

## Sütçü İneklerde Erken Postpartum Dönemde GnRH Uygulamalarının Serum LH Düzeyi ile Ovulasyon Üzerine Etkisi

Rıfat VURAL, Şükrü KÜPLÜLÜ

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara-TÜRKİYE

Bülent GÜVEN, Semin ÖZSAR

TAEK, Lalahan Hayvan Sağlığı ve Nükleer Araştırma Enstitüsü, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.09.1996

**Özet:** Bu çalışmanın amacı, ineklerde erken postpartum dönemde GnRH uygulamalarının serum LH düzeyi ile ovulasyon üzerine etkisinin belirlenmesidir.

Çalışmaya alınan 10 adet Holstein inek, uygulama (n=6) ve kontrol (n=4) grubu olarak ayrıldı. Uygulama grubuna postpartum 14. gün intramusküler 0.5 mg gonadotropin salinimini uyarıcı hormon, kontrol grubuna ise 5 ml serum fizyolojik enjekte edildi. Ovaryum aktivitesi ve uterusun konumu hergün yapılan rektal palpasyon ve serum progesteron düzeyleri ölçülerek değerlendirildi. GnRH uygulamalarına LH yanıtı ise uygulamayı izleyen 6 saat içinde bir saat ara ile alınan kan örnekleri ile belirlendi.

GnRH grubunda serum LH düzeyi uygulamayı izleyen ikinci saatte maksimum düzeye (ortalama, 0.47 ng/ml den 24.66 ng/ml ye yükseldi), beş-altıncı saatlerde ise bazal düzeye (ortalama, 0.59 ng/ml) indiği gözlemlendi. Uygulama grubunda çalışmaya alınan tüm ineklerde postpartum 15. günde ovulasyon saptanırken kontrol grubunda ilk ovulasyonlar ortalama 23. günde gözlemlendi. Kontrol grubunda enjeksiyonu izleyen 6 saat içinde LH düzeylerinde değişiklik saptanmadı.

**Anahtar Sözcükler:** GnRH, LH, Erken Postpartum, Sütçü İnek

### The Effect of GnRH Administration on The Serum LH Response and Ovulation in The Early Postpartum Period of Dairy Cows

**Abstract:** The aims of this study were to determine whether GnRH would induce ovulation in dairy cows and to detect the acute changes in the serum luteinizing hormone (LH) after GnRH administration on day 14 postpartum. Ten holstein cows were divided into two groups: group I (n=6) and group II (Control, n=4). The six cows in group I received intramuscularly 0.5 mg gonadarelin and the four cows in group II were given intramuscularly 5 ml saline on day 14 postpartum. Ovarian activity and the size of the previously gravid uterine horn were monitored by rectal palpation and by the measurement of serum progesterone levels. The acute LH release in response to GnRH administration was evaluated from blood samples collected at 0 and 1,2,3,4,5 and 6 hours after injection.

In group I, it was observed that the LH levels peaked within 2 h (from average 0.47 ng/ml to 24.66 ng/ml) and had returned to preinjection concentrations at 6 h (decreased to 0.59 ng/ml). In group II, serum LH levels were unchanged for 6 h after saline treatment. In group II, the first postpartum ovulation was observed on day 23 postpartum, while it was observed on day 15 postpartum in group I.

As a result, it was concluded that GnRH treatment on day 14 postpartum has an adequate stimulative effect on LH release to start an ovulation response in healthy dairy cows.

**Key Words:** GnRH, LH, Early Postpartum, Dairy cows

### Giriş

Süt ineklerinde erken postpartum dönemde ovaryum aktivitesinin başlatılması, doğum ile yeniden gebe kalma aralığının kısaltılması, doğum sonrası ortaya çıkan ovaryum fonksiyon bozukluklarının ve postpartum anöstrusların önlenmesi açısından önemli bulunmaktadır (1,2). Yapılan çalışmalarda (3-6), sorunsuz postpartum dönem geçiren ineklerde ilk spontan ovulasyonun 27.

güne kadar şekillendiği bildirilmektedir. Reprodüktif performansın optimum tutulabilmesi için sıklık aktivitenin postpartum 30. günden önce başlaması gerekmektedir. Ovulasyon için gerekli olan LH salinimini uyarmak amacı ile implant veya enjeksiyon tarzında GnRH uygulamaları postpartum dönemin değişik evrelerinde kullanılmıştır (1).

Alam ve Dobson (7), yaptıkları bir çalışmada, postpartum 1,7,14,21,28,35,42 ve 49'uncu günlerde 20 mikrogram (mcg) GnRH+1 miligram (mg) östrodiol benzoat uygulanan ineklerde en iyi LH salınım yanıtını ve siklik aktivitenin başlamasını 14. günde yapılan uygulamada elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Bosu ve ark. (8), postpartum 15'inci günde retensio sekundinarum olgusu gösteren inekler ile normal postpartum dönem geçiren ineklere 100 mcg gonadoliberin uygulamalarının siklik aktiviteye etkilerini araştırdıkları çalışmada, GnRH uygulamalarının her iki grupta da siklik aktiviteyi başlattığını ve ovaryum kisti rastlantılarını ortadan kaldırdığını belirlemiştir.

Leslie (1), ineklerde postpartum dönemde GnRH enjeksiyonlarını izleyen 30 dakika içinde LH düzeyinde yükselme başladığını, iki saatte en yüksek noktaya ulaştığını ve 4-6 saatte ise bazal seviyeye indiğini belirtmiştir. Araştırmacı, postpartum 14. günde 100 mcg GnRH implantı uyguladığı ineklerde ise serum LH düzeyinin 1.9 ng/ml'den, en yüksek değer olan 15 nanogram/mililitre'ye 4 saatte ulaştığını vurgulamıştır. Uygulamayı izleyen birkaç gün içinde serum progesteron (P4) düzeyindeki artışı, ovulasyon yanıtı olarak kabul etmiş, ayrıca GnRH uygulaması yaptığı grupta ovaryum kistlerine rastlanılmadığını açıklamıştır.

Schams ve ark. (9), ineklerde postpartum 14. günde intramusküler GnRH uygulamalarını izleyen 2. saatte serum LH düzeyinin 35 ng/ml'ye ulaştığı ve 4. saatte ise bazal seviyeye indiğini belirtmektedirler.

Bazı araştırmacılar (1,10), erken postpartum dönemde GnRH uygulamalarının oluşturduğu LH pikinin ovulasyonu sağlayabilmesi için ovaryumda 10 mm'den büyük follükülün bulunması gerektiğini bildirmektedirler. Postpartum ovaryum fizyolojisini inceleyen çalışmalara göre bu boyutlarda follüküllere postpartum 10-14. günlerde rastlandığı belirtilmektedir (11-16).

Bu çalışmanın amacı, erken postpartum dönemde (14. günde), GnRH enjeksiyonlarına alınacak LH yanıtlarının ineklerde siklik aktivitenin erken başlatılması üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

## Materyal ve Metot

Çalışmanın hayvan materyalini Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü Karacabey Tarım İşletmesi'ne ait en az bir

doğum yapmış, iyi bakım ve barınma koşullarında bulunan, herhangi bir reproduktif bozukluk (retensio sekundinarum, güç doğum, prolapsus uteri ve vagina, metabolizma hastalıkları, abomazum deplasmanı, mastitis, vs) geçirmemiş, 10 baş Holstein inek oluşturdu.

Çalışmaya alınan 10 baş ineğin 6 başı uygulama ve 4 başı kontrol grubu olarak ayrıldı. Postpartum 14. günde uygulama grubuna ait ineklere, intramusküler, 0.5 mg GnRH\*, kontrol grubuna ise 5 ml placebo (serum fizyolojik) enjekte edildi.

Postpartum 14. günden başlayarak kontrol ve uygulama gruplarına ait ineklerde ovaryum aktivitesinin izlenmesi ve uterusun involusyon derecesinin belirlenmesi amacıyla, postpartum tohumlanabilir ilk östrus gözlenene kadar, rektal palpasyon uygulandı.

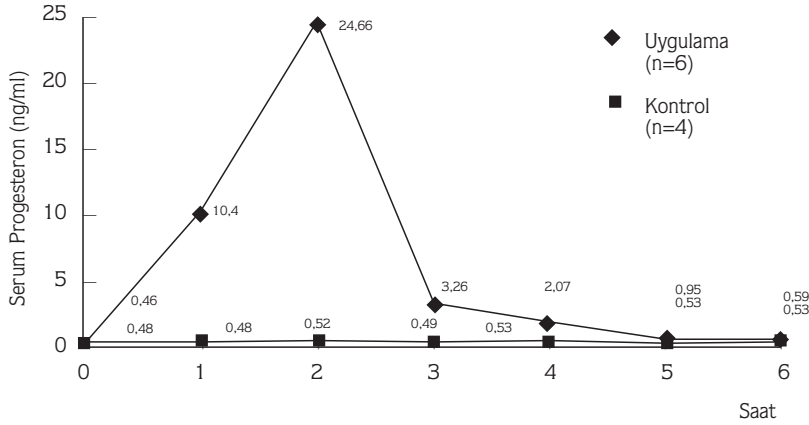
Çalışmaya alınan ineklerin serum LH düzeylerinin saptanması amacı ile enjeksiyondan yarım saat önce başlayarak ve enjeksiyon sonrası 6 saat süresince saat başı V. jugularis'ten kan örnekleri alındı. Ayrıca, progesteron hormon düzeyini belirlemek amacıyla 14. günden itibaren postpartum tohumlanabilir ilk östrus gözlenene kadar her 2 günde bir kan alındı.

Serum LH analizleri, çift antikorlu radioimmunoassay yöntemiyle (17), serumda progesteron analizleri ise enzyneimmunoassay yöntemiyle (15) gerçekleştirildi.

## Bulgular

GnRH hormonu enjeksiyonundan önce deneme grubuna ait kan örneklerinde LH hormonu düzeyi 0.09 ng/ml ile 0.85 ng/ml (ortalama, 0.467 ng/ml) düzeyinde bulundu. GnRH enjeksiyonunu izleyen 1. saatte alınan kan örneklerinde LH düzeyinde önemli bir artış görülerek 1.81 ng/ml ile 24.66 ng/ml arasında değişen değerler elde edildi. LH düzeyinde en yüksek artışa 10.43 ng/ml ile 35.31 ng/ml arasında değişen değerlerle enjeksiyonu izleyen 2. saatte rastlanıldı. Enjeksiyondan sonraki 3. saatte serum LH düzeylerinde azalma eğilimi (ortalama, 3.26 ng/ml) görüldü. 4. saatte bu azalmanın (ortalama, 2.07 ng/ml) devam ettiği 5-6. saatlerde ise bazal seviyeye indiği gözlemlendi. Kontrol grubunda ise enjeksiyon öncesi ve enjeksiyonu izleyen 6 saat içinde serum LH düzeylerinde değişiklik olmayıp ortalama 0.48 ng/ml ile 0.53 ng/ml düzeyinde seyrettiği belirlendi (Şekil 1).

\* Gonadorelin, enj.sol., 100 mcg/ml, Intervet, Fertagyl



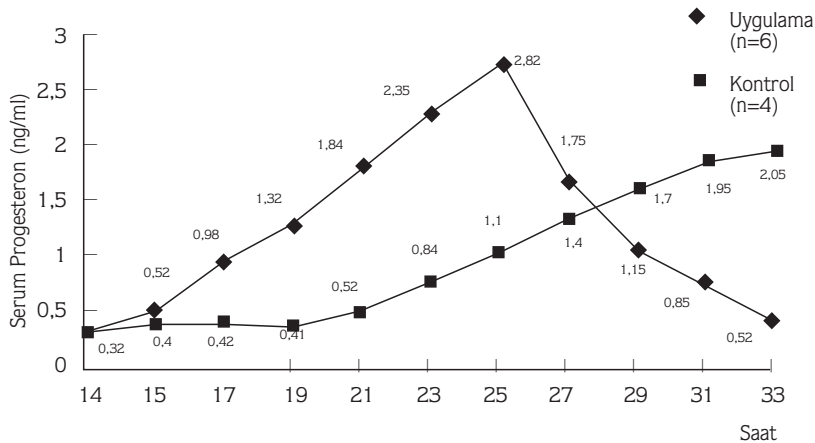
Şekil 1. Postpartum 14. gün 100 µg GnRH ve fizyolojik tuzlu su uygulaması sonrası elde edilen serum LH seviyeleri.

Postpartum 15. günde yapılan rektal palpasyonda, uygulama grubuna ait 6 ineğin GnRH enjeksiyonu sonrası ovulasyon gösterdikleri saptandı. Kontrol grubunda ise ortalama ovulasyon günü 23. gün olarak tesbit edildi. Kontrol grubuna ait bir ineğin ovaryumunda 45. güne kadar devam eden folliküler kist olgusuna rastlanıldı. Rektal palpasyon bulguları arasında dikkati çeken bir nokta ise GnRH enjeksiyonu yapılan hayvanların gebelik geçirmiş korularının kontrol grubuna göre daha süratli involü olduğu saptanmasıdır.

GnRH enjeksiyonu esnasında 1 ng/ml nin altında bulunan serum progesteron değerleri enjeksiyonu izleyen 48. saatten itibaren yükselmeye başladığı postpartum 25. günde maksimum düzeye ulaştığı (ortalama, 2.82 ng/ml), postpartum 31. günde ise 1.0 ng/ml'nin altına düştüğü gözlemlendi. Kontrol grubuna ait 4 hayvandan 3'ünde serum progesteron değerleri, ovulasyondan sonra ise belirgin bir artış gösterdi. Ovaryum kisti bulunan bir olguda, progesteron değerlerinin devamlı düşük seyrettiği gözlemlendi (Şekil 2).

## Tartışma

Birçok araştırmacı (4,7,10,13), ineklerde erken postpartum dönemdeki GnRH uygulamalarının seksüel siklusların östrojenik fazındaki LH bırakılmasına benzer etkiler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, LH bırakılmasına yanıt olarak ovulasyonun şekillenebilmesi için ovaryumda 10 mm'den büyük follikülün bulunması koşulunu ileri sürmektedir. Daha küçük çaptaki folliküllerden düşük düzeyde ovulasyon yanıtı alındığını belirtmektedirler. Bosu ve ark. (8), ineklerde GnRH uygulamalarına ovulasyon yanıtı verebilecek folliküllerin postpartum 10-14. günler arasında şekillendiğini, metabolik hastalıklar, güç doğum, prolapsus uteri, retensio sekundinarum, septik olgular gibi doğum öncesi ve doğum sonrası rastlanılan bozuklukların follikülogenezisi engellediğini vurgulamışlardır. Yapılan çalışmalarda (4,9,10,19), erken postpartum dönemde GnRH hormonunun intramusküler veya intravenöz enjeksiyonunu izleyen ikinci saatte LH düzeyinin ortalama 35 ng/ml'ye ulaştığını, bunun aksine GnRH'in implant



Şekil 2. Postpartum 14. gün 100 µg GnRH ve fizyolojik tuzlu su uygulaması sonrası elde edilen serum progesteron seviyeleri.

formları ile aynı süre içinde LH düzeyinin 15 ng/ml'den yukarıya çıkmadığını bildirmektedirler. Sunulan çalışmada, 0.5 mg GnRH enjeksiyonu yapılan uygulama grubunda ilk saatte serum LH düzeyi yükselmeye başlamış (ortalama, 10.40 ng/ml), ikinci saatte en yüksek değere ulaşmış (ortalama, 24.66 ng/ml) ve üçüncü saatten itibaren düşmeye başlayarak beş-altıncı saatlerde bazal seviyeye inmiştir. Bu bulgular, enjeksiyon tarzında GnRH uygulaması yapılan çalışmalarla (4,9,14) LH'nin bırakılma süresi ve düzeyi açısından benzerlik göstermiştir.

Bosu ve ark. (8), ineklerde postpartum 15. günde GnRH enjeksiyonlarının ovulasyona etkisini araştırdığı normal ve retensio sekundinarumlu iki grup hayvandan hiçbirinin postpartum 15. güne kadar spontan ovulasyon göstermediğini, GnRH uygulamaları sonucu normal ineklerde retensio sekundinarumlu ineklere göre daha fazla başarı elde edildiğini vurgulamışlar ve ovulasyon kontrollerini, rutin rektal palpasyon ve progesteron düzeylerinin değerlendirilmesi ile yaptıklarını açıklamışlardır. Etherington ve ark. (20), Fisher ve ark. (21), Madej ve ark. (22) ve Williams (23), postpartum 14. günde intramusküler GnRH enjeksiyonlarına %50-100 arasında değişen farklı ovulasyon yanıtlarının; hayvanın fizyolojik durumu, emzirme, süt verimi, beslenme ve barınma gibi faktörlere bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada, kontrol grubunu oluşturan dört inekte postpartum ilk ovulasyon ortama 23. günde

şekillenirken, uygulama grubundaki altı inekte postpartum 15. günde %100 oranında ovulasyon düzeyi elde edildi. GnRH uygulamalarının kontrol grubuna göre ovulasyonları çabuklaştırması bu dönemde yapılan uygulamaların etkinliğinin göstergesi olarak kabul edildi. Ayrıca GnRH grubunda %100 lük ovulasyon oranının elde edilmesi diğer araştırmacıların da (2,8,13,14,20), belirttiği gibi çalışmaya alınan ineklerin doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde sorunsuz ineklerin seçilmesine bağlıdır.

Gerek uygulama gerekse kontrol grubunda ovulasyon gününe kadar serum progesteron düzeyleri 1ng/ml'nin altında, ovulasyonu izleyen günlerde ise normal seksüel sikluslardakine benzer artışlar göstermiştir. Serum progesteron düzeylerinin, ovulasyonun rektal palpasyon ile saptandığı günlerden sonraki yükselişi, rektal palpasyon bulgularını doğrulamakta ve sunulan bulgular, ovulasyonu rektal palpasyon ve progesteron düzeyleri ile izleyen Britt ve ark. (10)'nın bulguları, ovulasyonları rektal palpasyon ve ultrasonografi ile izleyen Peter ve Bosu (18)'nin bulguları ile benzerlik göstermiştir.

Sonuç olarak; doğum öncesi ve sonrası, herhangi bir genel veya reproduktif sorunu bulunmayan ineklerde postpartum 14. günde 0.5 mg GnRH uygulamalarının belli bir zaman dilimi içinde serum LH düzeyini artırarak siklik aktivitenin erken başlatılmasında ve bazı ovaryum fonksiyon bozukluklarının giderilmesinde etkili olabileceği kanısına varıldı.

## Kaynaklar

1. Leslie, K.E.: The effects of gonadotrophin releasing hormone administration in early postpartum dairy cows on hormone concentrations, ovarian activity and reproductive performance: A review. Canadian Veterinary Journal 1983; 24: 116-122.
2. Peters, A.R. and Lamming, G.E.: Reproductive activity of the cow in the post-partum period. II endocrine patterns and induction of ovulation. British Veterinary Journal 1984; 140: 269-280.
3. Goodale, W.S., Garverick, H.A., Kesler, D.J., Bierschwal, C.J., Elmore, R.G. and Youngquist, R.S.: Transitory changes of hormones in plasma of postpartum dairy cows. Journal of Dairy Science 1978; 61: 740-746.
4. Hussein, F.M., Eilts, B.E., Paccomonti, D.L. and Younis, M.Y.: Effects of repeated injections of GnRH on reproductive parameters in postpartum anestrous dairy cows. Theriogenology, 1992; 37: 605-617.
5. Savio, J.D., Boland, M.P., Hynes, N. and Roche, J.F.: Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. Journal of Reproduction and Fertility 1990; 88: 569-579.
6. Schams, D., Schallenberger, E., Menzer, Ch., Stangl, J., Zottmeier, K., Hoffman, B. and Karg, H.: Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. Theriogenology 1978; 10(6).
7. Alam, M.G.S. and Dobson, H.: Pituitary responses to a challenge test of GnRH and Oestrodol Benzoate in postpartum and regularly cyclic dairy cows. Animal Reproduction Sciences 1987; 14: 1-9.
8. Bosu, W.T.K., Peter, A.T. and DeDecker, R.J.: Short term changes in serum luteinizing hormone, ovarian response and reproductive performance following gonadotropin releasing hormone treatment in postpartum dairy cows with retained placenta. Canadian Journal of Veterinary Research 1988; 52: 165-171.
9. Schams, D., Hoffer, F., Hoffmann, B., Ender, M.I. and Karg, H.: Effects of synthetic LH-RH treatment on bovine ovarian functions during the oestrus cycle and postpartum period. Acta Endocrinologica 1973; 73: 296-301.

10. Britt, J.H., Kittok, R.J. and Harrison, D.S.: Ovulation, estrus and endocrine response after GnRH in early postpartum cows. *Journal of Animal Science* 1974; 39(5): 915-919.
11. Azzazi, F., Krause, G.F. and Garverick, H.A.: Alteration of the GnRH induced LH release by steroids in postpartum dairy cattle. *Journal of Animal Science* 1983; 57 (5): 1251-1259.
12. Benmrad, M. and Stevenson, J.S.: Gonadotropin-releasing hormone and prostaglandine F 2 alpha for postpartum dairy cows: Estrus, ovulation and fertility traits. *Journal of Dairy Science* 1986; 69: 800-811.
13. Etherington, W. G., Bosu, W.T.K., Martin, S.W., Cote, J.F., Doig, P.A. and Leslie, K.E.: Reproductive performance in dairy cows following postpartum treatment with gonadotrophin-releasing hormone and/or prostaglandine: A field trial. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1984; 49: 261-267.
14. Holt, L.C., Whittier, W.D., Gwazdauskas, F.C. and Vinson, W.E.: Early postpartum reproductive profiles in holstein cows with retained placenta and uterine discharges. *Journal of Dairy Science* 1989; 72: 533-539.
15. Parakash, B.S., Meyer, H.H.D., Schallenberger, E. and van de Wiel, D.F.M.: Development of a sensitive EIA for progesterone determination in unextracted bovine plasma using the second antibody technique. *Journal of Steroid biochemistry* 1987; 28 (6): 623-627.
16. Schallenberger, E.: Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. III. pulzatile changes of gonadotrophin concentrations in the jugular vein postpartum. *Acta Endocrinologica* 1985; 109: 37-43.
17. International Atomic Energy Agency: Laboratory Training Manual on radioimmunoassay in Animal reproduction. IAEA Technical Report Series 1984; No. 223, Vienna.
18. Peter, A.I. and Bosu, W.I.K.: Influence of intrauterine infections and follicular development on the response to GnRH administration in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 1988; 29 (5): 1163-1175.
19. Goodale, W.S., Garverick, H.A., Elmore, R.G., Youngquist, R.S. and Bierschwal, C.J.: Short term changes in LH and LH response to GnRH in postpartum cows. *Journal of Animal Science* 1975; 41: 354-358.
20. Etherington, W.G., Martin, S.W., Dohoo, I.R. and Bosu, W.T.K.: Interrelationships between postpartum events, hormonal therapy, reproductive abnormalities and reproductive performance in dairy cows: A path Analysis. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1985; 49: 261-267.
21. Fisher, M. W., Hale, D.H., Glencross, R.G., Hathorn, D.J., Lamming, G.E. and Peters, A.R.: Secretion of luteinizing hormone and oestrodiol-17 beta postpartum milked and suckled cows. *British Veterinary Journal* 1986; 142: 569-577.
22. Madej, A., Oyedipe, E.O., Edqvist, L.E. and Kindahl, H.: Hormonal interrelationship in postpartum suckled dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavia* 1992; 33(4): 261-271.
23. Williams, G.L.: Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *Journal of Animal Science* 1990; 68: 831-852.