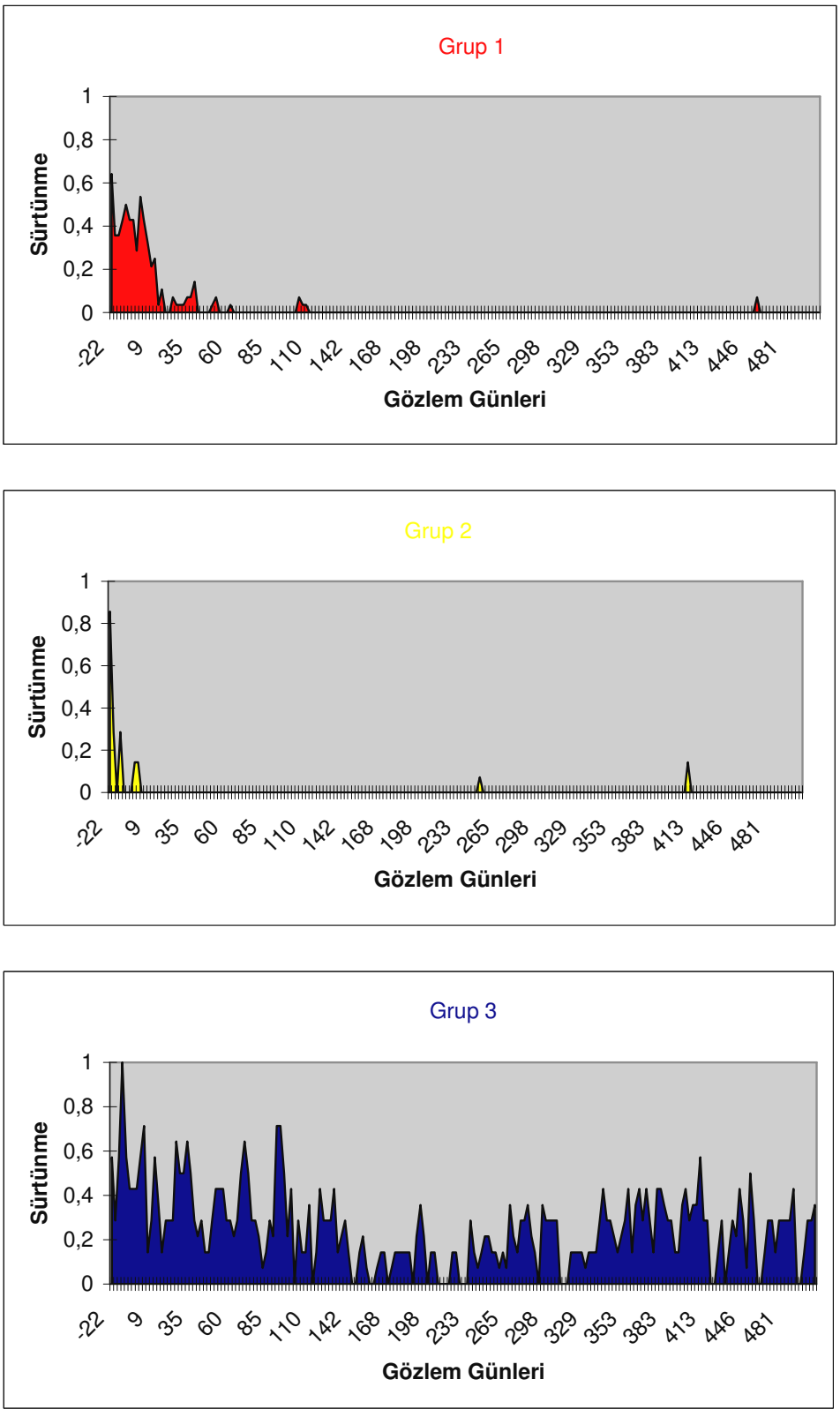
Şekil 4-10: Gruplar Arasında Kuyruğu Yana Alma Frekansı.



Şekil 4-11: Gruplar Arasında Lordoz Pozisyonu Alma Frekansı.



Şekil 4-12: Gruplar Arasında Aşırı Miyavlama Frekansı.



Şekil 4-13: Gruplar Arasında Değişik Objelere Sürtünme Davranışı Frekansı.

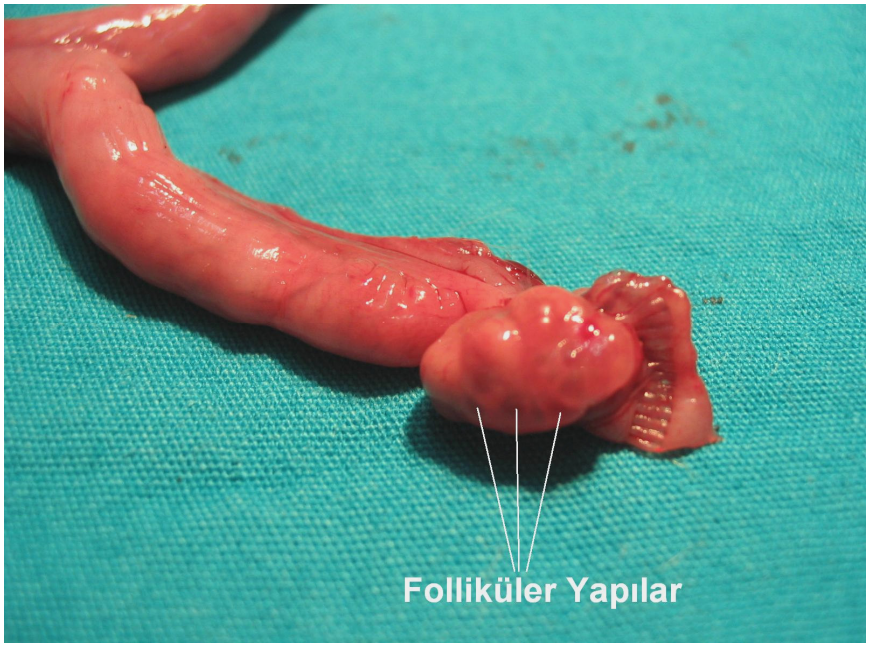
4.2.3. Ovaryum ve Uterus Morfolojisi ve Histopatolojisi

4.2.3.1. Morfolojik Bulgular

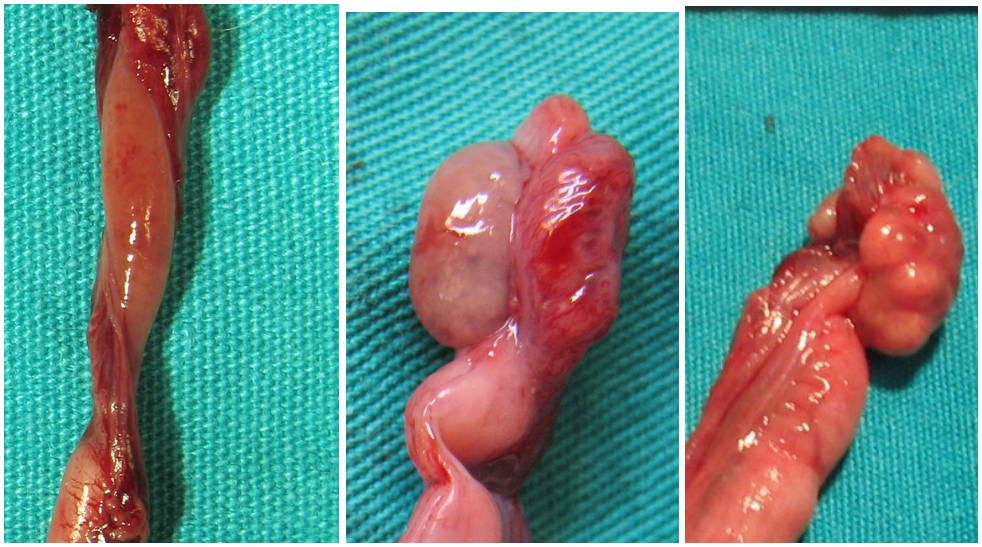
Ovaryum Yapısı:

Ovariyohisterektomi sonucu elde edilen ovaryumların morfolojik bakısında, genel olarak Grup 1ve Grup 2'ye ait hayvanların ovaryumlarının Grup 3'teki hayvanlara göre küçük ve çoğunun *immature* bir görünüme sahip olduğu (Şekil 4.15; a), Grup 3'teki kedilerin ovaryumlarının ise daha büyük olduğu ve folliküler yapılar ve korpus luteumlar içerdiği gözlendi (Şekil 4.14, Şekil 4.15; c)

Olgun folliküller ve korpus luteumun varlığı yönünden incelenen ovaryumlar, folliküler yapılar ve gözle görülür aktif korpus luteum olmadığı için Grup 1 ve Grup 2'deki hayvanlarda inaktif olarak değerlendirildi (Şekil 4.15; a, b). Grup 3'teki hayvanların ovaryumları ise bulundurdukları olgun korpus luteumlar ve küçük folliküler yapılardan ötürü aktif (folliküler veya luteal) olarak değerlendirildi (Şekil 4.15; c).



Şekil 4-14: Grup 3'teki Bir Kedinin Ovaryumundaki Folliküler Yapılar.



a b c

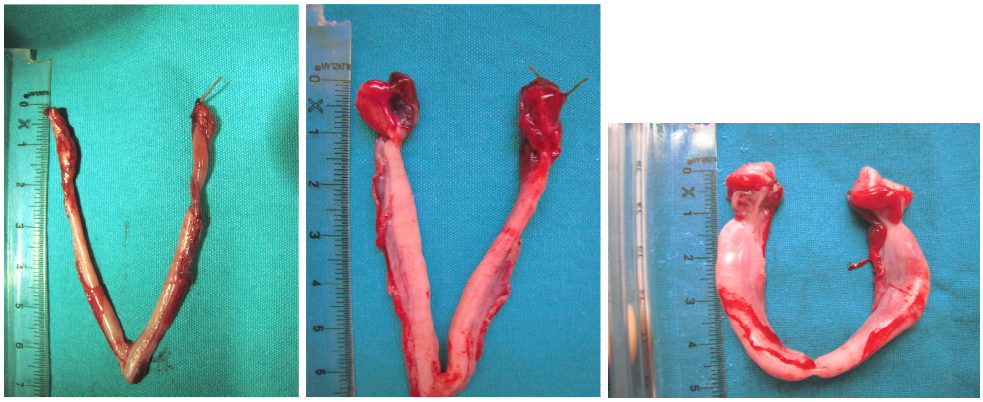
Şekil 4-15: Değişik Gruplardaki Kedilere Ait Ovaryumlar.

Grup 1'deki bir kedide *immature* görünümdeki ovaryum (a), Grup 2'deki bir kedide inaktif ovaryum (b), Grup 3'teki bir kedide aktif ovaryum (c).

Uterus Yapısı:

Grup 3'te, Grup 1 ve 2'ye göre oldukça kalın bir yapı gösteren uterus (Şekil 4.16), Grup 1 ve 2'deki hayvanlarda özellikle daha önce hiç gebelik geçirmemiş olanlarda oldukça ince ve uzun, daha önce gebelik geçirmiş olan kedilerde ise yine de Grup 3'tekilere göre belirgin ölçüde ince olarak gözlemlendi (Şekil 4.17). Grup 1'deki 14 numaralı kedide 5,10 g gibi oldukça yüksek tespit edilen ovaryum ve uterus ağırlığı, genel olarak Grup 1 ve 2'deki kedilerde Grup 3'teki kedilere göre önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,01$) (Tablo 4.4).

Şekil 4-16: Grup 3'te Oldukça Kalın Bir Yapıda Olan Uterus.



a b c

Şekil 4-17: Değişik Gruplardaki Kedilere Ait Uteruslar.

Grup 1'deki bir kedide oldukça ince görünümdeki uterus (a), Grup 2'deki bir kedide uterus (b), Grup 3'teki bir kedide uterus (c).

4.2.3.2. Histopatolojik Bulgular

Ovaryum histolojisi:

Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerde ovaryumların mikroskobik görünümü benzerlik göstermekteydi ve genel olarak inaktif bir görünümdeydi (Şekil 4.18). Bu kedilerdeki inaktif olan ovaryumlar, genç ve erişkinliğe ulaşmamış kedilerin ovaryum dokusu görüntüsüne sahipti ve yüksek sayıda primordial ve primer follikül içermekteydi (Şekil 4.19). Birkaç kedide atretik antral follikül gözlenmekteydi, birkaç kedide ise gelişmekte olan az sayıda küçük antral follikül izlenmekteydi. Grup 1'deki 13, 14 ve 26 numaralı kedilerde gerilemekte olan inaktif korpus luteum görülürken (Şekil 4.22, Şekil 4.23), bu kediler haricindeki Grup 1 ve Grup 2'deki hiçbir kedide korpus luteum görülmedi. Bazı kedilerde ovarien interstisyel hücre hiperplazisi tespit edildi ve kümeler halindeki bu hücreler ovaryum dokusunun çoğunu kaplamaktaydı (Şekil 4.20, Şekil 4.21).

Grup 3'teki kedilerin ovaryumları aktif bir görünüme sahipti ve çeşitli derecelerde antral folliküller ve olgun ve gerilemekte olan korpus luteumlar içermekteydi (Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.27). Ovaryum histolojisinde tespit edilen korpus luteumlar, seksüel olarak aktif olan kontrol grubundaki kedilerde ovulasyonun spontan olarak gerçekleşebildiğini de göstermekteydi (Şekil 4.26). Grup 3'te primordial ve primer follikül sayıları Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerle karşılaştırıldığında oldukça az sayıdaydı (Tablo 4.4).

Gruplara ait primordial, primer ve antral follikül ve korpus luteum sayıları Tablo 4.4'te verilmiştir.

Endometrium histolojisi:

Grup 1'de (n=14) endometrium dokusu atrofik görünümdeydi ve endometrium lümen epiteli tek katlı yassı kübik hücrelerden oluşmaktaydı. Endometrial bez yapıları sadece endometriumun lümene doğru olan kıvrımlarının apikal kısımlarına yakın yerlerde genellikle bir veya iki sıra oluşturacak şekilde ve oldukça az sayıda bulunmaktaydı ve dallanma göstermemekteydi (Şekil 4.28). Endometrium bez epitelleri tek katlı yassılaşmış kübik ve yer yer çok incelmiş epitel hücrelerinden oluşmakta ve hücre sitoplazmaları içinde vakuolleşme görülmemekteydi. Bez yapıları arasındaki bölgede fibröz bağ dokusu bulunmaktaydı (Şekil 4.32).

Grup 1'deki 12 numaralı kedide endometriyum bezlerinin bir kısmında küçük kistik formasyonlar görülmekteydi (Şekil 4.31).

Grup 2'de (n=7) endometrium dokusu ileri derecede atrofik görünümdeydi. Endometrium lümen epiteli tek katlı yassılaşmış hücrelerden oluşmaktaydı. Endometrial bez yapıları sayıca oldukça azalmıştı ve sadece bir veya iki sıra oluşturacak şekilde endometriumun lümene yakın apikal kısımlarında bulunmaktaydılar (Şekil 4.28). Bezlerin kübik epitel hücreleri yassılaşmış, ince görünümdeydi ve sitoplazmik vakuolleşme görülmemekteydi. Endometrial bezler arasında fibröz bağ dokusu gelişmişti (Şekil 4.32).

Grup 3'te (n=7) endometrium lümeni folliküler fazda olan kedilerde tek katlı kübik, birkaç kedide ise yalancı çok katlı epitelden oluşmaktaydı. Endometriumun lümene doğru olan apikal kısımlarında endometrial bez yapılarında hafif proliferasyon, genişleme ve dallanmalar görülmekteydi (Şekil 4.29). Bez epitelleri tek katlı kübik hücrelerden oluşmaktaydı. Hücre sitoplazmaları içerisinde hafif derecede vakuolleşmeler görülmekteydi (Şekil 4.33). Luteal fazdaki kedilerde endometrium lümen epitelleri tek katlı kübik hücrelerden oluşmaktaydı. Endometrial bez yapıları dallanmalar yaparak endometrium yüzeyinden iç kısımlara doğru uzanmaktaydı (Şekil 4.30). Endometrial bez epitelleri tek katlı ve yalancı çok katlı epitellerden oluşmaktaydı ve hücre içlerinde hafif derecede vakuolleşmeler gözlenmekteydi. Bezler hafif derecede genişleme göstermekteydi ve bezler içerisinde hafif derecede sekresyona rastlanılmaktaydı (Şekil 4.34).

Grup 1 ve 2'deki kedilerin endometriumlarında oldukça az sayıda endometrial beze rastlanırken Grup 3'teki kedilerde endometrial bez sayısı artış göstermekteydi. Gruplara ait endometrium bez sayıları Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-4: Gruplara Ait Vücut Ağırlıkları, Ovaryum ve Uterus Ağırlıkları ve Histolojik Parametreler ve Önemlilik Kontrolleri.

Parametre	Grup 1 (n=14)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	F
	Ort.±s.h.	Ort±s.h.	Ort.±s.h.	
Vücut ağırlığı (kg)	$3,65^{a}$±0,15	$3,66^{a}$±0,17	$3,06^{b}$±0,17	3,477*
Ovaryum ve uterus ağırlığı (g)	$2,33^{b}$±0,28	$2,96^{b}$±0,38	$4,55^{a}$±0,58	8,358**
Primordial ve primer follikül sayısı	$129,79^{a}$±8,59	$156,71^{a}$±13,57	$62,00^{b}$±5,36	19,172***
Antral follikül sayısı	$0,79^{b}$±0,26	$0,57^{b}$±0,30	$6,00^{a}$±0,82	41,663***
Korpus luteum sayısı	$0,36^{b}$±0,20	0^{b}	$2,71^{a}$±0,18	47,417***
Endometrial bez sayısı	$74,36^{b}$±9,32	$63,86^{b}$±6,19	$150,57^{a}$±31,01	7,327**

a, b: Aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (*=p<0,05, **=p<0,01, ***=p<0,001).

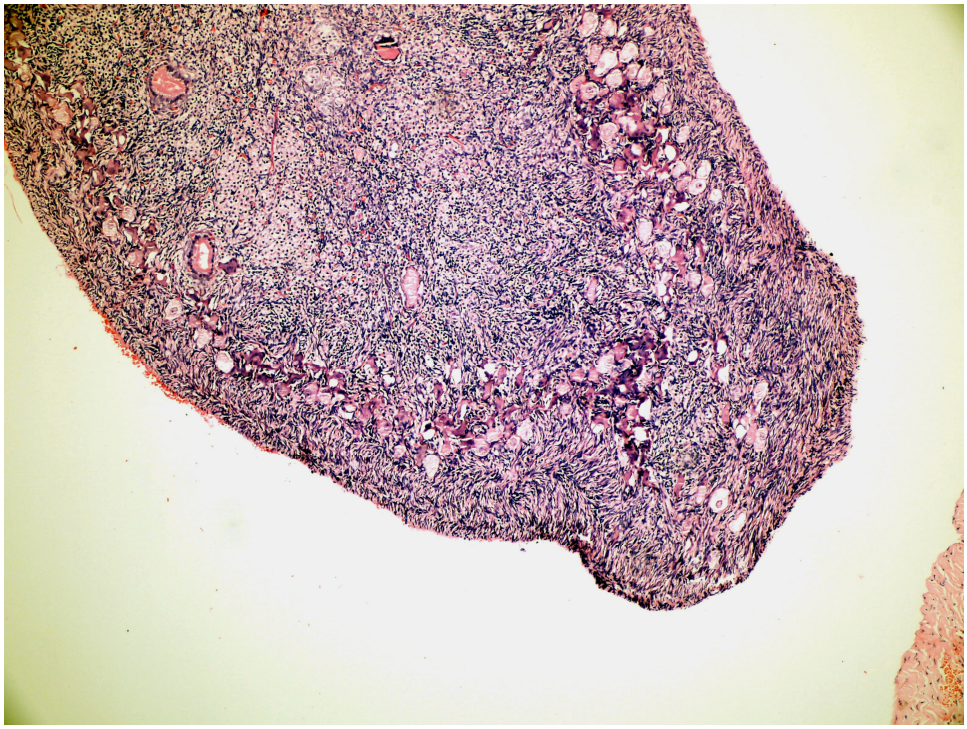
Deslorelin implantasyonuyla yapılan uzun süreli reprodüktif baskılamanın vücut ağırlığı üzerinde etkili olduğu, Grup 3'teki kedilerin daha aktif oldukları gibi Grup 1 ve 2'deki kedilere göre daha zayıf oldukları tespit edilmiştir. Vücut ağırlığı artışına bağlı olarak ovaryum ve uterus ağırlıklarının artıp artmadığının araştırılması amacıyla yapılan korrelasyon testinde, tam tersine vücut ağırlıkları artarken ovaryum ve uterus ağırlıklarının azaldığı fakat bunun gruplar arasında istatistiksel açıdan bir önem durumu göstermediği saptanmıştır (p>0,05). Yine vücut ağırlığıyla antral follikül, korpus luteum

ve endometrial bez sayısı arasında negatif bir korrelasyon saptanırken (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,05$), primordial ve primer follikül sayısı arasında pozitif korrelasyon bulunmuştur ($p>0,05$). Ovaryum ve uterus ağırlığı ile primordial ve primer follikül sayıları arasında negatif bir korrelasyon bulunurken ($p<0,05$), antral follikül sayısı, korpus luteum sayısı ve endometrial bez sayısı ile ovaryum ve uterus ağırlığı arasında pozitif bir korrelasyon bulunmuştur (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,01$ ve $p>0,05$). Primordial ve primer follikül sayısı ile antral follikül sayısı, korpus luteum sayısı ve endometrial bez sayısı arasında negatif bir korrelasyon bulunmuştur (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,01$ ve $p<0,05$). Antral follikül sayısı ile korpus luteum sayısı ve endometrial bez sayısı arasında pozitif korrelasyon saptanırken ($p<0,01$), korpus luteum sayısı ile endometrial bez sayısı arasında da pozitif korrelasyon olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$) (Tablo4.5).

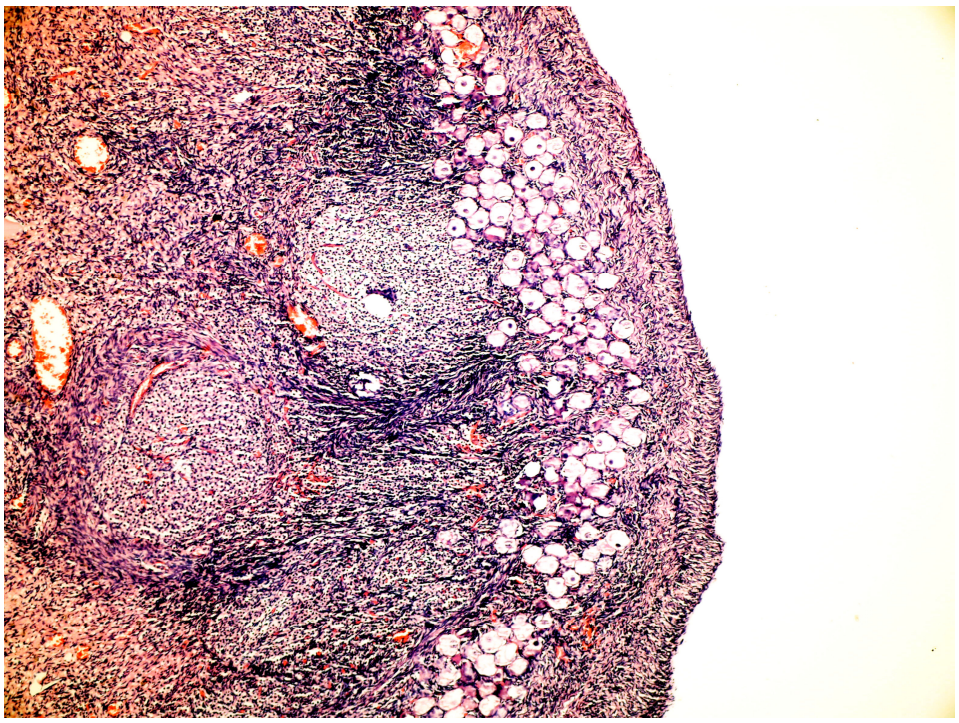
Tablo 4-5: Gruplara Ait Vücut Ağırlıkları, Ovaryum ve Uterus Ağırlıkları ve Histolojik Parametreler Arasındaki Korrelasyon.

Parametre	Ovaryum ve uterus ağırlığı	Primordial ve primer follikül sayısı	Antral follikül sayısı	Korpus luteum sayısı	Endometrial bez sayısı
Vücut ağırlığı (kg)	-0,275	+0,259	-0,450*	-0,605**	-0,414*
Ovaryum ve uterus ağırlığı (g)	—	-0,413*	+0,693**	+0,678**	+0,364
Primordial ve primer follikül sayısı	—	—	-0,681**	-0,671**	-0,422*
Antral follikül sayısı	—	—	—	+0,845**	+0,639**
Korpus luteum sayısı	—	—	—	—	+0,654**

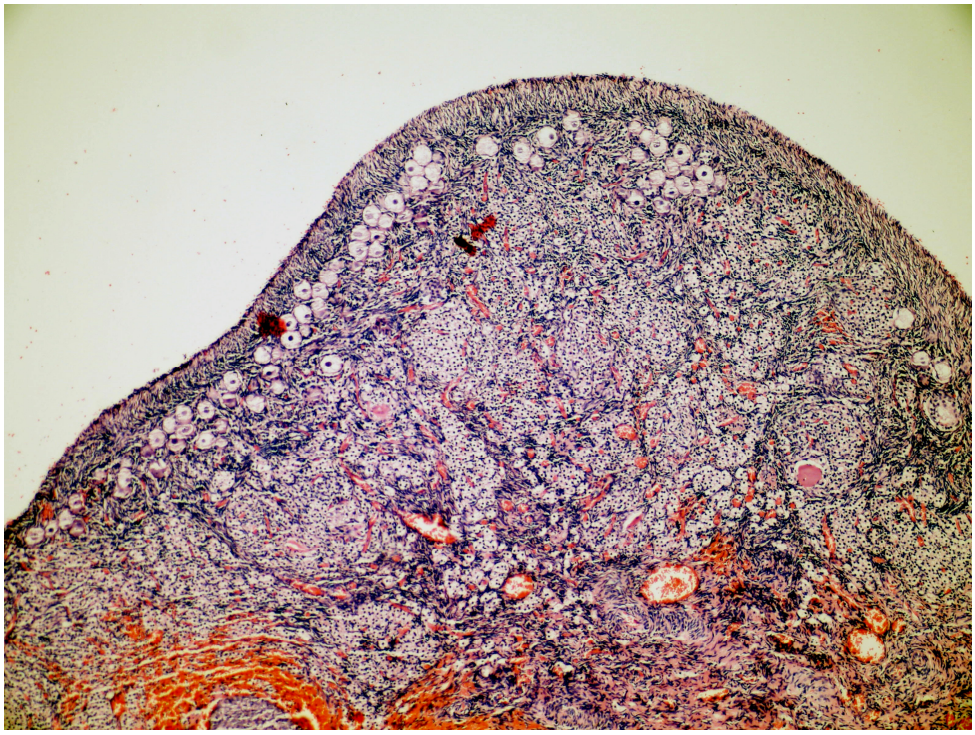
(-) değerler iki özellik arasındaki negatif, (+) değerler pozitif korrelasyonu gösterir. *= $p<0,05$, **=$p<0,01$



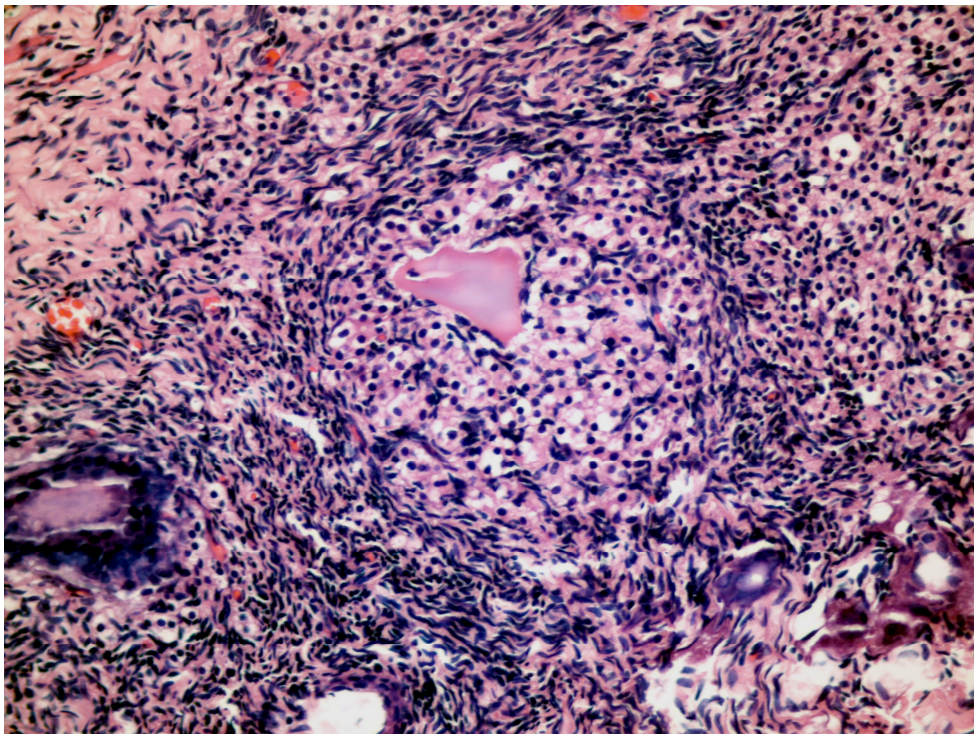
Şekil 4-18: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerde İnaktif Yapıdaki Ovaryum (Herhangi Bir Antral Follikül veya Korpus Luteum Gözlenmiyor).



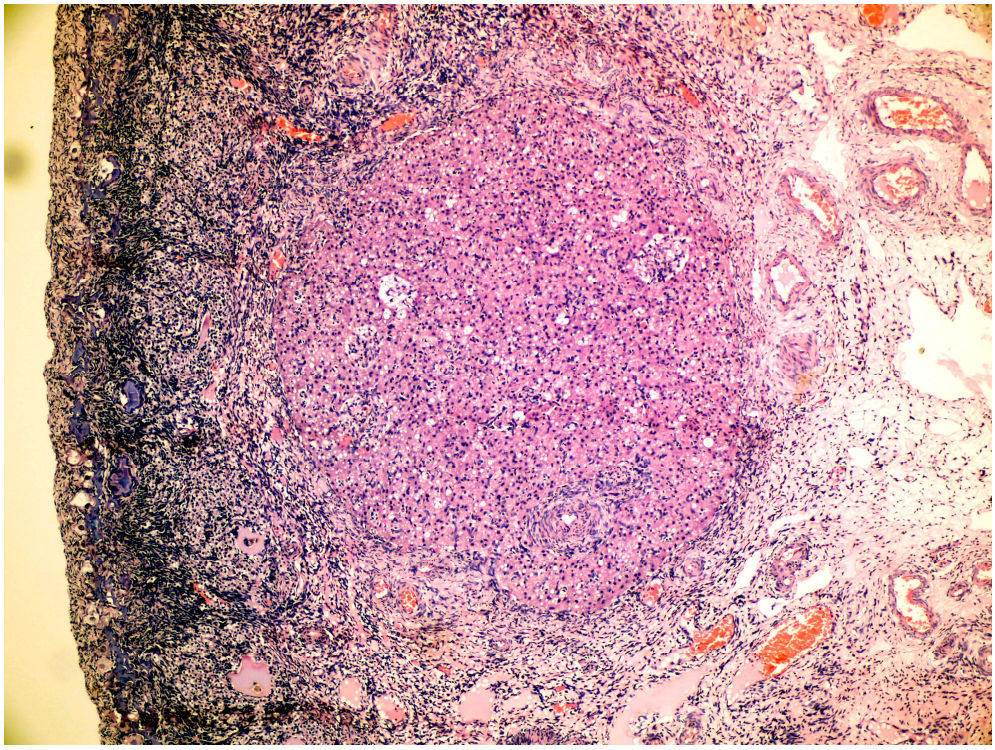
Şekil 4-19: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerde Oldukça Fazla Sayıda Olan Ovaryum Korteksindeki Primordial ve Primer Folliküller ve Primordial Folliküllerin Altında Kümeleşen Ovarien İnterstisyel Hücreler.



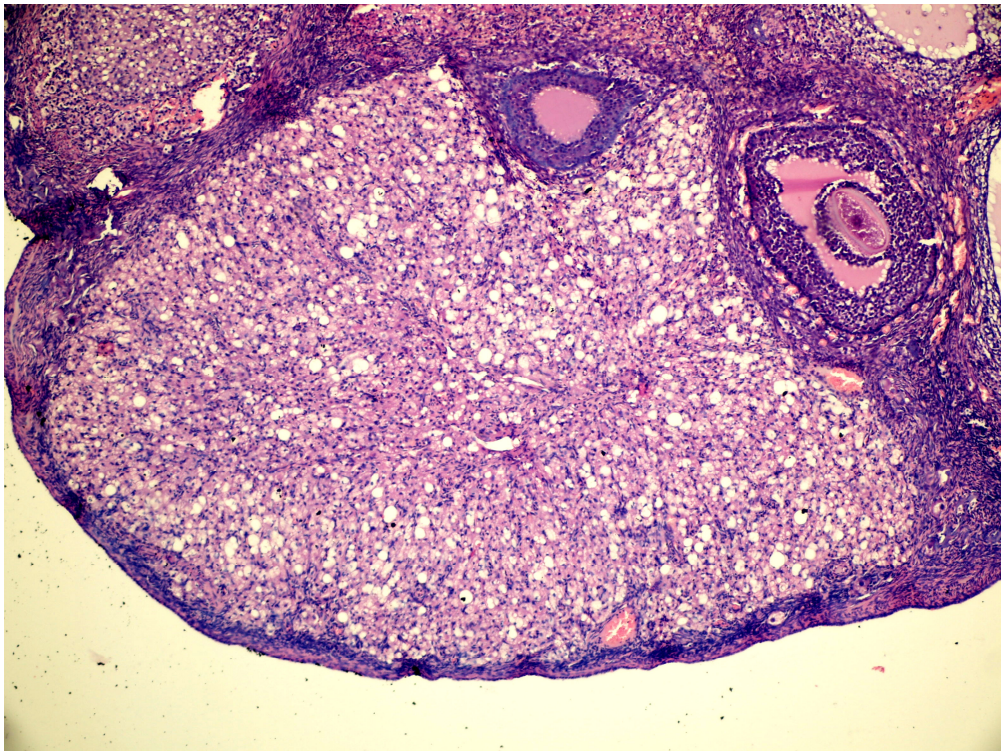
Şekil 4-20: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerin Bir Kısmında Ovarien Doku İçerisinde Oldukça Yaygın Olarak Görülen Ovarien İnterstisyel Hücrelerin Ovaryum Dokusunu İstila Etmiş Görünümü (Ovarien İnterstisyel Hücre Hiperplazisi).



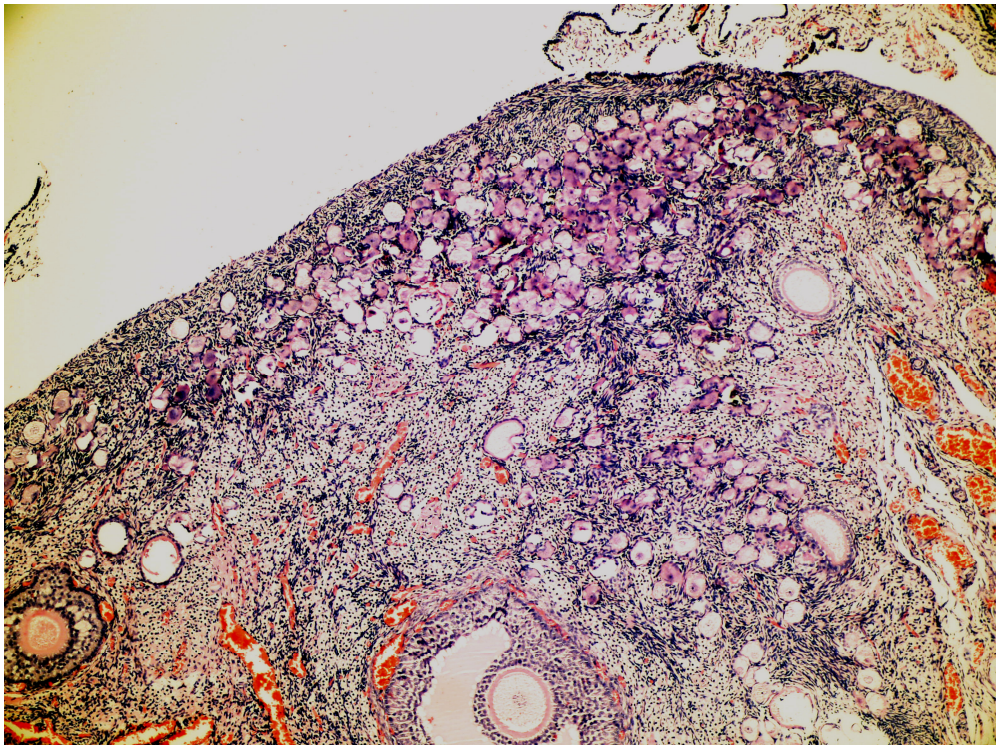
Şekil 4-21: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerin Bir Kısmında Yoğun Olarak Görülen Yumak Oluşturmuş Görünümdeki Ovarien İnterstisyel Hücreler.



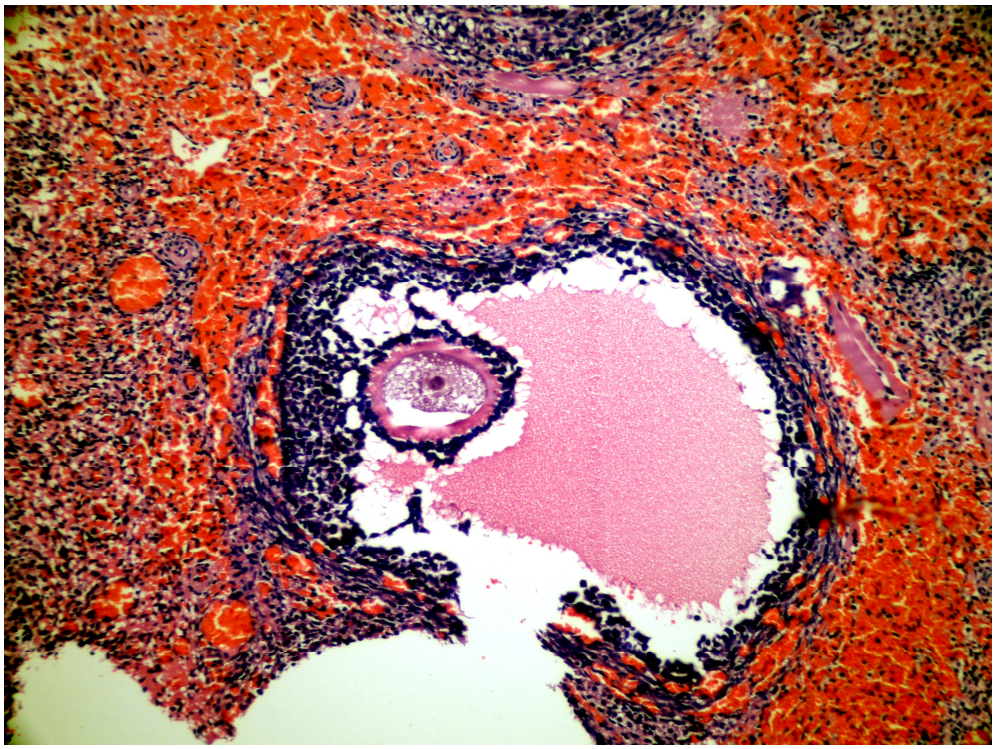
Şekil 4-22: Grup 1'deki 13 Numaralı Kedide 0,81×0,8 mm Ölçülerindeki İnaktif Korpus Luteum.



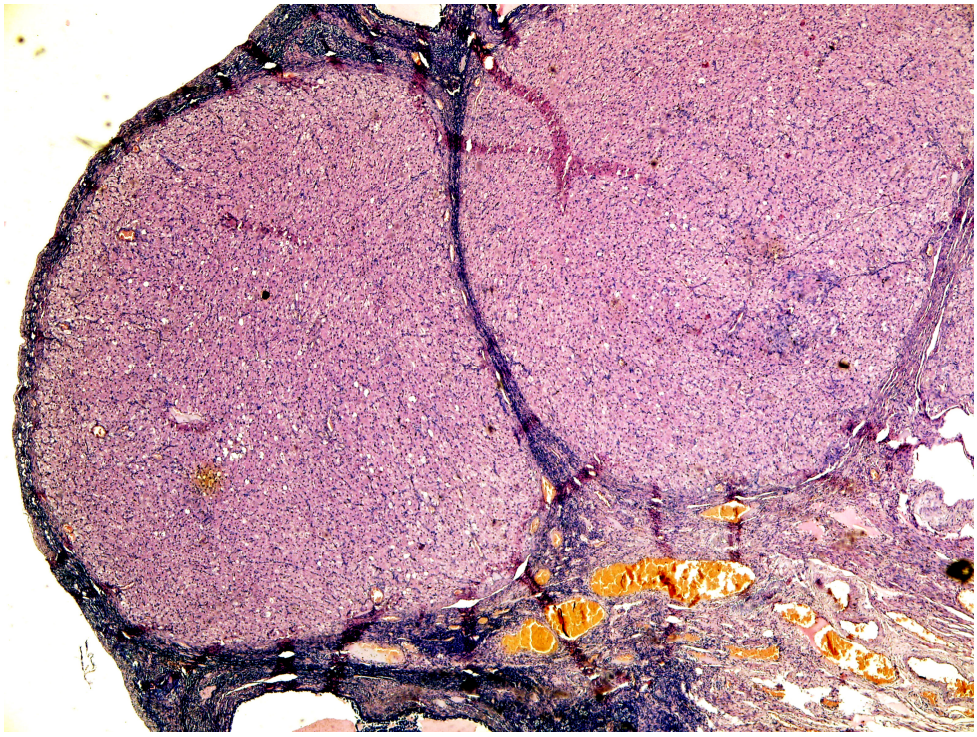
Şekil 4-23: Grup 1'deki 14 Numaralı Kedide 1,04×0,82 mm Ölçülerindeki İleri Derecede Vakuolleşmeler Gösteren Korpus Luteum ve Küçük Antral Folliküller.



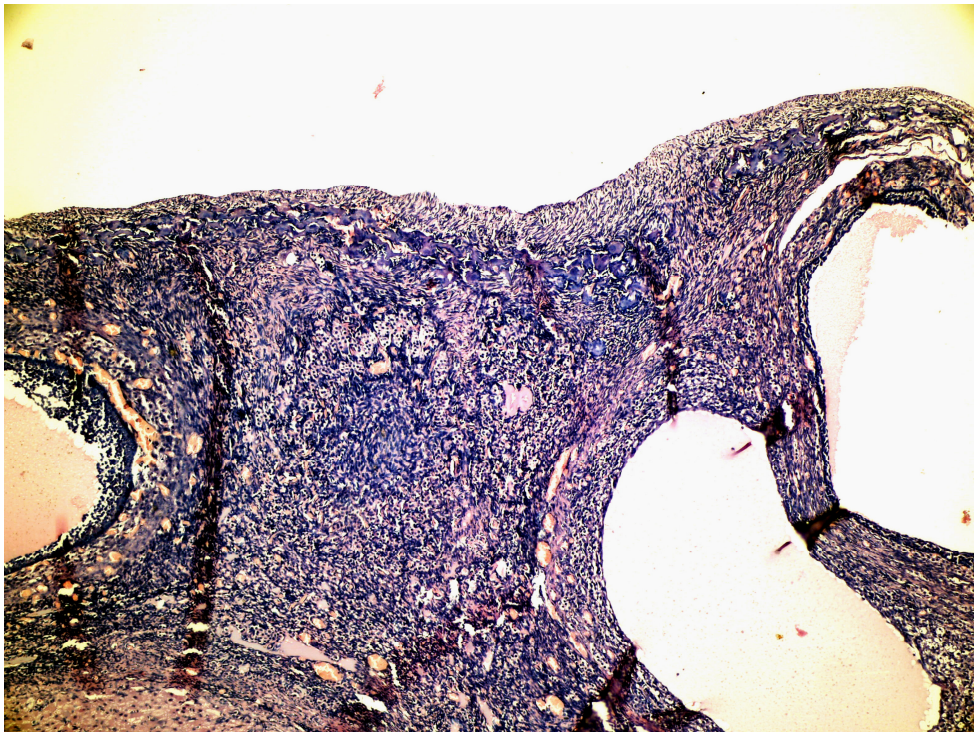
Şekil 4-24: Ovaryum Korteksindeki Çeşitli Aşamalardaki Folliküler Yapılar.



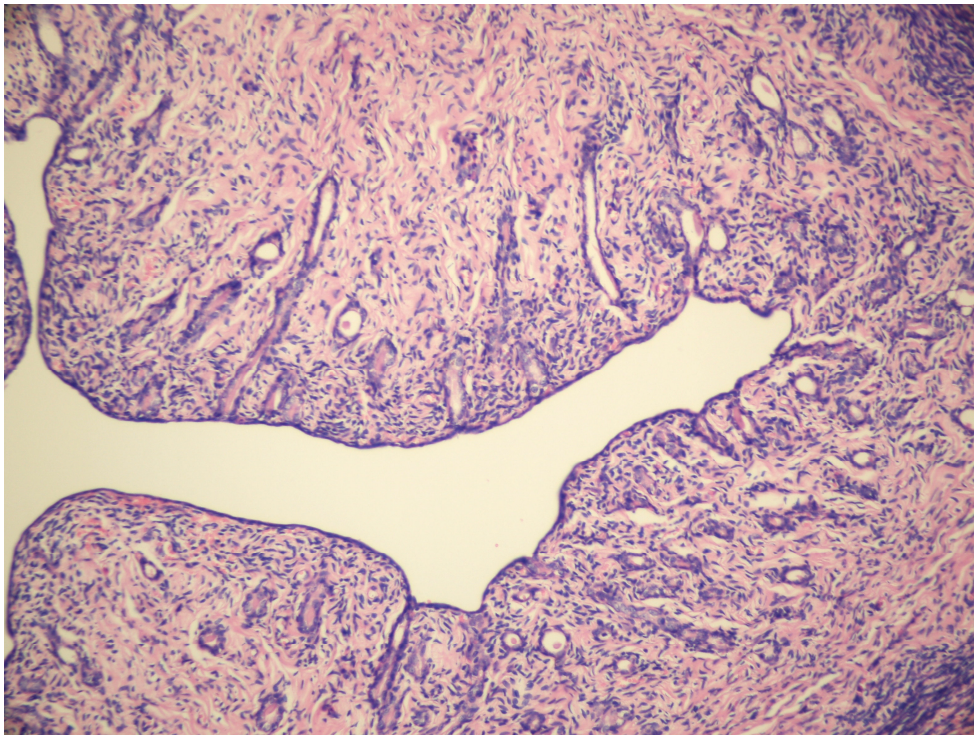
Şekil 4-25: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerin Ovaryum Kesitlerinde Hemen Hemen Hiç Görülmeyen, Grup 3'teki Kedilerde İse Sıklıkla Rastlanılan Antral Follikül.



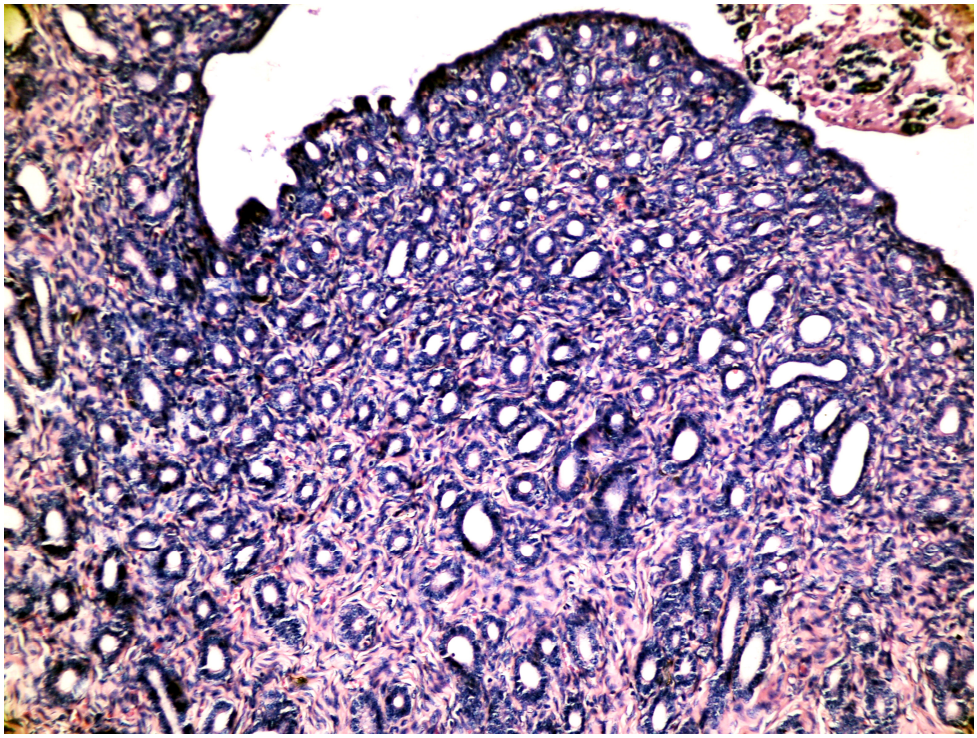
Şekil 4-26: Grup 3'teki Bir Kedide Biri 2,69 mm, Diğeri 2,49 mm Çaplarındaki Aktif Korpus Luteumlar.



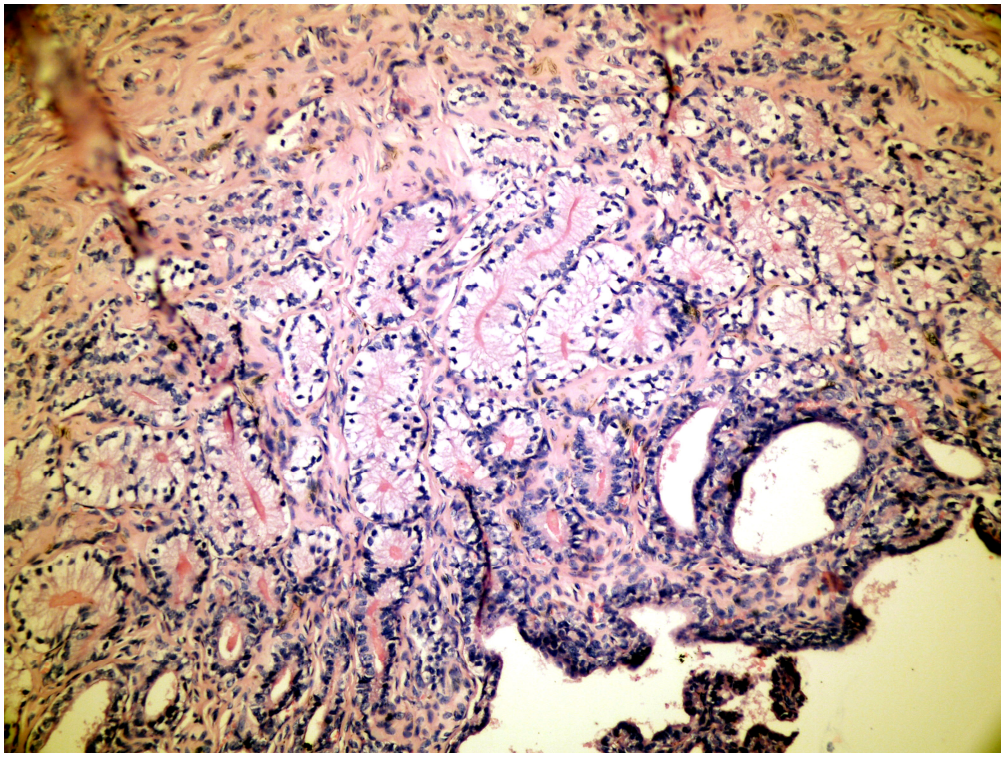
Şekil 4-27: Grup 3'teki Kedilerde Görülen Aktif Ovaryum Yapısı, Primordial Follikül Sayısı Oldukça Azalmış, İçi Boşluklu Kesitler Büyük Antral Folliküller Gösteriyor.



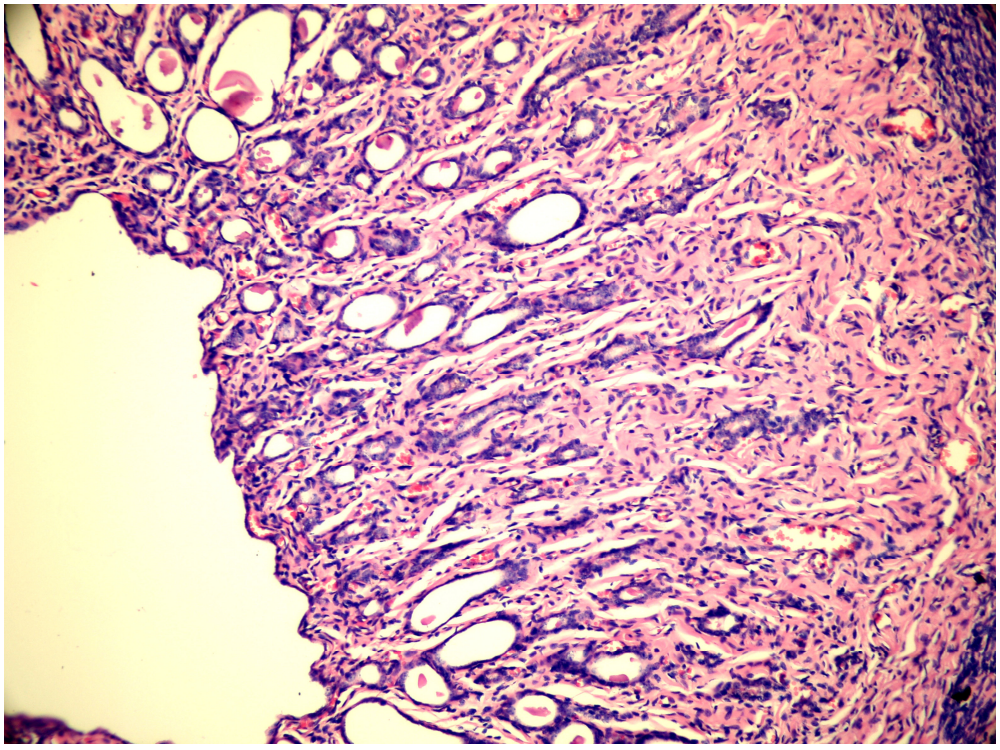
Şekil 4-28: Grup 1 ve Grup 2'deki Kedilerde Gözlemlenen ve Çok Az Sayıda Endometrial Bez İçeren İnaktif Yapıdaki Endometrium (Bez Yapılarının Arasındaki Bağ Dokusuna Dikkat).



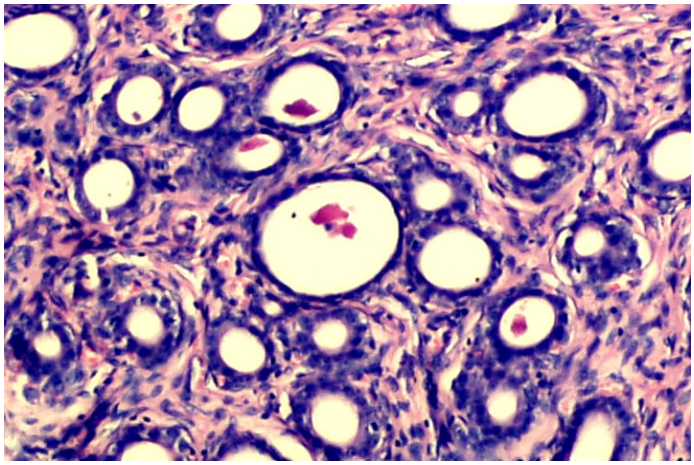
Şekil 4-29: Grup 3'teki Folliküler Fazdaki Bir Kedide Kübik Epitel Yapısına Sahip Şişkin Endometrial Bezleri İçeren Endometrium.



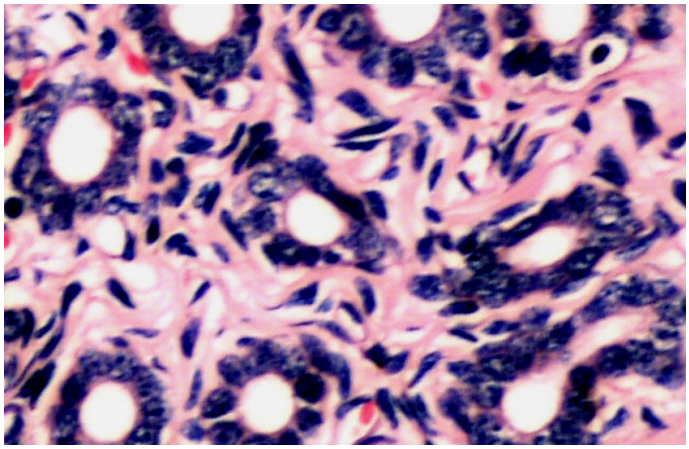
Şekil 4-30: Grup 3'te Luteal Fazdaki Bir Kedide Yalancı Çok Katlı Epitel Yapısına Sahip, Uzun ve Dallanmalar Gösteren Endometrial Bezleri İçeren Endometrium.



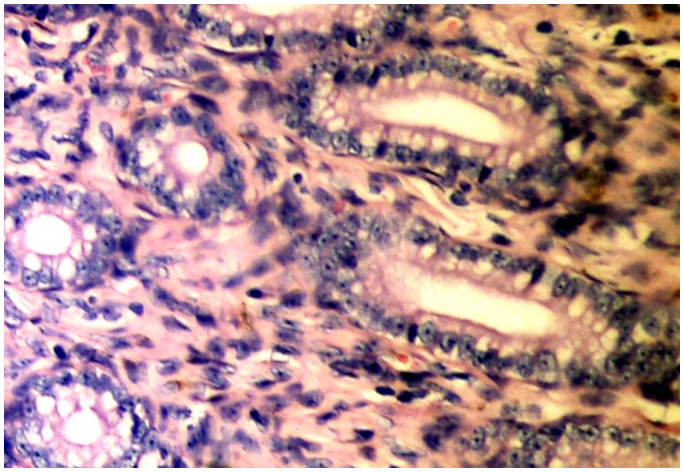
Şekil 4-31: Grup 1'deki Bir Kedide Hafif-Orta Derecede Kistik Yapılanmalar Gösteren Endometrium Bezleri.



Şekil 4-32: Grup 1 ve 2'deki Kedilerde Oldukça İncelmiş Yapıdaki Tek Katlı Epitele Sahip Endometrial Bezler.



Şekil 4-33: Grup 3'teki Folliküler Fazdaki Bir Kedide Tek Katlı Kübik Epitele Sahip Endometrial Bezler.



Şekil 4-34: Grup 3'teki Luteal Fazdaki Bir Kedide Yalancı Çok Katlı Epitele Sahip Uzamış Endometrial Bezler.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda tüm kedilerde 9,5 mg'lık deslorelin implantı uygulanmış ve 18 ay boyunca östrusların baskılanması için herhangi bir ek doza ihtiyaç duyulmamıştır. İmplantasyonun başlangıcında iki kedide oluşan östrus indüksiyonu fazından sonraki 18 ay boyunca, bir kedideki implantasyondan 3,5 ay sonra görülen östrus belirtileri haricinde davranışsal östrus gösteren kedi olmamıştır. İlk defa 16,5 ay sonra Grup 1'deki bir kedinin fekal östradiol seviyelerinin pik seviyeye ulaşmış olması deslorelinle oluşturulan sterilizasyonun geri dönüşümlü olduğunu göstermektedir. Munson ve arkadaşları (2001) ise, kedilerde yaptıkları çalışmada 6 mg'lık deslorelin implantlar kullanmışlar, on kediye yapılan uygulama sonrasında bir kedinin fekal analizinde östrus benzeri östradiol artışlarının saptanması 155'inci günde ikinci bir deslorelin tedavisine sebep olmuş ve beş kediye yeniden 6 mg'lık deslorelin implantı uygulamışlardır. Tek doz 6 mg deslorelin uygulanan kediler sırasıyla 8, 8.5, 11 ve 14'üncü aylarda tedavi sonrası ilk fekal östradiol piki göstermişlerdir. İki kere 6 mg deslorelin uygulanan kediler ise sırasıyla 7.5, 11 (iki kedi), 11.5 ve 14. aylarda ilk östradiol pikini göstermişlerdir. On dört aylık çalışma sonrasında iki kedi tamamen normal siklik ativitelerine dönmüşler, iki kedide düzenli olmayan küçük östradiol pikleri görülmüş, altı kedide ise hiçbir siklik aktivite görülmemiştir. Munson ve arkadaşlarının da ulaştığı sonuçlar göstermektedir ki, GnRH analoğu deslorelin implantları dişi kedilerde ovarien aktiviteyi etkin bir biçimde baskılamaktadır ve deslorelin tedavisine verilen yanıt bireyden bireye değişebilmektedir. Çalışmamızdaki deslorelin uygulanan kedilerin hiçbiri, ortamda sürekli olarak bir erkek kedi bulundurulmasına rağmen on sekiz ay boyunca fiziksel olarak siklik aktivite göstermemişlerdir.

Çalışmamızda deslorelin implantasyonlarından sonra implantasyon sahalarında herhangi bir enflamasyon vb. bir durum gözlenmedi. Sadece implantasyon öncesi traş edilen bölgede bir kedide kaşınma sonucu uzun süreli iyileşmeyen yara, iki kedide ise yine traşa bağlı olduğu düşünülen deride pullanma görüldü. Trigg ve arkadaşları da (2001) yaptıkları çalışmada, implantasyon sahasında enflamasyonel bir reaksiyon veya ödeme rastlamamışlardır. Munson ve arkadaşları (2001) ise kedilerde (n=20) yaptıkları çalışmada, implantasyon sonrası 3-5 gün süreyle implantasyon bölgesinde hafif ödem gözlemlemişlerdir. İmplantasyon sonrası on gün süreyle yaptığımız gözlemlere göre

kediler implantasyonları iyi tolere etmişler ve implantasyon sahalarında herhangi bir enfeksiyon durumu şekillenmemiştir.

Araştırmacılar (Trigg ve ark, 2001, Wright ve ark. 2001), yalnız deslorelin uygulamasının kısa zamanda östrus indüksiyonu sağlanması açısından yararlı bulurken, biz çalışmamızda yalnız deslorelin uygulanan on dört kediden sadece ikisinde östrus gözlemledik.

Bertschinger ve arkadaşları (2001) iki dişi aslana (12 mg) ve bir dişi leopara (6 mg) deslorelin implantı uygulamışlar, uygulamadan iki gün sonra her iki aslanda da uygulamaya bağlı olarak östrus indüksiyonu görülürken, leopar östrus şüpheli bulunmuştur. Östrus gösteren aslanlar çiftleşmemişlerdir. Yine sekiz çitaya deslorelin implantı (6 mg) uygulanmış, sekiz çitadan dördü uygulama sonrası 5-14. günlerde östrus göstermiş fakat çiftleşmeye izin vermemişlerdir.

Çalışmamızda implant uygulamasından yaklaşık iki gün sonra Grup 1'deki 9,5 mg deslorelin implantı uygulanan iki kedide kuyruğu yana alma, lordoz, aşırı miyavlama ve sürtünme gibi belirgin östrus semptomları görülmüş, bu kedilerin ikisi de on gün kadar erkek kedileri kabul edip çiftleşmişlerdir. Bu esnada gün içerisinde dönüşümlü olarak en az iki erkek kediyle *ad libitum* olarak çiftleştirmelerin yapılmasına rağmen iki kedide de gebelik bulgusuna rastlanılmamıştır. Diğer deslorelin uygulanan Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerde de fekal östradiol seviyeleri pik yapmasına rağmen bu kediler östrus davranışları göstermemişler ve çiftleşmemişlerdir. Wright ve arkadaşlarının (2001) köpeklerde yaptıkları çalışmada ise, deslorelin implantasyonunun ardından görülen proöstrus-östrus benzeri belirtilerin önüne geçilebilmesi için megestrol asetat kullanılmış, hiç MA verilmeyen, sadece deslorelin implantı uygulanan gruptaki dokuz köpekten dört köpek deslorelin uygulaması sonrası östrus göstermiştir. Bu köpekler fertilitesi kontrol edilmiş, normal sperma yapısına sahip köpeklerle östrustayken çiftleştirilmiş, çiftleştirilen köpeklerden iki tanesi gebe kalmış, fakat gebelikler 40. gün civarında abortla sonuçlanmıştır. Wright ve arkadaşları (2001), anöstrusta iken deslorelin uygulamalarının fertil bir çiftleşmeyle ve gebelikle sonuçlanabileceğini, oluşan gebeliklerin deslorelinin fertil bir östrus oluşturabileceğini kanıtladığını ve deslorelinin bu amaçla kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Gebeliklerin abortla sonuçlanmasının sebebini ise deslorelinin downregülasyon sonucu plazma LH seviyelerini düşürmesine ve bu nedenle korpus luteumun gerilemesine bağlamışlardır.

Çalışmamızda her ne kadar çiftleştirmelerden bir ay sonra yapılan ultrasonografik muayenelerde gebeliğe rastlanılmadıysa da embriyonik gelişme olup olmadığı belirlenememiştir, ancak Wright ve arkadaşlarının (2001) köpeklerdeki bulgularının tersine iki kedide de gebelik olmayışı, ultrasonografide uterusun involusyonuna dair bir bulgu bulunmayışı, kedilerde yüksek dozda uygulanan deslorelinin gebeliği önleyici veya erken dönemdeyken sonlandıracağını göstermesi açısından faydalıdır.

Corbin ve Beattie'nin (1975) sıçanlarda yaptığı çalışmada, çiftleşmelerin ardından 1-7. günlerde subkutan olarak 1000 mcg/sıçan dozunda verilen LRH sıçanlarda gebeliği %100 engellemiştir (kontraseptif etki). Subkutan veya peros olarak 7-12. günlerde 1000 mcg/sıçan dozunda verilen günlük dozlar ise gebelikleri durdurmuş ve sonlandırmıştır (interseptif etki). Subkutan olarak 1-6. günlerde 1000 mcg/kg dozunda verilen LRH gebeliği %80 oranında engelleyebilmiştir. LRH subkutan veya oral olarak dişi sıçanlara gestasyon periyodunun değişik günlerinde verildiğinde gebeliğe mani olabilmektedir. Corbin ve Beattie'nin (1975) çalışmasıyla elde edilen sonuçlar göstermektedir ki LRH çiftleşme sonrası kontraseptif etkiye sahiptir. Bu kontraseptif etki muhtemelen hipofizyal-ovarien steroid-uterus ekseninin aşırı uyarımıyla ve/veya LRH'nın direkt hipofiz dışı (uterus) etkileriyle oluşmaktadır.

Çalışmamızda deslorelin uygulamasından sonra görülen östrus benzeri indüksiyon fazının önüne geçebilmek için 5mg/kedi dozunda iki haftada bir olmak üzere -14, 0 ve +14. günlerde üç kere oral olarak MA kullandık. Grup 2'de MA ve deslorelin uygulanan kedilerden hiçbirinde östrus belirtileri gözlenmemesine rağmen, bu gruptaki kedilerde de Grup 1'deki kediler gibi deslorelin implantasyonu sonrası fekal östradiol değerleri bir kedi (#2) hariç tüm kedilerde pik seviyelere ulaşmıştır. Deslorelin uygulamasından 18 saat önce uygulanan MA'nın deslorelin uygulamasından sonra görülen fekal östradiol pikini önleyemediği fakat bu gruptaki kedilerde fekal östradiolü Grup 1'deki kedilere göre daha düşük seviyede tutabildiği saptanmıştır. Deslorelin uygulamalarından sonra Grup 2'deki kedilerde fekal östradiol seviyeleri Grup 1'deki kedilere göre daha çabuk bazal seviyelere düşmüş ve deslorelin uygulamasından sonra östrus davranışları görülmemiştir. Wright ve arkadaşları (2001) ise yaptıkları çalışmada MA grubunu ikiye ayırmışlar, iki ayrı doz olarak MA uygulaması yapmışlar, 1 mg/kg vücut ağırlığına MA verilen on köpekten dördünde deslorelin implantasyonundan sonra proöstrus-östrus belirtileri, 2 mg/kg vücut ağırlığına MA verilen köpeklerden ise

hiçbirinde östrus belirtilerinin görülmemesinden dolayı MA ile yapılan östrus baskılanmasının doza bağlı bir sonuç verdiğini belirtmişlerdir.

Corrada ve arkadaşları da (2006) anöstrustaki dişi köpeklerde deslorelin implantının oluşturacağı östrus indüksiyonunun önüne geçebilmek için megestrol asetat kullanmışlar ve köpekleri beş gruba ayırmışlardır. Plasebo implant, megestrol asetat (2 mg/kg'a sekiz gün boyunca), deslorelin implant (Suprelorin, 10 mg), megestrol asetat (deslorelin uygulamasından bir gün öncesinden başlanarak 2 mg/kg'a sekiz gün boyunca) ve deslorelin implantı, megestrol asetat (deslorelin uygulamasından dört gün öncesinden başlanarak 2 mg/kg'a sekiz gün boyunca) ve deslorelin implantı şeklinde uygulamalara tabi tutulan anöstrustaki köpeklerde östrus indüksiyonu sırasıyla %0, 0, 100, 50 ve 10 olarak bulunmuştur. Buna göre deslorelin implantasyonundan dört gün öncesinden başlanarak megestrol asetat kullanımını östrus belirtilerini önlemesi açısından diğer uygulamalara göre faydalı bulmuşlar fakat bu iki ilacın kombine edilerek kullanılmasında yine de daha iyi bir zamanlamaya ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada MA uygulanan Grup 2'deki kedilerden hiçbirinde deslorelin implantasyonu sonrası östrus davranışları görülmezken fekal östradiol konsantrasyonları deslorelin implantasyonundan bir gün sonra Grup 1'deki sadece deslorelin uygulanan kedilere göre düşük bulunmuştur ($p<0,01$). Yine Grup 1'de iki kedinin (#1, #18) deslorelin implantasyonundan iki gün sonra östrus gösterip çiftleşmesi, bir kedinin (#17) ise 1,5-2 ay kadar östrus benzeri davranışlar göstermiş olması ve bu gruptaki kedilerde östrus davranışlarının implant uygulaması sonrasında daha uzun sürmesi megestrol asetatın kedilerde deslorelin implantlarıyla beraber uygulandığında olumlu sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Grup 1'deki bir kedinin (#14) tüm çalışma dönemi boyunca fekal östradiol seviyelerinin yüksek olması, muhtemelen bu kedinin deslorelin implantasyonundan hiç etkilenmediğini göstermektedir. Araştırmacıların (Herbert ve Trigg, 2005) bildirdiğine göre GnRH'ya verilen yanıt bireyden bireye değişebilmekte ve GnRH'ya ve agonistlerine karşı genetik farklılıklarından dolayı duyarsız olan bireyler değişik hayvan populasyonları içerisinde bulunabilmektedir. Fekal östradiol seviyelerindeki artışlardan farklı olarak kedinin deslorelin implantasyonundan sadece 3,5 ay sonra bir kez östrus göstermesi ve çalışmanın devamı boyunca bir daha östrus davranışları göstermemesi bu

kedinin hiyerarşik olarak grup içinde alt seviyelerde bulunması ve genç, heyecanlı ve ürkek bir yapıya sahip olmasına bağlanmıştır.

Uterotropik çalışmalara göre LRH *immature* farelere verildiğinde doza bağlı olarak ovaryum ve uterus ağırlığını arttırmıştır. Hipotalamik hormon tarafından oluşturulan doza bağlı olarak uterus ağırlığındaki artış, ovariektomize farelerde ve hipofizektomize ratlarda gösterilmiştir. Corbin ve Beattie'nin (1975) bu sonuca ulaşmalarının sebebi büyük olasılıkla LRH'yı kısa süreli uygulamaları ve LRH'nın başlangıçtaki uyarılma fazının fareler üzerinde etkisini göstermiş olmasıdır. Bu sebepten ötürü hipofiz ön lobundaki gonadotrop hücreleri uyarılır, gonadotropinler akut olarak salınır ve gonadotropinlerin etkisi altındaki ovaryum ve uterusun ağırlığı artar.

Çalışmamızda deslorelin uygulaması yapılan Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerde ovaryum ve uterus ağırlıklarını, kontrol kedilerinin ovaryum ve uterus ağırlıklarına göre oldukça düşük bulduk ($p<0,01$).

Herbert ve arkadaşlarının (2004a) deslorelin implantının dişi tammar wallabilerde folliküler gelişim, doğum ve doğum sonrası östrus üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada araştırmacılar sekiz wallabiye 5 mg deslorelin implantı diğer sekiz wallabiye ise plasebo implant uygulamışlar ve wallabileri yirmi beş gün sonra takibe almışlar ve her gruptan ilk önce çiftleştiği belirlenen beş wallabiyi sakrifiye etmişlerdir. Nekropside elde edilen reprodüktif kanallar tartılmış, kontrol grubundaki hayvanlarda lateral ve median vagina kompleksi deslorelin tedavisi gören hayvanlara göre oldukça ağır bulunmuştur ($p<0,01$). Kontrol grubundaki hayvanların uteruslarının da deslorelin uygulanan hayvanlara göre ağır bulunduğu fakat gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu belirtilmiştir.

Takeyoshi ve arkadaşları (2002) ise çalışmalarında GnRH sekresyonunu bloke ederek gonadlardan endojen östrojen sekresyonunu durduran, uzun etkili bir GnRH antagonisti olan antide'i 19 günlük *immature* dişi sıçanlara 10 mg/kg dozunda tek doz subkutan olarak uygulamışlar (bu şekilde uygulandığında antide'in iki haftadan fazla süreyle etkisi olduğu bildirilmektedir), kontrol olarak ayrılan sıçanlara ise sadece plasebo enjeksiyon yapmışlardır. Sıçanlar ekssanguinöz yöntemle eter anestezisi altında doğum sonrası 23., 30. veya 37. günlerde sakrifiye edilerek, ovaryumları ve uterusları alınmıştır. Doğum sonrası 23. ve 30. günlerde sakrifiye edilen antide uygulaması yapılmış hayvanlarda, kontrol hayvanlarına göre uterus ağırlıklarında önemli farklılık

bulunmuştur ve uterus ağırlıkları kontrollere göre oldukça düşüktür. Yine antide uygulaması yapılan hayvanlarda ovaryum ağırlıkları 23., 30. ve 37. günlerde kontrol hayvanlarına göre oldukça düşük bulunmuştur. Antide ve kontrol grupları arasındaki vücut ağırlığı farkı önemsiz bulunmuştur.

Çalışmamızın başlangıcında kedilerin vücut ağırlıkları ölçülmemiş olmasına rağmen, çalışma süresince Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerin kilo almaya meyilli oldukları ve bazı kedilerin kilolarının belirgin ölçüde arttığı belirlenmiştir. Deslorelin uygulamasından on sekiz ay sonra yapılan vücut ağırlığı ölçümleri gruplar arasında farklılık göstermiş, Grup 3'teki kedilerin vücut ağırlıkları Grup 1 ve Grup 2'deki kedilere göre daha az bulunmuş ve bu farklılık istatistiki olarak önemlilik göstermiştir ($p<0,05$). Kanımızca, Grup 1 ve 2'deki kedilerin Grup 3'teki kedilere göre daha ağır olmalarının sebebi deslorelin uygulaması sonrasında bazı kedilerde mama tüketiminin artması, fakat çoğunlukla kedilerdeki genel aktivasyonun azalmasıdır. Donaubauer ve arkadaşları da (1987) Wistar sıçanlarına 24 ay boyunca her gün buserelin uygulamışlar ve bu uygulamalar sonucunda erkek sıçanlarda vücut ağırlığı artışı normal seyrederken dişi sıçanlarda vücut ağırlıkları kontroldeki hayvanlara göre önemli ölçülerde artmıştır. Yem tüketiminde ise gruplar arasında herhangi bir farklılık görmemişlerdir.

Ovaryumların makroskobik bakısında Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerin hiçbirinde folliküler yapılar veya korpus luteuma rastlanmazken, kontrol grubu Grup 3'teki kedilerde ovaryumların aktif olduğu ve korpus luteumlar ve bazı kedilerde ise folliküler yapılar içerdiği gözlenmiştir. Makroskobik bulgulara paralel olarak mikroskobik incelemelerde de Grup 1 ve Grup 2 deki kedilerden üç kedi (#13, #14, #26) hariç hiçbir kedide korpus luteuma ve graaf follikülüne veya tersiyer folliküle rastlanmaması ve sadece bazı kedilerde erken dönem sekonder follikül izlenmesi, bu gruplardaki kedilerde ovarien dokunun inaktif yapıya sahip olduğunu göstermektedir. On üç ve 14 numaralı kedilerde daha önce bu kedilerde spontan ovulasyon oluştuğunu gösteren ve ikişer adet saptanan korpus luteumlar 3 mm'den küçük çapta olduğu için Chatdarong ve arkadaşlarının (2005) belirttiği gibi inaktif korpus luteum dokusu olarak değerlendirilmiş ve gelişmekte olan antral folliküler yapısıyla beraber ovaryum dokusunun mikroskobik yapısı bu kedilerdeki artan fekal östradiol değerleriyle paralellik göstermiştir. Grup 3'teki kedilerin ovaryumlarının çeşitli safhalardaki antral

follikülere ve aktif (≥3 mm) veya gerilemekte olan korpus luteumlara sahip olması ise bu kedilerdeki ovaryumların aktif (folliküler veya luteal) olduğunu göstermektedir.

Ovaryumların içerdiği mikroskobik yapılara bağlı olarak aktif veya inaktif olarak değerlendirilmelerinin yanında, deslorelin uygulaması yapılan kedilerde ilaç uygulamasının ovaryumlar üzerine herhangi bir karsinojenik etkisi olduğunu gösterir kesin bir bulguya rastlanılmamıştır. Ancak deslorelin uygulaması yapılan bazı kedilerin ovaryumlarında interstisyel endokrin hücre hiperplazisi görülmüştür. On sekiz ay boyunca Grup 1 ve Grup 2'deki kedilerde follikülogenezisi başarılı bir şekilde baskılayan düşük salınımlı 9,5 mg'lık deslorelin implantlarının neden uygulama yapılan bazı kedilerde interstisyel endokrin hücre hiperplazisine sebep olduğu veya gerçekten deslorelin uygulamasının sonucunda mı bu hücrelerin hiperplaziye uğradığı saptanamamıştır. Greaves (2007), iki yıl boyunca her gün bir GnRH agonisti olan buserelin'in Wistar sıçanlarına yüksek dozda subkutan olarak verilmesiyle, erkek sıçanların testis dokusunda testis dokusunun endokrin interstisyel hücreleri olan Leydig hücrelerinin kontrol hayvanlarıyla karşılaştırıldığında yüksek oranlarda hiperplaziye uğradığını belirtmektedir. Atrofik seminifer tubullerinin arasında artan miktarlardaki Leydig hücreleri, çalışmamızda ovaryum dokusunda karşılaştığımız inaktif korteks ve artan bağ dokusu ve interstisyel hücre yapılanmasıyla benzerlikler göstermektedir. Buserelin uygulanan sıçanlarda Leydig hücrelerindeki diffüz hiperplaziyle beraber bazı hayvanlarda Leydig hücre neoplazmlarının görüldüğü, fakat neoplazmların sıçanlara uygulanan buserelinin dozuna bağlı olmadığı belirtilmiştir. Elde edilen bu bulguların buserelin tedavisine verilen farmakodinamik bir yanıt olduğu ve hipofizer gonadotropinleri tükettiği gösterilen buserelinin uzun süreli sıçanlara uygulanmasının ardından gonadal LH ve prolaktin reseptörlerinin kaybına yol açtığının düşünüldüğü belirtilmektedir (Greaves, 2007 p. 696). Perez ve arkadaşları (1999) 27'si koloni, 23'ü ise yabani kedi olmak üzere toplam 50 kediye ovariohisterektomi operasyonu yapmışlar ve elde edilen ovaryumları makroskobik ve mikroskobik olarak incelemişlerdir. Genel olarak yabanıl kedilerin ovaryumları, koloni kedilerine göre küçük bulunmuş, yabanıl kedilerin ovaryumlarının içerdiği ovarien interstisyel hücre sayısı ise koloni kedilerine göre hemen hemen dört kat fazla bulunmuştur. Atretik folliküllerin teka interna hücrelerinin ovarien interstisyel hücrelere dönüştüğü savının yaptıkları çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu olduğu görüşünde birleşen araştırmacılar, ovarien intestisyel hücrelerin steroidojenik aktivite göstererek hipotalamo-hipofiziyer sistemi

etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Deslorelinin kedilerde ovarien interstisyel hücreler üzerine olan etkisinin bulunabilmesi için daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar göstermektedir ki, deslorelin asetat dişi kedilere subkutan olarak uygulandığında ovarien folliküler aktiviteyi erkek kedi varlığında uzun bir dönem boyunca etkin bir şekilde baskılamaktadır. Follikülogenesisin baskılanması tüm çalışma (18 ay) boyunca devam etmiştir. Bir kedideki östradiol konsantrasyonlardaki artış implant etkilerinin geriye dönüşümlü olduğunu göstermektedir. Çalışmada deride irritasyona yol açmayan deslorelin implantlarının anesteziye ve teknik ekipmana ihtiyaç duyulmadan kısa sürede çok sayıda kediye rahatlıkla uygulanabileceği, tek başına veya megestrol asetatla kombine edilerek kullanıldığında ovarien aktiviteyi uzun sürelerde baskıladığı, implantasyonun ilk günlerinde östradiol konsantrasyonu ve nadirde olsa östrusu indüklemesine rağmen, kedilerde reprodüksiyonun kontrolünde önerilebilir özellikte olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Adams, T.E. (2005). Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals. *Animal Reproduction Science,* **88**, 127-139.

Alaçam, E. (1998).Karnivorlarda Üreme Süreci ve Sorunları. İçinde: H.Y. İmren (Ed), *Kedi ve Köpek Hastalıkları.* Ankara, Türkiye: Medisan Yayınevi; 437-448.

Aspden, W.J., Jakson, A., Trigg, T.E. ve D' Occhio M.J. (2003). Pituitary expression of LHβ- and FSHβ-subunit mRNA, cellular distrubition of LHβ- subunit mRNA and LH and FSH synthesis during and after treatment with a gonadotropin releasing hormone agonist in heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, **15**, 149-156.

Atkinson, S., Ragen, T.J., Gilmartin, W.G., Becker B.L. ve Johanos T.C. (1998). Use of GnRH agonist to supress testesterone in wild male hawaiian monk seals *(Monachus schauinslandi). General and Comparative Endocrinolgy*, **112**, 178-182..

Axner, E. (2006). Practical approach of physiology of reproduction in cats. *5th Biannual Congress, European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR), Budapest, Hungary, 7-9 April 2006,* 56-59.

Banks, D.R. (1986). Physiology and endocrinology of the feline estrous cycle. İçinde: V.M. Shille (Cons.Ed.), *Morrow/2 Current Therapy in Theriogenology.* Philadelphia, USA; 795-801.

Banks, D.H. ve Stabenfeldt, G. (1982). Luteinizing hormone release in the cat in response to coitus on consecutive days of estrus. *Biology of Reproduction,* **26**, 603-611.

Bertschinger, H.J., Asa, C.A., Calle, P.P., Long, J.A., Bauman, K., De Matteo, K., Jöchle, W., Trigg, T.E. ve Human, A. (2001). Control of reproduction and sex related behavior in exotic wild carnivores with the GnRH analogue deslorelin preliminary observations. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, **57**, 275-283.

Broekmans, F.J. (1996). GnRH agonists and uterine leimyomas. *Human Reproduction*, **11**, 3-25. (Abstact).

Broers, P. (Ed) (1993). *Compendium of Animal Reproduction.* Cambridge, UK: Intervet International B.V.

Brown, J.L. (2006). Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenonolgy,* **66**, 25-36.

Chatdarong, K., Rungsipipat, A., Axner, E. ve Linde-Forsberg, C. (2005). Hysterographic appearance and uterine histology at different stages of the reproductive cycle and after progestagen treatment in the domestic cat. *Theriogenology,* **64**, 12-29.

Concannon, P., Hodgson, B. ve Lein D. (1980). Reflex LH relase in estrous cats following single and multiple copulations. *Biology of Reproduction,* **23**, 111-117.

Concannon, P.W., Lein, D.H. ve Hodgson, B.G. (1989). Self-Limiting reflex luteinizing hormon release and sexual behavior during extended periods of unrestirected copulatory activity in estrous domestic cats. *Biology of Reproduction,* **40**, 1179-1187.

Corbin, A. ve Beattie, C.W. (1975). Post-coital contraceptive and uterotrophic effects of luteinizing hormone releasing hormone. *Endocrine Research Communications,* **2**, 445-458. (Abstract).

Corrada, Y., Hermo, G., Johnson, C.A., Trigg, T.E. ve Gobello, C. (2006). Short-term progestin treatments prevent estrous induction by a GnRH agonist implant in anestrous bitches. *Theriogenology,* **65**, 366-373.

D' Occhio, M.J., Aspden, W.J. ve Whyte, T.R. (1996). Controlled, reversible supression of estrous cycles in beef heifers and cows using agonists of gonadotopin-releasing hormone. *Journal of Animal Science*, **74**, 218-225.

D' Occhio, M.J., Fordyce, G., Whyte, T.R., Aspden, W.J. ve Trigg, T.E. (2000). Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. *Animal Reproduction Science*, **60-61**, 433-442.

D'Occhio, M.J., Fordyce, G., Whyte, T.R., Jubb, T.F., Fitzpatrick, L.A., Cooper, N.J., Aspden, W.J., Bolam, M.J. ve Trigg, T.E. (2002). Use of GnRH agonist implants for long term supression of fertility in extensively managed heifers and cows. *Animal Reproduction Science*, **74**, 151- 162.

Donaubauer, H.H., Kramer, M., Krieg, K., Mayer, D., Von Rechenberg, W., Sandow, J. ve Schütz, E. (1987). Investigations of the carcinogenity of the LH-RH

analog buserelin (HOE 766) in rats using the subcutaneous route of administration. *Toxicological Sciences*, **9**, 738-752. (Abstract).

Dursun, N. (1996). *Veteriner Anatomi II.* (3rd Ed.). Ankara, Türkiye: Medisan Yayınevi.

Ellenport, C.R. (1975). Urogenital System. İçinde: R. Getty (Ed), *Sisson and Grossman's The Anatomy of The Domestic Animals.* (5th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1576-1584.

Feldman, E.C. ve Nelson, R.W. (2004). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction.* (3rd ed.). Missouri, USA: Saunders, Elseiver Inc.

Ginther, O.J.(1992). *Reproductive Biology of The Mare.* (2nd ed.). Wisconsin, USA: Equiservices.

Gobello, C. (2007). New GnRH analogs in canine reproduction. *Animal Reproduction Science,* **100**, 1-13.

Gorbman, A. ve Sower S.A. (2003). Evolution of the role of GnRH in animal *(metazoan)* biology. *General and Comparative Endocrinology*, **134**, 207-213.

Greaves, P. (2007). *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies.* (3rd ed.) USA: Elseiver Inc.

Gudermuth, D.F., Newton, L., Daels, P. ve Concannon, P. (1997). Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement,* **51**, 177-184.

Hazum, E. ve Conn, P.M. (1988). Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone (GnRH) action. I. The GnRH receptor. *Endocrine rewievs*, **9**, 379-386.

Herbert, C.A., Trigg, T.E. ve Cooper, D.W. (2004). Effect of deslorelin implants on follicular development, parturition and post-partum oestrus in the tammar wallaby (*Macropus eugenii*). *Reproduction*, **127**, 265-273.

Herbert, C.A., Trigg, T.E., Renfree, M.B., Shaw, G., Eckery, D.C. ve Cooper, D.W. (2004). Effects of gonadotropin releasing hormone agonist implant on

reproduction in a male marsupial, *Macropus eugenii*. *Biology of Reproduction,* **70**, 1836-1842.

Herbert, C.A. ve Trigg, T.E. (2005). Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science*, **88**, 141-153.

Hoffmann, B. ve Schuler, G. (2000). Receptor blockers-General aspects with respect to their use in domestic animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, **60-61**, 295-312.

Huckle, W.R. ve Conn, P.M. (1988). Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone action. II. The Effector System. *Endocrine Rewievs*, **9**, 387-395.

Hurni, H. (1981). Daylenght and breeding in the domestic cat. *Labaratory Animals,* **15**, 229-233.

Konstanski, J.W., Jiang, G., Dani, B.A., Murty, S.B., Qui, W., Schrier, B., Thanoo, B.C. ve De Luca, P.P. (2001). Return to fertility after extended chemical castration with a GnRH antagonist. *BMC Cancer*. http://www.biomedcentral.com/1471-2407/1/18.

Kustritz, M.V.R. (2005). Reproductive behavior of small animals. *Theriogenology,* **64**, 734-746.

Lapolt, P.S., Tilly, J.L., Aihara, T., Nishimori, K. ve Hsueh, A.J.W. (1992). Gonadotropin induced up- and down regulation of ovarian follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene expression in immature rats: Effects of pregnant mare's serum gonadotropin, human chorionic gonadotropin, and recombinant FSH. *Endocrinology,* **130**, 1289-1295.

Little, S. (2003). The feline estrous cycle and investigating infertility in the queen. *Tuft's Canine and Feline Breeding and Genetics Conference.*

Little, S. (2005). *Feline Reprodution and Breeding Management.* Erişim tarihi 17.10.2007, http://www.tica-uk.org.uk/little_reproduction_2005.pdf.

Lombardi, Florio, Pagnini, Crispino ve Avallone (1999). Ovarian function supression with a GnRH analogue: D-ser (But[t]) [6]-Arzgly [10]-LHRH (Goserelin) in hormone dependent canine mammary cancer. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, **22**, 56-61. (Abstract).

Long, S. (2006). *Veterinary Genetics and Reproductive Physiology*. Philadelphia, USA: Butterworth Heinemen, Elseiver Inc.

Michel, C. (1993). Induction of oestrus in cats by photoperiodic manipulations and social stimuli. *Labaratory Animals,* **27**, 278-280.

Millar, R.P. (2005). GnRHs and GnRH receptors. *Animal Reproduction Science,* **88**, 5-28.

Metallinou, C., Asimakopoulos, B., Schröer, A. ve Nikolettos, N. (2007). Gonadotropin-Releasing hormone in the ovary. *Reproductive Sciences*, **14**, 737-749.

Moghissi, K.S. (2000). A Clinician's guide to the use of gonadotropin-releasing hormone analogues in women. *Medscape General Medicine*. http://www.medscape.com

Munson, L., Baumann, J.E., Asa, C.S., Jöchle, W. ve Trigg, T.E. (2001). Efficacy of the GnRH analogue deslorelin for supression of oestrus cycles in cats. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, **57**, 269-273.

Noakes, D.E. (Ed), Parkinson, T.J. (Ed) ve England, G.C.W. (Ed) (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics.* (8th ed.). UK: W.B. Saunders.

Onay, Ö. (2003). *Kedilerde Ovarian Remnant Syndrome'un (ORS) Teşhis ve Tedavisi Üzerine Çalışmalar.* İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji AbD., Doktora Tezi.

Padula, A.M. (2005). GnRH analogues-agonists and antagonists. *Animal Reproduction Science*, **88**, 115-126.

Pawson, A.J. ve McNeilly A.S. (2005). The pituitary effects of GnRH. *Animal Reproduction Science,* **88**, 75-94.

Pelican, K.M., Brown, J.L., Wildt, D.E., Ottinger, M.A. ve Howard, J.G. (2005). Short term suppression of follicular recruitment and spontaneous ovulation in the cat using levonorgestrel versus a GnRH antagonist. *General and Comparative Endocrinology,* **144**, 110-121.

Pelican, K.M., Wildt, D.E., Ottinger, M.A. ve Howard J.G. (2007). Priming with progestin, but not GnRH antagonist, induces a consistent endocrine response to exogenous gonadotropins in induced and spontaneously ovulating cats. *Domestic*

Animal Endocrinology, Article in press. Erişim 28.11.2007, http://www.sciencedirect.com?ob=ArticleURL&udi=B6T6-4N3PY1P-1&

Perez, J.F., Conley, A.J., Dieter, J.A., Sanz-Ortega, J. ve Lasley, B.L. (1999). Studies on the origin of ovarian interstitial tissue and the incidence of endometrial hyperplasia in domestic and feral cats. *General and Comparative Endocrinology.* **116**, 10-20.

Pineda, M.H. (1989). Reproductive patterns of domestic cats. İçinde: L.E. Mc.Donald (Ed), *Veterinary Endocrinology and Reproduction (4th ed.).* Philadelphia, USA: Lea&Febiger, 487-502.

Rolland, M.R., Hunt, K.E., Kraus, S.D. ve Wasser, S.K. (2005). Assessing reproductive status of right whales (Eubalaena glacialis) using fecal hormone metabolites. *General and Comparative Endocrinology*, **142**, 308-317.

Romagnoli, S. ve Concannon, P.W. (2003). Clinical use of progestins in bitches and queens: A rewiev. *Recent Advances in Small Animal Reproduction* http://www.ivis.org

Romagnoli, S. (2006). Recent advances in feline reproduction. *2006 World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA,* 696-700.

Roth, C., Schricker, M., Lakomek, M., Strege, A., Heiden, I., Lutt, H., Munzel, U., Wuttke, W. ve Jarry, H. (2001). Autoregulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system during puberty: Effects of antagonistic versus agonistic GnRH analogs in a female rat model. *Journal of Endocrinology*, **169**, 361-371.

Roth, T.L., Munson, L., Swanson, W.F. ve Wildt, D.E. (1995). Histological characteristics of the uterine endometrium and corpus luteum during early embryogenesis and the relationship to embryonic mortality in the domestic cat. *Biology of Reproduction,* **53**, 1012-1021.

Samuelson, D.A. (2007). *Textbook of Veterinary Histology.* Missouri, USA: Saunders, Elseiver Inc.

Schally, A.V. (1999). Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides,* **20**, 1247-1262.

Schmidt, P.M., Chakraborty, P.K. ve Wildt, D.E. (1983). Ovarian activity, circulating hormones and sexual behavior in the cat. II Relationships during pregnancy, parturation, lactation and the postpartum estrus. *Biology of Reproduction,* **28**, 657-671.

Silva, T.F.P., Silva, L.D.M., Uchoa, D.C., Monteiro, C.L.B. ve Thomaz, L.A. (2006). Sexual characteristics of domestic queens kept in a natural equatorial photoperiod. *Theriogenology,* **66**, 1476-1481.

Silvestre, F.T. (2003). *Reproductive, Ovarian and Uterine Responses to a GnRH-Agonist (Deslorelin) Implant During and After The Postpartum Summer Heat-Stress Period in Dairy Cattle.* Florida Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

Sontaş, B.H. (2005). *Dişi Köpeklerde Erken Yaşta Uygulanan Total Ovariohisterektomi Operasyonunun Kemik, Davranış ve Gelişim Üzerine Etkileri. İstanbul.* İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji AbD., Doktora Tezi.

Sung, M., Armour, A.F. ve Wright, P.J. (2006). The influence of exogenous progestin on the occurrence of proestrous or estrous signs, plasma concentrations of luteinizing hormone and estradiol in deslorelin (GnRH agonist) treated anestrous bitches. *Theriogenology,* **66**, 1513-1517.

Takeyoshi, M., Sawaki, M., Noda, S., Muroi, T. ve Yamasaki, K. (2002). Effect of gonadotropin-releasing hormone antagonist on ovarian and uterine weights in immature female rats. *Reproductive Toxicology*, **16**, 367-369.

Tanyolaç, A. (1993). *Özel Histoloji.* Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Ders Notları.

Temple, J.L., Millar, R.P. ve Rismann, E.F. (2003). An evolutionarily conserved form of gonadotropin–releasing hormone coordinates energy and reproductive behaviour. *Endocrinology,* **144**, 13-19,

Trigg, T.E., Wright, P.J., Armour, A.F., Williamson, P.E., Junaidi, A., Martin, G.B., Doyle, A.G. ve Walsh, J. (2001). Use of GnRH analogue implant to produce reversible long term supression of reproductive function in male and female domestic dogs. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, **57**, 255-261.

Verstegen, J.P. (1998). Physiology and Endocrinology of Reproduction in Female Cats. İçinde: G. Simpson (Ed), *Manuel of Small Animal Reproduction and Neonatology*. UK: BSAVA; 11-16.

Wierman, M.E., Pawlowski, J.E., Allen, M.P., Xu, M., Linseman, D.A. ve Nielsen-Preiss, S. (2004). Molecular mechanisms of gonadotropin-releasing hormone neuronal migration, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **15**. http://www.sciencedirect.com

Wildt, D.E., Chan, S.Y.W., Seager, S.W.J. ve Chakraborty, P.K. (1981). Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I Relationships during the coitus-induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biology of Reproduction,* **25**, 15-28.

Wright, P.J., Verstegen, J.P., Onclin, K., Jöchle, W., Armour, A.F., Martin, G.B. ve Trigg, T.E. (2001). Supression of the oestrus responses of bitches to the GnRH analogue deslorelin by progestin. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, **57**, 263-268.

Yaman, K. (1996). *Fizyoloji.* Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayını. Bursa, 83.

Yılmaz, B. (1999). *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi*. A. Ü. Veteriner Fakültesi. Ankara, Türkiye: Medisan Yayınevi, 13-20.

Zambelli, D. ve Cunto, M. (2005). Vaginal ve cervical modifications during the estrus cycle in the domestic cat. *Theriogenology,* **64**, 679-684.

ETİK KURUL KARARI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ETİK KURULU
İstanbul University Veterinary Faculty Ethic Committee

Karar No: 2004-94 **01.07.2004**

İlgi: İ. Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlığının 2-2989 sayı ve 24. 06.2004 tarihli yazısı.

Fakültemiz Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.M.Ragıp Kılıçarslan'ın danışmanlığındaki Doktora Öğrencisi T.S. Fatma TOYDEMİR'in sorumluluğunu üstlendiği "Bir GnRH anoloğu olan Deslorelin İmplantının Kedilerde Reprodüksiyona Etkisi" başlıklı araştırma projesi kurulumuz tarafından incelenmiş ve **"Etik Kurul İlkelerine Uygun Bulunmuştur".**

Prof. Dr. Müfit TOPARLAK
Başkan

Prof. Dr. Kemal AK
Başkan Yardımcısı

Doç. Dr. Recep KAHRAMAN
Üye

Doç. Dr. H. Hakan BOZKURT
Üye

Yard. Doç. Dr. Dr. Altan ARMUTAK
Raportör

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Tuğba Seval Fatma	**Soyadı**	Toydemir
Doğ.Yeri	İzmit	**Doğ.Tar.**	22.04.1979
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	17099311900
Email	nurse_vet@yahoo.com	**Tel**	0555 256 29 69/0 212 251 86 29

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi	2000
Lisans	İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi	2000
Lise	Beşiktaş Lisesi	1995

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Veteriner Hekimi	İnci Veteriner Kliniği, Ataköy	2000 yılı 2 ay-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**
İngilizce	Çok iyi	İyi	Çok iyi	67,5

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı	64,8	64,8	64,8

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Word	Çok İyi
Microsft Excel	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınlar:

1. Gürbulak, K., Pancarcı, Ş.M., Ekici, H., Konuk, C., Kırşan, İ., Uçmak, M., Toydemir, S. Use of aglepristone and aglepristone+intrauterine antibiotic for the treatment of pyometra in bitches. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53, 2, 2005, pp.249-255 (7).
2. Toydemir, S. Kedi ve köpek yavrularında operasyon sezaryen sonrası gelişen hipoksi ve bu yavruların ressusitasyonu. *Vetaş Bülten*, 2004
3. Güvenç, K., Toydemir, S., Apaydın, S. Kedide östrustan sonra karşılaşılan fibroepiteliyal meme hiperplazisi olgusu. *Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*, 2 (1), 2006.
4. Ekici, H., Sontaş, B.H., Toydemir, T.S.F., Senmevsim, Ö., Kabasakal, L., İmre, Y. The effect of prepubertal ovariohysterectomy on bone mineral density and bone mineral content in puppies. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53 (4), 2005, 469-478.
5. Ekici, H., Sontaş, B.H., Toydemir, T.S.F., Senmevsim, Ö., Kabasakal, L., İmre, Y. The effect of prepubertal ovariohysterectomy on spine mineral density and mineral content in puppies: A preliminary study. *Research in Veterinary Science*, Volume 82, Issue 1, February 2007, pp.105-109.
6. Güvenç, K., Toydemir, S., Apaydın, S, Şenünver, A.: Danua ırkı dişi köpekte östrusu baskılamak için kullanılan medroksiprogesteron asetattan sonra gelişen pyometra olgusu. *İstanbul Veteriner Bilimleri Dergisi*, Cilt 1, Sayı 1, 2006.
7. Sontaş, B.H., Toydemir, T.S.F., Ekici, H. Surgical and postoperative complications of prepubertal ovariohysterectomy in dogs. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6 (2): 171-174, 2007.
8. Sontaş, B.H, Apaydın, S.Ö., Toydemir, T.S.F., Kaşıkçı, G., Ekici, H. Perineal hernia due to retroflexion of the urinary bladder in a rottweiler bitch during pregnancy. *Journal of Small Animal Practice*, 2008 (Manuscript ID JSAP-2007-0175.R2).

Bildiriler:

1. Güvenç, K., Toydemir, S., Apaydın, S., Şenünver, A.: Danua ırkı dişi köpekte östrusu baskılamak için kullanılan medroksiprogesteron asetattan sonra gelişen pyometra olgusu. III. Ulusal Küçük Hayvan Hekimliği Kongresi, 18-21 Mayıs 2006, Bursa.
2. Güvenç, K., Toydemir, F.S., Sontaş, B.H., Şenünver, A. A cocker spaniel bitch with uterus unicornis (Unilateral cornual agenesis). I. KHVHD "ANADOLUM" Sürekli Eğitim Kongresi, 10-11 Kasım 2006, İstanbul.
3. Ekici, H., Sontaş, B.H., Toydemir, T.S.F., Senmevsim, Ö., Kabasakal, L., İmre, Y. The effect of prepubertal gonadectomy on bone mineral content of lumbar vertebrae in puppies. EVSSAR Congress, Belgium.

Sertifikalar:

1. Pyometra-Neden, Semptom, Teşhis ve Tedavisi/Köpeklerde, Kedilerde İnfertilite Olgusu. Türk Veteriner Hekimleri Birliği, İstanbul Veteriner Hekimleri Odası, Meslekiçi Eğitim Programı, 2003.
2. Köpeklerde Sun'i Tohumlama ve Enfeksiyöz Gebelik Kayıpları. Türk Veteriner Hekimleri Birliği, İstanbul Veteriner Hekimleri Odası, 30 Ekim 2007.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Müzik dinlemek, yürüyüş yapmak, opera ve bale gibi sanatsal faaliyetlere izleyici olarak katılmak.