

DEBRECENI EGYETEM AGRÁRTUDOMÁNYI CENTRUM  
MEZŐGAZDASÁGTUDOMÁNYI KAR  
ÁLLATÉLETTANI ÉS ÁLLATEGÉSZSÉGTANI TANSZÉK

**ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

Doktori iskola vezető: Dr.Bánszki Tamás MTA doktora

*Témavezetők:*

**Dr. Magyar Károly CSc**

egyetemi docens

**Dr. Huszenicza Gyula DSc**

egyetemi tanár

**A MESTERSÉGES TERMÉKENYÍTÉS EREDMÉNYESSÉGÉT ÉS A  
VEMHESÉG LEFOLYÁSÁT TÜKRÖZŐ ENDOKRINOLÓGIAI TÉNYEZŐK  
VIZSGÁLATA JUHBAN**

"Doktori (PhD) értekezés tézisei"

Készítette:

**Novotniné Dankó Gabriella**

doktorjelölt

Debrecen

2004

## I. B E V E Z E T É S

A szaporodásbiológiai jellemzők mindegyikét genetikai adottságok, és takarmányozási tényezők határozzák meg, emellett zootechnikai módszerekkel is befolyásolhatók. Az intenzív állattenyésztés mindinkább megköveteli a háziállatok természetes szaporodási ütemének szabályozását. Az **ivari ciklus szabályozása** lehetővé teszi a hatékony és eredményes **mesterséges termékenyítést**, az ellések egyenletes elosztását vagy bizonyos évszakra sűrítését, ezáltal a legkedvezőbb piaci feltételek kihasználását.

A szaporodásbiológiai folyamatok nyomon követésére ma korszerű **biotechnikai és endokrinológiai vizsgálómódszerek** is rendelkezésre állnak, s az ezek adta lehetőségeket kell mind jobban és széleskörűen kihasználnunk.

## II. C É L K I T Ű Z É S

Munkám során vizsgálataim alapvetően négy témakör köré csoportosultak:

### **1. A szapora merinó juh fajta szaporodás élettani folyamatainak nyomon követése**

1.1. A tavasz végi kornyári időszakban milyen a ciklikus petefészkek működésű egyedek aránya;

1.2. A bélsár gesztagén metabolit tartalmának meghatározása használható-e a juhállományok szaporodásbiológiai kezelésében;

1.3. A juhállományok energetikai állapotát mely hormonok szintjéből lehet legjobban megítélni.

### **2. Gesztagének alkalmazását követően számolnunk kell-e juhnál a mellékvesekéreg működés érintettségével**

### **3. Függ-e a vemhesség alatti leptinszint növekedés mértéke a vehemszámtól**

### **4. Lehetnek-e a ketózisnak az ellés utáni időszakban előforduló ovariális következményei**

### III. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### **Kísérleti állatok, ivarzás szinkronizálás, mesterséges termékenyítés**

Három vizsgálatsorozathoz a DE ATC *szapora merinó* anyaállományából választottam a kísérleti csoportot, egy kísérletben pedig *magyar merinó* anyákat vizsgáltam.

Ivarzás-szinkronizálásra 30, ill 40 mg fluorogeszton acetát tartalmú **Chrono-gest** hüvelyszivacsot (Intervet, Boxmeer, Hollandia), illetve 330 mg progeszteron tartalmú **Easi-Breed** (CIDR-G<sup>TM</sup>, InterAG, Hamilton, Új-Zéland) hüvely implantátumot alkalmaztam.

A kísérletek során a tampon kivételével egyidejűleg PMSG-hatású 500 NE **Folligon** injekciót (Intervet, Boxmeer, Hollandia) alkalmaztam intramusculáris fecskendezéssel.

A mesterséges termékenyítést egy ízben cervikálisan, a többi kísérletben laparoszkóppal végeztük.

#### **A mellékvesekéreg stimulációs vizsgálata**

A mellékvesekéreg (MVK) un. stimulációs tesztekkel történő vizsgálatakor a torkolati vénából heparinózott csőbe kb. 5 ml vérmintát vettünk (alapminta,  $t_0$ ), majd egyidejűleg intravénásan 60  $\mu\text{g}$   $_{1-24}$ ACTH-t (Cortrosyn inj., Organon) fecskendeztünk be. Hatvan és 120 perc elteltével újabb vérmintákat (továbbiakban:  $t_{60}$  és  $t_{120}$  minta) gyűjtöttünk a vena-jugularisból heparin tartalmú csövekbe. A centrifugált, lefejtett plazmából meghatároztuk a kortizol szintjét.

#### **Mintagyűjtés és tárolás**

**A vérmintákat** a torkolati véna (*vena jugularis*) punkciójával, heparinózott csövekbe gyűjtöttem, minden esetben 3 órán belül centrifugáltam (1000 g, 10 perc), a plazmából 1-1,5 ml-t Eppendorf csőbe fejttem és a plazmamintákat feldolgozásig -20 C°-on tároltam. (A centrifugálást a Debreceni Állategészségügyi Intézet laborjában végeztem.)

**A bélsármintákat** az állat végbélnyílásán keresztül műanyag kesztyűvel vettem. A mintákat egyedileg megjelölt (számozott) önzáródó műanyag zacskóban tároltam -20 C°-on extrahálásig.

## A minták feldolgozása, hormonok, metabolitok meghatározása

A vérplazma, illetve bélsár minták analízise Budapesten, a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar Szülészeti- és Szaporodásbiológiai Tanszék Endokrinológiai laborjában történtek.

Az extrahált bélsárból a gesztatgén metabolit tartalom meghatározása ELISA módszerrel történt. Siklódi és mtsai (1995) által előállított monoklonáris progeszteron ellenanyag használatán alapuló, Nagy és mtsai (1998) által kifejlesztett és Kulcsár és mtsai (2000) által módosított eljárással.

A vérplazma minták analízise:

<b>P<sub>4</sub></b>	ELISA	Ellenanyag: Siklódi és mtsai, 1995 Módszer: Nagy és mtsai, 1998
<b>Korizol</b>	<sup>3</sup> H-RIA	Csernus (1982) után
<b>T<sub>4</sub></b>	<sup>125</sup> I-RIA	<sup>125</sup> I-T <sub>4</sub> -SpecRIA MIS kit (Izotóp Intézet, Bp.)
<b>T<sub>3</sub></b>	<sup>125</sup> I-RIA	<sup>125</sup> I-T <sub>3</sub> RIA MIS kit (Izotóp Intézet, Bp.)
<b>Inzulin</b>	<sup>125</sup> I-RIA	<sup>125</sup> I-Insulin RIA CT kit (CISBio Interanational LTD, Gif Sur-Yvette, Fr.)
<b>IGF-I</b>	<sup>125</sup> I-RIA	Heterológ <sup>125</sup> I-RIA (Nicolic és mtsai, 2001)
<b>Leptin</b>	<sup>125</sup> I-RIA	Homológ <sup>125</sup> I-RIA: Delaveud és mtsai (2000) módszer adaptációja (Kulcsár és mtsai, 2003)
<b>Aszpartát-aminotranszferáz (AST)</b>	IFCC, meghatározás UV tartományban	AST Kit, Kat. # 7249, Reanal RT, Budapest
<b>Glukóz</b>	Enzimatis (GOD-POD) reakció	Glukóz kit, Kat. # 40841, Diagnosztikum RT, Budapest
<b>βOH-butirát (BHB)</b>	βOH-butirát-dehidrogenáz reakció (Sigma kit:)	D-3-Hydroxybutyrate kit, Kat. # RB 1007 és 1008, Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK
<b>Nem-eszterifikált zsírsav (NEFA)</b>	Enzimatis	NEFA kit, Kat. # FA 115, Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK
<b>Összkoleszterin (TCH)</b>	Enzimatis (CHOD-PAP) reakció	Koleszterin-PAP kit, Kat. # 40121, Diagnosztikum RT, Budapest

## **Az alkalmazott statisztikai módszerek**

Az eredmények ismertetésekor az átlag ( $\bar{x}$ ) mellett annak  $\pm$ SD értékét adjuk meg. A statisztikai elemzést regressziós analízis, a Pearson korrelációs koefficiens meghatározása, (szükség esetén Yates-féle korrekcióval kiegészített)  $\chi^2$ -próba, Student's t teszt, illetve varianciaanalízis (ANOVA) segítségével végeztük.  $\geq 3$  csoport átlagértékeinek az ANOVA-val végzett összehasonlításakor megadjuk az F értéket, illetve a legkisebb szignifikáns különbség (least significant difference, LSD)  $P < 0,05$ -re vonatkoztatott értékét ( $LSD_{P < 0,05}$ ). Számításainkat a SPSS for Windows 8.0 program segítségével végeztük.

## **IV. E R E D M É N Y E K**

### **1. Szapora merinó anyajuhok petefészek-működésének vizsgálata tavaszi (tenyészszezonon kívüli) időszakban**

A kísérletsorozatot az év szaporodásbiológiai szempontból kritikus, tavaszi - nyár eleji időszakában, vegyes életkorú és tápláltsági állapotú, állatokon végeztem.

Az alkalmazott módszerek széles skálája sokirányú információgyűjtést tett lehetővé.

Az ovariális működés nyomon követését a már hazai körülmények között is hagyományosnak számító plazma progeszteron-szint határozáson kívül a napjainkban egyre szélesebb körben terjedő bélsár gesztagén metabolit assay segítségével is elvégeztük. Utóbbi módszer alkalmazásának élettani alapjait az a tapasztalat indokolja, hogy a progeszteron egyes bomlástermékei (gyűjtőnéven gesztagén metabolitok) a bélsárban is megjelennek. A bélsár minták analizésére használt ELISA rendszerünkben alkalmazott ellenanyag jelentős mértékben keresztreakál a metabolitok egy részével, mindenek előtt az  $5\alpha$ -pregnan-3,20-dion-nal. A módszer ezért alkalmas a bélsár minták gesztagén metabolit szintjének a meghatározására. A bélsár mintákból kiinduló gesztagén metabolit határozás előnye, hogy a minták gyűjtése szakértelmet nem igényel, az állat számára a vérminták vételénél kíméletesebb. Hátránya a laboratóriumi feldolgozás nagyobb idő-, kézi munka- és finom vegyszer igénye.

Lineáris regressziós módszerrel vizsgálva a vérplazma progeszteron szintje és a bélsár minták gesztagén metabolit tartalma viszonylag szoros ( $r = 0,816$ ;  $P < 0,01$ ) összefüggést mutatott. A vizsgált mintapárok nagy részében ( $n = 174 = 97,2 \%$ ) működő sárgatest jelenlétére vagy hiányára vonatkozóan azonos következtetést lehetett a két módszer eredményei alapján levonni.

A 11 napos időközzel gyűjtött első két minta progeszteron analízisének eredményei alapján a ciklikus petefészek-működésű egyedek aránya a vizsgált *szapora merinó* anyákban 43% volt. Az acikliás állatok mintegy 10 hónappal fiatalabbak voltak ciklikus petefészek-működésű társaiknál, emellett szignifikánsan alacsonyabb testtömeg, IGF-1 és inzulin szint, valamint alacsonyabb leptin koncentráció jellemezte azokat (**1. táblázat**). Mindezek arra utalnak, hogy a ciklikus petefészek-működés hiánya esetükben a kísérlet megkezdése előtti időszakra visszavezethető, a kívánatosnál alacsonyabb energiaszintű takarmányozással függhet össze. A pótlólagos abrakkiegészítés hatására az anyák tápláltsági állapota a ciklus-indukció időpontjára jelentősen javult. Az állatok az alkalmazott ciklusindukciós kezelésre jól reagáltak, csak 3 állat (8%) nem ovulált a laparoszkópos vizsgálatok eredménye szerint.

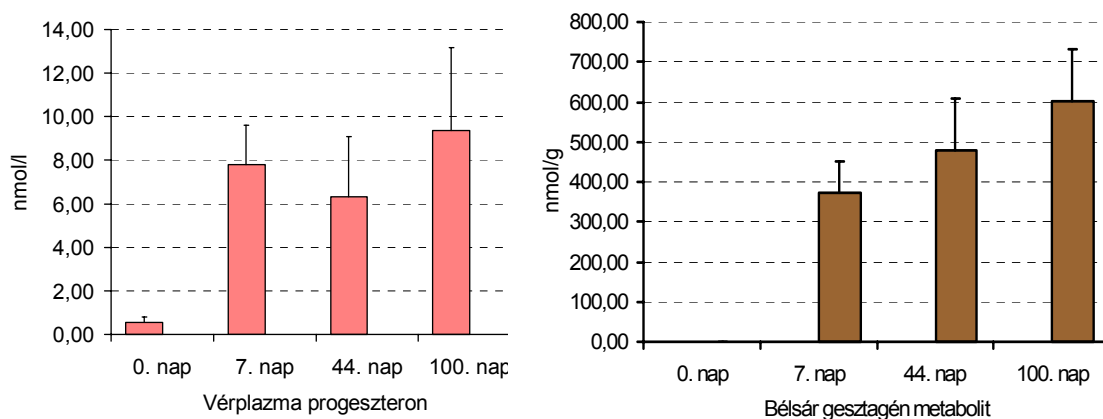
A flushing periódus 12. napján, azaz a gesztagén kezelés kezdőnapján a későbbiekben csupán egyet vagy kettőt ovuláló egyedeket szignifikánsan alacsonyabb inzulin szint jellemezte, mint nagyobb ovuláció-számú társaikat.

Kérdőzökben az IGF-1 szintje ismert módon híven tükrözi a szervezet energetikai státuszát, juhban pedig az IGF-1 helyi koncentrációja meghatározó jelentőségű a petevezetőben, illetve a méhben fejlődő, morula - korai blastocysta stádiumú embrió számára. Mindezekkel összhangban levőnek látszik, hogy a termékenyítés utáni 7. napon a vemhesült egyedekben magasabb plazma progeszteron szintet mértünk.

A vemhesség előrehaladtával az ovarium dependens szakasz vége felé (a termékenyítés utáni 44. napon) a plazma progeszteron szintjének némi csökkenését, a placentális szteroid termelés kiteljesedését követően (a 100. napon) pedig kisebb emelkedését lehetett megfigyelni, ezzel szemben a bélsár gesztagén metabolit tartalma folyamatosan emelkedett. (**1. ábra**).

### *Az eredmények összegzése:*

- *az áprilisi - májusi időszakban a szapora merinó anyák jelentős hányada ciklikus petefészkek-működésű*
- *az acikliás egyedek jól reagálnak az általánosan használt, gesztagén + PMSG alkalmazásával végzett ciklusindukcióra* (mindezek előfeltétele azonban az állatok valós igényeit kielégítő energiaellátásnak a biztosítása)
- *az energetikai státusz megítéléséhez értékes információkat szolgáltatathat egyes metabolikus hormonok (IGF-1, inzulin, leptin) meghatározása*
- *a bélsár gesztagén metabolit tartalmának meghatározása használható diagnosztikai módszer lehet a juhállományok szaporodásbiológiai gondozásában.*



**1. ábra:** A vérplazma progeszteron szintje, illetve a bélsár gesztagén metabolit koncentrációja a *vemhesült* állatokban (n = 8) az inszemináláskor (0. nap), valamint az ezt követő 7., 44. és 100. napon  
(Megjegyzés: az inszeminálás napján bélsármintát nem gyűjtöttünk).

**1. táblázat:** Az egyes metabolikus hormonok plazmaszintje a kísérlet kezdetén acikliás, ill. ciklikus petefészek-működésű egyedekben

		Petefészek-működés		P=
		Acikliás (n=21; 57%)	Ciklikus (n=16; 43%)	
<b>Leptin, ng/ml HE</b>				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	<b>2,05</b>	<b>2,19</b>	<b>0,184</b>
	$\pm$ sd	0,30	0,35	
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	<b>1,94</b>	<b>2,11</b>	<b>0,154</b>
koplaltatás után	$\pm$ sd	0,32	0,36	
<b>IGF-1, nmol/l</b>				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	<b>19,95</b>	<b>22,57</b>	<b>0,076</b>
	$\pm$ sd	4,38	4,26	
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	<b>12,45</b>	<b>16,24</b>	<b>0,019</b>
koplaltatás után	$\pm$ sd	3,50	5,21	
<b>Inzulin, <math>\mu</math>IU/L</b>				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	<b>20,98</b>	<b>24,44</b>	<b>0,016</b>
	$\pm$ sd	4,74	3,56	
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	<b>14,34</b>	<b>17,64</b>	<b>0,046</b>
koplaltatás után	$\pm$ sd	4,07	5,22	
<b>T3 (nmol/l)</b>				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	<b>1,21</b>	<b>1,26</b>	<b>0,161</b>
	$\pm$ sd	0,12	0,11	
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	<b>0,91</b>	<b>0,92</b>	<b>0,794</b>
koplaltatás után	$\pm$ sd	0,13	0,10	
<b>T4 (nmol/l)</b>				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	<b>104,98</b>	<b>111,36</b>	<b>0,226</b>
	$\pm$ sd	16,47	14,88	
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	<b>76,76</b>	<b>85,19</b>	<b>0,172</b>
Koplaltatás után	$\pm$ sd	17,09	18,94	

## 2. Ciklus indukcióra/szinkronizációra használt szintetikus gesztagének mellékvesekéreg (MVK) működésre gyakorolt hatása juhban

Kísérleteinkben a szintetikus gesztagén forrású, illetve a természetes progeszteron tartalmú ivarzás-szinkronizációra alkalmazott hüvelyszivacs mellékvesekéreg-működésre gyakorolt hatását vizsgáltuk juhnál.

Eredményeim a kéthetes szintetikus gesztagén (FGA) kezelés MVK működésére gyakorolt negatív hatásáról tanúskodnak (**2.ábra**). Megfigyeléseink szerint a kezelési periódus végére már nem csak az ACTH-stimulált kortizol válaszkészség jelentős fokú csökkenésével, hanem a kortizol perifériás vérben mérhető alapszintjének a csökkenésével is számolhatunk az FGA kortizol-szerű hatásának következményeképpen. A kortizol szekréciójának a gesztagén (FGA) indukálta zavara ugyanakkor átmeneti jellegű, a kéthetes kezelési periódus utáni 14. napon már ismét élettani kortizol szintek, illetve ACTH-indukált kortizol válaszkészség mérhető.

A különböző adagú FGA kezelésben részesült állatok adatai között szignifikáns különbségeket nem lehetett igazolni.

A természetes progeszteron forrás alkalmazása nem idézett elő a szintetikus gesztagénekhez hasonló kedvezőtlen mellékhatást (**3.ábra**).

A kezelés 10-14 napja körül az FGA-val kezelt állatokban a vérplazma *tiroxin* (T4) szintjében tendenciózus ( $P < 0,1$ ) csökkenés figyelhető meg a P4-nal kezelt állatok T4 szintjéhez képest (**2.táblázat**). Ennek magyarázata lehet, hogy a szervezet az FGA-t kortizolként értékelve felgyorsítja a T4 metabolizmusát.

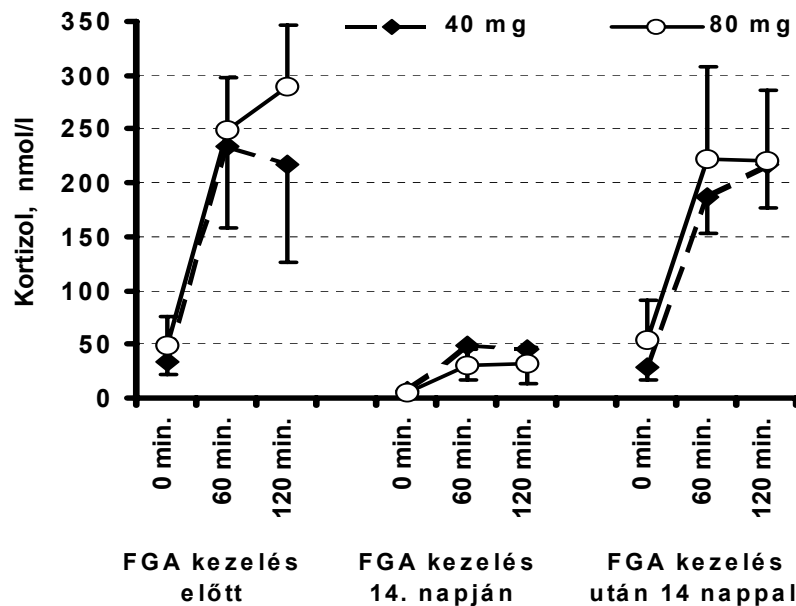
Az *inzulin* szintjénél szignifikáns ( $P < 0,03$ ) növekedés tapasztalható az FGA-val kezelt állatoknál, melynek magyarázata lehet, hogy az FGA kortizol-szerű hatására csökken a szervezet inzulin érzékenysége, tehát egységnyi hatás eléréshez több inzulint kell szekretálnia.

A *leptin* hormonszintjében a kétféle gesztagén tartalmú kezelést kapott csoportnál szignifikáns különbség nem mutatkozott, bár az FGA-val kezelt csoportnál a 14. napon enyhe emelkedés tapasztalható. A megfigyelt jelenség arra utal, hogy az FGA kortizol-szerű hatása nyomán valamelyest fokozódhat az adipocytákban a leptin génexpressziója, de annak mértéke nem elégséges a plazma leptin tartalmának számottevő emeléséhez. A jelenség csupán reverzibilis, néhány nappal a gesztagén

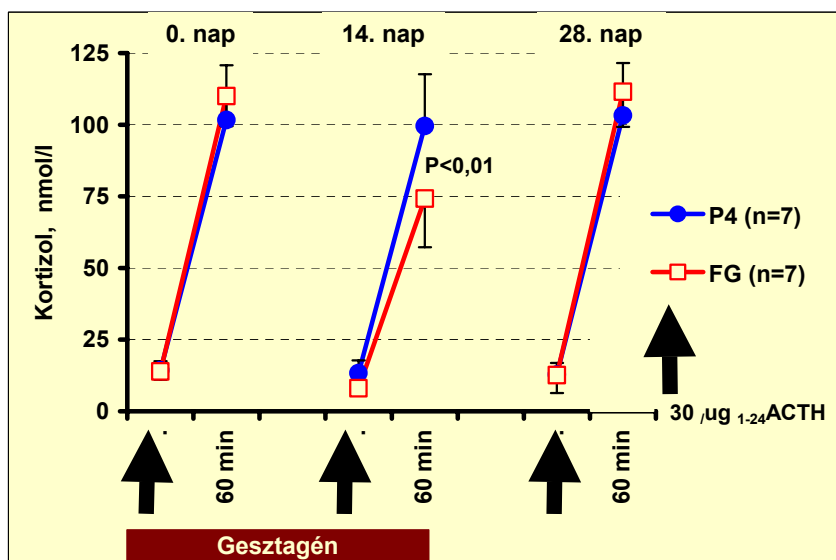
forrás eltávolítása után már megszűnik. Hasonló tendenciát a P4-nal kezelt csoportban nem tapasztaltunk.

*Az eredmények összegzése:*

- *a szintetikus gesztagén nem közvetlenül a mellékvesekéregre hat, hanem a kutyában, macskában, rágcsálókban és az emberben megfigyelthez hasonló módon a HTh - HEL - MVK tengely egy magasabb szintjén – feltehetően a hypothalamus cortikoliberin termelő neuronjain – fejt ki szupresszív hatását.*
- *juhokban a ciklus indukciójára, az ivarzás-szinkronizálásra használt FGA átmenetileg szupresszálja az MVK működését, a természetes progeszteron forrású hüvelyszívacs nem okoz ilyen változást.*



**2. ábra:** A standard kis dózisú ACTH-terhelésre adott kortizol-válaszkészség alakulása a fluorogesztón acetát (FGA) kezelést megelőzően (0. nap), a kezelés utolsó napján (14. nap), továbbá az azt követő 14. napon (28. nap).



**3. ábra:** A standard kis dózisu ACTH-terhelésre adott kortizolválaszkészség alakulása a fluorogeszton acetát (FGA), illetve a P<sub>4</sub> kezelést megelőzően (0. nap), a kezelés utolsó napján (14. nap), továbbá az azt követő 14. napon (28. nap).

**2. táblázat:** A természetes progeszteron tartalmú CIDR tamponnal, illetve a fluorogeszton tartalmú Chrono-gest hüvelyszivaccsal kezelt állatok T<sub>4</sub>, leptin és inzulin szintje

T <sub>4</sub> (nmol/l), alap									
Kezelés/ Nap	0	3	7	10	14	17	21	24	28
P4 $\bar{x}$	94,7	93,7	93,6	91,2	93,1	95,6	96,3	98,1	97,2
Sd	15,4	14,2	17,5	15,0	15,2	15,5	15,4	16,3	17,6
FG $\bar{x}$	94,2	87,4	80,3	76,6	76,4	93,6	94,5	95,5	97,1
Sd	14,8	14,4	13,7	12,8	12,6	11,6	12,6	15,1	16,6
P=	0,954	0,440	0,141	0,074	0,045	0,790	0,810	0,765	0,991
Inzulin (µIU/ml), alap									
Kezelés/ Nap	0	3	7	10	14	17	21	24	28
P4 $\bar{x}$	16,7	16,8	16,8	17,6	16,7	17,0		16,9	16,8
Sd	3,6	3,1	2,9	3,2	3,2	2,6	2,8	3,3	3,1
FG $\bar{x}$	17,4	18,1	19,9	21,2	21,7	17,3	17,0	17,3	17,2
Sd	4,1	3,6	3,8	2,9	3,1	4,0	3,6	4,2	3,4
P=	0,760	0,477	0,115	0,022	0,031	0,735	0,997	0,837	0,815
Leptin (ng/ml), alap									
Kezelés/ Nap	0	3	7	10	14	17	21	24	28
P4 $\bar{x}$	8,54	8,53	8,45	8,50	8,55	8,59	8,61	8,62	8,71
Sd	0,86	0,89	0,92	0,91	0,88	0,93	0,93	0,93	0,89
FG $\bar{x}$	8,61	8,64	8,84	8,96	9,05	8,63	8,63	8,63	8,71
Sd	0,65	0,61	0,67	0,68	0,68	0,63	0,63	0,73	0,75
P=	0,865	0,787	0,379	0,314	0,257	0,914	0,961	0,973	0,995

### **3. Az anyajuhok vemhességi ketózisának hormonális jellemzői és ellés utáni ovarialis következményei**

A tejhasznú tehén ketózisának ovarialis és uterinális következményeivel számos vizsgálat foglalkozik, a juh vemhességi ketózisának (szin.: vemhességi toxikózis) irodalma viszont kevés figyelmet szentel a megbetegedést túlélő egyedek későbbi reprodukciós teljesítményének. A juhtartásra általában jellemző extenzív szaporítási technológia esetén ennek valóban nem is lehet különösebb jelentősége, hiszen a tél végi - kora tavaszi ellési szezon, és a következő biológiai tenyészszезон kezdete között eltelt idő bőségesen elegendő az anyák regenerálódásához. Nem elképzelhetetlen azonban a vemhességi ketózisnak az ovarialis funkciókra gyakorolt hatása akkor, ha az anyákat még a tavasz folyamán, ciklusindukció segítségével kívánjuk újravemhesíteni.

Kísérletemben a vemhesség utolsó napjaiban az állatok metabolikus paraméterei a rendelkezésre álló kevés irodalmi adattal összhangban állnak. Tudomásom szerint viszont más szerzők juhban még nem vizsgálták az IGF-I, a leptin és a pajzsmirigy hormonok vemhességi ketózis alatti alakulását, illetve e megbetegedés késői ovarialis következményeit.

Megfigyeléseim szerint az energiaháztartás homeosztatisz szabályozásában résztvevő hormonok mindegyikének plazmaszintje hasonló, a szervezet energetikai egyensúlyának a hiányára utaló tendenciákat tükröz **(3.táblázat)**.

A korábbiakban ikervemhes-szubklinikai ketózison átesett anyák a ciklusindukciós kezelés nyomán kisebb arányban ovuláltak, illetve vemhesültek, mint társaik **(4.táblázat)**.

A perifériás vér leptin koncentrációja juhokban is tükrözi a test zsírdéjának a telítettségi fokát. A megbetegedés idején nem különbözött lényegesen állataink leptin szintje. Az ellést követő napokban a plazma leptin tartalma csökken, és rövidebb-hosszabb időn át ezen az alacsony szinten is marad. Valószínűsíthető, hogy a vemhességi toxikózist túlélő anyákban nagyobb mértékű és hosszabb ideig tartó a szintcsökkenés, mint egészséges társaikban.

A leptin petefészek-működés szabályozásában betöltött szerepének ismeretében feltételezzük, hogy a hormon alacsony szintje egyik oka lehet az észlelt, csökkent ovarialis válaszkészségnek is. A gyengébb reprodukciós teljesítmény további lehetséges

magyarázata a tüszőfejlődésnek a hyperketonémiás állapottal összefüggésbe hozható zavara lehet.

A ciklusindukciós kezelés nyomán nem ovuláló állatokat alacsonyabb IGF-I és leptin szint jellemezte, mint a kezelésre reagáló társaikat **(4.ábra)**. A ketózis szubklinikai formája által érintett anyák IGF-I szintje a vemhesség utolsó napjaiban alacsonyabb volt társaiknál.

A vemhességi toxikózis vázolt szaporodásbiológiai következményei természetesen csak azért váltak fölismerhetővé, mert röviddel a laktáció befejezését követően az állatokban ismét ciklusindukciót végeztek. Ennek hiányában a következő tenészszezon kezdetéig a különbségek nyilvánvalóan eltűntek volna.

Tapasztalataink alapján sem állítható természetesen, hogy a vemhességi ketózis a juhtenyésztés sajátos körülményei között a tejhasznú szarvasmarháéhoz akár csak közelítő súllyal is szerepelne a szaporodási zavarok lehetséges okainak a sorában.

Mint lehetőséggel, azonban időnként számolnunk kell szerepével.

#### *Az eredmények összegzése:*

##### *Vemhességi ketózisban szenvedő anyajuhokban:*

- *A megbetegedés idején (miközben jelentősen megnövekszik a BHB tartalom) egyidejűleg*
  - *csökken a plazma glükóz, összkoleszterin, inzulin, trijód-tironon és IGF-I koncentrációja, illetve*
  - *emelkedik annak NEFA és kortizol szintje, valamint AST aktivitása*
- *A túlélőkben az ellés után kb. 90 nappal*
  - *alacsonyabb a plazma IGF-I és leptin szintje*
  - *csökken a ciklus-indukció eredményessége.*

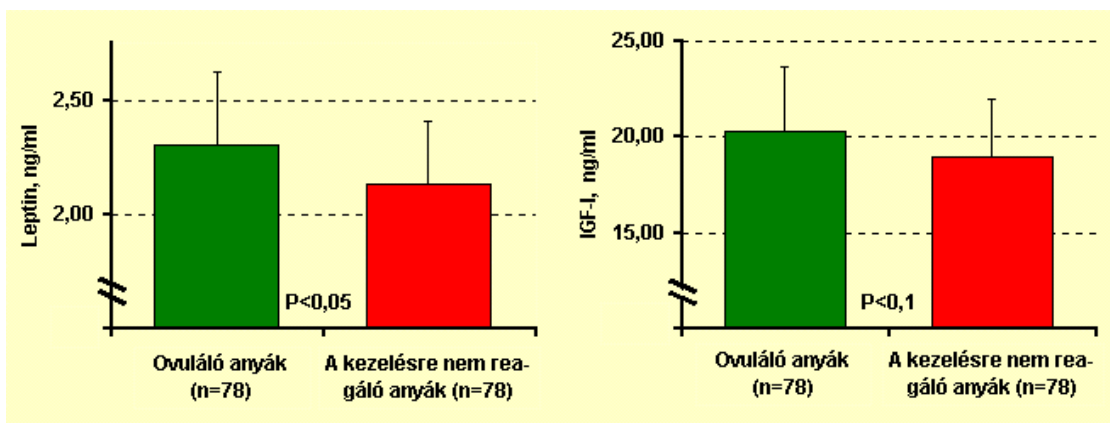
3. táblázat: Az anyajuhok metabolikus és hormonális mutatói

	Vehemszám: 1 (n=41) $\bar{x} \pm sd$	Vehemszám: 2		F	LSD <sub>P&lt;0,05</sub>
		BHB:<1,60 mmol/l (n=30)	BHB:≥1,60 mmol/l (n=27)		
A vemhesség 140. napján:					
<b>BHB, mmol/l</b>	<b>0,78 ± 0,36***</b>	<b>1,62 ± 1,37</b>		-----	
<b>Glukóz, mmol/l</b>	<b>3,38 ± 0,65</b>	<b>3,19 ± 0,77</b>	<b>2,88 ± 1,63</b>	1,87	ns (P<0,1)
<b>NEFA, mmol/l</b>	<b>0,27 ± 0,12</b>	<b>0,31 ± 0,15</b>	<b>0,44 ± 0,18</b>	11,15	0,08
<b>AST, NE/l</b>	<b>87 ± 27</b>	<b>95 ± 31</b>	<b>131 ± 74</b>	7,95	25
<b>TCH, mmol/l</b>	<b>2,18 ± 0,45</b>	<b>2,21 ± 0,65</b>	<b>1,78 ± 0,71</b>	4,75	0,32
<b>Inzulin, μNE/l</b>	<b>15,54 ± 7,55</b>	<b>12,74 ± 9,33</b>	<b>6,78 ± 5,55</b>	10,67	4,14
<b>T<sub>4</sub>, nmol/l</b>	<b>75,1 ± 28,5</b>	<b>69,3 ± 31,1</b>	<b>61,1 ± 31,2</b>	1,76	ns
<b>T<sub>3</sub>, nmol/l</b>	<b>1,14 ± 0,27</b>	<b>1,07 ± 0,35</b>	<b>0,87 ± 0,38</b>	5,65	0,18
<b>Kortizol, nmol/l</b>	<b>35,1 ± 25,5</b>	<b>37,3 ± 27,0</b>	<b>59,4 ± 39,2</b>	5,88	16,3
<b>IGF-I, μg/l</b>	<b>17,38 ± 4,35</b>	<b>15,44 ± 4,32</b>	<b>9,10 ± 7,23</b>	19,84	2,91
<b>A ciklusindukciót követő inszeminálás napján (az ellés utáni 92-94. napon):</b>					
<b>BHB, mmol/l</b>	<b>0,36 ± 0,27</b>	<b>0,44 ± 0,25</b>	<b>0,38 ± 0,29</b>	0,79	ns
<b>Glukóz, mmol/l</b>	<b>3,61 ± 0,36</b>	<b>3,65 ± 0,34</b>	<b>3,59 ± 0,33</b>	0,23	ns
<b>NEFA, mmol/l</b>	<b>0,19 ± 0,04</b>	<b>0,20 ± 0,04</b>	<b>0,19 ± 0,03</b>	0,74	ns
<b>AST, NE/l</b>	<b>75 ± 25</b>	<b>77 ± 23</b>	<b>73 ± 28</b>	0,18	ns
<b>TCH, mmol/l</b>	<b>3,15 ± 0,33</b>	<b>3,19 ± 0,35</b>	<b>3,21 ± 0,38</b>	0,26	ns
<b>Inzulin, μNE/l</b>	<b>21,28 ± 3,17</b>	<b>21,75 ± 3,82</b>	<b>21,52 ± 4,72</b>	0,13	ns
<b>T<sub>4</sub>, nmol/l</b>	<b>105,0 ± 21,3</b>	<b>103,1 ± 27,4</b>	<b>109,4 ± 25,1</b>	0,49	ns
<b>T<sub>3</sub>, nmol/l</b>	<b>1,33 ± 0,18</b>	<b>1,38 ± 0,21</b>	<b>1,35 ± 0,27</b>	0,46	ns
<b>Kortizol, nmol/l</b>	<b>25,8 ± 10,3</b>	<b>27,7 ± 10,4</b>	<b>26,4 ± 9,3</b>	0,31	ns
<b>IGF-I, μg/l</b>	<b>20,00 ± 3,21</b>	<b>20,48 ± 3,35</b>	<b>19,44 ± 5,83</b>	0,68	ns

**Megjegyzés:** \*\*\*Az ikervemhésekhez viszonyítva P<0,001

4. táblázat: Az anyajuhok reprodukciós teljesítménye az ellés utáni 78-80. napon megkezdett ciklusindukciót követően

	Vehemszám: 1 (n=41) n (%)	Vehemszám: 2		P<
		BHB:<1,60 mmol/l (n=30)	BHB:≥1,60 mmol/l (n=27)	
A ciklus indukcióját követően:				
<b>Ovulált</b>	<b>37 (90,2 %)</b>	<b>25 (83,3 %)</b>	<b>16 (59,3 %)</b>	0,01
<b>Vemhesült</b>	<b>35 (85,4%)</b>	<b>24 (80,0 %)</b>	<b>15 (55,6 %)</b>	0,05
<b>- közülük iker-vemhes</b>	<b>21 (a vemhesültek 60,0 %-a)</b>	<b>10 (a vemhesültek 58,3 %-a)</b>	<b>4 (a vemhesültek 26,7 %-a)</b>	(0,1)



**4. ábra:** A ciklusindukciót követően ovuláló, illetve a kezelésre nem reagáló anyajuhok plazma leptin és IGF-I szintje (az ellés utáni 92-94. napon)

#### 4. A vehemszám hatása a vérplazma leptin szintjére anyajuhokban

A napjainkban azonosított leptin, egy citokin-szerű fehérje, mely elsősorban a fehér zsírsejtekben termelődik, de más szövetekben és szervekben, köztük a tejmirigyben és a placentában is.

A leptin szerepe, hogy metabolikus szignálként tudósítsa a központi idegrendszert a szervezet zsírdepóinak telítettségéről, jelentősége a szervezet energetikai homeosztázisának fenntartásában nagy. A vérplazmában mérhető mennyisége függ az állat kondíciójától, illetve változhat a testzsír-tartalék arányának, vagy az energia-egyensúly változásának megfelelően.

A plazma leptin szintje felnőtt, nem vemhes kérődzőkben pozitív összefüggést mutat a fehérzsírsejtek arányával és az aktuális tápláltsági szinttel.

Vemhesség alatt a leptin szint jelentősen emelkedik, mely fontos lehet a placenta paracrin és autocrin aktivitásához, valamint az anya és a magzat metabolizmusához. Az emelkedés szintje független az anya tápláltsági állapotától és energetikai státuszától.

Mivel a vemhesség alapvetően egy leptin-szint növekedéssel járó folyamat kísérleteinkben vizsgáltuk, hogy van-e összefüggés a leptin-szint emelkedés mértéke és a vehemszám között.

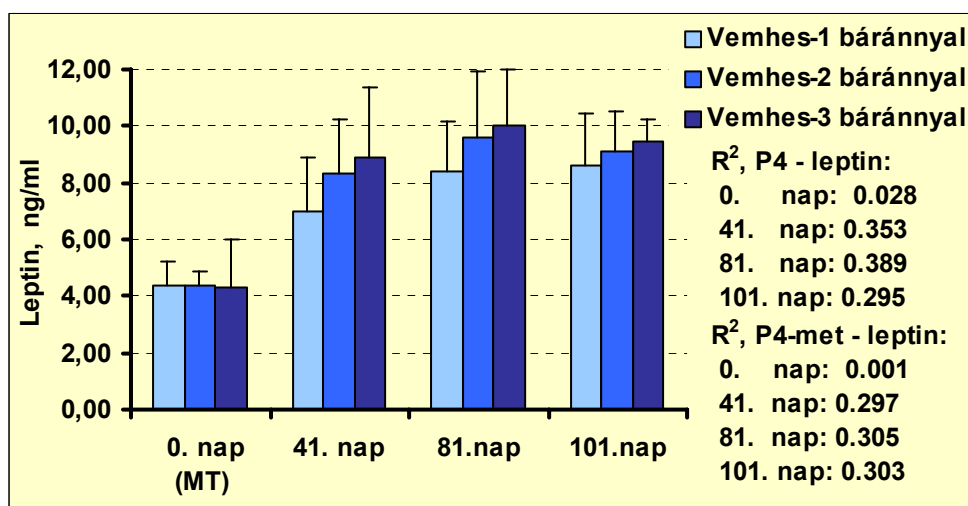
A plazma leptin szintet juh-specifikus RIA módszerrel mértük, valamint meghatároztuk a plazma-progeszteron ( $P_4$ ), a bélsár  $P_4$  metabolit ( $P_4$ -met) szintet is.

EHRHARDT (2001) megfigyeléseihez hasonlóan a mi eredményeink is mutatták az anyai leptin szint növekedést a vemhesség középső szakaszában, majd egy enyhe csökkenés volt utána tapasztalható.

Az átlagos leptin, P<sub>4</sub> és P<sub>4-met</sub> szint alacsonyabb volt az egy magzattal vemhes juhoknál, mint a többes vemheseknél (5.ábra), tehát a vemhesség alatti leptin szint növekedés mértéke nagy valószínűséggel összefüggésben van a magzatok számával. Mivel a kérődzők placentája nem, vagy alig termel leptint, a magyarázat valószínűleg a vemhesség alatti hosszú P<sub>4</sub>-szint emelkedés, illetve az ennek nyomán fellépő gén-expresszió fokozódása.

*Az eredmények összegzése:*

- *anyajuhokban a plazma leptin szintje a vemhesség közepéig jelentősen emelkedik, majd a továbbiakban enyhe csökkenés tapasztalható,*
- *az emelkedés mértéke enyhe pozitív korrelációban van a plazma progeszteron és a bélsár gesztagén metabolit szintjével.*
- *Pozitív korreláció áll fenn a magzatszám, valamint a plazma leptin és progeszteron szintje között.*
- *Juhokban mind a vemhesség stádiuma, mind pedig a magzatszám befolyással van az anyai leptinszint emelkedés mértékére*



**5 ábra:** A vérplazma leptin koncentrációja vemhesült anyáknál a termékenyítéskor, és utána a 41., 81. és 101. napon.

## V. ÖSSZEFOGLALÁS

A doktori értekezés elkészítéséhez vizsgálataimat a juh szaporodásbiológia területén végeztem. Négy különböző kísérletsorozatot folytattam le, melyből három a Debreceni Egyetem ATC *szapora merinó* juh-telepén, egy pedig, egy *fésűs merinó* állományban zajlott. A kísérletek célja a mesterséges termékenyítés eredményességét és a vemhesség lefolyását tükröző endokrinológiai vizsgálatok voltak.

A hormon analitikai méréseket a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszékén Endokrinológiai Laborjában végeztem az ottani kollégák segítségével.

A *szapora merinó* anyajuhok tavaszi (tenyészszezonon kívüli) petefészek-működésének vizsgálata során megállapítottam, hogy az anyák több, mint 40%-ának petefészek működése ciklikusnak tekinthető ebben az időszakban az endokrinológiai vizsgálatok alapján; a nem ciklikus petefészek-működésű anyák pedig jól reagálnak az alkalmazott ciklus-indukciós kezelésre.

Tapasztalataim szerint mind a vérplazmából, mind a bélsár-metabolitok vizsgálatából nyerhető adatokból közel azonos diagnosztikai jellegű következtetéseket lehet levonni. Mindkét módszer alkalmas lehet a petefészek-működés ciklikus, vagy acikliás működésének az elkülönítésére. Az acikliás állatokat alacsonyabb testtömeg, IGF-1 és inzulin szint, valamint alacsonyabb leptin koncentráció jellemezte a ciklikus petefészek-működésűekéhez képest. Ennek alapján tehát az energetikai státusz megítéléséhez értékes információkat szolgáltatottak egyes metabolikus hormonok.

A ciklus indukcióra, illetve szinkronizációra használt szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésre gyakorolt hatását is vizsgáltam. Eredményeim alapján valószínűsíthető, hogy a juhokban a ciklus indukciójára, az ivarzás-szinkronizálásra használt fluorogeszton acetát tartalmú hüvelyszivacs, kortizol-szerű hatásánál fogva, átmenetileg elnyomja a mellékvesekéreg működését. A természetes progeszteron forrású hüvelyszivacs nem okoz ilyen változást.

Vizsgálataim kitértek az anyajuhok vemhességi ketózisának hormonális jellemzőire és ellés utáni ovarialis következményeire. A vemhességi ketózis szubklinikai formáján átesett, tél végi ellésű anyajuhokban kb. 3 hónappal az ellés, és néhány nappal a bárányok leválasztása után alacsonyabb plazma leptin szinteket mértünk. Az ekkor végzett ciklusindukció ezen állatoknál kevésbé volt eredményes, mint az egy bárányt ellő, vagy ikervemhes, de normo-ke-tonémiás társaikban.

A ciklusindukciós kezelés nyomán nem ovuláló állatok leptin és IGF-I szintje alacsonyabb volt, mint a kezelésre reagálóké. Valószínű tehát, hogy a hyperketonémiás állapot során a fejlődésüket már megkezdett tüszők károsodtak. A ciklusindukciós kezelésre adott gyengébb válasz tehát az előző vemhesség végső szakaszában a tüszőfejlődésnek a hyperketonémiás állapottal összefüggésbe hozható zavara lehet.

Vemhes anyajuhokban a plazma leptin szintjét vizsgálva megállapítottam, hogy a vemhesség alatt jelentősen emelkedik plazma leptin-szint a vemhesség közepéig, majd a vemhesség vége felé némi csökkenés tapasztalható. Az emelkedés mértéke enyhe pozitív korrelációban van a plazma progeszteron és a bélsár gesztagén-metabolit szint-emelkedéssel. A magzatok számát tekintve pozitív korrelációt találtunk a magzatszám valamint a leptin és P<sub>4</sub> szintje között.

Vizsgálataim alapján a következő új- és gyakorlatnak átadható tudományos eredményeket állapítottam meg:

### **ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK**

1. Juhokban a ciklus indukciójára, az ivarzás szinkronizációra használt szintetikus gesztagén (fluorogesztion acetát) tartalmú hüvelyszivacs átmenetileg elnyomja a mellékvesekéreg (MVK) működését. A természetes progeszteron tartalmú hüvelyszivacsnak nincs MVK működést befolyásoló hatása.
2. Anyajuhokban mind a vemhesség stádiuma, mind a magzatszám befolyással van az anyai leptinszint-emelkedés mértékére.

### **A GYAKORLATNAK ÁTADHATÓ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK**

1. A bélsár gesztagén metabolit tartalmának meghatározása használható diagnosztikai módszer lehet a juhállományok szaporodásbiológiai gondozásában.
2. A juhállományok energetikai állapotának megítéléséhez értékes információt szolgáltatnak egyes metabolikus hormonok, mint pl. az inzulin, IGF-I, leptin meghatározása.
3. Endokrinológiai diagnosztikai módszerekkel is igazolható, hogy juhban a ciklusindukciós kezelések sikere jelentős részben az állat energia-ellátottságának mértékétől függ.

4. Juhban a ciklusindukciós kezelésre adott gyengébb válaszkészség esetenként a tüszőfejlődés hyperketonémiás állapottal összefüggésbe hozható zavarával magyarázható.

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

### Lektorált tudományos közlemények:

Kulcsár, M., **Novotni-Dankó, G.**, Becskey, Cs., Magi, Zs., Kátai, L., Solti, L. (2000):

Determination of gestagen metabolites in fecal samples for following up the ovarian activity in small ruminants. Proc. of 4<sup>th</sup> Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (Prague, Czech Republic, 23-25 Nov), published in the ESDAR Newsletter, 2000, 5. p. 43.

**Novotniné Dankó Gabriella**, Árnysai Mariann (2002): Szaporodásbiológiai

folyamatok és genetikai háttér ellenőrzése a szapora merinó juhajtánál. Innováció, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agráriumban. Nemzetközi konferencia, Állattenyésztési Alaptudományok, Debrecen, Ápr.11-12. Pp.26-30.

**Novotni-Dankó, G.**, Kulcsár, M., Magyar, K., Nikolic, J., Kátai, L., Dombóvári, E.,

Huszenicza, Gy (2002): Some metabolic aspects of ovarian activity in out-of-season prolific merino ewes. Állatteny. és Tak. Vol.51.No.1 pp.:79-84

**Novotniné Dankó Gabriella**, Kulcsár Margit (2002): A fluorogeszton kezelés

mellékvesekéreg-működésre gyakorolt hatása juhban. 13. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Hajdúszoboszló, Okt.10-12 Proceedings pp.162-166

Huszenicza Gyula, Kulcsár Margit, **Dankó Gabriella**, Balogh Orsolya, Gaál Tibor

(2003): A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés 4. A ketonanyag-képződés fokozódása és annak klinikai következményei. Magyar Állatorvosok Lapja. 3. 125. 203-208

**Gabriella Dankó**, M.Kulcsár, J.Reiczigel, C.Delaveud, Y.Chilliard, K.Magyar,

Gy.Huszenicza (2003): Pregnancy Stage and Number of Foetuses may Influence Maternal Plasma Leptin in Ewes. VII.ESDAR Conference, Dublin, Ireland.

Repr.Dom.Anim.Repr.Vol.38 No.4 pp.358-359

**Gabriella N.Dankó (2003):** Some Practical and Biotechnological Methods for Improving Reproduction Traits in Sheep. J.of Agric Sci. Acta Agraria Debreciensis 11. pp.:15-20

**Konferencia előadások, poszterek:**

**Novotniné Dankó G.:** A sűrített elletés hatása az ovulációs rátára.1999.március  
Keszthely Ifjúsági Tudományos Fórum

**Novotniné Dankó G** Az anyajuh ivari ciklusának hormonális folyamata;  
Laparoszkópos ovulációs ráta vizsgálat és termékenyítés 2000. március  
Mosonmagyaróvár; Juh és kecske mesterséges termékenyítő tanfolyam

**Gabriella Novotni Dankó:** Circulating plasma levels of insulin, IGF-1, leptin and thyroid hormones in Merino ewes with acyclic vs. cyclic ovarian function in late spring-summer period.2000.junius, 4<sup>th</sup> Budapest Workshop for young Endocrinologists

**Novotniné Dankó G** Juhok szaporaságnövelésének biotechnikai eszközei.2000.  
november 3. DE ATC Tudomány Napja rendezvény

**Novotniné Dankó Gabriella,** Kulcsár M., Magyar K., J.A. Nikolic, Kátai L.Dombóvári E.,Huszenicza Gy: Szapora merinó anyajuhok petefészek-működése a tavaszi, tenyészszazonon kívüli időszakban 2000. november Eger, IX. Szaporodásbiológiai Találkozó

Kulcsár, M., **Novotni-Dankó,G.**, Becskey, Cs., Magi, Zs., Kátai, L., Wöfling, A., Solti,L.: Determination of gestagen metabolites (GM) in fecal samples for following up the ovarian activity in small ruminants 2000. november, IV. ESDAR Konferencia , Prága

**Novotnié Dankó G:** Szapora merinó anyajuhok petefészek-működésének vizsgálata tavaszi, tenyészszazonon kívüli időszakban. Innováció, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agáriumában. Tudományos konferencia, Gödöllő, 2001 május 17-18

**Gabriella N.Dankó,** K.Magyar,M.Kulcsár.,Gy.Huszenicza: Examination the out-of-season hormonal function of the ovary of Prolific Merino sheep 2001. Augusztus EAAP 52.kongresszusa, Budapest **Novotniné Dankó Gabriella:** A szapora merinó

juhfajta és hasznosítási lehetőségei. Magyar Juhászat, a Magyar Mezőgazdaság melléklete 2001/9

Árnyasi Mariann, A.Zsolnai, A.Jávor, L. Fésüs, **Gabriella N.Dankó**, K.Magyar, J.Dohy: Possibility of MAS for FecB gene in the Hungarian prolific merino sheep. Prospects for the Agriculture of the 3<sup>rd</sup> Millenium, International Symposium, 2001. Oct.25-27 Kolozsvár

**Gabriella N.Dankó**, K.Magyar, M.Kulcsár, Gy.Huszenicza: Methodes and techniques of controlled reproduction in sheep. Prospects for the Agriculture of the 3<sup>rd</sup> Millenium, International Symposium, 2001. Oct.25-27 Kolozsvár

**Novotnié Dankó G** Szapora merinó anyajuhok ivari ciklusának hormonális vizsgálata. X. Szaporodás-biológiai Találkozó, 2001.november 06. Dobogókő

**Dankó G** A fluorogesztin kezelés mellékvesekéreg-működésre gyakorolt hatása juhban. 13.Magyar Buiatrikus Kongresszus Hajdúszoboszló, 2002. Okt.10-12

**G.Dankó:** Pregnancy stage and number of foetuses may influence maternal plasma leptin in ewes. 7.Endokrinológiai kurzus. SZIE ÁOT.Kar, 2003. Jun.26-júl.02.

**Dankó Gabriella, Árnyasi Mariann (2003):** Szapora merinó: múlt, jelen, jövő. Az állattenyésztés szolgálatában. Tudományos ülés. Debrecen, Szept. 11. Pp:123-132

### **AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉN KÍVÜL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK:**

#### **Ismeretterjesztő cikkek:**

**Novotniné Dankó Gabriella (1999):** Beltex, a szuperizmolt juhfajta. Magyar Juhászat, a Magyar Mezőgazdaság melléklete 5.