

9. Szprengier T.: Badania nad zawartością rtęci w tkankach zwierząt domowych w Polsce. Praca dokt. Instytut Wet. 1976.
 10. Szprengier T.: Medycyna Wet. 33, 182, 1977.
 11. Żmudzki J.: Medycyna Wet. 33, 179, 1977.
 12. Żmudzki J.: Zawartość ołowiu, kadmu, cynku, miedzi i żelaza w tkankach zwierząt domowych ze szczególnym uwzględnie-

- niem regionów typowo rolniczych i przemysłowych. Praca dokt. Instytut Wet., 1978.
 13. Żmudzki J.: Bromat. Chem. Toksykol. 13, 77, 1980.
 14. Żmudzki J.: Toksykologia ołowiu u cieląt. Praca habilit., Instytut Wet., 1987.

Adres autora: doc. dr hab. Jan Żmudzki, ul. Reymonta 29a, 24-100 Puławy

ROZRÓD ZWIERZĄT

ANDRZEJ MAX

Obumieralność zarodków u zwierząt

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
 ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Potencjalna zdolność rozrodcza ssaków znacznie przewyższa rzeczywiste efekty reprodukcyjne. Ograniczenia płodności i plenności są z jednej strony wynikiem naturalnej regulacji biologicznej, z drugiej zaś strony powstają w następstwie schorzeń narządowych lub uogólnionych, a także wskutek niekorzystnego oddziaływania czynników środowiskowych. Zaburzenia procesów rozrodczych albo całkowicie uniemożliwiają zapłodnienie, albo też upośledzają wzrastanie nowych organizmów, powodując ich obumieranie w różnych stadiach rozwojowych. Czas od zapłodnienia do zakończenia organogenezy (czyli różnicowania się narządów) nazywamy zarodkowym, zatem pojęcie obumieralności zarodkowej odnosi się do tego właśnie okresu, który według mianownictwa Committee on Bovine Reproductive Nomenclature (8) trwa u bydła do ok. 45 dnia ciąży. Później mówi się o obumieralności płodowej.

Powszechnie uważa się, że w rozwoju zarodka występują okresy krytyczne, w których jest on szczególnie zagrożony. Pierwszy taki okres to faza rozwoju moruli do stadium blastocysty, co u bydła zachodzi w 6—7 dniu ciąży, czyli krótko po przejściu zarodka z jajowodu (gdzie nastąpiło zapłodnienie i początkowy wzrost) do jamy macicy (2, 8, 53, 58). Drugi okres nasilenia obumieralności przypada na 16—19 dzień ciąży (53). Ogólnie przyjmuje się, że zdecydowana większość strat zarodkowych przypada na pierwsze 20 dni ciąży (47, 52). Kolejny okres krytyczny związany jest z procesem implantacji i łączenia się błon płodowych ze ścianą macicy, czyli wytwarzania łożyska (3, 52, 54).

Jednym ze sposobów pośredniej diagnostyki obumieralności zarodkowej jest obserwacja rui po kryciu lub unasiennianiu. Jeśli ruja występuje później niż wynikałoby to z normalnej długości cyklu wynoszącej 17—25 dni, podejrzewać można, że w wyniku zapłodnienia rozwinęła się ciąża, po czym nastąpiła śmierć zarodka powodująca powrót do cyklicznych zmian w układzie rozrodczym, których wyrazem jest właśnie obserwowana ruja. Cykle rujowe o długości od 25 do 35 dni są uważane za typowe dla obumieralności embrionalnej (54). Ta metoda oceny strat zarodkowych jest jednak dość zawodna. Przede wszystkim nie obejmuje ona obumieralności sprzed 15 dnia ciąży (1), a według innych autorów nawet wcześniejszej (8), która nie powoduje wydłużenia cyklu. Poza tym nagminne zjawiska niedostatecznego rozpoznawania rui i inseminacji w niewłaściwym terminie prowadzą do zafałszowania

obliczeń długości cyklu rujowego. Także istnienie stanów zapalnych macicy może być połączone z przedłużonym utrzymywaniem się na jajniku ciała żółtego, co powodując wydłużenie okresu międzyrujowego może być mylone z obumarciem zarodka (1).

Wraz z rozpowszechnieniem radioimmunologicznych i immunoenzymatycznych metod oznaczania hormonów w płynach ustrojowych zaczęto wykorzystywać wyniki tych badań do diagnozowania strat zarodkowych. Głównego znaczenia nabrało oznaczanie poziomu progesteronu jako wskaźnika wczesnej ciąży (49). Jeżeli w wyniku krycia dojdzie do zapłodnienia i rozwoju ciąży, wówczas — na skutek oddziaływania zarodka i środowiska ciążarnej macicy — obecne na jajniku ciało żółte nie ulega zanikowi, lecz przekształca się w ciało żółte ciążowe wydzielające w dalszym ciągu progesteron. Badając poziom tego hormonu we krwi lub mleku około 21 dnia po pokryciu można diagnozować wczesną ciążę u krów wykazujących wysoki poziom progesteronu. Jeśli w późniejszym terminie zwierzęta te okażą się nieciężne, można u nich podejrzewać obumieralność zarodków. Na podstawie badań progesteronu Ball i Morant (3, 6) stwierdzili u 10% krów utratę embrionów między 14 a 70 dniem ciąży. Inni autorzy oceniają obumieralność zarodków u bydła na 3,8% (54), 6,4% (4), 7,2% (26), 10% (56), 12% (15), 17% (38), ponad 20% (46). Diagnostyka ciąży i następnie obumarcia zarodka bazująca wyłącznie na oznaczeniach progesteronu jest obciążona pewnym marginesem błędów, podobnie jak przy ocenie na podstawie obserwacji rui (niepowtarzalności). Szczególnie uważa się, że na skutek fizjologicznego lub patologicznego wydłużenia cyklu nie związanego z istnieniem ciąży można zwierzęta nieciężarne uważać niesłusznie za ciężarne i później rozpoznawać u nich fałszywie obumieralność zarodków. Powszechnie przyjmuje się, że na podstawie oznaczania progesteronu około 21 dnia po pokryciu można praktycznie w 100% wykluczyć ciążę (przy niskim poziomie progesteronu), podczas gdy stwierdzenie istnienia ciąży (przy wysokim poziomie progesteronu) jest mniej dokładne (7, 25, 32).

Inną metodą określania strat zarodkowych są badania poubojowe. Polegają one na porównywaniu ilości i jakości zarodków w grupach zwierząt w różnym czasie po pokryciu. Maurer i Chenault (39), wykonując takie badania od 2-go dnia stwierdzili aż 100%-ową zapłodnialność u krów i 83%-ową u jałówek. W kolej-

nych dniach badań odsetek żywych zarodków malał, przy czym największą obumieralność wykazano w czasie do 8 dnia ciąży. Diskin i Sreenam (21) pozyskiwali zarodki po uboju lub przyżyciowo (przez laparotomię) w dniach 4, 8, 12, 16 i 42. Zapłodnialność określili na 90%, a obumieralność embrionalną na ponad 30%, z nasileniem między 8 a 16 dniem. Jako braki tej metody podaje się: możliwość niezalezienia wszystkich zarodków przez wypłukiwanie, niemożność dokładnej oceny zdolności zarodka do dalszego rozwoju, badanie u 1 zwierzęcia tylko jednego stadium rozwojowego, różnice w sposobach i czasie pozyskiwania zarodków, co zmniejsza porównywalność wyników (12, 47).

Jak wiadomo, dokładność oceny strat zarodkowych uwarunkowana jest możliwościami wczesnej diagnozy ciąży. W latach siedemdziesiątych duże nadzieje w tym względzie rozbudziło wykrycie wczesnego czynnika ciąży EPF (early pregnancy factor). Występowanie jego stwierdzano bardzo wcześnie, a mianowicie już w kilka godzin po zapłodnieniu (51). EPF wykazano zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, w tym bydła, owiec, świń, gryzoni (9, 23, 36, 43, 45, 51). Zanik tego czynnika próbowano wykorzystać jako wskaźnik śmierci zarodkowej. Badania przeprowadzone na owcach wykazały, że chirurgiczne usunięcie zarodków powodowało po 24—48 godzinach zanik EPF, przy jednocześnie tylko nieznacznym spadku poziomu progesteronu (23, 44). Podobnie u świń (36) wykazano zanik EPF w czasie 8—12 godz. po usunięciu 4—5-dniowych zarodków. Z uwagi na skomplikowaną metodykę przeprowadzanych w tym celu testów, nie znalazły one jednak w praktyce szerokiego zastosowania.

Ostatnio wprowadzenie techniki ultrasonograficznej stało się kolejną metodą pozwalającą na stwierdzenie ciąży i utraty zarodka (13, 17).

Obumieralność embrionalna była także tematem badań eksperymentalnych (30, 31). Zarodki pochodzące od dwóch grup jałówek, a mianowicie od wielokrotnie nieskutecznie krytych oraz od krytych po raz pierwszy transplantomano do biorecipientek: niekrytych i krytych wielokrotnie nieskutecznie. Następnie po uboju dokonywano porównania przeżywalności zarodków. W pierwszym doświadczeniu nie stwierdzono różnic w dwóch grupach jałówek, wnioskowano zatem, że raczej morfologia zarodków niż rodzaj biorecipientek ma wpływ na stopień przeżywalności. Jednak w drugim doświadczeniu uzyskano wyniki świadczące, że gorsza przeżywalność zarodków u biorecipientek z problemami rozrodu jest związana z niekorzystnym oddziaływaniem ich środowiska macicy na embriony.

Także u innych gatunków zwierząt wykazano występującą z różnym nasileniem obumieralność zarodków. Badania kliniczne i ultrasonograficzne przeprowadzone u kłaczki (24, 27, 42, 48, 57) pozwoliły na określenie stopnia obumieralności zarodków na 2—17%. U kłaczki, które utraciły zarodki po 20-ym dniu ciąży wystąpiła w 100% ciąża rzekoma (28). U owiec oceniano obumieralność zarodków na podstawie porównania odsetka owulacji i zapłodności z odsetkiem ciąży w 35 dniu. Straty zarodkowe oszacowano na 11—19% (16). Znacznie większy stopień obumieralności zanotowano u świń, a mianowicie 30—40% embrionów z największym nasileniem do 3—4 tygodnia ciąży (33). Uważa się, że do utrzymania ciąży u świń potrzeba obecności w macicy co najmniej 4 żywotnych zarodków, co jest niezbędne do podtrzymania czynności ciała żółtych (37). Maurer i Foote (40) stwierdzili straty zarodkowe u króliczek od 4,3% do 29% w zależności od wieku.

Przyczyny obumieralności zarodkowej u zwierząt są wielorakie. Znaczna ich część tłumaczona jest anomalia-ami genetycznymi lub morfologicznymi samych gamet lub zygoty (2, 53). Wśród czynników genetycznych pochodzących od samca wymienia się jako przyczyny strat embrionalnych: niezgodności antygenowe między plemnikami a organizmem samicy, plemnikami a komórka jajową, zygota a organizmem samicy, czynniki letalne pochodzące z jąder i tkanki spermatogennej oraz czynniki letalne powstające poza jądrami, np. w czasie obróbki i mrożenia nasienia (11, 53, 55). Bulman (14) stwierdził znacznie wyższą obumieralność zarodków (44%) u krów, które były pokryte „pewnym” buhajem, w porównaniu do obumieralności u krów krytych innymi samcami (od 0 do 33%). Uważa się także, że starzenie się komórek jajowych wpływa (jeżeli zostaną one zapłodnione) na zwiększenie stopnia obumieralności zarodków (1, 2, 20). Wraz z wiekiem samic zmniejsza się stopień przeżywalności embrionów. W badaniach Balla (3) u krów w 1-iej laktacji śmierć zarodków wystąpiła w 3,3%, natomiast u krów w 4-tej laktacji i starszych w 15,1%.

Przyczyny środowiskowe także odgrywają rolę w powstaniu strat zarodkowych (1, 2, 5, 53). Należy tu wymienić niepełnowartościowe żywienie, wpływy klimatyczne, unasiennianie samic we wczesnej ciąży, a także bezpośrednie oddziaływanie takich czynników, jak związki chemiczne (np. pestycydy), promieniowanie jonizujące, czy mikroorganizmy. Wśród tych ostatnich wirusom przypisuje się działanie toksyczne, mutagenne i teratogenne (53). Ball (5) oraz Grahn i wsp. (29) stwierdzili gorszą przeżywalność embrionów u krów zakażonych wirusami BVD i IBR. Podobnie przy infekcjach bakteryjnych, np. *Haemophilus somnus* (34) notuje się obniżoną przeżywalność zarodków.

Trucizny pochodzenia roślinnego mogą być także czynnikiem embriotoksycznym. Keeler (35) sugeruje wysoką śmiertelność zarodkową u owiec karmionych paszą zawierającą *Veratrum californicum*.

Kolejną przyczyną omawianego zjawiska są zaburzenia w wydzielaniu hormonów, szczególnie progesteronu (27, 41, 52) i LH (18, 52), ale także deficyt FSH i estrogenów, czego konsekwencją jest niedostateczne przygotowanie śluzówki macicy do odżywiania blastocyst (37). Villahoz i wsp. (57) donoszą o wyższej obumieralności zarodkowej u kłaczki, którym przednio podawano sterydy anaboliczne. Stany stresowe mogą także powodować pogorszenie przeżywalności zarodków (10, 22).

Z praktycznego punktu widzenia należy wyróżnić naturalną obumieralność zarodków (19, 50, 53), będącą jednym z czynników rozwoju ewolucyjnego oraz mechanizmem ochrony gatunkowej dokonującym selekcji genotypowej. U samic gatunków należących z natury do jednopłodowych, jak np. konie dochodzi do eliminacji dodatkowych zarodków (17). Ponadto występuje drugi rodzaj obumieralności wynikający z przyczyn zewnętrznych omówionych wyżej. Ta część strat zarodkowych, będąca istotnym problemem ekonomicznym, może zostać ograniczona przez właściwe postępowanie wynikające z wiedzy o tym zagadnieniu.

Piśmiennictwo

1. Agalon N.: J. Reprod. Fert. 54, 1978, 483.
2. Agalon N.: Zuchthygiene 16, 1981, 57.
3. Ball P. J. H.: Res. Vet. Sci. 25, 1978, 120.
4. Ball P. J. H.: Br. vet. J. 138, 1982, 146.
5. Ball P.: In Practice 5, 1983, 189.
6. Ball P. J. H., Morant S. V.: Anim. Prod. 26, 1978, 357.
7. Barth T.: Tierhyg. Inform. 14, 45, 1982.
8. Barth T., Horsch F.: Mh. Vet-Med. 37, 1982, 725.

9. Beer A. E., Billingham R. E.: Ciba Found. Symp. 64, Exc. Med. Amsterdam 1979, s. 393.
10. Biggers B. G., Geisert R. D., Wetteman R. P., Buchanan D. S.: J. Anim. Sci. 61, 1987, 1512.
11. Bishop M. W. H.: J. Reprod. Fert. 7, 1964, 383.
12. Boyd H., Bacsich P., Yuong A., Mc Cracken J. A.: Br. vet. J. 125, 1969, 37.
13. Boyd J. S., Omran S. N., Ayliffe T. R.: Vet. Rec. 123, 1988, 8.
14. Bulman D. C.: Vet. Rec. 3, 1979, 420.
15. Bulman D. C., Lamming G. E.: Br. vet. J. 135, 1979, 559.
16. Burfening P. J., Fridrick R. L., van Horn J. L.: Theriogenology 7, 1977, 285.
17. Chevalier-Clement F.: Anim. Reprod. Sci. 20, 1989, 231.
18. Christie W. B., Newcomb R., Rowson L. E. A.: J. Reprod. Fert. 58, 1979, 701.
19. Davtd J. S. E., Bishop M. W. H., Cembrowicz H. J.: Vet. Rec. 89, 1971, 181.
20. Deas D. W.: Vet. Rec. 30, 1976, 450.
21. Diskin M. G., Sreenam J. M.: J. Reprod. Fert. 59, 1980, 463.
22. Drost M., Thatcher W. W.: Vet. Clin. North. Amer. 3, 1987, 609.
23. Evison B., Nancarrow C., Morton H., Scaramuzzi R., Clunie J. A.: Theriogenology 8, 1977, 157.
24. Fiolka G., Kuller H.-J., Lender S.: Mh. Vet.-Med. 40, 1985, 835.
25. Fischer-Arnstadt A. R., Arnstadt K. J.: Tierzüchter 36, 1984, 247.
26. Foote R. H., Oltenacu E. A. B., Kummerfeld H. L., Smith R. D., Riek P. M., Braun R. K.: Br. vet. J. 135, 1979, 550.
27. Ginther O. J.: Theriogenology 24, 1985, 87.
28. Ginther O. J., Bergfeld D. R., Leith G. S., Scraba S. T.: Theriogenology 24, 1985, 73.
29. Grahn T. C., Fahning M. L., Zemjanis R.: J. Am. Vet. Med. Ass. 185, 1984, 429.
30. Gustafsson H., Larsson K.: Acta Vet. Scand. 24, 1983, 59.
31. Gustafsson H., Larsson K.: Res. Vet. Sci. 39, 1985, 271.
32. Holtz W., Brackel A. V., Küster J.: Zbl. Vet. Med. 33, 1986, 321.
33. Hühn U., Schneider F., Lutter K.: Tierhyg. Inform. 15, 1983, 61.
34. Kaneene J. B., Coe P. H., Gibson C. D., Yamini B., Morrow D. A., Martinez R. O.: Theriogenology 27, 1987, 737.
35. Keeler R. F.: Cornell Vet. 80, 1990, 103.
36. Koch E., Morton H., Niemann H., Ellendorf F.: Acta Endocrinol. Suppl. 246, 1982, 4.
37. Kolb E.: Mh. Vet.-Med. 33, 1978, 191.
38. Mac Farlane J. S., Booth J. M., Deas D. W., Lowman B. W.: Vet. Rec. 100, 1977, 565.
39. Maurer R. R., Chenault J. R.: J. Anim. Sci. 56, 1983, 1186.
40. Maurer R. R., Foote R. H.: J. Reprod. Fert. 31, 1972, 15.
41. Mc Carthy S. M., Foote R. H., Maurer R. R.: Fertil. Steril. 28, 1977, 101.
42. Merkt H.: Tierärztl. Umschau 49, 1985, 428.
43. Morton H., Morton D. J., Ellendorf F.: J. Reprod. Fert. 68, 1983, 437.
44. Nancarrow C. D., Evison B. M., Scaramuzzi R. J., Turnbull K. E.: J. Reprod. Fert. 57, 1979, 385.
45. Nancarrow C. D., Wallace A. L. C., Grewal A. S.: J. Reprod. Fert. Suppl. 30, 1981, 191.
46. Pope G. S., Hodgson-Jones L. S.: Vet. Rec. 96, 1975, 154.
47. Roche J. F., Boland M. P., Mc Geedy T. A.: Vet. Rec. 109, 1981, 411.
48. Scherbarth R.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 87, 1980, 189.
49. Shemesh M., Ayalon N., Lindner H. R.: J. Reprod. Fert. 15, 1968, 161.
50. Short R. V.: Ciba Found. Symp. 64, Exc. Med., Amsterdam 1979, s. 377.
51. Smart Y. C., Roberts T. K., Clancy R. L., Gipps A. W.: Fertil. Steril. 35, 1981, 397.
52. Sreenam J. M., Diskin M. G.: Vet. Rec. 28, 1983, 517.
53. Stolla R.: Berl. Munch. tierärztl. Wschr. 98, 1985, 197.
54. Weigelt B., Weigelt R.: Tierhyg. Inform. 15, 1983, 31.
55. Wijeratne W. V. S.: Anim. Prod. Sci. 16, 1973, 251.
56. Wolf P., Eulenberger K., Schulz J., Richter A., Tietze H.-J.: Tierhyg. Inform. 15, 1983, 18.
57. Villahoz M. D., Squires E. L., Voss J. L., Shideler R. K.: Theriogenology 23, 1985, 915.
58. Youngquist R. S., Braun W. F.: J. Am. Vet. Med. Ass. 189, 1986, 411.

Adres autora: dr Andrzej Max, ul. Hawajska 12 m. 27, 02-776 Warszawa

LUIZA DUSZA, JERZY SOBCZAK, BARBARA JANA,
ADAM MURDZA *, WŁADYSŁAW BLUJ **

Zastosowanie Biolactinu-2 (oczyszczona prolaktyna świni) do stymulacji laktacji u loch *)

Zakład Endokrynologii Rozrodu Zwierząt Centrum Agrotechnologii i Weterynarii PAN,
Kortowo 37, 10-718 Olsztyn, skr. pocz. 55
* Przemysłowa Ferma Tuczu Trzody Chlewnej w Bieganowie, 66-630 Cybinka
** Ferma Tuczu Trzody Chlewnej w Białym Dworze, 14-510 Orneta

Summary

Application of Biolactin-2 (purified porcine prolactin) in stimulation of lactation in sows

Biolactin-2 preparation containing 5.0 mg of porcine prolactin (pPRL) purified from porcine pituitaries was used to stimulate lactation in sows with periparturient agalactia and in healthy primiparous and multiparous sows. Immunological activity of Biolactin-2 approached that of the PRL standard.

It was found that a single intramuscular injection of Biolactin-2 effectively stimulates milk ejection in sows with mastitis-metritis-agalactia syndrom (MMA). Performance of piglets treated with a single or double dose of Biolactin-2 and as well as that of healthy ones was similar. A single administration of Biolactin-2 to healthy primiparous sows on the 1st day after farrowing significantly increased daily body gains of their litter in the first two weeks of life. This effect was not observed in multiparous sows.

Prolaktyna (PRL) jest hormonem przedniego płata przysadki mózgowej niezbędnym do zapoczątkowania laktacji oraz prawidłowego jej przebiegu. Wyniki wcześniejszych badań wykazały, że u loch 2—3 dni przed porodem poziom PRL we krwi obwodowej zaczyna narastać, osiągając maksymalne wartości podczas

porodu (4, 6, 17, 18). W czasie laktacji poziom PRL jest wysoki, z tym, że stopniowo obniża się, lecz ciągle pozostaje znacznie wyższy od podstawowego poziomu podczas cyklu rujowego (3, 5). Obniżenie poziomu PRL u loch spowodowane podaniem bromokryptyny (agonista dopaminy) hamowało laktację, lecz nie zakłócało akcji porodowej (16).

Smith i Wagner (14, 15) zaobserwowali obniżenie poziomu PRL u loch po podskórnym podaniu niewielkich dawek endotoksyn *Escherichia coli* drugiego dnia po porodzie. Przyrosty prosiąt karmionych przez te lochy były istotnie niższe, co wskazywało na obniżoną sekrecję mleka. Kliniczne objawy zespołu bezmleczności poporodowej zaobserwowali wcześniej Nachreiner i wsp. (9, 10) jako skutek egzogenego podania endotoksyn *Escherichia coli*.

Cytowane powyżej wyniki badań nasuwały przypuszczenie, że jedną z głównych przyczyn obniżonej sekrecji mleka przy zespole bezmleczności porodowej u loch jest znaczne obniżenie poziomu PRL we krwi. W niniejszej pracy celem pobudzenia wytwarzania mleka podawano lochom z objawami bezmleczności poporodowej egzogenną PRL. Pozytywne wyniki badań skłoniły autorów do sprawdzenia, czy egzogenna PRL spowoduje zwiększenie sekrecji mleka u zdrowych loch pierwiastek i wieloródek.

*) Praca wykonana w ramach CPBP 05.04.