

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
VEMHESSÉG LEFOLYÁSÁT TÜKRÖZŐ ENDOKRINOLÓGIAI TÉNYEZŐK
VIZSGÁLATA JUHBAN**

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

Készítette:

NOVOTNINÉ DANKÓ GABRIELLA

doktorjelölt

Debrecen

2004.

TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
AZ ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	5
ÁBRÁK JEGYZÉKE	6
TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE	7
1. BEVEZETÉS	8
2. CÉLKITŰZÉS	9
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
3.1. A juh petefészek működésének élettana és annak jellegzetességei	11
3.1.1. A petefészek ciklikus működésének élettana	11
3.1.2. A petefészek működés jellegzetességei	13
3.1.3. Metabolikus hormonok szerepe a kérődzők szaporodásbiológiai folyamataiban	15
3.1.3.1. A leptin	15
3.1.3.2. Az inzulin-szerű növekedési faktor-I (IGF-I)	19
3.1.4. A petefészek-működés szezonális jellegének élettani alapjai	20
3.1.5. A környezeti tényezők hatása a nemi működésre	21
3.1.6. Az ovulációs rátát befolyásoló genetikai háttér: a Fec ^B gén	23
3.1.7. Az ovulációs rátát és az embrió túlélését befolyásoló egyéb tényezők	25
3.2. Az ivari működés diagnosztikai vizsgálata	30
3.2.1. Szteroid hormonok meghatározása bélsárból	30
3.2.2. A szteroidok kiválasztódása	32
3.3. A szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésre gyakorolt hatása	36
3.3.1. Szintetikus gesztagének alkalmazása az állattenyésztésben és állatgyógyászatban	36
3.3.2. A mellékvesekéreg működésének jellemzői, a glükokortikoidok szekréciója és az aktuális plazmaszintet befolyásoló tényezők	39
3.3.3. A mellékvesekéreg funkcionális kapacitásának meghatározása	40
3.3.4. A szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésére kifejtett hatása	42

	Oldal
3.4. Az anyajuhok vemhességi ketózisának hormonális jellemzői és ellés utáni ovariális következményei	44
3.4.1. A zsírmobilizáció ellés körüli fokozódása: a vemhességhez és laktációhoz társuló ketózis	44
3.4.2. A negatív energiamérleg hatása a hypothalamus - hypophysis elülső lebeny - ovarium tengely működésére	46
3.4.3. Az ellés utáni első ovuláció időpontját meghatározó élettani jelenségek	47
3.4.3.1. Inzulin, IGF-I	47
3.4.3.2. Leptin	48
3.4.3.3. Pajzsmirigy hormonok	49
3.4.4. A negatív energia egyensúly ideje alatt képződő petesejt minősége	49
3.5. A vehemszám hatása a vérplazma leptin szintjére anyajuhokban	51
3.6. Ivarzásszinkronizálás, mesterséges termékenyítés és ovulációs ráta meghatározás juhnál	53
4. SAJÁT VIZSGÁLATOK	56
4.1. Anyag és Módszer	56
4.1.1. Kísérleti állatok: a szapora merinó juh fajta	56
4.1.2. Ivarzás szinkronizálás, mesterséges termékenyítés	58
4.1.3. A mellékvesekéreg stimulációs vizsgálata	58
4.1.4. Mintagyűjtés és tárolás	58
4.1.5. A minták feldolgozása, hormonok, metabolitok meghatározása	59
4.1.5.1. A bélsárextrahálás menete	59
4.1.5.2. A vérplazma minták progeszteron szintjének meghatározása ELISA módszerrel	60
4.1.5.3. Az alkalmazott egyéb hormonanalitikai módszerek	62
4.1.5.4. A vérplazma egyes metabolitjainak a meghatározására használt módszerek	63
4.1.6. Az alkalmazott statisztikai módszerek	63

	Oldal
4.2. A vizsgálatok részletes ismertetése	64
4.2.1. Szapora merinó anyajuhok petefészek-működésének vizsgálata tavaszi (tenyészszezonon kívüli) időszakban	64
4.2.1.1. Eredmények	65
4.2.1.2. Az eredmények értékelése	74
4.2.2. Egyes ciklus indukcióra/szinkronizációra használt szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésre gyakorolt hatása juhban	77
4.2.2.1. Eredmények	78
4.2.2.2. Az eredmények értékelése	84
4.2.3. A vehemszám perifériás vér leptin szintje és a bélsár gesztagén metabolit koncentráció közötti összefüggés	86
4.2.3.1. Eredmények	86
4.2.3.2. Az eredmények értékelése	88
4.2.4. Az anyajuhok vemhességi ketózisának hormonális jellemzői és ellés utáni ovariális következményei	90
4.2.4.1. Eredmények	91
4.2.4.2. Az eredmények értékelése	95
5. ÖSSZEFOGLALÁS	97
5.1. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	99
5.2. A GYAKORLATNAK ÁTADHATÓ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	99
6. IRODALOMJEGYZÉK	100
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	115

AZ ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

¹²⁵I-RIA	¹²⁵ I izotóppal jelzett RIA	IGF-I	Inzulin-like-growth factor-I (inzulin-szerű növekedési faktor-I)
³H-RIA	³ H izotóppal jelzett RIA	IGFBP	IGF binding (kötő) protein
AcAc	acetecetsav	kDA	Kilodalton
ACTH	Adenocorticotrop hormon	LH	Luteinizáló hormon
AI	Artificial insemination (mesterséges termékenyítés)	MVK	Mellékvesekéreg
ANOVA	One-way analysis of variance (egyszempontos variancia-analízis)	NEB	Negativ energy balance (negatív energiamérleg)
BHB	β-hidroxi vajsav	NEFA	Nem észterifikált zsírsav
CBG	Transzkortin	NPY	Neuropeptid-Y
CL	Corpus luteum (sárgatest)	OR	Ovulációs ráta (ovulációs szám)
DF	Domináns folliculus	P₄	Progeszteron
E₂	17β-ösztadiol	PGF_{2α}	Prostaglandin F _{2α}
EGF	Epidermal growth factor (szöveti növekedési faktor)	PMSG	Pregnant mare serum gonadotropin (vemheskanca szérum)
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	RIA	radioimmunoassay
FEC^Bgén	Fecundity booroola gén	RFLP	Restriction fragment length polymorphism (restrikciós fragment-hossz polimorfizmus)
FGA	Fluorogeszton-acetát	SHBG	Szexualszteroidokat kötő fehérje
FLM	Fokozott lipid mobilizáció	STH	Somatotroph hormon (növekedési hormon)
FSH	Folliculus stimuláló hormon	T₄	Tetrajód-tironin, tiroxin
GnRH	Gonadotropin releasing hormon	T₃	Trijód-tironin
HEL	Hypophysis elülső lebeny	TGF_{2α}	Transforming growth factor α
hMG	human menopausal gonadotropin		
HTh	Hypothalamus		
hCG	human chorionic gonadotropin		

ÁBRÁK JEGYZÉKE

	Oldal
1. ábra	A sűrített elletési technológia vázlata 28
2. ábra	A bélsár progeszteron főbb metabolitjai 31
3. ábra	A szteroid hormonok termelésében, metabolizmusában és kiválasztásában résztvevő szervek és a hormonok útja 33
4. ábra	A különböző ¹⁴ C-es szteroidok bélsáron és vizeleten keresztüli kiválasztódása juhban, póniban és sertésben. 35
5. ábra	A bélsárextrahálás végeredménye 60
6. ábra	A kísérlet folyamatábrája 68
7. ábra	A vérplazma progszteron és a bélsár gesztagén metabolit szintje az inszeminálás utáni 7. napon 68
8. ábra	A kísérleti anyák ovulációs ráta eredményei 69
9. ábra	A vérplazma progeszteron szintje, illetve a bélsár gesztagén metabolit koncentrációja a nem vemhes, valamint a vemhesült állatokban az inszeminálást követő 7. napon 69
10. ábra	A vérplazma progeszteron szintje, illetve a bélsár gesztagén metabolit koncentrációja a vemhesült állatokban az inszemináláskor, valamint az ezt követő 7., 44., és 100. napon. 70
11. ábra	A standard kis dózisu ACTH-terhelésre adott kortizol-válaszkészség alakulása a fluorogeszton-acetát (FGA) kezelést megelőzően, a kezelés utolsó napján, továbbá az azt követő 14. napon. 79
12. ábra	A természetes progeszteron tartalmú CIDR tamponnal, illetve a fluorogeszton tartalmú Chrono-gest hüvelyszivaccsal kezelt állatok ACTH, T ₄ , IGF-I, kortizol, leptin és inzulin szintje 82
13. ábra	A standard kis dózisu ACTH-kezelésre adott kortizol-válaszkészség alakulása az FGA illetve a P ₄ kezelést megelőzően, a kezelés utolsó napján, továbbá az azt követő 14. napon. 83
14. ábra	A vérplazma leptin koncentrációja vemhesült és nem vemhesült anyáknál a termékenyítéskor és utána a 41., 81. és 101. napon. 87
15. ábra	A plazma leptin szintje a vemhesült állatoknál 1, 2 illetve 3 vehemszámnál a termékenyítéskor és utána a 41., 81. és 101. napon, valamint az R ² értékek a plazma progeszteron-leptin és a bélsár metabolit-leptin szint között. 87
16. ábra	A plazma progeszteron és a bélsár metabolit szint a vemhesség ideje alatt 88
17. ábra	A plazma leptin szintje a vemhesség 140. napján, valamint a ciklus indukcióját követően, a vehemszám, illetve a 140. napi BHB koncentráció függvényében. 95
18. ábra	A ciklusindukciót követően ovuláló, illetve a kezelésre nem reagáló anyajuhok plazma leptin és IGF-I szintje. 95

TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

		Oldal
1. táblázat	Az alomnagyság gyakorisági megoszlása az ellési intervallum nagysága szerint	29
2. táblázat	Az állatgyógyászatban hazánkban használt gesztagének	38
3. táblázat	A progeszteron metabolitok mérésére használt ELISA lépései	61
4. táblázat	Az alkalmazott egyéb hormonanalitikai módszerek	62
5. táblázat	A vércukor-szintnek, illetve a vérplazma egyes metabolitjainak a meghatározására használt módszerek	63
6. táblázat	A kísérlet kezdetén acikliás, illetve ciklikus petefészek-működésű egyedek életkora és testtömege	70
7. táblázat	Az egyes metabolikus hormonok plazmaszintje a kísérlet kezdetén acikliás, ill. ciklikus-petefészekműködésű egyedekben	71
8. táblázat	A különböző ovulciós rátájú egyedek életkora és testtömege	72
9. táblázat	Az egyes metabolikus hormonok plazmaszintje a vizsgált ciklusban a különböző ovulációs rátájú egyedekben.	73
10. táblázat	A természetes progeszteron tartalmú CIDR tamponnal, illetve a fluorogeszton tartalmú Chrono-gest hüvelyszivaccsal kezelt állatok ACTH, T ₄ , IGF-I, kortizol, leptin és inzulin szintje	81
11. táblázat	Az anyajuhok metabolikus és hormonális mutatói	93
12. táblázat	Az anyajuhok reprodukciós teljesítménye az ellés utáni 78-80.napon megkezdett ciklusindukciót követően	93

1. B E V E Z E T É S

A hazai juhtenyésztés helyzetének, lehetőségeinek meghatározója az Európai Unión belül is a **termelés hatékonysága** lesz.

Az árbevétel szempontjából az élő és vágóbárány a juhászatok legfontosabb terméke, s bár a **hústermelés mértéke** alapvetően az egyedi hústermelő képességgel függ össze, az a **szaporodóképesség javításával** is növelhető. Ezért világszerte nagy az érdeklődés az anyák szaporodásbiológiai tulajdonságait befolyásoló tényezők jobb megismerése, illetve a szaporasági mutatók javítását lehetővé tevő módszerek iránt.

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 nemi ciklus szabályozása az állattenyésztés igényei által meghatározott tenyésztési menetrendet jelent, amelyet a kezelt állatok természetes ciklusa helyett alakítanak ki. Az állattenyésztő gazdasági érdeke, hogy ellenőrizze a nemi ciklusba való beavatkozás és a mesterséges termékenyítés eredményességét, valamint az ellés lefolyását.

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

2. CÉLKITŰZÉS

Munkám során vizsgálataim alapvetően négy témakör köré csoportosultak:

1. Modern műszeres diagnosztikai (laparoszkópia) és endokrinológiai vizsgálómódszerek együttes alkalmazásával követtem nyomon a *szapora merinó* juh fajta néhány, a sűrített elletésre való alkalmasság szempontjából meghatározó jelentőségűnek számító *szaporodás-élettani tulajdonságát*.

1.1 Célom volt annak vizsgálata, hogy a szaporodásbiológiai szempontból legkritikusabbnak tekinthető *tavaszi végi - kora nyári időszakban milyen a ciklikus petefészek-működésű egyedek aránya*, illetve az adott egyedek *miként reagálnak* a ciklus-szinronizációs/indukciós kezelésre.

1.2. Vizsgáltam, hogy a petefészek-működés ciklikus vagy acikliás jellegének az elkülönítésére, illetve a ciklus és/vagy a vemhesség nyomon követésére használt plazma progeszteron koncentráció meghatározások helyettesíthetők-e az egyszerűbb mintagyűjtéseken alapuló *bélsár gesztagén metabolit meghatározásokkal*.

1.3. Adatokat kívántam nyerni arról is, hogy az állatok energetikai ellátottságát (inzulin, inzulin-szerű növekedési faktor-1, IGF-1), energia egyensúlyát (tiroxin, T4, illetve trijód-tironin, T3), valamint tápláltsági állapotát (leptin) tükröző *egyes hormonok perifériás vérszintjében kimutathatóak-e különbségek* az acikliás és ciklikus petefészek-működésű, illetve a különböző ovulációs számú egyedek között.

2. A kisállat-gyógyászatból származó ismereteink szerint egyes szintetikus gesztagének nem specifikus módon kötődni képesek a kortizol receptoraihoz és a hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg tengelyre reverzibilis szupresszív hatást gyakorolnak. *Gesztagének alkalmazását követően* ezzel analóg elváltozásokról gazdasági haszonállatokban eddig nem számoltak be. Vizsgálataimban arról kívántam előzetesen informálódni, hogy juhban a ciklus indukciójára igen kiterjedten használt, fluorogeszton hatóanyag-tartalmú *Chrono-gest* hüvelyszivacs alkalmazása nyomán számolnunk kell-e a *mellékvesekéreg működésének átmeneti érintettségével*.

3. A tejhasznú tehén ketózisának ovariális 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 tenyészszezón kezdete között eltelt idő bőségesen elegendő az anyák regenerálódásához. Nem elképzelhetetlen azonban a vemhességi ketózisnak az ovariális funkciókra gyakorolt hatása akkor, ha az anyákat még a tavasz folyamán, ciklusindukció segítségével kívánjuk újravemhesíteni. Dolgozatomban ezért vizsgáltam, hogy üzemi körülmények között tartott merinó anyajuhokban **lehetnek-e a vemhességi ketózisnak az ellés utáni időszakban előforduló ovariális következményei.**

4. A nagyrészt adipocytákban termelődő cytokin-szerű fehérje hormon, a **leptin** az elmúlt években került a takarmányfelvevő képesség és az energiaforgalom szabályozására irányuló kutatások előterébe. A vemhesség idején a vérplazma leptin szintje számos fajban jelentősen emelkedik, melynek részben a vemhességre általában jellemző pozitív energiamérleg és jobb tápláltsági állapot a magyarázata, bizonyos fajokban azonban a jelenség a vemhességgel közvetlenül is összefüggő tényezőkre vezethető vissza. Meggyőző adatok tanúsítják, hogy juhokban a plazma leptin szintje a vemhesség idején kb. megduplázódik, és az emelkedés mértéke független az állat tápláltsági állapotától valamint pillanatnyi energetikai státuszától. Munkám keretében célunk volt annak vizsgálata, hogy juhban **függ-e a vemhesség alatti leptin szintnövekedés mértéke a vehemszámtól.**

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A juh petefészek-működésének élettana és annak jellegzetességei

3.1.1. A petefészek ciklikus működésének élettana

A jerkék petefészek működésének ciklusát a hypothalamusban (HTh), a hypophysisben, a tüszőben, a sárgatestben és a méhben termelődő hormonok és ezek egymás közötti kapcsolata szabályozza *pozitív és negatív feed-back láncolatokon* keresztül. A HTh-ban szekretálódó **gonadotropin releasing hormon** (GnRH) indukálja a hypophysis elülső lebenyében (HEL) a **folliculus stimuláló hormon** (FSH), illetve **luteinizáló hormon** (LH) felszabadulását.

Az újszülött jerke petefészke a születése pillanatában már rendelkezik a teljes kialakult primer tüsző mennyiséggel. Lényegében ma is ismeretlenek azok a mechanizmusok, amelyek e follikuláris állomány tagjainak a fejlődését a jerke életének adott pillanataiban megindítják. Jelen tudásunk szerint- bár bizonyos mértékű gonadotrop (főleg FSH) hatást már a szekunder, ill. a terciér tüszők is igényelnek- ez idő tájt differenciálódásukat elsősorban különböző növekedési faktorok irányítják.

Az összességében kb. 120-180 napos(!) terciér tüszőfejlődésnek csak az utolsó napjaiban kifejezett a HTh-HEL-petefészek tengely hormonjainak szabályzó szerepe.

Az FSH meghatározó szerepet játszik a granulosa sejtek számának növelésében, a sejt differenciálódásban és a túlélésben. Ezt a hatást erősítik, illetve módosítják olyan autocrin (sejten belüli) faktorok, mint az ösztrogén és paracrin (sejten kívüli) növekedési faktorok, mint tüszőfolyadékban jelen lévő *activin* hormon (HAFEZ és HAFEZ 2000) vagy az *inzulin-szerű növekedési faktor-1* (insulin-like growth factor-1, IGF-1) (CAMPBELL,1999; MONNIAUX és mtsai 1997/a,b). Az adott pillanatban rendelkezésre álló kisméretű antrális (terciér) tüszők egy csoportja egy FSH hullám hatására egyidejűleg indul fejlődésnek (ez az ún."follikuláris cohort"), másik része degenerálódik (atretizál).

Az LH a harmadlagos tüsző theca interna sejtjein kialakult LH- receptorokhoz kötődik. Ha a harmadlagos tüsző receptorai telítődnek inzulinnal, IGF-I-gyel, pajzsmirigy hormonokkal és LH és FSH is megfelelő koncentrációban van jelen, akkor a tüsző metabolikusan aktívvá válik **ösztradiolt** (E₂) és az **inhibint** szekretál.

Az FSH termelődését az *inhibin* gátolja, szintjét a luteális fázisban viszonylag állandónak mutatták ki (SCARAMUZZI és mtsai 1993), FSH szekréciót gátló hatásával segít fenntartani a fajra jellemző ovuláció számot, elkerülve ezzel a nagy számú, kihordhatatlan termékenyülést (HAFEZ E.- HAFEZ B. 2000).

Az LH koncentráció meghatározott értéke szükséges majd a sárgatest **progeszteron** (P₄) szekréciójának beindulásához is.

Az ivari ciklusban az LH hullámokban, impulzus-szerűen szabadul fel. Ez a hullámozás egyrészt a HTh ún. "tonikus" centrumából érkező GnRH hatásra keltett pulzáló jellegű LH alapszekrécióban nyilvánul meg, amely frekvenciája a tüszőfázisban 45-75 percenként éri el csúcsát, amplitúdója pedig 2-3 nmol/l. Ovuláció előtt a HTh-ban a harmadik agykamra oldalsó falát alkotó magvak neuronjainból (a HTh ún. surge centeréből) nagy mennyiségű GnRH szabadul fel, kiemelkedően magas ún. "preovulációs" LH csúcsot indukálva (30-100 nmol/l-es amplitúdóval). A GnRH preovulációs LH csúcsot okozó felszabadulását kiváltó tényező a preovulációs tüsző theca sejtjeiben termelődő ösztrogén szintjének emelkedése (E₂ indukált pozitív feedback), mely az LH szekréció stimulálásával egy időben gátolja az FSH szekréciót (HAFEZ és HAFEZ 2000). Ovuláció előtt tehát az FSH szint erőteljes csökkenése és az LH sűrű hullámú, majd magas értékű pulzáló felszabadulása a jellemző (DRIANCOURT, 2001).

Az ivarzási tünetek juhnál 28-36 órán át jelentkeznek, az ovuláció az ivarzási tünetek kezdete után 18-24 órával következik be.

Két-három nappal az ovuláció után a progeszteron szint emelkedése figyelhető meg a perifériás vérben, ilyenkor kezdi el aktív tevékenységét a sárgatest (corpus luteum, CL). A maximális szintjét a ciklus 10-12. napján éri el a progeszteron koncentráció, amely fennmarad a luteolízisig, tehát a ciklus 14-15. napjáig. Az ovulációt követő 14. nap körül, ha nem történik termékenyülés vagy a zigóta nem jut le a méhbe, a méh **prostaglandint F2 α -t** (PGF_{2 α}) termel, amely a helyi vérkeringésen keresztül eljut a petefészekbe és megindítja a luteolysist, a sárgatest hanyatló átalakulását.

A sárgatest elsorvadása után a progeszteron szint drasztikusan csökken, 24 órán belül eléri a minimumát és alacsony marad a tüszőfázis alatt, az ovuláció utáni 2.-3. napig (SCARAMUZZI és mtsai,1993).

3.1.2. A petefészek működés jellegzetességei

Az 1960-as évek óta - RAJAKOSKI vágóhídi tehén petefészek megfigyelései nyomán - tudjuk, hogy egy-egy cikluson belül ún. "**tüszőérési hullámok**" zajlanak le. Egy-egy hullámban tehát több tercier tüsző kezdi el fejlődésének végső fázisát. Közülük több időközben degenerálódik, néhányukból **domináns folliculus** (DF) lesz, amelyekből végül egy vagy több ovulálhat. Az ultrahang echográfias technika és a hormonális vizsgálatok fejlődése nyomán ezen tüszőérési hullámokról egyre többet tudunk, EVANS és mtsai (2000), MALPAUX és mtsai (2000), THATCHER és mtsai (2000), DRIANCOURT (2001) munkája nyomán ismert, hogy minden tüszőérési hullám 3 szakaszból áll:

/1/ *Érési, fejlődési szakasz.* A tüszőnövekedési hullám kezdetén a már FSH érzékeny kis méretű harmadlagos tüszők csoportjából (ún. "antrális tüsző pool") kiválik néhány (ún. "follikuláris cohort") és megkezdí fejlődésének végső szakaszát. A fázis elejét megnövekedett FSH termelődés jellemezi.

/2/ *Kiválasztódás fázisa.* Az egyidejűleg fejlődésnek indult tüszők egyike (illetve többes ovuláció esetén egynél több tüsző), rendszerint a legnagyobb átmérőjű(ek), LH iránt érzékennyé válik, ösztrogén termelő képessége fokozódik (domináns folliculus). Ekkor éri el az FSH termelődés a csúcsát, a DF granulosa és theca sejtjeiben LH és FSH receptorok fejlődnek ki, valamint olyan inhibitor anyagokat termel, amely gátolja a többi tüsző fejlődését, így ezek a subordinált, alárendelt folliculusok elsorvadnak (atretizálódnak).

/3/ A DF ezt követően *hanyatló átalakuláson* mehet át (működő sárgatest jelenlétében, vagy ha a petefészek működése nem ciklikus), amikor is a DF lényegében elhal (apoptosis). Lokális, ill. az FSH termelésre gyakorolt, inhibin-mediált, gátló hatása megszűnik és újabb tüszőnövekedési hullám veszi kezdetét. A másik lehetőség (ciklikus petefészek-működésű állatokban, a HTh kellő E₂ érzékenysége esetén), hogy a folliculáris ösztrogén termelés preovulációs LH csúcsot vált ki, majd a tüsző *ovulál*.

A tüszőfejlődést tehát először növekedési faktorok határozzák meg, majd a fejlődő tüsző FSH függősége, végül az antrális folliculus LH által befolyásolt érése a jellemző (MONNIAUX et al. 1997/b)

Az FSH koncentráció egy alapszint alá csökkenése az FSH függő növekedési faktorok és hormonok különböző átalakulását, módosulását okozza az előszelektált tüszők csoportjánál. Ez a szelekciós folyamat végéhez vezet és így felelős a domináns

folliculus állandó növekedéséért és megnövelt ösztadiol termelő képességéért, valamint az alárendelt tüszők visszafejlődéséért. Tehát a harmadlagos tüszővé váláshoz: /1/ növekedési képességet kell tanúsítania az adott tüszőnek FSH koncentráció csökkenés esetén; /2/ megnövekedett fogékonyságúnak kell lennie az IGF-I-re (mely koncentrációja az IGF-I kötő fehérjék csökkent aktivitása következtében nő); /3/ a granulosa sejtjeiben LH receptorok kifejlődése szükséges, amelyek LH-ra érzékenyebbé teszik az adott tüszőt más tüszőkkel szemben. (CAMPBELL, 1999; DRIANCOURT, 2001).

Az a domináns tüsző fog ovulálni, amelyik eléri a megfelelő méretet és ennek az ösztrogén termelése is magasabb, mint a többi domináns tüszőé. Így tehát a tüszőérési hullámok domináns tüszői között nemcsak méretbeli, de szteroid- termelésbeli különbségek is vannak.

Juhnál egy ivari cikluson belül 2-4 tüszőérési hullám figyelhető meg, 4-6 naponta jelentkeznek szoros összefüggésben az FSH szint növekedésével (BISTER és mtsai, 1999; EVANS és mtsai, 2000; MONNIAUX és mtsai, 1997/a,b).

A domináns tüsző végső átmérőjét és ösztrogén-termelő képességét metabolikus hatások befolyásolják. A kívánatosnál gyengébb tápláltsági állapot esetén több hullám is megfigyelhető, ennek oka, hogy a negatív energiamérleg hatására a tápláltsági állapottal összefüggő faktorok, mint glükóz, inzulin, IGF-1 szintje csökken, így a tüsző növekedése nem fenntartható, hamarabb elhal és újabb és újabb kezd fejlődni (GWASDUSKAS és mtsai, 2000).

3.1.3. Metabolikus hormonok szerepe a kérődzők szaporodásbiológiai folyamataiban

3.1.3.1. A leptin

A **leptin** ZHANG és mtsai (1994) által néhány esztendeje azonosított, 16kDa tömegű, 167 aminosavból álló cytokin-szerű **fehérje hormon**, mely nemrég került a takarmányfelvevő képesség és az energiaforgalom szabályozására irányuló kutatások előterébe.

KENNEDY (1953) liposztatikus elmélete szerint az emlősök energia-egyensúlyát, testsúlyát és test-összetételét a hipotalamus-testzsír raktár kapcsolata határozza meg, a táplálék-felvételen és az energia felhasználáson keresztül. Ezen homeosztatikus rendszer egyik fő eleme a leptin (DELAUUD és mtsai, 2000), mely a fehér zsírszövet adipocytáiban termelődik. (A leptin szó a görög „leptos” szóból ered, amelynek jelentése: sovány, vékony.)

Feltételezik, hogy a leptin (az egyik) olyan mediátor anyag, amely, mintegy **metabolikus jelzőanyagként tájékoztatja a központi idegrendszert** – mindenek előtt annak hypothalamikus régióit – a szervezet zsírdépóinak telítettségéről. Ezzel jelentősen befolyásolja a táplálkozási magatartást, továbbá az energiaháztartás, illetve a nemi működés endokrin regulációját. Emellett a különböző szervek számára is jelzi a tápláltsági állapot változásait, viszonylag magas vérszintje fokozza a szervek, szövetek energiafelhasználását. Direkt hatása a zsírsejtekre a zsírszintézis gátlása, az acetyl-CoA karboxiláz aktivitásának csökkentésével. Összességében elmondható, hogy laboratóriumi rágcsálókban és főemlősökben a perifériás vér leptin szintjének a jó tápláltsági állapotot tükröző, emelkedett volta csökkenti a szárazanyag-felvevő képességet és fokozza a perifériás szövetek energiafelhasználását (FRIEDMAN és HALAAS 1998; HOUSEKNECHT és mtsai 1998).

Egérben, patkányban és emberben a leptin perifériás vérben keringő koncentrációja egyenes arányban áll az adipocyták triglicerid (TAG) telítettségével, azaz a test zsírtartalmával, a tápláltsági állapottal (FRIEDMAN és HALAAS 1998; HOUSEKNECHT és mtsai, 1998, ZHANG és mtsai 1994). A legújabb megfigyelések hasonló összefüggést igazolnak sertésben, szarvasmarhán, juhon, lovon és macskánál is (CHILLIARD és mtsai 1998; DELAUEUD és mtsai 2000).

Sajnálatos módon, a perifériás vérből történő mennyiségi meghatározás kérdőzókben szinte a legutóbbi időkig csaknem lehetetlen volt. A meglehetősen fajspecifikus aminosav szekvenciából adódó módszertani nehézségeket fokozza, hogy kérdőzókben a leptin szintje a laboratóriumi rágszálókéhoz és főemlősökéhez viszonyítva jelentősen alacsonyabb, és emellett elég jelentős mértékű, a tápláltsági állapottól független egyedenkénti különbségek is nehezítik a kapott adatok értékelését. Mindezekből következik, hogy a leptin élettani szerepére vonatkozó ismeretek napjainkban jórészt laboratóriumi rágszálókon és főemlősökön végzett kísérletekből származnak, a kérdőzökre vonatkozó jelen ismereteink rendkívül szegényesek (BOCQUIER és mtsai, 1998; CHILLIARD és mtsai, 1998, MINTON és mtsai, 1998, AMSTALDEN és mtsai, 2000).

A leptin fehérjéhez kötődve szállítódik a vérben, melyek a felezési idejét és bioaktivitását is meghatározzák. A hypothalamus receptorai kötik meg és szabályzó neuropeptidok keletkezését befolyásolja, melyek közül a neuropeptid Y (NPY) az éhségérzetet fokozza. A takarmányfelvételt és energiafelhasználást szabályozó hatását tehát az NPY szabályozza, negatív feed back mechanizmuson keresztül; ha a leptin szint nő, csökken az NPY felszabadulás (KAREN és mtsai, 1998), éhezés hatására növekszik az NPY koncentráció a hypothalamusban és az NPY-mRNS szint a nucleus arcuatus magvakban (BARB, 1999). AHIMA és mtsai (1997) megfigyelései alapján is az alacsony leptinszint a HTh-ban jelentős NPY termelés-növekedést vált ki, ami patkányokban gátolta a HTh-HEL-ovarium tengely működését. Ennek nyomán általánossá vált az a felfogás, amely szerint a táplálékmegvonás, illetve az energiahányos takarmányozás szaporodásra gyakorolt hátrányos hatása a hypothalamus szintjén a NPY neurotranszmitteren keresztül érvényesül.

CAPRIO és mtsai (2001) szerint a leptin nagy valószínűséggel kettős szerepet játszik a szaporodási folyamatok szabályozásában: az alacsony leptin szint visszafogja a reprodukcióhoz szükséges hormonok termelődését (jelezve a szervezetnek, hogy nincs megfelelő tápláltsági állapotban a vehemépítéshez), ugyanakkor a fiziológiásnál emelkedettebb leptin szint (tehát a túltápláltság) is negatív hatással van a petefészek működésre és /vagy az embrió fejlődésére, életképességére.

Ezt a változó hatást valószínűleg a leptin receptorok számának és/vagy a másodlagos közvetítő rendszereknek a változása magyarázhatja.

A leptin receptorok az I-es citokinin receptor családba tartoznak és legkevesebb öt változatuk van (TARTAGLIA és mtsai, 1995, LEE és mtsai, 1996), melynek köszönhetően a receptorok kiterjedten fellelhetők a központi idegrendszerben.

Juhval végzett kísérletekkel is igazolták, hogy a leptinreceptorok az agyvelőben az étvágyat és a szaporodást szabályozó neuroreceptorok közvetlen szomszédságában vannak. A funkcionális leptinreceptorok tehát főleg a hypothalamusban találhatók, de receptorsejtek fellelhetők még a petefészekben, a méhben és a herében, sőt az agyvelő egyéb részeiben is.

BARB (1999) in vitro vizsgálatai szerint a leptin serkenti a GnRH felszabadulást a hypothalamus sejtekben és az agyalapi mirigyben az LH és növekedési hormon (STH) felszabadulást.

Emberben és rágcsálókban végzett megfigyelés alapján (KAREN és mtsai, 1998), a vér leptin-koncentrációja napszakonként változó, a csúcsát éjjel, illetve kora hajnalban éri el (BARB és mtsai 1999). Szekréciója számos más protein hormonhoz hasonlóan (pl. LH, STH) pulzáló, hullámszerű.

Az adipocyták leptin produkciója meglehetősen bonyolult, sok vonatkozásában még napjainkban is ismeretlen endokrin szabályozás alatt áll. Főemlősökben és laboratóriumi rágcsálókban a tartósan emelkedett inzulin szint, továbbá a glukokortikoidok, és pl. az endotoxin terhelés növelni képes a leptin aktuális plazma szintjét. Ugyanakkor az adipocytákban mindezideig nem sikerült igazolni inzulinra kiürülni képes intracelluláris leptin raktár jelenlétét. A leptin fékezi a hypophysis-mellékvese rendszert, leptin hozzáadására csökken a bovin mellékvese-kéregből származó in vitro sejt kultúra szteroid produkciója, illetve rágcsálókban az emelkedett leptin koncentráció in vivo körülmények között is csökkenti a mellékvesekéregben folyó kortizol szintézist (KAREN és mtsai, 1998), tehát a leptin és a kortizol elválasztása szorosan összefügg.

HENRY és mtsai (2001) megfigyelése szerint a takarmány-visszafogás egyaránt csökkentette a leptin és a legtöbb szexuál hormon termelését juhokban, ami közvetve mindkét nemből rontotta a fertilitást. Leptin befecskendezésével azonban krónikusan alultáplált, ovariectomizált juh-modellben is stimulálni tudták a GnRH/LH-alap szekréciót. Emellett valószínűsíthető, hogy a leptin házi emlősökben fontos regulátora mindazoknak az egyéb élettani történés-sorozatoknak (azaz az ellés utáni időszakon kívül az *ivarérésnek*, illetve szezonális ivari aktivitású fajokban a *biológiai tenyész-*

szezon kezdetének) is, amelynek során a petefészek működése acikliásból ciklikussá válik.

CIOFFI és mtsai (1997) meddőségi kezelésen átesett nők vizsgálatai során kimutatták, hogy az ovuláció utáni leptin szintemelkedés szoros kapcsolatban állt az embrió implantációjával, a leptin tehát szerepet játszik a beágyazódás előtti embriófejlődésben is.

A leptin termelt mennyisége és hatása a zsírsejtek nagyságán kívül összefügg az állat súlyával, nemével, sőt a fényhatással is. Így a plazma leptin koncentrációja és hatása súlyvesztéskor szignifikánsan csökkent, a zsírszövet megszaporodáskor és fényhatásra pedig a nőneműekben volt jelentősen nagyobb (BOKORI, 2000).

Alultápláltság állapotában, az energiaraktárak csökkenése miatt (a leptin koncentráció alacsony) csökkent fertilitás alakult ki, mint kompenzációs és védekező mechanizmus.

Mindezek alapján a leptin szaporodásbiológiai hatása úgy összegezhető, hogy: /1/ neuroendokrin úton és talán az ivarszervek egyes szöveteire is hatást gyakorolva szabályozza a reprodukív folyamatokat; /2/ e szabályozás nemcsak a pubertás korban, hanem szezonálisan más életciklusokban, így pl. az ellés utáni anoestrus időszakában is jelentős lehet; /3/ a leptin kísérleti befecskendezése kedvezőtlen takarmányozás és következményes kondíció romlás esetén is serkenthet bizonyos reprodukív funkciókat (BOKORI, 2000).

A takarmányozás befolyásolja a reprodukív működést, a leptin pedig az anyagcsere folyamatok egyik jelzőéül szolgál. ***A mért leptin szinten keresztül tehát az egyed szaporodásbiológiai állapotáról is képet kaphatunk*** (SMITH és mtsai, 2002), s a vér leptin szintje nemcsak a szervezet tápláltsági állapotát, hanem energia-egyensúlyát is jelzi.

3.1.3.2. Az inzulin-szerű növekedési faktor I (IGF-I)

Az **IGF-I** (inzulinszerű növekedési faktor-1) a polipeptidek családjából származik, 70 aminosavból álló, 7500 Da súlyú fehérje, mely nagy szerkezeti homológiát mutat a proinzulinnal. Mint **növekedési hormon** alapvető szerepet játszik a növekedés szabályozásában és a fehérje szintézisben, inzulin-szerű hatása révén segíti a glükóz bejutását a sejtekbe, ezzel megteremtve a fehérjeszintézishez, illetve a növekedéshez szükséges energiát, szabályozza a sejtnövekedést és differenciálódást, valamint fenntartja a differenciálódott sejtek működését (ZAPF és mtsai, 1987).

Az inzulin mellett az IGF-I a másik olyan hormonszerű anyag, amelynek szérumszintje pozitív összefüggést mutathat a szervezet energetikai egyensúlyával (RONGE és BLUM, 1989; YUNG és mtsai, 1996).

Kisebb mennyiségben számos egyéb szervben, szövetben (így pl. a petefészekben) is képződik, a keringésben levő, öt különböző specifikus kötőproteinhez kapcsolódó IGF-I mennyiség nagy része azonban STH hatására a **májban képződik**.

Az STH-nak számos, az anyagcserére, és szinte valamennyi, a tejtermelésre kifejtett hatása IGF-I által közvetített élettani folyamat (McGUIR és mtsai, 1992). A vérplazmán kívül kóródzókban kimutatták már a kolosztrumból, a tejből, a tőgy nyirokereiből vett lymphából, továbbá a tüszőfolyadékból is. Az IGF-I-nek nagyszámú humorális (endokrin, parakrin és autokrin) hatás tulajdonítható.

Szarvasmarhában is bizonyítást nyert az IGF-I szérumszintje és a testtömeggyarapodás üteme, illetve a tápanyag-hasznosulás hatékonysága (STICK és mtsai, 1998), továbbá az energiaellátás egyensúlya (RONGE és mtsai, 1988) közötti pozitív összefüggés. Szaporodásbiológiai szempontból nagy fontosságú a petefészek működésére (tüszőnövekedés és érés, sárgatest-képződés, follikuláris és luteális szteroidhormon termelés) gyakorolt, általában stimulatív jellegű, sok részletében azonban még napjainkban sem ismert befolyása, amelynek az ellés utáni időszakban többen meghatározó jelentőséget tulajdonítanak (SPICER és mtsai, 1991; BEAM és BUTLER, 1998).

A negatív energiamérleg nem okoz közvetlenül progeszteron szint csökkenést, de olyan táplálkozással összefüggő faktorok csökkenését lehet kimutatni, mint pl. a glükóz, inzulin, IGF-1. Ezek feltétlenül fontosak a tüszőnövekedéshez és éréshez, az egészséges tüsző kialakulásához majd az embrió fejlődéséhez. Az embrió túlélése tehát

nem csak a sárgatest progeszteron termelésétől függ, hanem a tüsző ovuláció előtti megfelelő minőségétől is (HUMBOLT 2000).

Az IGF-I vérplazma szintje az anyagcsere folyamatok jelzője is szolgálhat, illetve az egyed szaporodásbiológiai állapotáról is képet kaphatunk általa.

3.1.4. A petefészek működés szezonális jellegének élettani alapjai

Az élővilág fejlődésének évmilliárdjai alatt azok a fajok maradtak fenn, amelyek a legjobban tudtak alkalmazkodni környezetükhöz. A mérsékelt égöv alatt élő parlagi juhajták ivari viselkedése, a *szezonalitás* is alkalmazkodás eredménye. Természetes, hogy akkorra "időzítették" az ellést az anyajuhok (február vége), hogy a szoptatás után levált béranyoknak tavasztól hosszú ideje legyen télleg megerősödni.

Hormonrendszerük is ehhez igazodott, tehát az ovulálni képes domináns tüszők kifejlődéséhez, a tüszőrepedéshez, illetve ezt követően a sárgatest kialakulásához elsősorban ebben az időszakban (azaz tenyészszezonban) van megfelelő endokrin környezet.

Kis méretű harmadlagos (tercier) tüszők tenyészszezonon kívül is kialakulnak, és ösztrogén termelésére is képesek, ilyenkor azonban mégsem érik el a végső érettség állapotát, nem tudnak ovulálni sem. Ezt az időszakot nevezzük anösztrusznak vagy acikliának. Ennek egyik alapvető oka, a gonadotropin szekréciót befolyásoló hormonok feed-back hatásának változásában van.

Napjainkban már széles körben elfogadott tényként kezelendő, hogy *a pulzáló jellegű LH alapszekréció hullámszámának a fiziológiássá válása*, azaz amikor két LH hullám között csak 45-75 perc telik el, a legfontosabb szabályzó mechanizmus, amely a DF-et képessé teszi a végső tüszőérésre (BEAM és BUTLER, 1999).

A ciklus tüszőfázisában az LH impulzusok 45-75 percenként követik egymást, míg anösztrusz idején ez 6-12 óránként következik be, s ennek, valamint a progeszteron hiányának köszönhetően acyclikus állapotban az ösztradiol negatív feed-back hatással gátolja a hypothalamus és a hypophysis GnRH és LH termelését (O'CALLAGHAN, 1999).

Tenyész-szezonban ép petefészkű jérkéknél az LH szint fönntartott növekedését figyelték meg (O'CALLAGHAN, 1999) az ösztrogén szint emelkedése mellett és ellenére. A tenyészszezon végén az utolsó sárgatest elsorvadását követően az LH szekréció emelkedni kezdett és az ösztradiol termelés is nőtt. A HTh ösztrogénra azonban nem fogékony és a pozitív feed-back válaszkészség hiánya következtében az

ösztrogén rövidíti az LH szint emelkedését, ami meggátolja az ovulációhoz szükséges gonadotropin termelést és a megfelelő LH frekvencia kialakulását. Ezek a megfigyelések is alátámasztják HAFEZ és HAFEZ (2000) megállapítását, mely szerint a szteroid hormonoknak a vérben lévő koncentrációjuktól függően van serkentő, vagy gátló hatásuk.

LUBBERS és JACKSON (1993) egy éven át vizsgálták kosnál és jérkénél az LH koncentráció változását a vérben. Eredményeik szerint mindkét nemnél változik az LH szint, de az anyáknál jelentősebb az ingadozás. Április és szeptember között igen alacsony (0,6-0,7 ng/ml), szeptember és december között kiugróan magas (10-24 ng/ml), utána áprilisig csökkenő (5-15 ng/ml) tendenciát mutat, míg kosoknál egész évben egyenletes eloszlású (2,7-12 ng/ml). Ennek valószínűleg az lehet az oka, hogy az anyáknál több a hypothalamusban az ösztrogén receptor, mint a hímeknél, ahogy ezt egérkísérleteken megfigyelték. Másrészt az LH szekréciót befolyásoló neurotranszmitter rendszerben is van különbség a nemek között, mert pl. az egereken végzett megfigyelés szerint dopamint szintetizáló neuronok sűrűsége nagyobb a nőstényekben, mint a hímeknél.

3.1.5. A környezet hatása a nemi működésre

A petefészek működését a HEL gonadotrop hormonjai szabályozzák, de a szabályozásban az agykérgen (cortexen) keresztül különböző ingerek befolyása is érvényesül, a környezet hatása tehát jelentős a nemi működésre. A leglényegesebb jellemzője a juhok ivarzási viselkedésének a **szezonalitás**, mely során szexuálisan aktív *ösztrusz* időszak (tenyészszezón vagy ciklusos állapot) és inaktív ún. *anösztrusz* időszakok (aciklikus petefészek-működésű állapot) váltják egymást az év folyamán.

A szezonalitást a fotoperiodikus szabályozórendszer irányítja, mely magában foglalja a szemet, a hypothalamus suprachiasmaticus magjait (SCN) és a tobozmirigyet, mely a melatonin hormont termeli. (LINCOLN, 1998). **A fény** a retina 3. dúcsejtjén keresztül a nervus optikuson át jut a hypothalamus-hypophysis rendszerhez, ahol a tobozmirigy működését szabályozza.

A jérké a napi és évi fotoperiódus változását a **melatonin hormon** hatására érzékelik, termelődését a fény csökkenő intenzitása fokozza, tehát a rövid nappalok során a melatonin hosszabb ideig termelődik. A hormonszint-emelkedés időtartama kritikus tényező a melatonin-hatás reprodukciós érvényesülésében, mely szabályozza

GnRH, valamint ennek következtében az LH lökészerű felszabadulását is (MALPAUX és mtsai 2000). A melatonin valószínűleg nem közvetlenül a GnRH neuronokra hat, hanem az agy és a hypophysis specifikus célsejtjeire, melyeknek fejlett melatonin receptorai vannak, a hypothalamus mediobasalis részében kontrollálja a gonadotropin szekréciót. Különböző neurotranszmitterek (dopamin, szerotonin) is segítenek a melatonin-hatás kifejtésében (LINCOLN, 1998, MALPAUX és mtsai, 2000).

Amennyire érzékenyen befolyásolja a juhok ivari működését a fény, olyan érzékeny a **szagingerekre** is. Ezeket **szex-feromonok** váltják ki, melyek speciális kémiai anyagok. A hím állat feromonjai belső elválasztású folyamatokat indítanak meg az anyáknál, a nőivarú állat feromonjai pedig jelzik ciklusbeli állapotát. A szagingerek szexuális viselkedésre, illetve pázásra készítetik úgy a kóst, mint az anyát. A feromonok megtalálhatók a vizeletben, a hüvelynyálkahártyában, a gyapjában. Molekulaszerkezetük instabil, mivel jérkéknél csak a ciklus egy rövid fázisában vannak jelen, illetve a hím nemi hormonok, bár stabilabb szerkezetűek, de kis molekulatömegük miatt illékonyak, hiszen illékonyaságukban rejlik szaglásra kifejtett hatásuk is (DEHNHARD és CLAUS, 1996). A kereső kósnak pótolhatatlan szerepe van az ivarzó anyák kiválogatásában /heat detector/. A kos szaga ivarzást élénkítő vagy kiváltó hatását fokozhatja az erősebb szagú kecskebak jelenléte a nyájban. Kos jelenlétében az ivarzás rövidebb és a tünetek kifejezettebbek, az LH felszabadulás frekvenciája növekszik (LUCIDI és mtsai, 2001). A mesterséges termékenyítés eredményei is jobbak, ha vazektomizált kos van az anyák között.

Régi tapasztalat, hogy az ivarzás és vemhesülés akkor a legkedvezőbb, ha a juhok a termékenyítési időszakban, fedeztetés előtt 3-4 héttel, energiában, szükség esetén fehérjében, bővebb *takarmányozásban* részesülnek. A **javuló kondíciót** kiváltó takarmányozás a **“flushing”** kedvező szaporodásbiológiai hatása minden évszakban, még az ivarzási szezonon kívül is megmutatkozik. Nem kedvez azonban a szaporodási folyamatoknak a kívánatosnál jobb kondíció vagy az egyenletesen jó tápláltsági állapot (MUCSI, 1997).

Az ivarzási szezonális, illetve éven át jelentkezése **fajtától** is függ. A juh ősei, a vadjuhok és a mérsékelt égövi parlagi fajták csak ősszel ivarzanak és tavasszal ellenek. Tenyészidejük szeptember-október hónap, az év többi részében mély anösztrusz

jellemző. A domesztikált, és különböző tenyészcéloknak megfelelően szelektált, tenyésztett fajták mára már éven át ivarzanak és fogamzanak.

Egy-egy fajtán belül az anyák és a kosok szezonalitása eltérő. A fajták közötti eltérést támasztja alá az a vizsgálat is, melyet azonos területen élő, különböző fajtájú kosoknál (vad muflon, félig domesztikált soay juh, és különböző házasított fajták) végeztek. Minden fajtában megfigyelhető volt a vérplazma FSH, inhibin és tesztoszteron szintjének, valamint a here méretének évszakonkénti változása. Azonban, amíg a vad fajtáknál rövid ideig tartó (szept.-nov.) és kiugró értékek voltak nagy különbséggel (pl. FSH max.: 76-90 ng/ml; min.: 5-15 ng/ml), addig a házasított fajtáknál a maximumok alacsonyabbak, a különbségek kisebbek voltak (pl. FSH max.: 30-47 ng/ml; min.: 5-7 ng/ml) és a hormonszint, valamint a hereméret növekedés hamarabb kezdődött (július) (LINCOLN és mtsai, 1990).

Az ivari tevékenység élénkebb, vagy mérsékeltebb megnyilvánulását a **hőmérséklet** és a **légnyomás** is befolyásolja (HÚSVÉTH, 2000). A légnyomás emelkedése, hűvös, nagy páratartalmú légtömegek betörése serkentőleg hat az ivarzásra. Hőmérséklet tekintetében a juh elsősorban a melegre érzékeny, ami gátolja az ivarzást, rontja az embrió megtapadásának esélyét, gyengíti a született bárányok életképességét. Ezen kívül a nagy meleg késleltetheti az ivarzás jelentkezését, több lesz a tünetmentes, csendes ivarzás.

3.1.6. Az ovulációs rátát meghatározó genetikai háttér: a FecB gén

Ovulációs rátának (OR), vagy ovulációs számnak nevezzük az egy ivarzás alatt a két petefészken összesen levált tüszők, illetve a helyükön kialakult sárgatestek számát. Ez meghatározhatja a születendő utódok számát is, hiszen minél több tüsző érkezik meg egy ciklusban, annál nagyobb az esélye a többes fogamzásnak, illetve ellésnek.

A *booroola merino* a világ négy leghíresebb juhajtáinak egyike. Ezt a kivételes képességet egy, a szaporaságot meghatározó **nagyhatású**, ún. **FecB génnek** (Fecundity Booroola gén) köszönheti. A booroola gén egy **autoszomális mutáció**, melyet az újszülöttek számára (PIPER ÉS BINDON, 1982) és az ovulációs rátára (DAVIS és mtsai, 1982) irányuló szegregációs vizsgálatok alapján mutattak ki. A fenotípus a mendeli törvényeknek megfelelő öröklődést mutat, mely bizonyítja, hogy valamilyen nagyhatású génről van szó, melynek additív hatása van az ovulációs rátára

és részleges dominanciát mutat az alomszámot illetően. A Fec^B allél egyszeri jelenléte az ovulációs rátát átlagosan 1.3-1.6-el, az alomszámot 0.9-1.2-el növeli (LEYHE-HORN és mtsai, 1998). A szaporaságot befolyásoló nagyhatású gének közül ez volt az első, melyet azonosítottak. Felismerve jelentőségét más juhállományok szaporaságának növelésében, jelentős kutatások kezdődtek a tulajdonság fiziológiai, genetikai hátterének megismerésére. Azóta több, a szaporaságot befolyásoló nagyhatású gént is azonosítottak már, pl. FecJ-gén, thoka-gén, olkuska gén (FAHMY, 1996), de a legszélesebb körben mégis a FecB gént hasznosítják a különböző tenyésztési fejlesztésekben és a szakmai köztudatban is ez a legelterjedtebb.

Nyilvánvalóvá vált, hogy *a gén kifejeződése ivarra korlátozott*, mivel a booroola kosokban a termékenyítő képességére vonatkozó vizsgálati eredmények (here növekedési ráta, here méret, teljes napi spermatermelés, stb.), valamint a hormonális jellemzők teljesen hasonlóak voltak a normál merino kosokéhoz. A nőivarú egyedeken végzett vizsgálatok eredményeit pedig - booroola anyák esetében kimutatott jelentős FSH növekedés az ivari ciklus során - egy visszacsatolási elégtelenségnek (feedback deficiency) tulajdonították, mely valószínűleg a folyamatban szerepet játszó inhibin hormon kisebb mennyiségben való jelenlétéből adódik (BINDON, 1984).

BISTER és mtsai (1999) vizsgálatai szerint a booroola szaporá gént hordozó anyajuhoknál a magas OR-t befolyásoló tulajdonságok közül a tüszők kisebb mértékű sorvadása és a harmadlagos tüszők korai ösztrogén-termelő képessége volt a legfontosabb a gént nem hordozó anyajuhok tüszőtulajdonságaival szemben.

GIBBSON és mtsai (1999) szignifikánsan magas és alacsony OR-t mutató anyákat összehasonlítva kimutatták, hogy a magas OR-t meghatározó faktorok nem az FSH koncentráció növelésével hatnak, hanem a tüszőnövekedés ideje rövidül és kisebb lesz a tüsző maximális mérete, a tüszőnövekedési hullámok száma pedig megegyező.

A FecB-gén térképezésében az első jelentős eredményt MONTGOMERY és mtsai közölték 1993-ban, miszerint genetikai kapcsoltságot találtak az emberi 4-es kromoszóma bizonyos régiójából származó markerek és a FecB lokusz között.

További térképezési kísérletek eredménye alapján megállapították (MONTGOMERY, 1994) hogy a FecB lokusz a juh 6. kromoszómáján helyezkedik el (MONTGOMERY és mtsai, 1994), de a gén pontos helyét nem ismerték. Ezen kromoszómaregióra koncentrált sorozatos kapcsoltsági vizsgálatok egyre közelebbi genetikai markerek felderítéséhez vezettek (MOULSANT és mtsai, 1998), majd 2001-ben több kutató csoport is, egymástól függetlenül szinte egy időben számolt be egy

olyan **pontmutációról**, melyet a bone morphogenic protein receptor-IB-t (BMPR-IB) kódoló szekvenciájában találtak és egyértelműen összefüggésben van a booroola fenotípussal (WILSON és mtsai, 2001; SOUZA és mtsai, 2001; MOULSANT és mtsai, 2001).

Ez a mutáció az említett receptort kódoló szekvencia 746-os pozíciójában bekövetkezett **Adenin → Guanin helyettesítés**, amely a fehérje aminosav sorrendjében is változást idéz elő. A vad típusnál előforduló glutamin helyett a *génhordozóknál egy arginin kapcsolódik a fehérjeláncba*.

A **génhordozás kimutatása** kezdetben laparoszkópos módszerrel történt (lsd. később), majd a molekuláris genetikai módszerek fejlődésével először a Fec^B génhez kapcsolt markerek meghatározásával igyekeztek megállapítani az egyed genetikai hátterét (ÁRNYASI és mtsai 2001; FÉSÜS 1997, FÉSÜS 1999). Ma már azonban, a gén pontos helyének meghatározása óta a mutáció az ún. *RFLP* (restriction fragment length polymorphism) módszerrel egyszerűen kimutatható (WILSON és mtsai, 2001).

3.1.7 Az ovulációs rátát és az embrió túlélését befolyásoló egyéb tényezők

Az OR elsősorban fajtától függ, de befolyásolja az anyajuh kora, a takarmányozás, a szezon és a hormonális kezelések is.

A **takarmányozás** az adott genetikai potenciál kihasználását jelentős mértékben befolyásoló környezeti tényező. Régi megfigyelés, hogy a jó legelőkön, jó körülmények között tartott anyák nagyobb arányban ellettek ikerbárányokat, illetve azonos fajtához tartozó, jobb kondíciójú anyáknak jobbak a szaporodási mutatói. A flushing jelentését és hatását a termékenyülésre az 1900-as évek elején határozták meg. Jelen ismereteink szerint az nem állítható, hogy minél nagyobb az anya súlya, annál nagyobb lesz az esély az ikerellésre, inkább a kondícióját, tehát a testszövet tartalékoknak a megjelenési arányát kell figyelembe venni. Akkor eredményes tehát termékenyítés előtt a fokozott takarmányozás, ha ezen testszövet tartalékok arányát növeljük addig, hogy az állat még ne legyen elhízott. Ezzel szemben a túlkondíció nem kedvez a termékenyülésnek, mint ahogy az egyenletesen jó tápláltsági állapot sem (DOWNING és SCARAMUZZI 1991).

OLDHAM és LINDSAY (1984) szerint a luteolízis utáni 6. nap a legkritikusabb a takarmányellátottság szempontjából. Ebben a kritikus időpontban (a ciklus 9-12. napja között) történő csillagfürtmag kiegészítéssel értek el növekedést az ovulációs rátában, ami azt mutatja, hogy a megfelelően kiválasztott rövid intervallumra koncentrált

takarmány kiegészítés is lehet eredményes. A csillagfürtmag specifikus hatása valószínűleg abban rejlik, hogy a petefészek fogékonyságát megváltoztatja a gonadotropinokkal (FSH, LH) szemben. Csillagfürtmag etetés hatására a gonadotropinok koncentrációja nem növekedett a vérben, emelkedett ezzel szemben a prolactin, az inzulin és a növekedési hormon szintje, ami amellet szól, hogy ezek a hormonok állhatnak összefüggésben az OR növekedésével.

A kívánatosnál alacsonyabb szintű energiaellátás elsősorban a HTh-ra fejti ki hatását, megakadályozva, hogy az időegység alatti GnRH-, illetve az ezeket követő *LH impulzusok száma* elérje a végső tüszőérést lehetővé tevő szintet. Az ilyen esetben jellemzőnek tartott 2-4 óránkénti LH impulzusok nem elegendők a DF megfelelő szintű szteroid produkciójához, illetve a végső tüszőéréshez: a tüsző atretizálódik, miközben FSH hatására újabb tüszőnövekedési hullám veszi kezdetét (BEAM és BUTLER, 1997, 1998; SCHILLO, 1992).

A flushing valószínűleg nem az érett tüszők számának növelésével emeli az OR-t, hanem az egyidejűleg jelen lévő több érett tüsző elhalását akadályozza, támogatja azok fejlődését és ovulációs készségét (ASHWORTH és ANTIPATIS 1999, DOWNING és SCARAMUZZI, 1991).

Az *inzulin* közvetítő szerepét vizsgálva a hypophysisre kimutatták, hogy a gyenge takarmányozással és inzulinnal létrehozott vércukorszint csökkenés gátolja az LH szekréciót a ciklusban lévő anyáknál, tehát az inzulin szerepet játszik a normális hypothalamus-hypophysis funkció fenntartásában (DOWNING és SCARAMUZZI, 1997). A takarmányozással emelt inzulin szint erősíti a hypothalamusban a GnRH felszabadulását (ASHWORTH és ANTIPATIS 1999).

A takarmányozás nemcsak a tüszőérést, de a megtermékenyült petesejt további sorsát is meghatározhatja. Az **embrióelhalás** tekintetében a többi faj közül is kiemelkedik a juh, mivel az embrióelhalásnál a legközvetlenebb tényező az endokrin működés zavara. Ez juhnál a szezonyszerű ivari működés miatti bonyolultabb hormonműködés folytán könnyebben előfordul, a változó hormonállapot eltérő mértékben alkalmas az embriók kihordására is. A környezeti tényezők rendellenességei ezt még csak fokozhatják (pl. hő stressz, nyírás, kezelések, fűrésztés), A legfontosabb azonban, a *takarmányozási hiányosságok* okozta embrióelhalás.

A csökkentett energia-bevitel már a tüszőnövekedésre is hatással van, a tüsző kisebb marad, és több hullámban érik egy cikluson belül, mint a megfelelően táplált

állatnál (HUMBOLT, 2000, MONNIAUX és mtsai 1997/a,b). Szignifikáns pozitív összefüggés mutatható ki az embrió minősége és a takarmányozási szint, valamint az anya ovulációkori vércukorszintje között.

Az ovuláció előtti és körüli jó minőségű és mennyiségű takarmányozás fontosabb az embrió túlélése szempontjából, mint a közvetlen termékenyítés utáni energiadús takarmányozás. Ez ugyanis, egyes irodalmi adatok szerint, juhban akár csökkentheti is az embrió életbemaradásának valószínűségét, mert ilyenkor megnő a progeszteron lebomlásának mértéke, amely hátrányos az endometrium szekréciónak kapacitására és ennek révén az embrió fejlődésére és életképességére is (ROBINSON, 1990; BOLAND és mtsai 2001).

Sokszor a nem megfelelő progeszteron termelést említik az embrióelhalás okaként, ASHWORTH és mtsai (1989) szerint azonban az a sárgatest nem tud elég progeszteront termelni, amely nem megfelelően érett tüszőből képződött. A negatív energiamérleg nem mindig okoz közvetlenül progeszteron szint csökkenést, viszont olyan táplálkozással összefüggő faktorok csökkenését lehet kimutatni, mint pl. a glükóz, inzulin, IGF-1, melyek feltétlenül fontosak a tüszőnövekedéshez és éréshez, az egészséges tüsző kialakulásához majd az embrió fejlődéséhez. Az embrió túlélése tehát nem annyira a sárgatest progeszteron termelésén múlik, mint inkább a **tüsző ovuláció előtti megfelelő minőségén** (HUMBOLT, 2000).

A takarmányozás a gonadotrop hormonok petefészek működést szabályzó **paracrin és autocrin faktorainak** működését is befolyásolja. A tüszőérés kezdetén az a kérdés, hogy a több ugyanolyan elsődleges tüszőből, melyek azonos endocrinológiai környezetnek vannak kitéve, melyek fognak harmadlagos tüszővé fejlődni és miért. Ebben vélhetőleg több faktor is szerepet játszik, melyek közül az inzulin-szerű növekedési faktor I-et (insulin-like growth factor I, IGF-I), a transforming growth factor alfát (TGF α), a szöveti növekedési faktort (epidermal growth factor, EGF) és az inhibin A-t vizsgálták in vitro és in vivo kísérletekben. SCHARAMUZZI és mtsai (1993) kimutatták, hogy az IGF-I és az inhibin-A a granulosa és a theca sejtek osztódását és hormontermelését serkentik, míg a TGF α /EGF gátolja azt. Az aktivinnak gátló és stimuláló hatását is megfigyelték a tüszőnövekedésre. Az IGF-I a tüszőfolyadékba kerülve a granulosa hámsejteket arra készíti, hogy FSH hatására ösztrogént termeljen. A tüszőfolyadékban lévő IGF-I és az mRNA tartalom pozitív összefüggésben van a tüszőnövekedéssel, ugyanakkor az IGF-1-et kötő fehérjék

mennyisége csökken tüszőnövekedéskor, illetve nagyobb a kis-vagy elhalt tüszőkben. Az IGF-1/IGFBP rendszer tehát szerepet játszik abban, hogy egy tüsző ovulál-e vagy atretizál.

Az ovulációs ráta növelhető *exogén gonadotropinok* szervezetbe juttatásával is. Ivarzás szinkronizálásánál a progeszteron forrásként szolgáló tampon kivétele után FSH-t vagy FSH-hoz hasonló szerkezetű anyagokat, pl. PMSG-t, hMG-t (human menopausal gonadotropin) injektálnak, mely nemcsak indukálja az ovulációt, de OR növelő hatása is van. LH és LH-szerű anyagok, pl. hCG (human chorionic gonadotropin) befecskendezésének ugyanakkor nem volt OR növelő hatása. A juhok aktív immunizációja szteroidok és inhibin ellen növeli az OR-t, de kivitelezésük bonyolult, ezért a gyakorlatban lehetetlen (SCHARAMUZZI, és mtsai 1993).

A sűrített elletési technológiának is van hatása az ovulációs számra.

A szaporodóképesség növelésének fontos eszköze a bárányozások ritmusának intenzívebbé tétele. Ez azáltal érhető el, hogy csökkentik az ellés és a következő fogamzás között eltelt időt, vagyis a hagyományos módszerrel ellentétben nem egy évben egyszer elletik az anyákat, hanem két év alatt háromszor, sűrített elletéssel.

Az **1. ábra** a sűrített elletési technológia általánosan alkalmazható vázlatát mutatja.

1. ábra: A sűrített elletési technológia vázlata

1.év	Jan.	Feb.	Márc.	Ápr.	Máj.	Jún.	Júl.	Aug.	Szept.	Okt.	Nov.	Dec.
A csoport	fedeztetés				Ellés			fedeztetés				
B csoport	ellés			Fedeztetés						Ellés		fedeztetés
2.év	Jan.	Feb.	Márc.	Ápr.	Máj.	Jún.	Júl.	Aug.	Szept.	Okt.	Nov.	Dec.
A csoport	ellés			Fedeztetés						Ellés		fedeztetés
B csoport	fedeztetés				Ellés			fedeztetés				

NEILS, 1997

Magyarországon három időpont ígérkezik kedvezőnek a vágóbárányok értékesítésére: húsvét, az olasz ferragusto augusztusban, és karácsony. Ennek megfelelően az anyajuhokat április-májusban, augusztus-szeptemberben, illetve december-januárban üzetik, illetve január-februárban, május-júniusban és októberben elletik. Az üresen maradt és leválasztott anyajuhokat nagyobb csoportokba gyűjtve 4-8 hetes időtartamig pároztatják. A várható fogamzás tavasszal és kora nyáron a

legrosszabb, a bárányozási idő akkor a legalacsonyabb, ha az előző bárányozás évszaka nyár. (VERESS, 1991).

Az egymást követő bárányozások öröklhetősége alacsony (0,07-0,14). Amennyiben viszont a tenyésztő a két ellés közti időt csökkenteni kívánja, célszerű az utószezonban jól termékenyülő anyákra szelektálni, melyek nyári ellésük után a főszezonban jó eséllyel fogamznak (NAGY és KOMLÓSI, 1998).

Négyes, vagy annál nagyobb almok többnyire akkor születnek, ha az anyajuhnak több ideje marad az újrafogamzáshoz, a 230-260 napon belül ellő anyajuhok alomnagysága szignifikánsan kisebb, mint a ritkábban ellőknél.

VERESS és mtsai (1998) vizsgálatait az alomnagyság gyakorisági megoszlásaira az ellési intervallum szerint az **1. táblázat** mutatja. Ennek alapján valószínű, hogy a sűrített elletés csökkenti az OR-t, és így nemcsak gazdaságilag szükséges tartástechnológiai feltétel, hanem az irreálisan nagy almok elkerülése miatt is előnyös.

1. táblázat: Az alomnagyság gyakorisági megoszlása az ellési intervallum nagysága szerint

Ellési időköz (nap)	Ellé- sek	Szaporulati arány (%)		Egyes		Kettes		Hármas		Négyes vagy több	
	N	x	SE	n	%	N	%	n	%	n	%
>230	106	177	0,08	48	44,9	42	40,0	10	9,4	6	5,7
230-260	148	197	0,07	53	35,8	55	37,2	31	21,0	9	6,0
261-290	102	212	0,09	25	24,5	49	48,1	20	19,6	8	7,8
291-320	88	201	0,09	29	33,0	34	38,6	21	23,9	4	4,5
321-350	68	189	0,11	26	38,2	27	39,8	11	16,2	4	5,9
351>	118	210	0,08	38	32,2	41	34,7	29	24,6	10	8,5
Összesen	630	198	0,92	219	34,6	248	39,8	122	19,2	41	6,4

VERESS és mtsai, 1998

3.2 Az ivari működés diagnosztikai vizsgálata

3.2.1 Szteroid hormonok meghatározása bélsárból

Az asszisztált reprodukció egyik fontos eleme az *ivari ciklus nyomon követése*.

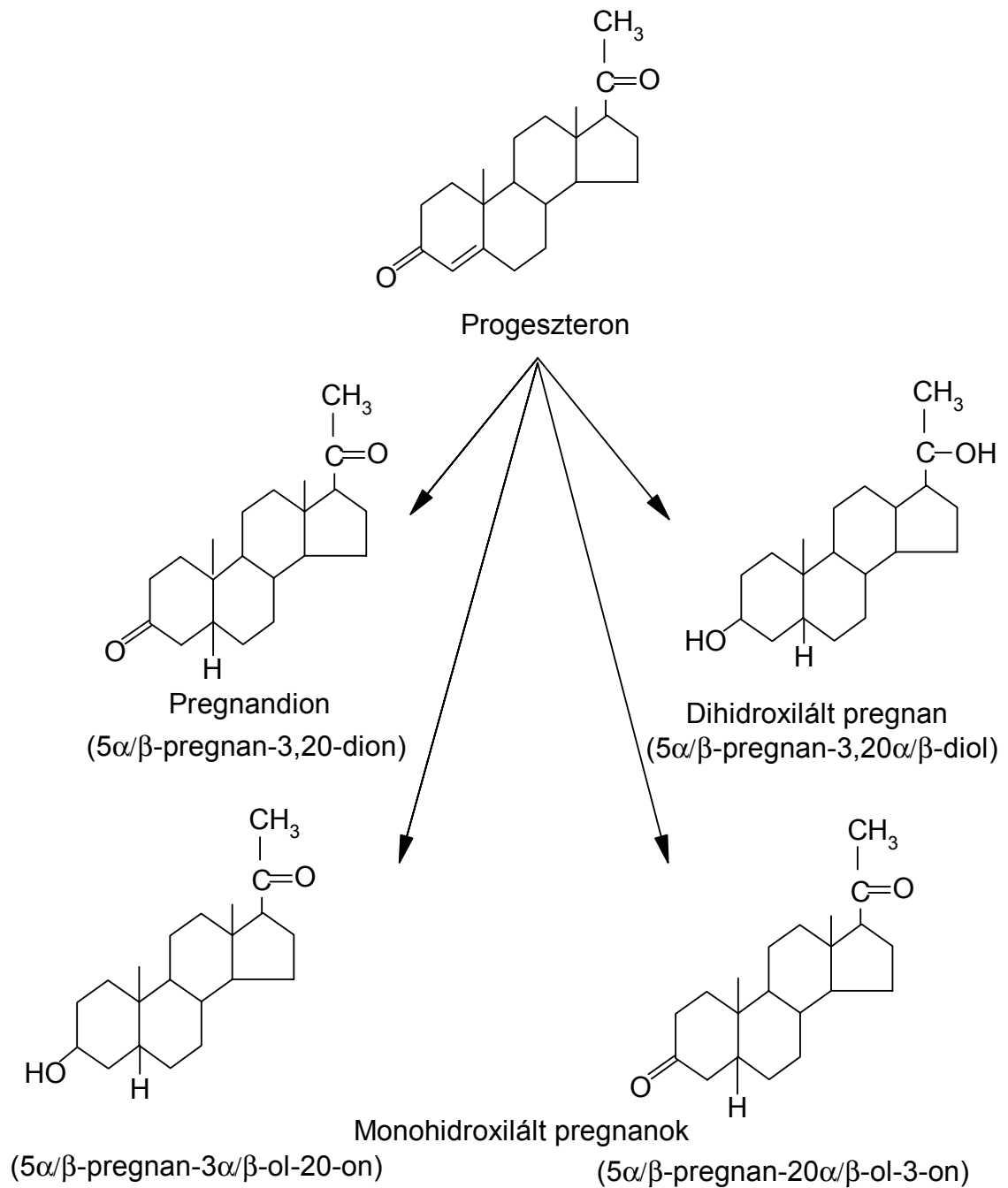
Ha sikerül bepillantást nyernünk a szervezet belső endokrin állapotába, vagy folyamatosan követni tudjuk változásait, eredményesebben alkalmazhatjuk az ivarzás-szinkronizálás és mesterséges termékenyítés módszereit is.

Napjainkig a hormonok kimutatását csak vérből végezték, de a vérvétel bizonyos szakértelmet igényel, számos esetben, pl. állatkertben vagy terepi körülmények között nem egyszerű és az állat számára is stresszhatással jár. Ezért fordul a tudományos kutatás olyan területek felé, melyeknél a *szteroid hormonok meghatározása* a könnyebben gyűjthető *bélsárból* történik. A módszert több hormonra és fajra is kidolgozták már, és fejlesztik tovább ma is.

A biológiailag aktív szteroid hormonok enzimatis reakciók sorozatán keresztül szintetizálódnak koleszterinből kiindulva, amely alapvázául szolgál az összes szteroid hormonnak. A szteroid hormonok vízoldhatatlanok, így transzport-fehérjékhez kötődve szállítódnak a véráramban. A progeszteron és a kortikoszteroidok jelentős része transzkortinhoz (CBG) kötve, míg az ösztradiol és tesztoszteron nagy része szexuálisztroidokat kötő fehérjéhez (SHBG), kisebbik része pedig, albuminhoz kötve szállítódik a plazmában. A hormonok reverzibilisen kötődnek szállító fehérjékhez, ami egy egyensúlyi helyzetet eredményez a kötött és szabad hormonok között. Csak a szabad szteroidoknak van biológiai aktivitásuk. A szteroid hormonok gyorsan eltűnnek a véráramból, lebontásuk főként a májban történik, melyet leginkább redukció jellemez (KAPLAN és PESCE, 1984).

A *progeszteron* metabolizációja során 20 C-atomos molekulává redukálódik, így képződik 20 α - és 20- β hidroxiprogeszteron, melyek mindegyike megtartja progeszteron aktivitását. A metabolizmusa következő lépésében három féle pregnanolon keletkezik, melyek közül a 3 α - hidrox-5 β -pregnan-20-on a legfontosabb, majd a végeredmény három pregnandiol, melyek közül túlsúlyban az 5 β -pregnan-3 α ,20 α -diol van. Ugyanez a metabolit keletkezik a pregnenolonból és a deoxikortikoszteron lebontása során is (2.ábra).

A bélsár progeszteron főbb metabolitjai



2.ábra : A bélsár progeszteron főbb metabolitjai

Forrás: SCHWARZENBERGER (1996/a)

Az ösztrogén metabolizációja eltér a progeszteronétól és androgénekétől is abban, hogy az A aromás gyűrű nem redukálódik. Az ösztro-szulfát, mint biológiailag aktív komponens kering a vérben (KAPLAN ÉS PESCE,1984).

Az androgének alapvetően négy fő lépésben metabolizálódnak és válnak inaktívvá. A ($3_{\alpha},5_{\alpha}$)-androsteron, ($3_{\alpha},5_{\beta}$)-etiocholanolon és a ($3_{\alpha},5_{\beta}$)-epianrdoszteron a dehidroepiandroszteronnal együtt az androgének főbb metabolitjai, melyeket, mint 17-ketoszteroidokat azonosítanak (KAPLAN és PESCE,1984).

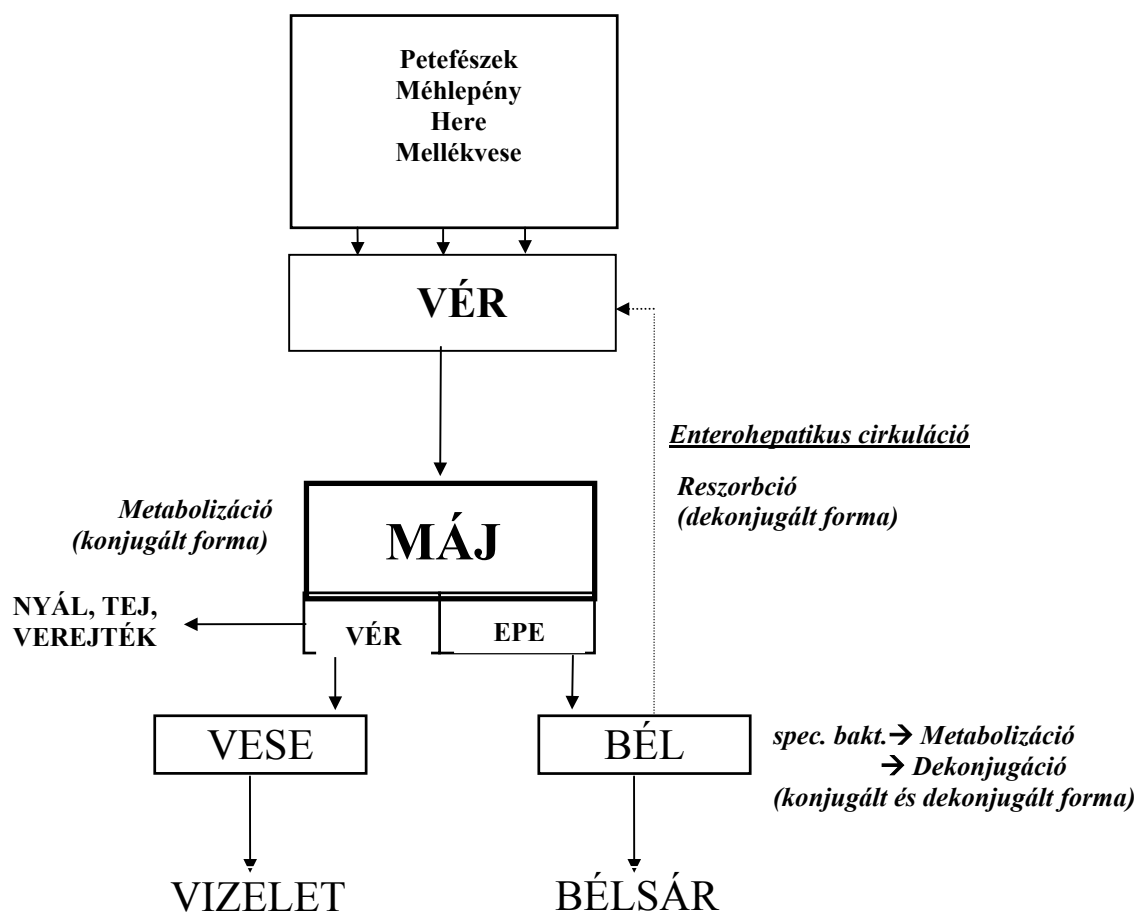
A kortikoszteroidok legfontosabb lebontási termék a dihidrokortizol, amely átalakul tetrahidrokortizollá, de ezek mellett megtalálható még a tetrahidrokortizon, kortol (cortols) és a kortolon (cortolones), melyeket, mint 17-hidroxiszteroidokat azonosítanak a vizeletben (KAPLAN és PESCE, 1984).

3.2.2 A szteroidok kiválasztódása

A metabolizáció során egy sor polárisabb szteroid keletkezik, azonban - mivel e metabolitok még mindig nem eléggé hidrofílek- a vérplazmában kötött formában fordulnak elő. Különösen a kevésbé poláros szteroidok az epébe ürülnek, majd azzal a béltraktusba kerülnek. A fenolos szteroidok, mint az ösztrogén, jelentős része az epébe ürül és megjelenik a bélsárban. Mivel a veséken csak polárisabb metabolitok tudnak filtrálódni, nagy részük glükuronsavval vagy szulfáttal konjugálódik a májban. Az androgének és a kortikoszteroidok metabolitjai főként a vizeleten keresztül ürülnek. A szteroid metabolitok egy része, mint glükuronid rögtön távozik a veséken keresztül. Kivételt képez ez alól a dehidroepiandroszteron (DHEA), amelyik túlnyomórészt szulfátként ürül. A szulfáttal konjugálódott metabolitok veséken keresztüli kiürülése egyébként sokkal lassúbb, másik része viszont konjugálódott formában az epével a béltraktusba ürül. (KAPLAN és PESCE, 1984).

A bélben a metabolitok legtöbbje speciális baktériumok révén dekonjugálódik és visszaszívódik, így létrejön egy entero-hepatikus cirkuláció. Ráadásul a specifikus bélbaktériumok képesek a szteroidokat metabolizálni. Azon metabolitok (továbbiakban szteroidok), melyek nem szívódnak vissza a bélsatornából, a bélsárral kiürülnek. A szteroidok útját sematikusán mutatja be a **3. ábra** (SCHWARZENBERGER, 1996/c).

Azonban e szteroid metabolitok nem csak vizelettel és bélsárral ürülnek, hanem bőségesen kerülnek a szervezet által kiválasztott testfolyadékba úgymint a nyálba, verejtékbe és természetesen a tejbe is (SCHWARZENBERGER, 1996/a).



3. ábra: A szteroid hormonok termelésében, metabolizmusában és kiválasztásában résztvevő szervek és a hormonok útja

Forrás: SCHWARZENBERGER (1996/c)

Hogy pontosabb képet nyerjenek a szteroidok excrecióját illetően PALME és munkatársai (1996) C14- es izotóppal jelölt szteroid hormonok excrecióját vizsgálták három háziállat fajban.

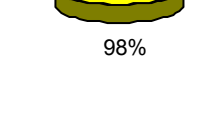
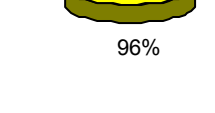
Vizsgált állatfajaik között volt a juh, mint a kérődzők-, a póniló, mint a vastagbél fermentálók- és a sertés, mint a monogasztrikus mindenevők modell állata. Átlagosan a feljegyzett radioaktivitásnak 88+10%-a volt visszamérhető. E tekintetben nem voltak nagy különbségek a fajokat illetően (86.7-89.7%). Viszont a progeszteron esetében a visszanyerés alacsonyabb volt (csak 74.8%-os), mint a többi szteroid esetében, ahol ez 90.0-94.7%-os-nak bizonyult. A különböző C14-es szteroidok vizeleten és bélsáron keresztül történő excrecióját mutatja be a **4. ábra** (PALME, 1996) juh, póniló és sertés esetében.

Juhban a progeszteron és az ösztroon, pónilóban csak a progeszteron döntő többsége (több mint 75%-a) ürült a bélsárral. Az összes többi szteroid jelentős mennyisége a vizelettel távozott, a különböző fajoknál más-más arányban.

A bélsár progeszteron metabolitok analízise számos emlősfaj esetében sikeresen alkalmazható a sárgatest aktivitás és a vemhesség monitorozására, a korai magzatelhalás meghatározására ciklus szezonálisának és a szexuális érettség megállapítására (HODGES, 1998; SCHWARZENBERGER, 1996/b).

A bélsár progeszteron és ösztrogén együttes mérésével még pontosabb képet kapunk, mint, ha csak az egyik szteroid koncentrációját figyelnénk a ciklus során vagy a vemhesség alatt.

Az emlős fajok széles palettáján próbálták ki, és sikeresen használták fel a bélsár szteroidokat a reprodukív státusz megítéléséhez (HEISTERMANN és mtsai, 1993; MESSIER és mtsai, 1990; MORROW és MONFORT, 1998; SCHWARZENBERGER és mtsai, 1993,1996/a,b,c).

	Juh	Póniló	Sertés
Progeszteron			
Tesztoszteron			
Kortizol			
Öszttron			

4.ábra: A különböző ^{14}C -es szteroidok bélsáron (sötét) és vizeletben (világos) keresztüli kiválasztódása juhban, pónilóban és sertésben.

Forrás: PALME, 1996

3.3. A szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésre gyakorolt hatása juhban

3.3.1 Szintetikus gesztagének alkalmazása az állattenyésztésben és állatgyógyászatban

Szintetikus gesztagéneket számos állatfajban, széles körben alkalmaznak a petefészek-működés befolyásolására. A kutya-, és macskagyógyászatban ezen hatóanyag-tartalmú készítményeket ciklus-szupresszióra, álvemhesség, rendellenes laktáció, metrorrhagia, hormonális eredetű dermatitis kezelésére használják. A nagyállat praxis során a polioestrusos állatfajok nőivarú egyedeiben ivarzás-szinkronizálásra, illetve ciklusindukcióra veszik igénybe azokat.

Elsősorban a kisállat-gyógyászatban szerzett tapasztalatok alapján azonban ismertté vált, hogy alkalmazásuk egyes esetekben bizonyos kockázattal (pl. a pyometra, illetve bizonyos daganatos megbetegedések gyakoriságának a fokozódása, a növekedési hormon intramammalis szekréciójának az indukálása, továbbá a hypercorticismus iatrogén formájához hasonló állapot előidézése) is járhat (RIJNBERK és MOL, 1997, ZÖLDÁG, 1994).

A lehetséges *kedvezőtlen mellékhatások* közül gazdasági haszonállat fajokban szinte kizárólag csak a gesztagén hatóanyag-tartalmú, szivacs, pesszárium vagy spirál formátumú készítmények intravaginális használata nyomán gyakran föllépő, könnyű lefolyású, spontán gyógyuló hüvelyhurut (vaginitis) ismert.

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 gazdaságos férőhely-kihasználást, vagy a legkedvezőbb piaci feltételek kihasználását. A nemi ciklus kontrollja lényegében az állattenyésztés igényei által meghatározott tenyésztési menetrendet jelent, amelyet a kezelt állatok természetes ciklusa helyett alakítanak ki.

Az eljárások alapvető célja, hogy a kezelés végére a kezelt állatok petefészken ne legyen működő sárgatest, lehetővé téve ezáltal egy új, aktív, ovulációval végződő tüszőfázis kialakulását. A petefészek-működés gyógyszeres befolyásolása történhet:

- tenyészszezonon kívül, vagy annak kezdetén, illetve a laktáció idején, amikor is az állomány döntő hányadának petefészek-működése (még) *aciklikus* (u.n. ***ciklus-indukció***);
- a tenyészszezon folyamán, amikor is az állomány döntő hányadának petefészek-működése (már) *ciklikus* (ún. ***ciklus-szinkronizáció***); az állomány vagy egyed időzített termékenyítése céljából, vagy donor-recipiens állatok esetében az embrió transzplantációjával kapcsolatban (ezen beavatkozás egyaránt elképzelhető a tenyészszezonban, vagy azon kívül, azaz lehet *ciklus-indukció vagy szinkronizáció*).

A gyógyszeres kezelés során a ciklus indukciója történhet természetes (progeszteron) vagy ***szintetikus gesztagének*** alkalmazásával, amelyeket a 12-16 napos tartamú kezelés utolsó napján PMSG-vel kombinálunk. A módszer az év bármely szakában eredményes (a tenyészszezonban is, hiszen akkor a ciklust szinkronizálni fogja). A tenyészszezonon kívül a folliculusok növekedését serkentő hormonokkal (FSH, PMSG) önmagában nem, csak progeszteron előkezelés után váltható ki ivarzás illetve ovuláció.

A gesztagének csoportjába tehát természetes és szintetikus hatóanyagok tartoznak, amelyek közös sajátossága a progeszteronszerű hatás. Számos képviselőjük gyógyszerkészítmények formájában is elérhető, melyet a **2. táblázat** mutat be, és széles körben használt a humán, ill. az állatgyógyászatban.

A kisállat-gyógyászatból származó ismereteink szerint egyes szintetikus gesztagének – kutyaiban főként a medroxiprogesteron-acetát, és talán kevésbé a proligeszton – nem specifikus módon kötődni képesek a kortizol receptoraihoz. A jelenséget a szervezet krónikus formájú kortizol hatásához hasonló módon érzékeli. Ez a hypothalamus szintjén blokkolja az ACTH termelését, a megfelelő trophormon kiesése következtében pedig csökken a mellékvesekéreg kortizoltermelő képessége. Gesztagének alkalmazását követően ezzel analóg elváltozásokról gazdasági haszonállatokban eddig nem számoltak be.

2. táblázat: Az állatgyógyászatban hazánkban használt gesztagének

Készítmény, előállító	Hatóanyag (név, mennyiség)	Alkalmazás	
		Faj, alkalmazási mód	Indikációs terület
Kisállat-gyógyászat			
Covinan inj. (Intervet)	Proligeszton, 100 mg/ml	Szubkután inj. for- májában, kutyának, macskának	A ciklikus petefészek-működés átmeneti blokkolása, az ivarzás tüneteinek megelőzése
Depo-Promone inj. (Pharmacia- Upjohn)	Medroxiprogesztero n-acetát, 50 mg/ml		
Ovarid tabl. (Schering-Plough)	Megesztról acetát, 5 ill. 20 mg/tabl.	Szájon át, kutyának, macskának	
Pill’kan 5 cukorka (CEVA Phylaxia)	Megesztról acetát, 5 mg/tabl.		
Provera tabl. (Pharmacia- Upjohn)	Medroxiprogesztero n-acetát, 5 mg/tabl.		
Készítmény, előállító	Hatóanyag (név, mennyiség)	Alkalmazás	
		Faj, alkalmazási mód	Indikációs terület
Gazdasági haszonállat praxis			
Chronogest szivacs (Intervet)	Fluorogeszton acetát	Hüvelyszivacs	
	30 mg	Anyajuhoknak, tenyészszeznonon kívül	Ciklus-indukció*
	40 mg	Anyajuhoknak, tenyészszeznonban	Ciklus-szinkronizáció
	40 mg	Szűz jerkéknek	Ciklus-indukció és szinkronizáció*
	45 mg	Kecskéknek	
Crestar impl. (Intervet international BV)	Norgesztomet, 3 mg	Implantációs tableta, szubkután alkalmazásra, szarvasmarhán	Ciklus-indukció és szinkronizáció*
EAZI-Breed (CIDR) pesszárrium (InterAG)	Progeszteron	Pesszárrium, intra- vaginális használatra	
	1900 mg	Szarvasmarhán	Ciklus-indukció és szinkronizáció*
	330 mg	Juhon és kecskén	Ciklus-indukció és szinkronizáció*
Prid spirál (CEVA)	Progeszteron	Spirál, intravagi-nális használatra, szarvasmarhán	Ciklus-indukció és szinkronizáció*
Regumate Porcine (Hoechst)	Altrenogeszt, 4 mg/ml (360 ml/flakon)	Per os, 5 ml/nap, naponként, 18 napon át. Sertésnek.	Ciklus-indukció és szinkronizáció*

* A ciklus indukciója esetén a tartamkezelés utolsó napján PMSG alkalmazása is szükséges.

Forrás: PERÉNYI, 2002

3.3.2. A mellékvesekéreg működésének jellemzői, a glükokortikoidok szekréciója és az aktuális plazmaszintet befolyásoló tényezők

A hypophysis mellett talán a **mellékvese** az állati szervezet második legátfogóbb hatású endokrin szerve. Mint ismeretes, az emlősök mellékvesége fejlődéstani, morfológiai és funkcionális alapon két önálló egységre, a velő-, illetve a kéregállományra osztható. A velőállományban termelődő hormonok biogén aminok, a mellékvese ezen része sok tekintetben kapcsolatba hozható a vegetatív idegrendszer posztganglionális szimpatikus rostjaival. Az ivarszervekkel rokon fejlődéstani tulajdonságokkal rendelkező, mezodermális eredetű mellékvesekéreg ezzel szemben elsősorban a szénhidrát-, zsír-, illetve elektrolit-háztartást befolyásoló szteroidhormonokat, összefoglalóan glüko- és mineralokortikoidokat, valamint ezek előanyagaiként, bizonyos mennyiségben, szexuálszteroidokat (tesztoszteron, progeszteron, ösztrogének) termel. Mind a kéreg, mind pedig a velőállomány fontos szerepet játszik a szervezet környezethez, külső ingerekhez történő adaptációjában (HUSZENICZA és mtsai, 1997).

A glükokortikoidok termelődését és keringésbe történő kiválasztását egy klasszikus feed-back mechanizmus részeként a hypophysis elülső lebenye által elválasztott adrenocorticotrop hormon (ACTH) stimulálja. A kortizol szekréciós rátájának kiszámítására a következő képlet szolgál: plazma clearance x arteriális plazma kortizol. A keringésből a tejen, vagy a vizeleten keresztül távozzhat. Utóbbi jelenti a kiválasztódás fontosabb módját, de a tüdő alveoláris epithelsejtjei által felvett, a laktáció megindításának és fenntartásának endokrin szabályozásában egyaránt fontos szerepet betöltő kortizol össz mennyisége is jelentős.

Egyes kortizol és szintetikus glükokortikoid készítmények – részben a hatóanyag minőségétől, részben pedig a hatástartamot meghatározó segédanyagok jellegétől is befolyásoltan – egy-két naptól néhány hétig terjedő időintervallumban, még ajánlott terápiás dózisban is **csökkentik az endogén kortizol produkciót** és ennek révén a hormon aktuális vérszintjét. Ezzel szemben a vazopresszin, PGF_{2α} és természetesen az ACTH készítmények – esetenként kifejezetten dóziszfüggő jelleggel – néhány óras kortizolszint-növekedést idéznek elő (HUSZENICZA és mtsai, 1997)

3.3.3 A mellékvesekéreg funkcionális kapacitásának meghatározása

Ma már tankönyvi adat, hogy egy hormonnak – és így a kortizolnak is- az adott pillanatban mérhető plazmaszintjét a hormon produkciójának, illetve a célszervek részéről történő felvételnek, valamint a keringésből történő kiválasztásának és/vagy metabolizációjának bonyolult egyensúlyi állapota szabja meg. Szteroid hormonok esetében ráadásul a plazma specifikus és nem specifikus kötőfehérjéinek együttes kapacitásától is függ, hogy ez az egyensúly milyen koncentráció-tartományban jön létre.

Az elmondottak alapján érthető, hogy a kortizol aktuálisan meghatározható (alap)szintjéből szinte lehetetlen a mellékvesekéreg hormontermelő képességére (továbbiakban: funkcionális kapacitás) következtetni. Ennek meghatározására szolgálnak az ún. *funkcionális tesztek*.

Az élettani mértéket meghaladó kortizol-produkció (hypercorticismus) kórélettani alapját a negatív visszacsatolás hiánya (ún. centrális forma), és/vagy a mellékvesekéreg mindenféle szabályozástól mentes, szinte valamennyi esetben tumoros eredetű, autonóm hormonprodukciója (ún. perifériás forma) jelenti. Kórjelzésre alkalmas lehet ugyan a standard dózisú ACTH-kezelésre adott túlzott mértékű kortizolszint-emelkedés kimutatása is, ennek meglehetősen bizonytalan jellegére tekintettel azonban, a legtöbb állatfajban, az egyes nagy hatékonyságú szintetikus glükokortikoidok (pl. dexametazon) tapasztalati alapon meghatározott dózisaival végzett ún. szuppressziós teszteknek nagyobb diagnosztikai értéket tulajdonítanak: a kezelés során kóros esetekben csak átmenetileg tapasztalható, vagy teljesen elmarad a kortizol szintjének, élettani esetekben mindig bekövetkező, jelentős csökkenése. Hypercorticismus – mindenekelőtt a mellékvesekéreg tumoros elváltozásaira visszavezethetően – esetenként kórödzőkben is előfordulhat ugyan, a kórkép gyanúja azonban egyéb állatfajokhoz (kutya, ló) képest csak ritkán merül fel, ezért kórödző fajokon ezen vizsgálatokra legfeljebb kivételesen kerül sor. Ezzel szemben feltételezhető, hogy a mellékvesekéreg kortizoltermelő képességének átmeneti csökkenése (időleges hypocorticismus) meglehetősen gyakori jelenség. A kórkép a standard dózisú ACTH stimulációra adott szubnormális kortizolszint-emelkedés alapján kórödzőkön is viszonylag egyszerűen detektálható, a különböző vizsgálati eredmények reális értékelése és összehasonlítása azonban a kivitelezés különbségei miatt jószerével lehetetlen.

Már a különböző amerikai kutatócsoportok által végzett kezdeti vizsgálatokból ismertté vált, hogy a nagyobb (100-200 NE) intravénás ACTH-kezelést követően 5-6 perc múlva megemelkedik és kb. 7-9 órán keresztül emelkedett is marad a kortizol szintje. A különböző vizsgálatok megegyeztek abban, hogy a kortizol csúskonzentrációja kb. a 60. percben figyelhető meg, annak mértékében azonban vizsgálatonként jelentős eltérésekről (szélső értékek: kb. 85-355 nmol/l) számoltak be. Az ACTH stimulációs teszt szarvasmarha fajra történő adaptálásának munkájába a '80-as évek közepétől angol, francia és új-zélandi kutatók is bekapcsolódtak. Az egyes munkacsoportok eredményeinek összehasonlítását az alábbi tényezők nehezítik:

- az alkalmazott ACTH készítmény eltérő jellege (természetes és szintetikus hatóanyag-tartalmú készítmények);
- az ACTH készítmény különböző módon történő használata (iv., im.), valamint jelentősen eltérő dózisa (szélső érték: 3 illetve 400 NE);
- a kortizol-meghatározások módszertani különbségei (CPBA, RIA), RIA esetén az eltérő radioligandra (^3H vagy ^{125}J), illetve ellenanyagokra visszavezethető különbségek.

ALAN és mtsai (1986) munkája nyomán vált ismertté, hogy – 0-200 NE dózisokkal dolgozva – 12 NE-ig lineáris dózis-válaszgörbe figyelhető meg. Ennél nagyobb ACTH-dózisok esetén a kortizol-válaszban egy plató mutatkozik, mind a maximális kortizolszint idejében, mind pedig a kezelés nyomán felszabaduló kortizol összmenyiségében. Nagyobb (>100 NE) ACTH-dózisok ezen kívül egyéb hormonok (pl. progeszteron) szintjét is befolyásolták. Mindezek alapján napjainkra többé-kevésbé egységesen elfogadottá váltak az alábbi alapelvek:

- a természetes ACTH-készítmények helyett célszerű előnyben részesíteni a jobban standardizált szintetikus $_{1-24}\text{ACTH}$ fragment hatóanyag-tartalmú preparátumokat (pl. Cortrosyn inj., Organon, Oss)
- az ACTH-t intravénásan, a lehető legkisebb olyan adagban kell befecskendezni, amelytől még elvárható, hogy felülmúlja egyes mérsékelt stresszfaktorként ható állatorvosi beavatkozások kortizol-mobilizáló hatását (szintetikus $_{1-24}\text{ACTH}$ fragmentum hatóanyag-tartalmú készítmény intravénás használata esetén ez a dózis 6 NE = 60 μg)
- az ACTH-kezelést reggel, kb. 7-10 óra között, tehenekben legalább 60 perccel a reggeli fejést követően kell végezni.

Ezen alapelvek szem előtt tartása esetén a 60. percben gyűjtött minta kortizol-szintje kellőképpen tájékoztat a mellékvesekéreg funkcionális kapacitásáról. A kortizol szintjének meghatározására használt analitikai módszerek különbözősége miatt azonban, még ez esetben is laboratóriumonként eltérő határértékekkel kell számolnunk. Eme alapelvek betartása esetén a próba 3-4 naponként megismételhető, illetve a pajzsmirigy funkcionális vizsgálatával (thyreotrop releasing hormonra adott tiroxin- és trijód-tironin-válaszkészség meghatározása) egyidejűleg is végezhető (HUSZENICZA és mtsai, 1997).

3.3.4. A szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésére kifejtett hatása

A szintetikus gesztagénekkel folytatott terápia során jelentkező nem kívánatos, a mellékvese strukturális és funkcionális változásaival kapcsolatos vizsgálatokat leginkább kutyákon, macskákon, illetve embereken folytattak. Ezen kísérletek eredményei beszámolnak arról, hogy a kutyákon (pl. ivarzás befolyásolására, álvemhesség kezelésére, hormonális eredetű dermatitis és alopecia terápiájaként) elterjedten alkalmazott, megestrol-acetáttal végrehajtott kezelések alkalmával a mellékvesekéreg aktivitása csökkent a kezelés előtt tapasztalhatóhoz képest. Ezt a vizsgálat során mért kortizol-szintek bizonyították, majd a kezelés megszűnése után pár héttel visszatért az eredeti funkcionális állapot (BROEK és O'FARRELL 1994; McCANN és mtsai, 1987; SELMAN és mtsai, 1997).

BROECK és O'FARRELL (1994) 9 kutyán végrehajtott vizsgálatainak során szintén az ACTH stimulációs teszt segítségével követte nyomon a mellékvesekéreg működésének változását, 28 napig tartó megestrol-acetáttal történő kezelés következtében. A mérési eredmények alapján a plazma alap kortizol-koncentrációja és az ACTH stimulációra adott válaszok szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak a fiziológiásan tapasztalhatóhoz képest. WATSON és mtsai (1989), valamint MIDDLETON és mtsai (1987) macskákon elvégzett kísérleteik során hasonló eredményekre jutottak, de az ott leírt értékek alapján a mellékvesekéreg érintettsége – a megestrol-acetáttal végzett terápia következtében – jóval nagyobb mértékűnek tűnik a macskákban, mint az ebekben. NELSON és KELLY (1976) a hosszú távú megestrol-acetát-kezelés hatásait vizsgálva beagle fajtájú kutyákon, a mellékvesekéreg atrophiját és a zona reticularis réteg sorvadását tapasztalták.

WATSON és mtsai (1989) munkájuk során azonban a progesztagének mellékvesekéregre kifejtett hatásának vizsgálatához nemcsak a vér kortizol-koncentrációját mérték, hanem a vércukorszint változásait is. A mellékvesekéreg zona fasciculata rétege által termelt hormonok ugyanis fontos szerepet játszanak a szervezet szénhidrát-anyagcseréjében, a vércukorszint csökkentésével befolyásolva a szénhidrát-háztartást. Így a macskák megestrol-acetát-kezelése során az általunk is alkalmazott ACTH stimulálta kortizol-válaszkészség mérésekor észlelhető csökkenés mellett, az ugyanezen idő alatt tapasztalt hyperglykaemia is a mellékvesekéreg működésének szupresszióját igazolta. A 14 napig tartó kezelés elhagyása után a vizsgált paraméterek értékei néhány hét alatt elérték a kezelés előtti értéket, utalva ezzel a megestrol-acetát által előidézett mellékhatás reverzibilis voltára.

SELMAN és mtsai (1994) által kutyákon, medroxiprogesteron-acetát és proligeszton hatóanyagú készítményekkel folytatott kísérleteik eredményeként megállapították, hogy ezen szintetikus gesztagéneknek, a hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg tengelyen belül, a mellékvesekéreg szintjén kifejtett szupresszív hatása a legkifejezettebb, bár a hypophysis ACTH-kibocsátásában is csökkenés volt tapasztalható. Igazolták kísérletesen azt is, hogy az általuk folytatott gesztagén-kezelés, a kutyák glükokortikoid-szintézisét befolyásolva, iatrogén Cushing-szindrómához hasonló állapotot idézett elő.

Megállapítható volt tehát, hogy ezen szintetikus gesztagének glükokortikoid agonista tulajdonsággal bírnak és a hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg tengelyre reverzibilis szupresszív hatást gyakorolnak (BROEK és O'FARELL 1994, MIDDLETON és mtsai 1987; SELMAN és mtsai 1994; WATSON és mtsai, 1989).

3.4. 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 tenyészszezon 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.

Az energiahiányos állapot következményeire tehát juhnál is fontos lehet odafigyelni. Mivel ismereteink inkább tejelő tehénről vannak, ezért ezt az állapotot a tejhasznú tehén példáján mutatom be.

3.4.1 A zsírmobilizáció ellés körüli fokozódása: a vemhességhez és laktációhoz társuló ketózis

Jelen ismereteink szerint (BRUSS, 1997) háziemlős fajokban a hyperketonaemiával járó állapotoknak etiológiai alapon az alábbi négy formáját különíthetjük el: *éhezési*, cukorbetegség (*diabetes mellitus*) részjelenségeként fellépő, a *vemhességhez* és/vagy a *laktációhoz* társuló, a *fokozott fizikai megterhelés* nyomán jelentkező. Valamennyi forma közös sajátossága a vérplazma, illetve az egyéb biológiai folyadékok (vizelet, tej) ketonanyag-tartalmának a megemelkedése (hiperketonémia, ketonuria, ketolakcia).

A **vemhesség** alatt a magzat nagy glükóz igényét a placentán keresztül az anyai szervezet biztosítja (BERGMAN, 1990; BRUSS, 1997). Ha zavar áll be a magzati szőlőcukor-felhasználás és az anyai glükóz kínálat egyensúlyában, az az anyában gyakran hypoglicaemiához vezet. A lipolízis fokozódása, majd a szabaddá vált NEFA-ból a ketogenezis a már ismertettnél megfelelően zajlik. A ketózisnak ez a formája elsősorban ikervemhes *anyajuhokban*, a vemhesség utolsó heteiben gyakori (BRUSS, 1997, HENZE és mtsai, 1998; VAN SUM, 2000), amikor is az anyai

szervezetben képződő glükóznak már több, mint 60-70 %-át a magzatok használják föl (BERGMAN, 1990; BRUSS, 1997).

A kórkép az anyai szervezet hypoglicaemiájával, hypoinsulinaemiájával és hypocholesterinaemiájával, egyes májsejt-enzimek szérumban mért aktivitásának, valamint a NEFA, és sok esetben a kortizol szintjének az emelkedésével, a hyperketonaemiával, ketonuriával, továbbá metabolikus acidózissal és a máj kifejezett zsíros infiltrációjával jár. Súlyosabb esetekben az anya prekomatózus-komatózus állapotba kerül. Ilyenkor a megbetegedés még megfelelő gyógykezelés mellett is általában elhullással végződik (HENZE, 1998; MARTENIUK és HERDT, 1988; ROOK, 2000; VAN SUM, 2000).

Jelen ismereteink szerint a *laktációhoz társuló* ketózis az ellés utáni első hetekben tejhasznú tehenekben a leggyakoribb, de előfordulhat kecskében, kivételesen intenzíven tejelő juhban is (BERGMAN, 1990; BRUSS, 1997; MARTINEUK és HERDT, 1988). Kóroktanának, illetve kórfejlődésének kulcseleme a tejtermelés nagyfokú glukózsükséglete.

Nagy tejtermelésű tehenekben a laktáció első heteiben a tejtermelés és ennek energiaszükséglete gyorsabban nő, mint az állat szárazanyag-felvevő képessége. Ezt a 8-12 hétig tartó időszakot tehát *negatív energiamérleg* jellemzi. Ez alatt az időszak alatt a tehén a pillanatnyi energiaszükségletének fedezése céljából a saját testének energiatartalékait mozgósítja. A legfontosabb ezek közül a zsírszövet, ahonnan *fokozott lipidmobilizáció* (FLM) indul meg, melynek legszembetűnőbb klinikai következménye a testtömeg-vesztés és a tápláltsági állapot romlása, s ezt a vérplazma jellegzetes klinikai kémiai változásai kísérik. Ezek közül legkorábban a vércukor-szint esetenkénti csökkenése (*hypoglicaemia*), valamint a nem észterifikált zsírsavak (NEFA) mennyiségének gyors növekedése figyelhető meg, amelyeket gyakran a ketonanyagok (β OH-vajsav, BHB, acetecetsav, AcAc, illetve aceton) szérum-koncentrációjának az emelkedése (*hiperketonémia*) követhet. Hiperketonémia esetén a ketonanyagok a vizeletben, illetve a tejben is megjelennek (*ketonuria, ketolakcia*), ezzel egy időben zsírok – főleg trigliceridek, de egyéb lipidanyagok is – felhalmozódnak a májsejtekben (*zsírmáj szindróma*). (ANDREWS és mtsai, 1991; CHILLIARD és mtsai, 1998, GAÁL és mtsai, 1983; HIGGINS és ANDERSON, 1983; RUKKWAMSUK és mtsai, 1999; SMITH és mtsai, 1997)

Kérődző fajokban az anya által megtermelt tej mennyiségének egyik meghatározó anyaga a laktóz. A tejcukor tögybeli szintézisének szinte kizárólagos jelentőségű előanyaga viszont a plazma-glukóz (BERGMAN, 1990). Ezért – bár egyéb szervekben bizonyos határokon belül szarvasmarhában glükóz-helyettesítő anyagként szerepelhet a NEFA is (STAPLES és mtsai, 1998) – a nagy termelésű tehenek naponként jelentős mennyiségű glükózt használnak fel. Kérődzőkben a szőlőcukor szinte kizárólagos forrása a máj, ahol ez az anyag annak előanyagaiból de novo szintetizálódik (gluconeogenesis), illetve a glikogén bontásából képződik (glucogenolysis).

Amennyiben a májban képződő, illetve a tejcukor szintézisére naponként felhasznált glükóz mennyisége között jelentősebb aránytalanság lép fel, az hypoglicaemiához, a vércukorszint csökkenése pedig ketonanyagok fokozott képződéséhez vezethet. BAIRD (1982) un. “hypoglicaemia elméletét” szem előtt tartva tehát a laktációs ketózist lényegében az éhezési ketózis azon esetének tarthatjuk, amelyben a ketogenezis felgyorsulására vezető hypoglicaemia elsődleges kiváltója nem az éhezés okozta ellátási zavar, hanem a magas tejtermelés – konkrétan tejcukor-szintézis – okozta fokozott glükózfelhasználás (produkciós betegség).

3.4.2. A negatív energiamérleg hatása a hypothalamus - hypophysis elülső lebeny - ovarium tengely működésére

A post partum időszakban tehenekben a korlátozott energia-bevitel nem módosította a HEL-ben a GnRH receptorok sűrűségét (MOSS és mtsai, 1985), az energia-felvétel korlátozását pedig egyaránt követheti az exogén GnRH-val szembeni érzékenység csökkenése (RUTTER és RANDEL, 1984) és növekedése (WHISNANT és mtsai, 1985). A hosszabb időn keresztül tartó elégtelen energiaellátás a pulzáló jellegű LH-alapszekréció elégtelenségét eredményezi. Ez mindenek előtt *az LH-impulzusoknak az időegység alatti hullámszám-csökkenésében* nyilvánul meg.

A végső tüszőérésre képes domináns tüsző és az intenzív ösztrogén-termelésre képes preovulációs tüsző kialakulása azonban az egyik előfeltétele az első ovulációnak, illetve a petefészek-működés ezt követő ciklikussá válásának. A második előfeltétel, hogy a HTh, illetve a HEL alkalmassá váljon az E₂ recepcióra az u.n. preovulációs jellegű – 6-8 órás tartamú, az alapszekréció impulzusszerű hullámain amplitúdójában tíz-százszorososan meghaladó – GnRH/LH-válasz adására (WILTBANK és mtsai, 2002).

Amennyiben a preovulációs tüsző által termelt ösztrogén a HTh-nak a harmadik agykamra oldalsó falát alkotó magvak neuronjaiban (a HTh un. surge centerében) nagy mennyiségű GnRH lökészerű leadását indukálja (E_2 -indukált pozitív feed-back), kialakul az első preovulációs jellegű LH csúcs, amelynek nyomán megtörténik az első ovuláció. Úgy tűnik, hogy a HEL LH tartalma és GnRH érzékenysége már az ellés utáni kb. 10. napra rendeződik (MALVEN, 1984). A HTh GnRH-termelő neuronjainak az ösztrogén-érzékenysége azonban az első tüszőnövekedési hullámból származó domináns tüsző kialakulásakor általában még nem megfelelő (WILTBANK és mtsai, 2002).

3.4.3. Az ellés utáni első ovuláció időpontját meghatározó élettani jelenségek

Az elmúlt évtizedben tanulmányok sora kutatta a HTh - HEL - ovárium tengelyt az energiaellátás egyensúlyának az állásáról, a NEB mélypontján való túljutásról, illetve a szervezet tápláltsági állapotáról tudósító metabolikus és/vagy hormonális szignál élettani-biokémiai természetét. Ennek során egyaránt vizsgálták az energiaforgalom változásait nyomon követő vér-metabolitok (NEFA, glükóz), és metabolikus hormonok (inzulin: STH arány; inzulin; IGF-1) lehetséges szerepét. Napjainkra általánosan elfogadottá vált az a nézet, hogy a mechanizmusnak ezek mellett tartalmaznia kell egy vagy több hormonális komponenset is (BEAM és BUTLER, 1999), melyek közül említésre méltó az inzulin és IGF-I, a leptin és egyes pajzsmirigy hormonok lehetséges szerepe.

3.4.3.1. Inzulin, IGF-I (ld még: 3.1.3.2.)

BEAM ÉS BUTLER (1997, 1998) tanulmányai egyértelműen bizonyították az *inzulin:STH arány* változásának az NEB mélypontjával mutatott összefüggését. In vivo és in vitro módszerekkel egyaránt igazolták az inzulin tüszőhámsejtekre gyakorolt stimuláló hatását, és beszámoltak arról, hogy az inzulin szintjének az ellés után tapasztalt, relatíve kisfokú csökkenése is jelentősen késlelteti a follikuláris fejlődést (SPICER és mtsai, 1996). Az ellés körüli napokban az IGF-I-nek, és egyik kötőfehérjéjének (IGFBP-2) a keringésben lévő mennyisége jól tükrözte a NEB mélységét és szoros kapcsolatban állt az első ovulációnak, a petefészkek-működés ciklikussá válásának az idejével (ROBERTS és mtsai, 1997). In vitro körülmények között az IGF-I növelte a szarvasmarha eredetű theca sejteken az LH kötőhelyek számát és fokozta az androsztendion és a P_4 LH által indukált termelését (SPICER és

STEWART, 1996). Ezek az eredmények megerősítik BEAM és BUTLER (1997, 1998) in vivo megfigyeléseit, amelyek kapcsolatot mutattak ki az első hullámú DF szteroidtermelő képessége és a keringő IGF-I szintje között.

3.4.3.2. Leptin (lsd.még:3.1.3.1.)

Rágcsálókön és főemlősökön, továbbá kasztrálás után ösztrogénnel kezelt fiatal kosokon végzett vizsgálatok eredményei egyaránt azt valószínűsítik, hogy a gonadotrop hormonok szekréciójának a táplálékmegvonás hatására bekövetkező változásai – mindenek előtt az LH pulzus-frekvenciájának a csökkenése – a leptin koncentráció változásának a centrális, a HTh és a HEL szintjén érvényre jutó hatásával magyarázhatók (BECKETT és mtsai, 1997; FINN és mtsai, 1998; NAGATANI és mtsai, 1998; NAGATANI és mtsai, 2000).

Egerekben a kis dózisu, testtömeg-változást még nem okozó leptin adagolás felgyorsította az ivaréret (AHIMA és mtsai, 1996). A kísérlet bizonyítja a keringésben levő aktuális leptin szint elsődleges jelentőségét a petefészkek működés ciklikussá válásának a regulációjában: az adott körülmények között ugyanis kizárható volt, hogy a leptin hatása elsődlegesen az energiaháztartásra irányult volna.

A leptin ovarialis funkciókra gyakorolt metabolikus szignál szerepe háziemlős fajokban, köztük kérődzőkben is valószínűnek látszik (SMITH és mtsai, 2002; SPICER, 2001), az analitikai nehézségek miatt azonban az eddig végzett vizsgálatok száma viszonylag kicsi. Leptin befecskendezésével krónikusan alultáplált, ovariectomizált juh-modellben is stimulálni lehetett a GnRH/LH-alapszekréciót (HENRY és mtsai, 2001).

Tehenekben a leptin koncentrációváltozásának a mélypontja a laktáció 4-32. napjára esett, és összefüggést mutatott a NEB mélypontjával. Az első ovuláció időpontja függetlennek tűnt ugyan az ellés előtt, vagy a laktáció kezdetén mért leptin szintektől, kifejezett korrelációt találtak viszont az elléstől a leptin-szintváltozások mélypontjáig eltelt napok száma, és a post partum aciklia tartama között (KADOKAWA és mtsai, 2000). Mindezek alapján feltételezhetjük, hogy a laktáció első heteiben a tejhasznú szarvasmarhában – együttesen a normálisnál alacsonyabb inzulin, IGF-I, és talán a T₃ szinttel – *a leptin aktuális koncentrációja fontos részét képezi annak a metabolikus szignál-rendszernek, amely kapcsolatot teremt a tápláltsági állapot és a HTh / HEL / ovarium tengely működése között.* Ez a negatív energiamérleg naponként mélyülő első szakaszában jelentősen csökkenti a GnRH/LH alapszekréció időegység alatti pulzusszámát.

3.4.3.3. Pajzsmirigy hormonok

A pajzsmirigy hormonjainak ovariális hatásáról csak kisszámú *in vivo* adat tanúskodik. Szarvasmarha eredetű sejt kultúrában a T_4 és a T_3 elsősorban a theca sejtek szteroid-szintézisét befolyásolta. Mindkét hormon hatására fokozódott egyes ösztrogén-előanyagok (androsztendion) produkciója, arról tanúskodva, hogy szarvasmarhában a T_4 és a T_3 mindenképp előtte a gesztagén-androsztendion átalakulás kulcsenzimeinek működését szabályozza. Emellett a T_4 nagy dózisban egyes gesztagének termelését is megnövelte (SPICER, 2001).

Ismereteink szerint szarvasmarhában *in vivo* kísérletek eddig még nem igazoltak összefüggést a T_4 és/vagy T_3 szintje és az E_2 termelés intenzitása között. Laktáló fiatal tehenekben hypothyreosis esetén az ovulációt követő 14. napon a kontrollokhoz viszonyítva alacsonyabb P_4 koncentrációt mértek (THRIFT és mtsai, 1999/a,b). Mindezekre tekintettel indokoltnak látszik, hogy a laktáció korai időszakában a petefészek működését vizsgáló kísérletekben figyelmet szenteljünk a pajzsmirigy funkcióknak is.

3.4.4. A negatív energia egyensúly ideje alatt képződő petesejt minősége

Jelenlegi ismereteink szerint szarvasmarhában hozzávetőleg 80-100 napot vesz igénybe, amíg az elsődleges tüszőből a tüszőrepedésre alkalmas, preovulációs folliculus kialakul (ADAMS, 1999; MONNIAUX és mtsai, 1997/a,b). Ebből következik, hogy annak a tüszőnek a fejlődése, amelytől az ellés után 50-60 nappal az első ivarzást előidéző E_2 , illetve az első termékenyülésre alkalmas petesejt produkcióját, azaz a majdani újravemhesülést reméljük, nagy valószínűséggel még valamikor a vemhesség utolsó heteiben megindul, és a folliculus érése hosszú időn keresztül – ha nem éppen teljes egészében – a NEB kritikus időszakában zajlik. Az ezen időszakra jellemző anyagforgalmi helyzet kedvezőtlen belső környezetet jelent a tüsző, illetve az abban rejlő petesejt fejlődése számára. Kb. egy évtizede merült fel először (BRITT, 1991) annak a gondolata, hogy a NEB / FLM, illetve a máj zsíros infiltrációja idején károsodhat a csak hetekkel később ovuláló folliculus által produkált oocita minősége.

Napjainkban elsősorban holland kutatók (KRUIP és mtsai, 1999; WENSING és mtsai, 1997) munkája nyomán tartjuk bizonyítottnak a jelenséget. Az ellés utáni

napokban dietetikai módszerekkel a máj fokozott elzsírosodását idézték elő. Az ellés utáni első tüszőrepedést követően a 60-140. napon különböző időpontokban eltávolították az egyik oldali petefészket, majd a ≥ 2 mm nagyságú tüszőkből kinyerték a cumulus oophorus-oocyta komplexet. Az oocytákat in vitro érlelték, termékenyítették, majd az embriók in vitro fejlődését 9 napon át követték nyomon.

Összehasonlítva a kísérleti és a kontroll állatok adatait a korábban elzsírosodott májú, de a hemi-ovariectomia idejére már teljesen egészséges tehenektől az ellés utáni 60-80., illetve 80-100. napon nyert oocyták szignifikánsan gyengébb minőségűeknek bizonyultak, illetve a belőlük származó embriókat a standard in vitro körülmények ellenére gyengébb fejlődési erély jellemezte. A 100-120. nap között a kezelt és a kontroll csoportok oocytáinak és embrióinak minősége között kiegyenlítődést tapasztaltak, de a különbségek csak a 120. nap után szűntek meg teljes mértékben. Follikulus-aspirációval nyert oocyták vizsgálata alapján újabban más kutatócsoportok is hasonló következtetésre jutottak (GWASDAUSKAS és mtsai, 2000; WALTERS és mtsai, 2002).

Figyelembe véve, hogy juhban a tüszőfejlődés időigénye a szarvasmarháénál is hosszabb, a primer tüszőből a preovulációs folliculus kb.180 nap alatt fejlődik ki (MONNIAUX és mtsai 1997 és 1997b), így kijelenthetjük, hogy igazak ezek a megfigyelések erre az állatfajra is.

3.5. A vehemszám hatása a vérplazma leptin szintjére anyajuhokban

A leptin jóllakottságot jelző faktorként, az étvágyat és az energia felvételt szabályozva számos metabolikus és neuroendokrin működést befolyásol (FLIER 1997, WAUTERS és mtsai, 2000). Fontos szabályzó hormonnak működik a szaporodásbiológiai folyamatok irányításában is, mintegy összekötő kapocsként szerepel a tápláltsági állapot és a reprodukció hormonális folyamatai között (SMITH és mtsai, 2002).

A fehér zsírsejteken kívül számos egyéb szövet és szerv is képes lehet leptin elválasztására. A vemhesség idején, illetve a tejtermelés kezdetén ezek közül a placenta (ASHWORTH és mtsai, 2000), továbbá a tejmirigy (BONNET és mtsai, 2002) érdemel megkülönböztetett figyelmet.

A vemhesség idején a vérplazma leptin szintje számos fajban jelentősen emelkedik. Ennek részben a vemhességre általában jellemző pozitív energiamérleg és jobb tápláltsági állapot a magyarázata (HOUSEKNECHT és mtsai, 1998; KEISLER és mtsai, 1999; BOKORI, 2000; CHILLIARD és mtsai, 1998; INGVARTSEN és BOISCLAIR, 2001). Bizonyos fajokban azonban a jelenség a vemhességgel közvetlenül is összefüggő tényezőkre vezethető vissza (HOUSEKNECHT és mtsai, 1998; ASHWORTH és mtsai, 2000).

Főemlősökben, patkányban és kisebb mértékben talán egyes kérődzőkben is a placenta termelte leptin mintegy hozzáadódik a zsírsejtek által produkált hormonmennyiséghez. Más fajokban (egér) a kötőproteinként is szolgáló szolubilis receptorok keringésbe került tömege a vemhesség idején drámaian megnövekszik, ennek következtében jelentősen csökken a leptin-clearance, és mintegy harmincszorosára (!) fokozódik a hormon plazmaszintje.

A leptin génexpressziójának mértéke az eddigi tapasztalatok szerint a kérődzők placentájában nem túl jelentős (ASHWORTH és mtsai, 2000), a szolubilis receptorok plazmabeli mennyiségi változásainak a meghatározására pedig, tudomásunk szerint eddig e fajokban még nem került sor.

EHRHARDT és mtsai (2001) vizsgálatai szerint juhokban a plazma leptin szintje a vemhesség idején kb. megduplázódik. Kísérletükben életfenntartó takarmányadagon tartott vemhes anyajuhokon is ugyanolyan leptinszint emelkedést mértek, mint a normál vemhépítéshez szükséges fejadagon tartott átlaltoknál. Az emelkedés az adipocyták leptin mRNS tartalmának mintegy 2,3-szeres növekedésével magyarázható, és annak mértéke független az állat tápláltsági állapotától, valamint pillanatnyi energetikai státuszától.

3.6. Ivarzásszinkronizálás, mesterséges termékenyítésés

és ovulációs ráta meghatározás juhnál

Az *ivarzás szinkronizálás* célja, hogy az anyák egyszerre legyen termékenyíthetők. Programozható a termékenyítés időpontja és a bárányozás is 2-3 nap alatt lezajlik. A különböző hormontartalmú ivarzást időzítő szerek egyben ki is válthatják az anösztruszban lévő anyák tüszőérését és az ovulációt (ciklusindukció).

A tenyészszezonban az exogén *progeszteron* megfelelő mennyiségben adva gátolja az LH szekréciót és, miután a természetesen fejlődött sárgatest visszafejlődik a PGF_{2α} hatására, maga látja el a sárgatest szerepét. A progeszteron kezelést 12-14 napig kell folytatni, ivarzás 24-72 órával a kezelés megszüntetése után jelentkezik, ovuláció pedig 24 órával az ivarzás megindulása után történik.

Ezt a kezelést progeszteronnal átitatott hüvelytampon felhelyezésével végzik, aminek van szivacsos változata, vagy egy Y-alakú műanyag formája (ún. "CIDR" - controlled internal drug release - tampon) (GORDON, 1999). A CIDR tampon azért előnyösebb (bár költségesebb), mert nem zárja el a hüvelyt úgy, mint a szivacsos változat, amelynél gyakori a hüvelygyulladás fellépése tamponkivétel után.

A gesztagén forrás kivételekor izomba adott PMSG (pregnant mare serum gonadotropin = vemheskanca szérum) injekcióval serkentik a tüszőérést. A PMSG egy FSH analóg hatású, a vemhes kanca szérumából izolált glukoprotein hormon. Hatására több tüsző is leválhat egyszerre, így a többet ellés esélye is nő.

Az állatok *mesterséges termékenyítése*kor az ondót művi úton juttatjuk az ivarzó nőtény nemi szervébe. A mesterséges termékenyítés előnye, hogy nagy értékű, javító hatású apaállatoktól származtathatunk utódokat. Kevesebb apaállatra van szükség, a kevesebb apaállattól származó utódállomány egyöntetűbb lesz. Szükség esetén e módszer a fajtaváltás hatékony módszere. Az apaállatok a párzás útján terjedő betegségektől mentesíthetők, s a betegségek közvetítői sem lehetnek. A levett ondó minősége makroszkóposan és labor diagnosztikai úton is ellenőrizhető, minősíthető

Mesterséges termékenyítésre az anyaállatokat ajánlatos előkészíteni energiadúsabb takarmányozással, ún. flushinggal. Kézből való pároztatáskor az ivarzők vazektomizált keresőkosokkal való kiválogatása naponta két ízben, kora reggel és késő délután célszerű. Rendszerint az ivarzás észlelésétől számított 18 óra múlva válik le a

pete, ezért a termékenyítés az ivarzás jelentkezésétől számított 12-24 óra között a legeredményesebb, az inszeminálást ajánlatos 8-12 óra múlva megismételni. Ha naponta egyszer kerestetnek, reggel 6-7 óra között, akkor rögtön inszeminálni kell és délután megismételni (GERGÁTZ, 2000; SALAMON, 1976). Cervikális vagy laparoszkópos termékenyítés esetén ivarzásszinkronizálást alkalmaznak, mellyel a termékenyítés időzíthető.

A humán gyógyászatban endoszkópot már 1804-ben alkalmazott Bozzini belső szervek megtekintésére, az állattenyésztésben az *endoszkópos technika* alkalmazása 1968-ban Hulet és Foot juh petefészek vizsgálataival kezdődött. (MAGYAR, 1994). Ovulációs ráta vizsgálatokról 1979-től számol be BINDON (1984), Magyarországon üzemi körülmények között 1988-tól végez dr.Magyar Károly rendszeres OR méréseket (MAGYAR, 1994). A szapora merinó juh fajta kialakításában is meghatározó szerepe volt a laparoszkópos vizsgálatoknak (MAGYAR, 1998, 1999), hiszen a FecB génhordozás megállapításához egy anyán legalább három OR mérést kellett végezni.

1970-ben KILLEN és MOORE sebészeti úton végzett eredményes intrauterin inszeminációja után általános gyakorlattá vált a laparoszkópos termékenyítés.

SALAMON 1976-ban hasonlította össze a mély-cervikális és az intrauterinális termékenyítést mélyhűtött spermával, s míg az első módszernél 20-40%-os, addig a laparoszkóposnál 70% fölötti vemhesülési arányt regisztrált.

A mélyhűtött spermával való cervikális inszeminálás nem kielégítő fogamzási arányának oka, hogy a spermium transzport a cervixen át lassú, mire a petevezetőbe ér a sperma megtörténik az akroszóma-reakció, a sejt elveszíti termékenyítőképességét (SALAMON és MAXWELL, 2000).

Magyarországon 1986-ban alkalmaztak először laparoszkópos inszeminálást CSEH és mtsai, majd 1989 óta Magyar doktor végez üzemi viszonyok között rendszeres intrauterin termékenyítéseket (MAGYAR, 1994).

A laparoszkóp egy fényforrásból (projektor), egy hosszú csatlakozó fényvezető flexibilis üvegszáloptikából, egy trokárból, trokárhüvelyből, valamint egy merev üvegszáloptikából, a tulajdonképpeni endoszkópból áll. A laparoszkóp egy trokárhüvelyen át a hasüregbe vezethető. A trokárhüvely gázcsapja nagy nyomású nitrogén gázpalack reduktorához csatlakoztatható, az ún. "pneumoperitoneum"- vagyis a

hasüreg valamilyen gázzal való feltöltött állapotának- létrehozása a szervek könnyebb felkeresése miatt szükséges.

A műtéti kockázat csökkentése (pl. húgyhólyag szúrás elkerülése) és a könnyebb vizsgálat érdekében a műtét előtt 24 órával a takarmányt és az ivóvizet meg kell vonni az állatoktól. Vizsgálatkor a szúrás helyét előzőleg jódtinktúrával fertőtleníttve, illetve 5 ml Sumetrolim (vagy egyéb antibiotikum) injekálásával a hashártyagyulladás megelőzhető.

A **termékenyítés** gyors lebonyolítását segíti a billenthető műtőállvány, melyre felfektetve az állatot az előrecsúszó hasúri szervek nem nehezítik a medencei szervek áttekintését.

A műszalmás mélyhűtött spermát, a folyékony nitrogént tartalmazó hordozható tárolóból kivéve 38-40 C°-os vízfürdőbe kell tenni 1 percre, majd a műszalmák végét levágva kémcsőbe engedni a spermát. A kémcső 38 C °-os vízfürdőben áll, amiből az inszemináló pipettával felszívható a szükséges 0,1-0,2 ml sperma.

A Magyar-féle (MAGYAR, 1994) inszemináló pipetta hegyét a méhszarvak közepe és hegye között középtájon szúrjuk a méhfalba egy asszisztens pedig a pipetta fecskendőjét nyomva, lassan befecskendezi a spermát. Mindkét méhszarvba 0,1-0,1 ml spermát juttatunk, mely 30-50 millió élő sperma számot jelent anyánként.

Az **ovulációs ráta megállapítása** szintén laparoszkóppal végezhető, ivarzás után 4-8 nap múlva a petefészkeken megszámlálhatók a sárgatestek (melyek egyébkén piros színűek a juhnál, alakjuk pedig gombafej-szerű) (MAGYAR, 1998).

A vizsgálat előtt ugyanúgy elő kell készíteni az állatokat éheztetéssel, mint a termékenyítésnél leírtaknál, hogy a petefészek sérülésmentesen és könnyen felkereshető legyen. Vizsgálatkor egy vékony fém manipulátor pálca segítségével a hasúri szervek elmozdításával felkereshetők a petefészek. A jobb és bal oldali petefészkeket alaposan átvizsgálva megállapítható a két petefészken levált tüszők száma, az ovulációs szám.

4. SAJÁT VIZSGÁLATOK

4. 1. Anyag és Módszer

4. 1. 1. Kísérleti állatok: a *szapora merinó* juh fajta

A *booroola merinó* juh fajta a Fec^B nagyhatású ún. "*major*" génnek köszönheti igen nagy szaporaságát, e tulajdonság monogén (egy génhez kötött) öröklésmenetű.

A petefészekről levált peték száma additív, a megszületett bárányok száma részleges dominanciával öröklődik. Ezzel magyarázható, hogy a booroola merinókban található szapora gén a homozigótaként hordozó anyajuhokat 260 %-os, a heterozigóta hordozókat 230%-os ellésenkénti alomnagyság elérésére teszi képessé (VERESS, 1995).

Csaknem minden jelentősebb juhtenyésztéssel foglalkozó országban elindították azokat a keresztezési programokat, amelyek révén a többet ellés génjét kívánják a helyi fajtákba bevinni. Magyarországon a magyar merinó anyaállomány és az Új-Zélandról vásárolt booroola merinó kosok keresztezéséből 1980-ban a *szapora merinó fajta* nemesítése indult meg, melyet az Országos Mezőgazdasági Fajtainósító Intézet 1992-ben fogadott el új fajtaként.

A fajta-előállítás célkitűzése volt, a booroola merinónál tömegesebb, kevésbé szapora, az év bármely szakában ivarzó, sűrítve ellelhető, jól tejelő, hosszú és finomfűrtű (9-10 cm, 20-22 mikron finomságú) fajtaváltozat kialakítása. A fajta nemesítésének célja egy merinó típusú $FecB$ génhordozó állomány kitenyésztése, mely fajtatiszta vérben és keresztezési partnerként felhasználva a magyar merinóhoz viszonyítva növeli a szaporaságot és csökkenti a reprodukciós folyamatok szezonálisát

A *szapora merinó* igényes, belterjes tartást igénylő fajta, a vemhesség utolsó hónapjaiban a nagyobb vehem számú, gyengébb kondíciójú állatok bőségebb energia- és fehérjeellátását igényelnek. A több bárányt szoptató anyajuhokat külön kell rekeszteni, nagyobb takarmányadagot kell részükre nyújtani. Ilyen körülmények között akár három bárány szoptatásához is elegendő tej termelésére képesek lehetnek. A bárányok bőséges, ad libitum, táplálása 50-60 napos korú választás után legalább 100 napos korig nélkülözhetetlen. A kettes-hármas alomból származó bárányoknak éves korra utol kell érniük az egyes alomból született társaikat (JÁVOR és FÉSÜS 2000).

Magyarországra 1980-ban 7 kost, 3 anyajuhot, 1982-ben 12 kost, 1986-ban 10 kost és 3 anyajuhot, 1989-ben 4 kostól 120 adag mélyhűtött ondót, 1984-ben pedig Ausztráliából cormo (FecBFec⁺) anyajuhoktól és 2 booroola merinó (FecBFec^B) kostól származó 100 mélyhűtött zigótát vásároltak.

A tenyésztési munka kezdetén, sőt egészen napjainkig az anyák génhordozását (hetero- homozigóta vagy nem génhordozó) *laparoszkópos ovulációs ráta vizsgálatok*, illetve *ellési adatok* alapján lehetett meghatározni. A módszer alapja, hogy az ovuláció nyomán képződő sárgatestek száma szorosabb, a vehemszám pedig kissé lazább, de még kifejtett pozitív korrelációban van az OR-val.

Az ovulációs rátából a genotípusra az alábbiak szerint következtetünk:

"Amennyiben egy-egy anyajuh legalább három OR vizsgálatának átlaga 3-4 közötti volt akkor a FecB gén heterozigóta hordozójának (Fec^BFec⁺), ha 4 vagy a fölötti, akkor a gén homozigóta hordozójának (Fec^BFec^B) tekintettük" (VERESS és mtsai, 1995).

"Egy tenyészkosról, hogy a FecB génnek egyik, vagy mindkét allélját hordozza-e, az a nem génhordozó anyajuhoktól származó legalább 30 leányának OR-ja alapján állapítható meg. Ha leányainak csupán felénél mutatkozik 3-as vagy ennél nagyobb OR, úgy a kosról feltehető, hogy a gén heterozigóta, ha leányai mintegy 80%-ánál nagyobb ez a szám, úgy a gén homozigóta hordozója, ha az OR 1-2 között változik, akkor a kos nem génhordozó" (VERESS és mtsai, 1998).

Napjainkban azonban a molekuláris genetikai kutatások és vizsgálati módszerek rohamosan fejlődnek, így e dolgozat készítése közben, 2002 decemberétől vált lehetővé vérmintákból, megszületés után közvetlenül vagy spermából a génhordozás azonnali kimutatása (ÁRNYASI, 2003).

A *szapora merinó* fajta létszáma 2000-évre igen lecsökkent, ellenőrzött állomány csak a Debreceni Egyetem juhtelepén található, mely 180-200 anyából áll. Itt az anyák termelési és tenyésztési adatait számítógépen tartjuk nyilván, és reprodukciós teljesítményüket ellenőrizzük.

4.1.2. Ivarzás szinkronizálás, mesterséges termékenyítés

Kísérleteimben 30, ill. 40 mg fluorogeszton acetát tartalmú **Chrono-gest** hüvelyszivacsot (Intervet, Boxmeer, Hollandia), illetve 330 mg progeszteron tartalmú **Easi-Breed** (CIDR-GTM, InterAG, Hamilton, Új-Zéland) hüvely implantátumot alkalmaztam.

A kísérletek során PMSG-hatású **Folligon** injekciót (Intervet, Boxmeer, Hollandia) alkalmaztam intramusculáris fecskendezéssel.

A tampon vagy a kapszula eltávolításakor vazektomizált kost helyeztünk az anyák közé, amely feromonjai által indukálja az ivarzást, illetve az ivarzás tünetei kifejezettebbek lesznek.

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

4. 1. 3. A mellékvesekéreg stimulációs vizsgálata

A mellékvesekéreg (MVK) un. stimulációs tesztekkel történő vizsgálatakor a torkolati vénából heparinozott csőbe kb. 5 ml vérmintát vettünk (alapminta, t_0), majd ugyanoda – egyidejűleg, de nem egy fecskendőből intravénásan 60 μg $_{1-24}\text{ACTH}$ -t (Cortrosyn inj., Organon) fecskendeztünk be intravénásan. 60 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.

4. 1. 4. Mintagyűjtés és tárolás

A vérmintákat a torkolati véna (*vena jugularis*) punkciójával, heparinozott csövekbe gyűjtöttem, minden esetben 3 órán belül centrifugáltam (1000 g, 10 perc), a plazmából 1-1,5 ml-t Eppendorf csőbe fejtettem 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. Egy-egy állattól 5-7 "bogyó" bőven elegendő volt, mert a vizsgálathoz csak 0,5 g volt szükséges. A mintákat egyedileg megjelölt (számozott) önzáródó műanyag zacskóban tároltam -20 C°-on extrahálásig.

4.1.5. 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 történt.

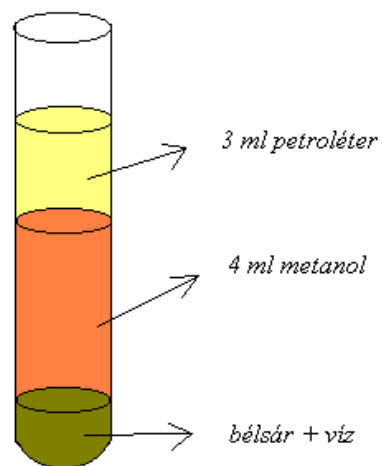
A bélsár minták extahálását is ebben a laborban végeztem.

4. 1. 5. 1. A bélsár extrahálás menete

1. 0,500 g bélsár kimérése kémcsőbe
2. 0,5 ml kétszeresen desztillált víz hozzáadása
3. 4 ml 80%-os metanol hozzáadása
4. 20 perc ráztatás Vortex rázógéppel
5. 3 ml petroléter hozzáadása
6. ráztatás kézi rázógéppel fél percig
7. +4 C°-on centrifugálás 15 percig 3600-as fordulaton
8. -70 C°-on hűtés 15-20 percig
9. a középső (metanol) fázisból (*ld. 6.ábra*) 5-800 µl-t kukoricacsőbe tenni

Az extrahálás végeredménye a centrifugálást követően egy háromfázisú oldat (**5.ábra**), melyben felül a petroléteres, középen a metanolos fázis, alul pedig a vizes fázis a bélsárral található.

A középső (metanolos) fázisból 500-800 µl-t felcímkézett kukoricacsőbe mérünk, s az így elkészített minta oldatok lezárva, lefagyaszttva tárolhatók az analízálásig.



5. ábra : A bél­sárextrahálás végeredménye a centrifugálást követően

4.1.5.2. A vérplazma minták progszteron szintjének meghatározása ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) módszerrel

A SZIE ÁOT Kar Szülészeti Tanszékén Solti és mtársai. által kidolgozott és használt ELISA lépéseit és leírását a **3. táblázat** mutatja be.

3. táblázat: A progeszteron metabolitok mérésére használt ELISA lépései

	Munkamenet	Receptúra	Idő	T
1.	Ellenanyag kötése a microtiter lemezre			
1.1	<i>Anti-egér</i> (IgGAM) <i>nyúlszérum</i> Ig frakciójának PBS pufferrel hígított 10 µg/ml koncentrációjú oldatából, kimérünk minden egyes lyukba 200 µl-t.			
1.2	Inkubálás		24 h	25 °C
1.3	Átmossuk háromszor a lemezt <i>mosófolyadékkal (II.)</i> , majd hogy a maradék folyadék is eltávozzon, a lemezt egy tiszta textil kendőhöz csapkodjuk.	(II.): Tween 20 -ból 2000-szeres hígítású oldatot készítünk DV-zel.		
1.4	<i>Anti-prog.</i> egér globulin, <i>monoklonális antitest</i> , <i>PBS-pufferrel (I.)</i> 1:100-szoros hígítású oldatából kimérünk minden egyes lyukba 200 µl-t.	(I.): 72 g NaCl + 4.3 g KH ₂ PO ₄ + 14.4 g Na ₂ HPO ₄ *2H ₂ O + 0.5 g Mertiolát ezeket 1 l-re kiegészítjük desztillált vízzel (DV), használat előtt a kellő mennyiséget 10x-esére hígítjuk.		
1.5	A lemezt lefedjük parafilmmel és műanyag tetővel, majd inkubáljuk.		Kb.36 h vagy 1 hónap	25 °C ----- -20 °C
2.	A mérés kivitelezése			
2.1	(Ha szükséges, akkor a lemezt felolvasztjuk.) Mosás a 1.3 lépés szerint.			
2.2	A standard-oldatokat, a pool-okat és a mintákat bepipettazuk úgy, hogy minden egyes lyukba 20 µl kerüljön.			
2.3	A <i>konjugátum-oldatból (III.)</i> 180 µl-t mérünk be minden egyes lyukba, a minták tetejére.	(III.): 1:1000-szeres hígítású <i>M76 Prog-Po konjugátum</i> 40 µl-ét 20 ml-re hígítjuk PBS-pufferrel (I.) (végső hígítás: 1:500 000)		
2.4	Inkubálás, a rázógépből rázódik.		50 min.	25 °C
2.5	Mosás a 1.3 lépés szerint.			
2.6	A <i>szubsztát-oldatból (IV.)</i> 200 µl-t mérünk ki minden egyes lyukba.	(IV.): tetrametil-benzidin dimetil-sulfoxidos 6 mg/ ml oldatának (TMB) 400 µl-t 25 ml-re hígítom <i>citrát-pufferrel (V.):</i> 11.2 g Na ₂ HPO ₄ *2 H ₂ O + 5.6 g citromsav + 0.114 g urea-peroxid (Hűtőben, sötét üvegben kell tárolni !)		
2.7	Inkubálás		5 min.	25 °C
2.8	A reakciót leállítjuk <i>6 N-os kénsavval (VI.)</i> . (A kék szín sárgára változik.)	(VI.): 166 ml 95-97 %-os H ₂ SO ₄ -et 500 ml-re hígítunk DV-zel.		
2.9	Abszorbancia mérés (fotometráció) mérési hullámhossz: 450 nm			

4.1.5.3. Az alkalmazott egyéb hormonanalitikai módszerek

4. táblázat: Az alkalmazott egyéb hormonanalitikai módszerek

Hormon	Technika ¹	Érzékeny- ség ²	Intraassay CV %	Inter- assay CV %	Reagenskészlet / Irodalom
Kortizol	Direkt ³ H-RIA	0,27 nmol/l	3,2 – 8,7	≤10,3	Csernus (1982) után, saját fejlesztés (ÁoTK, Budapest)
Tiroxin (T ₄)	¹²⁵ I-RIA	0,50 nmol/l	6,6 – 8,5	≤7,7	¹²⁵ I-T ₄ -Spec RIA MIS kit (Izotóp Intézet, Budapest)
3,3',5-trijódtironin (T ₃)	¹²⁵ I-RIA	0,18 nmol/l	6,2 – 8,8	≤6,7	¹²⁵ I-T ₃ RIA MIS kit (Izotóp Intézet, Budapest)
Inzulin	¹²⁵ I-RIA	1,08 µIU/ml	5,5 – 8,4	≤8,8	¹²⁵ I-Insulin RIA CT kit (CISBio International Ltd Gif Sur-Yvette, France)
Inzulinszerű növekedési faktor-I (IGF-I)	Heterológ ¹²⁵ I-RIA	1,54 ng/ml	3,1 – 6,2	≤12,0	Saját fejlesztés (A. Nikolic, Zemun, az ÁoTK, Budapest közreüködésével)(Nikolic és mtsai)
Leptin	Homológ ¹²⁵ I-RIA	0,52 ng/ml	4,6 – 10,1	5,6 – 12,2	Delavaud és mtsai (2000) módszerének hazai adaptációja (Kulcsár és mtsai)

Megjegyzések:

¹ A meghatározások heparinózott vérplazmából, előzetes validálás után történtek. Ennek során az ismert hormontartalmú plazmaminták sorozatos hígításának a visszamérésével jó párhuzamosságot kaptunk, a mintákhoz adott ismert hormonmennyiségek visszanyerése pedig 94-106 %-osnak bizonyult.

² Az érzékenység alsó határa.

Forrás: HUSZENICZA (2003)

4.1.5.4. A vérplazma egyes metabolitjainak meghatározására használt módszerek

5. *táblázat*:: A vércukor-szintnek, illetve a vérplazma egyes metabolitjainak a meghatározására használt módszerek

	Technika	Reagenskészlet / Irodalom
Aszpartát-aminotranszferáz (AST)	IFCC, meghatározás UV tartományban*	AST Kit, Kat. # 7249, Reanal RT, Budapest
Glukóz	Enzimatis (GOD-POD) reakció*	Glukóz kit, Kat. # 40841, Diagnosztikum RT, Budapest
βOH-butirát (BHB)	β OH-butirát-dehidrogenáz reakció (Sigma kit:*)	D-3-Hydroxybutyrate kit, Kat. # RB 1007 és 1008, Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK
Nem-eszterifikált zsírsav (NEFA)	Enzimatis	NEFA kit, Kat. # FA 115, Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK
Összkoleszterin (TCH)	Enzimatis (CHOD-PAP) reakció *	Koleszterin-PAP kit, Kat. # 40121, Diagnosztikum RT, Budapest

Megjegyzés: *A mérés automatizált klinikai kémiai mérőrendszerrel történt (Eppendorf ACP 5040)

Forrás: HUSZENICZA (2003)

4.1.6. 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) χ^2 -próba, Student's t teszt, illetve varianciaanalízis (ANOVA) segítségével végeztük. ≥ 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.

4.2 A vizsgálatok részletes ismertetése

4.2.1. A szapora merinó anyajuhok petefészek-működésének vizsgálata tavaszi (tenyészszезонon kívüli) időszakban

Jelen kísérletünket 1999. tavaszán és nyarán, 37 szapora merinó anyajuhon végeztük, melyek 60%-a homozigóta- 40%-a heterozigóta Fec^B génhordozó 15-103 hónaposak, a kísérlet elején 26-47 kg közöttiek voltak. (Megjegyzés: a kísérleti csoport kezdeti rosszabb kondícióját az okozta, hogy a termékenyítendő csoportot az előzőleg ellett, frissen választott anyákból lehetett csak kiválogatni, mert a csapaton lévő anyákról nem tudtuk, hogy melyik vemhes vagy nem.) Az anyákat a tél folyamán lucernaszéna és búzaszalma ad libitum etetése mellett karámozták, április eleje óta legeltetették. A 23 napos flushing időtartama alatt ad libitum lucernaszénát és 40 dkg/anya/nap kukorica-zab-árpa takarmánykeveréket kaptak. Az állatok testsúlyát a kísérlet első és 23. napján mértük.

Az állatokat április utolsó napjaiban vontuk be a kísérletbe, a kísérlet lépéseit a **7. ábra** mutatja.

Az 1. vér- és bélsár minta vétel után 11 nappal a 2. vér- és bélsár mintavétel, a mintákból a progeszteron, illetve a gesztagén metabolit koncentrációt meghatározva a petefészek-működés acikliás, vagy ciklikus jellegéről kívántunk tájékozódni. Ciklikusnak ítéltük a petefészek működését, ha a két vérplazma-mintából legalább az egyikben CL jelenlétére utaló, emelkedett (≥ 1.00 nmol/l) progeszteron szintet találtunk.

A második mintavételezéssel egyidejűleg 11 napos gesztagén kezelést kezdtünk Chrono-gest (30 mg FGA) hüvelyszivaccsal, tamponkivételkor inramuszkulárisan 625 NE PMSG-t (Folligon inj.TM) fecskendeztünk be. A flushing periódus a kísérletbe vonás időpontjától a gesztagén kezelés végéig tartott. A gesztagén megvonás, illetve a PMSG kezelés után 60 órával – kb. 48 órás koplaltatást követően- elvégeztük a laparoszkópos mesterséges termékenyítést mélyhűtött spermával és újabb vérmintát (3. vérminta) vettünk.

7 nappal később – kb. 24 órás koplaltatást követően – vér- és bélsármintát (4. vér- és 3. bélsár minta) gyűjtöttünk, majd a képződött sárgatatestek számának a meghatározása céljából ismét laparoszkópiás vizsgálatot végeztünk.

További mintagyűjtésekre az inszeminálás utáni 44. (5. vér- és 4. bélsár minta) és 100. napon (6. vér- és 5. bélsár minta) is sor került. Az állatokat a termékenyítés

napjától kezdődően kizárólag legelőfűvel takarmányoztuk. Végül összegyűjtöttük az ellésekre, vetélésekre vonatkozó adatokat.

4.2.1.1. Eredmények

A kísérletbe vont 37 anyajuh életkora és testtömege széles skálán ingadozott (életkor: 15 - 103 hónap; testtömeg a kísérlet kezdetén: 26 - 47 kg). A pótlólagos abrak-kiegészítés hatására egy kivételével valamennyi állat testtömege gyarapodott (testtömeg a flushing periódus végén: 27 - 49 kg; testtömeg gyarapodás: 0,5 - 5,3 kg). Az első két vérplazma mintából meghatározott progeszteron szint alapján április utolsó - május első napjaiban közülük 21-nek (56,8 %) a petefészek-működése acikliásnak, 16-nak (43,2 %) pedig ciklikusnak bizonyult.

A termékenyítés időpontjában az állatok plazma progeszteron szintje a kimutathatóság alsó határa és 1,09 nmo/l – ezen belül a későbbiekben vemhesültekéi 0,26 és 0,80 nmol/l – közötti értéktartományban volt. A képződött sárgatesteknek a termékenyítés utáni 7. napon laparoszkópiás technikával meghatározott számából következtettünk az ovulált tüszők számára, az OR mérés eredményeit a **8. ábra** mutatja. Ennek alapján az alkalmazott kezelés ellenére sem ovulált (OR =0) 3 állat (8,1 %). Közülük azonban egy anyában a 7. napon meghatározott progeszteron szint (1,28 nmol/l) működő CL jelenlétére utalt, azaz ebben az esetben ovuláció, és ennek nyomán legalább egy – feltételezhetően a petefészek állományának mélyén helyeződő – CL képződése a negatív laparoszkópiás lelet ellenére is valószínűsíthető. A gesztagén + PMSG kezeléssel végzett ciklus-indukció a progeszteron vizsgálatok alapján tehát mindössze két esetben maradt eredménytelen.

A laparoszkópos vizsgálat 1-2 CL kifejlődését igazolta 7 állatban (18,9 %), 3-4 CL-et 16 (43,2 %), 5-13 CL jelenlétét pedig 11 (29,8 %) anyajuhban figyeltünk meg. Sajnálatosan kevés, mindössze 8 (21,6 %) állat vemhesült. Ebből 3 anya egy-egy, további 3 pedig két-két bérányt ellett. A fennmaradó egy-egy hármas, illetve négyes ikervemhesség a gesztáció utolsó harmadában vetéléssel végződött.

Az acikliás és ciklikus petefészek-működésű állatok adatainak összevetése

A ciklikus petefészek-működésű anyák átlag-életkora mintegy 10 hónappal volt magasabb ($P=0,284$), testtömegük 5,8 kg-mal volt több ($P<0,001$) az acikliásakéinál. A flushingolás ideje alatti testtömeg-gyarapodásuk mértéke ugyanakkor nem különbözött

lényegesen (**6. táblázat**). A ciklikus petefészek-működésű egyedeknek mind a kiegészítő abrak-adagolás 12. napján, mind pedig az AI időpontjában, 48 h koplaltatás után gyűjtött mintáiból kissé emelkedettebb leptin, és szignifikánsan magasabb IGF-1 valamint inzulin koncentrációkat lehetett kimutatni, mint az acikliás anyákból.

Ugyanakkor alig, vagy szinte nem különbözött a két állatcsoport T3 és T4 vérszintje (**7. táblázat**). Mindhárom, a laparoszkópiás vizsgálat eredménye szerint nem ovulált (OR = 0) anya a kezdetben acikliás egyedek csoportjába tartozott. Az acikliás, illetve ciklikus petefészek-működésű egyedek között ennek ellenére sem volt lényeges különbség a gesztagen + PMSG kezelés nyomán észlelt ovulációk számában, azonban a már előzetesen is ciklikus petefészek-működésű állatokban az OR kevésbé ingadozott (ciklikus petefészek-működésű állatok: $4,3 \pm 1,8$; acikliás állatok: $4,0 \pm 3,6$; $P = 0,731$), az inszeminálást követő 7. napon mért plazma progeszteron szint pedig szignifikánsan magasabbnak bizonyult (ciklikus petefészek-működésű állatok: $6,94 \pm 2,79$ nmol/l; acikliás állatok: $5,07 \pm 2,79$ nmol/l; $P = 0,027$), mint az acikliás egyedekben.

A plazma progeszteron koncentrációjában megmutatkozó különbségek azonban csak kevésbé tükröződtek az egyidejűleg gyűjtött bélsár minták gesztagen tartalmában (ciklikus petefészek-működésű állatok: $396,86 \pm 177,76$ nmol/g acikliás állatok: $421,99 \pm 114,80$ nmol/g; $P = 0,621$). A már előzetesen is ciklikus petefészek-működésű állatoknak több mint 40 %-a vemhesült ($n = 7 = 43,8$ %; vehemszám: 1-4), ezzel szemben a acikliások között mindössze egyetlen vemhes akadt ($n = 1 = 4,8$ %; $P < 0,05$; vehemszám: 1).

Az eltérő ovulációs rátájú állatcsoportok adatainak az összevetése

A csupán egyet vagy kettőt ovuláló anyák átlag-életkora, valamint a flushing periódus 12. napján mért inzulin koncentrációja lényegesen alacsonyabbnak bizonyult, mint a 3-4-et vagy 5-13-at ovulálókéi, az egyéb paramétereik azonban lényegében nem különböztek a társaikéitól (**7. és 8. táblázat**).

A termékenyítés utáni 7. napon a kialakult CL-ek száma arányában csak jelentéktelen különbségeket figyeltünk meg a plazma progeszteron szintjében, illetve a bélsár minták gesztagen metabolit koncentrációjában (**7. ábra**). A csupán egyet vagy kettőt ovuláló állatok egyike sem vemhesült, ezzel szemben a 3-4-et vagy 5-13-at ovulálók 31,2 %-a ($n = 5$), illetve 27,3 %-a ($n = 3$) bizonyult vemhesnek. A vehemszám

egy négyes ovuláció esetében megegyezett, minden más anyában alatta maradt az ovulációk észlelt számának.

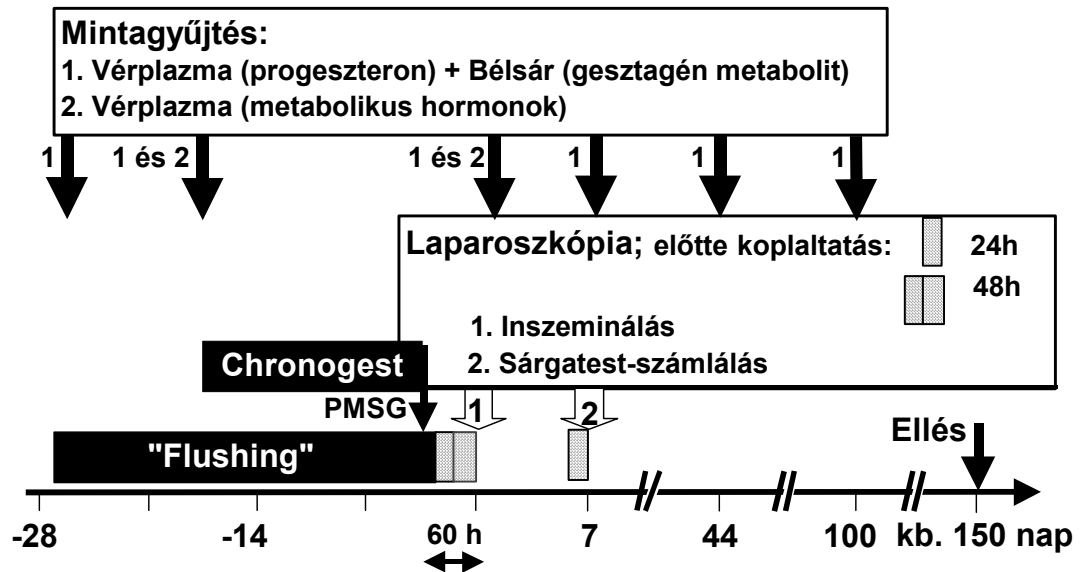
A vemhes, illetve nem vemhesült állatok adatainak az összevetése

A két állatcsoport átlag-életkora, és a flushing periódus előtti testtömege nem különbözött lényegesen. Ezzel szemben a későbbiekben vemhesült egyedek a pótlólagos abrak-kiegészítés időszakában $4,0 \pm 1,0$ kg, a nem vemhesültek pedig csupán $2,4 \pm 1,3$ kg testtömeg-gyarapodást mutattak ($P = 0,001$), így a periódus végén a vemhesült csoport testtömege már jelentősen nagyobbak bizonyult ($40,5 \pm 4,8$ kg, illetve $36,6 \pm 5,3$ kg; $P = 0,074$). A flushing periódus végén, 48 h koplaltatás után meghatározott IGF-1 szint a vemhesültekben szintén magasabbnak bizonyult ($17,46 \pm 5,96$ nmol/l, illetve $13,36 \pm 3,86$ nmol/l; $P = 0,087$), a korábbi mintavétel időpontjában, illetve az egyéb metabolikus hormonok vérszintjében azonban nem tapasztaltunk tendenciózus, vagy szignifikáns különbségeket. Az inszeminálás utáni 7. napon a vemhesültek plazmájában magasabb progeszteron szinteket mértünk, mint a nem vemhesültekben, azonban hasonló különbséget nem lehetett megfigyelni a bélsár gesztagén metabolit tartalmában (**9. ábra**). A vemhesség előrehaladtával az ovarium dependens szakasz vége felé (az AI utáni 44. napon) a plazma progeszteron szintjének némi csökkenését, a placentális szteroid termelés kiteljesedését követően (az AI utáni 100. napon) pedig annak kisebb emelkedését lehetett megfigyelni, ezzel szemben a bélsár gesztagén metabolit tartalma folyamatosan emelkedett (**10. ábra**). A vemhesült állatok vártnál kisebb száma nem tette lehetővé az adataik vehemszám alapján történő elemzését.

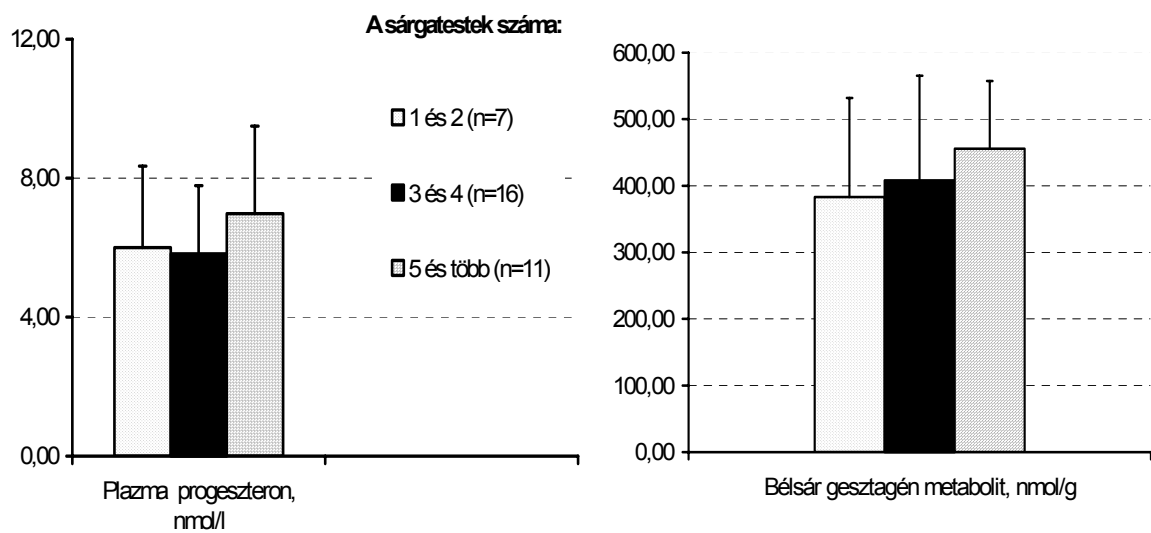
A vérplazma progeszteron és a bélsár gesztagén metabolit szintjének az összevetése

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.

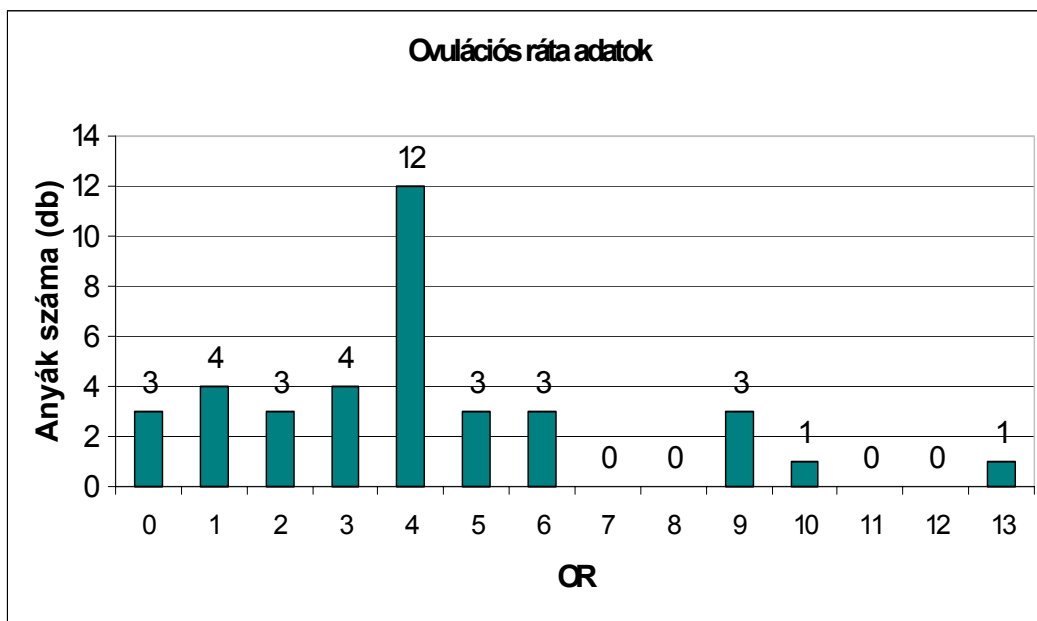
Ha a lutealis működés bizonyítékának az $\geq 1,00$ nmol/l plazma progeszteron szintet, illetve az ≥ 159 nmol/g bélsár gesztagén metabolit koncentrációt tekintettük, a vizsgált 179 mintapár nagy részében ($n = 174 = 97,2\%$) működő CL jelenlétére vagy hiányára vonatkozóan *azonos következtetést lehetett a két módszer eredményei alapján levonni*.



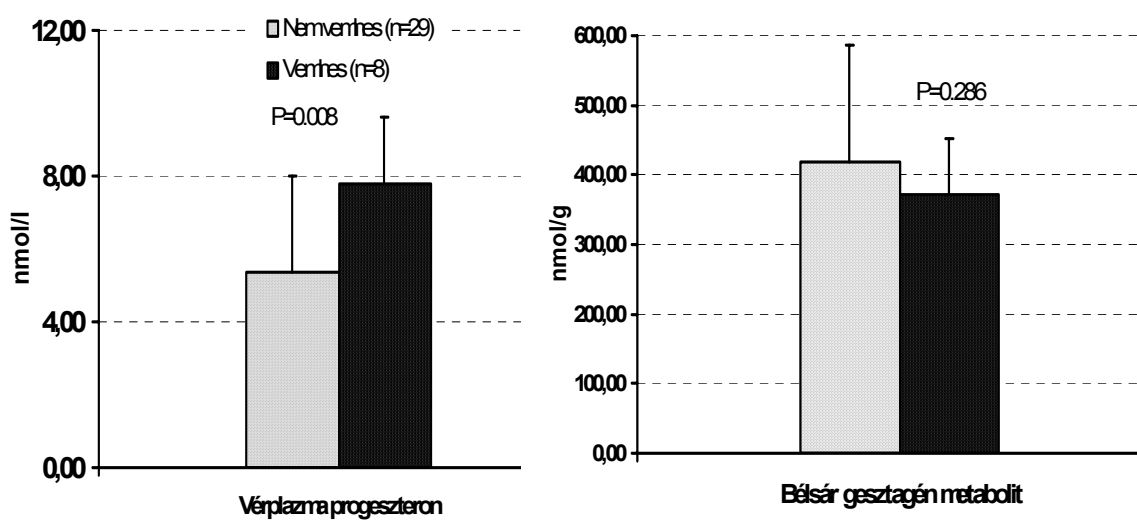
6. ábra: A kísérlet folyamat ábrája (megj.: az inszemináció napján bélérsármintát nem vettünk)



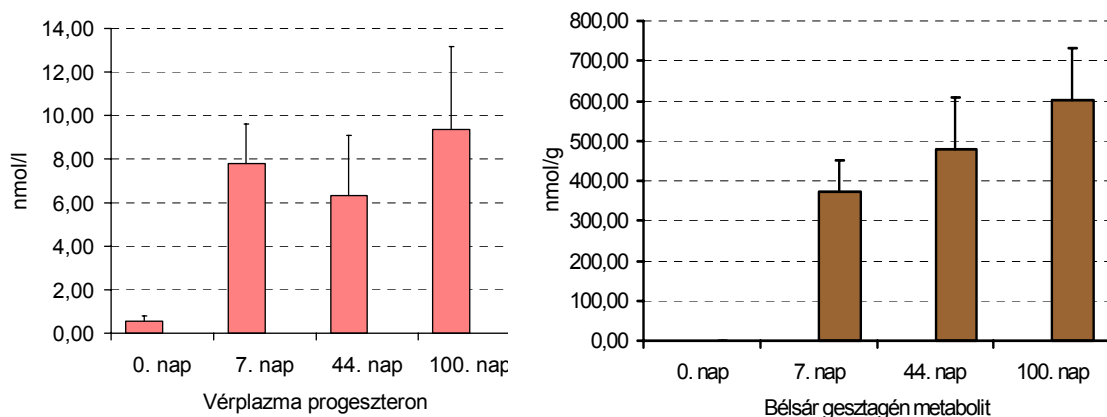
7. ábra: A vérsplazma progeszteron és a bélérsárminták gesztágén metabolit szintje az inszeminálás utáni 7. napon



8. ábra: A kísérleti anyák ovulációs ráta eredményei



9. ábra: A vérplazma progeszteron szintje, illetve a bélár gesztagén metabolit koncentrációja a *nem vemhes* (n = 29) valamint a *vemhesült* (n = 8) állatokban az inszeminálást követő 7. napon



10. 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).

6. táblázat: A kísérlet kezdetén *acikliás*, ill. *ciklikus* petefészek-működésű egyedek életkora és testtömege.

		Petefészek-működés		P=
		Acikliás	Ciklikus	
		n=21	n=16	
Életkor, hónap	$\bar{x}$	47,5	57,1	0,284
	$\pm sd$	29,4	24,1	
Testtömeg, kg				
A kísérlet kezdetén	$\bar{x}$	32,3	38,0	0,001
	$\pm sd$	3,6	5,1	
A gesztagén kezelés végén	$\bar{x}$	34,9	40,8	0,001
	$\pm sd$	5,1	5,1	
Testtömeg-gyarapodás, kg	$\bar{x}$	2,6	2,9	0,489
	$\pm sd$	1,4	1,4	

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

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

8. táblázat: A különböző ovulációs rátájú egyedek életkora és testtömege.

		Sárgatestek száma (OR)		
		1 és 2	3 és 4	5 és több
		n=7	n=16	n=11
Életkor, hónap	$\bar{x}$	36,3*	52,9	62,6*
	$\pm$ sd	25,1	26,9	26,7
Testtömeg, kg				
A kísérlet kezdetén	$\bar{x}$	32,7	34,3	33,6
	$\pm$ sd	4,1	6,2	3,7
A gesztagén kezelés végén	$\bar{x}$	34,8	37,0	36,7
	$\pm$ sd	4,3	6,6	3,9
Testtömeg-gyarapodás, kg	$\bar{x}$	2,1	2,7	2,7
	$\pm$ sd	1,4	1,5	1,5

Megjegyzés: *A megjelölt átlagértékek között ANOVA analízissel szignifikáns különbség igazolható (F = 2,11; a legkisebb, P < 0.05 szinten szignifikáns különbség: 24,7)

9. táblázat: Az egyes metabolikus hormonok plazmaszintje a vizsgált ciklusban a különböző ovulációs rátájú egyedekben

		Sárgatestek száma (OR)		
		1 és 2 n=7	3 és 4 n=16	5 és több n=11
Leptin, ng/ml HE				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	2,13	2,12	2,15
	$\pm$ sd	0,49	0,28	0,18
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	2,05	2,02	2,06
koplaltatás után	$\pm$ sd	0,48	0,30	0,20
IGF-1, nmol/l				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	20,73	20,99	21,74
	$\pm$ sd	3,80	4,33	4,53
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	14,08	13,86	13,24
koplaltatás után	$\pm$ sd	4,17	4,76	5,24
Inzulin, μ IU/L				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	20,19*	22,59	24,06*
	$\pm$ sd	5,64	3,22	2,36
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	15,92	15,62	15,80
koplaltatás után	$\pm$ sd	4,08	5,00	5,26
T3 (nmol/l)				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	1,21	1,24	1,25
	$\pm$ sd	0,13	0,11	0,08
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	0,92	0,93	0,95
koplaltatás után	$\pm$ sd	0,14	0,10	0,05
T4 (nmol/l)				
A flushing 12. napján	$\bar{x}$	107,74	108,19	108,94
	$\pm$ sd	17,18	14,92	10,18
23 nap flushing és 48 h	$\bar{x}$	84,87	80,21	77,52
Koplaltatás után	$\pm$ sd	23,96	19,41	10,94

Megjegyzés: *A megjelölt átlagértékek között ANOVA analízissel szignifikáns különbség igazolható (F = 2,47; a legkisebb, P < 0.05 szinten szignifikáns különbség: 3,36)

4.2.1.2. Az eredmények értékelése

Kísérletünket az évnek szaporodásbiológiai szempontból kritikus, tavaszi - nyári eleji időszakában, vegyes életkorú és tápláltsági állapotú, állatokon végeztük.

Az alkalmazott módszerek széles skálája sokirányú információgyűjtést tett lehetővé.

Az ovarialis működés nyomon követését a már hazai körülmények között is hagyományosnak számító plazma progeszteron szint határozáson kívül (KULCSÁR és mtsai, 1982) a napjainkban egyre szélesebb körben terjedő bélsár gesztagén metabolit assay segítségével is megkíséreltük. Utóbbi módszer alkalmazásának élettani alapjait az a tapasztalat indokolja, hogy a progeszteron egyes bomlástermékei (gyűjtőnéven gesztagén metabolitok) a bélsárban is megjelennek. A bélsár minták analízisére használt ELISA rendszerünkben alkalmazott ellenanyag jelentős mértékben keresztreakál a metabolitok egy részével, mindenek előtt az 5α -pregnan-3,20-dion-nal. A módszer ezért alkalmas a bélsár minták gesztagén metabolit szintjének a meghatározására. A bélsár mintákból kiinduló gesztagén metabolit meghatározás előnye, hogy a minták gyűjtése szakértelmet nem igényel, az állat számára a vérminták vételénél kíméletesebb, állatvédelmi szempontoknak jobban megfelelő. Hátránya viszont a laboratóriumi feldolgozás valamivel nagyobb idő-, kézi munka- és finom vegyszer igénye.

Tapasztalataim szerint a két módszer segítségével nyerhető adatokból közel azonos diagnosztikai jellegű következtetések vonhatók le. Mindkettő alkalmas lehet a petefészek-működés acikliás, vagy ciklikus működésének megállapítására. Az ovulációt követő 7. napon gyűjtött mintákban ugyan nagyobb számú CL jelenlétében valamivel magasabb progeszteron, illetve gesztagén metabolit koncentrációkat lehetett mérni, *egyik módszer sem tűnik azonban alkalmasnak a képzőzött CL-ek számának a becslésére.* Ez a megfigyelés megerősíti a korábbiakban szuperovuláltatott szarvasmarhákban nyert hasonló tapasztalatokat (SOLTI, 1984).

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.* Mindezek arra utalnak, hogy a ciklikus petefészek-működés hiánya esetükben a kísérlet megkezdése előtti időszakra visszavezethető, a kívánatosnál alacsonyabb energiaszintű takarmányozással függhet össze. Az alkalmazott pótlólagos abrak-

kiegészítés hatására azonban az anyák tápláltsági állapota a ciklus-indukció időpontjára jelentősen javult, lehetővé téve, hogy az állatok a gesztagén + PMSG kezelésre elfogadható módon reagáljanak.

Az ovulált tüszők, illetve a képződött sárgatestek száma és az egyes metabolikus hormonok koncentrációja között szinte alig találtunk összefüggéseket. Mindössze az inzulin szintjében tapasztaltunk világos különbségeket. 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 ovulációszámú társaikat. A megfigyelés arra utal, hogy a genetikai különbségek mellett talán az energiaellátottság mértéke is hatással lehetett a későbbi tüszőrepedések számára.

A sajnálatosan gyenge vemhesülési eredményekre egyértelmű magyarázat nem adható. Felvetődhet a termékenyítő anyag gyengébb minősége éppúgy, mint a termékenyítési technikai hiányosságai. Mindezeknek ellent mond azonban – és valamilyen, az anyák korábbi takarmányozásában rejlő hiányosság jelentőségét sejteti, – hogy a vemhesült egyedek a flushing periódusban szignifikánsan nagyobb mértékű testtömeg-gyarapodást mutattak, továbbá az a tény, hogy a termékenyítéssel egyidejűleg jelentősen magasabb IGF-1 koncentrációval voltak jellemezhetőek.

Kérődzőkben az IGF-1 szintje ismert módon híven tükrözi a szervezet energetikai státuszát (BEAM ÉS BUTLER, 1999), juhban pedig az IGF-1 helyi koncentrációja meghatározó jelentőségű a petevezetőben, illetve a méhben fejlődő, morula - korai blastocysta stádiumú embrió számára (WATSON és mtsai, 1999). Mindezekkel összhangban levőnek látszik, hogy a termékenyítés utáni 7. napon a vemhesült egyedekben magasabb plazma progeszteron szintet mértünk (ami viszont nem tükröződött a bélsár gesztagén metabolit tartalmában). A különbségek ugyan nem elegendőek a vemhesült és a nem vemhes állatok elkülönítésére, a szarvasmarhán szerzett korábbi megfigyelések (MANN és LAMMING, 1999) alapján azonban feltételezhetjük, hogy a sárgatest progeszteron produkciója az esetek egy részében talán juhban sem elégséges az embriók életben maradásának a biztosításához. Messzemenő következtetések levonása azonban a vemhes állatok kis száma miatt nem lehetséges.

Az eredmények összegzése:

- *az áprilisi - májusi időszakban a szapora merinó anyák jelentős hányada ciklikus petefészek-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 szolgáltathat egyes metabolikus hormonok (IGF-1, inzulin, leptin) meghatározása*
- *a bélsár gesztagén metabolit tartalmának meghatározása használható diagnosztikai módszer lehet a juhállományok szaporodásbiológiai gondozásában.*

4.2.2. Egyes szintetikus gesztagének mellékvesekéreg működésre gyakorolt hatása juhban

A szintetikus gesztagének mellékvesekéreg-működésre gyakorolt hatását juhban két kísérletsorozatban vizsgáltuk.

Először tíz, 3-5 éves korú, közepes kondíciójú, ciklikus petefészek-működésű, szapora merinó fajtájú anyajuhot kezeltünk, gesztagén forrásként a **Chrono-gest™ hüvelyszivacs** 40 mg fluorogeszton acetát (FGA) hatóanyagot tartalmazó változatát vettük igénybe. Öt állatot a készítmény 2-2, a további öt anyát pedig 1-1 adagjával kezeltük, a gesztagén forrást a 14. napon távolítottuk el. Második alkalommal 14 anyajuhot vontunk be a kísérletbe. Hét állatnál az első kísérlethez hasonlóan, FGA hatóanyagú Chrono-gest hüvelyszivacsot, a másik 7-nél pedig természetes progeszteron (P4) hatóanyagú **Easi-Breed** hüvely-implantátum 300 mg progeszteron tartalmú változatát alkalmazva 14 napon át.

A mellékvesekéreg-működés nyomon követése céljából (1) az FGA kezelést közvetlenül megelőzően, (2) a kezelés 14. (azaz utolsó) napján, majd (3) az azt követő 14. napon (azaz a kísérlet utolsó, 28. napján) egy alap-vérminta (továbbiakban: t_0 minta) levételét követően intravénásan 60 μg $_{1-24}$ ACTH-t (Cortrosyn inj., Organon) fecskendeztünk be. 60 és 120 perc elteltével újabb vérmintákat (továbbiakban: t_{60} és t_{120} minta) gyűjtöttünk a v.jugularis-ból heparin tartalmú csövekbe. Centrifugálás (15 perc 3600 G) után lefejtettük a vérplazmát és a mintákat mélyhűtőben tároltuk a hormonok meghatározásig. A mintákból a kortizol koncentrációját határoztuk meg radioimmunoassay módszerrel.

Hasonlóképpen a második kísérletben a gesztagén kezelés kezdetén (0.nap), majd a 14. és a 28. napon meghatároztuk ACTH-indukált kortizol-válaszkésztséget. Emellett egyszeri alap-vérminta vételt végeztünk még pluszban a 3., 7., 10., 21., 24. napon is. A mintákból a kortizolon kívül az ACTH, a T_4 , az inzulin, az IGF-I és a leptin szinteket is meghatároztuk.

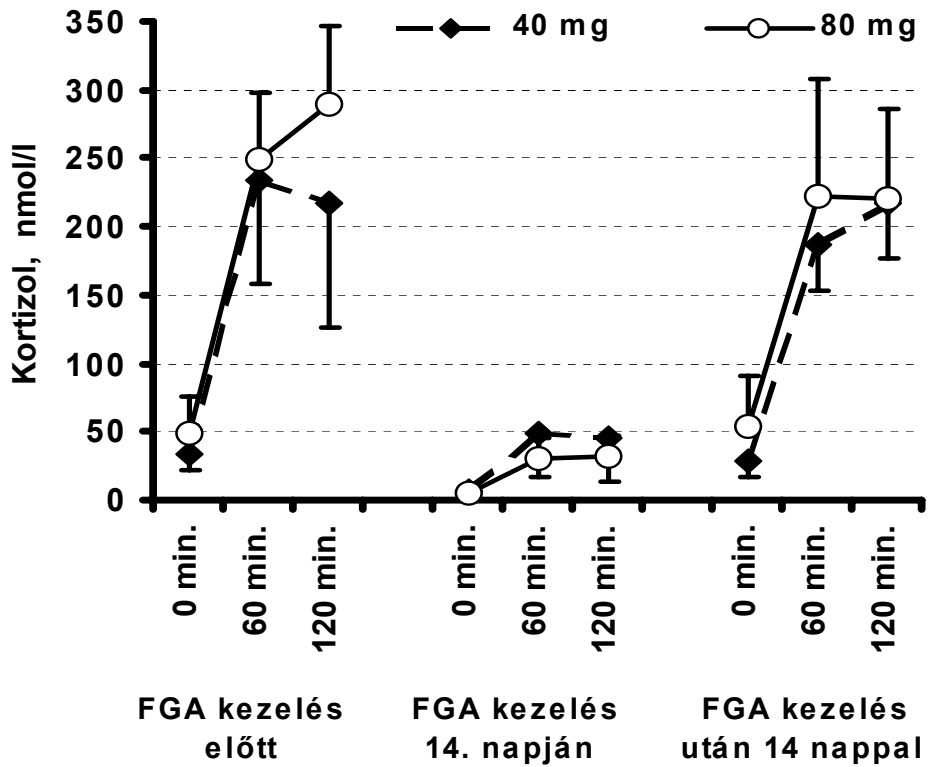
4.2.2.1. Eredmények

Az első kísérletben az ACTH-stimulált kortizol-válaszkészség időbeli alakulását a **11. ábra** szemlélteti.

Az **FGA kezelés megkezdése előtt** a plazmában a kortizol alapszintje 15 – 83 nmol/l közötti, fiziológias értéktartományban mozgott, amely az ACTH beadása után egy órával az eredeti érték három-hússzorosára emelkedett. A beadást követően 2 órával vett (t_{120}) mintákból meghatározott kortizol-szintek alapján megállapítható, hogy – a tízből 3 állat kivételével – a koncentrációk tovább emelkedtek, bár az első órában tapasztaltnál kisebb mértékben.

A **14 napos FGA kezelés utolsó napján** mért adatok az ACTH-stimulált kortizol válaszkészség jelentős csökkenéséről tanúskodtak. A 40 mg FGA-val kezelt állatoknál már a kiindulási kortizol szintek is 3-10-szer alacsonyabbak voltak, mint a gesztágén-kezelést előtt. Ugyanez a paraméter a 80 mg FGA-val kezelt állatokban 4-35-ször bizonyult alacsonyabbnak. Az ACTH beadását követően egy órával ugyan általában 4-7-szeres (40 mg FGA-val kezelték), illetve 2-9-szeres (80 mg FGA-val kezelték) emelkedés volt megfigyelhető. A standard kis dózisú ACTH által kiváltott kortizolszint-növekedés mértéke azonban messze elmaradt a kezelés előtt mért hasonló értéktől. Az ACTH kezelés utáni 120. percben kapott értékek 5 állatban már csökkenő tendenciát mutattak az egy órával korábbi kortizol szintekhez képest. A másik 5 állatban észlelt további növekedés sem volt számottevő.

A két hetes **FGA kezelés után 14 nappal** mért kortizol plazma-alapkoncentrációk már többé-kevésbé megegyeztek, vagy nem sokkal voltak alacsonyabbak, mint a kezelés előtt mért értékek. Az ACTH stimuláció nyomán bekövetkezett kortizol-szintemelkedés mértéke nem maradt el az FGA-kezelés előtt tapasztaltnál képest, sőt még valamelyest kifejezettebb is volt annál: 5-14-szeres a 40 mg, és 3-14-szeres a 80 mg FGA-val kezelt csoportban. Az ACTH beadása után két órával a kortizol szintje tovább emelkedett, kivéve két állatot, ahol már minimális csökkenés volt észlelhető (mindkettő a 80 mg-ot kapott csoport tagja volt).



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

Megjegyzések: Az FGA kezelés utolsó napján meghatározott kortizol-alapszint (t_0 minta), illetve ACTH-indukált kortizol szintemelkedés mértéke (t_{60} és t_{120} minta) szignifikánsan ($P < 0.001$) alacsonyabbnak bizonyult a 0. és 28. napon mért hasonló értéknél. A különböző adagú FGA kezelésben részesült állatok adatai között szignifikáns különbségeket nem lehetett igazolni.

A második kísérletben mért hormonszintek a **10. táblázatban**, illetve a **12. ábrán** láthatók, a standard kis dózisú ACTH-terhelésre adott kortizol-válaszkészség alakulását a fluorogeszton acetát (FGA), illetve a P4 kezelést megelőzően (0. nap), a kezelés utolsó napján (14. nap), továbbá az azt követő 14. napon (28. nap) pedig a **15. ábra** mutatja.

Az FGA-val kezelt állatoknál a gesztagén forrás felhelyezése utáni 7-14. napon szignifikáns ($P < 0,001$) különbség mutatkozik az ACTH szintjében a progeszteronnal kezelt állatokhoz képest. Az ACTH csökkent termelődése következtében a kortizol szekréció is korlátozódik az FGA-val kezelt állatoknál, mely plazmaszintjében a két állatcsoport között szignifikáns ($P < 0,02$) különbség mutatható ki.

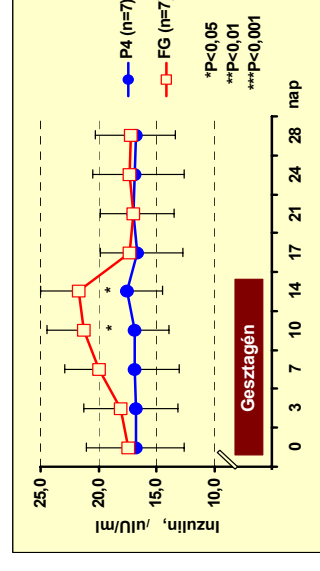
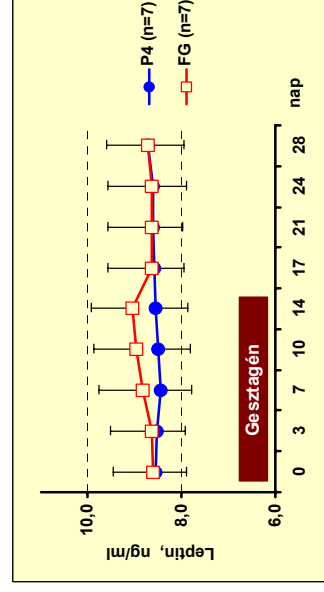
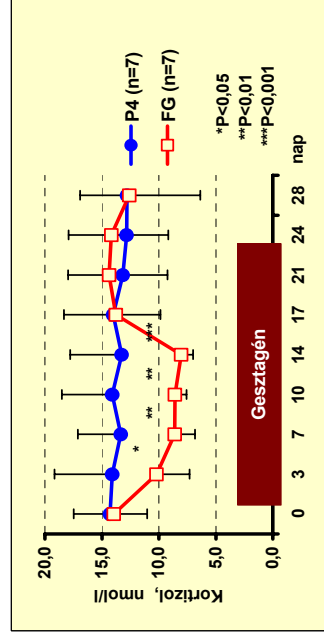
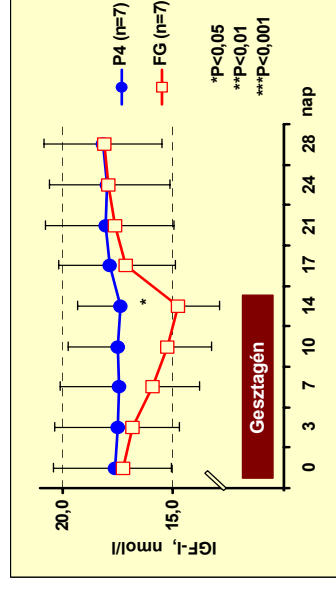
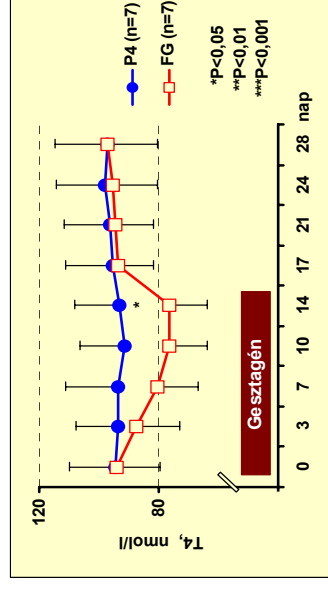
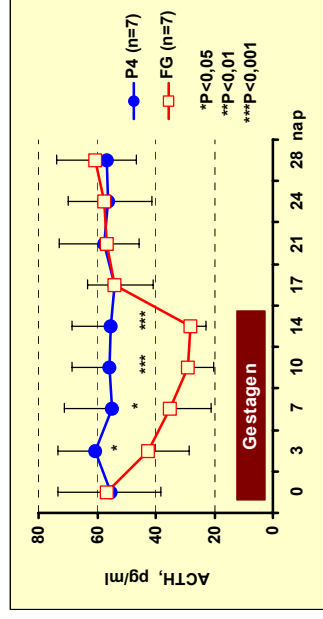
Az **FGA, illetve P4 kezelés megkezdése előtt** a plazmában a kortizol alapszintje 14 nmol/l körüli, fiziológiás értékeket mutatott mindkét állatcsoportnál, mely az ACTH beadása után egy órával kilenc-tízszeresére emelkedett.

A **14 napos gesztagén kezelés utolsó napján** mért adatok az FGA-val kezelt állatoknál a MVK kortizol termelő képességének csökkenéséről tanúskodtak, az alapértékek 8 nmol/l (sd: ± 1), az ACTH-indukció után pedig 74 nmol/l (sd: ± 14) volt a kortizol szintje. A P4-nal kezelt állatoknál az alap kortizol szint 13,3 nmol/l (sd: $\pm 4,5$), indukció után 99,6 nmol/l-re (sd: $\pm 18,1$) emelkedett, amely értékek a kezelés előtti állapotoknak feleltek meg.

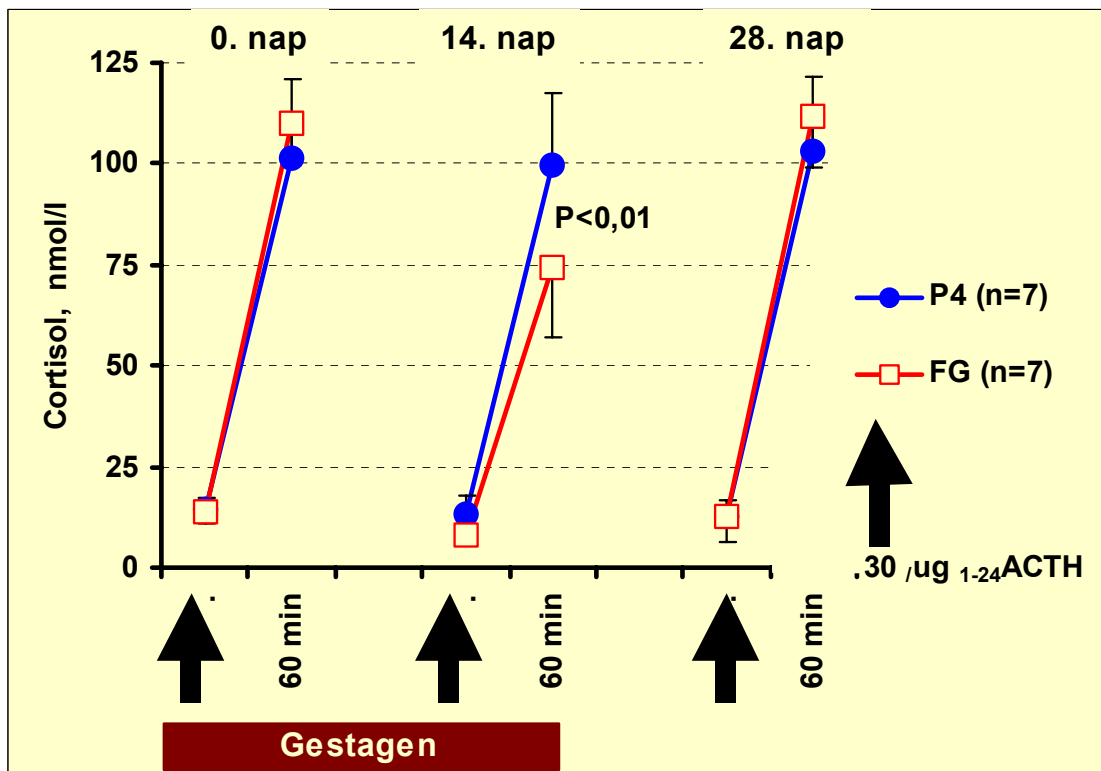
A kéthetes **FGA, illetve P4 kezelés után 14 nappal** mért kortizol plazma-alapkoncentrációk mindkét állatcsoportnál már többé-kevésbé megegyeztek, vagy nem sokkal voltak alacsonyabbak, mint a kezelés előtt. Az ACTH stimuláció nyomán bekövetkezett kortizol szintemelkedés mértéke pedig szintén a kezelés előtti állapotokra állt vissza.

10. táblázat: A természetes progeszteron tartalmú *CIDR* tamponnal, illetve a fluorogeszton tartalmú *Chrono-gest* hüvelyszivaccsal kezelt állatok ACTH, T₄, IGF-I, kortizol, leptin és inzulin szintje

Kezelés /Nap	Kortizol (nmol/l), alap										Kortizol (nmol/l), ACTH indukált					
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	0.nap 0 min	14.nap 0 min	28.nap 0 min	60 min	14.nap 0 min	28.nap 0 min	60 min
P4 $\bar{x}$	14,3	14,1	13,3	14,1	13,3	14,0	13,2	12,8	12,8	14,3	101,7	13,3	99,6	12,8	103,2	
Sd	3,2	5,1	3,8	4,4	4,5	4,3	4,8	5,1	4,1	3,2	19,0	4,5	18,1	4,1	18,3	
FG $\bar{x}$	14,0	10,2	8,6	8,6	8,0	13,8	14,4	14,2	12,6	14,0	110,0	8,0	74,2	12,6	111,5	
Sd	2,9	2,9	1,8	1,0	1,0	3,9	5,1	5,0	6,2	2,9	10,5	1,0	17,0	6,2	12,3	
P=	0,842	0,109	0,015	0,016	0,022	0,914	0,659	0,628	0,948			0,022	0,019			
Kezelés /Nap	ACTH (pg/ml), alap										T ₄ (nmol/l), alap					
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	0	3	7	10	14	17	21
P4 $\bar{x}$	55,6	60,9	55,0	56,0	55,6	54,3	57,7	56,3	56,6	94,7	93,7	93,6	91,2	93,1	95,6	98,1
Sd	17,7	12,5	16,1	12,6	12,9	9,0	15,5	13,6	17,1	15,4	14,2	17,5	15,0	15,2	15,5	16,3
FG $\bar{x}$	56,6	42,6	35,3	28,9	28,1	53,9	56,9	57,7	60,7	94,2	87,4	80,3	76,6	76,4	93,6	95,5
Sd	18,4	14,2	14,0	8,5	5,3	12,9	11,2	16,2	14,0	14,8	14,4	13,7	12,8	12,6	11,6	15,1
P=	0,919	0,025	0,031	0,001	0,001	0,944	0,908	0,861	0,629	0,954	0,440	0,141	0,074	0,045	0,790	0,810
Kezelés /Nap	Inzulin (μ U/ml), alap										IGF-I (nmol/l), alap					
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	0	3	7	10	14	17	21
P4 $\bar{x}$	16,7	16,8	16,8	17,6	16,7	17,0		16,9	16,8	17,6	17,5	17,4	17,5	17,4	7,9	18,0
Sd	3,6	3,1	2,9	3,2	3,2	2,6	2,8	3,3	3,1	2,8	2,8	2,6	2,3	1,9	2,3	2,6
FG $\bar{x}$	17,4	18,1	19,9	21,2	21,7	17,3	17,0	17,3	17,2	17,3	16,8	15,9	15,3	14,8	17,1	17,9
Sd	4,1	3,6	3,8	2,9	3,1	4,0	3,6	4,2	3,4	2,2	2,1	2,1	2,0	1,9	2,2	2,8
P=	0,760	0,477	0,115	0,022	0,031	0,735	0,997	0,837	0,815	0,797	0,629	0,253	0,078	0,028	0,557	0,986
Kezelés /Nap	Leptin (ng/ml), alap															
	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							



12.ábra: A természetes progeszteron tartalmú *CIDR* tamponnal, illetve a fluorogeszton tartalmú *Chrono-gest* hüvelyszivaccsal kezelt állatok ACTH, T₄, IGF-I, kortizol, leptin és inzulin szintje



13.ábra: A standard kis dózisú ACTH-terhelésre adott kortizol-válaszkészség alakulása a fluorogeszton acetát (FGA), illetve a P₄ kezelést megelőzően (0. nap), a kezelés utolsó napján (14. nap), továbbá az azt követő 14. napon (28. nap).

4.2.2.2. Az eredmények értékelése

Egy hormonnak, így a kortizolnak is, az adott pillanatban mérhető plazmaszintjét a hormon produkciójának, illetve a célszervek részéről történő felvételnek, valamint a keringésből történő kiválasztásának és/vagy metabolizációjának bonyolult egyensúlyi állapota szabja meg. Szteroid hormonok esetében a plazma specifikus és nem specifikus kötőfehérjéinek együttes kapacitásától is függ, hogy ez az egyensúly milyen koncentráció-tartományban jön létre, ezért a kortizol aktuálisan meghatározható (alap)szintjéből szinte lehetetlen az MVK hormontermelő képességére, funkcionális kapacitására következtetni. Ennek meghatározására szolgálnak az ún. funkcionális tesztek, pl. a jelen kísérletben a *standard kis dózisú ACTH kezelésre adott kortizol válaszkészség meghatározása*.

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

Eredményeink a kéthetes szintetikus gesztagén (FGA) kezelés MVK működésére gyakorolt drámai hatásáról tanúskodnak. 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 következménye képpen. 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 természetes progeszteron forrás alkalmazása nem idézett elő a szintetikus gesztagénhez hasonló kedvezőtlen mellékhatást.

A kezelés 10-14 napja körül az FGA-val kezelt állatokban a vérplazma *tiroxin* (*T4*) szintjében tendenciózus ($P < 0,1$) csökkenés figyelhető meg a progeszteronnal kezelt állatok *T4* szintjéhez képest. 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 hipothalamus 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 hüvelyszivacs nem okoz ilyen változást.*

4.2.3 A vehemszám perifériás vér leptin szintje és a bélsár gesztagén metabolit koncentráció közötti összefüggés

Vizsgálatainkat 58 db szapora merinó 1-5 éves korú, átlagos tápláltsági állapotú, a kísérlet kezdetén 33,8-43,5 kg testtömegű anyajuhokon végeztük. Az állatok ciklusát a biológiai tenyészszезon végén, január második felében szinkronizáltuk (Chronogest™, 40 mg FGA 14 napon át + 500 NE Folligon inj.™, i.m., a gesztagén forrás eltávolításával egyidejűleg).

Az inszeminálás napján (AI. 0. nap), majd a feltételezett vemhesség 41., 81. és 101. napján vér, ill. bélsár mintákat gyűjtöttünk, amelyekből meghatároztuk a leptin, a progeszteron (P₄) (vérplazma), ill. az ürített P₄ metabolitok (P₄-met) (bélsár) mennyiségét. Az értékelésre az ellési adatok alapján került sor. Az eredményeket ANOVA módszerrel értékeltük.

4.2.3.1. Eredmények

A termékenyítés után összesen 24 állat vemhesült, amelyek később 1 (n=12), 2 (n=6) vagy 3-5 (n=6) bányát ellettek. 33 anya a kísérleti periódusban üres maradt. A termékenyítést követő természetes pároztatásból mindössze egyetlen állat vemhesült. Ezt figyelmen kívül hagytuk (57 állat adatait értékeltük).

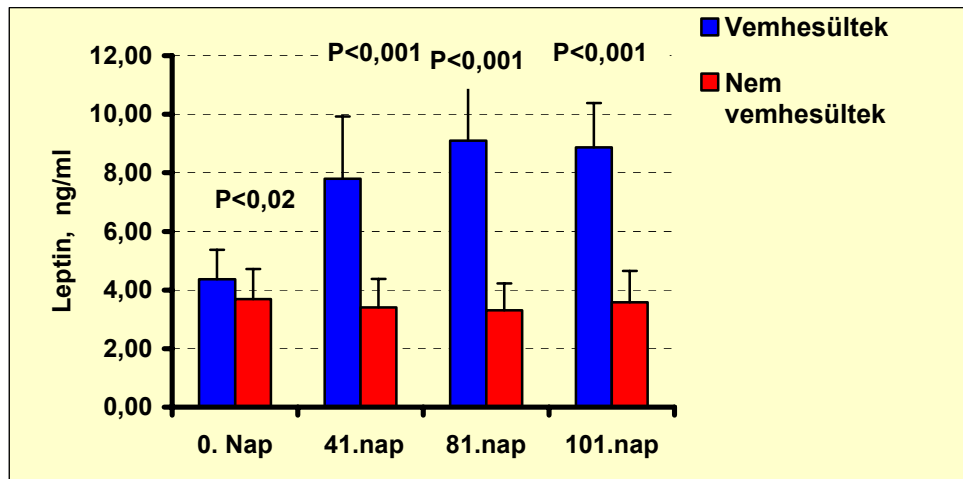
A termékenyítés napján mért P₄ és P₄-met szintek mindössze 5 esetben valószínűsítették a szinkronizálás eredménytelenségét. Közülük egyetlen állat sem vemhesült.

Bár átlagos testtömegük nem különbözött, a vemhesültek termékenyítéskori leptin szintje szignifikánsan magasabb volt a nem vemhesültekénél (P=0,015) (**14. ábra**). A nem vemhesültek leptin szintje a továbbiakban változatlan maradt, ezzel szemben a vemhesülteké a 41. npra közel megduplázódott, a 81. npra tovább emelkedett, majd a 101. npra kismértékben csökkent (**14. ábra**). A plazma P₄ és a bélsár P₄-met tartalma a vemhesség előrehaladtával folyamatosan emelkedett.

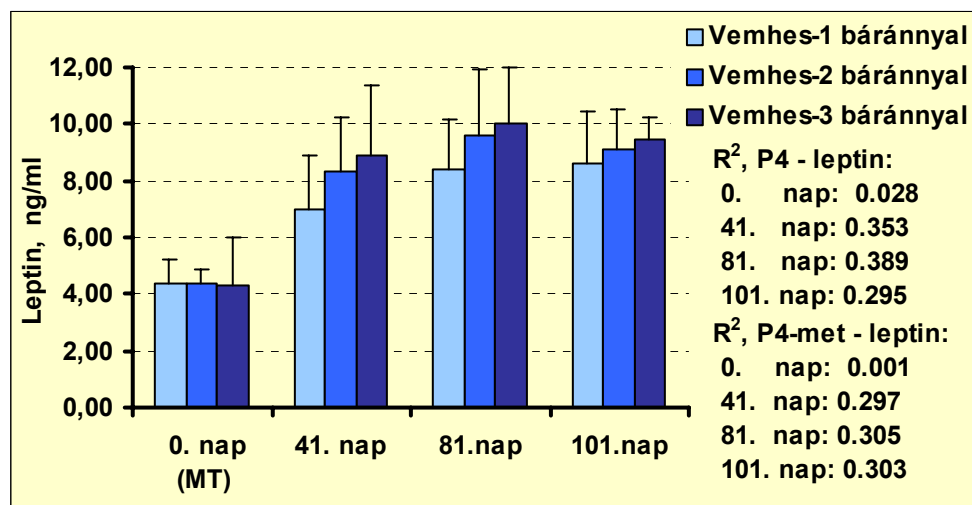
A 41. és 81. napon pozitív korreláció (R²=0,29-0,38) volt a leptin, ill. a P₄ és a P₄-met szintek között, amelynek mértéke a 101. npra valamelyest csökkent (R²=0,29-0,30) (**15. ábra**). A P₄ és a P₄-met szintek mindvégig viszonylag szoros pozitív korrelációban voltak egymással (**16. ábra**).

A vemhesség idején az egyet ellők leptin, P_4 és P_4 -met átlagértékei alacsonyabbak voltak a 2 vagy 3-5 bárányt ellőkénél.

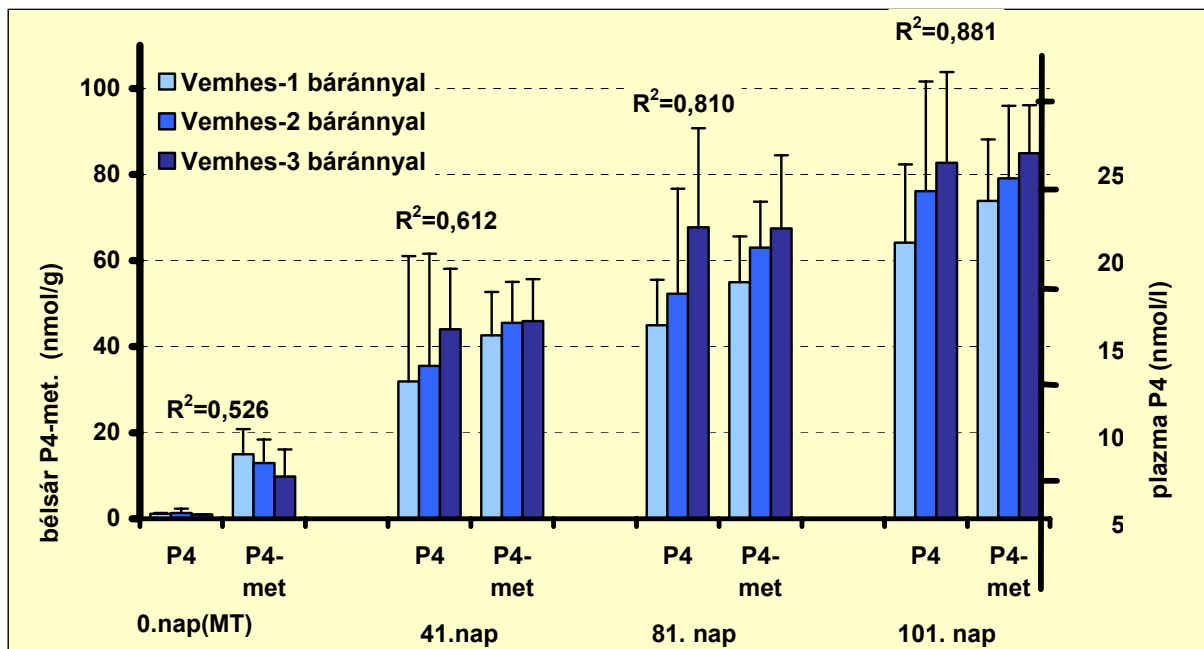
Az ANOVA módszerrel szignifikáns különbség mutatkozott a vehemszám és az anya leptin szintje között, valamint a plazma progeszteron szint között.



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



15. ábra : A plazma leptin szintje a vemhesült állatoknál 1, 2 illetve 3 vehemszámnál, a termékenyítéskor és utána a 41., 81. és 101. napon, valamint az R² értékek a plazma progeszteron-leptin és bélsár metabolit - leptin szint között.



16. ábra: A plazma progeszteron (pP₄) és a bélsár metabolit (P₄-met) szint a vemhesség ideje alatt

4.2.3.2. Az eredmények értékelése

A napjainkban azonosított leptin, egy citokin-szerű fehérje, mely elsősorban a fehér zsírsejtekben termelődik (KEISLER és mtsai, 1999, CHILLIARD és mtsai 2001; INGVARTSEN és BOISCLAIR, 2001), valamint más szövetekben és szervekben, köztük a tejmirigyben (BONETT és mtsai, 2002) és a placentában is (ASHWORTH és mtsai, 2000).

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 (HOUSEKNECHT és mtsai,

1998; KEISLER és mtsai, 1999; CHILLIARD és mtsai, 2001; INGVARTSEN és BOISCLAIR, 2001).

A plazma leptin szintje felnőtt, nem vemhes kérődzőkben pozitív összefüggést mutat a fehérzsírsejtek arányával és az aktuális tápláltsági szinttel (DELAVEUD és mtsai, 2000, EHRHARDT és mtsai, 2000; DELAVEUD és mtsai, 2002).

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 (ASHWORTH, és mtsai, 2000, EHRHARDT és mtsai, 2001).

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_4 és P_4 -met szint alacsonyabb volt az egy magzattal vemhes juhoknál, mint a többes vemheseknél, 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_4 -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 gesztagen 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***

4.2.4. Az anyajuhok vemhességi ketózisának hormonális jellemzői és ellés utáni ovarialis következményei

A vizsgálatokra egy belterjesen tartott és hasznosított magyar fésűsmerinó állományban került sor, ahol rendszeresen alkalmaztak ivarzásszinkronizálást, illetve ciklusindukciót. Az ivarzó állatokat helyben vett, friss, hígított ondóval termékenyítették. A szaporulatot rendszeresen néhány hetes korban tejes báránként értékesítették.

Az összesen 121, korábban már többször ellett anyákból álló nyáját az előző nyáron ártéri legelőn tartották, ezen kívül augusztus második felében napi kb. 30 dkg abrak-kiegészítést (flushing) is alkalmaztak. Az állatok ciklusát egy aug. 30-án megkezdett 14 napos szintetikus gesztagén (Chrono-gest™, 40 mg FGA), 14 napon át + eCG (500 NE Folligon inj.™, i.m., a hüvelytampon eltávolításával egyidejűleg) kezeléssel szinkronizálták.

Az ivarzókat a kezelés befejeztét követő 48. órában egy alkalommal hígított friss spermával inszeminálták (szept. 14.), majd az esetleg visszaivarzók fedezésére a nyájba kost bocsátottak. A legeltetés befejeztével az állatokat ad libitum adagolt fűszénával takarmányozták. A vemhesség 105. napjától napi kb. 35 dkg abrak-kiegészítést kezdtek, amelyet a vemhesség végéig terveztek folytatni. Az abrak-kiegészítést azonban a gondozó a 125. napon (a tulajdonos váratlan, hosszabb távollétéből adódó anyagi nehézségek miatt) kénytelen volt félbeszakítani. A vemhesség 136-140. napján összesen 4 anya rövid bágyadság után váratlanul elhullott. A kórelőzmény és a boncletet (a máj nagyfokú elzsírosodása) mellett a vizeletben kimutatható nagyobb mennyiségű ketonanyag is a vemhességi ketózis alapos gyanúját igazolta.

Még a 140. vemhességi napon minden állattól vérmintát vettünk, és javasoltuk az abrak-kiegészítés azonnali visszaállítását, 48 órán belül meghatároztuk a ketózis esetén leginkább jellemzőnek tartott ketonanyag, a β OH-vajsav (β OH-butirát, BHB) koncentrációját.

HENZE és mtsai (1998) ajánlásának megfelelően valamennyi, $\geq 1,60$ mmol/l BHB szint fölötti állatot a 143-145. napon perorális antiketogenikus kezelésben részesítettünk. A későbbiekben meghatároztuk egyes további metabolitok [glükóz, nem eszterifikált zsírsavak (NEFA), összkoleszterin (TCH)], metabolikus hormonok

[inzulin, T₄, T₃, kortizol, IGF-I, leptin] és enzimek [AST-aszparát-amino transzferáz] szintjét.

Nyomon követtük a vemhesség végső szakaszának és az ellésnek a lefolyását, feljegyeztük az újszülött bárányok számát.

Az ellés után az állatokat 72-75 napig fejték, illetve ez idő alatt bárányaik is tetszés szerint szophatták anyjukat. Az állatok ad libitum fűszénát, és a laktáció idején napi kb. 45-50 dkg. Változó összetételű és minőségű abrak-kiegészítést is kaptak. Amint az időjárás azt lehetővé tette, legelőre kerültek, a késő délutáni – esti és a hajnali órákban a továbbiakban is ad libitum rendelkezésükre állt a fűszéna. A bárányokat 72-75 napos korban szállították el.

A következő ciklus-indukcióra (Chrono-gestTM / 30 mg FGA 12 napon át + 500 NE Folligon inj.TM, i.m., a gesztagénforrás eltávolításával egyidejűleg) az ellés utáni 78-80. naptól (máj. 1.) kezdődően került sor. A mesterséges termékenyítés (AI) időpontjában, majd 10 nappal később minden állattól egy-egy vérmintát gyűjtöttünk.

A mesterséges termékenyítéssel egyidejűleg vett mintából meghatároztuk valamennyi, a vemhesség 140. napján is vizsgált metabolitot és hormont. Annak megítélésére, hogy az állat a kezelés nyomán ovulált-e, mindkét mintából meghatároztuk továbbá a progeszteron (P₄) szintjét. Az ovuláció bizonyítékának tekintettük, és a ciklus indukcióját sikeresnek minősítettük, ha a P₄ koncentrációja a terékenyítés napján alapszinten (<3,20 nmol/l) volt, a 10. napon azonban luteális aktivitásra utalóan emelkedettnek (≥3,20 nmol/l) bizonyult.

A kísérlet befejezéseként összegyűjtöttük az október közepén lezajlott következő ellések adatait.

4.2.4.1. Eredmények

Az antiketogenikus kezelés megkezdéséig további egy anya még elhullott, összesen 116 állat ellett meg. Az újszülöttek valamennyi esetben egészségesek voltak. A mesterséges termékenyítés nyomán vemhesült százket állatból 4 egyenként három, 57 két, 41 pedig egy bárányt ellett. A továbbiakban az utóbbi 98 anya hormonális, metabolikus és szaporodási adatait értékeltük.

A vemhesség 140. napján a később egy bárányt ellő anyák BHB szintje 0,27-1,32 mmol/l, a kettőt ellőkét pedig 0,35-3,65 mmol/l között szóródott. Az utóbbiak BHB szintjének átlaga szignifikánsan magasabbnak bizonyult (0.78±0.36 mmol/l ill.

1.62±1.37 mmol/l; $P < 0.001$), közülük 27 a HENZE és mtsai (1998) által megfogalmazott kritérium (BHB: $\geq 1,60$ mmol/l) alapján szubklinikai ketózisnak minősült. A szubklinikai ketózisos állatoknak csupán alig több mint fele volt hypoglicaemiás (2,37-2,99 mmol/l; $n=15$), a többi anya vércukor szintje a normál tartományban volt (3,00-3,50 mmol/l; $n=8$), vagy kissé emelkedett (3,51-3,77 mmol/l; $n=8$). Az egyet ellő, illetve az ikervemhes-egészséges állatok metabolikus és hormonális paraméterei között nem voltak lényeges különbségek. A szubklinikai ketózisos anyákat azonban jelentősen emelkedettebb AST aktivitás, valamint NEFA és kortizol szintek, továbbá szignifikánsan alacsonyabb inzulin, T_3 és IGF-I koncentrációk jellemezték (**11. táblázat**).

A leptin 140. napi plazmaszintje valamennyi állatban viszonylag magasnak bizonyult, és nem mutatott összefüggést egyetlen más vizsgált metabolikus vagy hormonális mutatóval sem. Az ikervemhes-szubklinikai ketózisos állatok leptin szintje a többiekénél valamivel alacsonyabb volt, a különbség azonban nem bizonyult szignifikánsnak (**17. ábra**).

A ciklusindukciót követő mesterséges termékenyítés időpontjára ezek a különbségek eltűntek. A leptin szintje ekkor csupán kb. egyharmada volt a korábban mért értékeknek, és a korábbiakban ikervemhes-szubklinikai ketózison átesett anyákban alacsonyabbnak bizonyult, mint más állatokban (**17. ábra**). A ciklusindukciós kezelés után a korábbiakban ikervemhes-szubklinikai ketózisos egyedek közül kevesebb ovulált, illetve vemhesült, és kevesebb volt közöttük az ikervemhesek száma, mint a másik két állatcsoportban (**12. táblázat**).

A ciklusindukciós kezelésre nem ovuláló állatok ($n=20$) leptin és IGF-I szintje alacsonyabb volt, mint a kezelésre reagáló társaikéi ($n=78$) (**18. ábra**). Az ellés utáni 92-94. napon a leptin szintje szignifikáns korrelációt mutatott a glükóz ($r = +0.414$), az inzulin ($r = +0.375$), az IGF-I ($r = 0.425$), valamint a NEFA ($r = -0.341$) plazmában mért koncentrációjával.

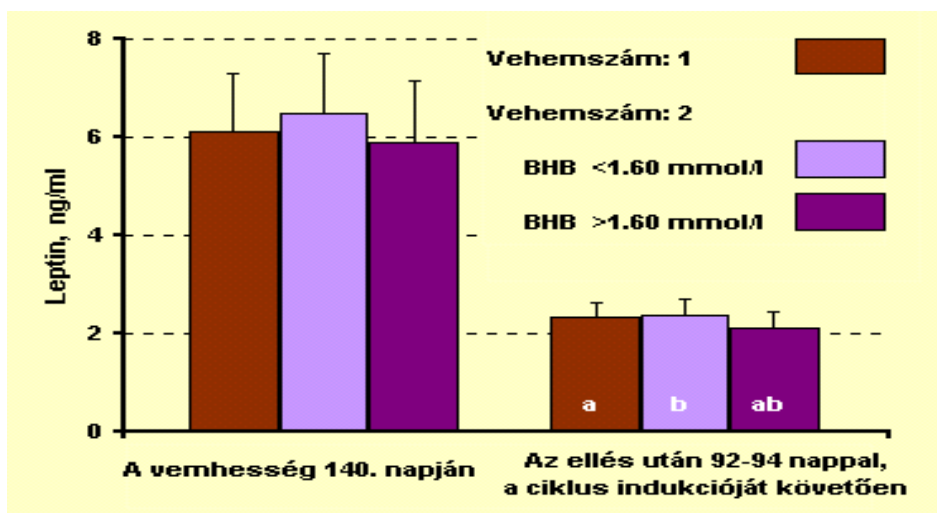
11. táblázat: Az anyajuhok metabolikus és hormonális mutatói

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

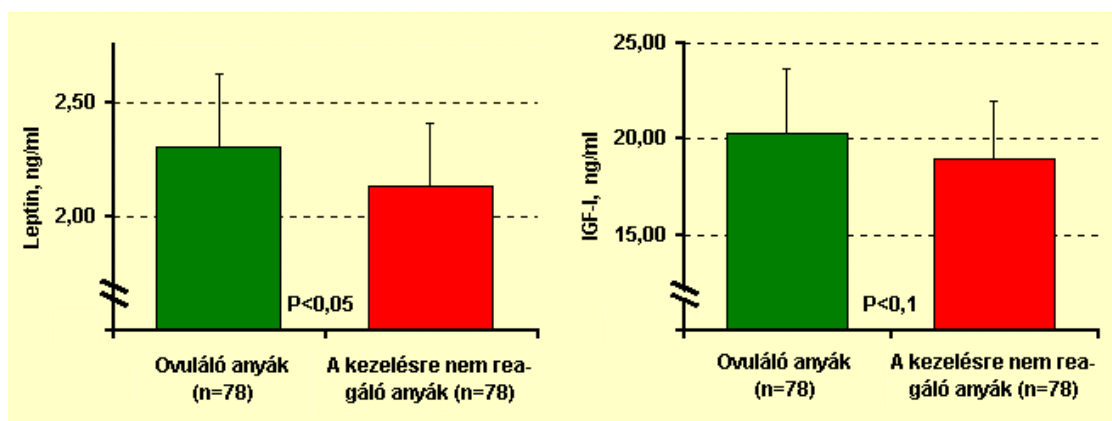
Megjegyzés: ***Az ikervemhesekhez viszonyítva P<0,001

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

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



17. ábra: A plazma leptin szintje a vemhesség 140. napján, valamint a ciklus indukcióját követően (az ellés utáni 92-94. napon), a vehemszám, illetve a 140. napi BHB koncentráció függvényében (a 92-94. napon: $F=5.10$, $LSD_{P<0.05} = 0.17 \text{ ng/ml}$; $a-a, b-b P<0.05$)



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

4.2.4.2. Az eredmények értékelése

A vemhesség utolsó napjaiban állataink metabolikus paraméterei a rendelkezésre álló kevés irodalmi adattal (HENZE és mtsai, 1998, VAN SUM, 2000) 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 a megbetegedés késői ovarialis következményeit.

Megfigyeléseim szerint az energiaháztartás homeosztatikus szabályozásában résztvevő hormonok mindegyikének plazmaszintje hasonló, a szervezet energetikai egyensúlyának a hiányára utaló tendenciákat tükröz, mint a tejelő tehén. HENZE és mtsai (1998) eredményeivel összhangban adataink alapján is az alacsony inzulin szint tűnik elsődleges endokrin tényezőnek a kórkép kialakulásában.

Nem számoltunk azzal a lehetőséggel, hogy a szubklinikai ketózison átesett állatok a ciklusindukció időpontjában bármely mutatójukban is különbözzenek társaiktól, hiszen a megbetegedés és az indukált ivarzás időpontjai között eltelt kb. 100 nap bőséggel elegendő a regenerációra. Némi meglepetést okozott ezért a korábbiakban ikervemhes-szubklinikai ketózisban anyák leptin szintjének kissé alacsonyabb volta.

A perifériás vér leptin koncentrációja juhokban is tükrözi a test zsírdépolóinak a telítettségi fokát. A megbetegedés idején nem különbözött lényegesen állataink leptin szintje. Az ellést követő napokban a plazma leptin tartalma a tehenekben tapasztalthoz hasonlóan juhokban is 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. Adott körülmények között a különbségek hosszas fennmaradásáért az állatok intenzív használatával összhangban nem álló, nem kellően rendezett takarmányozási viszonyok is közrejátszhattak.

A korábbiakban ikervemhes-szubklinikai ketózison átesett anyák a ciklusindukciós kezelés nyomán kisebb arányban ovuláltak, illetve vemhesültek, mint társaik. A leptin petefészkek-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 hyperketonaemiás állapottal összefüggésbe hozható zavara lehet.

Juhban a tüszőfejlődés időigénye a szarvasmarháénál is hosszabb, a primer tüszőből a preovulációs folliculus kb. 180 nap (!) alatt fejlődik ki. Kísérletünkben így az ellés utáni kb. 94. napon kiváltott ovuláció során olyan tüszőktől reméltük a teljes kompetenciájú oocyta termelését, amelyek fejlődésüknek kb. a félidejében a ketózissal együtt járó metabolikus és endokrinológiai változásoknak voltak kitéve. A laktáció korai szakában előforduló anyagcsere-zavaroknak a képződő petesejt minőségére gyakorolt, hasonlóan hosszútávú hatásáról szarvasmarhában már vannak ismereteink. Az analóg jelenség juhban történő esetleges előfordulásáról ezzel szemben elsőként ez a megfigyelés tanúskodik. Fennállásának a bizonyításához azonban további, immár célzott vizsgálatok szükségesek.

A ciklusindukciós kezelés nyomán nem ovuláló állatokat alacsonyabb IGF-I és leptin szint jellemezte, mint a kezelésre reagáló társaikat. 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 tenyészszezon kezdetéig a különbségek nyilvánvalóan eliminálódtak 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.***

5. 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 (tenyészszeznon kívüli) petefészek-működést 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 acikliás, vagy ciklikus működésének az elkülönítésére. Az acikliás állatokat alacsonyabb testtömeg, IGF-1 és inzulin szint, valamint tendenciózusan alacsonyabb leptin koncentráció jellemezte a ciklikus petefészek-működésűekéhez képest. Ennek alapján tehát az energetikai státusz megítéléséhez értékes információkat szolgáltatnak 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 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 ovariális 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 normoketonaemiás társaikban.

A ciklusindukciós kezelés nyomán nem ovuláló állatok leptin és IGF-I szintje alacsonyabb volt, mint a kezelésre reagálóké. Valószínű tehát, hogy a hyperketonaemiás állapot során a fejlődésüket megkezdett tüszők károsodnak. 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 gesztagen-metabolit szint-emelkedéssel. A magzatok számát tekintve pozitív korrelációt találtunk a magzatszám valamint a leptin és P_4 szintje között.

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

5.1. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Juhokban a ciklus indukciójára, az ivarzás szinkronizációra használt szintetikus gesztagén (fluorogeszton 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.

5.2. 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 esetnként a tüszőfejlődés hyperketonémiás állapottal összefüggésbe hozható zavarával magyarázható.

6. IRODALOMJEGYZÉK

1. **ADAMS, G.P. (1999):** Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. J. Reprod. Fert., Suppl. 54. 17-32.
2. **AHIMA, R.S., PRABAKARAN, D., MANTZOROS, C., QU, D., MARATOS-FRIER, E., FLIER, J.S. (1996):** Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature 382, 250-252
3. **ALAN, M.S.G., DOBSON, H., FITZPATRICK, R.J. (1986):** Endocrine response to different dose of ACTH in cows. British Vet.J. 142. 239-245
4. **AMSTALDEN, M., GARCIA, M.R., WILLIAMS, S.W., STANKO, R.L., NIZIELSKI, S.E., KEISLER, D.H. WILLIAMS, G. L. (2000):** Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in heifers: relationships to circulating insulin and insulin-like growth factor-I. Biol Reprod. (*accepted for publication*)
5. **ANDREWS, A. H., LAVEN, R., MAISEY, I. (1991):** Treatment and control of an outbreak of fat cow syndrome in a large dairy herd. Vet. Rec., 129, 216-219.
6. **ÁRNYASI M., A.ZSOLNAI, A.JÁVOR, L. FÉSÜS, N. DANKÓ G., K.MAGYAR, J.DOHY (2001):** Possibility of MAS for FecB gene in the Hungarian prolific merino sheep. Prospects for the Agriculture of the 3rd Millenium, International Symposium, Oct.25-27 Kolozsvár
7. **ÁRNYASI MARIANN (2003):** Molekuláris genetikai eszközök alkalmazása a booroola (FecB) mutáció hordozók azonosítására a szaproa merinó fajtában. PhD értekezés, Debreceni Egyetem ATC.
8. **ASHWORTH, C.J., ANTIPATIS, C. (1999):** Effects of pre-and post- mating nutrition on embryo survival in gilts.Reprod.Dom.Anim. 34 pp.:103-108
9. **ASHWORTH, C.J., SALES, D.I., WILMUT, I. (1989):** Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe J.Reprod and Fertil. 87. Pp.23-32
10. **ASHWORTH, C.J., HOGGARD, N., THOMAS, L., MERCER, J.G., WALLACE, J.M., LEA, R.G. (2000):** Placental leptin. Review of Reproduction. 5. 18-24
11. **BAIRD, G.D. (1982):** Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. J. Dairy Sci., 65. 1-10.

12. **BARB, CR., BARETT, JB., KRAELING, RR., RAMPACEK, GB.,(1999):** Role of leptin in modulating neuroendocrine function: a metabolic link between the brain-pituitary and adipose tissue. *Repr.Dom.Anim.* 34. Pp.:111-125
13. **BEAM, S. W., BUTLER, W. R. (1997):** Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56. pp.:133-142.
14. **BEAM, S.W., BUTLER, W.R. (1998):** Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid .J. *Dairy Sci.* 81, pp.:121-131.
15. **BEAM, S.W., BUTLER, W.R. (1999):** Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cow. *J.Repr.Fert., Suppl.*54, pp: 411-424
16. **BECKETT, J.L., SAKURAI, H., FAMULA, T.R., ADAMS, T.E. (1997):** Negative feedback potency of oestradiol is increased in orchidectomized sheep during chronic nutrient restriction. *Biol. Reprod.* 57, pp.: 408-414.
17. **BERGMAN, E.N. (1990):** Disorders of carbohydrate and fat metabolism. In: Swenson, M.J.: (ed.): *Duke's physiology of domestic animals.* Cornell University Press, Ithaca, N.Y., London, pp. 412-423
18. **BINDON, B.M. (1984):** Reproductive biology of the Booroola Merino sheep. *Australian Journal of Biological Sciences.* 37.(3):163-189.
19. **BISTER, J., NOEL, L., PERRAD, B.,MANDIKI, S.N.M., MBAYAHAGA, J., PAGUAY, R.(1999):** Control of ovarian follicles activity in the ewe *Dom.Anim.Endocrinology* 17 pp.: 315-328
20. **BOCQUIER, F., BONNET, M., FAULCONNIER, Y., GUERRE-MILLO, M., MARTIN, P., CHILLARD, Y. (1998):** Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reprod. Nutr. Dev.,* 38 pp.: 489-498.
21. **BOKORI J. (2000):** A leptin szerepe az élettani folyamatok szabályozásában és a takarmányozásban. *Irodalmi áttekintés M.Á.L.* 7. pp.:436-441
22. **BOLAND, M.P, LONERGAN, P., D.O'CALLAGHAN (2001):** Effects of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* Vol.55 No.6 pp:1323-1340
23. **BONETT, M., GOURDOU, I., LEROUX,C., CHILLIARD, Y., DJIANA, J. (2002):** Leptin expression in the ovine mammary gland: putative sequential

- involvement of adipose, epithelial and myoepithelial cells during pregnancy and lactation. *J. Anim. Sci.* 80.pp.:723-728
24. **BRITT, J.H. (1991):** Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. *Bovine Pract. Proc.*, 24. 29-43.
 25. **BROEK, A.H.M. VAN DEN, O'FARRELL, V (1994):** Suppression of adrenocortical function in dogs receiving therapeutic doses of megestrol acetate. *Journal of Small Animal Practice.*, 35. pp.:285-288.
 26. **BRUSS, M.L. (1997):** Lipids and ketones. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M. L. (eds.): *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, 83-115. 5-74.
 27. **CAMPBELL, BK. (1999):** The modulation of gonadotropic hormone action on the ovary by paracrine and autocrine factors. *Reprod.Dom.Anim.* 34 pp.:148-153
 28. **CAPRIO, M., FABBRINI, E., ISIDORI, AM., AVERSA, A., FABBRI, A. (2001):** Leptin in reproduction. *Trends in Endocrinol Metab.* 21. Pp:65-72
 29. **CHILLARD, Y., BOCQUIER, F., DELAVAUD, C., GUERRE-MILLO, M., BONNET, M., MARTIN, P., FAULCONNIER, Y., FERLAY, A. (1998):** Leptin in ruminants: effects of species, breed, adiposity, photoperiod, beta-agonists and nutritional status. *Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers* (20-22 Oct., 1998, Rochester Marriott Thruway Hotel, Rochester, NY), The Cornell University, pp. 65-74.
 30. **CHILLIARD, Y., BOCQUIER, F., DOREAU, M. (1998):** Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, 38. 131-152.
 31. **CHILLIARD, Y., BONNET, M., DELAVAUD, C., FAULCONNIER, Y., LEROUX, C., DJIANE, BOCQUIER, F. (2001):** Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Dom. Anim. Endocr.* 21.pp.: 271-295
 32. **CIOFFI, JA., VAN BLERKOM, J., ANTCZAK, M., SHAFER, A., WITTMER, S., SNODGRASS, HR. (1997) :** The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod*; 3 pp.: 467-472
 33. **CSEH, S.-BILTON, R.J-BÉNYEI, B (1986):** Donor anyajuhok termékenyítése laparoszkóppal szuperovulációs kezelés után. *MÁL.* 41. (1) pp.:55-57

34. **DAVIS, G.H. – MONTGOMERY, G.W. – ALLISON, A.J. – KELLY, R.W. AND BRAY, A.R.(1982):** Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. New Zealand Journal of Agricultural Research.25 pp.:525-529.
35. **DEHNHARD, M., CLAUS, R.(1996):** Attempts to purify and characterize the estrus-signalling pheromone from urine Theriogenology Vol.46.No.1 pp.:13-32 Dept.of Anim.Husbandry Univ.of Sydney
36. **DELAUVAUD, C., FERLAY, A, FAULCONNIER, Y. BOCQUIER,F., KANN, G., CHILLIARD, Y. (2002) :**Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed , adiposity, feeding level and meal intake. J.Anim. Sci. 80. pp.: 1317-1328
37. **DELAUVEUD, C., BOCQUIER, F., CHILLIARD, Y., KEISLER, DH., GERTLER, A. (2000):** Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by specific RIA in sheep. Journal of Endocrinology 165 pp.:519-526.
38. **DOWNING, J.A., SCARAMUZZI, R.J. (1991):** Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotropic and metabolic hormones in sheep J.Repod.Fert.Suppl.43. pp.: 209-227
39. **DOWNING, J.A., SCARAMUZZI, R.J. (1997):** The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrus cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. Theriogenology Vol.47.No3 pp.:747-759
40. **DRIANCOURT M.A. (2001):** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. Theriogenology Vol.55 No.6 pp:1211-1239
41. **EHRHARDT, R.A., SLEPETIS, R.M., BELL, A.W., BOISCLAIR, Y.R. (2001):** Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep. Dom. Anim. Endocr., 21. pp.: 85-96.
42. **EVANS, A.C.O., DUFFY, P., HYNES, N., BOLAND, M.P. (2000):** Waves of follicle development during the estrus cycle in sheep. Theriogenology Vol.53 No.3 pp.:699-715
43. **FAHMY M.H. (1996):** Prolific sheep. CAB International ISBN:0851989837
44. **FÉSÜS L. (1997):** Markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban. Állatteny. és Tak. Vol.46. No.4 pp:289-296

45. **FÉSÜS L. (1999):** Molekuláris genetikai markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban 5.közlemény: A booroola gén (FecB) Állatteny.és Tak.Vol.48.No.3 pp.291-300
46. **FINN, P.D., CUNNINGHANT, M. J., PAU, K-Y.F., SPIES, H.G., CLIFTON, D.K., STEINER, R.A. (1998):** The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology* 139. 4652-4662.
47. **FLIER, JS. (1997):** Leptin expression and action: new experimental paradigms. *Proc. Nat.Acad. Sci. USA* 94. Pp: 4242-4245
48. **FRIEDMAN, J.M, HALAAS, J.L. (1998):** Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763-770
49. **GAÁL, T., REID, I.M., COLLINS, R.A., ROBERTS, C.J., PIKE, B.V. (1983):** A comparison of biochemical and histological methods of estimating fat content of liver in the dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 34. pp.: 245-248.
50. **GERGÁTZ E. (2000):** A mesterséges termékenyítés gyors és hatásos módszer. *Magyar Juhászat* 9.évfolyam 2000/9
51. **GIBBSON, J.R, KOT, K., THOMAS, D.L., WILTBANK, M.C., GINTHER, O.J. (1999):** Follicular and FSH dynamics in ewes with history of high and low ovulation rate. *Theriogenology* Vol.52 No. 6 pp.:1005-1020
52. **GORDON, IAN (1999):** Controlled reproduction in sheep and goat. CAB Internatinal, Ireland, ISBN: 0851991157
53. **GWAZDAUSKAS, F.C., KENDRICK, K.W., PRYOR, A.W., BAILEY, T.L. (2000):** Impact of follicular aspiration on folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. *J. Dairy Sci.*, 83. pp.: 1625-1634.
54. **HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. (2000):** Reproduction in Farm Animals. Lippincott Williams and Wilkins. 7th Edition, ISBN: 0-683-30577-8
55. **HEISTERMANN, M., TARI, S., HODGES, J. K. (1993):** Measurement of faecal steroids for monitoring ovarian function in New World primates, Callitrichidae. *Journal of Reproduction and Fertility* 99 pp.:243-251.
56. **HENRY, B.A., GODING, J.W., TILBROOK, A.J., DUNSHEA, F.R., CLARKE, I.J. (2001):** Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinizing hormone without affecting food intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight. *J. Endocrinol.* 168, pp.:67-77.

57. **HENZE, P., BICKHARDT, K., FUHRMANN, H., SALLMANN, H.P. (1998):** Spontaneous pregnancy toxaemia (ketosis) in sheep and the role of insulin. J. Vet. Med. A, 45.pp.: 255-266.
58. **HIGGINS, R.J., ANDERSON, W.S. (1983):** Fat cow syndrome in a British dairy herd. Vet. Rec. 113. pp.: 461-463.
59. **HODGES, J. K. (1998):** Endocrinology of ovarian cycle and pregnancy in the Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) elephant. Animal Reproduction Science 53 pp.: 3-18.
60. **HOUSEKNECHT, K.L., BAILE, C.A., MATTERI, R.L., SPURLOCK, M.E. (1998):** The biology of leptin: a review. J. Anim. Sci., 76 pp.: 1405-1420.
61. **HUMBOLT P. (2000):** The frequency and Variation of Embryonic Mortality and the Use of Pregnancy Specific Proteins to Monitor Pregnancy Failure in Ruminants. Repr.Dom.Anim. Suppl.6 3rd Conference of ESDAR
62. **HÚSVÉTH, F.(2000):** A háziállatok élettana és anatómiája Mezőgazda Kiadó, ISBN:963-9239-29-1
63. **HUSZENICZA, GY., KULCSÁR, M., THÚRÓCZY, J., JÁNOSI, SZ., KÓRÓDI, P., NAGY, P., FEKETE, S., BALOGH, L. (1997):** A mellékvesekéreg működésének néhány diagnosztikai és kórtani vonatkozása szarvasmarhán. Irod. áttekintés. MÁL 119 (52). Pp.:143-147.
64. **HUSZENICZA GYULA (2003):** Adatok a petefészek-működés ellés utáni időszakban előforduló egyes zavarainak a kórtanához és klinikumához kérődzőkben és lóban. MTA doktori értekezés, SZIE ÁOT Kar, Budapest
65. **INGVARTSEN,K.L., BOISCLAIR, Y.R. (2001):** Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. Dom. Anim. Endocr. 21. pp.: 215-250
66. **JÁVOR, A., FÉSÜS, L.(2000):** Tenyésztési és fajtahasználati útmutató. Lícium Art kiadó, ISBN: 963 8030 29 1
67. **JÁVOR A., KUKOVICS S., ÁRNYASI M. (2002):** Gondolatok a juhtenyésztés genetikai fejlesztéséhez. Innováció, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agráriumban. Tudományos konferencia, Debrecen. Konferenciakiadvány pp.55-60
68. **KADOKAWA, H., BLACHE, D., YAMADA, Y., MARTIN, G.B. (2000):** Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and

- after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod. Fertil. Dev.*, 12. pp.:405-411.
69. **KAPLAN, L. A., PESCE, A. J. (1984):** Clinical chemistry. The C. V. Mosby Company, St. Louis. pp.795-801.
 70. **KAREN, L., HOUSEKNECHT, CLIFTON, A., BAILE, ROBERT L. MATTERI, MICHAEL E. SPURLOCK (1998):** The biology of leptin: A Review. *J.Anim.Sci.* 76. pp.:1405-1420
 71. **KEISLER,D.H, DANIEL, J.A., MORRISON,S.D. (1999):** The role of leptin in nutritional status and reproductive function. *J.Repr.Fertil.Suppl.* 54. pp.:425-435
 72. **KENNEDY, G.C.(1953):**The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proceeding of the Royal Society (B)* 140 pp:578-592
 73. **KILLEN, I.D., MOORE, D.W. (1970):** Fertilization and survival of fertilized eggs in the ewe following surgical insemination at various times after the onset of oestrus. *Aust. J. Biol. Sci.* 23. pp.:1279-1287
 74. **KRUIP, T.A.M., WENSING, T., VOS, P.L.A.M. (1999):** Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. In: Diskin, M.G. (ed.): *Fertility in high producing dairy cow.* British Society of Animal Science, Occasional Publication No 26, pp.:63-79.
 75. **KULCSÁR, M., PETHES, GY., NAGY, E. (1982):** Az ún."javuló tápláltsági állapot" (flushing) hatása a plazma progeszteron koncentrációjára a ciklus és a korai vemhesség idején juhokban. *Magy. Áo.Lapja* 37. pp.:323-326
 76. **LEE, GH., PREOENCA, R., MONTEZ, JM., CAROLL, KM., DARVISHZADEH, JG., LEE, JL., FRIEMAN, JM. (1996) :** Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. 379. Pp: 632-635
 77. **LEININGER, M.T., PORTOCARRERO, C.P., SCHINKEL, A.P., SPURLOCK, M.E., BIDWELL, C.A., NIELSEN, J.A., HOUSEKNECHT, K.L. (2000):** Physiological response to acute endotoxaemia in swine: effect of genotype on energy metabolites and leptin. *Dom. Anim. Endocr.*, 18.pp.: 71-82.
 78. **LEYHE-HORN, B., KOCH, D., GAULY, M., ANASTASSIADIS, C., ERHARDT, G. (1998):** Suitability of microsatellites BM1329 and OarAE101 as markers for introgression of FecB locus into different sheep breeds. 49th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Warsaw, Poland, August 24-27

79. **LINCOLN, G.A., LINCOLN, C.E., MCNEILLY, A.S. (1990):** Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size on rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep J. Repr. Fert. 88, pp.:253-276
80. **LINCOLN, G.A.(1998):** Photoperiod- melatonin relay in deer. Act.Vet.Hun. 46 (3) pp.: 341-357
81. **LUBBERS,L., JACKSON,L. G. (1993):** Neuroendocrine mechanisms that control seasonal changes of luteinizing hormone secretion in sheep are sexually differentiated. Biol.of Repr. 49 pp.:1369-1377
82. **LUCIDI,P., BARBONI,B., MATTIOLI M. (2001):** Ram-induced ovulation to improve artificial insemination efficiency with frozen semen in sheep. Theriogenology Vol.55.No9 pp: 1797-1805
83. **MAGYAR, K.(1994):** Laparszkópos módszerek alkalmazása juhtenyésztésben Kandidátusi értekezés
84. **MAGYAR, K.(1998):** Laparszkópos módszerek alkalmazása a szapora merinó tenyésztésben Állatteny.és Tak. Juhtenyésztési különszám Vol.47 pp.: 167-172
85. **MAGYAR, K., VERESS, L., TASI, ZS., PÉCSI, T., BABIK, S., HORVÁTH, I. (1999):** Zootechnical and genetic aspects of a prolific merino program Act. Vet. Hung. 47 pp.17-31
86. **MALPAUX, B., THIERY, JC., CHEMINEAU, P. (2000):** From the eye to the pituitary: Pathways controlling seasonal Reproduction. Reprod. Dom.Anim. Supplem.6. 3rd Conference of the ESDAR
87. **MALVEN, P. V. (1984):** Pathophysiology of the puerperium: definition of the problem. In: Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination Vol. 4 (III), 1-8.
88. **MARTENIUK, J.V., HERDT, T.H. (1988):** Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 4. 307-315.
89. **MCCANN, J.P., ALTSZULER, N., HAMPSHIRE, J., CONCANNON, P.W. (1987):** Growth hormone, insulin, glucose, cortisol, luteinising hormone and diabetes in dogs treated with medroxyprogesterone acetate. Acta Endocrinologica., 116. pp.: 73-80.
90. **McGUIR, M.A., VICINI, J.L., BAUMAN, D.E., VEENHUIZEN, J.J., (1992):** Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation, J.Anim.Sci. 70. pp: 2901-2910

91. **MESSIER, F., DESAULNIERS, D. M., GOFF, A. K., NAULT, R., PATENAUDE, R., CRETE, M. (1990):** Caribou pregnancy diagnosis from immunoreactive progestins and estrogens excreted in feces. *J. Wildl. Manage.* 54(2) pp.: 279-283.
92. **MIDDLETON, D.J., WATSON, A.D., HOWE, C.J., CATERSON, I.D.(1987):** Suppression of cortisol responses to exogenous adrenocorticotrophic hormone and the occurrence of side effects attributable to glucocorticoid excess, in cats during therapy with megestrol acetate and prednisolone. *Canadian Journal of Veterinary Research.*, 22. pp.: 515-518.
93. **MINTON, J.E., BINDEL, D.J., DROUILLARD, J.S., TITGEMEYER, E.C., GRIEGER, D.M., HILL C.M. (1998):** Serum leptin is associated with carcass traits in finishing cattle (Abstract) *J. Anim. Sci.* 76, Suppl. 1, p: 899.
94. **MONNIAUX D., MONGET, P., BESNARD, N., HUET, C., PISSELET, C. (1997/a):** Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology* Vol.47 No.1 pp.:3-12
95. **MONNIAUX, D., HUET, C., BESNARD. N., CLEMENT, F., BOSC, M., PISSELET, C., MONGEL, P., MARIANA, J.C. (1997/b):** Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 51., pp.: 3-23.
96. **MONTGOMERY, G.W., CRAWFORD, A.M., PENTY, J.M., DODDS, K.G., EDE, A.J., HENRY, H.M., PIERSON, C.A., LORD, E.A., GALLOWAY, S.M., SCHMACK, A.E., SISE, J.A., SWARBRICK, P.A., HANRAHAN, V., BUCHANAN, F.C., HILL, D.F. (1993):** The ovine Booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Natural Genetics.* 4 pp.: 410-414.
97. **MONTGOMERY, G.W. - LORD, E.A. – PENTY, J.M. – DODDS, K.G. – BROAD, T.E. – CAMBRIDGE, L. – SUNDEN, S.L.F. – STONE, R.T. AND CRAWFORD, A.M. (1994):** The Booroola fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6. *Genomics.* 22:149-153.
98. **MORROW, C. J., MONFORT, S. L.(1998):** Ovarian activity in the scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*) determined by faecal steroid analysis. *Animal Reproduction Science* 53:191-207.
99. **MOSS, G.E., PARFET, J.R., MARVIN, C. A., ALLRICH, R.D., DIEKMAN M.A. (1989):** Pituitary concentration of gonadotropin and receptors

- for GnRH in suckled beef cows at various intervals after calving. *J. Anim. Sci.* 60. pp.: 285-291
100. **MOULSANT, P., SCHIBLER, L., LECERF, F., RIQUET, J., CHITOUR, N., EGGEN, A., CRIBIU, E., LANNELUC, I., ELSESEN, J.M. (1998):** Regional mapping of the FecB (Booroola) region of sheep chromosome 6. *Animal Genetics*, 29.(1) pp.: 32-47.
 101. **MOULSANT, P., LECERF, F., FABRE, S., SCHILBER, L., MONGET, P., LANNELUC, I., PISSELET, C., RIQUET, J., MONNIAUX, D., CALLEBAUT, I., CRIBIU, E., THIMONIER, J., TEYSSIER, J., BODIN, L., COGNIE, Y., CHITOUR, N., ELSESEN, J.M. (2001):** Mutation in bone morphogenic protein receptor-IB is associated with increase ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98.9 pp.:5104-5109.
 102. **MUCSI IMRE (1997):** Juhtenyésztés és tartás. Mezőgazdasági kiadó, Budapest.
 103. **NAGATANI, S., GUTHIKONDA, P., THOMSON, R.C., MAEDA, K.I., FOSTER, D.L. (1998):** Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology*, 67. pp.:370-376.
 104. **NAGATANI, S., ZENG, Y.H., KEISLER, D.H., FOSTER, D.L., JAFFE, C.A. (2000):** Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. *Endocrinology* 141, pp.: 3965-3975.
 105. **NAGY I.-KOMLÓSI I. (1998):** A két bérányozás közötti időt befolyásoló tényezők vizsgálata magyar merinó állományokban. *Állatteny. és Tak.* Vol.47. pp.:195-205
 106. **NELIS, P.C.(1997):** Compendium of animal reproduction. Intervet International B.V. ISBN: 90-801886-5-4
 107. **NELSON, L.W., KELLY, W.A.(1976):** Progestogen-related gross and microscopic changes in female beagles. *Vet. Pathology.* 13. pp.: 143-156.
 108. **O'CALLAGHAN D. (1999):** A practical approach to the management of reproductive seasonality in sheep. *Reprod. Dom. Anim.* 34. pp.:286-291
 109. **OLDHAM, C.M., LINDSAY, D.R. (1984):** The minimum period of intake of lupin grain required by ewes to increase their ovulation rate when grazing dry summer pasture. *Repr. In Sheep* pp. 274-275 Eds D.R. Lindsay and D.T. Pearee Aust.Ac. of Sci.Canberra

110. **PALME, R., FISCHER, P., SCHILDORFER, H., ISMAIL M. N. (1996):** Excretion of infused ¹⁴C-steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock. *Animal Reproduction Science* 43 pp.: 43-63.
111. **PERÉNYI J. (SZERK.)(2002):** Állatgyógyászati készítmények. 2. átdolgozott kiadás. Prim-A-Vet Kft., Budapest
112. **PIPER, L.R. AND BINDON, B.M.(1982):** The Booroola Merino and the performance of medium non-Peppin crosses at Armidale.in the Booroola Merino, pp 9-20.Eds. LR Piper, BM Bindon, RD Nethery. Melbourne. Ed. Chiro.
113. **RAJAKOSKI E.(1960):** The ovarian follicular system in sexually mature hifers with special reference to seasonally, cyclical and left-right variations. *Acta Endocr.* 52(Suppl.) pp.: 1-68
114. **RIJNBEEK, A., MOL, J.A.(1997):** Progestin-induced hypersecretion of growth hormone: an introductory review. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement.*, 51. pp.: 335-338.
115. **ROBERTS, A.J., NUGENT, R.A., KLINDT, J., JENKINS, T.G. (1997):** Circulating insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.*, 75. pp.: 1909-1917.
116. **ROBINSON J.J.(1990):** Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Research Reviews* 3 pp.:253-276
117. **RONGE, H. AND BLUM, J. W. (1989):** Insulin-like growth factor-I responses to growth hormone in dry and lactating dairy cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 62. pp.: 280-288.
118. **RONGE, H., BLUM, J., CLEMENT, C., JANS, F., LEUENBERGER, H., BINDER, H. (1988):** Somatomedin C in dairy cows related to energy and protein supply and to milk production. *Anim. Prod.*, 47. pp.: 165-183.
119. **ROOK, J.P. (2000):** Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 16. pp.: 293-317.
120. **RUKKWAMSUK, T., KRUIP, T.A.M., WENSING, T. (1999):** Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet. Quart.*, 1999. 21. pp.: 71-77.

121. **RUTTER, L.M., RANDEL, R.D. (1984):** Postpartum nutrient intake and body condition: effect on pituitary function and onset oestrus in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 58, pp.: 265-274.
122. **SALAMON S. (1976):** Artificial Insemination of sheep. Publicity Press, Chippendale, N.S.W. 2006.
123. **SALAMON S., MAXWELL W.M.C (2000):** Storage of Semen of Domestic Animals. *Anim. Repr. Sci., Special Issue Vol 62. August Nos.1-3*
124. **SCARAMUZZI R.J., ADAMS N.R., BAIRDD., T,CAMPBELL. B.K., DOWNING J.A., FINDLAY J.K., HENDERSON K.M., MARTIN G.B., MCNATTY K.P., MCNEILLY A.S., TSONIS C.G.(1993):** A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod.Fertil.Dev.5* pp.:459-478
125. **SCHILLO, K.K. (1992):** Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70, pp.: 1271-1282.
126. **SCHWARZENBERGER, F., FRANCKE, R., GÖLTENBOTH, R.(1993):** Concentrations of faecal immunoreactive progestagen metabolites during the oestus cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*). *Journal of Reproduction and Fertility* 98 pp.: 285-291.
127. **SCHWARZENBERGER F., TOMASOVA, K., HOLECKOVA, D., MATERN, B., MÖSTL, E.(1996,a):** Measurement of fecal steroids in the Black rhinoceros (*Diceros bicornis*) using group-specific enzyme immunoassays for 20-oxo-pregnanes. *Zoo Biology* 15 pp.: 159-171.
128. **SCHWARZENBERGER, F., MÖSTL, E., PALME, R., BAMBERG, E.(1996,b):** Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science* 42 pp.: 515-526.
129. **SCHWARZENBERGER, F., PALME, R., BAMBERG, E., MÖSTL, E.(1996,c):** A review of faecal progesterone of reproductive function in mammals. *Symposium on Physiologie and Ethology of Wild and Zoo Animals Proceedings. Suppl. II, pp. 214-221. Berlin*
130. **SELMAN, P.J., MOL, J.A., RUTTEMAN, G.R., GARDEREN, E. VAN, INGH, T.S.G.A.M. VAN DEN, RIJNBERK, A.(1997):** Effects of progestin administration on the hypophalamic-pituitary-adrenocortical axis and glucose

homeostasis in dogs. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement.*, 51. pp.: 345-354.

131. **SELMAN, P.J., MOL, J.A., RUTTEMAN, G.R., RIJNBERK, A.(1994):**
Progestin treatment in the dog II. Effects on the hypohalamic-pituitary-adrenocortical axis. *European Journal of Endocrinology.*, 131. pp.: 422-430.
132. **SMITH G.D., JACKSON, L.M., FOSTER D.L.(2002):** Leptin regulation of reproductive function and fertility *Theriogenology* Vol 57 No.1 pp:73-86
133. **SMITH, T.R., HIPPEN, A.R., BEITZ, D.C., YOUNG, J.W. (1997):**
Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *J. dairy Sci.*, 80. pp.: 1569-1581.
134. **SOLTI L. (1984):**A progeszteron immun-analízis a szarvasmarha szaporodásbiológiájában, különös tekintettel az enzimimmun rendszerre. Kandidátusi értekezés. Állatorvostudományi Egyetem, Budapest
135. **SOUZA, C.H.J. – MACDOUGALL, C. – CAMPBELL, B.K. – MCNEILLY, A.S. AND BAIRD, D.T. (2001):** The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *Journal of Endocrinology.* 169. R1-R6.
136. **SPICER, L.J. (2001):** Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Dom. Anim. Endocr.*, 21. pp.: 251-270.
137. **SPICER, L.J., ENRIGHT, W.J., MURPHY, M.G., ROCHE, J.F. (1991):**
Effects of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor-1 in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. *Dom. Anim. Endocr.*, 8. pp.: 431-437.
138. **SPICER, L.J., STEWART, R.E. (1996):** Interactions among basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin, and insulin-like growth factor-I (IGF-I) on cell numbers and steroidogenesis of bovine thecal cells: role of IGF-I receptors. *Biol. Reprod.*, 54. pp.: 255-263.
139. **STAPLES, C.R., BURKE, J.M., THATCHER, W.W. (1998):** Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 81. pp.: 856-871.
140. **STICK, D.A., DAVIS, M.E., LOERCH, S.C., SIMMEN, R.C.M. (1998):**
Relationship between blood serum insulin-like growth factor I concentration and postweaning feed efficiency of crossbred cattle at three levels of dietary intake. *J. Anim. Sci.*, 76. pp.: 498-505.

141. **TARTAGLIA, LA., DEMBSKI, M., WENG, X., DENG, N., CULPEPPER, J., DEVOS, R., RICHARDS, GJ., CAMPFIELD, LA., CLARK, FT., DEEDS, J. (1995):** Identification an expression cloning of a leptin receptor OB-R. Cell 83. Pp:1263-1271
142. **THATCHER, WW., MATTOS, R., MOREIRA ,F., BINELLI, M., AMBROSE, JD. (2000):** Experimental Manipulation of Follicular Growth. Repr.in Dom. Anim., Suppl.6. 3rd Conference of ESDAR
143. **THRIFT, T.A., BERNAL, A., LEWIS, A.W., NEUENDORFF, D.A., WILLARD, C.C., RANDEL, R.D. (1999,a):** Effects of induced hypothyroidism on weight gains, lactation, and reproductive performance of primiparous Brahman cows. J. Anim. Sci., 77, pp.: 1844-1850.
144. **THRIFT, T.A., BERNAL, A., LEWIS, A.W., NEUENDORFF, D.A., WILLARD, C.C., RANDEL, R.D. (1999,b):** Effects of induced hypothyroidism or hyperthyroidism on growth and reproductive performance of Brahman heifers. J. Anim. Sci., 77, pp.: 1833-1843.
145. **VAN SUM, R. (2000):** Pregnancy toxemia in a flock of sheep. J. Am. Vet. Med. Ass., 217. pp.: 1536-1539.
146. **VERESS LÁSZLÓ (1991):** A juhtenyésztés fejlesztésének gentikai és teartástechnológiai kérdései. Doktori értekezés. Agrártudományi Egyetem. Debrecen
147. **VERESS, L., MAGYAR, K., KOMLÓSI, I., HORVÁTH, I., KOVÁCS, ZS.(1995):**Egy juh-tenyésztési program és eddigi eredményei. Állatteny.és Tak. Vol.44 No.4 pp.:301-305
148. **VERESS L., MAGYAR K., KOMLÓSI I., JÁVOR A.(1998):** Egy juhtenyésztési program és eddigi eredményei. Debreceni Szemle, Vol.:4 pp:565-581
149. **WALTERS, A.H., PRYOR, A.W., BAILEY, T.L., PEARSON, R.E., GWAZDAUSKAS, F.C. (2002):** Milk yield, energy balance, hormone, follicular and oocyte measure in early and mid-lactation Holstein cows. Theriogenology, 57. pp.: 949-961.
150. **WATSON, A.D.J., CHURCH, D.B., EMSLIE, D.R., MIDDLETON, D.J.(1989):** Comparative effects of proligestone and megestrol acetate on basal plasma glucose concentrations and cortisol responses to exogenous adrenocorticotrophic hormone in cats. Research in Vet. Science.,47. pp.: 374-376.

151. **WATSON, A.J., M.E. WESTHUSIN, Q.A., WINGER (1999):** IGF paracrine and autocrine interactions between conceptus and oviduct. *J.Repr.Fert.*54 pp:303-315
152. **WAUTERS M, CONSIDINE RV, VAN GAAL LF. (2000):** Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur.J.Endocrinol.* 143. pp:293-331
153. **WENSING, T., KRUIP, T., GEELEN, M.J.H., WENTINK, G.H., VAN DEN TOP, A.M. (1997):** Postpartum fatty liver in high-producing dairy cows in practice and in animal studies. The connection with health, production and reproduction problems. *Comp. Haemat. Internat.*, 7. pp.: 167-171.
154. **WHISNANT, C.S., KISER, T.E., THOMPSON, F.N. AND HALL, J.B. (1985):** Effect of nutrition on the LH response to calf removal and GnRH. *Theriogenology.* 24, pp.: 565-573.
155. **WILSON, T., WU, X.Y., JUENGEL, J.L., ROSS, I.K., LUMSDEN, J.M., LORD, E.A., DODDS, K.G., WALLING, G.A., MCEWAN, J.C., O'CPNELL, A.R., MCNEILLY, K.P. , MONTGOMERY, G.M. (2001):** Highly Prolific Booroola Sheep Have a Mutation in the Intracellular Kinase Domain of Bone Morphogenetic Protein IB Receptor (ALK-6) That in Both Oocyte and Granulosa Cells. *Biology of Reproduction.* 64 pp.: 1225-1235
156. **WILTBANK, M.C., GÜMEN, A., SARTORI, R. (2002):** Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57. pp.:21-52.
157. **YUNG, M.C., VAN DE HAAR, M.J., FOGWELL, R.L., SHARMA, B.K. (1996):** Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor 1 in serum and on weight and progesterone of corpus luteum in heifers.*J.Anim Ssci.* 74.pp.: 2239-2244
158. **ZAPF,J., SCHOENLE, E., FROESCH, E (1987):** Insulin-like growth factors I and II:some biological actions and recetpro binding characristict of two purified constituent of non suppressible insulin-like activity of human serum. *Eur.J.Biochem* 87 p.:285
159. **ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLE, L., FRIEDMAN, J. (1994):** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, pp.:425-435.
160. **ZÖLDÁG, L. (1994):** Kuttyaszülészet és szaporodásbiológia. *Prim-A-Vet Kft.*,

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőimnek, **Dr. Magyar Károly** Egyetemi Docens Úrnak (DE ATC, Mg.Tud.Kar) és **Dr. Huszenicza Gyula** Professzor Úrnak (SZIE Állatovostud.Kar) a kísérletek megtervezéséhez és kivitelezéséhez és dolgozatom elkészítéséhez nyújtott szellemi, gyakorlati és anyagi segítségükért, áldozatos munkájukért.

Köszönöm a DE ATC szapora merinó juh tenyésztelep vezetőjének, **Újlaki Zoltánnak** és a telep dolgozóinak a kísérleti munkámhoz való segítőkész hozzáállást és a kísérletek elvégzésekor kifejtett fizikai munkájukat.

Köszönöm az SZIE Endokrinológiai labor vezetőjének, **Dr. Kulcsár Margitnak** és a labor munkatársainak segítségét.

Köszönöm az OMT RT Pallagi állomása igazgatójának, **Dr. Pécsi Tamásnak** és az állomás dolgozóinak, az AWASSI Rt igazgatójának, **Dr. Kovács Péternek** és az Rt dolgozóinak és a Mosonmagyaróvári Biotechnológiai Állomás munkatársainak, valamint **Dr. Gergátz Elemérnek** gyakorlati szakmai segítségét.

Köszönöm, **Dr. Jávor András** Tanár Úrnak a hazai és külföldi tanulmányutak, konferenciák szervezését (és időnkénti anyagi támogatását), mellyel már a tanulmányaim elején lehetőségem nyílt a "juhos szakmai körök" megismerésére, s köszönöm munkám folyamatos figyelemmel kísérést, támogatását is.

Köszönöm a három éves PhD tanulmányaim alatt tanárain (köztük **Dr. Bodó Imre**, **Dr. Solti László**, **Dr. Fésüs László**, **Dr. Gundel János**,) munkáját.

Köszönöm a dolgozatom opponálását **Dr. Cseh Sándornak** és **Dr. Komlósi Istvánnak**.

Külön köszönetemet fejezem ki, **Dr. Veress László** Professzor Úrnak a PhD tanulmányaim elkezdéséhez való biztatásért és folyamatosan tartó szakmai segítségéért.

Végül, de első sorban köszönöm férjem, **Novotni István** és egész **családom** feltétlen támogatását.