

کاربرد بالینی GnRH - سؤالات مطروحه در مورد کارآیی آن

نویسنده A. R. Peters

Animal Reproduction Science 88 (2005) 155–167

Veterinary clinical application of GnRH—questions of efficacy

A.R. Peters

Pfizer UK Ltd., Veterinary Medicine Research and Development (IPC 896), Ramsgate Road,
Sandwich, Kent CT13 9NJ, UK

مترجم دکتر امیر هوشنگ فلاح راد

عضو هیأت علمی گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

umfallah@yahoo.com

خلاصه: در این مقاله مروری داریم بر تاثیر درمانی GnRH در ارتباط با جلوگیری از مرگ و میر جنین، کنترل رشد و توسعه فولیکول در برنامه های هماهنگی که در آن از پروستاگلندین بعنوان از بین برنده جسم زرد استفاده می شود، همچنین القاء تخمک اندازی در گاو هائی که پس از زایمان دچار عدم فعلی ناشی از ابتلاء به کیست های تخمدانی (COD) هستند. بعضی عقیده دارند که تزریق GnRH در زمان تلقیح (اول و یا تلقیحات بعدی) و یا بین 11 الی 14 روز پس از تلقیح در گاو سبب افزایش نرخ آبستنی می شود. شواهدی نیز دال بر اثرات مثبت این هورمون در میش، مادیان و نیز خوک وجود دارد. استفاده از GnRH هفت روز قبل از تزریق پروستاگلندین و مجدداً 48 الی 60 ساعت بعداً از تزریق پروستاگلندین یکی از قسمت های اصلی رژیم های هماهنگی می باشد که بنظر می رسد سبب افزایش هماهنگی تخمک اندازی در برنامه های کنترل تولید مثل است. اثر اصلی هماهنگ کننده در تزریق دوم GnRH نهفته است در حالیکه اهمیت اولین تزریق در طولانی کردن مرحله لوتئال در گاو هائی است که در مراحل آخری چرخه فعلی درمان شده اند، در این مرور مقالات منتشر شده در مورد پتانسیل استفاده از GnRH برای القاء تخمک اندازی در گاو های دچار عدم فعل مورد مطالعه قرار می گیرند. تزریق یکجا، تزریقات نوسانی، متداوم، و یا فورمولاسیون هائی که بصورت کنترل شده GnRH آزاد می کنند هیچ یک هنوز بصورت اثبات شده بر تخمک اندازی و باروری تاثیر گزار نبوده و نتایج قابل پیش بینی و یا یکسانی نداشته اند. بنا بر عقیده بعضی، این تفاوت از یکسان نبودن شرایط فولیکول ها در زمان درمان ناشی می شود. معمولاً در پی بروز COD از GnRH استفاده می شود. به هر حال اگرچه این هورمون سبب تحریک تخمک اندازی و لوتئینه شدن فولیکول های جدید شده و یا اینکه سبب لوتئینه شدن کیست های فولیکولار می گردد ولی، قابلیت باروری گاو درمان شده بسیار ضعیف باقی مانده لذا بنظر می رسد قبل از اینکه درمان مؤثری پیشنهاد گردد، نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه می باشیم.

1. مقدمه:

اساس فارماکولوژیک استفاده درمانی از GnRH از خاصیت فیزیولوژیک آن در تحریک آزاد سازی LH و FSH از قسمت پیشین هیپوفیز ناشی می شود. قبل از آزاد سازی (سرژ) LH و FSH در مراحل قبلی تخمک اندازی، در گونه هائی که مطالعه روی آنها انجام شده است مقدار زیادی GnRH آزاد می شود. در حدود 30 سال است که مشخص گردیده که در گونه های حساس در فاصله 30 دقیقه پس از تزریق محلول GnRH که یک دکاپتید است، LH و FSH آزاد می گردد. علاوه بر این تعدادی آگونیست و آنتاگونیست این هورمون با عملکرد های متفاوتی مخصوصاً برای مصارف انسانی ساخته شده است (Kiesel et al. 2002). در دامپزشکی بیشترین مصرف این هورمون مربوط می شود به نوع طبیعی دکاپتید و همچنین بوسرلین، (نوعی نوناپتید صناعی ; Buserelin)، که بصورت محلول در آب عرضه می شوند. عملکرد و استفاده از نوع دیگری آنالوگ بنام دسلورلین (Deslorelin) در جای دیگری مورد بحث قرار خواهد گرفت (Trigg, 2000).

صد ها آزمایش در مورد باروری گونه های مختلف حیوانات با استفاده از GnRH صورت گرفته است که در شرایط مختلف آب و هوایی، سیستم های متفاوت تولید، وضعیت های مختلف تولید مثلی و غیره بوده است. این آزمایشات گاهی نیز با استفاده توام از هورمونهای دیگر بوده است لذا مشکل بنظر می آید که بتوان کارایی این هورمون را مشخص کرد. بهر حال در این مقاله سعی شده است که بطور کلی نتایج را به نحوی تفسیر کرده برای سؤالات بی پاسخ، بر اساس نتایج مطالعات اخیر، پیشنهاداتی در زمینه های زیر ارائه دهیم. این زمینه ها عبارتند از: جلوگیری از مرگ و میر جنین، درمانهای منتهی به هماهنگی در تخمک اندازی، القاء تخمک اندازی و بالاخره در زمینه COD.

بنا بر دلایلی، گاو، بیشترین توجه را در این زمینه به خود اختصاص داده است. گاو بزرگترین بازار بالقوه هورمون درمانی در دامپزشکی می باشد زیرا اولاً در کشورهای غربی از نظر اقتصادی مهمترین دام می باشد و لذا بیشترین تعداد مقالات علمی نیز به آن اختصاص دارد. همچنین، مزایای شفاف و روشن اقتصادی و تولیدی در کنترل چرخه تولید مثل گاو وجود دارد و از طرفی مسائل نسبتاً مشخص و تعریف شده در باروری گاو وجود دارد. و در آخر، شواهدی وجود دارد که در بعضی از کشورها نشان دهنده کاهش در راندمان تولید مثل در گاو شیری بوده که به دلیل انتخاب گاو شیری حول محور تولید حداکثری شیر می باشد (Royal et al 2000). بهر حال، در این میان تحقیقاتی نیز در گوسفند، اسب و خوک شده است که نتایج مشابهی در آنان نیز دیده شده است.

بمنظور ثبت دارو (در آمریکا) جهت استفاده درمانی از آن، بیشتر مؤسسات دولتی واضع قانون در این باره انتظار دارند که شرکت های ارائه دهنده دارو شرایطی را از نظر ایمنی دارو، کیفیت و عملکرد خوب آن در محصول نهائی خود تضمین کنند. محصول نهائی از این نظر اهمیت دارد که تغییرات جزئی در ساختار، دوز و یا حلال های (اکسیپیان) دارو می توانند سبب تغییرات شدید در فعالیت دارویی و نحوه عمل ماده اصلی بشود. بازدهی دارویی بطور معمول باید برای هر مورد ادعا شده به اثبات برسد. برای مثال اگر شرکتی می خواهد ادعا کند که تزریق دارویی در روز 12 پس از تلقیح سبب افزایش راندمان باروری می شود باید پرونده ای مطالعاتی دال بر شواهد علمی ارائه کند. در مقاله حاضر نویسنده بر موضوعاتی تمرکز کرده است که ادعا های اثبات شده ویژه بالینی وجود داشته و یا احتمالاً آینده روشنی برای آنها متصور است.

2. جلوگیری از مرگ و میر زودرس جنین

بطور تقریبی 25% جنین های گاو در سه هفته اول زندگی خود از بین می روند (برای مطالعه بیشتر به مقاله Peters, 1996 مراجعه شود). تولید مداوم پروژسترون توسط یک جسم زرد فعال و سالم در ابتدای آبستنی امری حیاتی است و از بین رفتن این جسم زرد بطور ناهنگام علت اصلی از میان رفتن جنین می باشد. استفاده از GnRH بعنوان پشتمانه آبستنی در روز تلقیح برای بهبود یافتن عملکرد گیرائی، بویژه در گاو های برگشتی، یکی از دلایل اصلی استفاده از این هورمون در طی 25 سال گذشته بوده است. دلایل علمی کاربرد GnRH، القاء تخمک اندازی در زمان مناسب نسبت به زمان تلقیح و سپس تحریک آن به لوتئینه شدن است که از آن طریق انتظار می رود بهبودی موفقیت آمیز در لقاح ایجاد شده و جنین زنده بماند. علی ایحال، بازدهی خوب آن همیشه مبهم بوده است زیرا کار روی گاوها بطور تک تکی فاقد توان آماری لازم برای بدست آوردن شواهد علمی بوده و بنابراین نتایج آن بسیار متغییر است.

در مروری که در مقالات علمی منتشر شده در مورد بازدهی عملکرد GnRH مورد استفاده در زمان فحلی شده است (Mee et al. (1990 و Stewenson (1990 گزارش کرده اند که، در 14000 مورد گاو مورد آزمایش، بهبودی بترتیب در حد 6 الی 7 درصد در تلقیح اول و همچنین، در گاو های برگشتی پیدا کرده اند (جدول شماره 1). گزارش این چنین بهبود هائی با این تعداد گاو در آزمایشات، نشان می دهد که چرا عملکرد این هورمون در تعداد کم گاو نتایج یکسانی به بار نمی آورد.

جدول شماره 1

اثرات تزریق GnRH در زمان تلقیح بر روی نرخ آبستنی گاو ها

نرخ آبستنی (%)				
تعداد گله ها	تعداد گاو ها	گاو های شاهد	گاوهای درمانی	درصد بهبود
اولین تلقیح	> 60	11048	53	59
تلقیحات بعدی	80	3608	42	49

داده ها از مقاله مروری که توسط Mee et al. (1990) و Stevenson et al. (1990) خلاصه گردیده است. به تفاوت درصد بهبود در گاو های درمان شده در ستون آخر توجه کنید.

لین و همکاران تعریف کنندگان اصلی کار برد تکنیک های مطالعاتی در مورد باروری گاو می باشند (Morgan and Lean, 1997, Beckett and Lean, 1997, Burton and Lean, 1993, and Lean). تحلیل راهبردی (Meta-analysis) اطلاعات بدست آمده را در خدمت مطالعات مربوط به تولید مثل گاو قرار می دهد زیرا نتایج گزارشات منتشر شده در مقالات معمولاً با یکدیگر به شدت مغایر بوده و دستورالعمل های ارائه شده در اینگونه مقالات که توسط گروه های تحقیقاتی مختلف آمده است بندرت با یکدیگر قابل مقایسه می باشند. بنابراین، اینگونه روش ها (مثل تحلیل های راهبردی) بما اجازه می دهد که اطلاعات مربوط به مطالعات مختلف را با یکدیگر جمع کرده، نتایج مغایر باهم را جدا و بقیه را در هم ادغام کرده تا دقت و قدرت کار زیاد گردد و در نهایت دلایل تضاد نتایج بدست آورده را مورد بررسی قرار دهیم (Morgan and Lean, 1993). نویسندگان فوق تحلیلی راهبردی در مورد 40 آزمایش مختلف را که بر روی 19019 گاو در 27 مقاله منتشر شده صورت گرفته بود انجام دادند. در این آزمایشات GnRH و یا نوعی آنالوگ آن در زمان تلقیح به گاو تزریق شده بود. تجزیه و تحلیل Mantel-Haenszel نشان داد که استفاده از GnRH و یا آنالوگ آن (بوسرلین) سبب افزایش آبستنی در تمامی گروه ها به میزان 12/5 درصد (جدول 2) شده بود. علی ایحال، این اثرات در گاو های برگشتی مکرر (Repeat breeder) بیشتر و در حد 22/5 درصد بوده است.

جدول شماره 2

احتمال نسبی (Relative risk; RR) آبستنی در گاوهای درمان شده با GnRH با روش های متفاوت (دادهای استخراج شده از مقاله Morgan and Lean, 1993)

نوع درمان	مقدار دارو	دفعات تلقیح	تعداد گاوها	نرخ نسبی آبستنی
آنالوگ GnRH	مختلف	اولین	862	1/080
GnRH	125 ≤ میکروگرم	اولین	3563	1/052
GnRH	250 ≥ میکروگرم	اولین	3994	1/110
GnRH و یا آنالوگ	مختلف	دومین	2443	1/099
GnRH و یا آنالوگ	مختلف	سومین یا بیشتر (گاوهای برگشتی)	5157	1/225

احتمال نسبی آبستنی (RR) یعنی ریسک آبستنی در گاو های درمان شده نسبت به همین احتمال در گاو های شاهد (RR برای گاوهای شاهد برابر با 1 است)

در یکی از آزمایشات ما که در آن GnRH در روز تلقیح به گاو های شیری تزریق شده بود (Drew and Peters, 1994) در مجموع به افزایشی معادل 6/1 درصد در نرخ آبستنی رسیدیم که معنی دار نبود. این یافته ها بسیار نزدیک به نتایجی است که Mee et al. (1990) به آن اشاره کرده بودند. همچنین رابطه ای معنی دار ولی منفی بین بهبود نسبی در نرخ آبستنی گاوهای آزمایشی در مقایسه با گاو های شاهد در همان گله دیده شد. به عبارت دیگر، هرچه سابقه تولید مثل گله بدتر بود میزان بهبود در بازدهی تولید مثل با استفاده از GnRH بیشتر نمایان می شد.

در روشی دیگر که ابتدا توسط مک میلان و همکاران (1986) در زلاند نو بکار رفته است به گاو ها GnRH و یا بوسرلین در بین روز های 1 یکم، سوم، چهارم و ششم، هفتم و دهم و یا یازدهم و سیزدهم پس از تلقیح تزریق شده بود. در این آزمایشات، فقط تزریقاتی که بین روز های یازدهم و سیزدهم انجام شده بود سبب بهبود معنی داری در نرخ آبستنی گردید. این روش درمانی در بسیاری از کشور ها تکرار شده و نمونه از یافته های مربوط به این آزمایشات در جدول شماره 3 نشان داده شده است. در انگلستان نتایج بدست آمده از دو آزمایش نشان دهنده بهبودی معادل 9/4 و 12 درصد بود (Sheldon and Dobson, 1993; Drew and Peters, 1994) در حالیکه در آزمایشات بزرگتری که در استرالیا و ایرلند انجام شد (Jubb et al., 1990; Ryan et al., 1994) تفاوتی مشاهده نگردید.

جدول شماره 3

انتخاب داده های منتشر شده در مورد اثرات آنالوگ های GnRH که در روز های 11 الی 13 بعد از تلقیح تزریق شده بود روی نرخ آبستنی گاو ها

نویسندگان	تعداد گاو	نرخ گیرائی (%)	درصد بهبود
		گاوهای شاهد	گاوهای درمانی
McMillan et al. (1986)	501	60/9	72/4
Jubb et al. (1990)	2050	54/8	54/6
Drost and Thatcher (1992)	ذکر نشده	37/2	33/3
Sheldon and Dobson (1993)	40	50/6	60/0
Drew and Peters (1994)	643	53/4	65/4
Ryan et al. (1994)	1106	62/3	60/6

به تفاوت درصد بهبود در گاو های درمان شده در ستون آخر توجه کنید.

با مشاهده این داده های مغایر باهم، ما مبادرت به تحلیلی راهبردی در باره مقالات منتشر شده در مودر کار برد GnRH و آنالوگ های آنان در روز های 11 الی 14 پس از تلقیح اول کردیم. نتایج 19 تحقیق جداگانه را که در 14 مقاله آمده بود مورد تجزیه و تحلیل قرار دادیم. میزان احتمال وقوع (Odds ratio) (احتمال نسبی آبستنی بین گروه های درمان شده و گروه شاهد) در هر آزمایش مقایسه شده و تفاوت معنی داری بین آزمایشات مختلف آشکار گردید که دامنه آن از صفر الی 22 درصد متغیر بود. رگرسیون لجستیک نشان داد که پاسخ به درمان با GnRH بستگی دارد به عواملی از جمله: نوع گاو (گوشتی یا شیری)، تعداد زایش (تلیسه و یا گاو کار)، بکارگیری یا عدم بکارگیری نوعی روش برای هماهنگی (هماهنگ شده و یا طبیعی)، روش تشخیص آبستنی (روش و زمان)، و همچنین اثرات خود هر مطالعه بطور انفرادی. زمانی که تمامی این متغیر ها در تجزیه و تحلیل گنجانده شدند، فقط 6 مقاله از 14 مقاله قابلیت تحلیل را دارا بودند که در آنها 2541 گاو از کل 10845 گاو قرار داشت. در این گروه آماری افزایش قابل ملاحظه ای در نرخ گیرائی در گاوهای درمان شده ملاحظه گردید (میزان احتمال وقوع برابر با 1/33 بود).

اگر چه چنین تحلیلی از داده های بدست آمده در گاو داری ها پشتوانه ای جهت استفاده روزمره و عملی از GnRH فراهم می کند لیکن، نوعی توجیه فارماکولوژیک-فیزیولوژیک و یا توجیهی در مورد مکانیزم عمل نیز لازم است تا اینکه بتوان ارزیابی و توجیه کامل و مطمئنی از کاربرد آن ارائه داد.

در مطالعات مذکور، مرحله ای که در آن از GnRH استفاده شده بود (روز های 11 الی 14 پس از تلقیح) اهمیت ویژه ای دارد زیرا این زمانی است که تشخیص آبستنی توسط مادر (Maternal recognition of pregnancy) اتفاق می افتد. در این زمان عامل انترفرون تائو که مخرب جسم زرد (Anti-luteolytic) است توسط جنین ترشح می شود (Thatcher et al., 1995). این مطلب مشخص گردیده که تزریق GnRH در گاو

های غیر حامله در میانه و اواخر عمر جسم زرد، سبب تحریک جسم زرد به ترشح پروژسترون می گردد (Foster et al., 1980; Thatcher et al., 1989). در حال حاضر این مطلب کاملاً مشخص شده است که گاوها دارای 2 و یا 3 موج فولیکولی در هر چرخه فحلی خود هستند (Webb et al., 1992). بسته به وضعیت فولیکولها در هر زمان، درمان با GnRH در طی مرحله لوتئال سبب تجزیه، لوتئینه شدن، و یا تخمک اندازی و سپس لوتئینه شدن می شود. جدای از تحریک ترشح پروژسترون، این تغییرات همچنین سبب کاهش در تولید استرادیول-17- بتا می گردد (Mann et al., 1995). این کاهش، سبب مهار تولید گیرنده های اوکسی توسین شده، در نتیجه از تولید و ترشح $PGF2\alpha$ نیز جلوگیری می شود (Mann and Picton, 1995). بنابراین، انتظار می رود که کاهش در ترشح استرادیول در این زمان سبب کاهش مکانیزم های مخرب جسم زرد شده و تعدادی از آبستنی ها خاتمه نیافته و ادامه پیدا کند. (Mann et al., 1995) چنین نتیجه گرفتند که GnRH سبب به تاخیر افتادن و یا تضعیف پیام های مخرب جسم زرد می شود، به این ترتیب زمان بیشتری به جنین داده می شود تا فعالیت های مخالف تخریب جسم زرد خود را افزایش دهد.

در گاو هائی که دارای سه موج فولیکولی می باشند، درمان با GnRH در روز های 11 و 14 با افزایش (پیک) دومین موج فولیکولی همزمان می شود (Webb et al., 1992) و بنا براین، در این زمان مقدار استرادیول نیز در خون زیاد است. بهر حال، غلظت استرادیول در گاو هائی که دارای دو موج فولیکولی می باشند در این زمان کمتر است. لذا جالب توجه است که تعیین شود که آیا تفاوتی در پاسخ به GnRH بین گاو های دو موجی و یا سه موجی وجود دارد؟ این برهان می تواند یکی از دلایل موجود برای نتایج مغایر در مطالعات ذکر شده باشد اگرچه، در حال حاضر این فقط یک فرضیه است. درمان با GnRH پس از تلقیح مخصوصاً در گاو هائی که دچار استرس گرمائی و شرایط بدنی ضعیف هستند مؤثر گزارش شده است (Kaim et al., 2003; Willard et al., 2003).

بطور خلاصه، داده ها نشان می دهد که درمان با GnRH پس از تلقیح مفید است اما وزن متغییر های محیطی و فیزیولوژیک که در پاسخ به درمان ها مؤثر هستند هنوز ارزیابی نشده اند.

از آنالوگ GnRH یا بوسرلین جهت بهبود باروری در گوسفند استفاده شده است. مک میلان و همکاران (1986) در زلاند نو بوسرلین را در روز های 10، 11، 12 و یا 13 پس از جفت گیری به میش های شکم اول تزریق کرده و بهبودی در آبستنی آنان مشاهده نمودند که مخصوصاً در گروه روز 12 مشخص بود. Beck et al., (1994) سعی کرد که همین کار را در شرایط ولش (انگلستان) تکرار کنند. آنان در سه گله از چهار گله، افزایش غیر معنی داری در عدم بازگشت به فحلی و همچنین بره زائی مشاهده کردند (1/51 در مقابل 1/77 بترتیب، برای گروه شاهد و گروه درمان با هورمون). علی ایحال، در گله چهارم افزایش معنی داری در نرخ دوقلو زائی مشاهده شد (20 مورد در مقابل 40 مورد بترتیب، برای گروه های شاهد و درمان). در تعداد بره ها با زاء زایش نیز افزایش دیده می شد (1/44 بره برای گروه شاهد و 1/68 بره برای گروه درمان). تعدادی از گوسفندان در روز 31 آبستنی کشتار شدند و تخمدانهای آنان نشان دهنده تخمک اندازی به تعداد بیشتر در میش های درمان شده بود که نشان دهنده افزایش تولید پروژسترون توسط جسم زرد های اضافی بوجود آمده در تخمدانهای این گروه است. در آزمایشی دیگر برای یافتن مکانیزم عملی، میش ها را در روز 12 پس از جفت گیری مورد تزریق بوسرلین قرار دادند و سپس مقدار پروژسترون و استرادیول را در پلاسما اندازه گیری کردند (Beck et al., 1996b). گوسفندان 48 ساعت پس از درمان ذبح شدند. شدت تخمک اندازی در گوسفندان درمان شده بیشتر بود (1/87 در گروه شاهد و 2/76 در گروه درمان). تعداد 41 جسم زرد مشاهده شده در گروه درمان (از 113 عدد کل در این گروه)، پس از درمان ایجاد شده بود در حالیکه در گروه شاهد 2 جسم زرد از 71 عدد تعداد کل مربوط بود به فاصله 48 طی شده پس از درمان. این آزمایش تصویری مشابه آنچه در گاو مشاهده شده است بما می دهد و به نظر می رسد که مکانیزم عمل در گاو و گوسفند مشابه است.

مرگ و میر زودرس جنین در مادیان نیز یکی از معضلات اساسی است (Ginther, 1992). اگرچه در مقایسه با نشخوار کنندگان، اطلاعات ما در مورد مکانیزم تخریب جسم زرد اندک است. با این حال علیرغم وجود اطلاعات

درست در مورد بازدهی و یا نیاز واقعی به درمان با GnRH، در بسیاری از مادیان ها از پروژسترون بطور روتین استفاده می شود (Allen, 2001). در سال 2001 نیوکامب با استفاده از 20 تا 40 میکروگرم بوسرلین بین روز های 8 الی 12 پس از تلقیح، نرخ آبستنی در 2346 مادیان در یک دوره 4 ساله را مورد ارزیابی قرار داد و نشان داد که تا روز 40 در حدود 10 درصد افزایش در نرخ آبستنی وجود داشت. اگرچه، Stout et al., (2002) گزارش کردند که تزریق 40 میکروگرم بوسرلین در روز 10 پس از تخمک اندازی تغییری در غلظت پروژسترون و پروستاگلندین در سرم مادیان های آبستن و غیر آبستن بوجود نیاورد و با این وسیله اساس و پایه فیزیولوژیک این نوع درمان را زیر سؤال برد. مقاله Newcomb et al., (2001) مشخصاً سبب ایجاد بحث هائی پیرامون این موضوع شده است و بنا براین ارزشیابی این درمان نیاز به شفاف سازی دارد بویژه اینکه تفاوت های ناشی از درمان باید تا آخر آبستنی حفظ شود.

پیترز و همکاران (2000a) مطالعه ای برای اثر 8 میکروگرم بوسرلین در باروری خوکهای که در فضای باز نگهداری می شدند انجام داد. در مجموع 1231 خوک در زایش ها مختلف از پنج دامداری بطور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند که در گروه اول در طی 24 ساعت اول پس از تلقیح، و در گروه دوم در روز های 11 الی 12 بوسرلین تزریق شده و گروه سوم بعنوان شاهد بود. نتایج در جدول شماره 4 آمده است. در این آزمایش در نرخ زایش و تعداد بچه های آنان تفاوتی مشاهده نشد. علی ایحال در گروه بوسرلین در تعداد بچه خوک هائی که پس از زایمان زنده ماندند افزایش معنی داری مشاهده گردید. این نتایج جالب و غیر منتظره بود و مشکل می شد تا آنها با نتایج قبلی تطبیق داد که در آن تعداد کل بچه خوک ها در گروه ها متفاوت نبود. تفاوت بین دو متغیر ناشی از این بود که نرخ مرگ و میر نوزادان در هنگام زایمان و یا پس از آن تحت تاثیر بوسرلین قرار داشت. بنابراین، مشخص شد که هیچ کدام یک از درمان ها اثرات آنی در بقای جنین ها نداشته است. لذا، بطور تجربی فرض شد که درمان با GnRH سبب بهبود در کیفیت و یا قابلیت زنده ماندن جنین ها (و متعاقب آن رویان ها) شده که از طریق بهبود هماهنگی بین تلقیح و تخمک اندازی (روز اول) و یا احتمالاً افزایش غلظت پروژسترون (در روزهای 11-12) بوده است. برای تایید این امر مطالعات بیشتری لازم است تا ثابت شود که این نیز از اثرات GnRH می باشد و نیز تعیین شود که آیا تزریق هورمون روی وزن جنین که به نوبه خود در قابلیت زنده ماندن رویان/ نوزاد، اثر بخش است نیز اثری دارد یا خیر.

جدول شماره 4

اثرات GnRH (بوسرلین) که در روز تلقیح و یا روز های 11 الی 12 بعد از تلقیح به خوک ها تزریق شده است (برداشت شده از مقاله Peters et al., 2000a, 2000b).

شاهد	GnRH در روز تلقیح	GnRH در روز 11 الی 12 بعد از تلقیح
تعداد خوک های ماده	453	340
تعداد دام زایمان کرده از اولین تلقیح	385	288
نرخ زایمان	85	84/7
تعداد بچه خوک های بدنیا آمده از هر زایمان	11/6	11/9
تعداد بچه خوک های زنده بدنیا آمده از هر زایمان	10/9	11/4

افزایشی معنی دار در تعداد بچه خوک های بدنیا آمده در هر دو گروه درمانی نسبت به گروه کنترل وجود داشت.

3. استفاده از GnRH در درمان هائی که در آن از پروستاگلندین برای هماهنگی استفاده می شود.

نحوه اثر پروستا گلندین ها (PGs) در کنترل تخمک اندازی به این صورت است که این هورمون سبب از تخریب زودرس جسم زرد شده و در نتیجه مقدار پروژسترون در گردش کاهش پیدا می کند (Cooper, 1976). با از بین

رفتن اثر فیدبک منفی بازدارنده پروژسترون روی هیپوتالاموس و هیپوفیز، کاهش این هورمون سبب می شود که زنجیره ای از تغییرات هورمونی و تخمدانی بوجود بیاید که در نتیجه آن فحلی و تخمک اندازی اتفاق افتد. استفاده از پروستاگلندین ابتداً این ذهنیت را بوجود آورد که می توان با هماهنگ کردن چرخه فحلی گروه هائی از دامها، آنان را در زمان ثابت تلقیح کرد که البته باروری طبیعی نیز مورد انتظار بود. به هر حال، این مطلب سریعاً مشخص شد که پاسخ به درمان بسیار متغیر تر از آنچه بود که انتظار می رفت. زمان توصیه شده برای تلقیح در دستورالعمل ها تجاری (Summaries of product characteristics; SPCs) یا "خلاصه خصوصیات دارو" معمولاً 72 ساعت و 90 الی 96 ساعت پس از تزریق پروستاگلندین ذکر شده است. اگرچه فرض شده است که نرخ باروری حاصل از یک تلقیح همانند دو تلقیح (در فاصله 72 و 96 ساعت) بوده است (Young and Henderson, 1981) ولی توصیه های شرکت های تولید دارو بر دو بار تلقیح متمرکز بود. در واقع رژیم دو بار تلقیح برای جبران کردن تفاوت در زمان تخمک اندازی بود تا اینکه نرخ آبستنی را در حد قابل قبولی افزایش دهند. از این گذشته مشخص شده بود که بعضی از گاو ها تا چند روز پس از تلقیح اجباری علائم فحلی نشان می دهند ولی، Ball در سال 1982 نشان داد که تلقیح پس از مشاهده شدن فحلی، متعاقب استفاده از پروستاگلندین، نتایج باروری بهتری از دو تلقیح اجباری (بدون دیده شدن علائم فحلی) بدست می دهد.

جکسون و همکاران (1979) آنچه را که ما امروزه در مورد الگوهای امواج فولیکولی میدانیم بصورتی قابل تحسین پیشگویی کرده و نشان داده بودند که قسمتی از تفاوت در زمانبندی فحلی مربوط می شود به "تفاوت در روزی از چرخه فحلی که در آن تزریق پروستا گلندین انجام می شود". گاوهای که در روز های 7 الی 8 و یا 15 الی 16 مورد تزریق قرار می گیرند جلوتر از گاوهای که در روز 12 الی 14 تزریق می شوند فحلی نشان می دهند. دو روز 7 و 8 مقارن است با حد اکثر رشد فولیکولها در گاوهای که دارای سه موج فولیکولی می باشند، که بیشتر شایع است (Webb et al., 1992). بنابراین، در گاوهای که در زمان تزریق پروستاگلندین دارای فولیکول های بزرگتری هستند، تخمک اندازی زودتر از آنها می گیرد که، دارای فولیکول های کوچکتر و توسعه نیافته تری می باشند.

اگر GnRH در طی مرحله لوتئال تزریق شود، بسته به وضعیت فولیکول ها، LH ترشح می گردد که سبب تخمک اندازی شده و یا اینکه سبب از بین رفتن فولیکول غالب می شود (Webb et al., 1992; Peters et al., 1999a). اگر پروستاگلندین را چند روز بعد تزریق کنیم، موج جدیدی از فولیکول ها بطور همزمان رشد خواهند کرد. این مکانیزم اساس استفاده از GnRH و 7 روز بعد پروستاگلندین، می باشد. علاوه براین، در گاوهای که در اواخر مرحله لوتئال می باشند، تزریق GnRH سبب تاخیر در تخریب جسم زرد شده (همانطوریکه گاوهای که در اوایل مرحله لوتئال هستند حساس می باشند) اینگونه گاوها نیز حساسیت خود به پروستاگلندین را از دست نمی دهند (MacMillan et al., 1985). در واقع، این مکانیزم ممکن است نحوه اصلی کارکرد GnRH در عملکرد برنامه هماهنگی باشد (Peters and Benbolaid, 1998; Peters et al., 1999b). تزریق دوم GnRH به فاصله 48 الی 60 ساعت پس از تزریق پروستاگلندین سبب جلو اندازی زمان سرژ LH شده و به این صورت سبب جلوانداختن زمان تخمک اندازی نیز می گردد. در سال 1980، Coulson et al. نشان داد که اگر GnRH 60 ساعت پس از پروستاگلندین تزریق شود، سرژ LH هماهنگ می شود اگرچه، آنان اطلاعاتی در مورد باروری ارائه ندادند.

پرسلی و همکاران (1995) احتمالاً اولین گروهی بودند که نشان دادند که در شرایط گاوداری های آمریکا مجموعه روش GnRH-PG-GnRH و بدنبال آن یک تلقیح اجباری سبب باروری با نرخ طبیعی شده است. این روش درمانی با نام های مختلف، اوسینک (Ovsynch)، بوسینک (Bovsynch)، و اینترسپت (Intercept) مشهور شدند که در هر مورد نام داروی تجاری مورد استفاده در آن گنجانده شده بود ولی اساساً اصول کار مشابه است.

پیترز و همکاران (1999a) نشان دادند که دومین تزریق GnRH (در مقایسه با گاو هائی که در آنها از رژیم GnRH-PG استفاده شده است) بطور فاحشی سبب جلو انداختن زمان تخمک اندازی شده و متعاقباً بطور متوسط سبب افزایش غلظت پروژسترون بمدت 24 ساعت در خون می شود. در مطالعات دیگری که توسط پیترز و همکاران (1999 b) انجام شده نشان داده شده است که اگر دومین تزریق GnRH را 56 ساعت بعد از تزریق پروستاگلندین انجام دهیم سبب می شود که تخمک اندازی بطور مؤثرتری هماهنگ شود. با استفاده میدانی از این روش، Mwhinny et al. در سال 1999 گزارش کردند که در گاوهای درمان شده نرخ آبستنی 44 درصد بوده در حالیکه در گاوهای شاهد این رقم 52 درصد گزارش شد لیکن، در گاوهای گروه درمان شده میانگین فاصله روزهای باز 15 روز کمتر از گروه شاهد بوده و تعداد گاوهای آبستن در روز 125 نیز 12 درصد افزایش نشان می داد.

در مورد این روش تعداد زیادی مقاله در آمریکا منتشر شده و بطور وسیعی از آن استفاده می شود، علی ایحال، استفاده از این روش در اروپا بطور وسیعی مورد قبول نبوده مهمترین دلایل آن، در میان سایر دلایل، هزینه زیاد و عملکرد ضعیف آن است. در بعضی از موارد، کاربرد عملی آن محدودیتی قانونی داشته که در آن استفاده توأم از داروها را ممنوع می کند مخصوصاً که دو داروی مورد استفاده تولید شده در دو شرکت مختلف باشند. علاوه بر این در دو دهه اخیر کشور های اروپائی تمایل دارند که تداخل داروئی در تکنیک های بکار رفته در دام کاهش یافته و دلیل دیگر اینکه مدیریت دام اجازه کاربرد آنرا نمی دهد.

بک و همکاران (1996 a) روشی با بکار گیری GnRH-PG جهت هماهنگی در گوسفندان فعال از نظر چرخه تولید مثلی (سیکلیک) با 5 روز فاصله زمانی بین تزریق دو هورمون بکار بردند و نشان دادند که نسبت به روش PG-PG (به فاصله 12 روز) نتایج مشابهی از نظر نرخ آبستنی بدست آمد. تنها مزیت این روش کاهش 7 روزه در زمان بود لیکن هزینه های نسبی آن باید ارزیابی شود.

4. الفاء تخمک اندازی پس از زایمان

بازگشت به چرخه تخمک اندازی تا زمان آبستنی مجدد مسیری کاملاً بحرانی می باشد و تفکر غالب علمی این است که باید چرخه های تخمدانی در اسرع وقت پس از زایمان شروع شود. (به مقاله Peters, 1984 مراجعه شود). اگرچه این مطلب اخیراً در زلاند نو برای شرایط گاوداری آنجا مورد بحث بوده است (Padula and MacMillan, 2002). مقالات مروری زیادی در مورد تداخل عوامل محیطی و هورمونی که سبب تأخیر در از سرگیری فعالیت تخمدانی می شوند به چاپ رسیده (مثلاً به مقاله Peters, 1986 and Lamming, 1990 مراجعه شود).

در طی سه دهه اخیر گروه های تحقیقاتی فراوانی دوزهای بالای این هورمون (100 الی 500 میکروگرم GnRH) و یا معادل آنالوگ های آنرا (10 الی 20 میکروگرم بوسرلین) جهت فعال کردن تخمدانهای گاوهای فعال از نظر تولید مثل استفاده کرده اند. بطور کلی عملکرد این روش در گاوهای شیری (Bulman and Lamming, 1982) بهتر از گاوهای گوشتی (Mwhinny et al., 1979; Peters, 1982) بوده است. در هر حال، Ball در 1982 مشاهده نمود که چنین درمانی در گاوهای شیری اثر چندانی در کاهش فاصله زایش تا باروری مجدد ندارد. در اوسط دهه 1990، Becket and Lean (1997) توانستند 24 گزارش مربوط به 12 مقاله را در مورد استفاده از یک دوز GnRH در گاوهای شیری پس از زایمان بیابند و تحلیلی راهبردی در این مورد انجام دهند. درمان فوق نتوانسته بود که بطور معنی داری در کاهش فاصله بین زایش و اولین فحلی، زایش و اولین تلقیح و همچنین احتمال نسبی آبستنی از اولین تلقیح اثر گزار باشد. بهر حال، آنان گزارش کردند که کاهش کمی معنی داری (2/75 روز) در تعداد روز های باز و همچنین در تعداد تلقیحات بازاء آبستنی (0/05 تلقیح) دیده شده اما، به دلیل اینکه داده های گروه های آزمایشی با یکدیگر همخوانی نداشتند، ارزش تجمیع داده ها را زیر سؤال بردند. با خارج کردن یک گروه از داده های غیر همخوان، بهبودی نسبی در آنان مشاهده شده و پس از تجزیه و تحلیل باقیمانده داده ها، کاهشی در فاصله زایش تا اولین فحلی بمدت 4/52 روز مشاهده گردید. بکت و لین (1997)، چنین نتیجه گرفتند که درمان فله ای تمامی گاوهای شیری در فاصله 40 روز پس از زایمان، ممکن است که باعث کاهش در فاصله زایش تا اولین فحلی بشود ولی اثر چندانی روی عملکرد تولید مثلی دامها ندارد.

استفاده از دوز های ≥ 100 میکروگرم از GnRH در این وضعیت ممکن است بعنوان دوز غیر فیزیولوژیک محسوب گردد چونکه سرژ گونادوتروپین قبل از تخمک اندازی طی 30 دقیقه پس از تزریق صورت می گیرد (Foster et al., 1980) که علیرغم وضعیت فولیکولار در آن لحظه است، در نتیجه بعضی از محققین از درمان های طولانی تر ولی با دوز های کمتر GnRH استفاده کرده اند تا اینکه ترشح نوسانی (Episodic) و فیزیولوژیک GnRH و گونادوتروپین ها برای رشد و بلوغ فولیکول های را تحریک کند.

در میانه سالهای 1980 پیترز و همکاران به تعداد زیادی آزمایش که جهت اندازه گیری پاسخ به تزریق تدریجی و مداوم (انفوزیون) دوز های کم GnRH، مثلاً 1-5 میکروگرم در ساعت برای دوره های 24-48 ساعته در گاوهای شیری و گوشتی و همچنین در تلیسه های نابالغ دست زدند (به مروری که توسط پیترز و لمینگ در 1990 انجام شده است مراجعه شود). همچنین تعداد زیادی از فرمولاسیون های فارماکولوژیک نیز مورد ارزیابی قرار گرفت (McLeod et al., 1988). اگرچه پاره ای موفقیت در مورد القاء تخمک اندازی حاصل شد ولی هیچ کدام از روش های درمانی نتایج تکرار پذیر و مؤثری در تعداد قابل قبولی از دامها بوجود نیاورد. این مطالعات قبل از آنی انجام شد که آزمایشات با استفاده از دستگاه اولتراسوند وقوع امواج منظم رشد فولیکولی را در دوران عدم فحلی پس از زایمان ظاهر کنند. به هر حال مشخص شده بود که وضعیت فولیکولار تخمدانها در شروع ممکن است تاثیراتی در مکانیزم درمان داشته باشد زیرا Jagger et al., 1987 نشان دادند که بیشترین پاسخ به LH در گاوهای دیده می شود که، قبل از درمان بیشترین مقدار استرادیول و کمترین مقدار FSH را داشته باشند.

دسترسی به اولتراسوند ریل تایم (Real-time ultrasound) برای تشخیص وضعیت و میزان فعالیت های فولیکولی در تخمدان در دوره پس از زایمان در دامداری ها این موقعیت را فراهم کرد که بتوان درمان های هدف داری در تولید مثل انجام داد. به هر حال، تعداد کمی از این مطالعات تاکنون گزارش شده است. در حقیقت تحقیق در باره استفاده درمانی از هورمونها برای القاء تخمک اندازی در دوره پس از زایمان در دهه اخیر دچار رکود شده است (به مقاله مروری که اخیراً توسط Walton and Yavas, 2000 نوشته شده است مراجعه شود) و تحقیقات بیشتر روی مسائل محیطی مانند مدیریت تغذیه ای و عفونت های دوره نفاسی متمرکز است که می توانند علل طولانی شدن دوره عدم فحلی پس از زایمان باشند.

تعداد زیادی تحقیق جهت معرفی رژیم های درمانی با استفاده از GnRH برای القاء تخمک اندازی خارج از فصل و یا پس از زایمان در گوسفند انجام شده، برای مثال به مقالات ذیل مراجعه شود (Wright et al., 1996, 1995; Fray et al., 1983; McLeod et al., 1984, 1983). بنظر می رسد که تزریق ساعتی و یا دوساعت یکبار دوز های "نانوگرمی" GnRH و در حقیقت تزریق وریدی دائمی (انفوزیون) در فاصله 48 ساعت تا 72 ساعت می تواند سبب القاء تخمک اندازی شود. در هر حال بنظر می رسد که انفوزیون دائمی نیاز به درمان قبلی با پروژسترون دارد تا از فعالیت طبیعی جسم زرد اطمینان حاصل شود. این تکنیک ها هزینه بالایی داشته و لذا بطور صنعتی قابل استفاده نمی باشد.

5. GnRH و کیست های تخمدانی (COD)

مقالات مربوط به استفاده از GnRH برای درمان COD به سالهای 1970 بر می گردد و بازدهی این روش ها در دستورالعمل های تجاری (SPCs) نوشته شده است. علی ایحال، بازدهی این نوع درمان در از بین بردن کیست ها و بازگشت به باروری طبیعی هنوز بخوبی مشخص نیست. از نظر نویسنده مشکل اصلی از عدم درک کافی ما از طبقه بندی علل و همچنین تشخیص کیست ها ناشی می شود. احتمالاً بهترین تحقیق مقایسه ای انجام شده در مورد خصوصیات مختلف موفولوژیکی کیست های تخمدانی در گاو متعلق به Al Dahash و David (a, 1977, b, 1977, c) می باشد. بنا بر تعریف، کیست فولیکولار یعنی "ساختاری شبیه به فولیکول با قطری بزرگتر از 25 میلی متر که حداقل برای 7 الی 10 روز روی تخمدان باقی بماند" این در حالی است که جسم زردی نیز وجود ندارد (Garverick, 1997). متأسفانه این تعریف هیچگونه نظری به علل و یا آسیب شناسی ساختار کیستی ندارد. کیست های لوتئال دارای دیواره های کلفت تری بوده که مقداری نیز لوتئینه شده اند. آنچه که مشخص نیست

اینست که آیا علل ایجاد کیست لوتئال از کیست فولیکولار متفاوت است و یا اینکه شکل دیگری از همان مسأله می باشد؛ مثلاً، علت آن ممکن است این باشد که فولیکول قبل از دژنراسیون، در یک مرحله پیشرفته تر از نظر رشد و توسعه قرار داشته است.

با ورود دستگاه اولتراسوند ریل تایم به بازار امکان تشخیص کیست های تخمدانی در سطح دامداری فراهم آمد. این احتمال وجود دارد که عوامل ژنتیکی با عوامل محیطی در رشد و توسعه کیست ها توأماً نقش داشته (Cole et al., 1986) و دیگر اینکه در گاوهای مستعد عوامل استرس زای محیطی و هورمونی با هم تعامل داشته و سبب کاهش مقدار GnRH و یا گونادوتروفین ها می گردند بطوریکه مانع تخمک اندازی می شوند (Nadaraja and Hansel, 1976). اگر این مطلب دست باشد لذا، درمان با GnRH بنظر منطقی می آید.

بطور خلاصه بنظر می رسد که درمان با GnRH راه مؤثری برای تحریک فعالیت تخمک اندازی یک فولیکول و یا بوجود آمدن جسم زرد از فولیکولی دیگر می باشد همچنانکه در گاوهای غیر کیستی نیز این کار را انجام می دهد (Kesler et al., 1981; Nada et al., 1989; Hooijer et al., 2001). اثر دیگر اینکه کیست های فولیکولار ممکن است با استفاده از GnRH لوتئینه گردیده لیکن تحلیل نروند (Kesler et al., 1985; Brown et al., 1982; Jeffcoate and ayliffe, 1985). همینطور نرخ باروری در گاوهای کیستی در مقایسه با گاوهای طبیعی بشدت تحت تاثیر قرار می گیرند (Tebble et al., 2001) و در گاوهای شاهد، تزریق محمل (Placebo) بدون هورمون، سبب بهبود نرخ باروری نشده بود (Ax et al., 1986; Jou et al., 1999). در سال 2001، Cairioli et al. نشان داد که پاسخ به درمان با GnRH زمانی که مقدار پروژسترون در خون کمتر است نتایج بهتری می دهد و بالعکس.

مشکل است که نتایج مطالعات انجام شده در مورد بازدهی اثرات GnRH در نابودی کیست های تخمدانی را بطور خلاصه بیان کرد زیرا، پروتکل های بکار رفته دارای تفاوت های زیادی با یکدیگر می باشند و دلیل آن اینست که تشخیص و زمان بندی و پائانی درمان ها متفاوت می باشند. در نتیجه، این زمینه برای تحقیق در مورد راهکارهای اپیدمیولوژیک و تحلیل های راهبردی گشوده است. علی ایحال، چنین بنظر می رسد که عملکرد GnRH در ارتباط با بازسازی طبیعی باروری محدود است. بنابراین، اگر این سندرم قرار باشد به مداوا پاسخ دهد، به درمانهای مؤثر تری نیاز احساس می شود.

6. نتیجه گیری

در این مقاله بازدهی درمان با GnRH در ارتباط با مرگ و میر زود رس جنین، مهار رشد فولیکول ها در برنامه های همهمنگی که در آن از پروستاگلندین بعنوان عامل مخرب جسم زرد استفاده شده است، القاء تخمک اندازی در گاوهای دچار عدم فحلی پس از زایمان و در گاوهایی که دچار کیست های تخمدانی (COD) می باشند مرور گردید.

- با توجه به تحلیل های راهبردی متعدد دلایل کافی وجود دارد که بویژه در گاو نشان دهنده تاثیر GnRH در افزایش نرخ آبستنی می باشد مخصوصاً اگر در روز تلقیح (بار اول و یا تلقیحات بعدی) و یا در روز های 11 و 14 پس از تلقیح تزریق شود. شواهد مثبتی نیز در مورد درمان مادیان، گوسفند و خوک وجود دارد.
- استفاده از رژیم GnRH-PG-GnRH ظاهراً در افزایش همهمنگی تخمک اندازی در برنامه های مهار شده تولید مثلی مؤثر است. در عین حال، اثر اصلی همهمنگ کننده تخمک اندازی، تزریق GnRH دوم است در حالیکه اهمیت اولین GnRH در طولانی کردن مرحله لوتئال در گاو هائی بوده که در اواخر این مرحله درمان شده اند.
- تزریق یکجا، نوسانی، انفوزیون تدریجی و فرمولاسیون های مهار شده در آزاد سازی GnRH، هیچ کدام در تعداد زیادی گاو بطور یکسان و قابل قبولی در القاء تخمک اندازی بارور مؤثر نبوده اند. بنظر می رسد که این مطلب به دلیل تفاوت در وضعیت فولیکولار در زمان شروع درمان باشد.

- استفاده از GnRH درمان انتخابی برای از بین بردن کیست های تخمدانی (COD) می باشد. در عین حال، اگرچه GnRH سبب تحریک فولیکول به تخمک اندازی و یا لوتئینه شدن فولیکول جدید و یا لوتئینه شدن کیست می شود، نرخ باروری گاو های درمان شده هنوز بسیار پائین و ضعیف بوده و راههای بهتری مورد نیاز است.

References

1. Al-Dahash, S.Y.A., David, J.S.E., 1977a. The incidence of ovarian activity, pregnancy and bovine genital abnormalities shown by an abattoir survey. *Vet. Rec.* 101, 296–299.
2. Al-Dahash, S.Y.A., David, J.S.E., 1977b. Anatomic features of cystic ovaries in cattle during an abattoir survey. *Vet. Rec.* 101, 320–324.
3. Al-Dahash, S.Y.A., David, J.S.E., 1977c. Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries. *Vet. Rec.* 101, 342–347.
4. Allen, W.R., 2001. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. *Reprod. Dom. Anim.* 36, 121–131.
5. Ax, R.L., Bellin, M.E., Schneider, D.K., Haase-Hardie, J.A., 1986. Reproductive performance of dairy cows with cystic ovaries following administration of procystin. *J. Dairy Sci.* 69, 542–545.
6. Ball, P.J.H., 1982. Milk progesterone profiles in relation to dairy herd fertility. *Br. Vet. J.* 138, 546–551.
7. Beck, N.F.G., Peters, A.R., Williams, S.P., 1994. The effect of GnRH agonist (buserelin) treatment on day 12 post mating on the reproductive performance of ewes. *Anim. Prod.* 58, 243–247.
8. Beck, N.F.G., Jones, M., Davies, B., Peters, A.R., Williams, S.P., 1996a. Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a GnRH agonist (buserelin). *Anim. Sci.* 62, 85–87.
9. Beck, N.F.G., Jones, M., Davies, B., Mann, G.E., Peters, A.R., 1996b. The effect of GnRH analogue (buserelin) treatment on day 12 postmating on ovarian structures and plasma progesterone and oestradiol concentration in ewes. *Anim. Sci.* 63, 407–412.
10. Beckett, S.D., Lean, I.J., 1997. Gonadotrophin-releasing hormone in postpartum dairy cattle: a meta-analysis of effects on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.* 48, 93–112.
11. Brown, E.M., Elmore, R.G., Garverick, H.A., 1982. Gonadotropin releasing hormone treatment of dairy cows with ovarian cysts. II. Histology of ovarian cyst walls. *Theriogenology* 17, 689–696.
12. Bulman, D.C., Lamming, G.E., 1978. Milk progesterone profiles in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 54, 447–458.
13. Burton, N.R., Lean, I.J., 1995. Investigation by meta-analysis of the effect of prostaglandin F2_α administered post partum on the reproductive performance of dairy cattle. *Vet. Rec.* 136, 90–94.
14. Cairioli, F., Vigo, D., Battocchio, M., Faustini, M., Veronesi, M.C., Maffeo, G., 2002. 17 β -estradiol, progesterone and testosterone concentrations in cystic fluids and response to GnRH treatment after emptying of ovarian cysts in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 37, 294–298.
15. Cole, W.J., Bierschwal, C.J., Youngquist, R.S., Braun, W.F., 1986. Cystic ovarian disease in a herd of Holstein cows: a hereditary correlation. *Theriogenology* 25, 813–820.
16. Cooper, M.J., 1974. Control of oestrous cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. *Vet. Rec.* 95, 200–203.
17. Coulson, A., Noakes, D.E., Hamer, J., Cockrill, T., 1980. Effect of gonadotrophin releasing hormone on levels of luteinising hormone in cattle synchronized with dinoprost. *Vet. Rec.* 107, 108–109.

18. Drew, S.B., Peters, A.R., 1994. Effect of buserelin on pregnancy rates in dairy cows. *Vet. Rec.* 134, 267–269.
19. Drost, M., Thatcher, W.W., 1992. Application of gonadotropin releasing hormone as therapeutic agent in animal reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 28, 11–19.
20. Foster, J.P., Lamming, G.E., Peters, A.R., 1980. Short term relationships between LH, FSH and progesterone in post-partum dairy cows and the effect of GnRH injection. *J. Reprod. Fert.* 59, 321–327.
21. Fray, M.D., Lamming, G.E., Haresign, W., 1995. Induction of ovulation in the acyclic postpartum ewe following continuous low-dose subcutaneous infusion of GnRH. *Theriogenology* 43, 1019–1030.
22. Fray, M.D., Lamming, G.E., Haresign, W., 1996. Interbreed variation in the postpartum ewe response to continuous low-dose infusion of GnRH. *Theriogenology* 45, 1047–1064.
23. Garverick, H.A., 1997. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 995–1004.
24. Ginther, O.J., 1992. *Reproductive Biology of the Mare*, second ed. Equiservices, Wisconsin.
25. Hooijer, G.A., Oijen, M.A.A.J., van Frankena, K., Valks, M.M.H., 2001. Fertility parameters of dairy cows with cystic ovarian disease after treatment with gonadotrophin-releasing hormone. *Vet. Rec.* 149, 383–386.
26. Jackson, P.S., Johnson, C.T., Furr, B.J., Beattie, J.F., 1979. Influence of stage of oestrous cycle on time of oestrus following cloprostenol treatment in the bovine. *Theriogenology* 12, 153–167.
27. Jagger, J.P., Peters, A.R., Lamming, G.E., 1987. Hormone responses to low-dose GnRH treatment in post-partum beef cows. *J. Reprod. Fert.* 80, 263–269.
28. Jeffcoate, I.A., Ayliffe, T.R., 1995. An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment. *Vet. Rec.* 136, 406–410.
29. Jou, P., Buckrell, B.C., Liptrap, R.M., Summerlee, A.J.S., Johnson, W.H., 1999. Evaluation of the effect of GnRH on follicular ovarian cysts in dairy cows using trans-rectal ultrasonography. *Theriogenology* 52, 923–937.
30. Jubb, T.F., Abhayaratne, D., Malmo, J., Anderson, G.A., 1990. Failure of an intramuscular injection of an analogue of GnRH 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rates in dairy cattle. *Aust. Vet. J.* 67, 359–361.
31. Kaim, M., Bloch, A., Wolfenson, D., Braw-Tal, R., Rosenberg, M., Voet, H., Folman, Y., 2003. Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses, and conception. *J. Dairy Sci.* 86, 2012–2021.
32. Kesler, D.J., Elmore, R.G., Brown, E.M., Garverick, H.A., 1981. Gonadotropin releasing hormone treatment of dairy cows with ovarian cysts. I. Gross ovarian morphology and endocrinology. *Theriogenology* 16, 207–217.
33. Kiesel, L.A., Rody, A., Greb, R.R., Szilagyi, A., 2002. Clinical uses of GnRH analogues. *Clin. Endocr.* 56, 677–687.
34. MacMillan, K.L., Day, A.M., Taufa, V.K., Gibb, M., Pearce, M.G., 1985. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. I. Hormone concentrations and oestrous cycle length. *Anim. Reprod. Sci.* 8, 203–212.
35. MacMillan, K.L., Taufa, V.K., Day, A.M., 1986. Effects of an agonist of GnRH (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 11, 1–10.

36. McMillan, W.H., Knight, T.W., MacMillan, K.L., 1986. Effects of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) on sheep fertility. *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.* 46, 161–163.
37. McLeod, B.J., Haresign, W., Lamming, G.E., 1983. Induction of ovulation in seasonally anoestrous ewes by continuous infusion of low doses of GnRH. *J. Reprod. Fert.* 68, 489–495.
38. McLeod, B.J., Haresign, W., Peters, A.R., Humke, R., Lamming, G.E., 1988. The development of subcutaneous delivery preparations of GnRH for the induction of ovulation in acyclic sheep and cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 17, 33–50.
39. Mann, G.E., Lamming, G.E., Fray, M.D., 1995. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim. Reprod. Sci.* 37, 121–131.
40. Mann, G.E., Picton, H.M., 1995. Ovarian and uterine effects of a single buserelin injection on Day 12 of the oestrous cycle in the cow. *J. Reprod. Fert. Abstract series no. 15*, 61.
41. Mawhinney, I., Biggadyke, H., Drew, B., 1999. Field trial of a planned breeding regiment for dairy cows, using gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin F2_α. *Vet. Rec.* 145, 551–554.
42. Mawhinney, S., Roche, J.F., Gosling, J.P., 1979. The effects of oestradiol benzoate (OB) and gonadotrophin releasing hormone (GnRH) on reproductive activity in beef cows at different intervals postpartum. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 19, 1575–1587.
43. Mee, M.O., Stevenson, J.S., Scoby, R.K., Folman, Y., 1990. Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *J. Dairy Sci.* 73, 1500–1507.
44. Morgan, W.F., Lean, I.J., 1993. Gonadotrophin releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. *Aust. Vet. J.* 70, 205–209.
45. Nanda, A.S., Ward, W.R., Williams, P.C.W., Dobson, H., 1989. Retrospective analysis of the efficacy of different hormone treatments of cystic ovarian disease in cattle. *Vet. Rec.* 122, 155–158.
46. Newcombe, J.R., Martinez, T.A., Peters, A.R., 2001. The effect of gonadotropin-releasing hormone analog buserelin, on pregnancy rates in horse and pony mares. *Theriogenology* 55, 1619–1631.
47. Padula, A.M., MacMillan, K.L., 2002. Reproductive responses of early postpartum dairy cattle to continuous treatment with a GnRH agonist (deslorelin) for 28 days to delay the resumption of ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 70, 23–36.
48. Peters, A.R., 1982. Calving intervals of beef cows treated with either GnRH or a progesterone releasing intravaginal device. *Vet. Rec.* 110, 515–517.
49. Peters, A.R., 1984. Reproductive activity of the cow in the post-partum period I. Factors affecting the length of the post-partum acyclic period. *Br. Vet. J.* 140, 76–84.
50. Peters, A.R., 1996. Embryo mortality in the cow. *Anim. Breeding Abstracts* 64, 587–598.
51. Peters, A.R., Lamming, G.E., 1986. Regulation of ovarian function in the post partum cow: an endocrine model. *Vet. Rec.* 118, 236–239.
52. Peters, A.R., Lamming, G.E., 1990. Lactational anoestrus in farm animals. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 12, 245–288.

53. Peters, A.R., Benboulaid, M., 1998. Studies on the timing of ovulation after synchronization treatments in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 33, 313–315.
54. Peters, A.R., Ward, S.J., Warren, M.J., Gordon, P.J., Mann, G.E., Webb, R., 1999a. Ovarian and hormonal responses of cows to treatment with an analogue of gonadotrophin releasing hormone and prostaglandin F2_α. *Vet. Rec.* 144, 343–346.
55. Peters, A.R., Mawhinney, I., Drew, S.B., Ward, S.J., Warren, M.J., Gordon, P.J., 1999b. Development of a gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Vet. Rec.* 145, 516–521.
56. Peters, A.R., Dwyer, L., Canham, P.A., Mackinnon, J.D., 2000a. Effect of gonadotrophin-releasing hormone on the fertility of sows kept outdoors. *Vet. Rec.* 147, 649–652.
57. Peters, A.R., Martinez, T.A., Cook, A.J.C., 2000b. A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11–14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 54, 1317–1326.
58. Pursley, J.R., Mee, M.O., Wiltbank, M.C., 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2_α and GnRH. *Theriogenology* 44, 915–923.
59. Royal, M.D., Darwash, A.O., Flint, A.P.F., Webb, R., Wooliams, J.A., Lamming, G.E., 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.* 70, 487–501.
60. Ryan, D.P., Snijders, S., Condon, T., Grealy, M., Sreenan, J., O’Farrell, K.J., 1994. Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotrophin releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle postinsemination. *Anim. Reprod. Sci.* 34, 179–191.
61. Sheldon, I.M., Dobson, H., 1993. Effects of GnRH administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. *Vet. Rec.* 133, 160–163.
62. Stevenson, J.S., Call, E.P., Scoby, R.K., Phatak, A.P., 1990. Double insemination and gonadotropin releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73, 1766–1772.
63. Stout, T.A.E., Tremoleda, J.L., Knaap, J., Daels, P., Kindahl, H., Colenbrander, B., 2002. Mid-diestrous GnRH analogue administration does not suppress the luteolytic mechanism in mares. *Theriogenology* 58, 567–570.
64. Tebble, J.E., O’Donnell, M.J., Dobson, H., 2001. Ultrasound diagnosis and treatment outcome of cystic ovaries in cattle. *Vet. Rec.* 148, 411–413.
65. Thatcher, W.W., MacMillan, K.L., Hansen, P.J., Drost, M., 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31, 149–164.
66. Thatcher, W.W., Meyer, M.D., Danet-Desnoyers, G., 1995. *J. Reprod. Fert. Supplement* 49, 15–28.
67. Trigg, T., 2004. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim. Reprod. Sci.*, this volume.
68. Webb, R., Gong, J.G., Law, A.S., Rusbridge, S.M., 1992. Control of ovarian function in cattle. *J. Reprod. Fert. Supplement* 45, 141–156.
69. Willard, S., Gandy, S., Bowers, S., Graves, K., Elias, A., Whisnant, C., 2003. The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 59, 1799–1810.

70. Wright, P.J., Geytenbeek, P.E., Clarke, I.J., Findlay, J.K., 1983. LH release and luteal function in post-partum acyclic ewes after the pulsatile administration of LH-RH. *J. Reprod. Fert.* 67, 257–262.
71. Wright, P.J., Geytenbeek, P.E., Clarke, I.J., Findlay, J.K., 1984. Induction of plasma LH surges and normal luteal function in acyclic post-partum ewes by the pulsatile administration of LH-RH. *J. Reprod. Fert.* 71, 1–6.
72. Yavas, Y., Walton, J.S., 2000. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology* 54, 1–23.
73. Young, I.M., Henderson, D.C., 1981. Evaluation of single and double artificial insemination regimes as methods of shortening calving intervals in dairy cows treated with dinoprost. *Vet. Rec.* 109, 446–449.