

ANDRZEJ MAX, PIOTR JURKA, MACIEJ WITKOWSKI, MONIKA PTASZYŃSKA,  
ZDZISŁAW BORYCZKO, KATARZYNA ROMANOWICZ-BARCIKOWSKA\*

# Próba wywołania ograniczonej polioowulacji u jałówek

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

\*Instytut Fizjologii i Żywnienia Zwierząt PAN, ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna k/Warszawy

## Summary

### An attempt to induce a limited polioovulation in heifers

The objective of the studies was to control the number of ovulations of the ovarian vesicle in cows using a single injection of Neutra-PMSG at the medial luteal phase. The studies were done on 35 cross-breed heifers of a mean body weight of 370 kg in four groups (group I to III, 10 animals each, group IV – 5 heifers). PMSG was injected at the medial luteal phase at a dose 1000 iu (group I and II), 500 iu (group III) and 750 iu (group IV). After two days the animals were injected with a luteolytic dose of PGF 2 $\alpha$ . The animals from group II were intravenously injected monoclonal antibodies against PMSG at a dose neutralizing 1000 iu PMSG on day 4 after the injection of PMSG (2nd day after the injection of PGF 2 $\alpha$ ). Ovulation was estimated after slaughter on the basis of a morphologic examination of ovaries on days 12-15 after the injection of PMSG.

Polioovulation developed in 15 heifers and it was strictly dependent on the dose used. Only in 1 heifer (group II and IV) 4 yellow bodies were noted, in the remaining heifers polioovulation was absent. To induce polioovulation 1000 iu PMSG should be accepted as the limit for a single dose. In group I an increased number of ovarian cysts of thick wall vesicles of diameter > 15 mm was observed. In group III the number of ovarian cysts was three times lower; a mean of 0.3 per 1 heifer. One can suppose that a decrease in number of ovarian cysts in this group in comparison to group I resulted from the injection of anti – PMSG antibodies, which blocked this gonadotrophin at the post-ovulation period. Animals from both groups received identical dose of PMSG.

Poszukiwania możliwości sterowania rozrodem zwierząt spowodowały rozwój metod oddziaływania na przebieg cyklu jajnikowego i owulację określanych jako biotechnologia rozrodu. Wśród nichoczesne miejsce zajmuje zastosowanie agonistów lub antagonistów hormonów i neurohormonów działających na osi podwzgórze – przysadka mózgowa – jajniki. U bydła w przebiegu naturalnego cyklu jajnikowego dochodzi z reguły do owulacji pojedynczej. Częstotliwość występowania owulacji podwójnych wynosi u tego gatunku kilkanaście procent, jednak odsetek urodzonych bliźniąt jest znacznie

niższy, sięgając kilku procent (10, 15, 20). Stymulacja jajników ma na celu uzyskanie w jednym cyklu zwiększonej liczby oocytów zdolnych do zapłodnienia *in vivo* lub *in vitro*. Używane są najczęściej preparaty FSH (12, 13, 21, 22) lub PMSG (1, 9, 11, 23). Procedury stosowania FSH wymagają najczęściej 2 iniekcji dziennie przez 4 lub 5 dni w zmniejszających się dawkach, aczkolwiek były również podejmowane próby jednorazowej aplikacji tego hormonu z dość zachęcającymi rezultatami (25, 26). Z kolei PMSG podaje się zwykle w pojedynczej iniekcji, chociaż stosowano też dawki dwukrotne w odstępie 24 godzin (6). Ponieważ PMSG posiada relatywnie długi (kilkudniowy) okres półtrwania, to stosowanie tego hormonu wiąże się z możliwością wystąpienia takich niekorzystnych zjawisk, jak obecność dużych nieowulujących pęcherzyków i cyst jajnikowych i poowulacyjny wzrost stężenia krążących estrogenów. W celu przeciwdziałania tym niepożądanym następstwom przedłużonego działania PMSG stosowano neutralizujące ten hormon przeciwciała poli- lub monoklonalne wprowadzane dożylnie w odpowiednim terminie (2, 3, 4, 8, 11, 14, 18). Efekty takiego postępowania były zróżnicowane. O ile superowulacja jest skierowana na uzyskanie maksymalnej liczby dojrzewających pęcherzyków u jednej krowy, o tyle ograniczona polioowulacja ma na celu sterowanie liczebnością pęcherzyków zdolnych do owulacji w zbliżonym czasie. Przegląd metod podano wcześniej (19).

Celem badań była ocena możliwości sterowania liczebnością owulacji pęcherzyków jajnikowych u bydła za pomocą jednorazowej iniekcji PMSG w środkowej fazie lutealnej z zastosowaniem Neutra-PMSG.

## Material i metody

Do badań wykorzystano 35 jałówek krzyżówek cb o średniej wadze 370 kg. Synchronizację rui przeprowadzono za pomocą dwukrotnej iniekcji PGF 2 $\alpha$  w odstępie 11 dni. Zwierzęta podzielono na 4 grupy (10 – gr. I, 10 – gr. II, 10 – gr. III i 5 – gr. IV). Po 12 dniach od drugiej iniekcji PGF 2 $\alpha$  podano jałówkom PMSG (Serogonadotropin – Biowet Drwalew) w dawkach: 1000 IU (gr. I i II), 500 IU (gr. III) i 750 IU (gr. IV). W 2 dni później zwierzęta otrzymały luteolityczną dawkę PGF 2 $\alpha$ . Jałówkom grupy

II w 2 dni po iniekcji PGF 2 $\alpha$ , czyli w 4 dni po iniekcji PMSG, podano przeciwciała monoklonalne anty-PMSG (Neutra PMSG Interwet) dożylnie w dawce neutralizującej 1000 IU PMSG. W trakcie doświadczenia jajniki jałówek były systematycznie badane palpacyjnie i ultrasonograficznie (Aloka SSD 210 DX II z głowicą linearną 5 MHz). Pobierano krew obwodową do oznaczeń hormonalnych. Poziom progesteronu oznaczano metodą RIA, poziom estradiolu zaś metodą EIA (Serono Diagnostics). Jałówki poddano ubojowi w fazie lutealnej cyklu jajnikowego (12-15 dni po iniekcji PMSG), jajniki izolowano i opisywano ich morfologię.

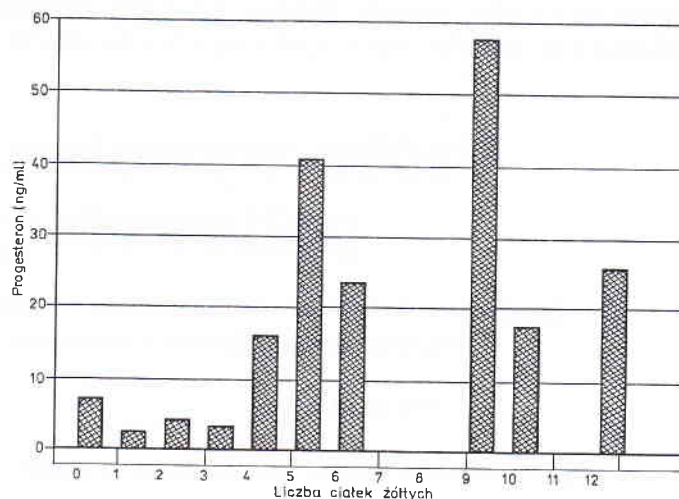
## Wyniki i omówienie

Zastosowana w doświadczeniu procedura zakłada rozpoczęcie stymulacji jajników (iniekcja PMSG) w środkowej fazie lutealnej. U 34 zwierząt stwierdzono owulację na 6-12 dni (średnio 9 dni) wcześniej. 32 jałówki posiadały w momencie podania PMSG czynne ciała żółte, u 3 zaś (po 1 w grupach I, II i III) poziom progesteronu był niski (< 1 ng/ml) i u żadnej z nich nie doszło do poliowulacji. Ocena przebytej owulacji przeprowadzono na podstawie morfologicznego badania wyizolowanych jajników jałówek. Wyniki przedstawia tab. 1.

Efekt stymulacyjny jest wprost proporcjonalnie uzależniony od zastosowanej dawki gonadotropiny w zakresie do 4500 IU (6, 11), podczas gdy wyższe dawki PMSG wykazują efekt hamujący (23). W badaniach własnych poliowulacja wystąpiła łącznie u 15 zwierząt i była ściśle związana z wysokością dawki. W grupach III i IV łącznie tylko u 1 jałówki stwierdzono obecność 4 ciałek żółtych, u pozostałych zwierząt owulacja mnoga nie wystąpiła. W grupach I i II, w których zastosowano 1000 IU PMSG poliowulacja wystąpiła u 70% zwierząt, u których liczba ciałek żółtych wahała się między 4 a 9 (gr. I) i 2 a 12 (gr. II). Wynika stąd, że jako graniczną jednorazową dawkę PMSG zdolną do wywołania poliowulacji według zastosowanej metody należy przyjąć 1000 IU. Jest ona zbliżona do dawki 1250 IU uznanej przez Buscha i wsp. (6) za opty-

Tab. 1. Wyniki poliowulacji u jałówek (w 12-15 dni po iniekcji PMSG)

Grupa	I (n=10) PMSG 1000	II (n=10) PMSG 1000 anty-PMSG	III (n=10) PMSG 500	IV (n=10) PMSG 750
Liczba ciałek żółtych	4,7 + 2,9	4,4 + 3,8	1,3 + 0,9	1,0 + 0,0
% owulacji mnogich	70	70	10	0
Śr. liczba cyst/zwierzę	0,9	0,3	0	0,4



Ryc. 1. Zależność poziomu progesteronu od liczby ciałek żółtych

malną do indukowania poliowulacji mającej na celu uzyskanie ciąży bliźniaczych.

W badaniach własnych potwierdzono opinię innych autorów o indywidualnym zróżnicowaniu odpowiedzi na egzogenną gonadotropinę (1, 6, 9), co wyraziło się stosunkowo dużą rozpiętością liczebności owulacji po relatywnie niskiej (progowej) dawce PMSG.

Ostatnio w poszukiwaniu skuteczniejszych metod biotechnologicznych dużą uwagę zwraca się na hamujący wpływ pęcherzyka dominującego na odpowiedź superowulacyjną (5, 7, 16, 17). W niniejszym doświadczeniu stymulację podjęto średnio około 9 dnia cyklu jajnikowego. W tym czasie stwierdzono na podstawie badań ultrasonograficznych obecność u wszystkich jałówek dużych pęcherzyków jajnikowych (8-16 mm), będących praktycznie pęcherzykami dominującymi pierwszej fali wzrostu. Być może przy wdrożeniu procedury stymulacyjnej bez udziału tego pęcherzyka, to znaczy albo przed jego wyselekcjonowaniem albo po jego celowym unieczynnieniu (luteinizacja lub destrukcja) można byłoby uzyskać efekt poliowulacji przy użyciu niższych dawek PMSG i przez to ograniczyć zmienność w zakresie liczebności owulacji.

W grupie I zanotowano największą liczbę cyst jajnikowych, do których zaliczono twory pęcherzykowe grubościennie i pęcherzyki o średnicy > 15 mm. Średni poziom estradiolu we krwi obwodowej tych zwierząt wyniósł 7,8 pg/ml, podczas gdy u pozostałych jałówek tej grupy jego średnia wartość wyniosła 0,66 pg/ml. W grupie II liczba cyst była trzykrotnie niższa, wynosząc średnio 0,3 na 1 jałówkę. Poziom estradiolu w II grupie u zwierząt z cystami wyniósł średnio 0, podczas gdy u pozostałych jałówek osiągnął średnio 6,2 pg/ml. Można domniemywać, że na zmniejszenie liczby cyst jajnikowych w tej grupie w porównaniu z grupą I, pomimo zastosowania tej samej dawki PMSG miało wpływ podanie przeciwciał anty-PMSG blokujących

te gonadotropinę w okresie poowulacyjnym, co jest zbieżne z wynikami uzyskanymi przez różnych autorów (2, 4, 9, 11, 24, 27).

Poziomy progesteronu oznaczanego w dniu badania morfologicznego jajników przedstawiono na ryc. 1. Były one proporcjonalne do liczby ciałek żółtych, co jest zgodne z wynikami innych badań (3, 11, 23). U zwierząt, które w dniu badania morfologicznego posiadały na jajnikach 1 ciało żółte (n=19) poziom progesteronu wahał się w granicach 0,02 – 9,5 (śr. 2,6). U jałówek o liczbie ciałek żółtych przekraczającej 3 najniższe stężenie progesteronu wyniosło 10,0 ng/ml i wydaje się, że można je przyjąć jako wartość graniczną świadcząca o przebytej mnogiej owulacji przy dokonaniu oznaczenia w terminie 12-15 dni po stymulacji za pomocą PMSG.

### Wnioski

1. 1000 j PMSG podanych w środkowej fazie lutealnej jest dawką progową dla wywołania poliowulacji u jałówek krzyżówek rasy cb.

2. Poziom progesteronu we krwi obwodowej 10 ng/ml (mierzony RIA) w 12-15 dni po iniekcji PMSG świadczy o przebytej mnogiej owulacji.

3. Zastosowanie przeciwciał Neutra-PMSG zmniejsza ryzyko obecności na jajnikach dużych tworów pęcherzykowych w okresie poowulacyjnym.

### Piśmiennictwo

1. Bevers M. M., Dieleman S. J.: Anim. Reprod. Sci. 15, 37, 1987.
2. Boryczko Z., Bostedt H.: Reprod. Dom. Anim. 25, 127, 1990.
3. Boryczko Z., Bostedt H., Gajewski Z., Witkowski M., Hoffmann B.: Pol. Arch. wet. 34, 117, 1994.

4. Boryczko Z., Bostedt H., Hoffmann B.: Proc. 12-th Congr. Anim. Reprod., The Hague, The Netherlands, August 23-24, 1992, s. 184.
5. Bungartz L., Niemann H.: Theriogenology 39, 198, 1993.
6. Busch W., Belka W., Grajcarek K., Scholz G.: Mh. Vet.-Med. 42, 812, 1987.
7. Calder M., Rajamahendran R.: Proc. 12-th Congr. Anim. Reprod., The Hague, The Netherlands, August 23-24, 1992, s. 196.
8. Callesen H., Bak A., Greve T.: Theriogenology 38, 959, 1992.
9. Dieleman S. J., Bevers M. M., Vos P. L. A. M., de Loos F. A. M.: Theriogenology 39, 25, 1993.
10. Echternkamp S. E.: J. Anim. Sci. 70, 2309, 1992.
11. Gonzalez A., Wang H., Carruthers T. D., Murphy B. D., Mapletoft R. J.: Theriogenology 41, 1631, 1994.
12. Guilbault L. A., Lussier J. G., Grasso F.: Theriogenology 37, 1029, 1992.
13. Jaśkowski J. M., Hutnikiewicz I. M., Lewandowski Z., Sucharski M., Znaniecki R., Kaźmierczak Z.: Medycyna Wet. 51, 97, 1995.
14. Kanitz W., Kanitz E., Kitzig M., Blödw G., Tiemann U., Bergfeld J., Rommel P.: Mh. Vet.-Med. 41, 484, 1986.
15. Kuźma R., Kuźma K.: Prz. hod. 62, 1, 1994.
16. Lindsey B. R., Lonney C. R., Funk D. J., Faber D. C., Gue C. S., Kramer A. J.: Theriogenology 41, 238, 1994.
17. Lussier J. G., Lamothe P., Pacholek X.: Theriogenology 43, 270, 1995.
18. Loss F. A. M. de, Bevers M. M., Dieleman S. J., Kruip Th. A. M.: Theriogenology 35, 537, 1991.
19. Max A.: Medycyna Wet. 52, 85, 1996.
20. Nielen M., Schukken Y. H., Scholl D. T., Wilbrink H. J., Brand A.: Theriogenology 32, 845, 1989.
21. Purwantara B., Callesen H., Greve T.: Anim. Reprod. Sci. 37, 1, 1994.
22. Roberts A. J., Grizzle J. M., Echternkamp S. E.: Theriogenology 42, 917, 1994.
23. Saumande J., Chupin D.: Theriogenology 25, 233, 1986.
24. Springmann K., Voss H. J., Zerobin K., Doebeli M., Holz W.: Proc. 12-th Congr. Anim. Reprod., The Hague, The Netherlands, August 23-24, 1992, s. 269.
25. Staigmiller R. B., MacNeil M. D., Bellows R. A., Short R. E.: Proc. 12-th Congr. Anim. Reprod., The Hague, The Netherlands, August 23-24, 1992, s. 272.
26. Yamamoto M., Ooe M., Kawaguchi M., Suzuki T.: Theriogenology 41, 747, 1994.
27. Zeitoun M. M., Yassen A. M., Hassan A. A., Fathelbab A. Z., Echternkamp S. E., Wise T. H., Maurer R. R.: Theriogenology 35, 653, 1991.

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

## Oddział PTNW w Białymstoku

– organizuje w dniach 11–12 września 1997 r. sesję nt. *Salmonella* w paszach i salmonelozy u zwierząt

Miejsce obrad:

Ośrodek wypoczynkowy Fabryki Łóżysk Tocznych Kraśnik,  
(adres: Guty k. Giżycka – 11-535 Kamionka, woj. Suwalskie)

Informacje:

dr Marian Waszkiewicz przewodniczący Oddziału Białostockiego PTNW,  
ul. Zwycięstwa 26a, 15-959 Białystok, tel. (085) 513-761, 510-337,  
510-229.