

MAREK TISCHNER, JÓZEF NIEZGODA*

Próba oceny wpływu masażu jajników na długość zimowego anestrus i cyklu rujowego u klaczy*)

Katedra Rozrodu Zwierząt i *Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-150 Kraków

Summary

An attempts to evaluate the effect of ovaries' massage on longevity of winter anestrus and estrus cycle in mares

The objective of the work was to establish the effect of an ovaries hand massage on the reproductive activity and hormonal changes during winter anestrus and luteal phase of estrous in mares. The examinations were done on 10 mares (Polish pony) in January 1992 during winter anestrus and in August 1993 during luteal phase of estrous cycle (diestrus), divided into 2 groups: experimental and control. In the experimental group ovaries were massaged ever day for 30 sec. Sexual behavior of mares was checked every day with the help of a stallion, ovaries were examined *per rectum* and by USG. The level of progesterone and estradiol was determined every second day in venous blood (from the external jugular vein).

It was found that ovarial massage did not significantly affect reproductive activity and hormonal activity of ovaries during winter anestrus. A possibility of shortening of estrus during reproductive season during the luteal phase of estrous (diestrus) was found.

Klaczki zaliczane są do samic sezonowo poliestralnych. U większości z nich późną jesienią, podczas skracającego się dnia świetlnego następuje zanik aktywności rozrodczej określany jako zimowy *anestrus*. Przekazywanie informacji o zmniejszającej się długości dnia do układu podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowego odbywa się za pośrednictwem szyszynki. Wzrost aktywności tego gruczołu i uwolnienie melatoniny jest bezpośrednio związany z wystąpieniem *anestrus* (10, 17). Zanika aktywność układu podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowego. Obniża się synteza GnRH w podwzgórzu jak również LH w części gruczołowej przysadki. Gwałtownie maleje także sekrecja tych hormonów (4, 8, 18, 19, 20, 22) i zahamowana zostaje synteza i uwalnianie hormonów jajnikowych (5, 16). W tym czasie jajniki są małe (3×2×2 cm), o zbitej i twardej konsystencji z dobrze wyczuwalnym dołkiem owulacyjnym.

W hodowli koni 1 styczeń stanowi oficjalną datę rejestracji urodzonych źrebiąt, przez co sztucznie przyspiesza się sezon rozrodczy. Zażrebianie klaczy zimą jest zatem wbrew ich fizjologicznym uwarunkowaniom. Skrócenie zimowego *anestrus*, które trwa z reguły 3-4 miesiące można uzyskać przez zastosowanie sztucznie przedłużonego dnia świetlnego (12). Na tej drodze nie udało się jednak zwiększyć liczby zarodków

od klaczy (11). W poszukiwaniu innych sposobów przyspieszenia sezonu stosowano hormon podwzgórza GnRH. W ten sposób niekiedy przyspieszono wystąpienie owulacji (7, 15), ale tylko w tych przypadkach, gdy jajniki klaczy zawierały pęcherzyki o średnicy co najmniej 25 mm średnicy (1).

Badania przeprowadzone na innych zwierzętach wykazały z kolei, że regulacja funkcji jajników może się odbywać poprzez zmiany w ilości krwi przepływającej przez jajnik, a także przez stymulację autonomicznego układu nerwowego (9). Napotkano również na informacje dotyczące leczenia klaczy nie wykazujących rui poprzez manualny masaż jajników (3).

W oparciu o powyższe uznano za celowe przeprowadzenie bardziej szczegółowych badań nad wpływem ręcznego masażu jajników klaczy na ich aktywność rozrodczą i zmiany hormonalne w okresie zimowego *anestrus* oraz podczas sezonu w lutealnej fazie cyklu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na klaczach rasy konik polski, w wieku 5-18 lat. Wszystkie klaczki utrzymywane były w tych samych warunkach pomieszczenia i jednakowo żywione. Pierwszą część doświadczenia wykonano w okresie zimy (styczeń 1992) podczas zimowego *anestrus* klaczy, a drugą w lecie (sierpień 1993) w czasie gdy klaczki wykazywały normalną aktywność rozrodczą i były w lutealnej fazie cyklu (*diestrus*).

W zimie wybrano 10 klaczy spośród 16, które przez co najmniej 30 dni nie wykazywały rui. Miały małe i twarde jajniki oraz nie przejawiały rui po podaniu prostaglandyny PGF_{2α} (Oestrophan), a poziom progesteronu w osoczu krwi nie przekraczał u nich 1 ng/ml. Klaczki podzielono na dwie grupy, z których 5 stanowiło doświadczalną, a pozostałe 5 grupę kontrolną. Klaczki doświadczone poddawano codziennie masażowi jajników, trwającemu po 30 sek.

Drugą część badań wykonano na 10 klaczach wykazujących regularny cykl, z których 5 stanowiło grupę doświadczalną, a 5 kontrolną. Od 6 dnia cyklu (dzień owulacji 0) klaczki doświadczone poddawano codziennie masażowi jajników podobnie jak w pierwszej części doświadczenia.

Zachowanie płciowe wszystkich klaczy badano przez codzienne „próby ogierem”, a stan jajników badano manualnie przez prostnicę oraz przy pomocy ultrasonografu (Ultra-vision, z głowicą 5 MHz). Co drugi dzień pobierano od klaczy krew (po 10-12 ml) z żyły szyjnej zewnętrznej celem oznaczania progesteronu i estradiolu w osoczu. Stosowano metody radioimmunologiczne, używając zestawu Progesterone J¹²⁵ i Estradiol J¹²⁵, firmy „Spectria”, Finlandia.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie stosując test t-Studenta oraz jednoczynnikową analizę wariancji i test istotności Duncana (14).

Wyniki i omówienie

Masaż jajników podczas zimowego *anestrus* klaczy nie miał istotnego wpływu na przyspieszenie sezonowej aktywności

*) Praca finansowana przez KBN w ramach projektu nr 50698 9101

Tab. 1. Stężenie estradiolu (ng/ml) w osoczu krwi klaczy po masażu jajników podczas zimowego *anestrus* ($\bar{x} \pm s$)

Kolejny dzień masażu jajników (styczeń)	Klacz	
	kontrolne (n=5)	doświadczalne (n=5)
2	9,0 ± 1,6	13,9 ± 3,1
4	8,6 ± 1,5	14,3 ± 3,5
6	10,1 ± 1,6	14,4 ± 4,2
8	9,2 ± 1,2	14,9 ± 3,2
10	7,3 ± 1,2	12,5 ± 2,5
12	5,5 ± 1,5	13,1 ± 3,7*
14	5,1 ± 1,6	9,1 ± 1,9
16	4,3 ± 1,3	8,1 ± 3,6
18	5,7 ± 1,5	14,4 ± 6,1*
20	5,7 ± 1,1	10,5 ± 4,1
22	4,7 ± 1,8	13,5 ± 3,4*
24	4,1 ± 1,2	10,2 ± 3,2
26	4,4 ± 1,5	10,9 ± 4,3
28	4,7 ± 1,0	8,7 ± 2,5
30	4,0 ± 1,1	7,6 ± 3,2

Objaśnienie: * – różnica istotna w stosunku do wartości kontrolnej przy $\leq 0,05$.

rozrodczej klaczy. Okres bezruiowy liczony od ostatniej owulacji do wystąpienia zewnętrznych objawów rui i pojawienia się pęcherzyków jajnikowych o średnicy powyżej 30 mm, wynosił u klaczy doświadczalnych $133,8 \pm 8,2$ dni, a u kontrolnych $146,2 \pm 2,9$ dni ($p > 0,05$). Wszystkie klacze przez cały czas doświadczenia nie wykazały objawów „niesezonowej” rui, obserwowanej niekiedy u klaczy w tym okresie (6). W czasie stosowania masażu stwierdzono jednak pojawienie się w jajnikach małych pęcherzyków, których średnica wahała się od 15 do 17 mm. Obserwowano również u klaczy doświadczalnych nieco wyższe stężenie estradiolu w porównaniu do klaczy grupy kontrolnej. Różnice te w 11, 17 i 20 dniu stosowania masażu okazały się statystycznie istotne (tab. 1). Stężenie progesteronu u wszystkich klaczy było bardzo niskie i wahało się od 0,2 do 0,4 ng/ml. Obniżenie stężenia estradiolu i progesteronu do tak niskich wartości (na granicy czułości metody oznaczania) w czasie *anestrus* obserwowali również u klaczy inni autorzy (5, 16). W wyniku dalszych badań okazało się, że liczba otrzymanych w sezonie zarodków od klaczy doświadczalnych nie odbiegała od liczby z poprzednich lat jak również od klaczy kontrolnych.

W drugiej części doświadczenia, przeprowadzonego w okresie lata podczas lutealnej fazy cyklu (*diestrus*), wykazano, że poprzez masaż jajników można skrócić długość cyklu rujowego i wywołać nieco wcześniej owulację. U klaczy doświadczalnych ok. 5 dnia stosowania masażu jajników zaobserwowano wystąpienie pierwszych objawów rujowych, a cykl zakończony owulacją wynosił u nich $17,4 \pm 1,5$ dni.

U klaczy kontrolnych cykl był dłuższy i wynosił $21,4 \pm 1,2$ dni. Różnica ta nie była jednak statystycznie istotna ($p > 0,05$). Podobne skrócenie cyklu uzyskuje się również stosując u klaczy iniekcje syntetycznej prostaglandyny (Equimate lub Estrumate) w 7-8 dniu po owulacji (2). Zmiany stężenia progesteronu i estradiolu w osoczu krwi były zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (13, 21) i odzwierciedlały zmiany zachodzące w jajnikach określane badaniem palpacyjnym i przy pomocy USG (tab. 2 i 3).

Tab. 2. Średnie stężenie progesteronu (ng/ml) w osoczu krwi klaczy po masażu jajników w czasie cyklu rujowego

Klacz	Dzień cyklu									
	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25
Kontrolne	11,4	8,8	8,8	5,1	5,3	1,4	0,2	0,2	0,3	0,5
n	5	5	5	5	5	5	5	3	3	1
Doświadczalne	9,6	6,9	5,9	4,8	2,5	0,5	0,2	0,1	0,1	0,2
n	5	5	5	5	5	3	3	3	2	1

Objaśnienie: n – liczba obserwacji w danym dniu.

Tab. 3. Średnie stężenie estradiolu (ng/ml) w osoczu krwi klaczy po masażu jajników w czasie cyklu rujowego

Klacz	Dzień cyklu									
	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25
Kontrolne	37,2	36,4	35,3	36,2	41,2	45,4	52,8	59,6	63,9	42,7
n	5	5	5	5	5	5	5	3	3	1
Doświadczalne	36,9	34,3	40,5	40,6	46,1	40,3	52,4	52,9	82,9	68,8
n	5	5	5	5	5	3	3	3	2	1

Objaśnienie: jak w tab. 1.

Podsumowując można stwierdzić, że masaż jajników nie wywarł istotnego wpływu na czynność hormonalną jajników w okresie zimowego *anestrus*. Zanotowano natomiast możliwość skrócenia długości cyklu rujowego poprzez manualny masaż jajników w czasie sezonu, gdy jajniki są w lutealnej fazie cyklu (*diestrus*).

Piśmiennictwo

1. Allen W. R., Sanderson M. W., Greenwood R. E. S., Ellis D. R., Crowhurst J. S., Simpson D. J., Rossdale P. D.: J. Reprod. Fert. Suppl. 35, 469, 1987.
2. Bielański W., Tischner M., Ganowicz M.: Medycyna Wet. 33, 485, 1977.
3. Czerwinka B.: Mat. Symp. Rozród Koni, Kraków, 1991, s. 32.
4. Davis S. P., Sharp D. C., Grubaugh W. R.: Biol. Reprod. Suppl. 1, 34, 143, 1986.
5. Davis S. D., Grubaugh W. R., Weithenauer J.: J. Biol. Reprod. Suppl. 1, 36, 121, 1987.
6. Ginther O. J.: Am. J. Vet. Res. 35, 1173, 1974.
7. Ginther O. J., Bergfelt D. R.: J. Reprod. Fert. 88, 119, 1990.
8. Hart P. J., Squires E. L., Imel K. J., Nett T. M.: Biol. Reprod. 30, 1055, 1984.
9. Jaroszewski J., Kotwica J.: Medycyna Wet. 48, 184, 1992.
10. Kilmer D. M., Sharp D. C., Berglund L. A., Grubaugh W., McDowell K. J., Peck L. S.: J. Reprod. Fert. Suppl. 32, 303, 1982.
11. Kot K., Tischner M.: Theriogenology 36, 357, 1991.
12. Loy R. G.: Effects of artificial lighting regimes on reproduction patterns in mares, Proc. Ann. Conf. Am. Ass. Equine Pract. 1968, s. 159.
13. Nelson E. M., Kiefer B. L., Roser J. F., Evans J. W.: Theriogenology 23, 241, 1987.
14. Oktaba W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalnictwa, PWN, Warszawa, 1976.
15. Palmer E., Queller P.: Int. Congr. Anim. Reprod. A, I., Dublin 5, 339, 1988.
16. Seamans K. W., Sharp D. C.: J. Reprod. Fert. Suppl. 32, 225, 1982.
17. Sharp D. C.: Equine Vet. J. 20, 159, 1988.
18. Sharp D. D., Grubaugh W. R.: J. Reprod. Fert. Suppl. 35, 293, 1987.
19. Silva P. J., Squires E. L., Nett T. M.: Biol. Reprod. 35, 897, 1986.
20. Silva P. J., Squires E. L., Nett E. L.: J. Anim. Sci. 64, 790, 1987.
21. Sirois J., Ball B. A., Fortune J. E.: Equine Vet. J. Suppl. 8, 43, 1989.
22. Strauss S. S., Chen C. L., Kalra S. P., Sharp D. C.: J. Reprod. Fert. Suppl. 27, 123, 1979.

Adres autora: Iek. wet. Marek Tischner, ul. Jodłowa 12, 30-250 Kraków