

Praca oryginalna

Original paper

Współzależność między losem dojrzałych pęcherzyków jajnikowych a profilem hormonalnym i poziomem IGF-I u klaczy

RYSZARD BOBOWIEC, WITOLD KĘDZIERSKI*, FRANCO MARTELLI**,
URSZULA KOSIOR-KORZECKA

Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, *Katedra Biochemii i Fizjologii
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,
**Dipartimento di Anatomia, Biochimica e Fisiologia Veterinaria Università degli Studi di Pisa,
Viale delle Piagge, 2 – 56124 Pisa, Italia

Bobowiec R., Kędziński W., Martelli F., Kosior-Korzecka U.

Relationship between hormonal status, IGF-I level and fate of mature follicles in mares

Summary

The study was conducted to evaluate changes in circulating concentrations of LH, steroid hormones and IGF-I in mares with different fates of dominant follicles. Sixteen Arabian mares were assigned to one of three groups designated as: exhibiting estrus with ovulation and pregnant, exhibiting estrus and ovulation but not pregnant and exhibiting estrus without ovulation. Mares were teased daily for detection of estrus behavior and their ovaries were scanned ultrasonographically per rectum every day throughout the study. Upon detection of an ovarian follicle over 33 mm in diameter each mare was injected i.m. with 3000 I.U. of Chorulon. Blood was collected via jugular venipuncture on day 12 of the estrus cycle followed by daily sampling beginning at the onset of behavioral estrus (or upon detection of a follicle at least 30 mm in diameter) and continuing until 5 days after ovulation. Plasma was removed and frozen until assayed for concentrations LH, E_2 , P_4 , testosterone and IGF-I. Circulating levels of LH, IGF-I and E_2 successively increased before ovulation, although the values of those hormones were higher in the group of impregnated mares. Contrary results in relation to the level of LH and IGF-I were seen in mares which contained unovulated follicles. In this group of mares the level of E_2 was low and gradually increased especially after the expected time of ovulation. In the group of non-ovulating mares the most pronounced changes have been revealed in respect to the level of testosterone (T). The level of this hormone abruptly increased one day before ovulation and the ratio of E_2 : T was lowest in this group of mares. It is suggested that the significant decrease of LH and IGF-I, an increase of T together with a drop of the ratio of E_2 to T play essential role in the disturbance of ovulation and fertilization in mares.

Keywords: mares, dominant follicles, LH, IGF-I

W cyklu rujowym klaczy folikulogeneza kończąca się owulacją i skutecznym zapłodnieniem jest procesem o niespotykanym u innych gatunków stopniu komplikacji (3, 11, 12, 15, 19, 23, 28, 29). Ilustracją złożoności tego procesu jest niewielka (10%), w porównaniu z innymi gatunkami (90%), przeżywalność oocytów klaczy w warunkach *in vitro* (13). Niezrównoważenie na poziomie regulacji endokrynnej (zmiany przysadkowych gonadotropin i sterydów jajnikowych) (22), parakrynnej (odchylenia w wytwarzaniu insulinopodobnego czynnika wzrostu [IGF-1], tlenku azotu [NO], peptydu spokrewnionego z parathormonem [PTHrP]) (5) i autokrynnej (bloki w sygnalizacji hormonalnej i czynnikach transkrypcyjnych) powoduje dysfunkcje jajnika (25). Wyjątkowo długi okres rui (6 dni) i przed-

łużona owulacja sprzyjają u klaczy rozwojowi nieowulacyjnych pęcherzyków (20). Hormonalnym podłożem tej specyfiki jest, w fazie pęcherzykowej, długotrwały wyrzut FSH (21), a następnie długie wydzielanie LH (czasami w zbyt małej ilości), bez typowego szczytu przedowulacyjnego (9). Koniecznym zaś warunkiem uruchomienia sekwencji zjawisk prowadzących do owulacji u klaczy jest utrzymujący się co najmniej przez 8 godzin, wysoki poziom LH we krwi (8, 10). W przeciwnym wypadku nie dochodzi do pęknięcia pęcherzyków. Próby korygowania utrudnionej owulacji pozornie prostym sposobem, jakim jest podawanie preparatów o działaniu zbliżonym do LH, są mało skuteczne, z powodu szybkiej odpowiedzi immunizacyjnej (20). Ze względu na często notowane przypadki

przetrwających pęcherzyków nieowulacyjnych (18), spotykanych zwłaszcza w okresie zmieniających się pór roku (14, 30) i niejasną ich patogenezę postanowiono określić profil hormonalny u aktywnych estralnie klaczy z zaburzeniami procesu zapłodnienia.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 16 klaczach rasy arabskiej, w wieku 4-16 lat w okresie między 10.03.-3.04.2003 r. Klacze przez okres doświadczenia pozostawały w boksach. Aktywność jajnika kontrolowano ultrasonograficznie i przez próbę z ogierem. Gdy wielkość pęcherzyka osiągała średnicę 3,30 cm, podawano Chorulon w dawce 3000 I.U. (gonadotropina kosmówkowa (hCG), otrzymywana z moczu ciężarnych kobiet). Pierwszy dzień rui przyjmowano jako początek nowego cyklu. Następnego dnia po kryciu ultrasonograficznie badano stan jajnika i zmiany w macicy. Na podstawie losu dominującego pęcherzyka klacze podzielono na 3 grupy: 1. wykazujące ruję, owulujące i zażrebione ($n = 4$), 2. wykazujące ruję, owulujące i nie zażrebione ($n = 5$), 3. wykazujące ruję nie owulujące ($n = 6$).

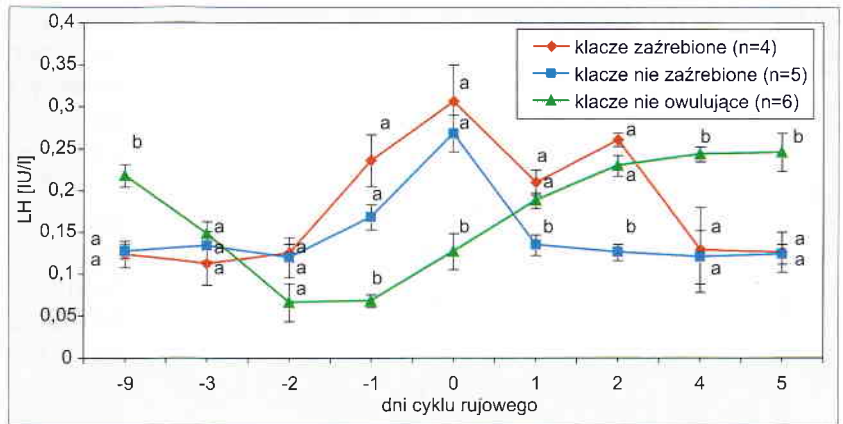
Próbki krwi pobierano od wszystkich klaczy począwszy od 12. dnia cyklu w następującym chronologicznym układzie: pierwsze pobranie wykonano 12. dnia cyklu, a następne w odstępach 24 godz., rozpoczynając od pierwszego dnia rui (pierwszy dzień cyklu) i kończąc w 5. dniu po rui. Uzyskane po odwirowaniu heparynizowane osocze przechowywano do oznaczeń hormonów i IGF-I w temperaturze -21°C .

LH oznaczano metodą immunoradiometryczną (LH IRMA (^{125}I), Orion Diagnostica, Finlandia), natomiast IGF-I metodą radioimmunologiczną (IGF-I-D-RIA-CT, Biosource, Belgia). Stężenie hormonów sterydowych (estradiol, testosteron i progesteron) analizowano metodą HPLC z detekcją UV (220 nm). Rozdziału dokonywano w układzie faz odwróconych (kolumna RP C18, 250×4 mm, $5\mu\text{m}$, LiChrospher 100, Merck, Niemcy), stosując 0,25% kwas ortofosforowy i acetonitryl jako fazę ruchomą (16, 17).

Analizę statystyczną wyników otrzymanych w poszczególnych grupach przeprowadzono, posługując się programem ANOVA. Poziom istotności oznaczono testem t-Studenta.

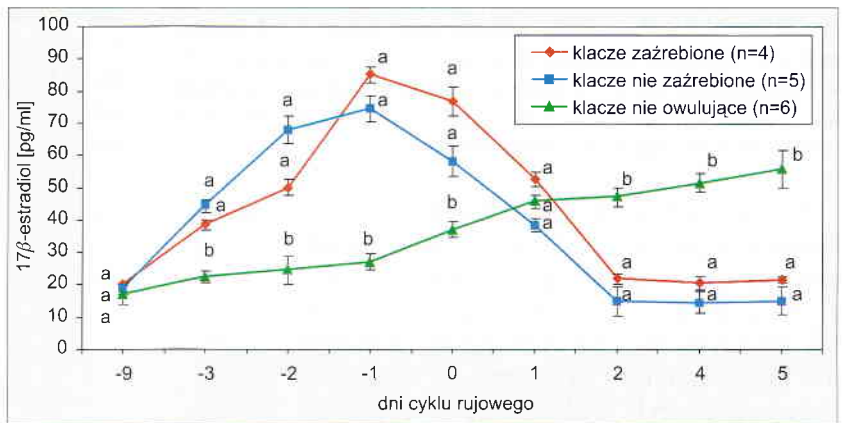
Wyniki i omówienie

Poziom LH. Wahania poziomu LH w poszczególnych grupach klaczy przedstawia ryc. 1. Przebieg krzywej poziomu LH u klaczy nie owulujących jest odmienny od krzywych wykreślonych dla dwóch pozostałych grup. Narastanie stężenia LH przed owulacją obserwowano u klaczy owulujących, natomiast u klaczy nie owulujących poziom LH obniżał się w miarę



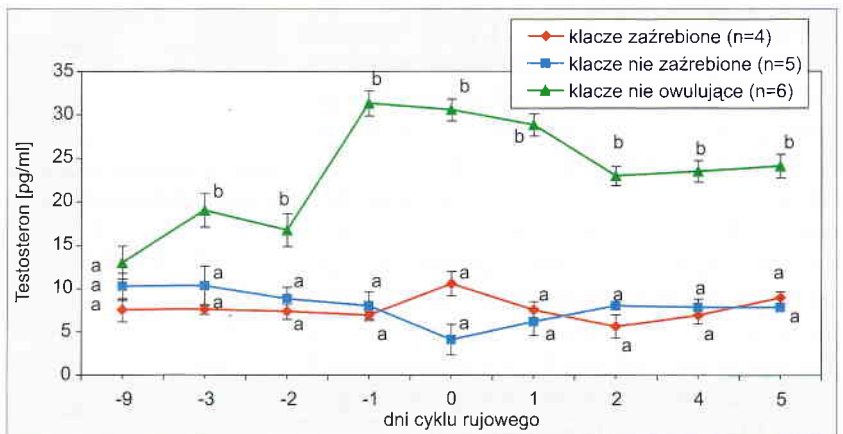
Ryc. 1. Stężenie LH (\pm SD) w poszczególnych grupach klaczy przed i po spodziewanej owulacji

Objaśnienie: a, b – wartości otrzymane w tym samym czasie i oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($p \leq 0,05$)



Ryc. 2. Stężenie 17β -estradliolu (\pm SD) w poszczególnych grupach klaczy przed i po spodziewanej owulacji

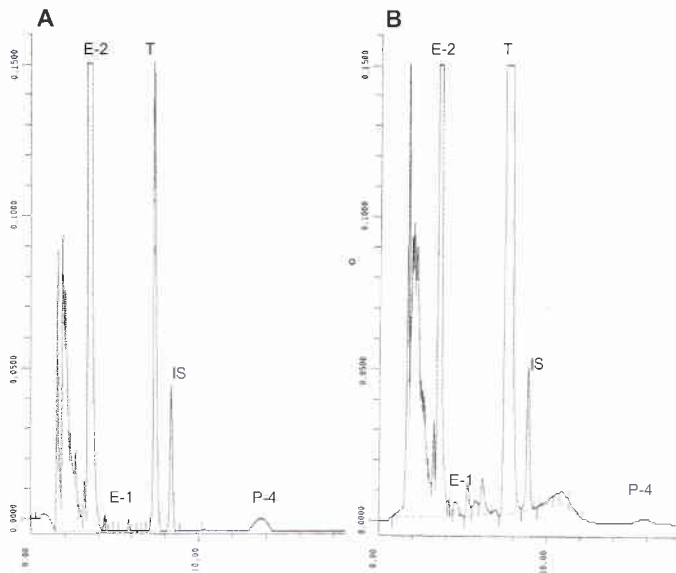
Objaśnienie: jak dla ryc. 1.



Ryc. 3. Stężenie testosteronu (\pm SD) w poszczególnych grupach klaczy przed i po spodziewanej owulacji

Objaśnienie: jak dla ryc. 1.

zbliżającego się okresu owulacji. W tej ostatniej grupie poziom LH podnosi się stopniowo na dzień przed owulacją i utrzymuje się na wysokim poziomie w okresie diestralnym. W grupie klaczy owulujących, ale nie zażrebionych w okresie pierwszych dwóch dni po owulacji wykazano istotnie ($p < 0,05$) niższe stężenia LH, niż w grupie owulującej.



Ryc. 4. Rozdzielanie chromatograficzne reprodukcyjnych hormonów sterydowych w osoczu krwi klaczy: A – zażrebionej; B – nie owulującej około 24 godz. przed spodziewaną owulacją; E-2 – 17β -estradiol; E-1 – estron; T – testosteron; IS – standard wewnętrzny; P-4 – progesteron

17β -estradiol (E_2). Kształt krzywych obrazujący zmiany stężenia E_2 u klaczy owulujących jest zbliżony (ryc. 2), przy czym wartości E_2 u klaczy, które zażrebiły się były wyższe (do 80 pg/ml przed owulacją) niż u klaczy nie zażrebionych (70 pg/ml). W badanym okresie poziom E_2 u klaczy nie owulujących był istotnie niższy (25 pg/ml) i stopniowo wzrastał.

Testosteron (T). Przez cały okres badawczy w grupie klaczy nie owulujących osoczowe stężenia T (ryc. 3) były wysokie i istotnie ($p < 0,05$) różniły się w porównaniu z wartościami stężeń notowanych w pozostałych dwóch grupach. U klaczy nie owulujących okres około owulacyjny wiązał się z najwyższymi stężeniami tego hormonu. Klacze owulujące miały niski i względnie stały poziom T. Jedynie w okresie okołoowulacyjnym notowano nieznamienne ($p > 0,05$) przesunięcia w poziomie T u klaczy zażrebionych i nie zażrebionych.

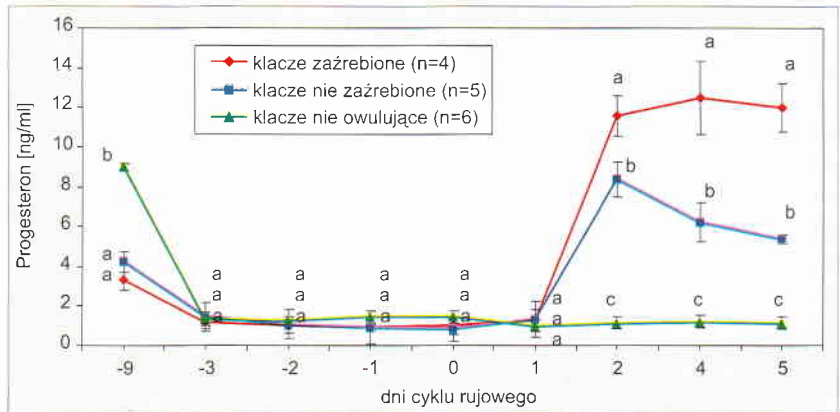
Różne wartości w poszczególnych grupach klaczy przybierał stosunek $E_2 : T$ (ryc. 4). Przed spodziewaną owulacją najwyższy był w grupie klaczy zapłodnionych (E_2 78 ng/ml : T 6 ng/ml = ~ 15), niższy w grupie z pęcherzykami owulującymi, ale nie zapłodnionych (~ 9) i najniższy (~ 1) w grupie z pęcherzykami nieowulacyjnymi.

Progesteron (P_4). U wszystkich klaczy, niezależnie od grupy badawczej, stężenia P_4 (ryc. 5) do pierwszego dnia po owulacji, utrzymywały się na poziomie poniżej 1 ng/ml. Począwszy od tego okresu wartości stężeń

tego hormonu różniły się istotnie ($p < 0,05$) pomiędzy poszczególnymi grupami. Poziom P_4 był najwyższy w grupie klaczy zażrebionych, niższy u nie zażrebionych, a najniższy, oscylujący wokół 1 ng/ml, u nie owulujących.

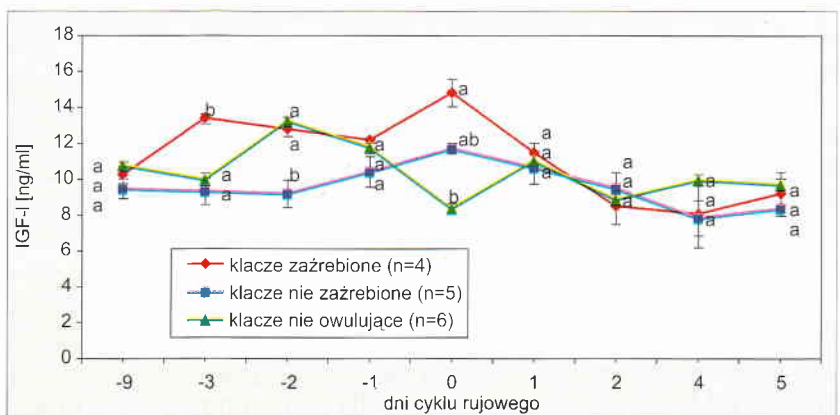
IGF-I. U klaczy owulujących obserwowano tendencję wzrostową IGF-I do momentu owulacji (ryc. 6), przy czym wyższe wartości notowano u klaczy zażrebionych w porównaniu z nie zażrebionymi. Poziom IGF-I u klaczy nie owulujących istotnie ($p < 0,05$) spadał w tym okresie.

U klaczy prawdopodobieństwo zaistnienia owulacji i prawidłowy jej przebieg ma miejsce wówczas, jeśli na 24-48 godz. przed spodziewaną owulacją wydzielenie E_2 osiąga szczyt po czym szybko postępuje spadek, po którym następuje stromy, poowulacyjny wzrost stężenia progesteronu (P_4) (2). Efektywne dojrzewanie pęcherzyków u klaczy wymaga więc, aby w ostatniej przedowulacyjnej fazie wyhamowywana była m.in. synteza E_2 , co obserwowano w przedstawionych wynikach u klaczy z owulacją, a narastała synteza P_4 (13), co widoczne było w okresie poowulacyjnym (ryc. 4). W przypadku obecności dużych nieowulacyjnych pęcherzyków poziom osoczowy estra-



Ryc. 5. Stężenie progesteronu (\pm SD) w poszczególnych grupach klaczy przed i po spodziewanej owulacji

Objaśnienie: a, b, c – wartości otrzymane w tym samym czasie i oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($p \leq 0,05$)



Ryc. 6. Stężenie IGF-I (\pm SD) w poszczególnych grupach klaczy przed i po spodziewanej owulacji

Objaśnienie: jak dla ryc. 1.

diolu był znamienne niski (ryc. 2). Równocześnie ulegało podwyższeniu stężenie E_2 , bez charakterystycznego fazowego załamania widocznego u klaczy z pęcherzykami owulacyjnymi. Etiologicznym podłożem obniżonego stężenia E_2 w grupie klaczy z pęcherzykami nieowulacyjnymi wg Donadeu i wsp. (8) może być słabe ich unaczynienie oraz upośledzony rozwój osłonki pęcherzyka (*theca folliculi*).

Wbrew przyjętym schematom, testosteron u klaczy jest ważnym hormonem regulującym cykl rujowy (1, 26, 27). Wydzielany z pęcherzyka owulacyjnego pobudza przysadkową akumulację FSH (26), zapewniającą jego uwalnianie w najbliższym okresie diestralnym. Pozytywne, mobilizujące FSH, działanie pęcherzykowego testosteronu jest jednak korzystne tylko wówczas, gdy nie przekracza minimalnego progu. Uzyskane wyniki własne wskazują, że jeśli poziom osoczowy tego hormonu przekracza 10 pg/ml i ma silną tendencję wzrostową w miarę postępującej rui, wówczas rosnące jego stężenie staje się ważnym supresorem procesu owulacji. Poziom tego hormonu u klaczy nie owulujących pozostaje w odwrotnym stosunku do stężenia LH. Taka zależność jest w pewnym stopniu sprzeczna z wynikami Thompsona i wsp. (29) wskazujących, że podawanie testosteronu w rui u klaczy nie wpływa nie tylko na stężenie LH, ale również na czas pojawienia się owulacyjnego piku LH. Stwierdzano na dzień przed owulacją, wysoki stosunek $E_2 : T = \sim 15$ u klaczy zapłodnionych, a zbliżony do jedności u klaczy nie owulujących wyznacza dalsze losy dojrzewającego pęcherzyka. Badania, w których Okolski i wsp. (24) określili zawartość E_2 i T w dużych, zdrowych pęcherzykach klaczy, pokazały również wysokie stężenia E_2 i niskie T tylko w przypadku zdrowych, rozwijających się pęcherzyków nieatretycznych.

Na rozwój każdej nowej fali pęcherzyków duży wpływ wywiera hormon wzrostu (GH), którego wtórnym przekaźnikiem tkankowym jest IGF-I, zmieniający dynamikę pęcherzyków (7). Dla oceny wpływu GH na aktywność jajnika lepiej jest oznaczać IGF-I niż sam pierwotny hormon. Wynika to z odmiennego wzorca wydzielania GH i IGF-I. GH można ocenić skutecznie tylko przy częstych pomiarach, w krótkich odstępach i w przeciągu długiego czasu, a IGF-I, ze względu na ciągłą syntezę i wydzielanie, można oznaczać rzadziej i wyniki są przy tym w pełni miarodajne (7). Wcześniej udowodniono dużą rolę IGF-I w rekrutacji nowej fali pęcherzyków, nie dostrzegając przy tym znaczącego działania tej cytokiny na wzrost pęcherzyków. Kierując się w związku z tym stwierdzeniem pozytywnej korelacji między osoczym i pęcherzykowym poziomem IGF-I oraz zdolnością do dyfuzji IGF-I z osocza do płynu pęcherzykowego, ważne wydawało się wykazanie, czy istnieje związek między osoczym poziomem IGF-I a zdolnością pęcherzyka do owulacji i zapłodnienia. Poziom IGF-I zmieniał się różnie, zależnie od grupy badanych klaczy: u klaczy, u których doszło do owulacji i zapłodnienia zwiększał się, w grupie klaczy z pęcherzykiem owulacyjnym, ale nie zapłodnionych pozostawał niezmienny, tymczasem w grupie klaczy z pęcherzykiem nie owulującym spadał. Potwierdzeniem uzyskanych wyników mogą być dane Gérarda i wsp. (13), którzy elektroforetycznie wykazali w przedowulacyjnych pęcherzykach klaczy pojawianie się dodatkowego prążka związanego z układem białkowym IGF. Jak wykazali inni autorzy (4, 7, 9), gonadotropiny (FSH i LH) i hormon wzrostu (z IGF-I jako jego obwodowym przekaźnikiem) stymulują aktywność jajnika w sposób synergiczny. Synergizm ten wydaje się naruszony u klaczy, u których nie dochodzi do owulacji. Ponadto skuteczność zapładniania oocytów rośnie (7), jeśli poziom hormonu wzrostu i IGF-I jest wyższy. IGF-I oddziałuje na aktywność steroidogenną jajnika w sposób obniżający syntezę E_2 i podwyższający poziom P_4 . Widoczne w drugiej i trzeciej grupie klaczy perturbacje wydzielania IGF-I pozostają w związku z zaburzeniami owulacji u tych klaczy. Biorąc pod uwagę ścisłą zależność między poziomem IGF-I a rozwojem pęcherzyków wydaje się, że spełnia on rolę nie tylko w selekcji, ale również w dojrzewaniu pęcherzyków owulacyjnych.

Poziom LH u klaczy nie owulujących obniżał się w miarę zbliżania się do spodziewanego okresu owulacji. Niewystarczające wówczas działanie tropowe zmniejsza w efekcie poziom jajnikowego E_2 . Z przeprowadzonych oznaczeń wynika, że LH obok napędzania procesu owulacji u klaczy niezbędne jest do przedowulacyjnego rozwoju pęcherzyków. Wyniki te znajdują potwierdzenie w badaniach Bergfelta i wsp. (6), którzy wykazali zmniejszenie średnicy pęcherzyków dominujących u klaczy po eksperymentalnym obniżeniu poziomu LH. W związku z tym LH podtrzymuje ciągle wzrost pęcherzyka dominującego. Gonadotropina ta włączona jest również w inicjację rozdziału pęcherzyków na dominujące i podporządkowane (atretyczne), warunkowanego uprzednim wzrostem osoczowego stężenia LH.

Uzyskane wyniki wskazują na użyteczność pomiaru E_2 i T oraz wyznaczenia stosunku tych hormonów dla określenia losów pęcherzyków przedowulacyjnych u klaczy. Sugerują również, że w patomechanizm zaburzeń owulacji i zapłodnienia włączony jest IGF-I. Zaburzenia w regulacji procesu owulacji i zapłodnienia u klaczy wynikają zatem ze zmian ilościowych znanych hormonów i czynników wzrostu, a nie działania odrębnych, specyficznych dla klaczy regulatorów.

Wnioski

1. Obniżony w osoczu krwi, podczas rui u klaczy, poziom E_2 z tendencją wzrostową utrzymującą się w okresie poowulacyjnym oraz wysoki przedowulacyjny poziom testosteronu powodują zaburzenia procesu owulacji;

2. Przedowulacyjny niski stosunek $E_2 : T$ wskazuje, że nie dojdzie do owulacji dojrzewającego pęcherzyka.

Piśmiennictwo

1. *Al-Timimi I., Gaillard J. L., Amri H., Silberzahn P.*: Androgen synthesis and aromatization by corpus luteum microsomes. *J. Biol. Chem.* 1989, 13, 7161-7168.
2. *Allen W. R., Mathias S., Lennard S. N., Greenwood R. E. S.*: Serial measurement of peripheral estrogen and progesterone concentrations in estrus mares to determine optimum mating time diagnose ovulation. *Equine Vet. J.* 1995, 27, 460-464.
3. *Barrier-Battut I., Le Poutre N., Trocherie E., Heht S., Grandchamp des Raux A., Nicaise J. L., Vèrin X., Bertrand J., Fièni F., Hoier R., Renault A., Egron L., Tainturier D., Bruyas J. F.*: Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology* 2001, 55, 1679-1695.
4. *Baucus K. L., Squires E. L., Ralston S. L., McKinnon A. O., Nett T. M.*: Effect of transportation on the estrous cycle and concentrations of hormones in mares. *J. Anim. Sci.* 1990, 68, 419-426.
5. *Beck N. F. G., Khalid M., Charles J. M., Abbas S. K., Care A. D.*: Relationship between intrafollicular concentrations of parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) and steroid hormones in estrogenic and non-estrogenic ovarian follicles in the mare. *Anim. Reprod. Sci.* 2003, 76, 91-97.
6. *Bergfelt D. R., Gastal E. L., Ginther O. J.*: Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. *Biol. Reprod.* 2001, 65, 426-432.
7. *Cochran R. A., Leonardi-Cattolica A. A., Sullivan M. R., Kincaid L. A., Leise B. S., Thompson D. L. Jr., Godke R. A.*: The effect of equine somatotropin (eST) on follicular development and circulating plasma hormone profiles in cyclic mares treated during different stages of the estrous cycle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999, 16, 57-67.
8. *Donadeu F. X., Ginther O. J.*: Follicular waves and circulating concentrations of gonadotrophins, inhibin, estradiol during the anovulatory season in mares. *Reproduction* 2002, 124, 857-885.
9. *Evans J. W., Hughes J. P., Neely D. P., Stabenfeldt G. H., Winger C. M.*: Episodic LH secretion patterns in the mare during the estrus cycle. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1979, 27, 143-150.
10. *Farquhar V. J., McCue P. M., Nett T. M., Squires E. L.*: Effect of deslorelin acetate on gonadotropin secretion and o follicle development in cycling mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, 218, 749-752.
11. *Gastal E. L., Gastal M. O., Ginther O. J.*: Experimental assumption of dominance by a smaller follicle and associated hormonal changes in mares. *Biol. Reprod.* 1999, 61, 724-730.
12. *Gastal E. L., Gastal M. O., Wiltbank M. C., Ginther O. J.*: Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations mares. *Biol. Reprod.* 1999, 61, 31-39.
13. *Gérard N., Duchamp G., Magistrini M.*: Relationships between follicular fluid composition and follicular oocyte quality in the mare. *Livest. Prod. Sci.* 1999, 60, 243-253.
14. *Irvine C. H. G., Alexander S. L., McKinnon A. O.*: Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. *J. Reprod. Fert.* 2000, 118, 101-109.
15. *Johnson A. L.*: Gonadotropin-releasing hormone treatment induces follicular growth and ovulation in seasonally anestrous mares. *Biol. Reprod.* 1987, 36, 1199-1206.
16. *Kosior-Korzecka U., Bobowiec R., Wójcik M.*: Hormonal and metabolic changes at the late estrous phase after stimulation of ovulation rate by lupin grain in sheep. *Annales UMCS sectio DD* 2003, 58, 15-24.
17. *Kosior-Korzecka U., Bobowiec R.*: Changes in the level of endogenous leptin, FSH, 17 β -oestradiol and metabolites during lupin-induced increase in ovulation rate in ewes. *J. Vet. Med.* 2003, A 50, 343-349.
18. *Kusy R., Bochniarz M., Śmiech A., Wawron W.*: Próba określenia przyczyn zaburzeń płodności u klaczy. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 562-566.
19. *Malinowski K., Johnson A. L., Scanes C. G.*: Effects of interrupted photoperiods on the induction of ovulation in anestrous mares. *J. Anim. Sci.* 1985, 61, 951-955.
20. *McCue P.*: Recent advances in equine reproduction. *IVIS*, Ithaca NY. 2000, A0210, 1000.
21. *Mumford E. L., Squires E. L., Jöchle E., Harrison L. A., Nett T. M., Trigg T. E.*: Use of Deslorelin Short-term implants to induce ovulation in cycling mares during three consecutive estrous cycles. *Anim. Reprod. Sci.* 1995, 39, 129-140.
22. *Nagy P., Huszenicza Gy., Reiczgel J., Juhász J., Kulcsár M., Abaváry K., Guillaume D.*: Factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. *Theriogenology* 2004, 61, 203-214.
23. *Nambo Y., Nagaoka K., Tanaka Y., Nagamine N., Shinbo H., Nagata S., Yoshikawa T., Watanabe G., Groomke N. P., Taya K.*: Mechanism responsible for increase in circulating inhibin levels at the time of ovulation in mares. *Theriogenology* 2002, 57, 1707-1717.
24. *Okolski A., Bezar J., Magistrini M., Palmer E.*: Maturation of oocytes from normal and atretic equine ovarian follicles as affected by steroid concentrations. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1991, 44, 385-392.
25. *Pinto C. R. F., Paccamonti D. L., Eillis B. E., Short C. R., Godke R. A.*: Effect of nitric oxide synthase inhibitors on ovulation in hCG-stimulated mares. *Theriogenology* 2002, 58, 1017-1026.
26. *Silberzahn O., Quincey D., Rosier C., Leimarie P.*: Testosterone and progesterone in peripheral plasma during estrus cycle of the mare. *J. Reprod. Fert.* 1978, 53, 1-5.
27. *Silberzahn P., Dehennin L., Zwain H. I., Leimarie P.*: Identification and measurement of testosterone in plasma and follicular fluid of the mare, using gas chromatography-mass spectrometry associated with isotope dilution. *J. Endocrinol.* 1983, 97, 51-56.
28. *Szlachta M., Tischner M.*: Morfologia i rozmieszczenie pęcherzyków przedjamistych w jajnikach klaczy. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 679-682.
29. *Thompson D. L. Jr., Reville S. I., Walker M. P., Derrick D. J., Papkoff H.*: Testosterone administration to mares during estrus: Duration of estrus and diestrus and concentrations of LH and FSH in plasma. *J. Anim. Sci.* 1983, 56, 911-918.
30. *Tischner M., Niezgoda J.*: Próba oceny wpływu masażu jajników na długość zimowego anestrus i cyklu rujowego u klaczy. *Medycyna Wet.* 1996, 52, 49-50.
31. *Tischner Jr. M., Niezgoda J., Tischner M.*: Studies on the effect of manual massage of the ovaries on the reproductive activity of the mare. *Theriogenology* 1996, 45, 1457-1462.

Adres autora: prof. dr hab. Ryszard Bobowiec, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: boborysz@agros.ar.lublin.pl

TSUTSUI T., YAMANE I., SHIMURA K.: Wstępna ocena częstotliwości występowania BSE w Japonii. (Preliminary evaluation of the prevalence of BSE in Japan). *Vet. Rec.* 154, 113-114, 2004 (4)

Pierwszy przypadek BSE w Azji wystąpił we wrześniu 2001 r. w Japonii. Do listopada 2002 r. zdiagnozowano w Japonii 5 przypadków BSE. Od października 2001 r. wprowadzono obowiązkowe badanie bydła rzeźnego w kierunku BSE oraz obserwację bydła w fermach hodowlanych. W badaniach stosowano test ELISA, a w przypadku uzyskania wyniku pozytywnego w tym teście stosowano immunoblotting i badanie immunohistochemiczne. Z ferm pobierano próbki do badania od zwierząt z objawami neurologicznymi lub od zwierząt padłych wśród tych objawów. Przebadano ponad 1,2 mln. sztuk bydła poddanego ubojowi w okresie od października 2001 do października 2002, w 5 przypadkach stwierdzono BSE. W tym okresie czasu objawy neurologiczne nasuwające podejrzenie BSE stwierdzono u 2047 sztuk bydła w wieku 24 miesięcy i starszych. Jednakże w żadnym przypadku nie stwierdzono badaniem pośmiertnym BSE. Wiek bydła, u którego wystąpiło BSE wynosił 64-80 miesięcy. Żadne z tych zwierząt nie otrzymywało z karmą dodatku mączki mięsnej lub kostnej. Otrzymywały natomiast preparat mlekozastępczy sprowadzony z Holandii wyprodukowany na bazie tłuszczu bydlęcego.

G.

DURHAM A. E., PHILLIPS T. J., WALMSLEY J. P., NEWTON J. R.: Badania nad skutkami klinicznymi pooperacyjnego parenteralnego odżywiania u 15 koni. (Study of the clinical effects of postoperative parenteral nutrition in 15 horses). *Vet. Rec.* 153, 493-498, 2003 (16)

Obserwacje przeprowadzono na 15 koniach, u których przeprowadzono resekcję zaważonego odcinka jelit cienkich. Do odżywiania parenteralnego stosowano mieszaninę 50% roztworu glukozy z roztworem aminokwasów i emulsji lipidów w ciągłej infuzji dożylną w tempie 0,5 ml/kg/godz. od momentu wprowadzenia zwierzęcia z sali operacyjnej do pobrania pierwszej dawki paszy. W grupie kontrolnej stosowano iniekcje dożylnie elektrolitów. Nie występowały istotne różnice pomiędzy grupą doświadczalną a kontrolną w czasie, jaki upłynął do pobrania pierwszej dawki paszy, czasu hospitalizacji, częstotliwości występowania bólów kolkowych i czasu przeżycia. Odżywianie parenteralne przez krótki okres czasu wpływało negatywnie na opróżnianie żołądka. W miejscu zamocowania kateteru dożylnego występowały bowiem miejscowe odczyny zapalne. Nie stwierdzono jednak objawów klinicznych, które wskazywałyby zarówno na polepszenie stanu odżywienia koni, jak i na negatywny wpływ takiego postępowania pooperacyjnego.

G.