

ANÖSTRÜS DÖNEMİNDEKİ KEDİLERE UYGULANAN GnRH'İN OVARYUM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Halis ÖCAL Muhterem AYDIN

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.06.1999

The Effect of Exogenous GnRH Administration on Ovarian Activity in the Anestrous Cats.

SUMMARY

In the present study, 19 anoestrous cats served as subjects. Vaginal smear was performed before GnRH application and it was confirmed by examination of cell types in the smear that all cats were in the anoestrous period. The animals were arbitrarily divided into four groups. The first group (n=5) received 25 mcg Gonadorelin diasetat (Ovarelin, 2 ml, DİF) and second group (n=5) 25 mcg Fertirelin asetat (Ovalyse, 2 ml, Eczacıbaşı) as a single dose. Group III (n=4) was injected with 25 mcg Gonadorelin diasetat (Ovarelin, 2 ml) twice with four day interval. The remaining cats were included in the control group (n=5).

Behavioral changes of the cats were followed and histology of the vaginal epithelia examined at two day intervals for 12 days after drug administration. At the end of 12th day, ovariehisterectomy was applied on all animals and the ovaries and uterus were examined macroscopically.

It was found that there was pronounced follicular development in parallel with dense populations of intermedier and superficial cells in the Group I and III cats. In addition, GnRH administrations failed to induce oestrous in all animals (except one cat in the third group).

Key words : GnRH, anoestrous, cat.

ÖZET

Bu çalışmada anöstrüs döneminde bulunan 19 erişkin kedi materyal olarak kullanıldı. Kedilerin hepsinden uygulama öncesi vaginal smear örnekleri alındı ve vaginal smeardeki hücre tipleri değerlendirilerek anöstrüste oldukları doğrulandı. Kediler rast gele 4 gruba ayrılarak birinci grubu oluşturan 5 kediye (Grup I) 25 mcg Gonadorelin diasetat (Ovarelin, 2 ml DİF), ikinci grubu oluşturan 5 kediye (Grup II) 25 mcg Fertirelin asetat (Ovalyse, 2 ml Eczacıbaşı) tek doz olarak enjekte edildi. Üçüncü grubu oluşturan 4 kediye (Grup III) dört gün ara ile iki defa 25'er mcg Gonadorelin diasetat (Ovarelin, 2 ml DİF) enjekte edildi. Geri kalan 5 kedi (kontrol grubu) ise kontrol olarak bırakıldı.

Uygulamayı izleyen 12 gün süresince kediler davranışları yönüyle ve ikişer gün ara ile vaginal smear örnekleri alınıp, vagina epitel hücreleri değerlendirilmek suretiyle izlendi. On ikinci gün sonunda tüm kedilere ovariehisterektomi uygulanarak, ovaryumlar ve uterus gözle makroskopik olarak incelendi.

GnRH uygulanan 1 ve 3. gruplardaki kedilerde folliküler gelişmenin daha belirgin olduğu, kedilerdeki folliküler gelişmeye paralel olarak vaginal smearde intermedier ve superfisial hücrelerin yoğunluk kazandığı, ayrıca GnRH uygulamalarının 3. gruptaki bir kedi hariç tüm kedilerde östrüs belirtilerinin ortaya çıkmasında yetersiz kaldığı görüldü.

Anahtar kelimeler : GnRH, anöstrüs, kedi.

GİRİŞ

Kediler mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar olup, yurdumuzda doğal şartlarda yaşayan kediler şubat-eylül ayları arasında siklik aktivite gösterirler. Yapay ışık ve ısıdan etkilenen ev kedilerinde siklik aktivite yıl boyu da devam edebilir (1,11,12,16).

Mevsimsel olarak anöstrüste bulunan kedilerde FSH veya FSH etkisine sahip gonadotropik hormonların farklı doz ve uygulama programıyla eksogen olarak verilmesi sonucu ovaryum faaliyetleri uyarılabilmekte ve çiftleştirilen hayvanlarda gebelik elde edilebilmektedir. Wild ve ark. (19), mevsimsel olarak anöstrüsteki kedilerde ovaryum aktivitesini uyardırmada etkili hormon uygulama programının günlük 2 mg olmak üzere östrüs belirtileri görülünceye kadar kas içi yolla FSH uygulaması olduğunu, tek doz FSH uygulamalarının olgun follikül gelişmesini sağladığını, fakat çiftleşme isteği ve ovulasyonun şekillenmesinde yetersiz kaldığını ve tutarsız sonuçlar verdiğini bildirmektedirler.

Tusutsui ve ark. (15) ise, domuz hipofiz bezi ekstratları kullanılarak anöstrüs sezonundaki kedilerde % 86.4 oranında östrüsleri uyardırmada başarı elde ettiklerini fakat, bu uyarımlar sonucu gebe kalan kedilerde luteal aktivitenin yetersiz olduğunu, gebeliğin sürdürülebilmesi için gebelik periyodu boyunca eksogen progesteron uygulamalarına mutlaka gereksinim duyulduğunu vurgulamaktadırlar. Yine aynı araştırmacı ve arkadaşları üreme sezonunda olmayan kedilerde ovaryum faaliyetlerini uyardırmak amacıyla yaptıkları başka bir çalışmada (14), ilk gün 2 mg, izleyen günlerde östrüs görülünceye kadar günlük 1 mg olmak üzere domuz hipofiz bezi preparasyonu uygulanan 19 kediden 17'sinde (% 89.5) ilk uygulamayı izleyen 3-8 gün sonrasında östrüslerin görüldüğünü, çiftleşme sonucu ovulasyon şekillenen bu kedilerde ortalama 7.3 ± 1.3 follikülün ovule olduğunu bildirmektedirler.

Endogen GnRH salgısı pulzatil tarzda olup, salgılanması türden türe değişmekle birlikte circadian ve mevsimsel ritim tarafından düzenlenir. GnRH'nin aralıklarla meydana gelen tarzdaki uyarımları, sürekli olarak kandaki seviyesinin yüksek kalması şeklindeki uyarımlardan çok daha etkili olarak gonadotropin salgılanmasını sağlar (3). Genel olarak düşük ve tekrarlanan dozda veya pulzatil tarzda GnRH uygulamaları anöstrüste bulunan köpeklerde ovaryum aktivitesini ve ovulasyonu uyarırken (2,17), proöstrüs ve östrüste yüksek dozda tek uygulama ovulasyonu ve başlayan proöstrüs veya östrüsü sonlandırmaya sebep olmaktadır. Bu sebeple GnRH pratikte daha çok ovulasyonu uyardırmaya, başlayan östrüsü yatıştırma ve ovaryum kistlerinin luteinizasyonu amacıyla kullanılmaktadır (1).

Yapılan literatür taramalarında, anöstrüs dönemindeki kedilerde ovaryum aktivitesinin GnRH uygulamaları ile uyarılmasına ilişkin bir çalışmaya rastlanmazken, köpeklerde ise GnRH uygulamaları ile yapılan uyarımlarda olumlu sonuçların alındığı görülmüştür (4,17).

Vanderlip ve ark. (17), 6-12 gün süresince pulzatil olarak damar içi GnRH uygulanan 8 köpekten 6'sının 2-4 gün içinde proöstrüse geldiğini, kalan iki köpeğin ise tutarsız sonuç verdiğini; Concannon ve ark.(4) ise, pulzatil tarzda GnRH uygulanan anöstrüsteki 36 köpekten 26'sında proöstrüsün, 20'sinde östrüsün, 16'sında ovulasyonun görüldüğünü ve bu köpeklerden 12'sinde gebeliğin şekillendiğini bildirirlerken, Günay ve Soylu (10), damar içi GnRH enfüzyonlarıyla östrüslerini uyardırmaya çalıştığı 10 köpekten sadece birinde östrüsün uyarılabildiğini, fakat gebelik elde edilemediğini bildirmektedirler. Ayrıca lutelin gibi GnRH agonistlerinin anöstrüsteki köpeklerde östrüsü başlatmak için başarı ile kullanılabileceği belirtilmektedir (5).

Yapılan bu çalışmada, mevsimsel olarak anöstrüs döneminde bulunan kedilerde GnRH enjeksiyonlarının ovaryum faaliyetlerini başlatma ve östrüsleri uyardırmaya üzerine etkilerini ortaya koyma amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada yaşları 3-7 arasında değişen, mevsimsel olarak anöstrüs döneminde bulunan erişkin 19 dişi sokak kedisi materyal olarak kullanıldı. Çalışma, kedilerin mevsimsel olarak anöstrüste oldukları 31 Ekim - 28 Aralık tarihleri arasında gerçekleştirildi. Kedilerin hepsinden vaginal smear örnekleri alınıp, incelenerek anöstrüste oldukları doğrulandı.

Kediler daha sonra rast gele 4 gruba ayrılarak birinci grubu oluşturan 5 kediye (Grup I) 25 mcg Gonadorelin diasetat (Ovarelin, 2 ml DİF), ikinci grubu oluşturan 5 kediye (Grup II) 25 mcg Fertirelin asetat (Ovalyse, 2 ml Eczacıbaşı) tek doz olarak enjekte edildi. Üçüncü grubu oluşturan 4 kediye (Grup III) dört gün ara ile iki defa 25'er mcg Gonadorelin diasetat (Ovarelin, 2 ml DİF) enjekte edildi. Geri kalan 5 kedi (kontrol grubu) ise kontrol olarak bırakıldı.

Uygulama ve kontrol grubunu oluşturan kedilerin hepsi, uygulamayı izleyen 12 gün süresince davranışları yönüyle izlendi ve iki gün ara ile alınan vaginal smear örnekleri mikroskopta incelendi. Onikinci gün sonunda kedilerin hepsine ovariohisterektomi operas-

yonu uygulanıp, uterus ve ovaryumları gözle makroskopik olarak incelendi.

Vaginal smear örneklerinin alınmasında eküvyon yöntemi kullanıldı (8). Eküvyon serum fizyolojik solusyonuna batırıldıktan sonra vulva aralığından sokulup anterior vaginaya kadar ilerletildi. Anterior vagina bölümünde eküvyon kendi eksenine etrafında bir tur çevrildikten sonra geri çekildi ve lam üzerine sürülerek, sürme preparat hazırlandı. Hazırlanan preparat Giemsa ile boyanarak, ışık mikroskopunda değişik büyümelere incelendi ve vagina hücrelerinde meydana gelen sitolojik değişiklikler değerlendirildi.

Uygulamayı izleyen 12. gün sonunda ovariohistektomi ile çıkarılan uterus ve ovaryumların gözle izlenmesinde, uterusun frajilitesi, konjesyon ve ödemiyle ovaryumlarda aktiviteye ilişkin fonksiyonel yapıların (gelişen folliküller ve korpus luteum) bulunup bulunmadığına dikkat edildi.

BULGULAR

Uygulama ve kontrol grubu kedilerin vaginal smear bulguları tablo 1,2,3 ve 4'de özetlenerek, vaginal smearlerde gözlenen parabazal, intermedier ve süperfisial hücrelere ait örnek mikroskopik görünüm-ler resim 1,2,3 de sunulmuştur.

Uygulama sonrası 12. günde ovariohistektomi uygulanan birinci grup kedilerin uterus ve ovaryumlarının gözle yapılan makroskopik muayenesinde uterusların kıvamının ve frajilitesinin arttığı, 1,2,3,4 ve 5 no'lu kedilerin ovaryumlarında sırasıyla

toplam 3,6,5,3 ve 3 follikül geliştiği görüldü (Tablo 5).

İkinci gruptaki 2, 4 ve 5 nolu kedilerin ovaryumlarında foliküler gelişmeye rastlanmazken, uterusların yumuşak ve gevşek oldukları gözlemlendi. Bir no'lu kedinin sağ ovaryumunda 3, sol ovaryumunda 2 follikül gözlenirken, 3 no'lu kedinin sadece sağ ovaryumunda bir adet follikülün geliştiği görüldü (Tablo 6), (Resim, 4).

Üçüncü grup kedilerin uterusuna ait frajilite ve kıvam artışı diğer gruplara nazaran daha belirgin olup, 1 nolu kedide 5, 2 no'luda 4, 3 no'luda toplam 6 follikülün geliştiği görüldü. Bu grupta bulunan 4 no'lu kedinin ovariohistektomi operasyonu sonrası hermofrodit olduğu ve bu hayvana ait vaginal smearlerin hepsinde parabazal hücrelerin yoğun olarak sahada bulunduğu gözlemlendi.

Kontrol grubunu oluşturan kedilerin ovaryum ve uteruslarının makroskopik olarak incelenmesinde ovaryumlarda gelişen follikülere rastlanmadı. uterusların gevşek ve yumuşak kıvamda oldukları görüldü.

Gerek uygulama ve gerekse kontrol gruplarını oluşturan kedilerin hiçbirinin ovaryumlarında korpus luteuma rastlanmadı. Üçüncü grup 2 no'lu kedi dışındaki bütün kedilerde davranışlar yönüyle bir değişiklik görülmezken; bu kedide yerde yuvarlanma, lordosis ve miyavlama gibi östrüsün dış belirtileri gözlemlendi. Östrüs davranışları gösteren bu kedi, erkek kedi ile aynı kafeste bir hafta süre ile beraber tutulmasına rağmen çiftleşme görülmedi.

Tablo 1. Birinci grup (n=5) kedilerin vaginal smear bulguları.

Kedi No	Vaginal smear bulguları																	
	Uygulama öncesi			Uygulama sonrası (günler)														
	P	I	S	2.gün			4.gün			6.gün			8.gün			10.gün		
			P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S	
1	+++	+	-	++	++	+	+	+++	++	+	+++	++	+	++	+++	+	+	+++
2	+++	+	-	+++	+	-	++	++	+	++	++	+	+	+++	++	+	++	+++
3	+++	+	-	+++	+	-	++	++	-	-	+++	+	-	+++	++	+	++	+++
4	+++	+	-	+++	+	-	++	++	+	+	+++	++	+	+++	++	+	+	+++
5	+++	+	-	++	++	-	+	+++	+	+	+++	++	+	++	+++	+	+	+++

P: parabazal, I: intermedier, S: süperfisial
 +++ : çok yoğun ++ : orta yoğun +: çok az

Tablo 2. İkinci grup (n=5) kedilerin vaginal smear bulguları.

Kedi No	Vaginal smear bulguları																	
	Uygulama öncesi			Uygulama sonrası (günler)														
				2.gün			4.gün			6. gün			8. gün			10.gün		
	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S			
1	+++	+	-	+++	++	-	++	++	+	+	++	++	+	+++	++	+	++	+++
2	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
3	+++	+	-	+++	++	-	+++	++	+	++	+++	+	++	++	+	+	++	+++
4	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
5	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-

P: parabazal, I: intermedier S: süperficial
 +++ : çok yoğun ++ : orta yoğun +: çok az

Tablo 3. Üçüncü grup (n=4) kedilerin vaginal smear bulguları.

Kedi No	Vaginal smear bulguları																	
	Uygulama öncesi			Uygulama sonrası (günler)														
				2.gün			4.gün			6. gün			8. gün			10.gün		
	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S			
1	+++	+	-	++	+	+	+	++	+	+	+++	++	-	+	+++	-	+	+++
2	+++	+	-	++	++	-	+	++	+	+	++	++	-	-	+++	-	-	+++
3	+++	+	-	++	+	-	+	++	+	+	+++	++	-	-	+++	-	-	+++
4*	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-

P: parabazal, I: intermedier S: süperficial
 +++ : çok yoğun ++ : orta yoğun +: çok az
 * Hermofrodit

Tablo 4. Kontrol grubu (n=5) kedilerin vaginal smear bulguları.

Kedi No	Vaginal smear bulguları																	
	0. gün			2. gün			4. gün			6. gün			8. gün			10. gün		
	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S	P	I	S
1	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
2	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
3	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
4	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
5	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-

P: parabazal, I: intermedier S: süperficial
 +++ : çok yoğun ++ : orta yoğun +: çok az

Tablo 5. Birinci grup kedilerin uterus ve ovaryumlarına ait makroskopik bulgular

Kedi No	Ovaryum (Gelişen follikül sayısı)			Uterus
	Sağ	Sol	Toplam	
1	3	-	3	Kıvam ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem
2	3	3	6	Kıvam ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem
3	2	3	5	Kıvam ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem
4	3	-	3	Kıvam ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem
5	3	-	3	Kıvam ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem

Tablo 6. İkinci grup kedilerin uterus ve ovaryumlarına ait makroskopik bulgular

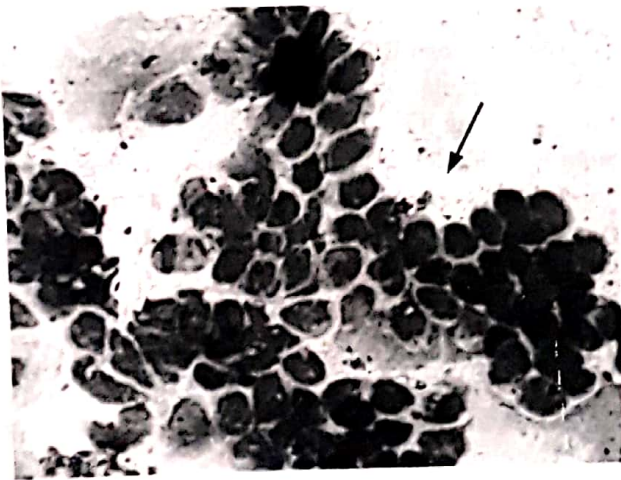
Kedi No	Ovaryum (Gelişen follikül sayısı)			Uterus
	Sağ	Sol	Toplam	
1	3	2	5	Tonus ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem
2	-	-	-	Uterus tonusundaki artış belirgin değil
3	1	-	1	Uterus gevşek ve yumuşak
4	-	-	-	Uterus gevşek ve yumuşak
5	-	-	-	Uterus gevşek ve yumuşak

Tablo 7. Üçüncü grup kedilerin uterus ve ovaryumlarına ait makroskopik bulgular

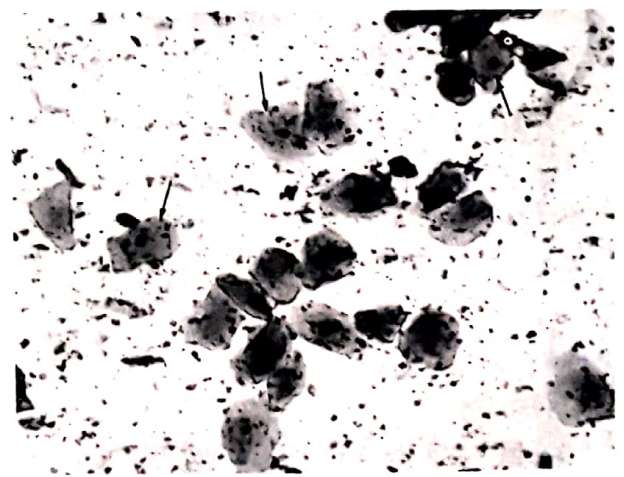
Kedi No	Ovaryum (Gelişen follikül sayısı)			Uterus
	Sağ	Sol	Toplam	
1	3	2	5	Tonus ve frajilitede belirgin artış, konjesyon ve ödem
2*	4	-	4	Tonus ve frajilitede belirgin artış, konjesyon ve ödem
3	3	3	6	Tonus ve frajilitede artış, konjesyon ve ödem
4**	-	-	-	Uterus yok, vagina kör bir kese şeklinde sonlanmış

*Bu kedide östrüsün dış belirtileri de gözlemlendi.

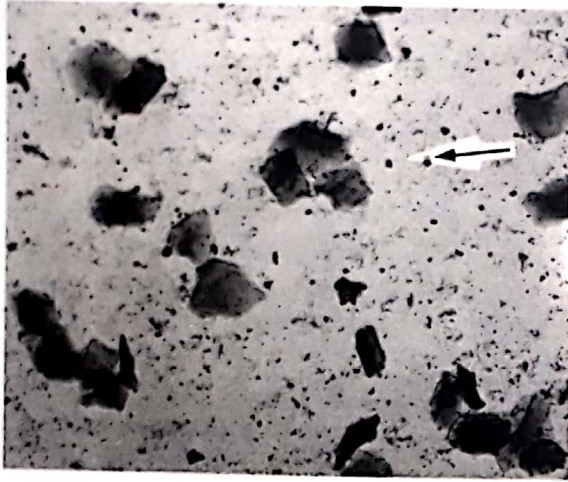
** Hermofrodit



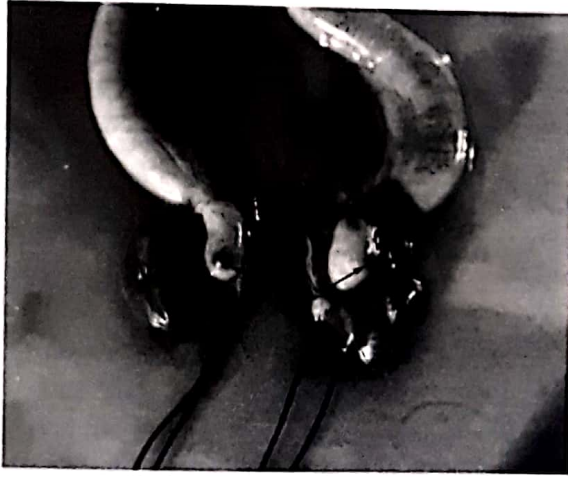
Şekil 1. Vaginal smearde parabazal hücreler (10x40).



Şekil 2. Vaginal smearde intermedier hücreler (10x40).



Şekil 3. Vajinal smearde süperfisial hücreler (10x40).



Şekil 4. Ovariectomi sonrası uterus ve ovaryumların görünümü.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Genel olarak kedi ve köpeklerde üremenin denetlenmesi konusunda, çiftlik hayvanlarının aksine, üreme faaliyetlerinin baskılanması yoluna gidilir. Bu hayvanlarda üreme işlevlerinin uyarılmasına, deneysel veya bazı değerli ırkların çoğaltılması amacıyla başvurulmaktadır.

Anöstrüs dönemindeki kedilerde FSH veya PMSG gibi gonadotropiklerle yapılan uyarımlarda değişik oranlarda başarı elde edildiği bildirilmektedir (6,14,18,19). Verstegen ve ark. (18), FSH ile yapılan uyarımlar sonucu 9 prepubertal kедiden 8'inde, 9 erişkin kedinin ise tamamında olumlu sonuç alındığını

bildirmektedirler. Uyarım girişimlerine olumlu cevap veren 8 prepubertal kedinin herbirinin ovaryumlarında 20-90 büyük follüküle raslandığı fakat bu kedilerden sadece 2'sinde ovulasyonun şekillendiği ve 8-9 korpus luteumun tespit edildiği; erişkin kedilerin her birinde ise 3-40 büyük follükül ve 6-35 korpus luteuma rastlandığı belirtilmektedir. Tsutsui ve ark. (14) ise, anöstrüste kedilerde domuz hipofiz bezi preparasyonları uygulayarak yapılan uyarımlar sonucu çiftleştirilen 16 kedide ortalama 7.3 ± 1.3 ovulasyonun meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada ise, tek veya iki defa gonadorelin diasetat uygulanan 1 ve 3.grup kedilerde (3.grupta 1 kedi hariç) östrüsün dış belirtileri görülmemekle beraber, ilk uygulamadan 12 gün sonra yapılan ovariohistektomi sonucu ovaryumların makroskopik muayenesinde tüm kedilerin ovaryumlarında değişik sayı ve büyüklükte (1.grupta ortalama 4, 3.grupta ortalama 5 adet) gelişen follüküle rastlanırken, ovulasyona ilişkin bir belirtiye ve korpus luteuma rastlanmamıştır. Fertilelin uygulanan 2.grup kedilerden sadece 2'sinde follüküler gelişme gözlenirken, follüküler gelişme görülen bu kedilerde östrüse ilişkin belirtiler görülmemiş ve ovaryumlarında korpus luteuma rastlanmamıştır. GnRH uygulamaları ile ovaryum aktivitesini uyarmaya yönelik yapılan bu çalışmada, FSH veya PMSG ile yapılan çalışmalardan (14,18) daha az sayıda follükülün gelişmesi, gelişen follüküllerde ovulasyonun şekillenmemesi ve kedilerin östrüs belirtileri göstermemesi, GnRH enjeksiyonlarının uygulanan programla östrüsleri uyarımda yetersiz kaldığını göstermektedir. Bu amaçla değişik süre, doz ve yollarla GnRH uygulamaları denenebilir.

Köpeklerde pulsatil tarzda GnRH veya GnRH agonisti maddelerin damar içi uygulaması sonucu proöstrüs ve östrüsün görüldüğü bildirilmektedir (2,4,5,17). Sunulan çalışmada tek ve çift enjeksiyon şeklinde yapılan GnRH uygulamaları sınırlı da olsa kedilerde follüküler gelişmeyi sağlamış olmasına rağmen, klinik olarak östrüs belirtileri sergileme ve çiftleşmeyi kabul için yeterli olmamıştır. Bu başarısızlık GnRH'nın uygulanma yolu, sıklığı ve dozuyla ilgili olabilir.

Kedi ve köpeklerin ovaryum aktivitelerine paralel olarak vaginal smeardeki hücre yapılarının farklılık gösterdiği, proöstrüste intermedier ve süperfisial hücreler yoğun olarak gözlenirken östrüste süperfisial hücrelerin iyice yoğunlaştığı ve çekirdeksiz keratinize bir hal aldığı, anöstrüs döneminde ise vaginal smearde hakim hücre tipinin parabazal hücreler olduğu bildi-

ılmaktadır (3,7,8,9,13). Yapılan çalışmada da folliküler gelişme görülen kedilerde vaginal sitolojinin ovaryum aktivitesi ile paralellik gösterdiği, uygulama öncesi bütün kedilerin vaginal smearlerinde hakim hücre tipi parabazal iken, folliküler gelişme görülen kedilerin uygulamayı izleyen smearlerinde, intermedier ve süperfacial hücrelerin yoğunluk kazandığı, kontrol grubu kedilerle GnRH uygulamasına cevap vermeyenlerde çalışma süresince alınan tüm smearlerde yoğun olarak parabazal hücrelerin sahada hakim olduğu görüldü. Bu bulgular kedilerde ovaryum aktivitesini izlemede ve reproduktif durumu ortaya

KAYNAKLAR

1. Alaçam, E. Dişi kedide reproduktif özellikler ve üremenin denetlenmesi. *Vet.Cerrahi Derg.*, 1995; 1(1), 39-42.
2. Cain, C.L., Cain, G.R., Feldman, E.C., Lasley, B.L. and Stabenfeldt, G.H. Use of pulsatile intravenous administration of gonadotropin-releasing hormone to induce fertile estrus in bitches. *Am. J. Vet. Res.*, 1988; 49(11): 1993-6.
3. Chastain, C.B. and Gunjam, V.K. *Clinical Endocrinology of Companion Animals*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
4. Concannon, P., Lasley, B. and Vanderlip, S. LH release, induction of oestrus and fertile ovulations in response to pulsatile administration of GnRH to anoestrous dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 1997; 51:41-54.
5. Concannon, P.W. Induction of fertile oestrus in anoestrous dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J Reprod Fertil Suppl.*; 1989; 39:149-60.
6. Donoghue, A.M., Johnston, L.A., Goodrowe, K.L., O'Brien, S.J. and Wildt, D.E. Influence of day of oestrus on egg viability and comparative efficiency of in vitro fertilization in domestic cats in natural or gonadotrophin-induced oestrus. *J. Reprod. Fertil.*, 1993; 98(1): 85-90.
7. Emerson, D.C. The estrous cycle and pregnancy, 832-839. Ed. Morrow, D.A.. In "Current Therapy in Theriogenology" W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
8. Feldman, E.C. and Nelson, R.W. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, 525-548. W.B. Saunders Company. Philadelphia, 1987.
9. Gülyüz, F., Alan, M. ve Kaya, M. Van Kedilerinde vaginal smear yöntemiyle kızgınlık siklusu evrelerinin tanısı, *Y.Y.Ü. Vet.Fak.Derg.*, 1994; 5(1-2), 173-181.
10. Günay, A. ve Soylu, K. Anöstrüs dönemindeki köpeklerde östrüs ve ovulasyonun uyarılması üzerine çalışmalar. Doktora tezi, U.U. Sağlık Bil. Enst., Bursa 1997.
11. Herron, A.M. *Physiology of Reproduction*, 13-23 Ed. Burke, T.J., in *Small Animal Reproduction and Infertility*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
12. Kalkan, C. ve Horoz, H. Pubertas ve Seksüel Sikluslar, 13-30 Ed. Alaçam, E., Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite, Medisan Yayınevi, Ankara, 1997.
13. Keskin, O., Kabasakal, G., Yurdaydın, N., Selçuk, M. ve Kaya, M. Köpeklerde seksüel siklus evrelerinin değişik yöntemlerle saptanması üzerine çalışmaları. *Bültendif*, 1997; 8, 14-16.
14. Tsutsui, T., Sakai, Y., Matsui, Y., Sato, M., Yamane, I., Murao, I. and Stabenfeldt, G.H. Induced ovulation in cats using porcine pituitary gland preparation during the non-breeding season. *Nippon. Juigaku Zasshi*, 1989; 51(4): 677-83.
15. Tsutsui, T., Sato, M., Kurosawa, N., Hattori, I., Matsunaga, H., Murao I. and Stabenfeldt, G.H. Embryo transfer in the cat during the non-breeding season. *Nippon. Juigaku Zasshi*. 1989; 51(5): 871-7.
16. Tsutsui, T. and Stabenfeldt, G.H. Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. *J.Reprod.Fertil.Suppl.*, 1993; 47:29-35.
17. Vanderlip, S.L., Wing, A.E., Felt, P., Linkie, D., Rivier, J., Concannon, P.W. and Lasley, B.L. Ovulation induction in anoestrous bitches by pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone. *Lab. Anim. Sci.*, 1987; 37(4): 459-64.

18. Verstegen, J.P., Onclin, K., Silva, L.D., Donnay, I., Mettens, P. And Ectors, F. Superovulation and embryo culture in vitro following treatment with ultra-pure follicle-stimulating hormone in cats. J. Reprod. Fertil. Suppl., 1993; 47:209-18.
19. Wildt, D.E., Kinney, G.M. and Seager, S.W. Gonadotropin induced reproductive cyclicity in the domestic cat. Lab. Anim. Sci., 1978; 28(3):301-7.