



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FAKÜLTESİ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ  
ANABİLİM DALI



CİHAN TOLGA ORTAÇ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2023

***REPEAT BREEDER (DÖL TUTMAYAN) İNEKLERDE  
PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PRP) UYGULAMASININ  
FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ***

CİHAN TOLGA ORTAÇ

DOKTORA TEZİ

BURSA-2023



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER FAKÜLTESİ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ  
ANABİLİM DALI



***REPEAT BREEDER (DÖL TUTMAYAN) İNEKLERDE  
PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PRP) UYGULAMASININ  
FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ***

**Cihan Tolga ORTAÇ**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN:  
Prof. Dr. Ahmet GÜMEN**

**BURSA-2023**

**T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETİK BEYANI**

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak sunduğum “***Repeat Breeder (Döl Tutmayan) İneklerde Plateletten Zengin Plazma (PRP) Uygulamasının Fertilité Üzerine Etkileri***” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

**Cihan Tolga ORTAÇ  
12.06.2023**

## TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

12/06/2023

**Adı Soyadı:** Cihan Tolga ORTAÇ

**Anabilim Dalı:** Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

**Tez Konusu:** *Repeat Breeder* (Döl Tutmayan) İneklerde Plateletten Zengin Plazma (PRP) Uygulamasının Fertilite Üzerine Etkileri

<b>ÖZELLİKLER</b>	<b><u>UYGUNDUR</u></b>	<b><u>UYGUN DEĞİLDİR</u></b>	<b><u>ACIKLAMA</u></b>
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

### DANIŞMAN ONAYI

**Unvanı Adı Soyadı:** Prof. Dr. Ahmet GÜMEN

**İmza:**

## İÇİNDEKİLER

<b>Dış Kapak</b>	
<b>İç Kapak</b>	
<b>ETİK BEYANI</b> .....	<b>II</b>
<b>KABUL ONAY</b> .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
<b>TEZ KONTROL BEYAN FORMU</b> .....	<b>III</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>V</b>
<b>TÜRKÇE ÖZET</b> .....	<b>VII</b>
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Repeat Breeder’ın Tanımı .....	4
2.2. Repeat Breeder’ın Önemi ve İnsidansı .....	4
2.3. Repeat Breeder’ın Nedenleri .....	5
2.3.1. Fertilizasyon Problemleri .....	6
2.3.1.1. Anatomik Bozukluklar .....	6
2.3.1.2. Suni Tohumlamaya Bağlı Nedenler .....	7
2.3.1.2.1. Sperm Kalitesi .....	7
2.3.1.2.2. Tohumlayıcı Etkisi .....	7
2.3.1.2.3. Tohumlamada Spermanın Bırakıldığı Yer ve Hijyen .....	8
2.3.1.2.4. Östrus Tespiti ve Tohumlama Zamanı .....	8
2.3.1.3. Beslenme Bozuklukları .....	9
2.3.2. Erken Embriyonik Ölümler .....	9
2.3.2.1. Oosit Kalitesi .....	10
2.3.2.1.1. Ovulasyon Yetersizlikleri .....	10
2.3.2.1.2. Mevsim ve Sıcak Stresi .....	11
2.3.2.1.3. Genetik Etkiler .....	12
2.3.2.1.4. Yaş .....	12
2.3.2.1.5. Endokrin Düzensizlikler .....	12
2.3.2.2. Yetersiz Uterus Ortamı .....	13
2.3.2.3. Uterus Enfeksiyonları .....	15
2.4. Repeat Breeder’ın Tedavisi .....	16
2.4.1. Beslenme .....	16
2.4.2. Hormonal Uygulamalar .....	16
2.4.3. İntrauterin ve Alternatif Uygulamalar .....	19

2.5 Platelet (Trombosit) .....	20
2.5.1 Plateletin Yapısı .....	20
2.5.2 Plateletin Görevleri .....	22
2.5.3. Platelet Aktivasyonu .....	22
2.6. Platelet Zengin Plazma- <i>Platelet Rich Plasma</i> (PRP) Tanımı .....	23
2.6.1. Platelet Konsantrasyonlarının Sınıflandırılması .....	24
2.6.2. PRP'nin Kullanım Alanları .....	24
2.6.2.1. İnsan Hekimliğinde .....	24
2.6.2.2. Veteriner Hekimliğinde: .....	26
2.6.3. PRP'de Bulunan Büyüme Faktörlerinin Önemi ve Gebelikteki Rolü .....	29
2.6.4. PRP'nin Fertilite Üzerine Etkisi .....	31
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>33</b>
3.1. Hayvan Materyali, Barınma ve Besleme Koşulları.....	33
3.2. Gruplandırma ve Senkronizasyon Protokolü .....	33
3.3. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması .....	33
3.4. PRP Hazırlanması ve Uygulanması .....	34
3.5. Gebelik Muayenesi.....	35
3.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	35
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>36</b>
4.1. Genel Bulgular .....	36
4.2. Genel Gebelik ve Embriyonik Ölüm Oranları .....	36
4.3. Grupların Gebelik ve Embriyonik Ölüm Oranları ve Karşılaştırılması .....	36
4.4. Gebelik Oranlarının Laktasyon Sayısına Göre Karşılaştırılması .....	37
4.5. Kullanılan Kalsiyum Miktarının Gebelik Oranına Etkisi .....	37
4.6. Boğa Etkisinin Değerlendirilmesi .....	38
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>39</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>46</b>
<b>7. SİMGELER VE KISALTMALAR .....</b>	<b>74</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>76</b>
<b>9. TEŞEKKÜR .....</b>	<b>79</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>80</b>

## TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmada; platelet zengin plazma (PRP) kullanılarak *repeat breeder* ineklerde fertilitenin artırılması hedeflendi. Bu amaçla çalışmaya, 3 ve üzeri tohumlandığı halde gebe kalmayan ve laktasyon sayısı 1-7 arasında değişen (primipar, n= 110; multipar, n= 250), toplam 360 adet Holştayn ırkı inek dahil edildi. İşletmenin reproduktif yönetimine göre ineklere resenkronizasyon amaçlı zaman ayarlı suni tohumlama protokolü (*Resynch-Ovsynch*) uygulandı ve tohumlama anında inekler rastgele iki gruba (PRP ve Kontrol) ayrıldı. PRP grubundaki ineklere (n= 180), suni tohumlamadan 24 saat sonra otolog olarak hazırlanan PRP (15 ml) intrauterin yolla tek doz uygulandı. Kontrol grubundaki (n=180) ineklere suni tohumlama sonrası herhangi bir uygulama yapılmadı. Farklı nedenlere bağlı olarak gebelik muayenesi öncesinde PRP grubunda 27, Kontrol grubunda 30 inek çalışma dışı bırakıldı. Transrektal ultrasonografi ile tohumlama sonrası 30. ve 60. günlerde gebelik muayenesi gerçekleştirildi. Gruplar arasında, sağılan gün, laktasyon ve tohumlama sayısı açısından istatistiksel bir fark bulunmadı. Gebelik oranları 30. günde; PRP grubunda %36,6 (56/153), Kontrol grubunda %34,7 (52/150) olarak saptandı. Gebelik oranları 60. günde; PRP grubunda %33,3 (51/153), Kontrol grubunda %31,3 (47/150) olarak belirlendi. Embriyonik ölüm oranları, PRP grunda %8,9 (5/56), Kontrol grubunda %9,6 (5/52) olarak tespit edildi. Gruplar arasında 30. ve 60. gün gebelik oranları ile embriyonik ölüm oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmadı.

Çalışma sonucunda tohumlama sonrası tek doz intrauterin otolog PRP uygulamasının *repeat breeder* ineklerde döl verimi üzerine herhangi bir etkisi saptanamadı. Bununla birlikte, *repeat breeder* ineklerde fertilitenin artırılması amacıyla intrauterin PRP kullanımında standardizasyonun sağlanması için uygulama zamanı, sıklığı ve miktarını değerlendirebilecek daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Süt Sığırı, Repeat Breeder (Döl Tutmayan), Fertilitite, PRP

## İNGİLİZCE ÖZET

### **Effects of Platelet-Rich Plasma (PRP) Treatment on Fertility in Repeat Breeder (Infertile) Cows**

In this study; it was aimed to increase fertility in repeat breeder cows by using platelet rich plasma (PRP). With this aim, a total of 360 Holstein cows, which did not become pregnant even though they were inseminated 3 or more times, and the number of lactations varied between 1 and 7 (primiparous, n= 110; multiparous, n= 250) were included in the study. According to the reproductive management of the herd, timed artificial insemination protocol (Resynch-Ovsynch) was applied to the cows for resynchronization and the cows were randomly divided into two groups (PRP and Control) at the time of insemination. A single dose of autologous PRP (15 ml) was administered by intrauterine 24 hours after artificial insemination to cows (n= 180) in the PRP group. No treatment was administered to the cows in the Control group (n=180) after artificial insemination. Because of different reasons, 27 cows in the PRP group and 30 cows in the Control group were excluded from the study. Pregnancy examination was performed on the 30th and 60th days after insemination with transrectal ultrasonography. There was no statistical difference between the groups in terms of days in milk, lactation and insemination numbers. Pregnancy rates on the 30th day; It was detected as 36.6% (56/153) in the PRP group and 34.7% (52/150) in the Control group. Pregnancy rates at day 60; It was determined as 33.3% (51/153) in the PRP group and 31.3% (47/150) in the Control group. Embryonic death was determined 8.9% (5/56) in PRP and 9.6% (5/52) in Control groups. There were no statistical differences between the groups in terms of 30th and 60th day pregnancy and embryonic death rates.

Thus, a single dose of intrauterine autologous PRP administration after artificial insemination did not have any effect on fertility in repeat breeder cows in this study. However, it was concluded that more studies are needed to evaluate the administration time, frequency and dosage in order to standardize the use of intrauterine PRP for increasing fertility in repeat breeder cows.

**Keywords:** Dairy Cattle, Repeat Breeder, Fertility, PRP



## 1. GİRİŞ

Sütçü işletmelerde karlılığın devamlılığı, süt ve döl verimi ile sağlanmaktadır (J.I. Lee, & Kim, 2007). İyi bir döl verimi, düzenli olarak süt alınması ve günlük ortalama süt miktarının yükselmesi anlamına gelmektedir (Yüksel, Soysal, Kocaman, & Soysal, 2000). Bu amaçla işletmeler, 12-13 ayda bir buzağı elde etmeyi hedeflemektedir (Call, & Stevenson, 1985; Kaya, Yaylak, & Öneç, 1998). Üç ve üzeri tohumlandığı halde gebe kalmayan *repeat breeder* inekler ise gebelik başına düşen tohumlama maliyetini, buzağılama aralığını ve sürüden çıkarma oranlarını arttırarak sütçü işletmelerde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Bartlett, Kirk, & Mather, 1986; Gustafsson, & Emanuelson, 2002). *Repeat breeder*, etiolojisinde çeşitli faktörlerin rol aldığı, fertilizasyon problemleri ve erken embriyonik ölümlerle ilişkili ciddi bir üreme bozukluğudur (Levine, 1999). Döl tutmayan hayvanlarda gebelik oranlarının arttırılması amacıyla rasyon düzenlemeleri, östrus senkronizasyonları, hormonal uygulamalar ve intrauterin tedaviler gibi birçok tedavi ve uygulamalar denenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (Daniels, Morrow, Pickett, & Ball, 1976; Gümen ve ark., 2012; Öztürkler, Uçar, & Lehimcioğlu, 2001). Yapılan birçok çalışma ile *repeat breeder* ineklerde fertilizasyon ve implantasyon başarısızlığına ya da erken embriyonik ölümlere sebep olabilecek yetersiz uterus ortamının iyileştirilmesi hedeflenmiştir. Serum fizyolojik ile yapılan uterus lavajı ve prostaglandin F<sub>2α</sub> uygulamasının gebelik üzerine olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir (Ahmadi, & Dehghan, 2007). Başka bir çalışmada intrauterin uygulanan farklı antibiyotiklerin gebelik oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (Honparkhe, Kumar, Singh, Dadarwal, & Dhaliwal, 2017; Mane, 2010). Alternatif bir tedavi olarak intrauterin karvakrol uygulamasının gebelik oranlarını arttırabileceği bir diğer çalışmada belirtilmiştir (Lehimcioğlu, Öztürkler, Yıldız, & Arı, 2019). İntrauterin sefkuinom + deksametazon + dekstroza kombinasyonunun döl verimi üzerine olumlu etkisinin olabileceğini bildiren bir çalışma da bulunmaktadır (Ak, & Baki Acar, 2022).

Platelet zengin plazma, tam kanın santrifüj edilmesi sonucu elde edilen ve normal kandan daha yüksek konsantrasyonda (2-5 kat) trombosit içeren otolog bir kan ürünüdür (Knezevic, Candido, Desai, & Kaye, 2016; Marx, 2001). Platelet zengin plazma'nın içinde barındırdığı birçok büyüme faktörü sayesinde embriyo kalitesini arttırdığı ve implantasyon başarısızlığına neden olan yetersiz uterus ortamını

destekleyerek gebeliğe yardımcı olduğu, farklı türlerde yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla ortaya konulmaktadır. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir (Farimani, Bahmanzadeh, & Poorolaja, 2016; Nazari, Salehpour, Hosseini, & Hashemi Moghanjoughi, 2020). Başka bir çalışmada intrauterin PRP uygulamasının deneysel endometriyum hasarı olan farelerde rejenerasyonu hızlandırdığı, bunun da fertilitte ve gebelik oranlarını iyileştirebileceği ifade edilmektedir (J.H. Kim ve ark., 2020). Aşım sonrası endometritisi olan kısıraklarda, intrauterin PRP uygulamasının uterustaki yangıyı azalttığı ve gebelik oranlarını arttırdığı gösterilmektedir (Metcalf, 2014). Bir diğer çalışmada, döl tutmayan kısıraklarda intrauterin liyofilize büyüme faktörleri ve PRP uygulamasının endometriyal kalınlıkla birlikte gebelik oranlarını arttırdığı belirtilmektedir (Dawod, Miro, Elbaz, Fahmy, & Abdoon, 2021). Akut endometritisi olan dişi eşeklerde yapılan bir çalışmada, iki hafta arayla intrauterin PRP uygulamasının uterustaki oksidatif stres belirteçlerini azaltarak endometriyal iyileşmeye yardımcı olduğu belirtilmektedir (Farghali ve ark., 2022). Endometritisi olan 39 kısırakta tohumlamadan 6 saat sonra intrauterin uygulanan otolog PRP'nin, kontrol grubuna kıyasla gebelik oranlarını arttırdığı ve endometritise bağlı yangısal sürecin yönetiminde kullanılabileceği bildirilmektedir (Ghallab, El-Beskawy, El-Shereif, Rashad, & Elbehiry, 2023). Endometritisli ineklerde yapılan in vitro bir çalışmada, östrüstan 4 gün önce PRP infüzyonu uygulanan ineklerin endometriyumunda hücre proliferasyonu ve implantasyon için gerekli gen ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmektedir (Marini ve ark., 2016). Tohumlamadan 48 saat sonra intrauterin 10 ml konsantre platelet uygulamasının *repeat breeder* ineklerde, kontrol grubuna kıyasla (10/30, %33,3) gebelik oranını arttırdığı (20/30, %70,0) ifade edilmektedir. (Lange-Consiglio ve ark., 2015).

Sonuç olarak, farklı türlerde intrauterin PRP uygulamasıyla gebelik oranlarının arttığı ifade edilen birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak *repeat breeder* ineklerde, intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisini araştıran sadece tek bir çalışma bulunmaktadır (Lange-Consiglio ve ark., 2015). *Repeat breeder* ineklerde tek bir çalışmanın olması ve o çalışmanın az sayıda hayvan üzerinde yapılarak embriyonik ölümler üzerine etkisinin değerlendirilmemesi, PRP hazırlanması, miktarı ve uygulama zamanı üzerine standart bir protokolün bulunmaması, daha büyük örneklem

sayısına sahip, tohumlamadan sonra farklı zaman ve miktarda uygulanan intrauterin PRP çalışmalarına ihtiyaç oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, *repeat breeder* (döl tutmayan) sütçü ineklerde tohumlamadan 24 saat sonra intrauterin otolog platelet zengin plazma (PRP) uygulamasının fertilité üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Repeat Breeder'in Tanımı

*Repeat breeder* (döl tutmayan) ifadesi, 3 ve üzeri çiftleşme ya da tohumlamaya rağmen fertilizasyonun şekillenmemesi veya erken embriyonik ölüm sonucu gebe kalamayan inekler için kullanılmaktadır (Zemjanis, 1980). Bazı araştırmacılar *repeat breeder* tanımını 2 ve üzeri, kimi araştırmacılar ise 4 ve üzeri çiftleşme veya tohumlama sonucu gebe kalmayan inekler olarak yapmıştır (Stevenson, Frantz, & Call, 1988). Alaçam, E. (2002) ise bu tanımı; fertil bir boğayla 3 ve üzeri sayıda çiftleşmesi ya da suni tohumlama yapılmasına, siklusları düzenli, genital organlarında anatomik bir bozukluğu ve anormal akıntısı olmamasına rağmen gebe kalmayan en az bir doğum yapmış 10 yaşından küçük inekler için kullanmıştır.

### 2.2. Repeat Breeder'in Önemi ve İnsidansı

Sütçü işletmelerde karlılığın devamlılığı, süt ve döl verimi ile sağlanmaktadır (J.I. Lee, & Kim, 2007). İyi bir döl verimi (buzağılama), düzenli olarak süt alınması ve günlük ortalama süt miktarının yükselmesi anlamına gelmektedir (Yüksel ve ark., 2000). Bu amaçla işletmeler, 12-13 ayda bir buzağı elde etmeyi hedeflemektedir (Call, & Stevenson, 1985; Kaya ve ark., 1998). Hedeflenen bu reproduktif başarının sağlanabilmesi için; sorunsuz bir doğum ve postpartum dönem, ayrıca servis periyodu sonunda gebelik elde edilmesi gerekmektedir. Bir ineğin değeri; yaşam süresi boyunca döl verimi, ürettiği süt miktarı ve sağımda geçen gün sayısı ile belirlenmektedir. Ancak ineklerin süt üretimini arttırmaya yönelik yapılan başarılı çalışmalar, aynı etkiyi fertilitate parametreleri üzerinde gösterememekte ve döl veriminin azalmasına yol açmaktadır (Butler, 2003; Dillon, Berry, Evans, Buckley, & Horan, 2006). Döl tutmayan inekler ise gebelik başına düşen tohumlama maliyetini, açık gün sayısını ve sürüden çıkarma oranlarını arttırarak sütçü işletmelerde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Bartlett ve ark., 1986; Gustafsson, & Emanuelson, 2002).

Bir derlemede, sürüdeki gebelik oranının %9,0'dan %36,0'ya çıkmasının, ortalama açıkta kalan gün sayısını 166'dan 112'ye düşürdüğü ve hayvan başına elde edilen yıllık geliri 97\$'dan 337\$'a yükselttiği, fazladan açıkta geçen her günün

maliyetinin ise 3,19\$ ile 5,41\$ arasında olduğu belirtilmektedir (Tekin, & Daşkın, 2016). Başka bir çalışmada, bir ineğin boşa kaldığı 100-130 gün aralığında günlük maliyetinin 0,5 \$, 130-160 gün aralığında 1,42\$, 160-175 gün aralığında 2,99\$, 175 sonrası günlerde ise 4,52\$ olduğu bildirilmektedir (McSweeney, 2004). Sürüden çıkarma oranlarının incelendiği, 1001 gebe inek üzerinde yapılan çalışmada, gebelik kayıplarının genel ortalamaya göre (%27,0) sürüden çıkarma oranını arttırdığı (%46,4) belirtilmektedir (J.I. Lee, & Kim, 2007). Başka bir çalışmada, sürüden çıkarma oranlarının *repeat breeder* ineklerde (%35,2) kontrol grubuna kıyasla (%8,1) daha fazla olduğu bildirilmektedir (Bonneville-Hebert, Bouchard, Tremblay, & Lefebvre, 2011).

*Repeat breeder* ineklerin insidansının, sürüden sürüye farklılık gösterdiği ve bu oranın %5,0 ile 42,4 arasında olduğu ifade edilmektedir (Ayalon, 1984; Zobel ve ark., 2011). Bir çalışmada, 1541 sürüde ve 57616 hayvanda döl tutmayan ineklerin toplam oranının %10,1 olduğu belirtilmektedir (Gustafsson, & Emmanuelson, 2002). Farklı işletmelerde 1041 hayvan incelenerek yapılan retrospektif çalışmada, *repeat breeder* oranı; primipar ineklerde %29,5, multipar ineklerde %31,7 olarak ortaya konulmaktadır (Moss, Lean, Reid, & Hodgson, 2002). Yapılan başka bir çalışmada *repeat breeder* inek insidansının, Simental ırkında %13,9, Holştayn ırkında %38,8, Kırmızı Holştayn ırkında %15,3 ve melez ırklarda %42,0 olduğu bildirilmektedir (Zobel ve ark., 2011). Tropikal bölgelerde bulunan sürülerdeki *repeat breeder* hayvan oranının %62,0'ye kadar çıkabildiği ifade edilmektedir (Yusuf, Rahim, Asja, & Wahyudi, 2012).

### **2.3. Repeat Breeder'in Nedenleri**

*Repeat breeder*, fertilizasyon problemleri ve erken embriyonik ölümlerle ilişkili ciddi bir üreme bozukluğudur (Levine, 1999). Döl tutmayan ineklerin etiolojisinde multifaktöriyel nedenlerin olduğu yapılan farklı çalışmalarla ortaya konulmaktadır. Anatomik anomaliler, hormonal bozukluklar, ovulasyon problemleri, düşük kaliteli oosit ve sperma, genital enfeksiyonlar, kızgınlıkların belirlenememesi, suni tohumlama hataları, çevre ve beslenme bozuklukları, metabolik ve enfeksiyöz hastalıklar gibi birçok faktör fertilizasyonun şekillenmemesi veya erken embriyonik

ölümlere sebebiyet vererek ineklerde *repeat breeder*'in şekillenmesine neden olmaktadır (Perez-Marin, Molina Moreno, & Vizuete, 2012).

### **2.3.1. Fertilizasyon Problemleri**

#### **2.3.1.1. Anatomik Bozukluklar**

İneklerde genital kanaldaki doğmasal ya da edinsel olan anatomik ve fonksiyonel bozukluklar; oosit gelişimi, sperma taşınması, fertilizasyon ya da implantasyonu engelleyerek infertilitenin şekillenmesine sebebiyet vermektedir (Perez-Marin ve ark., 2012). Uterus, serviks ya da ovidukt aplazileri, serviks ve endometriyumun gelişim problemleri doğmasal bozukluklar arasında yer almaktadır (S.J. Roberts, 1971). Edinsel anatomik bozukluklar ise doğum esnasında ya da postpartum dönemde genital organların zarar görmesi sonucu oluşmakta ve doğmasal bozukluklara göre daha yaygın olarak görülmektedir (Gunther, 1981). İnek ve düvelerin postmortem genital organlarının değerlendirildiği bir çalışmada, 1695 hayvanın incelenmesi sonucu elde edilen patolojik anomali oranı %6,7 olarak bildirilmektedir (Dinç, & Güler, 1987). Başka bir çalışmada, *repeat breeder* hayvanların yaklaşık %11,0'inde anatomik bozuklukların olduğu belirtilmektedir (Maurer, & Echternkamp, 1985). *Repeat breeder* 183 sığır ve 31 mandanın dahil edildiği bir diğer çalışmada, anatomik bozuklukların %7,1 olduğu belirtilmektedir (J. Singh, Dadarwal, Honparkhe, & Kumar, 2008).

Ovaryum, ovidukt ve bursa ovarika'da oluşan adezyonlar, tek ya da çift taraflı tıkanıklıklar, orta dereceli hidrosalpinks, inflamasyon gibi sorunlar ineklerin döl tutmamasına neden olmaktadır. İneklerdeki anatomik bozukluklar arasında genellikle infertiliteye neden olan ovidukt anomalileri görülme sıklığının %6,0-15,0 arasında olduğu ve %80,0'lere kadar çıkabildiği belirtilmektedir. Sperm rezervuarı ve defansif bir bariyer olan servikste travma ve yangıya bağlı şekillenen stenoz, obstrüksiyon ve adezyon gibi değişiklikler de infertiliteye yol açmaktadır. Depo ve uterus için koruyucu bariyerlerden biri olan vajinada meydana gelen vajinitis, pnömovajina, ürovajina ve enfeksiyöz hastalıklar vajina pH'sı ve florasında değişiklikler meydana getirerek sperm kalitesiyle yaşam süresinin değişmesine sebep olmakta ve buna bağlı infertilite şekillenebilmektedir (Perez-Marin ve ark., 2012; Shrestha, Nakaio Higaki, Suzuki, & Akita, 2004; Wodaje, & Mekuria, 2016).

### **2.3.1.2. Suni Tohumlamaya Bağlı Nedenler**

#### **2.3.1.2.1. Sperm Kalitesi**

Hedeflenen fertilité parametrelerinin gerçekleştirilmesi için önemli bir diğer etken, tohumlamada en uygun spermanın kullanılmasıdır. Düşük kalitede sperma kullanımının fertilizasyon problemlerine yol açarak gebelik oranlarını düşürebileceği belirtilmektedir (Wodaje, & Mekuria, 2016). Yařlanan spermatozoonların motilite ve fertilizasyon kapasitesinin azaldığı, bunun sonucunda embriyonik ölümlere neden olduğu bildirilmektedir (Tarín, Pérez-Albalá, & Cano, 2000). In vivo bir çalışmada, akrozom anomalisi olan spermatozoonların zona pellusida penetrasyonunda başarısız olduğu ve oositi dölleyemediği belirtilmektedir (Thundathill, Meyer, Palasz, Barth, & Mapletoft, 2000). Spermanın saklama koşulları ve özdürme işlemi sperm kalitesini etkileyen diğer faktörlerdendir. Payetler, dondurulmuş sperma motilitesinin özdürme sonrası yarı yarıya azalma ihtimali göz önünde bulundurularak, 15-20 milyon spermatozoon iercek şekilde hazırlanmaktadır. Bu durum, özdürme sonrası istenen motil sperma sayısının en az 6 milyon olarak hedeflenmesinden kaynaklanmaktadır (Foote, & Parks, 1993). Payet içerisindeki sperma konsantrasyonu farklı olan konvansiyonel ( $20 \times 10^6$ ) ve cinsiyeti belirlenmiş sperma ( $2 \times 10^6$ ) ile yapılan çalışmalarda, konsantrasyonu yoğun olan sperma tercih edildiğinde daha yüksek gebelik oranlarının elde edildiği bildirilmektedir (Mallory, Lock, Woods, Poock, & Patterson, 2013).

#### **2.3.1.2.2. Tohumlayıcı Etkisi**

Tohumlayıcı tecrübesinin gebelik oranları üzerine etkisi olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Healy, House, & Thomson, 2013; López-Gatius, 2012; Vartia, Taponen, Heikkinen, & Lindeberg, 2017). Bu amaçla gerçekleştirilen bir çalışmada iki farklı tohumlayıcının gebelik üzerine etkisi değerlendirildiğinde; tecrübeli olan tohumlayıcıyla elde edilen gebelik oranının (%39,6), diğer tohumlayıcıya kıyasla (%32,6) daha iyi olduğu ifade edilmektedir (Vartia ve ark., 2017). Başka bir çalışmada, en kötü tohumlayıcı ile tohumlanan hayvanların en iyi tohumlayıcı ile tohumlananlara göre gebelik oranının 0,25 kat azaldığı belirtilmektedir (López-Gatius, 2012).

### 2.3.1.2.3. Tohumlamada Spermanın Bırakıldığı Yer ve Hijyen

Suni tohumlama esnasında yüksek gebelik oranları elde etmek için uterusu bırakılması önerilen sperma, fertilizasyonun şekillenmesi amacıyla tubuler kanalda ilerleyerek oositi bulmak üzere birkaç dakika içerisinde tuba uterinaya ulaşmaktadır. Serviks girişi gibi yanlış yere yapılan tohumlamalar, sperma transportunu etkilemekte ve fertilizasyon problemlerine yol açmaktadır (Gwazdauskas, Whittier, Vinson, & Pearson, 1986; Hunter, 2002). Ayrıca suni tohumlama ekipmanlarını (kateter vb.) kullanırken özen gösterilmemesi ve hijyen şartlarının sağlanamaması, patojen etkenlerin normal uterus florasını değiştirerek, endometriyumda reproduksiyonu olumsuz yönde etkileyen subklinik, akut ve kronik enfeksiyonların oluşmasına neden olmaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012).

### 2.3.1.2.4. Östrus Tespiti ve Tohumlama Zamanı

İneklerde ovulasyon süresi (östrus başlangıcından ortalama 30 saat sonra) göz önüne alınarak uygun tohumlama zamanının belirlenmesi için östrus bulgularının takibi ve tespiti önemli bir aşama olarak karşımıza çıkmaktadır. Artan süt üretimine bağlı olarak, ineklerde östrus bulguları ve östrus davranış süresinin azaldığı belirtilmektedir (H. Lopez, Satter, & Wiltbank, 2004). Yetersiz östrus takibi, tohumlamaların hiç yapılamaması ya da yanlış zamanda uygulanması, gebelik oranlarının azalmasına neden olarak *repeat breeder* oluşmasına sebebiyet vermektedir (Walsh, Williams, & Evans, 2011). İnek ve düvelerde yapılan bir çalışmada, östrusta olduğu belirtilen hayvanlar arasında sadece %52,3'ünün gerçekten östrusta olduğu bildirilmektedir (Aksoy, Alan, Tekeli, Semacan, & Çoyan, 1993). Diğer bir çalışma sonucunda, işletmelerde östrusta olduğu belirtilen ineklerin %13,0-32,0'sinin aslında östrusta olmadığı tespit edilmiştir (Dinç, 2014). Östrusta tohumlandığı düşünülen inekler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise tohumlanan hayvanların %5,9'unun luteal dönemde olduğu ve yanlış zamanda tohumlama yapıldığı belirtilmektedir (Sönmez, Türk, & Demirci, 2006).



### 2.3.1.3. Beslenme Bozuklukları

Beslenmedeki yetersizlik ve dengesizliklere bağılı olarak canlı ağırlık ve vücut kondisyonunda şekillenen değişimler hormonal bozukluklara, postpartum dönemde retensiyon sekondinaruma, uterus involusyonunun gecikmesine, klinik ve subklinik endometritise, açık gün sayısının artmasına ve infertiliteye neden olmaktadır (Butler, 2003; Perez-Marin ve ark., 2012).

Beslenme dengesizliğine bağılı meydana gelen reproduktif sorunlar, genellikle bozulmuş enerji metabolizması ile ilişkilendirilmektedir. Kan glukoz düzeyiyle birlikte insülin miktarının azalması, ovaryumda fonksiyonel bozukluklara, anöstrus, suböstrus gibi siklus düzensizliklerine ve ovulasyonun gecikmesine neden olabilmektedir. İnsülinin inek folikül gelişimi ve gonadotropinlere karşı ovarian foliküler yanıtın gerçekleşmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (Butler, 2003). Yetersiz beslenmeye bağılı ovaryum faaliyetleri ve ovulasyonun gerçekleşmemesi, gecikmesi, fertilizasyon başarısının ve progesteron düzeyinin azaldığı başka bir araştırmacı tarafından da ifade edilmektedir (Ayalon, 1984). Ayrıca vitamin ve mineral eksikliklerinin fertilitate problemlerine yol açtığı bildirilmektedir. *Repeat breeder* ineklerde kandaki bakır, magnezyum, çinko, kalsiyum ve fosfor oranlarının sağlıklı ineklere göre daha düşük seviyelerde olduğu belirtilmektedir (Rupde ve ark., 1993).

### 2.3.2. Erken Embriyonik Ölümler

Embriyonik dönem, gebeliğin 0. günü olarak kabul edilen fertilizasyonun şekillenmesinden sonraki 42. güne kadar geçen süredir (Barrett, Boyd, & Mihm, 2004). Embriyonik farklılaşmanın 42. günde tamamlanması ile temel doku, organ ve sistemlerin şekilleneceği fötal dönem başlamaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012; Thatcher, Guzeloglu, & Bilby, 2006). Fertilizasyonun şekillenmesinden sonraki 24. güne kadar olan kayıplar erken embriyonik ölüm, 25-42. günlerde gerçekleşen kayıplar ise geç embriyonik ölüm olarak değerlendirilmektedir (Ayad, Touati, Iguer-Ouada, & Benbarek, 2012). Büyük farklılıklar gösteren embriyonik ölüm oranlarının ineklerde %10,0 ile %40,0 arasında olduğu belirtilmekte ve *repeat breeder* ineklerde bu oranın %65,0'e kadar çıkabileceği bildirilmektedir (Bilodeau-Goeseels, & Kastelic, 2003). Holştayn ırkı 1395 inek üzerinde yapılan bir çalışmada, erken ve geç

embriyonik ölüm oranlarının %31,6 ve %14,7 olduğu belirtilmektedir (Humblot, 2001). Embriyonun morula aşamasından blastosist aşamasına geçtiği 5-8. günlerde mortaliteye daha duyarlı olduğu, tüm embriyonik ölümler arasında ilk 8 gün içinde gerçekleşen kayıpların oranının multipar ineklerde %62,0'ye, nullipar inekler için ise %92,0'ye kadar çıkabildiği bildirilmektedir (Inskeep, & Dailey, 2005). Aynı şekilde *repeat breeder* ineklerde de embriyonik ölümlerin sıklıkla embriyonun uterusu geçiş dönemi olan 5 ve 7. günlerde şekillendiği belirtilmektedir (Barrett ve ark., 2004). Bir çalışmada, *repeat breeder* ineklerde ilk 7 gün içinde şekillenen embriyonik ölüm oranının %30,0 olduğu bildirilmektedir (Thatcher, Staples, Danet-Desnoyers, Oldick, & Schmitt, 1994).

Ovulasyon süresinin uzaması ve hormonal düzensizliklere bağlı oosit kalitesi, sıcak stresi, genetik faktörler, yaş, beslenme, yetersiz uterus ortamı, uterus enfeksiyonları ve luteal yetmezlik gibi önemli faktörler ineklerde embriyonik ölümlerin şekillenmesine sebep olmaktadır (Barrett ve ark., 2004; Diskin, Parr, & Morris, 2011).

### **2.3.2.1. Oosit Kalitesi**

Düşük oosit kalitesi ve yetersiz uterus ortamının, ineklerde ilk 7 gün içinde meydana gelen embriyonik ölümlerle ilişkili olduğu belirtilmektedir. Oosit kalitesinin düşük olması, fertilizasyonun şekillenmemesi ya da fertilizasyon sonrası gelişim aşamalarındaki bölünmelerin yavaş veya düzensiz gerçekleşmesine yol açmaktadır. Ovulasyon yetersizlikleri, sıcak stresi, genetik etkiler, yaş ve endokrin düzensizlikler oosit kalitesinin düşmesine neden olmaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012).

#### **2.3.2.1.1. Ovulasyon Yetersizlikleri**

Östrus başlangıcından 25-32 saat sonra ovulasyonun gerçekleşmesi beklenmektedir ancak başta endokrin düzensizlikler olmak üzere, sıcak stresi, genetik etkiler ve yaş gibi farklı sebepler, ovulasyonun şekillenmemesine ya da ovulasyon süresinin uzamasına neden olmaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012; Walker, Nebel, & McGilliard, 1996). Yapılan bir çalışmada, ovulasyonun, periferik kan dolaşımındaki LH pikinden  $24 \pm 1,4$  saat sonra gerçekleştiği bildirilmektedir (Dieleman, Bevers,

Poortman, & Van Tol, 1983). Ovulasyon zamanının uzaması; oosit ve spermatozoonun yaşlanmasına, buna bağlı fertilizasyon yeteneklerinin azalmasına ya da erken embriyonik ölümlere neden olarak gebelik oranlarının azalmasına yol açmaktadır. Bir çalışmada; 283 sürüde, 2304 inek incelendiğinde döl tutmayan ineklerin %5,6'sının uzayan ovulasyon süresine sahip oldukları belirtilmektedir (Roine, & Saloniemi, 1978). Ovulasyon sorunlarının değerlendirildiği *repeat breeder* 85 manda ve inek üzerinde yapılan çalışmada, uzayan ovulasyon süresinin insidansı %14,3 olarak tespit edilmiştir (Khanna, & Sharma, 1992).

### **2.3.2.1.2. Mevsim ve Sıcak Stresi**

Sıcak stresi, yüksek sıcaklık ve nem seviyelerine maruz kalan ineklerde *repeat breeder* oluşumuna neden olan önemli faktörlerden biridir (Ferreira ve ark., 2011; Khan ve ark., 2020). İneklerde sıcak stresi; oosit gelişimi ve hayatta kalmasını olumsuz yönde etkileyerek, oosit kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır (Payton ve ark., 2018). Sıcak stresine bağlı, yem alımında azalma ve strese bağlı kortizol seviyesinin artması sonucu hormonal dengenin bozulması gebelik oranlarını azaltmaktadır (Diskin ve ark., 2011). Sıcak stresinin dolaşımdaki LH, FSH seviyelerini düşürdüğü, korpus luteum'un gelişim ve fonksiyon bozukluklarına yol açarak erken embriyonik ölümlerin şekillenmesine sebebiyet verdiği belirtilmektedir (Arav, & Zvi, 2008; Rispoli ve ark., 2013; Satrapa ve ark., 2013). Gebelik sürecinde sıcak stresine maruz kalmış ineklerden dünyaya gelen buzağuların yaşam sürelerinin kısa, ayrıca döl ve süt verimlerinin daha düşük olduğu bildirilmektedir (Miğtkiewska, Kordowitzki, & Pareek, 2022). Sıcak stresine maruz kalan sütçü ineklerde gebelik oranlarının %71,2'den %45,7'ye düştüğü ifade edilmektedir (Monty, & Wolff, 1974). LH pikinin mevsim sıcaklıkları ile değişkenliğinin gösterildiği bir çalışmada; kış mevsiminde östrus başlangıcından 2-5 saat, yaz mevsiminde ise östrus başlangıcından 14-15 saat sonra LH piki şekillendiği bildirilmektedir (Fernandez, Castellanos, Faure, & Solano, 1985). Tropikal bölgelerde bulunan ineklerde, sıcak stresiyle birlikte *repeat breeder* oranının %62,0'ye kadar çıkabildiği belirtilmektedir (Yusuf ve ark., 2012).

### 2.3.2.1.3. Genetik Etkiler

Doğum kanalının darlığı, uterus anomalileri ve ovarian kist gibi kalıtım yoluyla anneden yavruya aktarılabilen özellikler döl tutma problemlerine yol açabilmektedir (Ladds, 1993). Ayrıca otozomal resesif genler, *Robertsonian* ve *Resiprokal* translokasyonu, *trisomi X* gibi kromozomal defektler de gebelik oranlarının azalmasına ve erken embriyonik ölümlerin artmasına neden olmaktadır (Parmar, Dhama, Hadiya, & Parmar, 2016; Yimer, & Rosnina, 2014).

### 2.3.2.1.4. Yaş

Birçok çalışmada, maternal yaş ve fertilité arasında negatif bir ilişki olduğu belirtilmektedir. İleri yaşlı ineklerde *repeat breeder*'ın daha fazla görülmesi, hipotalamus ve hipofiz bezindeki hormonal değişikliklere bağlı olarak oosit kalitesinin düşmesiyle ilişkilendirilmektedir (Perez-Marin ve ark., 2012). Ayrıca, ileri yaşlı ineklerde oosit kalitesinin, oviduktal taşınmanın ya da endometriyal reseptivitenin azalması gibi reproduktif fizyolojide şekillenen değişiklikler gebelik oranını ve gebeliğin devam ettirilmesini etkilemektedir. Yaşa bağlı olarak çevresel toksin ve patojenlere daha fazla maruz kalınması, reproduktif organların ya da hormonal dengenin zarar görmesine ve infertiliteye neden olabilmektedir. Çok doğum yapan hayvanlarda, *repeat breeder* oluşumuna sebep olan uterus enfeksiyonlarının meydana gelme ihtimalinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Adnane, Kaidi, Hanzen, & England, 2017).

### 2.3.2.1.5. Endokrin Düzensizlikler

Endokrin düzensizlikler; folikülogenezis, ovulasyon, implantasyon ya da embriyonik gelişimi etkileyerek infertilite şekillenmesine sebep olabilmektedir. GnRH, LH, östrojen ve progesteron gibi hormonların sentez ve salınımında meydana gelen aksaklıklar, gebelik oranlarının azalmasına ve *repeat breeder* oluşumuna neden olmaktadır. *Repeat breeder* ineklerde düşük GnRH seviyesinin, progesteronun bazal düzeyde ya da altında seyretmesine yol açtığı bildirilmektedir. Progesteron seviyesi düşük olan ineklerde, dominant folikülün gelişimini devam ettirdiği ancak ovulasyon

süresinin uzadığı, bu durumun da oosit kalitesi ve fertilite üzerine negatif etkileri olduğu belirtilmektedir. LH dalga sayısı ve piki düşük olan ineklerde, östrus bulgularının normal ineklere göre daha az ve *repeat breeder* oranının daha fazla olduğu ifade edilmektedir (M. Kimura, Nakao, Moriyoshi, & Kawata, 1987; Perez-Marin ve ark., 2012; Sheldon, 1997). Östrus başlangıcı ve LH piki arasındaki sürenin gebelik oranları üzerine etkisinin olduğu, östrus başlangıcından sonra 6 saat içerisinde LH piki şekillenen ineklerde daha yüksek gebelik elde edildiği bildirilmektedir (Rosenberg ve ark., 1982). Korpus luteumda üretilen progesteronun gebeliğin şekillenmesi ve devam ettirilmesinde de önemli bir rolü bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, tohumlamadan sonraki ilk 6 günde progesteron artışı ve düzeyi olması gerekenden daha düşük olan inek ve düvelerde gebelik oranlarının azaldığı belirtilmektedir (Shelton, De Abreu, Hunter, Parkinson, & Lamming, 1990). Tohumlama sonrası 5-7. günlerde progesteron düzeyi düşük olan sütçü ineklerde fertilitenin azaldığı bildirilmektedir (Stronge ve ark., 2005).

### **2.3.2.2. Yetersiz Uterus Ortamı**

Fertilizasyondan sonra ovidukt peristaltığı ve siliyer hareketlerle uterusu doğru itilen tek hücreli embriyo (zigot) hacminde değişiklik olmaksızın, hücre sayısında (blastomer) hızlı bir artışa yol açan ve hücre boyutunun küçüldüğü 5-6 mitotik bölünme geçirmektedir. Fertilizasyondan yaklaşık 40-56 saat sonra, önce iki blastomere bölünen zigot daha sonra dört ve sekiz blastomer oluşturacak şekilde bölünmeye devam etmektedir. Üçüncü bölünmeden sonra, blastomerler birbirleriyle temaslarını en üst düzeye çıkararak, kompaksiyon adı verilen sıkışık bir hücre kümesi halini almaktadır. Fertilizasyondan yaklaşık üç gün sonra, kompakt embriyonun hücreleri tekrar bölünerek 16 hücreli morula adı verilen yapıyı oluşturur. Morula gelişmeye devam ederken blastomerler, embriyo ve embriyonik yapıları şekillendiren iç hücreler ve plasenta oluşumunda görev alan dış hücreler olmak üzere iki farklı hücre yapısı oluşturmaktadır (Valadão, da Silva, & da Silva, 2018; Zık, 2021). Bu dönemde gelişmekte olan embriyoya aminoasit ve glukoz gibi besin maddeleri ve IGF-I, IGF-II gibi lokal büyüme faktörleri sağlayan ayrıca transportundan sorumlu olan ovidukta meydana gelen aksaklıklar embriyonik gelişimi olumsuz yönde etkilemekte ve hatta

erken embriyonik ölümlere sebep olabilmektedir (Robinson, Hammod, Wathes, Hunter, & Mann, 2008). İneklerde embriyonun morula evresinden blastosist aşamasına geçerek oviduktan uterusu indiği süre, erken embriyonik ölümlerin en sık görüldüğü kritik zaman dilimi olarak bildirilmektedir (Shelton ve ark., 1990). Fertilizasyondan 5-7 gün sonra uterusu geçen ve burada birkaç gün boyunca serbest şekilde yüzmeye devam etmekte olan konseptus, endometriyal besleyici sıvıları tüketerek yaklaşık 100 hücreli küre şeklindeki blastosist haline gelmektedir. Bu yapıda bulunan hücreler, embriyo ve ardından fetüsü oluşturacak bir iç hücre kümesi meydana getirirken (embriyoblast), diğer hücreler anne ve yavru arasında beslenme, gaz alışverişi, filtrasyon gibi birçok farklı görevi bulunan koryon kesesi ve plasentanın fetal kısmını oluşturacak olan trofoblast (*trophoblast: to feed*; beslemek) adı verilen dış kabuğu şekillendirmektedir. Anne ile yavru arasında başlayan bu ilişki konseptusun gelişim ve implantasyonu için uterus epitelinde steroid hormonlar, sitokinler ve büyüme faktörleriyle düzenlenen dinamik değişiklikler meydana getirmektedir. *Hatching* (yumurtadan çıkma) adı verilen süreçte (8-10. gün), bu döneme kadar içinde bulunduğu dejener olmaya başlayan zona pellucida'dan ayrılmakta ve implantasyon başlamaktadır (Valadão ve ark., 2018; Zık, 2021). İmplantasyondan sonra plasentasyon da şekillenmeye başlamaktadır (21. gün). Blastosist genellikle uterusun fundus kısmına veya arka duvarına implante olurken trofoblast hücreleri, embriyoya uygun bir uterus ortamının hazırlanması için gerekli progesteron hormonu üretiminden sorumlu korpus luteumun büyüyerek devamlılığını sağlayan gebelik serum protein B'yi (PSPB ya da PAG) salgılamaktadır. Gebelik başlangıcından buzağılamaya kadar geçen sürede PSPB'nin artarak en üst seviyeye çıktığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Valadão ve ark., 2018). PSPB, gelişmekte olan binükleer plasental hücreler tarafından sentezlenen ve doğrudan maternal kan dolaşımına bırakılan, inek ve diğer ruminantlarda erken dönemde gebelik biyobelirteci olarak kullanılan, plasental gelişimi ve anne tarafından fetüse karşı şekillenebilecek immun yanıtı düzenleyen bir glikoproteindir (Wallace, Pohler, Smith, & Green, 2015). Erken embriyonik dönemle de doğrudan ilişkili olan progesteron ve IGF-1'in düşük seviyede salınımı; embriyonun gelişimini, canlılığını destekleyen uterus ortamının yetersiz kalmasına ve embriyonik ölümlere neden olmaktadır. Gebeliğin ilk günlerinde yetersiz miktarda salınan progesteron sebebiyle embriyo gelişiminde meydana gelen gecikme,

maternal tanınma ve gebeliğin devam ettirilmesi için kritik önemi olan yeterli miktarda interferon tau (IFN-tau) sentezlenememesi ve luteolizisten sorumlu PGF<sub>2α</sub> mekanizmasının bloke edilememesine yol açabilmektedir (Mann, & Lamming, 1999; Morris, & Diskin 2008; Walsh ve ark., 2011).

Progesteron takviyesi, embriyonik gelişim ve IFN-tau üzerine yapılan bir çalışmada; gelişimi yavaş olan embriyoların, gebeliğin anne tarafından tanındığı kabul edilen tohumlamadan sonraki 16. günde yeterli miktarda IFN-tau üretmedikleri belirtilmektedir (Mann, Fray, & Lamming, 2006). Endometriyal hücre kültürleri üzerinde yapılan in vitro bir çalışmada, artan IFN-tau'ya bağlı prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) sentezinin yükseldiği belirtilmektedir. IFN-tau'nun antiluteolitik ve PGE<sub>2</sub>'nin luteotrofik etkisiyle korpus luteumun yaşam ömrü uzamakta ve başarılı bir şekilde gebelik devam ettirilmektedir (R.M. Roberts, 2007). IFN-tau, trofoblast hücreleri tarafından üretilen (16-18. günlerde) ve ineğin, uterusu aracılığı ile gebeliği tanınmasını sağlayan tip I interferondur. İmplantasyonun devam ettirilmesinde, embriyo ve fetüsün oluşturacağı maternal immun yanıtın, endometriyumdaki östrojen ve oksitosin reseptör sentezinin baskılanmasında ve luteolizisin engellenmesinde görev almaktadır (Mann, & Lamming, 2001; Thatcher, Meyer, & Danet-Desnoyers, 1995).

Fertilizasyon, implantasyon, maternal tanınma ve embriyonik dönem için optimal düzeyde olması gereken uterus ortamı aynı zamanda uterus enfeksiyonlarıyla da bozulabilmektedir.

### **2.3.2.3. Uterus Enfeksiyonları**

Embriyo gelişimi için büyük bir öneme sahip optimal uterus ortamında meydana gelen problemlerin *repeat breeder* şekillenmesine sebep olduğu belirtilmektedir. Uterus enfeksiyonları, involüsyonu ve foliküler gelişimi olumsuz yönde etkileyerek embriyonik ölümlerin artmasına ve döl tutma problemlerine yol açmaktadır. Klinik belirti göstermemesinden dolayı teşhisi zor olan subklinik endometritis, gebelik kayıpları ve *repeat breeder* şekillenen hayvanlarda yaygın bir şekilde görülmektedir. (Perez-Marin ve ark., 2012; Pothmann ve ark., 2015). Bir çalışmada *repeat breeder* ineklerde subklinik endometritis oranının, polimorf nükleer nötrofil (PMN) yüzdelerine göre değerlendirilerek %12,7 ile %52,7 arasında olduğu

bildirilmektedir (Salasel, Mokhtari, & Taktaz, 2010). Subklinik endometritisli *repeat breeder* inekler üzerinde yapılan bir diğerk çalışmada, foliküler sıvıda yüksek miktarda lipopolisakkarit (LPS) bulunmasının oosit gelişimini ve mikro ortamını olumsuz yönde etkilediğı belirtilmektedir (Heidari, Kafi, Mirzaei Asaadi, & Mokhtari, 2019).

## **2.4. Repeat Breeder’ın Tedavisi**

### **2.4.1. Beslenme**

Beslenme bozukluklarının *repeat breeder* oluşumuna sebebiyet verdiği bilinmektedir. Bu amaçla, sütü ineklerin artan besin ihtiyaçlarını reproduktif problemler oluşmayacak şekilde farklı rasyon düzenlemeleri yaparak takip etmek gerekmektedir (Perez-Marin ve ark., 2012). Östrüstan 8-12 gün önce rasyona, yüksek miktarda inorganik iodin eklenmesinin hipofiz bezini uyardığı ve *repeat breeder* oranlarını azalttığı ifade edilmektedir (McDonald, McKay, & Thomson, 1961). Fertilite sorunları yaşayan ineklerin olduğu sürülerde, beklenen doğum zamanından 30 gün önce gebe ineklerin rasyonuna bakır ve magnezyum eklenmesinin fertilite problemlerini azalttığı bildirilmektedir (Ingraham, Kappel, Morgan, & Srikandakumar, 1987). Rasyona, hayvan başına günlük 40 gr monosodyum fosfat ve içme suyuna 500 ppm çinko eklenmesinin fertiliteyi iyileştirdiğı belirtilmektedir (Fayez, Marai, Daader, el-Darawany, & Aboulnaga, 1992).

### **2.4.2. Hormonal Uygulamalar**

Senkronizasyon ya da embriyonik kayıpların önlenmesi amacıyla *repeat breeder* ineklerde eksojen olarak GnRH, insan koryonik gonadotropini (hCG), progesteron ve prostaglandin F<sub>2α</sub> gibi farklı hormonal uygulamalar yapılmaktadır. Östrus siklusunun farklı dönemlerinde tek başına ya da diğerk hormonlarla kombinasyon şeklinde progesteron uygulanmasının, gebeliğın devam ettirilmesi ve maternal tanınmaya destek olduğu bildirilmektedir. Birçok çalışmada, GnRH (ve analogları) ayrıca hCG’nin eksojen gonadotropin olarak luteal aşamada ya da suni tohumlama anında kullanılmasının fertiliteyi arttırdığı belirtilmektedir (Perez-Marin ve ark., 2012).



**Progesteron uygulamaları:** Korpus luteumun fonksiyonel yetersizliği, gebeliğin devam ettirilmesi, implantasyonun gerçekleşmesi ve yavrunun histotrofik beslenmesini sağlayan uterus ortamının hazır hale gelmesi için çok önemli olan progesteron seviyesinin azalmasına neden olarak fertilitiyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bunun yanı sıra progesteron, embriyonun gelişimini ve IFN-tau salınımını desteklemektedir (M. Kimura ve ark., 1987; Santos, Thatcher, Chebel, Cerri, & Galvao 2004). İneklerde östrüstan sonraki 6 gün içinde progesteron miktarı ve artış hızındaki yetersizliğin, fertilitate problemleri meydana getirerek *repeat breeder* şekillenmesine sebep olduğu bildirilmektedir (Båge, Gustafsson, Larsson, Forsberg, & Rodríguez-Martinez, 2002; Shelton ve ark., 1990). Bu yüzden erken embriyonik kayıpların önlenmesi amacıyla farklı günlerde progesteron uygulaması yapılmaktadır (Kendall, Flint & Mann, 2009; Pandey, Gupta, Prasad, & Sheetal, 2016; Villarroel, Martino, BonDurant, Deletang, & Sischo, 2004). *Repeat breeder* inekler üzerinde, tohumlamadan sonraki 5. günden 19. güne kadar intravajinal CIDR uygulamasının kontrol grubuna kıyasla gebelik oranlarını arttırdığını ifade eden çalışmalar bulunmaktadır (Ghasemzadeh-Nava, Kohsari, & Tajik, 2007; Shams-Esfanabadi, & Shirazi, 2006). Ayrıca tohumlamadan sonraki farklı günlerde progesteronun parenteral yolla uygulanmasının, gebelik oranlarını arttırdığı yapılan bir diğer çalışmada ortaya konulmuştur (Thuemmel, Gwazdauskas, Whittier, & McGilliard, 1992). Bir diğer çalışmada, *repeat breeder* ineklere tohumlama anında 20 µg *buserelin*, tohumlamadan sonraki 4-5 ve 6. günlerde 100 mg progesteron, 16-17 ve 18. günlerde ise tolfenamik asit uygulanmasının kontrol grubuna kıyasla gebelik oranlarını altı kat arttırdığı (%12,5; %75,0) belirtilmektedir (S.P. Singh ve ark., 2020).

**GnRH uygulamaları:** Gonadotropin salınımında meydana gelen bozukluklar, anovulasyona ya da ovulasyonun beklenen zamanda gerçekleşmemesine sebebiyet vererek *repeat breeder* şekillenmesine neden olabilmektedir. Suni tohumlama döneminde GnRH uygulamalarıyla hedeflenen, anovulasyonun ve geciken ovulasyonların önlenmesidir. GnRH uygulamaları hipofiz bezini etkilemekte ve FSH, LH gibi gonadotropin salınımına bağlı, ovulasyon için gerekli preovulatorik LH pikinin meydana gelmesini sağlamaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012). Tohumlama zamanında parenteral GnRH uygulamalarının, gebelik oranlarını arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (BonDurant ve ark., 1991; Kharche, & Srivastava, 2007).

Ayrıca GnRH ve analoglarının tohumlama sonrası dönemde kullanımı; ineklerde siklusun luteal aşamasında dominant folikülün ovulasyonu, aksesör korpus luteum şekillenmesi ve progesteron artışıyla gebeliğin tanınması için bir avantaj oluşturmaktadır (Ergene, 2011). GnRH uygulamasının LH salınımı üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, östrus zamanı sentetik 5 µg GnRH uygulamasını takiben, enjeksiyondan önce 10 ng/ml olan değer ilk bir saat içinde 15 ng/ml'ye yükseldiği, 10 µg uygulandığı zaman ise iki saat içinde 41 ng/ml'ye yükseldiği belirtilmekte ve kontrol grubuna (%65,6; %39,5) kıyasla gebelik oranlarının arttığı bildirilmektedir (Prokof'ev ve ark., 1987). Diğer bir çalışmada, GnRH ve analoglarının ineklere uygulanmasıyla periferik kan dolaşımındaki LH ve FSH seviyelerinde akut bir artış şekillendiği ve bunun 3-5 saat boyunca devam ettiği ifade edilmektedir (Thatcher ve ark., 1993). Östrus başlangıcından hemen sonra GnRH uygulaması yapılan ineklerde kontrol grubuna kıyasla LH salınımının ilk bir saat içinde önemli ölçüde arttığı bildirilmektedir (Tanabe, Deaver, & Hawk, 1994). Sentetik GnRH analogu *dephereline* ile yapılan bir çalışmada, *repeat breeder* ineklerde tohumlamadan sonra 5-7. günlerde 2,5 kat yüksek dozda (250 µg) uygulanan sentetik analogun fertilitiyi arttırdığı belirtilmektedir (López-Gatius, & Garcia-Ispierto, 2020). Tohumlamadan sonraki 7 ve 14. gün aralığında *repeat breeder* ineklere tek doz 100 µg sentetik GnRH analogu *dephereline* uygulanmasının, aksesör korpus luteum oluşumunu ve embriyonun hayatta kalma şansını arttırdığı ifade edilmektedir (Borş, Borş, & Abdoon, 2023)

**hCG uygulamaları:** İneklerde ovulasyon indüksiyonu, luteotropik etkinin artırılması ve aksesör korpus luteum oluşması gibi gebelik oranlarını iyileştiren etkilerin oluşması amacıyla kullanılan bir diğer hormon hCG'dir (Perez- Marin ve ark., 2012). hCG'nin etkileri GnRH'ya benzemekle birlikte, uzun bir yarılanma ömrüne sahip olması ve etkisini direkt ovaryum üzerine göstermesinden dolayı daha fazla kullanılmaktadır (De Rensis, López-Gatius, Garcia-Ispierto, & Techakumpu, 2010). *Repeat breeder* ineklerde farklı günlerde uygulanan hCG enjeksiyonlarının, gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir (Alnimer, & Shamoun, 2015; Pandey ve ark., 2016). Tohumlama sonrası 5. günde kas içi 2000 IU hCG uygulamasının; kontrol grubuna kıyasla (%66,7; %25,0) *repeat breeder* ineklerde gebelik oranlarını arttırdığı ifade edilmektedir (Anbhule ve ark., 2019). Bir diğer çalışmada, tohumlamadan 4 gün

sonra 1500 IU kas içi hCG uygulamasıyla ovarian yanıt alınan *repeat breeder* ineklerde fertilitenin iyileştiği belirtilmektedir (Yılmazbas-Mecitoglu ve ark., 2021).

### 2.4.3. İntrauterin ve Alternatif Uygulamalar

İneklerde subklinik endometritis gibi *repeat breeder* şekillenmesine sebebiyet veren reproduktif kanal enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla intrauterin antibiyotik ve antiseptik solüsyonlar uygulanmaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012). Ayrıca farklı ilaç ve alternatif uygulamalar ile gebelik oranlarının iyileştiği de ifade edilmektedir. Bu uygulamaların amacı enfekte ve yetersiz uterus ortamının iyileştirilmesidir. Östrus başlangıcından itibaren 3 gün boyunca intrauterin pefloksasin ve siprofloksasin uygulanan bir araştırmada gebelik oranları sırasıyla; %75,0; %85,0 tedavi edilmeyen hayvanlarda ise %40,0 olarak raporlanmıştır (Purohit ve ark., 2003). Subklinik endometritisi olan *repeat breeder* ineklerde tohumlamadan 24 saat sonra intrauterin 500 mg oksitetrasiklin + 500 mg furazolidon + 500 mg kliokuinol ve 500 µg etinilöstrodiol uygulamasının, kontrol grubuna kıyasla (%75,0; %41,7) gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir (Ergün, Alacam, Aydın, & Seyrek, 2009).

Alternatif intrauterin tedaviler arasında ozon, bitki ekstraktları, farklı solüsyonlar ve homolog kan ürünlerinin uygulanması yer almaktadır. Endometritisi olan *repeat breeder* melez ırk ineklerde yapılan bir çalışmada, 30 ml steril fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) içine 100 µg *Escherichia coli* LPS'i eklenerek tek doz intrauterin uygulandığı takdirde, 12 inekten 9'unun (%75,0) bir sonraki siklusta servikovajinal mukuslarının temiz ve herhangi bir bakteri üremediği belirtilmektedir (J. Singh ve ark., 2000). İntrauterin %0,5-1,0'lik Lugol solüsyonu uygulamasının *repeat breeder* ineklerde subklinik endometritisin tedavisi amacıyla kullanılabileceği farklı araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Ahmed, & Elsheikh, 2014; L. Singh, Gandotra, Singh, & Arora, 2010). Endometritisi olan inekler üzerinde intrauterin homolog plazma tedavisi ile yapılan bir çalışmada, östrustaki ineklere intrauterin 25-35 ml homolog plazma uygulamasının (%53,9) kontrol grubuna kıyasla (%40,0) gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir (Venugopal, 1995). Tohumlamadan 48 saat sonra intrauterin konsantre platelet uygulamasının *repeat breeder* ineklerde gebelik oranını arttırdığı bildirilmektedir. (Lange-Consiglio ve ark., 2015). Endometritisli ineklerde yapılan in vitro bir çalışmada, östrustan 4 gün önce

PRP infüzyonu uygulanan ineklerin endometriyumunda hücre proliferasyonu ve implantasyon için gerekli gen ekspresyonunun daha yüksek olduğu ayrıca proinflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunun azaldığı bildirilmektedir (Marini ve ark., 2016). Tohumlamadan 30 dakika sonra tek doz intrauterin %0,1 karvakrol solüsyonu 30-50 ml olacak şekilde uygulandığı takdirde *repeat breeder* ineklerde gebelik oranlarının artabileceği belirtilmektedir (Lehimcioğlu ve ark., 2019). Uterus enfeksiyonu olan *repeat breeder* ineklere, 7 gün boyunca 24 saat arayla intrauterin 30 ml %15,0 sarımsak ekstraktı uygulanmasının gebelik oranlarını (%60,0; %10,0) kontrol grubuna kıyasla arttırdığı belirtilmektedir (Bhardwaj ve ark., 2018). Başka bir çalışmada, doğumdan 35 gün sonra intrauterin 50 ml ozon (50 µg/ml) uygulamasının, ineklerde subklinik endometritis oranını düşürdüğü ve gebelik oranlarını arttırdığı ifade edilmektedir (Escandón ve ark., 2020).

## **2.5 Platelet (Trombosit)**

Trombositler periferel dolaşımda yer alan mRNA'ya sahip ancak çekirdekleri bulunmayan (memelilerde) sitoplazmik küçük (2-4 µm) yapıları hücrelerdir (Hawkey, 2017). Memelilerde trombositler bir glikoprotein olan trombopoiteinin kontrolünde, kemik iliğinde bulunan büyük çaplı (50-200 µm) ve çok çekirdekli yapıya sahip megakaryositlerin sitoplazmasından üretilmektedir (Kaushansky, 1999; Norol ve ark., 1998). Kemik iliğinden dolaşıma geçen disk benzeri bu hücrelerin inek kanındaki konsantrasyonu yaklaşık olarak  $150-400 \times 10^9/L$  ve ortalama yaşam süreleri kedi, köpek, at ve inekler için 4-6 gündür (Crawford ve ark., 1996; Heilmann ve ark., 1993; Jacobs, Boyce, & Kociba, 1986; Snyder, Watach, Litwak, & Wagner, 2002). Yaşam süresini dolduran trombositler retikuloendotelial makrofajlar tarafından fagosite edilmektedir.

### **2.5.1 Plateletin Yapısı**

Elektron mikroskobu ile incelendiğinde trombositlerin sitoplazmalarında; glikojen granülleri, filamentler, lizozom, mitokondri, mikrotübül, alfa ve dense granülleri gibi organellerin yer aldığı gözlenmektedir (Schalm, Jain, & Carroll, 1986; Tablin, Walker, Klein, Field, & Crowe, 2000). Ayrıca trombositler; vasküler

endotelial büyüme faktörü (VEGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- $\beta$ ), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), trombosit kaynaklı anjiyogenezis faktörü (PDAF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), trombosit faktörü 4 (PF-4), interlökin-1 (IL-1) gibi büyüme faktörleri ve sitokinleri içermektedir (Eppley, Woodell, & Higgins, 2004; Ross, Raines, & Bowen-Pope, 1986). Trombosit membranında 'glikokaliks' adlı bir yapı bulunmakta ve bu yapı, platelet adezyon ve agregasyonunda rol almaktadır (White, & Michelson, 2007).

Trombositlerde farklı yapı ve içerikte granüller bulunmaktadır;

**Alfa granüller:** İnaktif durumda bulunan büyüme faktörlerinin depolandığı ve trombositlerde en fazla bulunan granüldür. Önceden sentezlenip depolanan; PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, IGF, EGF, PF-4 ve beta tromboglobulin ( $\beta$ TG) gibi koagülasyon faktörleri, büyüme faktörleri, glikoproteinler ve platelet spesifik proteinler bu granülde yer almaktadır. Bu içerikler hücre çoğalması ve farklılaşması, pıhtılaşma, damar onarımı, anjiyogenezis, trombosit agregasyonu için büyük öneme sahiptir (Blair, & Flaumenhaft, 2009; Harrison, & Cramer, 1993; Maynard, Heijnen, Gahl, & Günay-Aygün, 2010).

**Dense granüller (Delta):** Elektron mikroskopunda ışığı, diğer granüllerden daha yoğun bir şekilde soğurmalarından dolayı yoğun granül de denilebilmektedir. Yapıları ve sayıları alfa granüllere göre daha azdır. Yapısında ATP gibi nükleotit trifosfatlar, histamin, serotonin, dopamin, kalsiyum ve magnezyum gibi iyonlar ayrıca IIb/IIIa gibi glikoproteinler bulunmaktadır. Bu yapılar genellikle damar hasarlarında, trombositlerin adezyon ve vazokonstriksiyonunu kolaylaştırmaktadır (McNicol, & Israels, 1999; Youssefian, Massé, Rendu, Guichard, & Cramer, 1997).

**Lizozomal Granüller (Lambda):** Bakterisidal etkinlikleri ve fazla pıhtıyı lize edici özellikleri vardır, asit hidrolaz gibi lizozomal enzimleri içermektedir (Rendu, & Brohard-Bohn, 2001; Sharda, & Flaumenhaft, 2018).

**Glikojen Granülleri:** Aktifleşen plateletlerin enerji kaynağı olarak glukozu kullanabilmesi amacıyla depo görevi yapmaktadır (David-Ferreira, 1964; White, 1999).

### 2.5.2 Plateletin Görevleri

Hemostazisin sağlanması ve yara iyileşmesi, trombositlerin en önemli görevlerindedir. Ayrıca anjiyogenezis, damar rejenerasyonu ve konağın lokal savunmasını sağlamak diğer fonksiyonları arasında yer almaktadır. Vasküler duvara yakın olarak dolaşımda bulunan trombositler, dokunun hasar alması ya da inflamasyon sonucu ortaya çıkan proteinlerle temas ettiklerinde aktive olmaktadır. Subendotelial ve kapillar membrandaki kollajen ve von Willebrand faktör'ün matriks ve diğer trombositlere temas etmesiyle psödopod oluşturan trombositler agregre olmakta ve pıhtı oluşturmaktadır. Koagülasyon kaskadının şekillenmesi sonucunda hemostazis sağlanmış olmaktadır (Eppley, Pietrzak, & Blanton, 2006; Golebiewska, & Poole, 2015; Pietrzak, & Eppley, 2005).

Aktive olan trombositlerden ortama bırakılan büyüme faktörleri migrasyon, proliferasyon ve matriks reorganizasyonunda rol alarak yara iyileşmesini sağlamaktadır. İnflamasyon, proliferasyon, skar dokusu oluşumu ve remodelling gibi tüm yara iyileşme aşamalarında plateletler yer almaktadır (Pietrzak, & Eppley, 2005; Eppley ve ark., 2006; Marx, 2004).

### 2.5.3. Platelet Aktivasyonu

İnaktif trombositlerin yapıları düzgündür ancak aktive oldukları zaman psödopod oluşturarak şekil değiştirdikleri görülmektedir. Böylelikle trombositler kümeleşmekte ve degranülasyona uğramaktadırlar. Trombositlerin aktivasyonu sonucu, alfa ve dense granüllerinde bulunan büyüme faktörleri ortama bırakılmaktadır (Borrione, Di Gianfrancesco, Pereira, & Pigozzi, 2010; Brogini ve ark., 2011; Dhillon, Schwarz, & Maloney, 2012). Pıhtılaşma ilk 10 dakika içinde başlamakta ve büyüme faktörlerinin %70,0'i o anda salınmaktadır. Ayrıca depolanan büyüme faktörlerinin tamamına yakını 1 saat içinde ortama bırakılmış olmaktadır. Bu yüzden PRP'nin de uygulamadan hemen önce aktive edilmesi tavsiye edilmektedir. Buna ek olarak, trombositler yaşam süreleri boyunca büyüme faktörü sentez ve salınımına devam etmektedir (DeLong ve ark., 2011; Marx, 2001).

Trombositler; kollajen, trombosit aktive edici faktör (PAF), epinefrin, ADP, doku bütünlüğünün bozulması, trombin veya kalsiyum kullanımı gibi birçok farklı

yöntemle aktive olabilmektedir (Cavallo ve ark., 2016; Ishii, & Shimizu, 2000; Lanza ve ark., 1986). Sahada trombosit aktivasyonu amacıyla yaygın olarak sığır ve insan trombini ve/veya kalsiyum kullanılmaktadır (Pietrzak, & Eppley, 2005).

## **2.6. Platelet Zengin Plazma-*Platelet Rich Plasma* (PRP) Tanımı**

Tarihte ilk olarak platelet zengin plazma (PRP) ifadesi, 1954 yılında kan pıhtılaşma deneyleri sırasında trombosit konsantrasyonunu belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır (Kingsley, 1954). Platelet zengin plazma, antikoagülanlı tam kanın santrifüj edilmesi sonucu elde edilen ve normal kandan 2-5 kat konsantrasyonda trombosit içeren otolog bir kan ürünüdür. Elde edilecek PRP için 5 ml plazmada en az 1.000.000 platelet/ $\mu$ l yoğunlukta olması, tek kullanımlık, sertifikalı steril ve ajirojen ekipmanlar kullanılması istenmektedir (Fortier, 2011; Knezevic ve ark., 2016; Marx, 2001).

PRP hazırlamak için farklı yöntemler bulunmasına rağmen, iki aşamalı santrifüj yönteminin daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir (El-Husseiny, Saleh, Moustafa, & Salem, 2021; Marx, 2001). Bu yöntemde, ilk santrifüj kırmızı kan hücrelerini, trombosit ve lökosit içeren plazma kısmından ayırmaktadır. İkinci santrifüj sonucunda ise platelet, lökosit ve az miktarda bulunan eritrositler ve düşük miktarda trombosit içeren plazma (*platelet poor plasma*, PPP) kısmı birbirinden ayrılmaktadır. Böylelikle, düşük miktarda trombosit içeren plazma uzaklaştırılarak PRP elde edilmektedir (DeLong ve ark., 2011).

Platelet zengin plazma'nın mutlaka otolog olarak elde edilmesi tavsiye edilmektedir. Homolog olarak hazırlanan PRP, immun reaksiyonlara ve buna bağlı yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. Otolog olarak elde edilen PRP, normal kandan düşük bir pH'ya sahip olduğu için bakteriyel kontaminasyona dirençli olduğu ve bulaşıcı hastalıklara ya da immun reaksiyona neden olmadığı bildirilmiştir (Ciešlik-Bielecka ve ark., 2018; Farghali ve ark., 2019; Marx, 2004). Doğru şekilde hazırlanan platelet zengin plazmanın içerisindeki trombositlerin antikoagülanlı olarak, aktifleştirilmedikleri 8 saat boyunca stabil ve steril olarak kaldıkları ve ilk 3-4 saat içinde kullanılmasının daha faydalı olacağı belirtilmektedir (Kaux ve ark., 2015; Marx, 2001). PRP etkinliğini, trombositlerin sitoplazma ve granüllerinde bulunan protein, büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığı ile göstermektedir. Bu aktif moleküllerin

prorejeneratif, proliferatif, anjiyojenik, kemotik ve antiapoptotik özelliklerinin olduğu çalışmalarla ispatlanmıştır (Foster, Puskas, Mandelbaum, Gerhardt, & Rodeo, 2009; Lang, Loibl, & Herrmann, 2018).

### **2.6.1. Platelet Konsantrasyonlarının Sınıflandırılması**

Platelet konsantrasyonları, antikoagülan kullanımı ve içeriklerine göre farklı sınıflara ayrılmaktadır. Saf platelet zengin plazma (P-PRP) ve lökosit ve platelet zengin plazma (L-PRP) elde etmek amacıyla heparin, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), sodyum sitrat ve asit sitrat dekstroz gibi antikoagülan maddeler kullanılırken, saf platelet zengin fibrin (P-PRF) ve lökosit ve platelet zengin fibrin (L-PRF) elde etmek amacıyla antikoagülan ve aktivatör kullanılmamaktadır, aksine bazı araştırmacılar P-PRF elde ederken tam kana kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) gibi koagülanlar eklemektedir. Fibrin içeren P-PRF ve L-PRF gibi konsantrasyonlar, genellikle tek aşamalı santrifüj yöntemi ile hazırlanmaktadır (Dhillon ve ark., 2012; Ehrenfest, Rasmusson, & Albrektsson, 2009).

**Saf platelet zengin plazma:** Düşük miktarda lökosit, eritrosit, yoğun miktarda platelet ve aktivasyondan sonra düşük yoğunlukta fibrin ağları içermektedir. Sıklıkla bu PRP türünün kullanımı tercih edilmektedir.

**Lökosit ve platelet zengin plazma:** Yoğun olarak lökosit ve trombosit içermekte, düşük miktarda eritrosit bulunmaktadır. Aktive edildikten sonra düşük yoğunlukta fibrin ağları içermektedir.

**Saf platelet zengin fibrin:** Antikoagülan içermeyen kandan elde edilmektedir. Yüksek fibrin yoğunluğuna sahiptir ve lökosit içermemektedir.

**Lökosit ve platelet zengin fibrin:** Antikoagülan içermeyen kandan elde edilmekte, yoğun miktarda lökosit ve fibrin içermektedir.

### **2.6.2. PRP'nin Kullanım Alanları**

#### **2.6.2.1. İnsan Hekimliğinde**

İnsan hekimliğinde PRP yıllardır yara, sinir, tendo, ligament ve kemik iyileşmesi ayrıca spinal, periodontal, kalp ve plastik cerrahi gibi birçok farklı alanda alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda ise kadın hastalıkları ve



doğum alanında fertilitiyi arttırmak amacıyla PRP ile ilgili birçok çalışma yapılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

**Yara iyileşmesi:** Yara iyileşmesinde PRP uygulamasının; epitelyal farklılaşma, dermal bölgede matriksin organizasyonu, vaskülarizasyon ve kollajen sentezini arttırarak epitelizasyonun hızlandırdığı belirtilmektedir (A. Kimura ve ark., 2005). Kronik iyileşmeyen ülseratif yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (Hu ve ark., 2019; Xia, Zhao, Xie, Lv, & Cao, 2019). Ayrıca yanık yaralarının tedavisinde PRP kullanılmasının iyileşme oranlarını arttırdığı ve iyileşme süresini azalttığı belirtilmektedir (Zheng, Zhao, Zhao, & Li, 2022).

**Sinir iyileşmesi:** Farelerde yapılan deneysel bir çalışmada, fasiyal siniri kesilmiş hayvanların iyileşme aşamasında cerrahi suturla birlikte PRP uygulanmasının iyileşmeyi olumlu yönde etkilediği vurgulanmaktadır (Farrag, Lehar, Verhaegen, Carson, & Byrne, 2007). Karpal tünel sendromu olan hastalarda tek doz PRP uygulamasının pozitif etkisi olduğu ve klinik semptomların gerilediği ifade edilmektedir (Malahias ve ark., 2018).

**Kemik, tendo ve ligament iyileşmesi:** Otolog PRP'nin, kemik greftleri kullanmaya gerek kalmadan genç hastalarda kemik iyileşmesini desteklediği belirtilmektedir (Memeo, Verdoni, De Bartolomeo, Albisetti, & Pedretti, 2014). Tendinopatisi olan hastalarda PRP uygulamasının kontrol grubuna kıyasla semptomların gerilemesinde daha etkili olduğu bildirilmektedir (Miller, Parrish, Roides, & Bhattacharyya, 2017)

**Diş hekimliği ve periodontal cerrahi:** PRP'nin kemik hücrelerinin yenilenmesini desteklemesinden dolayı, kemiğe yerleştirilen implantlarda, mandibula rekonstrüksiyonunda, maksillofasiyal bölgenin tümör ve maksiller sinüs cerrahilerinde başarıyla kullanılmaktadır (Klongnoi ve ark., 2006). İmplant uygulamalarında PRP kullanılmasının yumuşak doku ve yara iyileşmesinde kontrol grubuna göre daha iyi olduğu belirtilmektedir (Taschieri ve ark., 2017).

**Kozmetik uygulamalar ve plastik cerrahi:** Dokularda adezyon ve hemostaz etkisinden dolayı kemik ve deri greftlerinde, blefaroplastilerde PRP kullanılmaktadır. Yağ greft uygulamalarına PRP eklenmesinin uzun vadede kontur yenilenmesinde fayda sağladığı belirtilmektedir (Welsh, 2000). Androjenik alopesi olan hastalarda lokal PRP uygulamasının tedavi edilen alanlardaki saç miktarını ve kalınlığını

arttırdığı ifade edilmektedir (Giordano, Romeo, & Lankinen, 2017). PRP'nin cilt gençleştirmede etkili olarak kullanılabilmesi bildirilmektedir (Yuksel, Sahin, Aydin, Senturk, & Turanli, 2014).

**Spinal cerrahiler:** Omurilik ameliyatlarında bölgeye PRP uygulanmasının kemik rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (Bose, & Balzarini, 2002; Lowery, Kulkarni, & Pennisi, 1999; Tarantino ve ark., 2014).

**Kadın hastalıkları ve doğum:** Kronik endometritisi olan ve özellikle antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen kadınlarda tedaviye ek olarak PRP kullanılabilmesi ifade edilmektedir (Sfakianoudis ve ark., 2019). Kadınlarda vajinal atrofi tedavisinde PRP kullanımının etkili olduğu belirtilmektedir (S.H. Kim, Park, & Kim, 2017). Ayrıca tekrarlayan implantasyon başarısızlığı ve endometriyum gelişimi yetersiz olan kadınlarda in vitro fertilizasyon tedavisinin desteklenmesi amacıyla intrauterin PRP uygulanmakta ve başarılı sonuçlar alınmaktadır (Chang ve ark., 2015; Coksuer, Akdemir, & Ulas Barut, 2019).

#### **2.6.2.2. Veteriner Hekimliğinde:**

Veteriner hekimliğinde son yıllarda PRP kullanımı giderek artmakta ve kendine geniş bir yer edinmektedir. Veteriner sahada; geniş, kronik, ülseratif ya da abdominal yara, göz hastalıkları (keratitis, korneal ülser vb.), periodontal hastalıklar, tendo, ligament ve kemik hasarları ayrıca mastitis ve endometritis gibi hastalıkların tedavisinde başarılı bir şekilde alternatif tedavi olarak PRP kullanılmaktadır.

**Yara tedavisi:** Otolog PRP'nin geniş kutanöz hasarların tedavisinde faydalı olduğu ve geciken yara iyileşmesini hızlandırdığı, ayrıca L-PRP'nin yüksek lökosit içermesinden dolayı antibakteriyel etkisinin, kronik yara ve kutanöz ülserlerin tedavisinde başarı gösterdiği belirtilmektedir (Crovetti ve ark., 2004; J.H. Kim, Park, & Park, 2009). Kutanöz yumuşak doku yaralarının iyileşmesini hızlandırdığı ve tedavi sonrası etkilenen bölgede tüylerin tamamen çıktığı ifade edilmektedir (Chung, Baek, Kim, Park, & Park, 2015; Tambella ve ark., 2018). Yanık yaralarının tedavisinde otolog PRP kullanımının, yara iyileşmesini hızlandırdığı ve sekonder komplikasyonları azalttığı bildirilmektedir (S. Lee, Cheong, & Lee, 2018). Veteriner sahada karın duvarı hasarlarının tedavisinde PRP yardımcı bir ajan olarak da kullanılabilir. Karın duvarı defektinin düzeltilmesinde kullanılan

polyester/pamuk kumaşa PRP eklenmesinin, doku ve yeni damar oluşumunu arttırdığı ayrıca nüks oranı ve postoperatif peritoneal adezyon insidansını azalttığı belirtilmektedir (Abouelnasr ve ark., 2017). İntestinal yaralarda iyileşme sürecini olumlu etkilediği bildirilmektedir (Fresno ve ark., 2010).

**Tendo, ligament ve kemik tedavisi:** PRP'nin kemik iyileşmesini hızlandırdığı ve iyileşmeyen kırıkların tedavisinde fayda sağladığı ifade edilmektedir (Andersen, Wragg, Shariatzadeh, & Wilson, 2021; S. López ve ark., 2019). PRP ve kök hücrelerin birlikte kullanımının, yeni oluşan kemik dokusunda vaskülojenезisi arttırdığı ve iyileşme sürecini hızlandırdığı belirtilmektedir (Shafieian ve ark., 2017a; 2017b). Akut travmatik kemik kırıklarının tedavisi amacıyla eksternal fiksasyonla birlikte PRP kullanımının faydalı olduğu gösterilmektedir (S. López ve ark., 2019). L-PRP ayrıca bursitis, tendinitis, tendon/ligament rupturu, osteoarthritis, eklem gevşekliği, lumbosakral stenoz ve patellar luksasyon gibi çeşitli kas-iskelet bozukluklarının tedavisinde de kullanılabilir (Catarino, Carvalho, Santos, Martins, & Requicha, 2020; King, Cawood, & Bookmiller, 2021). Ek olarak, PRP ile kombinasyon halinde eklem içi hyalüronik asit enjeksiyonlarının, osteoartrit semptomlarının tedavisinde etkili olduğu bildirilmektedir (M.I. Lee ve ark., 2019). Tendo ve ligament iyileşmesine katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Georg, Maria, Gisela, & Bianca, 2010; Xie ve ark., 2013).

**Periodontal tedavi:** PRP ve adipoz dokudan üretilen kök hücrelerin birlikte kullanımının, periodontal doku rejenerasyonunu desteklediği bildirilmektedir (Tobita, Uysal, Guo, Hyakusoku, & Mizuno, 2013). PRP'nin ayrıca köpeklerde olgunlaşmamış köpek dişlerinin tedavisinde uygulanan revaskülarizasyon prosedürlerinin başarı oranını arttırmak için ek bir tedavi olarak da kullanılabilirliği belirtilmektedir (Stambolsky ve ark., 2016).

**Göz hastalıkları tedavisi:** Ülseratif keratitis, korneal erozyonlar ve diğer korneal yaralanmaların tedavisinde PRP kullanılabilir bir terapötik ajan olarak kabul edilmektedir (Vatnikov ve ark., 2020). PRP'nin damla veya pıhtı formu, kornea ülseri tedavisi için rejeneratif tıp alanında yeni bir gelişme olarak ifade edilmektedir (Farghali ve ark., 2021). Yapılan araştırmalarda, PRP damlalarının orta veya derece II kornea ülserleri için iyileşme sürecini desteklediği ve ülserlerin daha agresif formlarına ilerlemesini önlediği gösterilmektedir (Mishra ve ark., 2021). Otolog

PRP'nin, orta dereceli keratokonjunktivitis sicca'da etkili olduğu, ayrıca ön oküler yüzeyin inflamatuvar veya travmatik durumlarının tedavisinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Edelmann, Mohammed, Wakshlag, & Ledbetter, 2018; Vatnikov ve ark., 2020).

**Mastitis tedavisi:** Meme içi konsantre platelet uygulamasının akut ve kronik mastitisi olan ineklerde enfeksiyona bağlı yangısal süreci baskılayarak, meme paraneşim dokusunda meydana gelebilecek doku hasarını sınırladığı ve mastitisin nüks oranlarını düşürdüğü belirtilmektedir (Lange-Consiglio, Spelta, Garlappi, Luini, & Cremonesi, 2014). Ayrıca başka bir çalışmada, konsantre platelet uygulamasının süt sığırlarında subklinik mastitisin tedavisinde antimikrobiyal bir ajan kadar etkili olduğu ve tekrarlamasını engellediği bildirilmektedir (Dal ve ark., 2019).

**Endometritis tedavisi:** Fareler üzerinde yapılan bir çalışma, intrauterin PRP infüzyonunun, uterus gelişimi ile ilgili genlerin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı, doku proliferasyonunu desteklediği, apoptozisi ve endometriyal dokularda inflamatuvar yanıtı azalttığı belirtilmektedir (Zhang ve ark., 2022). Aşım sonrası endometritisi olan kısıraklarda intrauterin PRP infüzyonu, polimorfonükleer nötrofillerin (PMN) sayısını ve üreme sonrası intrauterin sıvı miktarını azaltarak inflamatuvar yanıtı düzenlemektedir. Trombosit zengin plazmanın PMN migrasyonunu inhibe ettiği, IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu baskıladığı ve COX-2 endometriyal ekspresyonunu azaltarak intrauterin inflamasyonu düzenlediği yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Metcalf, 2014; Segabinazzi ve ark., 2017). Kronik dejeneratif endometritisi olan kısıraklarda tohumlamadan 4 saat sonra intrauterin uygulanan PRP'nin, semene karşı oluşan şiddetli uterin inflamatuvar yanıtın yönetilmesinde katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Reghini ve ark., 2016). Akut endometritisi olan dişi eşeklerde yapılan bir çalışmada; iki hafta arayla intrauterin PRP uygulamasının uterustaki oksidatif stres belirteçlerini azaltarak endometriyal iyileşmeye yardımcı olduğu belirtilmektedir (Farghali ve ark., 2022). İneklerde yapılan intrauterin PRP çalışmasında, endometritisi olan hayvanlarda PRP'nin yangısal sürecin düzenlenmesi ve iyileşme üzerine olumlu etkisinin olduğu bildirilmektedir (Marini ve ark., 2016).

### 2.6.3. PRP'de Bulunan Büyüme Faktörlerinin Önemi ve Gebelikteki Rolü

Büyüme faktörleri protein yapılıdır ve çoğunluğu trombositlerin alfa granüllerinde inaktif halde yer almaktadır. Trombositlerdeki büyüme faktörlerinin görevlerini yerine getirmek amacıyla hedef hücrelerin membranı üzerinde bulunan reseptörlere bağlanması yeterli olmaktadır, hücrelerin içine ya da çekirdeğine girmemektedir. Hücre içi sinyal yolları üzerinden, spesifik reseptörlere bağlanıp hücrenin gen ekspresyonunu uyararak protein sentezini, bölünmesini ve yenilenmesini hızlandırmakta, normal metabolizma akışını değiştirmemektedir. PRP direkt hücre farklılaşması oluşturmamaktadır.

PRP yoğun miktarda farklı birçok büyüme faktörünü içermektedir;

**Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF):** Anjiyogenezis ve damar geçirgenliğini arttırmakta, endotel hücrelerde mitogenezi uyarmaktadır. Kadınlarda endometriyal hücrelerin proliferasyonu ve endometriyum rejenerasyonunun desteklenmesinde rol almaktadır (Ferrara, Gerber, & LeCouter, 2003; Kosaka, Sudo, Miyamoto, & Shimizu, 2007). Gebe ineklerde implantasyon öncesi dönemde endometriyum ve miyometriyumda VEGF ailesinin ekspresyon ve regülasyonunun, gebe olmayan ineklere göre daha fazla olduğu, bunun uterustaki damarlaşıma, maternal tanıma ve implantasyon ile ilişkili olabileceği vurgulanmaktadır. Ayrıca başka bir çalışmada, VEGF'nin embriyonik gelişimin başlamasında önemli bir rolü olduğu belirtilmektedir (Hayashi, Hosoe, Fujii, Kanahara, & Sakumoto, 2019; Luo, Kimura, Aoki, & Hirako, 2002).

**Dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- $\beta$ ):** Endotelial, fibroblastik, osteoblastik mitogenezi, kollajen sentezini ve salgılanmasını, kemotaksis ve endotelial anjiyogenezis, diğer büyüme faktörlerinin mitojenik etkisini düzenler. Lenfositlerin ve makrofajların çoğalmasını engeller. Kadınlarda endometriyal desidualizasyon, menstrüasyon ve endometriyal rejenerasyon, primordiyal folikülden primer foliküle geçiş ve ovaryumda FSH reseptörlerinin sentezinde görev almaktadır (Knight, & Glister, 2006; Stoikos, Harrison, Salamonsen, & Dimitriadis, 2008). İneklerde fetomaternal bağlantıyı sağlayan plasentolarda TGF- $\beta$  ailesinin bulunmasının, endometriyal ve koryonik gelişimi destekleyebileceği belirtilmektedir. Embriyonik gelişimde rol almaktadır (Larson, Igotz, & Currie, 1992a; Neira, Tainturier, Pena, & Martal, 2010).

**İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF):** Kadınlarda endometriyum proliferasyonunun indüksiyonu, endometriyal hücrelerin desidualizasyonu, IGF-I ve IGF-II aracılığı ile sekonder foliküllerin gelişmesi, granüloza hücrelerinin çoğalması ve steroidogenezisin uyarılmasında görev almaktadır (Silva, Figueiredo, & Van den Hurk, 2009). İneklerin uterusunda gerçekleşen IGF regülasyonunun uterus gelişimi ve erken embriyonik dönem için çok önemli olduğu belirtilmektedir (Neira ve ark., 2010; Sirisathien, Hernandez-Fonseca, & Brackett, 2003).

**Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF):** Mezenkimal hücreler ve osteoblastlar için mitojenik etkiye sahiptir. Kollajenaz sekresyonunu ve kollajen sentezini düzenler. Kadınlarda endometriyal stroma, desidua ve epitel üzerine mitojenik etki göstermektedir. Endometriyal stromal hücrelerde DNA sentezini arttırmaktadır. Primordiyal folikül aşamasından primer foliküle geçişte rol almaktadır (Matsumoto ve ark., 2005; Nilsson, Detzel, & Skinner, 2006). İneklerde embriyo gelişimini, ayrıca in vivo çalışmalarda trofoblastik ve epitelyal hücrelerin proliferasyonunu uyardığı gösterilmektedir (Larson ve ark., 1992b; Watson, Hogan, Hahnel, Schultz, & Wiemer, 1992).

**Hepatosit büyüme faktörü (HGF):** Kadınlarda endometriyal epitel hücrelerin proliferasyonunda, endometriyal rejenerasyonda, folikülogenezisin desteklenmesinde, granüloza hücrelerinde apoptozisin baskılanmasında, primordiyal folikül gelişiminin uyarılmasında görev almaktadır (Canipari, Cellini, & Cecconi, 2012; Wang, Selden, Farnaud, Calnan, & Hodgson, 1994). İneklerde implantasyon ve plasentasyonu destekleyerek gebeliğin devam ettirilmesinde rol aldığı belirtilmektedir (Mamo, Mehta, Forde, McGettigan, & Lonergan, 2012; Spencer, & Bazer, 2002).

**Fibroblast büyüme faktörü (FGF):** Mezenkimal hücreler, kondrositler ve osteoblastlar için mitojenik etkisi vardır. Kondrositlerin ve osteoblastların büyümesi ve farklılaşmasını sağlar. Kadınlarda endometriyumdaki anjiyojenik süreçlerin başlatılmasında, endotelyal proliferasyon ve organizasyonunun desteklenmesinde, folikül gelişiminin desteklenmesinde, granüloza ve ovaryum stromal hücrelerinin çoğalmasında görev almaktadır. İneklerde embriyonik gelişimi uyarmaktadır. Ruminantlarda erken embriyonik dönemde maternal tanınma için gerekli IFN-tau sekresyonunda görev almaktadır (Cooke, Pennington, Yang, & Ealy, 2009; Garor ve ark., 2009).

**Epidermal büyüme faktörü (EGF):** Anjiyogenezisi, endotelial kemotaksisi ve kollajenaz sekresyonunu düzenler. Epitelial ve mezenkimal hücrelerde mitojenik etkiye sahiptir. Kadınlarda endometriyal hücrelerin proliferasyonu ve endometriyum rejenerasyonunu desteklemektedir. In vivo bir çalışmada, endometriyal hücrelerde ve embriyo üzerindeki membran proteinlerinde DNA ve RNA sentezini uyaran mitojenik bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca artmış EGF üretiminin, trofoblast farklılaşması, hücre bağlanması ve embriyonik gelişimi desteklediği belirtilmektedir (Gargett, Nguyen, & Ye, 2012; Moreira, Paula-Lopes, Hansen, Badinga, & Thatcher, 2002; Silva ve ark., 2004).

#### **2.6.4. PRP'nin Fertilité Üzerine Etkisi**

İn vitro fertilizasyon tedavisi gören, yetersiz endometriyuma sahip kadınlar üzerinde yapılan ve insanlarda ilk klinik intrauterin PRP uygulaması içeren bir çalışmada, her siklusta düzenli olarak uygulanan PRP'nin endometriyal kalınlığı ve gebelik oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (Chang ve ark., 2015). Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda, intrauterin PRP uygulamasının endometriyal reseptiviteyi ve gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir (Farimani ve ark., 2016; Farimani, Poorlajal, Rabiee, & Bahmanzadeh, 2017). Yetersiz endometriyal gelişime sahip ve gebe kalması istenen kadınlarda yapılan pilot bir çalışmada, intrauterin PRP uygulamasının endometriyal gelişimi arttırdığı belirtilmektedir (Zadehmodarres, Salehpour, Saharkiz, & Nazari, 2017). Refrakter (tedaviye dirençli) endometriyumu olan hastalarda intrauterin PRP uygulanan bir çalışmada gebelik oranlarının arttığı bildirilmektedir (Molina, Sanchez, Sánchez, & Vielma, 2018). Embriyo transferinden 48 saat önce intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranlarını arttırdığı bir başka çalışmada gösterilmiştir (Coksuer ve ark., 2019). Diğer bir çalışmada intrauterin PRP uygulamasının endometriyum hasarı olan kadınlarda rejenerasyonu hızlandırdığı, bunun da fertilité ve gebelik oranlarını iyileştirebileceği ortaya konulmuştur (J.H. Kim ve ark., 2020). Uterusunda adezyon veya fibrozisi olan kadınlarda (*Asherman's Syndrome; AS*) intrauterin PRP uygulamasının, vaskülarizasyon ve endometriyum kalınlığını artırarak endometriyal doku rejenerasyonunu desteklediği ve hastada başarılı bir gebelik elde edildiği belirtilmektedir (Puente Gonzalo ve ark., 2021).

Aşım sonrası endometritisi olan kısıraklarda yapılan bir çalışmada, intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranlarını arttırdığı gösterilmektedir (Metcalf, 2014). Kronik dejeneratif endometritisi olan kısıraklarda intrauterin PRP uygulamasıyla gebelik oranlarının arttığı bildirilmektedir (Carluccio, Veronesi, Plenteda, & Mazzatenta, 2020). İntrauterin PRP uygulamasının, aşım sonrası endometritisi olan donör kısıraklarda uterustaki nötrofil ve proinflamatuvar sitokinleri azaltarak; embriyo transferi amacıyla daha yüksek sayıda embriyo toplanmasını sağladığı ve başarılı gebelik elde etme şansını arttırdığı ifade edilmektedir (Segabinazzi ve ark., 2021). Gebe kalmayan kısıraklarda intrauterin liyofilize büyüme faktörleri ve PRP uygulamasının endometriyal kalınlığı ve gebelik oranlarını arttırdığı belirtilmektedir (Dawod ve ark., 2021). Endometritisli kısıraklarda intrauterin uygulanan otolog PRP'nin, gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir (Ghallab ve ark., 2023). Endometritisli ineklerde yapılan bir çalışma, intrauterin PRP uygulamasının hücre proliferasyonu ve implantasyon için gerekli gen ekspresyonunu yükselttiği, ekzojen progesteronla birlikte kullanımının ise fertilitiyi arttırdığı belirtilmektedir (Marini ve ark., 2016). Tohumlamadan 48 saat sonra intrauterin konsantr platelet uygulamasının *repeat breeder* ineklerde gebelik oranını arttırdığı bildirilmektedir. (Lange-Consiglio ve ark., 2015).

Sonuç olarak, farklı türlerde intrauterin PRP uygulamasıyla gebelik oranlarının arttığı ifade edilen birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak *repeat breeder* ineklerde, intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisini araştıran sadece tek bir çalışma vardır. *Repeat breeder* ineklerde tek bir çalışmanın bulunması ve bu çalışmanın az sayıda hayvan üzerinde yapılarak intrauterin PRP uygulamasının embriyonik ölümler üzerine etkisinin değerlendirilmemesi, PRP hazırlanması, miktarı ve uygulama zamanı üzerine standart bir protokolün bulunmaması nedeniyle bu durum daha büyük örneklem sayısına sahip, tohumlamadan sonra farklı zaman ve miktarda uygulanan intrauterin PRP çalışmalarına ihtiyaç oluşturmaktadır. Bu amaca yönelik olarak sunulan çalışma planlanmıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hayvan Materyali, Barınma ve Besleme Koşulları

Bursa Uludağ Üniversitesi Etik Kurulu'nun 29.09.2020 tarihli toplantısı ve 2020 – 10/11 numaralı kararı ile yapılması uygun görülen bu çalışma, hastalıklardan arı sertifikası bulunan bir sütçü işletmede 01.02.2020 – 01.05.2021 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmada materyal olarak, laktasyonları 1-7 arasında değişen (ortalama 2,25), sağılan gün sayısı ortalama 243 ve herhangi bir sağlık problemi olmamasına rağmen 3 ve üzeri tohumlama (ortalama 4,5) sonucu gebe kalmadığı tespit edilen 360 adet *repeat breeder* Holştayn ırkı inek kullanıldı. İnekler yaş gruplarına göre sınıflandırılmış, kum zemin ve serbest dolaşım alanına sahip, sıcaklık ve nem oranının kontrol edildiği serinletme sistemi olan padoklarda barındırıldı. *National Research Council* programı ile hazırlanan rasyon günde 3 defa verildi ve su ihtiyaçları ad libitum olarak karşılandı.

#### 3.2. Gruplandırma ve Senkronizasyon Protokolü

Çalışmaya dahil edilen tüm inekler; tohumlamadan sonraki 18-24. günlerde, GnRH (Dalmarelin®, Lesirelin asetat 25 µg) ve PGF<sub>2α</sub> (Dalmazin®, D-kloprostenol 75 µg) içeren resenkronizasyon (GnRH- 7gün- GnRH- 7gün- PGF<sub>2α</sub>- 24 saat- PGF<sub>2α</sub>- 36 saat- GnRH- 16-18 saat- ST) protokolü başlanan ve 32-38. günlerde gebe olmadığı tespit edilen hayvanlar arasından seçildi. İnekler, zaman ayarlı suni tohumlama gününde rastgele ve eşit sayıda olacak şekilde 2 gruba ayrıldı (PRP n=180 ve Kontrol n=180). Suni tohumlamadan sonra intrauterin otolog PRP uygulanacak olan ineklerden kan örnekleri alındı.

#### 3.3. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Zaman ayarlı suni tohumlamadan hemen sonra; ajirojen, steril ve %6,0 eğimli uçlu, pembe (18G) kanül kullanılarak (Berika® Teknoloji Medikal, TÜRKİYE) vena subkutanea abdominis'e punksiyon yapıldı (PRP n=180). Toplam 90 ml venöz kan, antikoagulan olarak 1/9 oranında (5 ml) koruyucu madde bulunmayan, steril %3,2 sodyum sitrat (Natrium Citrat steril 10 ml, Kastner-Praxisbedarf GmbH, ALMANYA)

içeren tek kullanımlık apirojen, steril 2 adet 50 ml'lik enjektöre (Berika®) alındı. Toplanan kan örnekleri 1 saat içerisinde; DNaz/RNaz içermeyen, apirojen ve steril 15 ml'lik falkon tüplere (Radiation Sterile Centrifuge Tube Conical Bottom Polypropylene 15 ml, Tarsons®, HİNDİSTAN) aktarılarak, PRP hazırlama aşamasına kadar +4 °C sıcaklıkta 18 saat muhafaza edildi.

### 3.4. PRP Hazırlanması ve Uygulanması

Toplanan kan örnekleri, otolog platelet zengin plazma elde edilmek üzere oda sıcaklığında (20 °C) iki aşamalı santrifüj (Awel® Centrifuges C12, Awel International, FRANSA) işlemine tabi tutuldu. İlk santrifüj işlemi 400g kuvvetinde 20 dakika süreyle uygulandı. Bu uygulama sonunda kan; ağırlıklarına göre alt katmanda (presipitat) eritrositler, orta katmanda (*buffy coat*) lökosit ve trombositler, üst katmanda (supernatant) plazma olacak şekilde 3 kısma ayrıldı. Üstte bulunan plazma ve *buffy coat* kısmı bir miktar eritrositin karışmasına izin verilerek, DNaz/RNaz içermeyen, apirojen ve steril 1000 µl pipet ucu (Radiation Sterile Racked Graduated Polypropylene Tips 1000 µl Blue, Tarsons®, HİNDİSTAN) takılı mikropipet kullanılarak başka bir 15 ml falkon tüpe (Tarsons®) aktarıldı. Plazma, *buffy coat* ve az miktarda eritrosit içeren bu tüpe, 900g kuvvetinde 10 dakika süreyle ikinci santrifüj işlemi uygulandı. İkinci santrifüj sonunda, trombosit ve az miktarda bulunan eritrositler dibeye çökerken üst kısımda PPP şekillendi. Platelet fakir plazma'nın 2/3'lük kısmı, 1000 µl pipet ucu (Tarsons®) takılı mikropipet kullanılarak uzaklaştırıldı. Çöken trombosit ve az miktardaki eritrositleri içeren 1/3 kısma ise aynı pipet ucu ve mikropipet kullanılarak 8-10 defa pipetaj yapıldı ve plazma içerisinde homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Homojen hale getirilen PRP (toplamda 15 ml), 50 ml'lik enjektöre (Berika®) alındı ve elde edildikten sonraki 3 saat içinde (tohumlamadan 24 saat sonra) uygulanması sağlandı. Plateletlerin kalsiyum iyonları ile aktivasyonu amacıyla; yaklaşık 1/10 oranında (1 ve 2 ml), oda sıcaklığında (20 °C) ve güneş ışığı almayacak şekilde muhafaza edilen apirojen, steril %10,0 kalsiyum glukonat monohidrat (Calciosel®, Haver Pharma İlaç A.Ş., TÜRKİYE) uygulamanın hemen öncesinde PRP içerisine eklendi ve PRP grubundaki ineklere tohumlamadan 24 saat sonra intrauterin olarak verildi.

### 3.5. Gebelik Muayenesi

PRP grubunda 27 inek, Kontrol grubunda ise 30 inek gebelik muayenesi öncesi farklı sebeplerle sürü dışı bırakılarak çalışmadan çıkarıldı. İneklerin (Deney=153, Kontrol=150) gebelik muayeneleri 7.5 MHz transrektal linear prob kullanılarak ultrasonografi ile yapıldı (Hasvet 838™, Hasvet Medikal AŞ., TÜRKİYE). İneklerin birinci gebelik muayeneleri zaman ayarlı suni tohumlamadan sonraki 30. günde, ikinci gebelik muayeneleri ise 60. günde gerçekleştirildi. Birinci muayene sonucu gebe olduğu belirlenen inek sayısı tohumlanan inek sayısına bölünerek, ayrı ayrı PRP ve kontrol gruplarının gebelik oranları hesaplandı. İneklerin ilk gebelik muayenesinde gebe oldukları, ancak ikinci muayenede gebeliğin devam etmediğinin belirlendiği durumlar, embriyonik ölüm ve gebelik kaybı olarak değerlendirildi.

### 3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm istatistiksel değerlendirmeler SPSS 28 (SPSS Inc. Amerika) paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplardaki *repeat breeder* ineklerin laktasyon, sağılan gün ve tohumlama sayıları gibi bağımlı değişimliklerin normal dağılım gösterip göstermediğinin belirlenmesi için normalite testi uygulandı ve *Kolmogorov-Smirnov* testi kullanıldı. Normal dağılım göstermediği belirlenen bağımsız gruplar, aralarındaki fark ya da eşitliğin değerlendirilmesi amacıyla *Mann-Whitney U* testi ile analiz edildi.

Gruplar arasındaki gebelik ve embriyonik ölüm oranları, farklı spermaların ve PRP aktivasyonu için kullanılan kalsiyum miktarının gebelik oranları üzerine etkisi *Chi-Square* testi kullanılarak değerlendirildi. Sonuçların önemlilikleri için; *Pearson Chi-Square*, *Fisher's Exact Test* ya da *Fisher-Freeman Halton Test* dikkate alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Genel Bulgular

Çalışmaya dahil edilen tüm ineklere ait laktasyon, sağılan gün ve tohumlama sayıları Tablo 1’de sunulmaktadır.

**Tablo 1.** Gruplar arası *repeat breeder* ineklerin genel parametre karşılaştırmaları.

	PRP (Ortalama±S.H.)	Kontrol (Ortalama±S.H.)	<i>p</i>
Sağılan Gün Sayısı (SGS)	246,05±6,34	239,86±5,69	0,904
Laktasyon Sayısı	2.25±0,09	2.20±0,09	0,903
Tohumlama Sayısı	4.57±0,16	4.41±0,14	0,727

Gruplar arası; laktasyon, sağılan gün ve tohumlama sayısı açısından istatistiksel bir fark olmadığı saptandı.

### 4.2. Genel Gebelik ve Embriyonik Ölüm Oranları

Gruplar dikkate alınmadan çalışmaya dahil edilen tüm ineklerde gebelik oranı değerlendirildiğinde; 30. gün muayenesinde %35,6 (108/303), 60. gün gebelik muayenesinde %32,3 (98/303) olarak tespit edildi. İki gebelik muayenesi arasında belirlenen embriyonik ölüm oranı %9,3 (10/108) olarak saptandı. Genel gebelik ve embriyonik ölüm oranları Tablo 2’de gösterilmektedir.

**Tablo 2.** Genel gebelik ve embriyonik ölüm oranları.

	Tüm <i>repeat breeder</i> inekler (%)
Gebelik Oranları (30. gün)	35,6
Gebelik Oranları (60. gün)	32,3
Embriyonik Ölüm Oranları	9,3

### 4.3. Grupların Gebelik ve Embriyonik Ölüm Oranları ve Karşılaştırılması

Deneme grupları arasında tohumlamadan sonra elde edilen gebelik oranları; 30. günde PRP grubunda %36,6 (56/153), Kontrol grubunda %34,7 (52/150) ve 60. günde PRP grubunda %33,3 (51/153), Kontrol grubunda %31,3 (47/150) olarak belirlendi. İki gebelik muayenesi arasında tespit edilen embriyonik ölüm sayıları; PRP

grubunda %8,9 (5/56) ve Kontrol grubunda %9,6 (5/52) olarak saptandı. Gebelik ve embriyonik ölüm oranları Tablo 3'te verilmektedir.

**Tablo 3.** Tohumlamadan 24 saat sonra intrauterin PRP uygulamasının gebelik ve embriyonik ölüm oranları üzerine etkisi.

	PRP (%)	Kontrol (%)	<i>p</i>
Gebelik Oranları (30. gün)	36,6	34,7	0,725
Gebelik Oranları (60. gün)	33,3	31,3	0,710
Embriyonik Ölüm Oranları	8,9	9,6	0,902

Gruplar arası; genel gebelik ve embriyonik kayıp oranları açısından istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlendi.

#### 4.4. Gebelik Oranlarının Laktasyon Sayısına Göre Karşılaştırılması

Deneme grupları laktasyonlarına göre sınıflandırıldığında gebelik oranları; primipar ineklerde PRP grubunda %38,9 (21/54), Kontrol grubunda %49,0, multipar ineklerde PRP grubunda %35,4 (35/99), Kontrol grubunda %27,3 (27/99) olarak tespit edildi. Laktasyonlara göre gebelik oranları Tablo 4'te sunulmaktadır.

**Tablo 4.** Primipar ve Multipar *repeat breeder* ineklerde intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisi.

	Primipar			Multipar		
	PRP (%)	Kontrol (%)	<i>p</i>	PRP (%)	Kontrol (%)	<i>p</i>
Gebelik Oranları (30. gün)	38,9	49,0	0,296	35,4	27,3	0,220

Gruplar arası laktasyonlara göre gebelik oranları açısından istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlendi.

#### 4.5. Kullanılan Kalsiyum Miktarının Gebelik Oranına Etkisi

Deneme grupları, PRP aktivasyonu amacıyla kullanılan kalsiyum miktarına (1 ve 2 ml) göre sınıflandırıldığında gebelik oranları; 1 ml kullanılan PRP grubunda %38,8 (26/67), 2 ml kullanılan PRP grubunda %34,9 (30/86) olarak belirlendi. PRP aktivasyonunda kullanılan kalsiyum miktarına (aktivatör) göre gebelik oranları Tablo 5'te gösterilmektedir.

**Tablo 5.** PRP aktivasyonu için kullanılan kalsiyum miktarının gebelik oranları üzerine etkisi

	PRP-Kalsiyum 1 ml (%)	PRP-Kalsiyum 2 ml (%)	Kontrol (%)	<i>p</i>
Gebelik Oranları (30. gün)	38,8 <sup>ac</sup>	34,9 <sup>bc</sup>	34,7 <sup>c</sup>	<sup>ac</sup> 0,557; <sup>bc</sup> 0,973

Farklı kalsiyum miktarları ile aktiveştirilen PRP'nin, genel Kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman gebelik oranları üzerinde istatistiksel bir fark oluşturmadığı gözlemlendi.

#### 4.6. Boğa Etkisinin Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen *repeat breeder* ineklerin tohumlanmasında kullanılan 7 farklı boğaya ait konvansiyonel spermanın (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7) gruplar arası kullanım oranı değerlendirildi, PRP ve Kontrol gruplarında kullanılan sperma oranı sırasıyla; S1 (%52,5; %47,5), S2 (%52,0; %48,0), S3 (%57,1; %42,9), S4 (%50,0; %50,0), S5 (%51,4; %48,6), S6 (%38,8; %61,2), S7 (%57,1; %42,9) olarak bulundu.

Gruplar arası farklı boğa sperma kullanım oranında herhangi bir istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *repeat breeder* Holştayn ırkı ineklere tohumlamadan 24 saat sonra tek doz intrauterin 15 ml otolog PRP uygulandı ve herhangi bir uygulama yapılmayan Kontrol grubundaki *repeat breeder* inekler ile kıyaslama yapılarak intrauterin PRP uygulamasının gebelik oranları, embriyonik ölümler üzerine etkisi değerlendirildi.

Sütçü işletmelerde döl ve süt verimi karlılığın devam ettirilmesi için çok önemlidir (J.I. Lee, & Kim, 2007). Ancak döl tutmayan inekler başta tohumlama maliyetleri olmak üzere sürüden çıkarma oranlarını ve açık gün sayısını artırarak ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Bartlett ve ark., 1986; Gustafsson, & Emanuelson, 2002). *Repeat breeder* insidansı sürüden sürüye farklılık göstermekle birlikte, tropikal bölgelerde %62,0'ye kadar çıkabildiği bildirilmektedir (Yusuf ve ark., 2012). Bu nedenle, süt ineklerinde reproduktif performansın iyileştirilmesi, süt çiftliklerinde karlılığın sağlanması açısından *repeat breeder* olgusu büyük önem taşımaktadır.

Etiyolojisinde multifaktöriyel nedenlerin yer aldığı *repeat breeder* ineklerde, fertilizasyon problemleri ve embriyonik ölümler iki önemli ana başlık olarak karşımıza çıkmaktadır (Perez-Marin ve ark., 2012). Döl tutmayan *repeat breeder* ineklerde embriyonik ölüm oranının %65,0'e kadar çıkabileceği ifade edilmektedir (Bilodeau-Goeseels, & Kastelic, 2003). Başka bir çalışmada ise tüm embriyonik ölümler arasında ilk 8 gün içinde gerçekleşen kayıpların oranını multipar ineklerde %62,0 nullipar ineklerde ise %92,0 olarak belirtilmektedir (Inskeep, & Dailey 2005). Embriyonik gelişim ve implantasyon, büyüme faktörleri ve sitokinlerin yer aldığı karmaşık bir süreçtir (Duranton, Watson, & Lonergan, 2008). Bu süreçte uterus ortamı embriyo gelişimi açısından çok önemlidir. Yetersiz uterus ortamı embriyonik gelişimi yavaşlatmakta ve embriyoların 16. günde yeterli miktarda IFN-tau üretememelerine sebep olmaktadır. Yeterli miktarda IFN-tau üretemeyen gelişimi yavaş embriyoların, hayatta kalma şansı düşmekte ve buna bağlı gebelik kayıpları şekillenebilmektedir (Mann, & Lamming, 1999).

İmplantasyon öncesi dönemde embriyoda önemli gelişim ve moleküler olayların şekillendiği görülmektedir (Duranton ve ark., 2008). Bu süreçte uterus ortamı optimal fizyolojik koşulları sağlayarak embriyo gelişiminde ve başarılı gebelik

elde edilmesinde aktif rol oynamaktadır (Rizos, Maillo, Sánchez-Calabuig, & Lonergan, 2017). Bu bağlamda ovidukt, embriyonal gelişimin başlangıcında embriyo ile temas eden ilk uterus ortamı olmaktadır. Oviduktal hücrelerin, embriyonun gen ekspresyonu ve gelişimini düzenleyen spesifik sinyal yollarını aktive edici birçok protein salgıladığı in vivo ve in vitro çalışmalar sayesinde bilinmektedir (Aviles, Gutierrez-Adan, & Coy, 2010; K.F. Lee, & Yeung, 2006). Bu proteinler arasında anne ve yavru iletişiminden sorumlu birçok büyüme faktörü de yer almaktadır (Buhi, Alvarez, & Kouba, 2000; Robertson, Chin, Schjenken, & Thompson, 2015). TGF- $\beta$ 'nin tek başına ya da diğer büyüme faktörleri ve sitokinlerle kombinasyon halinde kullanımının sığır embriyo gelişimini desteklediği belirtilmektedir (Larson ve ark., 1992a; Neira ve ark., 2010). Yapılan in vitro bir çalışmada, VEGF'nin sığır embriyolarında gelişimi uyardığı bildirilmektedir (Luo ve ark., 2002). Sığır embriyolarında IGF-1'in embriyonik gelişimi desteklediği ortaya konmuştur (Moreira ve ark., 2002). EGF'nin sığırlarda implantasyonu iyileştirebileceği yapılan in vivo çalışmalarla gösterilmiştir (Sirisathien ve ark., 2003). Birçok büyüme faktörü ruminant embriyolarında zigot aşamasından implantasyona kadar geçen süreç boyunca embriyoblast (kümelenen iç hücreler) ve trofoblast hücreleri tarafından sentezlenmekte, üretimi en az gebeliğin 30. gününe kadar devam etmektedir (Martal ve ark., 1998).

Platelet granülleri; dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- $\beta$ ), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) gibi embriyonik gelişimi, erken fetomaternal etkileşimi ve uterusda implantasyonu düzenlemede kritik öneme sahip birçok pro-rejeneratif, proliferatif, anjiyojenik, kemotik, antiapoptotik protein, büyüme faktörü ve sitokinleri içermektedir (Lange-Consiglio ve ark., 2015). PRP'nin etkisi de genellikle trombositlerin granüllerinde bulunan bu büyüme faktörlerinden kaynaklanmaktadır (Foster ve ark., 2009).

İntrauterin PRP uygulamasının, farklı türlerde yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla gebelik oranları üzerine olumlu etkisi olduğu ifade edilen birçok araştırma bulunmaktadır. İlk defa in vitro fertilizasyon tedavisi gören ve standart hormonal uygulamalara rağmen yanıt alınamayan zayıf endometriyuma sahip ( $\leq 7$  mm) 5 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada; hormonal desteğe ek olarak 10. günde 0,5-1 ml



intrauterin PRP uygulandığında 48-72 saat içinde endometriyal kalınlığın arttığı (yeterli gelişim görülmeyen kadınlarda ilk uygulamadan 72 saat sonra bir PRP uygulaması daha yapılmıştır), tüm kadınların gebe kaldığı ve 4 kadında gebeliğin başarılı bir şekilde devam ettiği (%80,0) belirtilmektedir (Chang ve ark., 2015). Yeterli endometriyal gelişim sağlanamadığı için in vitro fertilizasyon tedavileri sonlandırılan 10 kadın üzerinde yapılan diğer bir çalışmada; hormonal tedaviye ek olarak (menstrual dönemin 9 ya da 10. günlerinde) 0.5 ml intrauterin PRP uygulaması ve gerek duyulan hastalarda 48 saat sonra ikinci doz PRP tekrarıyla tüm kadınlarda hedeflenen endometriyal kalınlığın sağlandığı ve 5 kadında başarılı bir gebelik elde edildiği (%40,0) bildirilmektedir (Zadehmodarres ve ark., 2017). Primer infertil ve iki defa in vitro fertilizasyon denemesi sonucu tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı konulan 45 yaşındaki bir kadında hormonal tedaviye ek olarak, embriyo transferinden 24 saat önce 0,5-1 ml intrauterin otolog PRP uygulanmasıyla başarılı bir gebelik elde edildiği ifade edilmektedir (Farimani ve ark., 2017). Refrakter (tedaviye dirençli) endometriyuma sahip 19 kadında hormonal tedaviye ek olarak, 10. günde ilki olmak üzere 72 saat arayla iki kez 1 ml intrauterin PRP uygulamasının endometriyal kalınlığı arttırdığını ve 14 kadında gebelik sağlandığı (%73,7) bildirilmiştir (Molina ve ark., 2018). Gebelik elde edilmeye çalışılan 49 kadında, embriyo transferinden 48 saat önce 0,5 ml intrauterin PRP uygulamasının klinik gebelik oranlarını (%44,9) kontrol grubuna kıyasla arttırdığı (%16,7) belirtilmektedir (Nazari ve ark., 2020). Standart hormon tedavisine yetersiz endometriyal yanıt oluşan 83 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada; tedavinin 13. gününde 1 ml intrauterin PRP uygulanmasının kontrol grubuna kıyasla endometriyal kalınlığı ve klinik gebelik oranlarını (Gebelik-PRP: 13/40, %32,5; Gebelik-Kontrol: 6/43, %14,0) arttırdığı belirtilmektedir (Eftekhari, Neghab, Naghshineh, & Khani, 2018). Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı konmuş 70 kadın üzerinde yapılan başka bir çalışmada; embriyo transferinden 48 saat önce 1 ml PRP uygulanan hastaların (17/34, %50,0) kontrol grubuna kıyasla (12/36, %33,3) gebelik oranlarının daha iyi olduğu bildirilmektedir (Coksuer ve ark., 2019). Zayıf endometriyumu olan kadınlarda hormonal tedaviye ek olarak 10 ve 12. günlerde 1 ml intrauterin PRP uygulandıktan sonraki 19. günde embriyo transferi yapılarak gerçekleştirilen bir çalışmada hastaların %15,6'sında (5/32) klinik gebelik elde edildiği ifade edilmektedir (Kusumi, Ihana, Kurosawa, Ohashi, & Tsutsumi, 2020).

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı konan 16 kadında, embriyo transferinden 2-3 gün önce 0,5-1 ml intrauterin PRP uygulaması sonucu %25,0 (4/16) oranında klinik gebelik elde edildiği belirtilmektedir (Jackman ve ark., 2020). Deneysel amaçlı endometriyumda adezyon ya da fibrozis oluşturulan (AS) fareler üzerindeki bir çalışmada; AS oluşturulan kornu uteriye 7 gün sonra 0,02 ml PRP uygulanmasının kontrol grubuna kıyasla endometriyal morfolojiyi iyileştirdiği, fibrozis şiddetinin, fibrozis kaynaklı faktörlerin üretimini azaldığı belirtilmekte ve gebelik oranlarının arttığı bildirilmektedir (J.H. Kim ve ark., 2020). Aşım sonrası endometritis şüphesi olan 40 kısırakta tohumlamadan 36-48 saat önce 2-3 ml PRP'nin PPP ile 10 ml'ye tamamlanarak intrauterin yolla uygulandığı bir çalışmada, gebelik oranlarının PRP grubunda (16/24, %67,0) kontrol grubuna kıyasla (3/16, %19,0) daha iyi olduğu belirtilmektedir (Metcalf, 2014). Kronik dejeneratif endometritisi olan 60 kısırak üzerinde yapılan bir çalışmada, tüm kısıraklara ovulasyondan 24 saat sonra 15 ml intrauterin PRP uygulanması sonucu 31 (%51,7) hayvanın gebe kaldığı ifade edilmektedir (Carluccio ve ark., 2020). *Repeat breeder* Arap atları üzerinde yapılan bir çalışmada; gebelik oranlarının, östrus bitiminden 2 gün sonra, çiftleşmeden 5-6 gün önce 20 ml intrauterin PRP uygulanan kısıraklarda (16/32, %50,0) kontrol grubuna kıyasla (4/32, %6,2) arttığı bildirilmektedir (Dawod ve ark., 2021). Gebe kalmayan 39 kısırak üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, çiftleşmeden 6 saat sonra 20 ml intrauterin otolog PRP uygulamasının kontrol grubuna kıyasla (%70,0; %22,0) gebelik oranlarını arttırdığı belirtilmektedir (Ghallab ve ark., 2023). *Repeat breeder* inekler üzerinde yapılan ilk ve tek çalışmada, tohumlamadan 48 saat sonra 10 ml PRP uygulamasının *repeat breeder* ineklerde kontrol grubuna kıyasla (10/30, %33,3) gebelik oranını arttırdığı (20/30, %70,0) belirtilmektedir. (Lange-Consiglio ve ark., 2015).

İnfertilite problemi yaşayan kadınlarda da PRP uygulaması ile gebelik oranlarının değişmediğini belirten çalışmalar bulunmaktadır. Tekrarlı implantasyon başarısızlığı tanılı 24 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, tohumlamadan 36 saat önce 0,5 ml intrauterin PRP uygulamasının (3/12, %25,0) kontrol grubuna kıyasla (2/12, %16,6) gebelik oranları üzerine bir etkisi olmadığı belirtilmektedir (Sipahi, 2019). Primer infertilite sonucu tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı konulan 66 kadın üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, embriyo transferinden 48 saat önce 0,7 ml intrauterin PRP uygulamasının, tedavi (12/33, %36,4) ve kontrol (10/33, %30,3)

grupları arasında klinik gebelik oranları açısından fark oluşturmadığı ifade edilmektedir (Dieamant ve ark., 2019). Başka bir çalışmada, embriyo transferinden 48 saat önce 0,5 ml intrauterin PRP uygulamasının tedavi (7/25, %28,0) ve kontrol (6/25, %24,0) grupları arasında klinik gebelik oranları üzerine bir etkisi olmadığı bildirilmektedir (Allahveisi, Seyedoshohadaei, Rezaei, Bazrafshan, & Rahimi, 2020). Tekrarlı implantasyon başarısızlığı olan 85 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, embriyo transferinden 48 saat önce 1 ml intrauterin PRP uygulamasının tedavi (13/42, %31,0) ve kontrol (16/43, %37,2) grupları arasında klinik gebelik oranları üzerine bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir (Tehraninejad, Kashani, Hosseini, & Tarafdari, 2021). Diğer bir çalışmada, hormonal tedaviye ek olarak embriyo transferinden 48 saat önce 0,5 ml intrauterin PRP uygulamasının kadınlarda klinik gebelik oranları (PRP: 13/40, %33,0, Kontrol: 11/35, %24,0) üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir (Ershadi, Noori, Dashipoor, Ghasemi, & Shamsa, 2022). Sunulan bu doktora çalışmasının sonuçları dikkate alındığında, insanlarda yapılan ve yukarıda sonuçları belirtilen çalışmaların bulguları ile uyumlu olacak bir şekilde PRP uygulaması yapılan grupta gebelik oranı %36,6 (56/153), Kontrol grubunda ise %34,7 (52/150) olarak tespit edildi, gebelik oranları açısından gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığı ve PRP uygulamasının *repeat breeder* ineklerde gebelik oranını istatistiksel açıdan önemli düzeyde arttırmadığı gözlemlendi.

PRP'nin uygulandığı ortamda aşırı miktarda büyüme faktörleri üretmesinin, hücre gelişimi üzerine inhibitör etki yapabileceği belirtilmektedir. Sığır endometriyal hücreleri üzerinde yapılan in vitro bir çalışmada kültür ortamına %5,0 PRP eklendiğinde pozitif bir etki elde edilirken, %10,0 PRP eklenmesinin hücre proliferasyon oranlarını azaltarak inhibitör etki oluşturabileceği ifade edilmektedir (Marini ve ark., 2016). PRP hazırlanırken platelet konsantrasyonunda normal kandaki miktara göre en az 2 kat artış sağlanması gerektiği bildirilmektedir (Fortier, 2011) ancak PRP'nin güvenilir bir şekilde etkinliğini gösterebilmesi için platelet konsantrasyonunun 1.000.000/ $\mu$ l altında olmaması gerektiği de vurgulanmaktadır (Marx, 2001). Fakat PRP içindeki platelet konsantrasyonu 1.000.000/ $\mu$ l altında olmasına rağmen uygulamadan sonra pozitif sonuçlar elde edildiğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır. Superfisiyal digital fleksor tendinopatisi olan atlarda konsantrasyonu  $892.37 \pm 364.7 \times 10^3/\mu$ l olan PRP ile yapılan bir çalışmada, uygulamadan 12 ay sonra

PRP grubundaki atların (%80,0) kontrol grubuna kıyasla (%50,0) iyileşmelerinin daha iyi olduğu bildirilmektedir (Geburek, Gaus, van Schie, Ron, & Stadler, 2016). İkinci derece derin yanığı olan atlarda, yara bölgesine  $723 \pm 50 \times 10^3/\mu\text{l}$  platelet içeren PRP uygulanmasının yara iyileşmesini hızlandırdığı ifade edilmektedir (Maciel ve ark., 2012). Ortalama platelet konsantrasyonu  $542 \times 10^3/\mu\text{L}$  olan PRP ile atlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, eklem hastalıklarında güvenli olarak kullanılabilceği belirtilmektedir (Textor, & Tablin, 2013). Farklı birçok PRP hazırlama aşamaları ön çalışma esnasında denendi ve sunulan bu çalışmada uygulanan yöntem ile normal kandaki (ortalama  $240.000/\mu\text{l}$ ) değere göre 2,5 kat artış (ortalama  $600.000/\mu\text{l}$ ) sağlandı. Buna karşılık çalışmamızda, her inek için elde edilen otolog PRP'nin son aşamadaki platelet ve büyüme faktörü miktarları kontrol edilemedi. Bu nedenle sunulan bu çalışmada büyüme faktörlerinin yeteri kadar üretilmemesi ya da aşırı miktarda üretimine bağlı olarak gruplar arasında gebelik oranları açısından bir fark saptanmamış olabilir. Amable ve ark. (2013) araştırmaların sonuçları arasındaki farklılıkların, PRP'nin uygulanma zamanı, sıklığı ve miktarının (ml) çalışmalar arasında değişkenlik göstermesi ve standart bir PRP hazırlama prosedürü bulunmamasından kaynaklanabileceğini belirtmişler ve PRP hazırlanırken standardizasyona çok önem verilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Bazı araştırmacılar, tohumlayıcılar arasında sperma hazırlama ve uygulaması yönünden tecrübe farkı olmasının gebelik oranlarını etkileyebileceğini belirtmektedir. Bu çalışmada 4 farklı kişi inekleri tohumladı ancak bunların kayıt altına alınarak gebelik oranları üzerine etkilerinin istatistiksel değerlendirilmesi yapılmadı. Gruplar arası herhangi bir gebelik farkı bulunmamasında tohumlayıcıların tecrübe farkının etkili olabileceği bir diğer faktör olarak değerlendirildi (Healy ve ark., 2013; López-Gatius, 2012; Vartia ve ark., 2017).

Sonuç olarak sunulan bu çalışmada, *repeat breeder* Holştayn ırkı ineklerde tohumlamadan 24 saat sonra 15 ml intrauterin otolog PRP uygulamasının gebelik oranları ve embriyonik ölümler üzerine bir etkisi olmadığı belirlendi. Farklı türlerde yapılan birçok çalışmada; PRP hazırlanması, uygulama zamanı, sıklığı ve miktarı için standart bir protokolün olmadığı görülmekte ve gebelik oranlarının artırılması amacıyla yapılan intrauterin PRP uygulamaların etkinliği tartışılmaktadır. Ayrıca bu konuyla alakalı veteriner hekimliğinde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sunulan

bu çalışma, çiftlik hayvanları üzerinde intrauterin PRP uygulamasının istatistiksel olarak gebelik oranları üzerine fark oluşturmadığını belirten ilk çalışmadır. İneklerde PRP'nin fertilité üzerine etkilerinin değerlendirilmesi açısından daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abouelnasr, K., Hamed, M., Lashen, S., El-Adl, M., Eltaysh, R., & Tagawa, M. (2017). Enhancement of abdominal wall defect repair using allogenic platelet-rich plasma with commercial polyester/cotton fabric (Damour) in a canine model. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(7), 1301-1309. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0139>
- Adnane, M., Kaidi, R., Hanzen, C., & England, G. C. (2017). Risk factors of clinical and subclinical endometritis in cattle: a review. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41(1), 1-11. <https://doi.org/10.3906/vet-1603-63>
- Ahmadi, M. R., & Dehghan, S. A. (2007). Evaluation of the Treatment of Repeat Breeder Dairy Cows with Uterine Lavage plus PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , with and without Cephapirin. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 31(2), 125-129. <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol31/iss2/7/>
- Ahmed, F. O., & Elsheikh, A. S. (2014). Treatment of repeat breeding in dairy cows with Lugol's Iodine. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(4), 22-26. <https://doi.org/10.9790/2380-07412226>
- Ak, M. H., & Baki Acar, D. (2022). Repeat breeder gözlenen ineklerde farklı intrauterin tedavi yöntemlerinin etkinliklerinin karşılaştırılması. *Kocatepe Veterinary Journal*, 15(4), 476-481. <https://dergipark.org.tr/en/pub/kvj/issue/72811/1166315>
- Aksoy, M., Alan, M., Tekeli, T., Semacan, A., & Çoyan, K. (1993). İnek ve düvelerde östrus belirleme hataları ve suni tohumlama uygulamasındaki önemi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 3(1), 28-30.
- Alaçam, E. (2002). İnekte İnfertilite Sorunu. *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite* (3. Baskı) içinde (s.267-290). Ankara: Medisan Yayınevi
- Allahveisi, A., Seyedoshohadaei, F., Rezaei, M., Bazrafshan, N., & Rahimi, K. (2020). The effect of platelet-rich plasma on the achievement of pregnancy during frozen embryo transfer in women with a history of failed implantation. *Heliyon*, 6(3), e03577. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03577>
- Alnimer, M. A., & Shamoun, A. I. (2015). Treatment with hCG 4 or 6 days after TAI to improve pregnancy outcomes in repeat-breeding dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 157, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.016>
- Amable, P. R., Carias, R. B. V., Teixeira, M. V. T., da Cruz Pacheco, Í., Corrêa do Amaral, R. J. F., Granjeiro, J. M., & Borojevic, R. (2013). Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Research & Therapy*, 4, 1-13. <https://doi.org/10.1186/srct218>

- Anbhule, R. S., Sawale, A. G., Markandeya, N. M., Kumawat, B. L., Kadam, P. D., & Lawange, S. R. (2019). Improvement in conception rate by GnRH or hCG administration on day 5 post-AI in non-infectious repeat breeder cows. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 40(1), 55-57. <https://acspublisher.com/journals/index.php/ijar/article/view/3779>
- Andersen, C., Wragg, N. M., Shariatzadeh, M., & Wilson, S. L. (2021). The use of platelet-rich plasma (PRP) for the management of non-union fractures. *Current Osteoporosis Reports*, 19, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11914-020-00643-x>
- Arav, A., & Zvi, R. (2008). Do chilling injury and heat stress share the same mechanism of injury in oocytes?. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 282(1-2), 150-152. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.11.026>
- Aviles, M., Gutierrez-Adan, A., & Coy, P. (2010). Oviductal secretions: will they be key factors for the future ARTs?. *Molecular Human Reproduction*, 16(12), 896-906. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaq056>
- Ayad, A., Touati, K., Iguer-Ouada, M., & Benbarek, H. (2012). Different factors affecting the embryonic mortality in cattle. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 2(11), 559-572. [https://www.roavs.com/pdf-files/Issue\\_11\\_2012/559-572.pdf](https://www.roavs.com/pdf-files/Issue_11_2012/559-572.pdf)
- Ayalon, N. (1984). The repeat breeder problem. *Proceeding 10th International Congress Animal Reproduction and AI*. Urbana, III, USA 4:111-141.
- Båge, R., Gustafsson, H., Larsson, B., Forsberg, M., & Rodriguez-Martinez, H. (2002). Repeat breeding in dairy heifers: follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns. *Theriogenology*, 57(9), 2257-2269. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00840-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00840-3)
- Barrett, D. C., Boyd, H., & Mihm, M. (2004). Failure to conceive and embryonic loss. In *Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle, 2nd Edition* (pp. 552-576). Wiley-Blackwell.
- Bartlett, P. C., Kirk, J. H., & Mather, E. C. (1986). Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology*, 26(3), 309-322. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90150-0](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90150-0)
- Bhardwaj, A., Nema, S. P., Mahour, S. S., Chabra, D., Rajput, N., & Sudarshan, K. (2018). Effect of Garlic (*Allium sativum*) Extract on Recovery and Conception Rate in Infectious Repeat Breeder Crossbred Cows. *Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 14(2), 60-63. <https://acspublisher.com/journals/index.php/ijvsbt/article/view/2580>

- Bilodeau-Goeseels, S., & Kastelic, J. P. (2003). Factors affecting embryo survival and strategies to reduce embryonic mortality in cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 83(4), 659-671. <https://doi.org/10.4141/A03-029>
- Blair, P., & Flaumenhaft, R. (2009). Platelet  $\alpha$ -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews*, 23(4), 177-189. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2009.04.001>
- BonDurant, R. H., Revah, I., Franti, C., Harman, R. J., Hird, D., Klingborg, D., ... & Wilgenberg, B. (1991). Effect of gonadotropin-releasing hormone on fertility in repeat-breeder California dairy cows. *Theriogenology*, 35(2), 365-374. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90286-M](https://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90286-M)
- Bonneville-Hébert, A., Bouchard, E., Tremblay, D. D., & Lefebvre, R. (2011). Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 75(2), 147-151. <https://doi.org/10.21423/aabppro20104178>
- Borrione, P., Di Gianfrancesco, A., Pereira, M. T., & Pigozzi, F. (2010). Platelet-rich plasma in muscle healing. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 89(10), 854-861. <https://doi.org/10.1097/PHM.0b013e3181f1c1c7>
- Bose, B., & Balzarini, M. A. (2002). Bone graft gel: autologous growth factors used with autograft bone for lumbar spine fusions. *Advances in Therapy*, 19, 170-175. <https://doi.org/10.1007/BF02848692>
- Borş, S. I., Borş, A., & Abdoon, A. S. S. (2023). Economics of treatment with GnRH agonist 7–14 days after artificial insemination in repeat breeder lactating dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/rda.14368>
- Broggini, N., Hofstetter, W., Hunziker, E., Bosshardt, D. D., Bornstein, M. M., Seto, I., ... & Buser, D. (2011). The influence of PRP on early bone formation in membrane protected defects. A histological and histomorphometric study in the rabbit calvaria. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 13(1), 1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2009.00266.x>
- Buhi, W. C., Alvarez, I. M., & Kouba, A. J. (2000). Secreted proteins of the oviduct. *Cells Tissues Organs*, 166(2), 165-179. <https://doi.org/10.1159/000016731>
- Butler, W. R. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, 83(2-3), 211-218. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00112-X)
- Call, E. P., & Stevenson, J. S. (1985). Current challenges in reproductive management. *Journal of Dairy Science*, 68(10), 2799-2805. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81168-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81168-1)



- Canipari, R., Cellini, V., & Cecconi, S. (2012). The ovary feels fine when paracrine and autocrine networks cooperate with gonadotropins in the regulation of folliculogenesis. *Current Pharmaceutical Design*, 18(3), 245-255. <https://doi.org/10.2174/138161212799040411>
- Carluccio, A., Veronesi, M. C., Plenteda, D., & Mazzatenta, A. (2020). Platelet-rich plasma uterine infusion and pregnancy rate in barren mares with chronic degenerative endometritis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 431-438. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2020.134688>
- Catarino, J., Carvalho, P., Santos, S., Martins, Â., & Requicha, J. (2020). Treatment of canine osteoarthritis with allogeneic platelet-rich plasma: review of five cases. *Open Veterinary Journal*, 10(2), 226-231. <https://doi.org/10.4314/ovj.v10i2.12>
- Cavallo, C., Roffi, A., Grigolo, B., Mariani, E., Pratelli, L., Merli, G., ... & Filardo, G. (2016). Platelet-rich plasma: the choice of activation method affects the release of bioactive molecules. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2016/6591717>
- Chang, Y., Li, J., Chen, Y., Wei, L., Yang, X., Shi, Y., & Liang, X. (2015). Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(1), 1286. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4358582/>
- Chung, T. H., Baek, D. S., Kim, N., Park, J. H., & Park, C. (2015). Topical allogeneic platelet-rich plasma treatment for a massive cutaneous lesion induced by disseminated intravascular coagulation in a toy breed dog. *Irish Veterinary Journal*, 68(1), 1-4. <https://doi.org/10.1186/s13620-015-0032-7>
- Cieślík-Bielecka, A., Bold, T., Ziółkowski, G., Pierchała, M., Królikowska, A., & Reichert, P. (2018). Antibacterial activity of leukocyte-and platelet-rich plasma: an in vitro study. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2018/9471723>
- Coksuer, H., Akdemir, Y., & Ulas Barut, M. (2019). Improved in vitro fertilization success and pregnancy outcome with autologous platelet-rich plasma treatment in unexplained infertility patients that had repeated implantation failure history. *Gynecological Endocrinology*, 35(9), 815-818. <https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1597344>
- Cooke, F. N., Pennington, K. A., Yang, Q., & Ealy, A. D. (2009). Several fibroblast growth factors are expressed during pre-attachment bovine conceptus development and regulate interferon-tau expression from trophectoderm. *Reproduction*, 137(2), 259. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0396>

- Crawford, T. B., Wardrop, K. J., Tornquist, S. J., Reilich, E., Meyers, K. M., & McGuire, T. C. (1996). A primary production deficit in the thrombocytopenia of equine infectious anemia. *Journal of Virology*, 70(11), 7842-7850. <https://doi.org/10.1128/jvi.70.11.7842-7850.1996>
- Crovetti, G., Martinelli, G., Issi, M., Barone, M., Guizzardi, M., Campanati, B., ... & Carabelli, A. (2004). Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfusion and Apheresis Science*, 30(2), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2004.01.004>
- Dal, G. E., Sabuncu, A., Bala, D. A., Enginler, S. Ö., Cetin, A. C., Celik, B., & Koçak, Ö. (2019). Evaluation of intramammary platelet concentrate efficacy as a subclinical mastitis treatment in dairy cows based on somatic cell count and milk amyloid A levels. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(3). <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20982>
- Daniels, W. H., Morrow, D. A., Pickett, B. W., & Ball, L. (1976). Effects of intrauterine infusion of gentamicin sulfate on bovine fertility. *Theriogenology*, 6(1), 61-68. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(76\)90189-8](https://doi.org/10.1016/0093-691X(76)90189-8)
- David-Ferreira, J. F. (1964). The blood platelet: electron microscopic studies. *International Review of Cytology*, 17, 99-148. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)60406-4](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)60406-4)
- Dawod, A., Miro, J., Elbaz, H. T., Fahmy, H., & Abdoon, A. S. (2021). Effect of intrauterine infusion of equine fresh platelets-rich plasma (Prp) or lyophilized prp (l-gfequina) on ovarian activity and pregnancy rate in repeat breeder purebred arabian mares. *Animals*, 11(4), 1123. <https://doi.org/10.3390/ani11041123>
- DeLong, J. M., Beitzel, K., Mazzocca, A. D., Shepard, D., Roller, B. L., & Hanypsiak, B. T. (2011). Update on platelet-rich plasma. *Current Orthopaedic Practice*, 22(6), 514-523. <https://doi.org/10.1097/BCO.0b013e318236bd55>
- De Rensis, F., López-Gatius, F., García-Ispuerto, I., & Techakumpu, M. (2010). Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. *Theriogenology*, 73(8), 1001-1008. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.027>
- Dhillon, R. S., Schwarz, E. M., & Maloney, M. D. (2012). Platelet-rich plasma therapy-future or trend?. *Arthritis Research & Therapy*, 14(4), 1-10. <https://doi.org/10.1186/ar3914>
- Dieamant, F., Vagnini, L. D., Petersen, C. G., Mauri, A. L., Renzi, A., Petersen, B., ... & Franco Jr, J. G. (2019). New therapeutic protocol for improvement of endometrial receptivity (PRIMER) for patients with recurrent implantation

- failure (RIF)—A pilot study. *JBRA Assisted Reproduction*, 23(3), 250. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6724389/>
- Dieleman, S. J., Bevers, M. M., Poortman, J., & Van Tol, H. T. M. (1983). Steroid and pituitary hormone concentrations in the fluid of preovulatory bovine follicles relative to the peak of LH in the peripheral blood. *Reproduction*, 69(2), 641-649. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0690641>
- Dillon, P., Berry, D. P., Evans, R. D., Buckley, F., & Horan, B. (2006). Consequences of genetic selection for increased milk production in European seasonal pasture based systems of milk production. *Livestock Science*, 99(2-3), 141-158. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.06.011>
- Dinç, D. A. (2014). Repeat breeder çeviren inek, nereye kadar?. *Süt Sığırcı İşletmelerinde Sürü Sağlığı ve Yönetimi Kongresi*. Bafra, Kuzey Kıbrıs.
- Dinç, D. A., & Güler, M. (1987). İneklerde infertilite nedeni olan genital organ bozuklukları üzerinde postmortem çalışma. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3(1), 109-119.
- Diskin, M. G., Parr, M. H., & Morris, D. G. (2011). Embryo death in cattle: an update. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(1), 244-251. <https://doi.org/10.1071/RD11914>
- Duranthon, V., Watson, A. J., & Lonergan, P. (2008). Preimplantation embryo programming: transcription, epigenetics, and culture environment. *Reproduction*, 135(2), 141. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0324>
- Edelmann, M. L., Mohammed, H. O., Wakshlag, J. J., & Ledbetter, E. C. (2018). Clinical trial of adjunctive autologous platelet-rich plasma treatment following diamond-burr debridement for spontaneous chronic corneal epithelial defects in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 253(8), 1012-1021. <https://doi.org/10.2460/javma.253.8.1012>
- Eftekhari, M., Neghab, N., Naghshineh, E., & Khani, P. (2018). Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 57(6), 810-813. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.10.007>
- Ehrenfest, D. M. D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158-167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- El-Husseiny, R. M., Saleh, H. M., Moustafa, A. A., & Salem, S. A. (2021). Comparison between single-versus double-spin prepared platelet-rich plasma injection in treatment of female pattern hair loss: clinical effect and relation to

vascular endothelial growth factor. *Archives of Dermatological Research*, 313, 557-566. <https://doi.org/10.1007/s00403-020-02134-6>

Eppley, B. L., Pietrzak, W. S., & Blanton, M. (2006). Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 118(6), 147e-159e. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000239606.92676.cf>

Eppley, B. L., Woodell, J. E., & Higgins, J. (2004). Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 114(6), 1502-1508. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000138251.07040.51>

Ergene, O. (2011). İneklerde embriyonik yaşamın desteklenmesine yönelik hormonal girişimler. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(2), 127-137. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ercivet/issue/5826/77478>

Ergene, O. (2012). Progesterone concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination PRID and GnRH treatments. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(3), 283-288. <https://doi.org/10.3906/vet-1103-3>

Ergün, Y., Alacam, E., Aydın, Y., & Seyrek, A. (2009). Evaluation of the incidence of subclinical endometritis and results of intrauterine treatment in repeat breeder dairy cows. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 49(2), 77-89. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103054713>

Ershadi, S., Noori, N., Dashipoor, A., Ghasemi, M., & Shamsa, N. (2022). Evaluation of the effect of intrauterine injection of platelet-rich plasma on the pregnancy rate of patients with a history of implantation failure in the in vitro fertilization cycle. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 11(5), 2162. [https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc\\_1817\\_21](https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_1817_21)

Escandón, B. M., Espinoza, J. S., Perea, F. P., Quito, F., Ochoa, R., López, G. E., ... & Garzón, J. P. (2020). Intrauterine therapy with ozone reduces subclinical endometritis and improves reproductive performance in postpartum dairy cows managed in pasture-based systems. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 2523-2528. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02298-3>

Farghali, H. A., AbdElKader, N. A., AbuBakr, H. O., Aljuaydi, S. H., Khattab, M. S., Elhelw, R., & Elhariri, M. (2019). Antimicrobial action of autologous platelet-rich plasma on MRSA-infected skin wounds in dogs. *Scientific Reports*, 9(1), 12722. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48657-5>

Farghali, H. A., AbdElKader, N. A., AbuBakr, H. O., Ramadan, E. S., Khattab, M. S., Salem, N. Y., & Emam, I. A. (2021). Corneal ulcer in dogs and cats: novel clinical application of regenerative therapy using subconjunctival injection of

- autologous platelet-rich plasma. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 641265. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.641265>
- Farghali, H. A., AbdElKader, N. A., Fathi, M., Emam, I. A., AbuBakr, H. O., Alijuaydi, S. H., ... & Abdelnaby, E. A. (2022). The efficiency of intrauterine infusion of platelet-rich plasma in the treatment of acute endometritis as assessed by endoscopic, Doppler, oxidative, immunohistochemical, and gene expression alterations in jennies. *Theriogenology*, 181, 147-160. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.023>
- Farimani, M., Bahmanzadeh, M., & Poorolaja, J. (2016). A new approach using autologous platelet-rich plasma to treat infertility and to improve population replacement rate. *Journal of Research in Health Sciences*, 16(3), 172. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7191021/>
- Farimani, M., Poorolajal, J., Rabiee, S., & Bahmanzadeh, M. (2017). Successful pregnancy and live birth after intrauterine administration of autologous platelet-rich plasma in a woman with recurrent implantation failure: a case report. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 15(12), 803. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5816241/>
- Farrag, T. Y., Lehar, M., Verhaegen, P., Carson, K. A., & Byrne, P. J. (2007). Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *The Laryngoscope*, 117(1), 157-165. <https://doi.org/10.1097/01.mlg.0000249726.98801.77>
- Fayez, I., Marai, M., Daader, A. H., el-Darawany, A. A., & Aboulnaga, A. (1992). Some physiological aspects of repeat breeding in Holstein Friesians and its improvement under Egyptian environment. *Beitrage zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin*, 30(2), 199-209. <https://europepmc.org/article/med/1445177>
- Fernandez, O., Castellanos, R., Faure, R. & Solano, Y. (1985). Seasonal effect on preovulatory LH peak and progesterone secretion in cows of different breeds in a subtropical climate. *Animal Breeding Abstracts*, 53:4849.
- Ferrara, N., Gerber, H. P., & LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*, 9(6), 669-676. <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>
- Ferreira, R. M., Ayres, H., Chiaratti, M. R., Ferraz, M. L., Araújo, A. B., Rodrigues, C. A., ... & Baruselli, P. S. (2011). The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2383-2392. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3904>
- Foote, R. H., & Parks, J. E. (1993). Factors affecting preservation and fertility of bull sperm: a brief review. *Reproduction, Fertility and Development*, 5(6), 665-673. <https://doi.org/10.1071/RD9930665>

- Fortier, L. (2011). Clinical use of stem cells, marrow components, and other growth factors. In *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* (pp. 761-764). WB Saunders.
- Foster, T. E., Puskas, B. L., Mandelbaum, B. R., Gerhardt, M. B., & Rodeo, S. A. (2009). Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *The American Journal of Sports Medicine*, 37(11), 2259-2272. <https://doi.org/10.1177/0363546509349921>
- Fresno, L., Fondevila, D., Bambo, O., Chacaltana, A., García, F., & Andaluz, A. (2010). Effects of platelet-rich plasma on intestinal wound healing in pigs. *The Veterinary Journal*, 185(3), 322-327. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.009>
- Gargett, C. E., Nguyen, H. P., & Ye, L. (2012). Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13, 235-251. <https://doi.org/10.1007/s11154-012-9221-9>
- Garor, R., Abir, R., Erman, A., Felz, C., Nitke, S., & Fisch, B. (2009). Effects of basic fibroblast growth factor on in vitro development of human ovarian primordial follicles. *Fertility and Sterility*, 91(5), 1967-1975. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.04.075>
- Geburek, F., Gaus, M., van Schie, H., Rohn, K., & Stadler, P. M. (2016). Effect of intralesional platelet-rich plasma (PRP) treatment on clinical and ultrasonographic parameters in equine naturally occurring superficial digital flexor tendinopathies—a randomized prospective controlled clinical trial. *BMC Veterinary Research*, 12(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0826-1>
- Georg, R., Maria, C., Gisela, A., & Bianca, C. (2010). Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *Journal of Veterinary Science*, 11(2), 173-175. <https://doi.org/10.4142/jvs.2010.11.2.173>
- Ghallab, R. S., El-beskawy, M., El-Shereif, A. A., Rashad, A. M., & Elbehiry, M. A. (2023). Impact of intrauterine infusion of Platelets-Rich plasma on endometritis and reproductive performance of Arabian mare. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(5), 622-629. <https://doi.org/10.1111/rda.14329>
- Ghasemzadeh-Nava, H., Kohsari, H., & Tajik, P. (2007). Maintenance of pregnancy in repeat breeder dairy cows by CIDR administration after breeding. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(14), 2402-2406. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.2402.2406>
- Giordano, S., Romeo, M., & Lankinen, P. (2017). Platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: Does it work? Evidence from meta analysis. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 16(3), 374-381. <https://doi.org/10.1111/jocd.12331>

- Golebiewska, E. M., & Poole, A. W. (2015). Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Reviews*, 29(3), 153-162. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.10.003>
- Gunther, J. D. (1981). Classification and clinical management of the repeat breeding cow. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 3(4), 154-159.
- Gustafsson, H., & Emanuelson, U. (2002). Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-115>
- Gümen, A., Mecitoğlu, G., Keskin, A., Karakaya, E., Alkan, A., Taşdemir, U., & Okut, H. (2012). The effect of intrauterine cephalosporin treatment after insemination on conception rate in repeat breeder dairy cows subjected to the progesterone-based Ovsynch protocol. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(6), 622-627. <https://doi.org/10.3906/vet-1104-13>
- Gwazdauskas, F. C., Whittier, W. D., Vinson, W. E., & Pearson, R. E. (1986). Evaluation of reproductive efficiency of dairy cattle with emphasis on timing of breeding. *Journal of Dairy Science*, 69(1), 290-297. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80400-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80400-3)
- Harrison, P., & Cramer, E. M. (1993). Platelet  $\alpha$ -granules. *Blood Reviews*, 7(1), 52-62. [https://doi.org/10.1016/0268-960X\(93\)90024-X](https://doi.org/10.1016/0268-960X(93)90024-X)
- Hawkey, C. M. (2017). *Comparative mammalian haematology: cellular components and blood coagulation of captive wild animals*. Elsevier Science.
- Hayashi, K. G., Hosoe, M., Fujii, S., Kanahara, H., & Sakumoto, R. (2019). Temporal expression and localization of vascular endothelial growth factor family members in the bovine uterus during peri-implantation period. *Theriogenology*, 133, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.04.021>
- Healy, A. A., House, J. K., & Thomson, P. C. (2013). Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1905-1914. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5465>
- Heidari, M., Kafi, M., Mirzaei, A., Asaadi, A., & Mokhtari, A. (2019). Effects of follicular fluid of preovulatory follicles of repeat breeder dairy cows with subclinical endometritis on oocyte developmental competence. *Animal Reproduction Science*, 205, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.04.004>
- Heilmann, E., Friese, P., Anderson, S., George, J. N., Hanson, S. K., Burstein, S. A., & Dale, G. L. (1993). Biotinylated platelets: a new approach to the measurement

- of platelet life span. *British Journal of Haematology*, 85(4), 729-735. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1993.tb03216.x>
- Honparkhe, M., Kumar, A., Singh, A. K., Dadarwal, D., & Dhaliwal, G. S. (2017). Efficacy of various intrauterine therapies against uterine infections in repeat breeding cattle. *Indian Veterinary Journal*, 94(02), 46-47. <https://www.researchgate.net/publication/316134980>
- Hu, Z., Qu, S., Zhang, J., Cao, X., Wang, P., Huang, S., ... & Zhu, J. (2019). Efficacy and safety of platelet-rich plasma for patients with diabetic ulcers: a systematic review and meta-analysis. *Advances in Wound Care*, 8(7), 298-308. <https://doi.org/10.1089/wound.2018.0842>
- Humblot, P. (2001). Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*, 56(9), 1417-1433. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00644-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00644-6)
- Hunter, R. H. F. (2002). Vital aspects of Fallopian tube physiology in pigs. *Reproduction in Domestic Animals*, 37(4), 186-190. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2002.00376.x>
- Ingraham, R. H., Kappel, L. C., Morgan, E. B., & Srikandakumar, A. (1987). Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. *Journal of Dairy Science*, 70(1), 167-180. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)79991-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)79991-3)
- Inskip, E. K., & Dailey, R. A. (2005). Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21(2), 437-461. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2005.02.002>
- Ishii, S., & Shimizu, T. (2000). Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice. *Progress in Lipid Research*, 39(1), 41-82. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(99\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(99)00016-8)
- Jackman, J. M., Ali-Bynom, S., Amberg, A., Zhang, J., Lipkin, L., Olcha, M., & Merhi, Z. (2020). Platelet rich plasma (PRP) can improve pregnancy outcome in patients with recurrent implantation failure (RIF) and thin endometrial lining. *Fertility and Sterility*, 114(3), e333. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.901>
- Jacobs, R. M., Boyce, J. T., & Kociba, G. J. (1986). Flow cytometric and radioisotopic determinations of platelet survival time in normal cats and feline leukemia virus-infected cats. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 7(1), 64-69. <https://doi.org/10.1002/cyto.990070109>
- Kaushansky, K. (1999). Thrombopoietin and hematopoietic stem cell development. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 872(1), 314-319. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb08475.x>



- Kaux, J. F., Bouvard, M., Lecut, C., Oury, C., Gothot, A., Sanchez, M., & Crielaard, J. M. (2015). Reflections about the optimisation of the treatment of tendinopathies with PRP. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.11138/mltj/2015.5.1.001>
- Kaya, A., Yaylak, E., & Önenç, A. (1998). Süt sığırcılığında düzenli üreme ve önemi. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 38,8-17. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/hayuretim/issue/62517/923447>
- Kendall, N. R., Flint, A. P. F., & Mann, G. E. (2009). Incidence and treatment of inadequate postovulatory progesterone concentrations in repeat breeder cows. *The Veterinary Journal*, 181(2), 158-162. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.015>
- Khan, A., Khan, M. Z., Umer, S., Khan, I. M., Xu, H., Zhu, H., & Wang, Y. (2020). Cellular and molecular adaptation of bovine granulosa cells and oocytes under heat stress. *Animals*, 10(1), 110. <https://doi.org/10.3390/ani10010110>
- Khanna, A. K., & Sharma, N. C. (1992). Ovulatory disturbances in bovines. *Indian Journal of Animal Reproduction*, 13(1), 43-45.
- Kharche, S. D., & Srivastava, S. K. (2007). Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Animal Reproduction Science*, 99(1-2), 196-201. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.05.006>
- Kim, J. H., Park, M., Paek, J. Y., Lee, W. S., Song, H., & Lyu, S. W. (2020). Intrauterine infusion of human platelet-rich plasma improves endometrial regeneration and pregnancy outcomes in a murine model of Asherman's syndrome. *Frontiers in Physiology*, 11, 105. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00105>
- Kim, J. H., Park, C., & Park, H. M. (2009). Curative effect of autologous platelet-rich plasma on a large cutaneous lesion in a dog. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 123-126. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2008.00711.x>
- Kim, S. H., Park, E. S., & Kim, T. H. (2017). Rejuvenation using platelet-rich plasma and lipofilling for vaginal atrophy and lichen sclerosus. *Journal of Menopausal Medicine*, 23(1), 63-68. <https://doi.org/10.6118/jmm.2017.23.1.63>
- Kimura, A., Ogata, H., Yazawa, M., Watanabe, N., Mori, T., & Nakajima, T. (2005). The effects of platelet-rich plasma on cutaneous incisional wound healing in rats. *Journal of Dermatological Science*, 40(3), 205-208. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2005.07.007>
- Kimura, M., Nakao, T., Moriyoshi, M., & Kawata, K. (1987). Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. *British Veterinary Journal*, 143(6), 560-566. [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(87\)90047-9](https://doi.org/10.1016/0007-1935(87)90047-9)

- King, W., Cawood, K., & Bookmiller, M. (2021). The use of autologous protein solution (Pro-Stride®) and leukocyte-rich platelet-rich plasma (Restigen®) in canine medicine. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 53-65. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s286913>
- Kingsley, C. S. (1954). Blood coagulation: evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. *Nature*, 173, 723-724. <https://doi.org/10.1038/173723a0>
- Klongnoi, B., Rupperecht, S., Kessler, P., Thorwarth, M., Wiltfang, J., & Schlegel, K. A. (2006). Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation: an explorative study. *Clinical Oral Implants Research*, 17(3), 312-320. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2005.01215.x>
- Knezevic, N. N., Candido, K. D., Desai, R., & Kaye, A. D. (2016). Is platelet-rich plasma a future therapy in pain management?. *Medical Clinics*, 100(1), 199-217. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2015.08.014>
- Knight, P. G., & Glister, C. (2006). TGF- $\beta$  superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*, 132(2), 191-206. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01074>
- Kosaka, N., Sudo, N., Miyamoto, A., & Shimizu, T. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) suppresses ovarian granulosa cell apoptosis in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 363(3), 733-737. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.09.061>
- Kusumi, M., Ihana, T., Kurosawa, T., Ohashi, Y., & Tsutsumi, O. (2020). Intrauterine administration of platelet-rich plasma improves embryo implantation by increasing the endometrial thickness in women with repeated implantation failure: a single-arm self-controlled trial. *Reproductive Medicine and Biology*, 19(4), 350-356. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12334>
- Ladds, P. W. (1993). Congenital abnormalities of the genitalia of cattle, sheep, goats, and pigs. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9(1), 127-144. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30677-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30677-0)
- Lang, S., Loibl, M., & Herrmann, M. (2018). Platelet-rich plasma in tissue engineering: hype and hope. *European Surgical Research*, 59(3-4), 265-275. <https://doi.org/10.1159/000492415>
- Lange-Consiglio, A., Cazzaniga, N., Garlappi, R., Spelta, C., Pollera, C., Perrini, C., & Cremonesi, F. (2015). Platelet concentrate in bovine reproduction: effects on in vitro embryo production and after intrauterine administration in repeat breeder cows. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0064-6>

- Lange-Consiglio, A., Spelta, C., Garlappi, R., Luini, M., & Cremonesi, F. (2014). Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: first clinical application. *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6223-6230. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7999>
- Lanza, F., Cazenave, J. P., Beretz, A., Sutter-Bay, A., Kretz, J. G., & Kieny, R. (1986). Potentiation by adrenaline of human platelet activation and the inhibition by the alpha-adrenergic antagonist nicergoline of platelet adhesion, secretion and aggregation. *Agents and Actions*, 18, 586-595. <https://doi.org/10.1007/BF01964968>
- Larson, R. C., Ignatz, G. G., & Currie, W. B. (1992a). Transforming growth factor  $\beta$  and basic fibroblast growth factor synergistically promote early bovine embryo development during the fourth cell cycle. *Molecular Reproduction and Development*, 33(4), 432-435. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080330409>
- Larson, R. C., Ignatz, G. G., & Currie, W. B. (1992b). Platelet derived growth factor (PDGF) stimulates development of bovine embryos during the fourth cell cycle. *Development*, 115(3), 821-826. <https://doi.org/10.1242/dev.115.3.821>
- Lee, J. I., & Kim, I. H. (2007). Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. *Journal of Veterinary Science*, 8(3), 283-288. <https://doi.org/10.4142/jvs.2007.8.3.283>
- Lee, K. F., & Yeung, W. S. (2006). Gamete/embryo–oviduct interactions: implications on in vitro culture. *Human Fertility*, 9(3), 137-143. <https://doi.org/10.1080/14647270600636467>
- Lee, M. I., Kim, J. H., Kwak, H. H., Woo, H. M., Han, J. H., Yayon, A., ... & Kang, B. J. (2019). A placebo-controlled study comparing the efficacy of intra-articular injections of hyaluronic acid and a novel hyaluronic acid-platelet-rich plasma conjugate in a canine model of osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 14, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13018-019-1352-1>
- Lee, S., Cheong, J., & Lee, J. M. (2018). Clinical application of autologous platelet-rich plasma (PRP) on delayed wound healing of a dog with burns. *Journal of Veterinary Clinics*, 35(5), 229-232. <https://doi.org/10.17555/jvc.2018.10.35.5.229>
- Lehimcioğlu, N.C., Öztürkler, Y., Yıldız, S., & Arı, U.Ç. (2019). The Effect of intrauterine infusion of carvacrol after insemination on conception rate in repeat breeder cows subjected to progesteron based estrus synchronization protocol. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(5). <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.21505>
- Levine, H. D. (1999). The repeat breeder cow. *The Bovine Practitioner*, 97-105. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol33no2p97-105>

- Lopez, H., Satter, L. D., & Wiltbank, M. C. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 81(3-4), 209-223. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.10.009>
- López-Gatius, F. (2012). Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows. A review. *Theriogenology*, 77(6), 1029-1041. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.014>
- López-Gatius, F., & Garcia-Ispuerto, I. (2020). Treatment with an elevated dose of the GnRH analogue deperheline in the early luteal phase improves pregnancy rates in repeat-breeder dairy cows. *Theriogenology*, 155, 12-16. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.011>
- López, S., Vilar, J. M., Sopena, J. J., Damià, E., Chicharro, D., Carrillo, J. M., ... & Rubio, M. (2019). Assessment of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of traumatic canine fractures. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1075. <https://doi.org/10.3390/ijms20051075>
- Lowery, G. L., Kulkarni, S., & Pennisi, A. E. (1999). Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone*, 25(2), 47S-50S. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(99\)00132-5](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(99)00132-5)
- Luo, H., Kimura, K., Aoki, M., & Hirako, M. (2002). Vascular endothelial growth factor (VEGF) promotes the early development of bovine embryo in the presence of cumulus cells. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(11), 967-971. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.967>
- Maciel, F. B., DeRossi, R., Módolo, T. J., Pagliosa, R. C., Leal, C. R., & Delben, A. A. (2012). Scanning electron microscopy and microbiological evaluation of equine burn wound repair after platelet-rich plasma gel treatment. *Burns*, 38(7), 1058-1065. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2012.02.029>
- Malahias, M. A., Nikolaou, V. S., Johnson, E. O., Kasetta, M. K., Kazas, S. T., & Babis, G. C. (2018). Platelet-rich plasma ultrasound-guided injection in the treatment of carpal tunnel syndrome: A placebo-controlled clinical study. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(3), e1480-e1488. <https://doi.org/10.1002/term.2566>
- Mallory, D. A., Lock, S. L., Woods, D. C., Poock, S. E., & Patterson, D. J. (2013). Hot topic: Comparison of sex-sorted and conventional semen within a fixed-time artificial insemination protocol designed for dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 854-856. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5850>
- Mamo, S., Mehta, J. P., Forde, N., McGettigan, P., & Lonergan, P. (2012). Conceptus-endometrium crosstalk during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Biology of Reproduction*, 87(1), 6-1. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.099945>

- Mane, P. M. (2010). Clinical efficacy of different intrauterine preparations in repeat breeder bovines. *Research Journal of Animal Husbandry and Dairy Science*, 1(2), 77-79. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133149672>
- Mann, G. E., Fray, M. D., & Lamming, G. E. (2006). Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- $\tau$  production in the cow. *The Veterinary Journal*, 171(3), 500-503. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.12.005>
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (1999). The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 34(3-4), 269-274. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1999.tb01250.x>
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*, 121(1), 175-180. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210175>
- Marini, M. G., Perrini, C., Esposti, P., Corradetti, B., Bizzaro, D., Riccaboni, P., ... & Lange-Consiglio, A. (2016). Effects of platelet-rich plasma in a model of bovine endometrial inflammation in vitro. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14, 1-17. <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0195-4>
- Martal, J. L., Chene, N. M., Huynh, L. P., L'haridon, R. M., Reinaud, P. B., Guillomot, M. W., ... & Charpigny, S. Y. (1998). IFN-tau: a novel subtype I IFN1. Structural characteristics, non-ubiquitous expression, structure-function relationships, a pregnancy hormonal embryonic signal and cross-species therapeutic potentialities. *Biochimie*, 80(8-9), 755-777. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(99\)80029-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(99)80029-7)
- Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?. *Implant Dentistry*, 10(4), 225-228. <https://doi.org/10.1097/00008505-200110000-00002>
- Marx, R. E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(4), 489-496. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2003.12.003>
- Matsumoto, H., Nasu, K., Nishida, M., Ito, H., Bing, S., & Miyakawa, I. (2005). Regulation of proliferation, motility, and contractility of human endometrial stromal cells by platelet-derived growth factor. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(6), 3560-3567. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1918>
- Maurer, R. R., & Echtenkamp, S. E. (1985). Repeat-breeder females in beef cattle: Influences and causes. *Journal of Animal Science*, 61(3), 624-636. <https://doi.org/10.2527/jas1985.613624x>

- Maynard, D. M., Heijnen, H. F., Gahl, W. A., & Gunay-Aygun, M. (2010). The  $\alpha$ -granule proteome: novel proteins in normal and ghost granules in gray platelet syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 8(8), 1786-1796. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03932.x>
- McDonald, R.J., McKay, G.W., & Thomson, J.D. (1961). The use of organic iodine in treatment of repeat breeder cows. *Proceeding of the IVth International Congress on Animal Reproduction*, 679-681.
- McNicol, A., & Israels, S. J. (1999). Platelet dense granules: structure, function and implications for haemostasis. *Thrombosis Research*, 95(1), 1-18. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(99\)00015-8](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(99)00015-8)
- McSweeney, K. (2004). Embryonic loss, What causes it, what amount is normal and how do i manage it?. *Colorado Dairy News*, 10(1).
- Memeo, A., Verdoni, F., De Bartolomeo, O., Albisetti, W., & Pedretti, L. (2014). A new way to treat forearm post-traumatic non-union in young patients with intramedullary nailing and platelet-rich plasma. *Injury*, 45(2), 418-423. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2013.09.021>
- Metcalf, E. S. (2014). The effect of platelet-rich plasma (PRP) on intraluminal fluid and pregnancy rates in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis (PMIE). *Journal of Equine Veterinary Science*, 1(34), 128. <https://doi.org/10.1016%2Fj.jevs.2013.10.087>
- Miğtkiewska, K., Kordowitzki, P., & Pareek, C. S. (2022). Effects of Heat Stress on Bovine Oocytes and Early Embryonic Development—An Update. *Cells*, 11(24), 4073. <https://doi.org/10.3390/cells11244073>
- Miller, L. E., Parrish, W. R., Roides, B., & Bhattacharyya, S. (2017). Efficacy of platelet-rich plasma injections for symptomatic tendinopathy: systematic review and meta-analysis of randomised injection-controlled trials. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*, 3(1), e000237. <https://doi.org/10.1136/bmjsem-2017-000237>
- Mishra, A., Shahi, A., Das, B., Jawre, S., Singh, R., & Nayak, A. (2021). Evaluation of PRP drop and L-PRF membrane for aggressive ulcerative keratitis in dogs. *Journal of Animal Research*, 11(1), 181-185. <https://doi.org/10.30954/2277-940X.01.2021.24>
- Molina, A., Sánchez, J., Sánchez, W., & Vielma, V. (2018). Platelet-rich plasma as an adjuvant in the endometrial preparation of patients with refractory endometrium. *JBRA Assisted Reproduction*, 22(1), 42. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180009>

- Monty Jr, D. E., & Wolff, L. K. (1974). Summer heat stress and reduced fertility in Holstein-Friesian cows in Arizona. *American Journal of Veterinary Research*, 35(12), 1495-1500.
- Moreira, F., Paula-Lopes, F. F., Hansen, P. J., Badinga, L., & Thatcher, W. W. (2002). Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology*, 57(2), 895-907. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00694-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00694-X)
- Morris, D., & Diskin, M. (2008). Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*, 2(8), 1112-1119. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002474>
- Moss, N., Lean, I. J., Reid, S. W. J., & Hodgson, D. R. (2002). Risk factors for repeat-breeder syndrome in New South Wales dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 54(2), 91-103. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(02\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(02)00016-8)
- Nazari, L., Salehpour, S., Hosseini, M. S., & Hashemi Moghanjoughi, P. (2020). The effects of autologous platelet-rich plasma in repeated implantation failure: a randomized controlled trial. *Human Fertility*, 23(3), 209-213. <https://doi.org/10.1080/14647273.2019.1569268>
- Neira, J. A., Tainturier, D., Pena, M. A., & Martal, J. (2010). Effect of the association of IGF-I, IGF-II, bFGF, TGF- $\beta$ 1, GM-CSF, and LIF on the development of bovine embryos produced in vitro. *Theriogenology*, 73(5), 595-604. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.10.015>
- Nilsson, E. E., Detzel, C., & Skinner, M. K. (2006). Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition. *Reproduction*, 131(6), 1007-1016. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00978>
- Norol, F., Vitrat, N., Cramer, E., Guichard, J., Burstein, S. A., Vainchenker, W., & Debili, N. (1998). Effects of cytokines on platelet production from blood and marrow CD34+ cells. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 91(3), 830-843. <https://doi.org/10.1182/blood.V91.3.830>
- Öztürkler, Y., Uçar, Ö., & Lehimcioğlu, N. L. (2001). İneklerde sun'i tohumlamayı takiben intrauterin ilaç uygulamasının gebelik oranları üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(2), 197-200. [https://vetdergikafkas.org/uploads/pdf/pdf\\_KVFD\\_2547.pdf](https://vetdergikafkas.org/uploads/pdf/pdf_KVFD_2547.pdf)
- Pandey, N. K. J., Gupta, H. P., Prasad, S., & Sheetal, S. K. (2016). Plasma progesterone profile and conception rate following exogenous supplementation of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone releasing intra-vaginal device in repeat-breeder crossbred cows. *Veterinary World*, 9(6), 559. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.559-562>
- Parmar, S. C., Dhami, A. J., Hadiya, K. K., & Parmar, C. P. (2016). Early embryonic death in bovines: an overview. *Raksha Technical Review*, 6(1), 6-12.

<https://www.researchgate.net/publication/315589534> Early Embryonic Death in Bovines An Overview

- Payton, R. R., Rispoli, L. A., Nagle, K. A., Gondro, C., Saxton, A. M., Voy, B. H., & Edwards, J. L. (2018). Mitochondrial-related consequences of heat stress exposure during bovine oocyte maturation persist in early embryo development. *Journal of Reproduction and Development*, 64(3), 243-251. <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-160>
- Perez-Marin, C. C., Molina Moreno, L., & Vizuete, C. G. (2012). Clinical approach to the repeat breeder cow syndrome. *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine*, 337-362. <https://doi.org/10.5772/31374>
- Pietrzak, W. S., & Eppley, B. L. (2005). Platelet rich plasma: biology and new technology. *Journal of Craniofacial Surgery*, 16(6), 1043-1054. <https://doi.org/10.1097/01.scs.0000186454.07097.bf>
- Pothmann, H., Prunner, I., Wagener, K., Jaureguiberry, M., de la Sota, R. L., Erber, R., ... & Drillich, M. (2015). The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. *Theriogenology*, 83(8), 1249-1253. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.01.013>
- Prokof'ev, M. I., Chernykh, V., Mezina, M. N., Bespalova, Zh. D., Saks, T. R., Kreevosheer, O. G., & Syutkin, E. A. (1987). Biological characters and use of a GnRH analogue for increasing the effectiveness of artificial insemination of cows, *Animal Breeding Abstracts*, 55(11), 6855.
- Puente Gonzalo, E., Alonso Pacheco, L., Vega Jiménez, A., Vitale, S. G., Raffone, A., & Laganà, A. S. (2021). Intrauterine infusion of platelet-rich plasma for severe Asherman syndrome: a cutting-edge approach. *Updates in Surgery*, 73, 2355-2362. <https://doi.org/10.1007/s13304-020-00828-0>
- Purohit, G. N., Gupta, K. A., Vyas, K., Gupta, A. K., Garg, N., Chaturvedi, R. K., ... & Sharma, S. S. (2003). Use of fluroquinolones for treating sub-clinical uterine infections. *The Blue Cross Book*, 21, 19-20. <https://www.researchgate.net/publication/368246970>
- Reghini, M. F. S., Neto, C. R., Segabinazzi, L. G., Chaves, M. M. B. C., Camila de Paula, F., Bussiere, M. C. C., ... & Alvarenga, M. A. (2016). Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*, 86(2), 516-522. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.029>
- Rendu, F., & Brohard-Bohn, B. (2001). The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*, 12(5), 261-273. <https://doi.org/10.1080/09537100120068170>



- Rispoli, L. A., Payton, R. R., Gondro, C., Saxton, A. M., Nagle, K. A., Jenkins, B. W., ... & Edwards, J. L. (2013). Heat stress effects on the cumulus cells surrounding the bovine oocyte during maturation: altered matrix metalloproteinase 9 and progesterone production. *Reproduction*, 146(2), 193-207. <https://doi.org/10.1530/rep-12-0487>
- Rizos, D., Maillo, V., Sánchez-Calabuig, M. J., & Lonergan, P. (2017). The consequences of maternal-embryonic cross talk during the periconception period on subsequent embryonic development. *Periconception in Physiology and Medicine*, 69-86. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-62414-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-62414-3_4)
- Roberts, R. M. (2007). Interferon-tau, a Type 1 interferon involved in maternal recognition of pregnancy. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 18(5-6), 403-408. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2007.06.010>
- Roberts S. J., 1971. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases* (2nd ed.), New Delhi: CBS Publishers.
- Robertson, S. A., Chin, P. Y., Schjenken, J. E., & Thompson, J. G. (2015). Female tract cytokines and developmental programming in embryos. *Cell Signaling During Mammalian Early Embryo Development*, 173-213. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2480-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2480-6_7)
- Robinson, R. S., Hammond, A. J., Wathes, D. C., Hunter, M. G., & Mann, G. E. (2008). Corpus luteum–endometrium–embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 104-112. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01149.x>
- Roine, K., & Saloniemi, H. (1978). Incidence of infertility in dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 19(3), 354. <https://doi.org/10.1186/BF03547605>
- Rosenberg, M., Folman, Y., Herz, Z., Flamenbaum, I., Berman, A., & Kaim, M. (1982). Effect of climatic conditions on peripheral concentrations of LH, progesterone and oestradiol-17 $\beta$  in high milk-yielding cows. *Reproduction*, 66(1), 139-146. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0660139>
- Ross, R., Raines, E. W., & Bowen-Pope, D. F. (1986). The biology of platelet-derived growth factor. *Cell*, 46(2), 155-169. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90733-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90733-6)
- Rupde, N. D., Rode, A. M., Sarode, D. B., Zade, N. N., Jagtap, D. G., & Kaikini, A. S. (1993). Serum biochemical profile in repeat breeders. *Indian Journal Animal Reproduction*, 14(2), 79-81.
- Salasel, B., Mokhtari, A., & Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 74(7), 1271-1278. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.05.033>

- Santos, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvao, K. N. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 82, 513-535. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>
- Satrapa, R. A., Razza, E. M., Castilho, A. C. S., Simões, R. A. L., Silva, C. F., Nabhan, T., ... & Barros, C. M. (2013). Differential Expression of IGF Family Members in Heat-Stressed Embryos Produced In Vitro from OPU-Derived Oocytes of Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(6), 1043-1048. <https://doi.org/10.1111/rda.12211>
- Schalm, O. W., Jain, N. C., & Carroll, E. J. (1986). *Veterinary haematology* (4th ed.), Philadelphia: Lea and Febiger.
- Segabinazzi, L. G., Canisso, I. F., Podico, G., Cunha, L. L., Novello, G., Rosser, M. F., ... & Alvarenga, M. A. (2021). Intrauterine blood plasma platelet-therapy mitigates persistent breeding-induced endometritis, reduces uterine infections, and improves embryo recovery in mares. *Antibiotics*, 10(5), 490. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050490>
- Segabinazzi, L. G., Friso, A. M., Correal, S. B., Crespilho, A. M., Dell'Aqua Jr, J. A., Miró, J., ... & Alvarenga, M. A. (2017). Uterine clinical findings, fertility rate, leucocyte migration, and COX-2 protein levels in the endometrial tissue of susceptible mares treated with platelet-rich plasma before and after AI. *Theriogenology*, 104, 120-126. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.007>
- Sfakianoudis, K., Simopoulou, M., Nitsos, N., Lazaros, L., Rapani, A., Pantou, A., ... & Pantos, K. (2019). Successful implantation and live birth following autologous platelet-rich plasma treatment for a patient with recurrent implantation failure and chronic endometritis. *In Vivo*, 33(2), 515-521. <https://doi.org/10.21873/invivo.11504>
- Shafieian, R., Matin, M. M., Rahpeyma, A., Fazel, A., Sedigh, H. S., Nabavi, A. S., ... & Ebrahimzadeh-Bideskan, A. (2017a). Effects of human adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma on healing response of canine alveolar surgical bone defects. *Archives of Bone and Joint Surgery*, 5(6), 406. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5736890/>
- Shafieian, R., Matin, M. M., Rahpeyma, A., Fazel, A., Sedigh, H. S., Sadr-Nabavi, A., ... & Ebrahimzadeh-Bideskan, A. (2017b). The effect of platelet-rich plasma on human mesenchymal stem cell-induced bone regeneration of canine alveolar defects with calcium phosphate-based scaffolds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(10), 1131. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9447>
- Shams-Esfanabadi, N., & Shirazi, A. (2006). Effects of supplementation of repeat-breeder dairy cows with CIDR from 5-19 post-insemination on pregnancy rate.

*Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(11), 2173-2176.  
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.2173.2176>

- Sharda, A., & Flaumenhaft, R. (2018). The life cycle of platelet granules. *F1000Research*, 7. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13283.1>
- Sheldon, M. (1997). Bovine fertility-practical implications of the maternal recognition of pregnancy. *In Practice*, 19(10), 546-556.  
<https://doi.org/10.1136/inpract.19.10.546>
- Shelton, K., De Abreu, M. G., Hunter, M. G., Parkinson, T. J., & Lamming, G. E. (1990). Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *Reproduction*, 90(1), 1-10. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0900001>
- Shrestha, H. K., Nakao, T., Higaki, T., Suzuki, T., & Akita, M. (2004). Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology*, 61(4), 637-649. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00233-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00233-4)
- Silva, J. R. V., Figueiredo, J. R., & Van den Hurk, R. (2009). Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*, 71(8), 1193-1208.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.015>
- Silva, J. R., van den Hurk, R., de Matos, M. H., dos Santos, R. R., Pessoa, C., de Moraes, M. O., & de Figueiredo, J. R. (2004). Influences of FSH and EGF on primordial follicles during in vitro culture of caprine ovarian cortical tissue. *Theriogenology*, 61(9), 1691-1704.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.09.014>
- Singh, J., Dadarwal, D., Honparkhe, M., & Kumar, A. (2008). Incidences of various etiological factors responsible for repeat breeding syndrome in cattle and buffaloes. *The Internet Journal of Veterinary Medicine*, 6, 220-229.  
<https://www.researchgate.net/publication/285796387>
- Singh, J., Sidhu, S. S., Dhaliwal, G. S., Pangaonkar, G. R., Nanda, A. S., & Grewal, A. S. (2000). Effectiveness of lipopolysaccharide as an intrauterine immunomodulator in curing bacterial endometritis in repeat breeding cross-bred cows. *Animal Reproduction Science*, 59(3-4), 159-166.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00144-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00144-5)
- Singh, L., Gandotra, V. K., Singh, J., & Arora, A. K. (2010). Response of intrauterine infusion of Lugol's iodine in infectious repeat breeding cattle. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 31(2), 40-42.  
<https://acspublisher.com/journals/index.php/ijar/article/download/4317/3965>
- Singh, S. P., Kumar, A., Bhavsar, P. P., Sahu, M., Kumar, P., & Kumar, S. (2020). Evaluation of the effect of GnRH analogue, progesterone and tolfenamic acid on serum progesterone profile and conception rate in repeat breeding crossbred

- cattle. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(5), 2630-2637. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.301>
- Sipahi, M. (2019). Effects of autologous platelet-rich plasma on endometrium thickness and pregnancy rates during intrauterine insemination. *Middle Black Sea Journal of Health Science*, 5(2), 63-66. <https://doi.org/10.19127/mbsjohs.544429>
- Sirisathien, S., Hernandez-Fonseca, H. J., & Brackett, B. G. (2003). Influences of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on bovine blastocyst development in vitro. *Animal Reproduction Science*, 77(1-2), 21-32. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00272-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00272-5)
- Snyder, T. A., Watach, M. J., Litwak, K. N., & Wagner, W. R. (2002). Platelet activation, aggregation, and life span in calves implanted with axial flow ventricular assist devices. *The Annals of Thoracic Surgery*, 73(6), 1933-1938. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)03549-X](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)03549-X)
- Sönmez, M., Türk, G., & Demirci, E. (2006). İneklerde klinik muayene ve progesteron test kitleri ile yapılan östrus teşhisinin gebelik oranları üzerine etkisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 22(3-4), 57-62. <https://acikerisim.firat.edu.tr/xmlui/handle/11508/8241>
- Spencer, T. E., & Bazer, F. W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 7(4), 1879-1898. <https://doi.org/10.2741/spencer>
- Stambolsky, C., Rodríguez-Benítez, S., Gutiérrez-Pérez, J. L., Torres-Lagares, D., Martín-González, J., & Segura-Egea, J. J. (2016). Histologic characterization of regenerated tissues after pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis using tri-antibiotic paste and platelet-rich plasma. *Archives of Oral Biology*, 71, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.07.007>
- Stevenson, J. S., Frantz, K. D., & Call, E. P. (1988). Conception rates in repeat-breeders and dairy cattle with unobserved estrus after prostaglandin F2 alpha and gonadotropin-releasing hormone. *Theriogenology*, 29(2), 451-460. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90247-6](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90247-6)
- Stoikos, C. J., Harrison, C. A., Salamonsen, L. A., & Dimitriadis, E. (2008). A distinct cohort of the TGFβ superfamily members expressed in human endometrium regulate decidualization. *Human Reproduction*, 23(6), 1447-1456. <https://doi.org/10.1093/humrep/den110>
- Stronge, A. J. H., Sreenan, J. M., Diskin, M. G., Mee, J. F., Kenny, D. A., & Morris, D. G. (2005). Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, 64(5), 1212-1224. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.02.007>

- Tablin, F., Walker, N. J., Klein, S. D., Field, C. L., & Crowe, J. H. (2000). Animal models for studies on cold-induced platelet activation in human beings. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 135(4), 339-346. <https://doi.org/10.1067/mlc.2000.105619>
- Tambella, A. M., Attili, A. R., Dupre, G., Cantalamessa, A., Martin, S., Cuteri, V., ... & Del Fabbro, M. (2018). Platelet-rich plasma to treat experimentally-induced skin wounds in animals: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 13(1), e0191093. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191093>
- Tanabe, T. Y., Deaver, D. R., & Hawk, H. W. (1994). Effect of gonadotropin-releasing hormone on estrus, ovulation, and ovum cleavage rates of dairy cows. *Journal of animal science*, 72(3), 719-724. <https://doi.org/10.2527/1994.723719x>
- Tarantino, R., Donnarumma, P., Mancarella, C., Rullo, M., Ferrazza, G., Barrella, G., ... & Delfini, R. (2014). Posterolateral arthrodesis in lumbar spine surgery using autologous platelet-rich plasma and cancellous bone substitute: an osteoinductive and osteoconductive effect. *Global Spine Journal*, 4(3), 137-141. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1376157>
- Tarín, J. J., Pérez-Albalá, S., & Cano, A. (2000). Consequences on offspring of abnormal function in ageing gametes. *Human Reproduction Update*, 6(6), 532-549. <https://doi.org/10.1093/humupd/6.6.532>
- Taschieri, S., Lolato, A., Ofer, M., Testori, T., Francetti, L., & Del Fabbro, M. (2017). Immediate post-extraction implants with or without pure platelet-rich plasma: a 5-year follow-up study. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 21, 147-157. <https://doi.org/10.1007/s10006-017-0609-2>
- Tehranejad, E. S., Kashani, N. G., Hosseini, A., & Tarafdari, A. (2021). Autologous platelet-rich plasma infusion does not improve pregnancy outcomes in frozen embryo transfer cycles in women with history of repeated implantation failure without thin endometrium. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 47(1), 147-151. <https://doi.org/10.1111/jog.14445>
- Tekin, K. & Daşkın, A. (2016). The Reproductive Parameters Affecting Fertility in Cattle Livestock Enterprises. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(1), 43-50. <https://dergipark.org.tr/en/pub/kvj/issue/32992/369761>
- Textor, J. A., & Tablin, F. (2013). Intra-articular use of a platelet-rich product in normal horses: clinical signs and cytologic responses. *Veterinary Surgery*, 42(5), 499-510. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2013.12015.x>
- Thatcher, W. W., Drost, M., Savio, J. D., Macmillan, K. L., Entwistle, K. W., Schmitt, E. J., ... & Morris, G. R. (1993). New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Animal Reproduction Science*, 33(1-4), 27-49. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90105-Z](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90105-Z)

- Thatcher, W. W., Guzeloglu, A., & Bilby, T. R. (2006). Early embryonic mortality in modern dairy cows: causes, consequences and remedies. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 75(2 A), 105-112. <https://vdt.ugent.be/sites/default/files/art752s07.pdf>
- Thatcher, W. W., Meyer, M. D., & Danet-Desnoyers, G. (1995). Maternal recognition of pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility-Supplement*, 49, 15-28. <https://www.bioscioproceedings.org/bp/0003/pdf/bp0003rdr2.pdf>
- Thatcher, W. W., Staples, C. R., Danet-Desnoyers, G., Oldick, B., & Schmitt, E. P. (1994). Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science*, 72(3), 16-30. [https://doi.org/10.2527/1994.72suppl\\_316x](https://doi.org/10.2527/1994.72suppl_316x)
- Thuemmel, A. E., Gwazdauskas, F. C., Whittier, W. D., & McGilliard, M. L. (1992). Effect of progesterone supplementation in repeat-breeder cattle on conception and plasma progesterone. *Journal of Endocrinological Investigation*, 15(5), 393-396. <https://doi.org/10.1007/BF03348762>
- Thundathil, J., Meyer, R., Palasz, A. T., Barth, A. D., & Mapletoft, R. J. (2000). Effect of the knobbed acrosome defect in bovine sperm on IVF and embryo production. *Theriogenology*, 54(6), 921-934. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00402-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00402-7)
- Tobita, M., Uysal, C. A., Guo, X., Hyakusoku, H., & Mizuno, H. (2013). Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. *Cytotherapy*, 15(12), 1517-1526. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.05.007>
- Valadão, L., da Silva, H. M., & da Silva, F. M. (2018). Bovine embryonic development to implantation. *Embryology-Theory and Practice*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.73724>
- Vartia, K., Taponen, J., Heikkinen, J., & Lindeberg, H. (2017). Effect of education on ability of AI professionals and herd-owner inseminators to detect cows not in oestrus and its relation with progesterone concentration on day of re-insemination. *Theriogenology*, 102, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.007>
- Vatnikov, Y. A., Erin, I. S., Suleimanov, S. M., Kulikov, E. V., Seleznev, S. B., Lutsay, V. I., ... & Vilkovysky, I. F. (2020). Effect of autologous plasma treatment on the cornea regeneration with keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Journal of Animal Health and Production*, 8(1), 1-7. <https://doi.org/10.17582/journal.jahp/2020/8.1.1.7>
- Venugopal, R. (1995). *Intra-uterine infusion of homologous plasma in the treatment of endometritis in cows* (Doctoral dissertation, Department of Animal Reproduction, College of Veterinary and Animal Sciences, Mannuthy).

- Villarroel, A., Martino, A., BonDurant, R. H., Dèletang, F., & Sischo, W. M. (2004). Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*, 61(7-8), 1513-1520. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.09.001>
- Walker, W. L., Nebel, R. L., & McGilliard, M. L. (1996). Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 79(9), 1555-1561. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76517-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76517-7)
- Wallace, R. M., Pohler, K. G., Smith, M. F., & Green, J. A. (2015). Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy. *Reproduction*, 149(3), R115-26. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0485>
- Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123(3-4), 127-138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.001>
- Wang, Y., Selden, C., Farnaud, S., Calnan, D., & Hodgson, H. J. (1994). Hepatocyte growth factor (HGF/SF) is expressed in human epithelial cells during embryonic development; studies by in situ hybridisation and northern blot analysis. *Journal of Anatomy*, 185(3), 543. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1166661/>
- Watson, A. J., Hogan, A., Hahnel, A., Schultz, G. A., & Wiemer, K. E. (1992). Expression of growth factor ligand and receptor genes in the preimplantation bovine embryo. *Molecular Reproduction and Development*, 31(2), 87-95. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080310202>
- Welsh, W. J. (2000). Autologous platelet gel: Clinical function and usage in plastic surgery. *Cosmetic Dermatology*, 11, 13. <http://www.perstat.com/plastic1.pdf>
- White, J. G. (1999). Platelet glycosomes. *Platelets*, 10(4), 242-246. <https://doi.org/10.1080/09537109976095>
- White, J. G., & Michelson, A. (2007). Platelet structure. *Platelets*, 2, 45-71.
- Wodaje, H. B., & Mekuria, T. A. (2016). Risk factors of repeat breeding in dairy cattle. *Advances in Biological Research*, 10(4), 213-221. [https://www.idosi.org/abr/10\(4\)16/2.pdf](https://www.idosi.org/abr/10(4)16/2.pdf)
- Xia, Y., Zhao, J., Xie, J., Lv, Y., & Cao, D. S. (2019). The efficacy of platelet-rich plasma dressing for chronic nonhealing ulcers: a meta-analysis of 15 randomized controlled trials. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 144(6), 1463-1474. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000006281>
- Xie, X., Zhao, S., Wu, H., Xie, G., Huangfu, X., He, Y., & Zhao, J. (2013). Platelet-rich plasma enhances autograft revascularization and reinnervation in a dog model of anterior cruciate ligament reconstruction. *Journal of Surgical Research*, 183(1), 214-222. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.01.020>

- Yilmazbas-Mecitoglu, G., Gumen, A., Karakaya-Bilen, E., Keskin, A., Guner, B., & Cakircali, R. (2021). The ovulatory response to human chorionic gonadotropin administration on day 4 post timed artificial insemination improved fertility in repeat breeder cows. *Acta Veterinaria Brno*, 90(1), 15-20. <https://doi.org/10.2754/avb202190010015>
- Yimer, N., & Rosnina, Y. (2014). Chromosomal Anomalies and Infertility in Farm Animals: A Review. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 37(1). <https://www.researchgate.net/publication/286474143>
- Youssefian, T., Massé, J. M., Rendu, F., Guichard, J., & Cramer, E. M. (1997). Platelet and megakaryocyte dense granules contain glycoproteins Ib and IIb-IIIa. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 89(11), 4047-4057. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.11.4047>
- Yuksel, E. P., Sahin, G., Aydin, F., Senturk, N., & Turanli, A. Y. (2014). Evaluation of effects of platelet-rich plasma on human facial skin. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 16(5), 206-208. <https://doi.org/10.3109/14764172.2014.949274>
- Yusuf, M., Rahim, L., Asja, M. A., & Wahyudi, A. (2012). The incidence of repeat breeding in dairy cows under tropical condition. *Media Peternakan*, 35(1), 28-28. <https://doi.org/10.5398/medpet.2012.35.1.28>
- Yüksel, A. N., Soysal, İ., Kocaman, İ., & Soysal, S. İ. (2000). *Süt Sığırcılığı Temel Kitabı*. İstanbul: Hasad Yayıncılık Ltd.
- Zadehmodarres, S., Salehpour, S., Saharkhiz, N., & Nazari, L. (2017). Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study. *JBRA Assisted Reproduction*, 21(1), 54. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20170013>
- Zemjanis R. (1980). Repeat breeding or conception failure in cattle. In: Morrow DA (ed.), *Current Therapy in Theriogenology*, (2nd edition), (pp. 205-123), Philadelphia: WB Saunders.
- Zhang, P., Li, D., Yang, Z., Xue, P., & Liu, X. (2022). Nrf2/HO-1 pathway is involved the anti-inflammatory action of intrauterine infusion of platelet-rich plasma against lipopolysaccharides in endometritis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 44(1), 119-128. <https://doi.org/10.1080/08923973.2021.2012483>
- Zheng, W., Zhao, D. L., Zhao, Y. Q., & Li, Z. Y. (2022). Effectiveness of platelet rich plasma in burn wound healing: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Dermatological Treatment*, 33(1), 131-137. <https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1729949>
- Zık, B. (2021). *Genel Embriyoloji*. (2. Baskı). Bursa: Ezgi Kitapevi.



Zobel, R., Tkalcic, S., Buic, V., Pipal, I., Geres, D., & Samardzija, M. (2011). Repeat breeder syndrome in dairy cows: influence of breed and age on its prevalence and the success of a hormone therapy. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 35(6), 405-411. <https://doi.org/10.3906/vet-1001-236>

## 7. SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>\$:</b>	Amerikan Doları
<b>µg:</b>	Mikrogram
<b>µl:</b>	Mikrolitre
<b>µm:</b>	Mikrometre
<b>ADP:</b>	Adenozin Difosfat
<b>ATP:</b>	Adenozin Trifosfat
<b>CIDR:</b>	Kontrollü Dahili İlaç Salma
<b>COX:</b>	Siklooksijenaz
<b>DNaz:</b>	Deoksiribonükleaz
<b>EGF:</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>FGF:</b>	Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>FSH:</b>	Folikül Stimüle Edici Hormon
<b>GnRH:</b>	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
<b>hCG:</b>	İnsan Koryonik Gonadotropini
<b>HGF:</b>	Hepatosit Büyüme Faktörü
<b>IFN-tau:</b>	İnterferon tau
<b>IGF:</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
<b>IL:</b>	İnterlökin
<b>IU:</b>	İnternasyonal Ünite
<b>L:</b>	Litre
<b>LH:</b>	Lüteinleştirici Hormon
<b>L-PRF:</b>	Lökosit Platelet Zengin Fibrin
<b>L-PRP:</b>	Lökosit Platelet Zengin Plazma
<b>LPS:</b>	Lipopolisakkarit
<b>mg:</b>	Miligram
<b>ml:</b>	Mililitre
<b>mRNA:</b>	Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>ng:</b>	Nanogram
<b>NEFA:</b>	Esterleşmemiş yağ asidi
<b>PAF:</b>	Trombosit Aktive Edici Faktör
<b>PAG:</b>	Gebelikle İlişkili Glikoprotein
<b>PDAF:</b>	Trombosit Kaynaklı Anjiyogenezis Faktörü
<b>PDGF:</b>	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
<b>PF:</b>	Trombosit Faktörü
<b>PGE<sub>2</sub>:</b>	Prostaglandin E2
<b>PGF<sub>2α</sub>:</b>	Prostaglandin F2 Alfa
<b>PMN:</b>	Polimorfnükleer Nötrofil
<b>PPP:</b>	Platelet Fakir Plazma
<b>P-PRF:</b>	Saf Platelet Zengin Fibrin
<b>P-PRP:</b>	Saf Platelet Zengin Plazma
<b>PRP:</b>	Platelet Zengin Plazma
<b>PSPB:</b>	Gebelik Spesifik Protein B
<b>RNaz:</b>	Ribonükleaz
<b>TAI:</b>	Zaman Ayarlı Suni Tohumlama
<b>TGF-β:</b>	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
<b>TNF-α:</b>	Tümör Nekroz Faktörü Alfa

**VEGF:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü  
**βTG:** Beta Tromboglobulin

## 8. EKLER

EK1

02.10.2020

### İLGİLİ MAKAMA

Sorumlu Yönetici Veteriner Hekimi olduğum **MARDER Nakliyat Temizlik İnşaat Tarım Hayvancılık Sanayi ve Ticaret A.Ş.** çiftliğinde "*Repeat Breeder (Döl Tutmayan) İneklerde Plateletten Zengin Plazma (PRP) Uygulamasının Fertilité Üzerine Etkileri*" isimli proje çalışmasının yapılması uygundur.

**MARDER**  
Nakliyat İc  
Sanay  
Taşınak  
Karakabeyli  
Mersis No: 061  
Hayvancılık  
MERSİS  
6120728070  
Lokasyon: 3770

Sorumlu Veteriner Hekimi

Ali Burak KAPLAN



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Repeat Breeder (Döl Tutmayan) İneklerde Plateletten Zengin plazma (PRP) Uygulamasının Fertilite Üzerine Etkileri</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Prof. Dr. Ahmet GÜMEN BUÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Dokt. Öğr. Cihan Tolga ORTAÇ
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Cihan Tolga ORTAÇ'ın Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.11.2020 – 01.05.2021
	KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI	400 Adet Dışı Sığır

<b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b>	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	29.09.2020

<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Karar No : 2020 - 10 / 11	Tarih : 06.10.2020
	<p>Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmaya iletmesine oy birliğiyle çoğunluğu ile karar verildi.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması,</li> <li>2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması,</li> <li>3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi,</li> <li>4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması,</li> <li>5) Çalışma tamamlandıktan sonra raporunun gönderilmesi.</li> </ol>	

**ETİK KURUL BİLGİLERİ**

**ÜYELER**

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyelik	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düğünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp- Anatomi	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Dr.Öğr. Üyesi Sezer ERER Kafa Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Murat YALÇIN Üye	Veteriner-Fizyoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Aydın İPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Asiye İslim SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diğ Hekim	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Filiz KUNLAR Üye	Sivil Üye	Emekli	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Faika KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			

## 9. TEŞEKKÜR

Var olduğum günden beri her zaman arkamda durarak bana destek olan, annem ■■■ ORTAÇ, babam ■■■ ORTAÇ ve kardeşim ■■■ ORTAÇ'a minnettarım. Lisans öğreniminde, bizleri daha iyi noktalara taşımak için gece gündüz çalışan fakültemin tüm kıymetli hocalarına saygıyı da bir borç bilirim.

Doktora sürecimde, kısa zamanda güzel işler yapmama vesile olduğu, tüm imkanları sağladığı, akademik bir bakış açısı ve etik kattığı için danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet GÜMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Doktora hayatım boyunca bildiklerini, tecrübelerini usanmadan bizlere aktaran anabilim dalı hocalarıma ve güzel bir çalışma ortamı sağlayan bütün asistan arkadaşlarıma teşekkür ediyorum. Bu süreç boyunca var oldukları, kesintisiz destekleri için Vet. Hek. ■■■ ÖREN ve kedim Dobby'e, ayrıca bu meslekte yürüdüğüm yolları yıllar önce hayatımıza girerek şekillendirdiğini düşündüğüm ancak bugün aramızda olmayan ilk göz ağrım kedim Kontes'e teşekkür ediyorum.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

■■■■ yılında ■■■■■ doğmuştur. İlk, orta ve lise eğitimini ■■■■■ tamamlamıştır. 2010 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi M.Y.O. At Antrenörlüğü ön lisans programından mezun olup, aynı yıl Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde başladığı lisans öğrenimini 2016 yılında bitirmiştir. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında 2016 yılında doktora programına başlamıştır.