

ANDRZEJ DUBIEL, JACEK KRÓLIŃSKI, ADAM MIERNIK

Wywoływanie owulacji u królic w fazie lutealnej z zastosowaniem preparatów pn. Lutal forte – Hoechst i Lutalyse (PGF₂ alfa) – Upjohn^{*})

Prowokowanie owulacji u królic przy pomocy preparatów hormonalnych ma duże znaczenie praktyczne, ponieważ stymulacja naturalna wymaga posiadania dużej liczby samców odpowiednio przygotowanych, jest pracochłonna i wiąże się z możliwością przenoszenia różnych schorzeń, szczególnie tzw. chorób krycia. Biorąc pod uwagę wymienione przesłanki przeprowadzono wcześniej badania nad przydatnością preparatu Lutal forte, ad us. vet. produkcji firmy Hoechst do sztucznego wywołania jajczkowania u doświadczalnych królic (5). Preparat ten stanowi wodny roztwór syntetycznego Gn RH-LH (FSH) (Gonadotropin Releasing Hormone), przy czym 1 ml zawiera 4 mcg (0,004 mg) gonadoliberyny odpowiadającej naturalnemu hormonowi uwalniającemu LH/FSH. Lutal forte zastosowany u królic w rozwiniętej fazie pęcherzykowej, trzymany pojedynczo w oddzielnych klatkach, okazał się w pełni przydatny do indukowania i synchronizacji owulacji u tych samic, przy czym otrzymano wysoką płodność i plenność zwierząt doświadczalnych (5).

Działanie prostaglandyn na układ płciowy samic jest wielokierunkowe. Związki te powodują luteolizę ciała żółtego, wpływają korzystnie na proces owulacji, przesuwania się komórki jajowej, zapłodnienia i jej implantacji (2, 8, 10—14, 16, 17, 19, 22). Pozytywne wyniki badań nad wywołaniem owulacji u królic przy pomocy preparatu Lutal forte oraz luteolityczne działanie prostaglandyn zainicjowały autorów do dalszych obserwacji nad przydatnością wymienionych hormonów do sztucznego wywoływania jajczkowania u królic w fazie lutealnej.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono w miesiącach zimowych (grudzień—styczeń) na 27 królicach różnych ras w wieku od 8 miesięcy do 2 lat. W populacji tej było 9 srokaczy niemieckich, 14 czerwonych nowozelandzkich i 4 królice czarne podpalane. Wszystkie zwierzęta znajdowały się w fazie ciała żółtego, od 9 do 11 dnia po pokryciu samcem z przeciętnymi i podwiązanymi nasieniowodami. Materiał podzielono na dwie grupy. Królice pierwszej grupy (8 sztuk) otrzymały jednorazowo w formie iniekcji domięśniowej po 0,2 ml (0,8 mcg) preparatu Lutal forte (4 sztuki) lub po 0,4 ml—1,6 mcg (4 sztuki) w celu sztucznego wywołania owulacji. Zastosowany preparat stanowi wodny roztwór syntetycznego Gn RH-LH/FSH, przy czym 1 ml zawiera 4 mcg gonadoliberyny odpowiadającej naturalnemu hormonowi uwalniającemu LH, FSH. Prepara-

rat wykorzystuje się do leczenia u krów i kłaczy niepłodności pochodzenia jajnikowego, głównie torbielowości jajników, braku rui, opóźnionego pęknięcia pęcherzyka Graafa lub jego atrezji. Ponadto znajduje on zastosowanie w indukowaniu owulacji i uzyskiwaniu lepszych wyników unasiemiania krów i kłaczy. W odniesieniu do królic producent Lutal forte ad us. vet. zaleca podawanie preparatu już 24 godziny po porodzie (indukowanie owulacji) i unasiemianie bezpośrednio po iniekcji.

W pierwszym etapie badań samicom drugiej grupy (19 sztuk) podano w iniekcji domięśniowej prostaglandynę F₂ alfa (Lutalyse-Upjohn) w dawce 5 mg w celu spowodowania luteolizy, a następnie po 72 godzinach również domięśniowo Lutal forte w ilości 0,4 ml „pro dosi”. Tuż po podaniu syntetycznego Gn RH-LH/FSH królice obu grup unasiemiano sztucznie świeżo pobranym nasieniem. Objętość dawki nasienia wahała się od 0,1—0,5 ml, średnia o 0,35 ml, koncentracja plemników o ruchu prawidłowym wynosiła 10—150 milionów, średnio 50 milionów w dawce.

Wyniki i omówienie

Zgodnie z wynikami przedstawionymi w tab. 1 nie stwierdzono ciąży u żadnej królicy pierwszej grupy, którym podawano w fazie ciała żółtego domięśniowo jedynie preparat Lutal forte w dawce 0,2—0,4 ml (0,8—1,6 mcg). Po unasiemieniu 19 królic drugiej grupy, uzyskano zapłodnienie i ciążę u 16 (85%) unasiemianych zwierząt. Ciąża trwała od 30—35 dni, średnio 32. Otrzymano w miocie od 3 do 10 królicząt zdolnych do dalszego chowu. Uzyskane wyniki wskazują, że preparat Lutal forte ad us. vet. wprowadzony królicom domięśniowo w dawce 0,8—1,6 mcg między 9 a 11 dniem po kryciu samcem z podwiązanymi nasieniowodami, nie jest w stanie przełamać blokady progesteronowej układu przysadkowo-jajnikowego i wywołać sztucznej owulacji. Pozytywne efekty w stymulacji jajczkowania u tych samic można uzyskać dopiero w 72 godz. po podaniu czynnika luteolitycznego (PGF₂ alfa). Powyższe obserwacje stanowią potwierdzenie wyników uzyskanych w poprzednich badaniach (5), w

Tab. 1. Płodność i plenność królic unasiemianych sztucznie po synchronizacji owulacji

Grupa	Ilość unasiemianych samic (n=27)	Wyniki unasiemiania		
		Ilość królic ciężarnych	%	Średnia ilość potomstwa w miocie
I	8	—	—	—
II	19	16	85	6 ± 2

^{*}) Praca wykonana w ramach problemu MR.II.10 koordynowanego przez Instytut Patologii i Terapii Zwierząt AR we Wrocławiu.

których płodność i plenność królic unasięnianych sztucznie w fazie pęcherzykowej po zastosowaniu preparatu Lutal forte ad us. vet. i naturalnie nie różniły się między sobą. Powyższe wyniki nie różnią się także od rezultatów uzyskanych na 20 królicach unasięnianych sztucznie w przedziale od 25 minut do 5,5 godzin po prowokacji samcem z podwiązanymi i przeciętymi nasieniowodami (3). Objętość dawki nasienia niezbędna do zapłodnienia oraz ilość plemników o ruchu prawidłowym w dawce nie różniły się także od norm ustalonych przez Dubiela i wsp. (4) oraz Starnzingera i wsp. (20) we wcześniej prowadzonych badaniach.

W dotychczas podejmowanych próbach indukowania owulacji u królic stosowano różne preparaty gonadotropowe. Zawadowski (cyt. 9) wywoływał owulację za pomocą dożylnych zastrzyków prolanu w ilości 5—9 jednostek mysich na królicę. Podobnie Venge (cyt. 9) obserwowal owulację u samic, które otrzymały hormony gonadotropowe przysadki mózgowej. Adams (1) wprowadził królicom 25 jednostek LH powodując owulację po 9,5—13 godzin od chwili iniekcji. Stosując tę samą ilość hormonu Harper (6, 7) obliczył, że w przedziale 10,5—10,75 godziny po iniekcji owulowało 50% pęcherzyków Graafa, a pozostała część po dalszych 150 minutach. Także Kardymowicz (9) uzyskiwała owulację u królic, po podaniu 0,5—5 cm³ surowicy żrebnej kłaczy. Spośród związków niehormonalnych właściwości owulacyjne u królików posiada wiele niespecyficznych substancji jak pikrotoksyna, octan lub siarczan miedzi, sole kadmu i metrozol (15). Starnzinger i wsp. (20) oraz Weitze i wsp. (21) notowali wysoką płodność królików po unasięnianiu nasieniem konserwowanym w niskiej temperaturze, nie stwierdzając żadnej różnicy w porównaniu z królicami unasięnianymi nasieniem w stanie płynnym. Autorzy ci inseminując samice po 5 godzinach od podania LH, uzyskali większą plenność i płodność, aniżeli bezpośrednio po podaniu preparatu. Dawka inseminacyjna zawierała minimum 12 milionów plemników o ruchu prawidłowym. Mimo wielu doniesień na temat wywoływania owulacji u królic w fazie pęcherzyka Graafa (królice izolowane w oddzielnych klatkach (brak jest w dostępnym piśmiennictwie danych, dotyczących indukowania jajczkowania u tego gatunku samic w okresie ciała żółtego).

Zwraca uwagę brak istotnych różnic w odniesieniu do płodności i plenności królic unasięnianych naturalnie i sztucznie po prowokowaniu za pomocą GnRH-LH/FSH owulacji w fazie pęcherzyka Graafa oraz gonadoliberyny i PGF₂ alfa w fazie ciała żółtego. Łatwość podawania hormonów (iniekcja domięśniowa), a następnie ściśle określony termin inseminacji (tuż po iniekcji gonadoliberyny) oraz zbędność utrzymywania w hodowli samców prowokatorów z podwiązanymi lub przeciętymi nasieniowodami stanowią korzystne warunki z punktu

widzenia praktycznego i ekonomicznego do zastosowania tej metody reprodukcji na większych fermach króliczych. Już po 9 lub 10 dniach po unasięnianiu można badaniem klinicznym przez powłoki brzuszne wykluczyć obecność ciąży u królicy i przeznaczyć ją do następnego unasięniania po odpowiednim, opisanym przygotowaniu hormonalnym. Prowokowanie owulacji u królic w fazie lutealnej cyklu daje również korzyści wynikające z przyspieszenia reprodukcji u tego gatunku zwierząt. Jeżeli królicza zostanie nieskutecznie unasięniona naturalnie, wówczas na jajnikach wytwarzają się ciała żółte, które warunkują tzw. ciążę nerwową (ciąża rzekoma) trwającą 16—19 dni. Dopiero po tym przedziale czasowym samica robi gniazdo i jest gotowa do ponownego pokrycia (18).

Wnioski

1. Preparat Lutal forte-Hoechst (synt. GnRH LH/FSH) zastosowany domięśniowo w dawce 0,2—0,4 ml (0,8—1,6 mcg) u królic między 9 a 11 dniem po kryciu samcem z podwiązanymi nasieniowodami nie wywołuje sztucznej owulacji.

2. Preparat ten może być użyty w powyższych dawkach do prowokowania jajczkowania u królic w fazie ciała żółtego dopiero po 72 godzinach od podania PGF₂ alfa.

Piśmiennictwo

1. Adams C. E.: Nature (Lond.) 172, 182, 1953.
2. Bieiański A.: Medycyna Wet. 29, 622, 1973.
3. Dubiel A.: Pol. Arch. wet. 17, 691, 1975.
4. Dubiel A., Króliński J.: Hod. drobn. inw. 26, 14, 1978.
5. Dubiel A., Rokicki Cz., Samborski Z.: Medycyna Wet. 36, 409, 1980.
6. Harper M. J. K.: Endocr. 22, 147, 1961.
7. Harper M. J. K.: J. Endocr. 26, 307, 1963.
8. Harrison F. A., Heap R. B., Horton E. W., Poyser N. L.: J. Endocr. 53, 215, 1972.
9. Kardymowicz O.: Roczn. Nauk rol. 65, 263, 1952.
10. Labhsetwar A. P.: J. Reprod. Fert. 23, 155, 1970.
11. Labhsetwar A. P.: Nature (Lond.) 230, 528, 1971.
12. Labhsetwar A. P.: J. Endocr. 53, 201, 1972.
13. Lauderdale J. W.: J. Anim. Sci. 35, 246, 1972.
14. Mac Cracken J. A., Baird D. T., Goding J. R.: Rec. Progr. Horm. Res. 27, 537, 1971.
15. Nabandov A. V.: Fizjologia rozrodu. PWN, 1966.
16. O'Grady J. P., Kohorn E. I., Glass R. H., Caldwell B. W., Spero J.: J. Reprod. Fert. 30, 153, 1970.
17. Pharriss B. B., Wyngarden L. C.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 130, 93, 1969.
18. Pribyl E.: Veterinarni orodnictvi. SZN, Praha, 1954.
19. Rowson L. E., Terwit R., Brand A.: J. Reprod. Fert. 29, 145, 1972.
20. Starnzinger G. F., Maurer R. R., Paufler S. K.: J. Reprod. Fert. 24, 111, 1971.
21. Weitze K. F., Hellemann C., Krause D.: Mat. 8 Międzynarod. Kongresu Rozrodu i Sztucz. Unasięn. Kraków 4, 1100, 1976.
22. Wilson L., Cenedella R. J., Buther R. L., Inskip E. K.: J. Anim. Sci. 34, 93, 1972.

Adres autora: doc. dr hab. Andrzej Dubiel, pl. Grunwaldzki 49, 50-376 Wrocław.

Дубель А., Крулиньски Я., Мерник А. — Вызывание овуляции у крольчих в лютеальной фазе с применением препаратов п.н. Lutal forte-Hoechst и Lutalyse (PGF₂ альфа)-Upjohn.

Цель исследований состояла в определении пригодности препаратов Lutalyse и Lutal forte для вызывания овуляции у крольчих в лютеальной фазе полового цикла. Наблюдения провели на 27 крольчихах в фазе желтого тела через 9—11 дней после

случки с самцом с перерезанными и подвязанными семеновадами. Крольчихи первой группы (8 голов) получали однократно в виде внутримышечной инъекции по 8,8—1,6 мсг препарата Lutal forte. На первом этапе исследований самкам второй группы (19 голов) ввели внутримышечно простагландин F₂ альфа (Lutalyse) в дозе 5 мг для вызывания лютеолиза, а затем через 72 час применили также внутримышечно Lutal forte в количестве 1,6 мсг „pro dosi”. Исследования показали, что препарат Lutal forte, примененный описанным способом в дозе 0,8—1,6 мсг у крольчих между 9 и 11 днями после случки со стерильным самцом, не вызывает искусственной овуляции. Этот гормон может применяться в упомянутых дозах для провоцирования овуляции у крольчих в фазе желтого тела лишь через 72 часа по введению PGF₂ альфа.

Dubiel A., Króliński J., Miernik A. — *Stimulation of ovulation in rabbits in a luteal phase by the use of Lutal forte* — Hoechst and Lutalyse (PGF₂ alpha) — Upjohn.

The purpose of the studies was to determine the usefulness of Lutalyse and Lutal forte for stimulation of ovulation in rabbits in a luteal phase of sexual cycle. The observations were performed on 27 female rabbits in a luteal phase of the cycle, and on the 9th and 11th day after mating by a male rabbit having cut and secured excretory ducts of the testicles. The animals of the first group (8 rabbits) were given once intramuscularly 0.8—1.6 mcg of Lutal forte. In the first period of studies the animals of the second group (19 rabbits) were injected intramuscularly Prostaglandin F₂ alpha (Lutalyse) at a dose of 5 mg in order to obtain luteolysis, and then after 72 h they were injected intramuscularly Lutal forte at a dose of 1.6 mcg „pro dosi”.

The studies revealed that Lutal forte applied at a dose of 0.8—1.6 mcg in female rabbits between 9 and 11 day since mating by a sterile male did not cause an artificial ovulation. The hormone can be used in higher doses in order to provoke ovulation in female rabbits in a luteal phase just after 72 h since the injection of PGF₂ alpha.

TERESA DOBOSZYŃSKA, JACEK CHMIEL

Obraz włókien sprężystych w błonie śluzowej macic krów z endometritis puerperalis leczonych miejscowo odwarami ziołowymi

Zakład Anatomii Zwierząt i Klinika Rozrodu i Położnictwa, Wydziału Weterynaryjnego AR-T, 10-957 Olsztyn

Jednym z obiektów badań histologicznych, odzwierciedlających zmiany zachodzące w błonie śluzowej macicy są włókna sprężyste. U niektórych zwierząt, np. królika, występują one we wszystkich warstwach prawidłowo rozwiniętej macicy (12), w innych przypadkach np. w macicy ludzkiej, można obserwować je jedynie w błonie mięśniowej i podsurowiczej oraz w ścianach naczyń (13). Stwierdzono także, że zarówno w macicy ludzkiej jak i u niektórych zwierząt ilość włókien sprężystych ulega zmianom w różnych okresach ciąży (12, 13), oraz w okresie poporodowym (7, 13). Najbardziej wyraźne zmiany, zarówno w ilości jak i rozmieszczeniu włókien sprężystych występują jednak w stanach zapalnych macicy, kiedy włókna te migrują poza obręb łożyska naczyniowego do różnych warstw składowych macicy (12, 15). Jak podaje wielu autorów, włókna sprężyste naczyń są produkowane przez komórki mięśniówki gładkiej (1, 4, 5, 6, 9, 10, 14), a produkcja ich zwiększa się w miejscach uszkodzeń ścian naczyń, gdzie często można obserwować rozwarstwienie *lamina elastica*, jak też zmiany prowadzące do wytwarzania wzgórek miażdżycowych (1, 6, 8, 11).

W dostępnym piśmiennictwie brak jest prac dotyczących obrazu włókien sprężystych w macicy krowy. Celowym wydaje się przedstawienie obserwacji dotyczących obrazu wymienionych włókien w macicach krów objętych stanami zapalnymi w okresie poporodowym, jak też i po skutecznym wyleczeniu stanów zapalnych łagodnie działającymi odwarami ziołowymi.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 40 krów, rasy cb, w wieku 2—12 lat, pochodzących z jednej fermi, u których wystąpiły w okresie poporodowym stany zapalne macic oraz 4 krów zdrowych, wykazujących po porodzie fizjologiczne cykle rujowe. Stwierdzony stan zapalny macicy (*endometritis puerperalis*), potwierdzony badaniami klinicznymi i bakteriologicznymi (na tym samym materiale ustalono gatunki bakterii będące przyczyną stanu zapalnego (4), leczono miejscowo odwarami ziołowymi. Od wszystkich badanych krów pobierano próby biopsyjne z macic w celu sporządzania preparatów histologicznych. Pierwszą biopsję wykonywano w trzecim tygodniu po porodzie u wszystkich badanych zwierząt. Knowy ze stanami zapalnymi macic leczono przez 1—3-krotne wlewianie do macic odwarów ziołowych, w zależności od stopnia stanu zapalnego. Od zwierząt tych pobierano wycinki biopsyjne macicy w trakcie leczenia i po całkowitym ustąpieniu objawów chorobowych.

Do utrwalania wycinków biopsyjnych używano płynu Bouina. Preparaty histologiczne sporządzano z bloczków parafinowych. Do barwienia włókien sprężystych stosowano metodę Fränkela. Oprócz tego wykonywano preparaty przeglądowe barwione hematoxyliną-eozyną.

Wyniki i omówienie

Z przeprowadzonych obserwacji wynika, że błona śluzowa macicy krowy wykazuje szereg zmian w okresie poporodowym związanych z występującymi stanami zapalnymi (*endometritis puerperalis*). Dotyczy to zarówno powierzchownej, jak i głębszej części błony śluzowej, gdzie obserwowano zwyrodnienie nabłonka powierzchniowego macicy, nacieki komórkowe w obrębie całej warstwy czynnej śluzówki, a