

A tejelő szarvasmarhák szaporodási teljesítményét befolyásoló nem szabályszerű lutein képletek kialakulásának etiológiája és pathogenezeise
OTKA 73805 számú pályázat záró beszámolója

Összefoglaló

Tejelő tehenekben végzett rektális ultrahang-vizsgálatok során gyakran detektálhatók **vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú** (a vékony fallal rendelkező tüszőkkel ellentétben) **petefészek képletek (VFPK)**, amelyek negatívan befolyásolják az állatok szaporaságát. A képletek megjelenése, ill. reagálása a kezelésekre a szakirodalmi információkkal nem mindig egyezett, kialakulásukra valamint kezelésükre vonatkozóan is kevés adat található. Célul tűztük ki a VFPK-k előfordulási gyakoriságának és fertilitásra gyakorolt hatásának felmérését, valamint kialakulásuk hátterét, szövettani és endokrinológiai jellegzetességeik leírását, és a jelenleg használt nomenklatúra értékelését.

Eredményeink alapján a VFPK-k két nagy csoportra oszthatók: anovulációs és ovulációs képletekre. Ezek differenciál diagnosztikai elkülönítésére ajánlásokat tettünk. Az anovulációs képletek (anovulációs tüsző, follikulus ciszta, luteinizált ciszta) jelentős mennyiségű ösztradiolt termelnek, ami ivarzáshoz hasonló tüneteket okoz. Az ovulációs képletek (üreges és cisztás sárgatest) közül az üreges sárgatestek képesek a vemhesség fenntartására is, de esetükben nagyobb a magzatvesztés gyakorisága, mint üreg nélküli sárgatest esetén. A VFPK-k jelentős része reagál a PGF_{2α} kezelésre, ami a szövettani eredményekkel összhangban lutein-sejtek jelenlétét bizonyítja. Kialakulásuk hátterében méh nyálkahártya gyulladásos elváltozása ill. a nem elégséges energia-bevitel miatti zsír-mobilizáció egyaránt állhatnak

Summary

Fluid-filled ovarian phenomena with thick wall (FOPT) are frequently detected in dairy cows affecting negatively fertility. Appearance and reaction for treatment of these phenomena sometimes is different from literature data and just limited information are available for their development and treatment.

Our aims were a) surveying frequency of FOPTs in dairy herds, b) studying their effect for fertility, c) description of histological and endocrine characteristics, d) comparative evaluation of the actual nomenclature with the outputs of current study.

Based on our findings FOPTs are divided in two major groups: anovulatory and ovulatory structures. For differential diagnosis of these phenomena commendation had been prepared. Anovulatory phenomena (anovulatory follicle, follicular and luteal cysts) produce large amount of estradiol causing heat-like behavior. Ovulatory structures (CL with cavity and cystic CL) are able for maintaining pregnancy but late embryonic loss occurs more frequently in these animals than in cows with normal CL. Most of the FOPTs respond well for PGF_{2α} treatment what verifies the presence of luteal cells discovered by the histological examinations. Inflammation of endometrial surface and body fat mobilization (due to the insufficient energy intake) are common reasons of FOPT's development.

Tejelő tehenekben végzett rektális ultrahang-vizsgálatok során a vizsgáló sok esetben találkozik cisztás petefészek képletekkel. Ezek direkt vagy indirekt módon többnyire köthetők a nemi apparátus gyulladásos, vagy a szervezet metabolikus megbetegedéseire. Korábbi vizsgálatok alapján a képletek megjelenési gyakorisága szezonális változást is mutatott. A hagyományos nevezéktan a petefészek a cisztákat follikulus-theca és follikulus-lutein cisztákra osztja. Ezek között a különbség, hogy a follikulus-theca cisztáknak vékonyabb a fala, ezért rektális vizsgálat során könnyen felrepednek, faluk nem luteinizált, míg a

follikulus-lutein ciszták vastagabb falúak, és faluk luteinizált. A vonatkozó szakirodalom azonban nem egységes, és a fenti meghatározásokon kívüli definíciók és elnevezések száma jelentős. A könnyebb áttekinthetőség miatt ezeket az alábbi (1.) táblázatban foglaltuk össze.

	Follikulus ciszta (cisztás tüsző)	Cisztás Graaf tüsző	Luteinizált tüsző	Luteális ciszta (Luteinizált ciszta)	Cisztás sárgatest	Vakuolizált sárgatest
Zemjanis (1970)	-	ugyanaz mint a cisztás tüsző vagy tüszőciszta, kb. 2.5 cm átmérő		kisebb a tüszőcisztánál, vastagabb a fala, hullámváz kevésbé érezhető, luteinizált fal	a normál sárgatestre hasonlít, a folyadék érezhető benne tapintással	-
McEntee (1990)	>2.5 cm átmérő, részleges luteinizáció (theca) lehet	-	nagy méret, nincs ovuláció, teljes fal luteinizálódott	-	ovuláció után alakul ki, kötőszövet van a lutein sejtek és az üreg között	-
Thomson (2001)	vékonyfalú, részleges luteinizáció (theca) lehet	>2.5 cm átmérő, ovuláció nélkül alakul ki	-	ovuláció nélkül alakul ki, kötőszövet az üreg körül, alatta luteinizált sejtréteg	ovuláció után alakul ki	-
Brito (2004)	>2-2.5 cm átmérő, <3mm falvastagság, <1 ng/ml P4, ovuláció nélkül alakul ki	-	-	>2-2.5 cm átmérő, >3mm falvastagság, >1 ng/ml P4, ovuláció nélkül alakul ki	-	-
Noakes (2009)	>2.5 cm átmérő, <3mm falvastagság, perzisztál, ovuláció nélkül alakul ki	-	<2.5 cm átmérő, nincs ovuláció, a vakuolizált sárgatesthez képest nagyobb üreg	>2.5 cm átmérő, >3mm falvastagság, perzisztál, ovuláció nélkül alakul ki	-	normál képlet, sárgatest méretű de puhább tapintatú, ovuláció után alakul ki

1. táblázat: A különböző petefészek-képletek megnevezései és definíciói.

A gyakorlatban diagnosztizált képletek közül a vastagabb fallal rendelkezőket a klinikai tünetetek ill. ultrahangos manifesztációjuk alapján részben luteális képletként lehetett azonosítani. A diagnosztizált képletek ill. a szakirodalmi kategorizálás sokszor nem egyezett, és a képletek kialakulására valamint kezelésére vonatkozóan is limitált információk találhatóak, ezért célul tűztük ki

a, a különböző **vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú** (értelemszerűen a vékony fallal rendelkező tüszőket kivéve) **petefészek képletek** (összefoglaló néven **VFPK**) előfordulási gyakoriságának felmérését

b, a VFPK és a szaporodásbiológiai jellemzők közötti összefüggések feltárását

c, a VFPK kialakulását befolyásoló metabolikus tényezők vizsgálatát

d, a képletek szövettani jellegzetességeinek leírását

e, a jelenleg használt nomenklatúra értékelését a vizsgálati eredmények tükrében.

A vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek (VFPK) előfordulási gyakorisága, megoszlása és hatásai a normál ciklusra ill. a vemhességre, összefüggései a takarmányozással valamint kezelésének lehetőségei

(Üzemi szintű felmérés tehén állomány aktuális szaporodásbiológiai állapotáról ill. a VFPK előfordulásáról /hormonálisan nem befolyásolt ciklus ill. Provsynch protokollt követően/ és összefüggéséről a takarmányozással. A $PGF_{2\alpha}$ injekció, mint kezelési módszer hatékonysága a luteális VFPK-ra a gyakorlatban.)

Elvégzett vizsgálataink

A. In vivo vizsgálatok

A VFPK előfordulási gyakoriságát két tejtermelő szarvasmarha telepen vizsgáltuk 2008 folyamán. Mindkét telepen a holstein-fríz fajtájú tejelő teheneket mélyalmos kötetlen tartásban tartották, monodietikus takarmányozással. Az egy tehenre jutó évi átlagos tejtermelés 7500-8000 kg volt.

Az állatokat szaporodásbiológiai állapotuk alapján két csoportra osztottuk:

1. ellés utáni (10-40 nappal) ill.
2. termékenyítés (30-40 nappal) utáni tehenek.

Minden kísérletben szereplő állatnál heti egy alkalommal rektális ultrahang vizsgálat történt (Tringa linear váltófrekvenciás lineáris vizsgálófejjel /6-8 MHz/; Pie Medical, Maastricht, Hollandia ultrahang készülékkel), melyek során mindkét petefészek ill. a méh állapotát is feljegyeztük. A fenti táblázatból Brito és munkatársai (2004) leírását vettük alapul a petefészkeken talált képletek osztályozása során. *Follikulus cisztának* neveztük azokat a képleteket, melyek 2 cm-nél nagyobb átmérőjű üreggel rendelkeztek, és 3 mm-nél kisebb falvastagsággal rendelkeztek. *Anovulációs tüszőnek* a 2 cm-nél kisebb átmérőjű, de az ultrahangos képen jól látható fallal (kb 1-2 mm falvastagság) rendelkező képleteket neveztük. *Luteális cisztán* a 2 cm-nél nagyobb átmérőjű üregű, vastag falú (>3 mm) képleteket értettük. *Üreges sárgatestnek* azokat a képleteket neveztük, amik a normál sárgatesttől csak annyiban különböztek, hogy ultrahangos képükön centrálisan folyadékkal telt üreg volt látható (falvastagság min. 1 cm, üreg átmérője max. 1 cm). *Sárgatest cisztaként* azokat a képleteket írtuk le, amelyek mérete a sárgatestéhez hasonló volt, de a képleten belül kitágult, folyadékkal telt üreg helyezkedett el (falvastagság 0.5-1 cm, üreg átmérője nagyobb, mint 1 cm, de maximum 2 cm).

A petefészek képleteken kívül a szaporodást érdemben befolyásoló további adatok (pl. magzatburok-visszatartás, méhgyulladás, vemhesség) is rögzítésre kerültek.

Az ultrahangos képeken látható képletek méretezését követően minden egyes petefészek képlethez egy adott értéket rendeltünk, a grafikus ábrázolást így lehetővé téve, valamint ciklusgörbék készítése céljából (2. táblázat).

	A képletekhez rendelt értékek
Másodlagos tüsző (T2)	0.5-1
Harmadlagos (T3) ill. Graaf tüsző	2
Sárgatest (CL)	3
Üreges sárgatest (CLÜ)	3.5
Luteális ciszta (LC)	2.5
Sárgatest ciszta (CLC)	4.5
Follikulus ciszta (FC)	2.75
Anovulációs tüsző (AT)	2.25

2. táblázat: A petefészek képletekhez rendelt értékek

Az ellést követő időszakban 518 tehenet, a termékenyítéseket követő időszakban 462 állatot vizsgáltunk meg. Vemhesség esetén megfigyeltük a sárgatestet, illetve a fennálló vemhesség mellett előforduló üreges sárgatestek előfordulási gyakoriságát. Az üres tehenek esetében, amennyiben az állat ciklusban van, az újabb ivarzást egyszeri, intramusculárisan (i.m) adott prosztaglandin készítménnyel (Estrumate 2 ml/kezelés, 500 µg cloroprosztonol) indukáltuk. Aciklikus petefészek-működés esetén az ovuláció szinkronizálására és a ciklusos petefészek-működés megindítására a három i.m. kezeléssel álló Ovsynch eljárást (A 0. napon Fertagyl 1.5 ml/kezelés, /150 µg gonadorelin, GnRH/, a 7 napon Estrumate 2 ml/kezelés, 500 µg cloroprosztonol /PG analóg/, a 9. napon ismét Fertagyl 1.5 ml/kezelés, /150 µg gonadorelin) alkalmaztuk. A kezelés után 12-24 órával az állatokat ivarzó keresés nélkül termékenyítették.

Sárgatestek és üreges sárgatestek kezelése PGF_{2α}-val:

217 ciklusból származó sárgatestet, és 171 üreges sárgatestet kezeltünk i.m. beadott PGF_{2α}-val (2 ml Estrumate injekció, 500 µg cloroprosztonol) az ultrahang vizsgálatkor. A következő ultrahang ellenőrzés során a kezelés képletekre gyakorolt hatékonyságát ellenőrizzük (megtörtént az adott képlet komplett luteolízise vagy a képlet perzisztált), később pedig a termékenyített tehenek arányát, illetve a vemhesülési arányokat hasonlítottuk össze.

Follikulus- és luteális ciszták kezelése PGF_{2α}-val:

A kiválasztott teheneket két csoportba soroltuk:

- a.) Follikulus cisztával rendelkező egyedek: a folyadékkal telt ciszta üreg átmérője nagyobb 2 cm-nél, falvastagsága nem haladja meg a 3 mm-t.
- b.) Luteális cisztával rendelkező egyedek: folyadékkal telt ciszta üreg átmérője nagyobb 2 cm-nél, falvastagsága pedig meghaladja a 3 mm-t.

A fentiek alapján csoportosított 87 follikulus cisztás és 182 luteális cisztás tehénél egyszeri alkalommal i.m. adott PGF_{2α} (2 ml Estrumate injekció, 500 µg cloroprosztonol) kezelést alkalmaztunk.

A következő ultrahang ellenőrzéskor az alkalmazott két kezelés hatékonyságát (megtörtént az adott képlet komplett luteolízise vagy a képlet perzisztált), a későbbiekben pedig a kezeléseket utáni termékenyítések arányát, majd a vemhesülési arányokat hasonlítottuk össze.

A normál (hormonálisan nem befolyásolt) nemi ciklus nyomon követése

A vizsgálatba vont 10 tehen esetében a kiválasztás főbb szempontjai a következők voltak:

1. többször ellett, azonos laktációs stádiumú egyedek
2. utolsó ellése komplikáció és szövődménymentes
3. involúciója komplikáció és szövődménymentes
4. a vizsgálat kezdetekor általános egészségi állapota rendezett (mastitis, sántaság, metritis nem áll fenn)

A kiválasztott állatok az ellésük utáni 35. naptól kerültek vizsgálatra. Heti 1 alkalommal rektális ultrahang vizsgálat segítségével mindkét méhszarv teljes ellenőrzését, a petefészek működését, a petefészekképletek diagnosztizálását végeztük el. Az állatok megfigyelését és vizsgálatát a termékenyítéseket követő 28-35. napig folytattuk. Amennyiben a tehen a termékenyítés után visszaivarzott, a vizsgálatokat az újabb termékenyítést követő vemhességvizsgálatig követtük nyomon. Pozitív vemhességi diagnózis esetén a vemhességvizsgálatot a termékenyítés utáni 60 nap megismételtük.

Takarmányvizsgálatok

A kísérletek időtartama alatt négy alkalommal történt TMR vályúminta vizsgálata a szárazonálló, az előkészítő, a fogadó és nagytejű csoportokban. A vizsgálatok során az alábbi paraméterek kerültek felmérésre:

1. eredeti szárazanyag tartalom

2. nyersfehérje
3. nyerszsír
4. nyersrost
5. nitrogénmentes kivonható anyagok
6. karotin

A takarmányminták vizsgálatát a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Takarmányozási Tanszékének Laboratóriumában végezték.

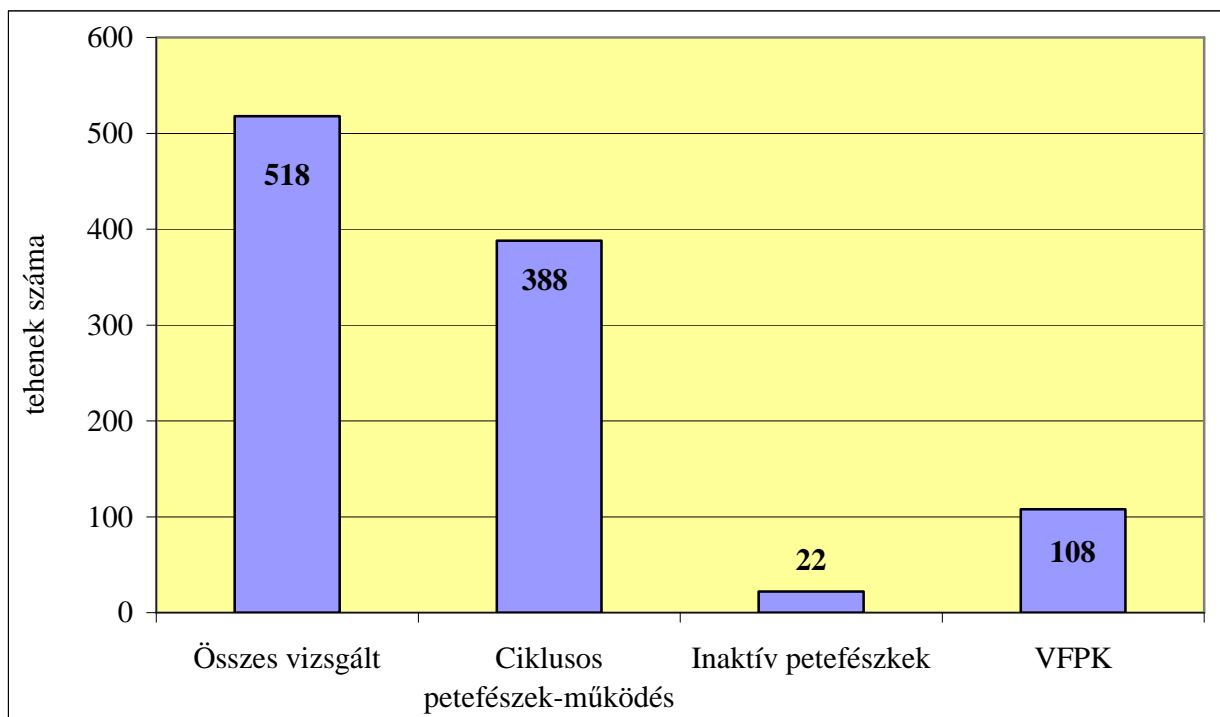
Statisztikai elemzés

Az ellést követő időszakban a méhgyulladásos elváltozással és/vagy a magzatburok visszatartással terhelt tehenek és az egészséges tehenek között megjelenő VFPK előfordulási gyakorisága közötti különbségek kimutatását Khi négyzet próbával vizsgáltuk. Szintén ezt a módszert alkalmaztuk a termékenyítésre vemhesült egyedek között előforduló VFPK száma közötti különbség, és a vizsgált időszak alatt nem termékenyített tehenek között megjelenő VFPK száma közötti különbség kimutatására.

A PGF_{2α} kezelés sárgatestekre és üreges sárgatestekre, illetve a kezelés follikulus- és luteális cisztákra gyakorolt hatékonyságát (megtörtént az adott képlet komplett luteolízise, vagy a képlet perzisztált), a termékenyített tehenek arányát, illetve a vemhesülési arányokat Khi négyzet teszt és Fisher-teszt segítségével értékeltük.

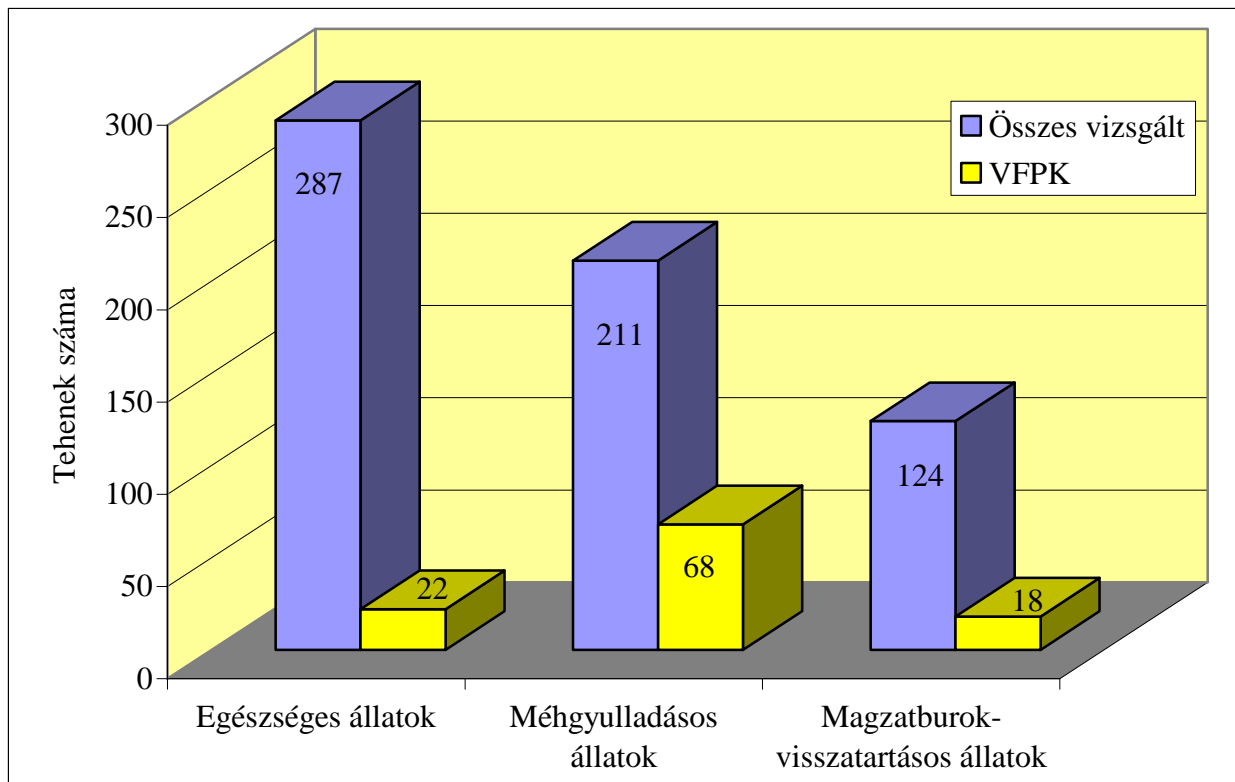
A vizsgálatok eredményei

Az ellést követő időszakban 518 tehen esetében elvégzett rektális ultrahangvizsgálatok során az állatok 23,9%-nál (n=124) magzatburok visszatartást, majd az állatok 40,7 %-nál (n=211) méhgyulladást diagnosztizáltunk. A tehenek 55,4 %-a (n=287) mentes volt bármilyen méhproblémától. Az 518 vizsgált tehen 74,9 %-nál (n=388) ciklusos petefészkek működést, 4,25 %-nál (n=22) inaktív petefészket, 20,8 %-nál (n=108) VFPK-t találtunk. Ezek típusonkénti megoszlása az 1. ábrán látható.



1. ábra: Az ultrahangos petefészkek diagnosztika eredményei az ellés utáni időszakban

A méhgyulladásos állatok között szignifikánsan ($P < 0.001$) magasabb arányban (32.2 %) fordultak elő VFPK-k, mint a magzatburok visszatartással kezelt (14.5 %) vagy az egészséges állatok (7.6 %) esetében (2.ábra).



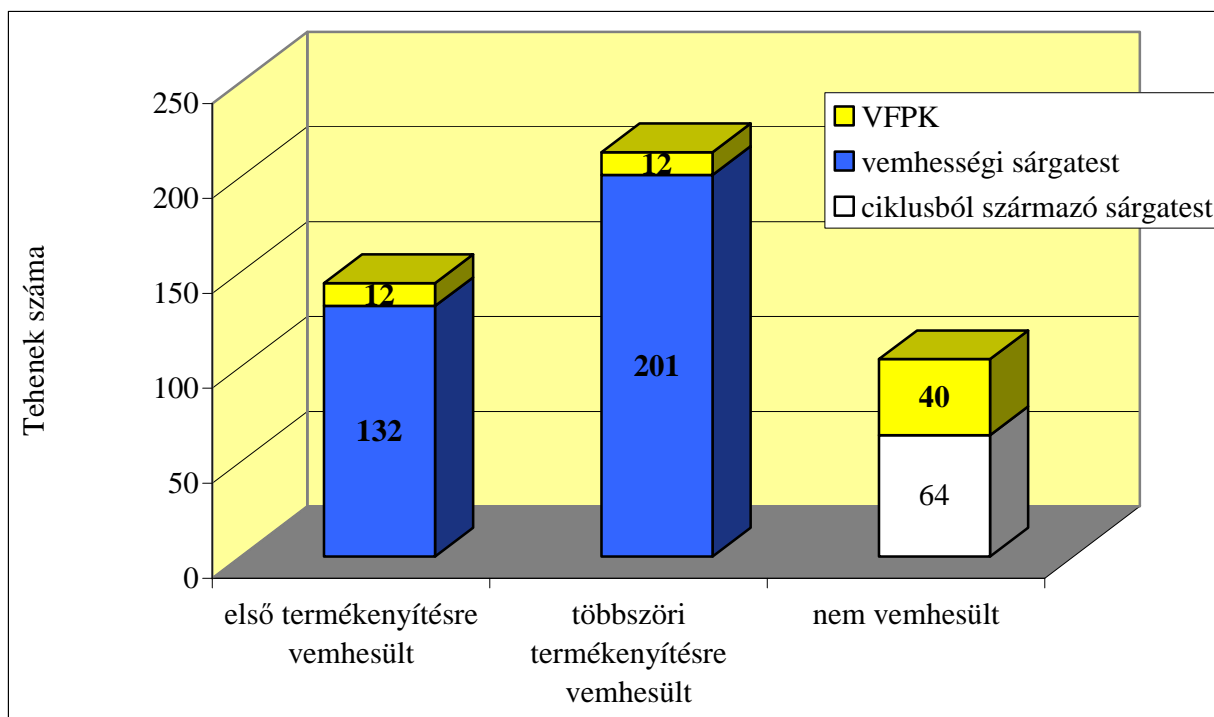
2. ábra: A VFPK előfordulása az ellést követő időszakban

A lutein tartalmú VFPK-val terhelt teheneket prosztaglandin készítménnyel kezeltük. Az inaktív petefészkekkel rendelkező teheneket ovulációsinkronizációs protokollt követően (Ovsynch), a problémamentes teheneket Provsynch programozott termékenyítési eljárást követően (az ellés utáni 35. napon szinkronizálhatók, majd a kezelés befejeztével az ellést követő 67-73. napon termékenyíthetők) termékenyítettük.

A termékenyítés utáni időszak ultrahang vizsgálatának eredményei

A termékenyítés utáni 28-32. napon ultrahang készülékkel vizsgált 462 tehen 31.2 %-a ($n=132$) első termékenyítésre, 46.1 %-a ($n=201$) pedig többszöri termékenyítésre vemhesült. A tehenek 22.5 %-a ($n=64$) a vizsgált időszakban nem vemhesült. A nem vemhesült egyedek 38.4 %-nál detektáltunk VFPK-t, a többi állatnál ciklusos petefészek működést állapítottunk meg.

Az első termékenyítésre vemhesült állatok között 12 esetben diagnosztizáltunk VFPK-t. A többi esetben normál vemhességi sárgatestet láttunk. A többszöri termékenyítésre vemhesült állatok között is 12 alkalommal találtunk VFPK-t (3. ábra). Az egyszeri illetve többszöri termékenyítésre vemhesült egyedek között előforduló VFPK számában nem volt szignifikáns különbség ($P > 0.05$). A 24 esetből 14 esetben kizárólag üreges sárgatest tartotta fenn a vemhességet, míg 10 esetben a vemhességi sárgatest mellett egyéb lutein tartalmú VFPK (luteális ciszta, sárgatest ciszta) is jelen volt.



3. ábra: A VFPK előfordulása a termékenyítés utáni időszakban

Vizsgáltuk, hogy a vemhes tehenekben diagnosztizált üreges sárgatestek a termékenyítést követő 60 nap körül végzett kontroll vizsgálatkor is megtalálhatóak voltak-e, és képesek voltak-e a vemhesség fenntartására. Az első ultrahang vizsgálatok (30-36 nappal a termékenyítés után) alkalmával 14 esetben tartotta fenn üreges sárgatest a vemhességet. A 60. napra elvégzett kontroll vizsgálatnál már 6 esetben (43 %) történt magzatvesztés, a további 8 esetben (57 %) a vemhességet már üreg nélküli sárgatest tartotta fent. Ez arra utalhat, hogy a vemhesség fenntartásában az üreges sárgatestek kisebb hatékonyságúak (azaz nem feltétlenül képesek funkciójukat ellátni), ugyanakkor az üreg jelenléte nem zárja ki a vemhesség fennmaradását sem, hiszen a vemhes állatokban az üreg idővel eltűnt. Saját adataink tehát arra utalnak, hogy a késői embrióvesztés kockázata üreges sárgatest által fenntartott vemhesség esetén nagyobb.

Mіндеzt alátámasztja az is, hogy nem vemhesült tehenek esetében szignifikánsan ($P < 0.001$) magasabb arányban voltak jelen VFPK-k, mint eredményesen termékenyített társaiknál.

Az ellés és a termékenyítés utáni időszak takarmány vizsgálatainak eredményei

Csoport	Szérum karotin konc. átlag ($\mu\text{mol/l}$)	Takarmány karotin konc. átlag (mg/kg sz.a.)
Szárazonálló	2.2	13.3
Előkészítő	1.36	13.4
Fogadó	1.29	22.1
Nagytejű	2.61	18.4
ÁTLAG	1.87	16.8

3. táblázat: A szérum és takarmány karotin koncentrációk termelőcsoportonkénti átlaga

A 2008 őszi időszakában vett vályúminták elemzése alapján az etetett takarmányok karotin koncentrációja az ellés előtt álló (szárazonálló, előkészítő) csoportokban nem érték el a minimálisan elvárt (15 mg/kg szárazanyag) határértéket (3. táblázat), ez viszont

magyarázhatja az állományszintű felmérés során diagnosztizált involúciós zavarok magas arányát.

Állományszinten az elvárt értéknél (16-18 %, azaz 160-180 g/kg sz.a.) alacsonyabb, vagy az elfogadható tartomány alsó határán mozgó nyersfehérje értékeket mértünk (4. táblázat). A fehérjehiány állományszinten szintén megnövelheti az inaktív petefészkekkel rendelkező és az acikliás tehenek számát.

Csoport	Takarmányvizsgálat ideje	
	2008.09.26	2008.11.21
	Nyersfehérje tartalom (g/kg sz.a.)	
Szárazonálló	110.4	-
Előkészítő	120.1	-
Fogadó	170.9	162.9
Nagytejű	155.2	155.3
ÁTLAG	139.15	159.1

4. táblázat: A takarmány nyersfehérje tartalmának alakulása termelési csoportonként

A fogadó és a nagytejű csoportokban mért 16 % alatti nyersrost tartalom pedig acidózis veszélyét rejti magában, ami okozhatja a szaporodásbiológiai mutatók további romlását.

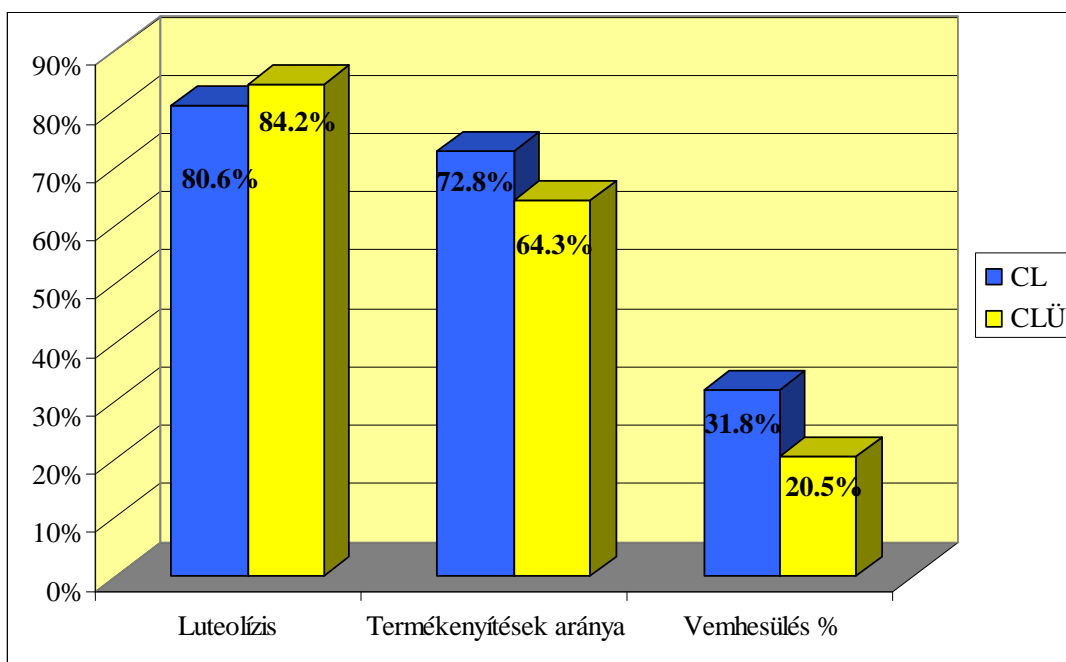
A lutein tartalmú VFPK-k kezelése

Sárgatestek és üreges sárgatestek kezelése $PGF_{2\alpha}$ -val

A sárgatestek és üreges sárgatestek kezelésére vonatkozó adatokat az 5. táblázatban foglaltuk össze. A rektális ultrahangvizsgálatok után 217 ciklusból származó sárgatestet, és 171 üreges sárgatestet kezeltünk $PGF_{2\alpha}$ -val (2 ml Estrumate inj. i.m.). Élettani sárgatestek esetében a kezelés hatására a képletek 80,6%-ának, míg üreges sárgatestek esetében a képletek 84,2 %-ának komplett luteolízise megtörtént. Az élettani sárgatesttel rendelkező, kezelt tehenek 72,8 %-a került termékenyítésre, 31,8 %-os vemhesülési arány mellett, míg az üreges sárgatestek kezelését követően a tehenek 64,3 %-a került termékenyítésre, 20,5 %-os vemhesülési arány mellett (4. ábra).

Statisztikailag nem volt szignifikáns különbség az egy héten belül bekövetkező luteolízisek előfordulásában és a termékenyített tehenek számában a ciklusból származó sárgatesttel rendelkező és az üreges sárgatesttel rendelkező csoport között. Azonban a ciklusból származó sárgatesttel rendelkező csoport tehenei között szignifikánsan magasabb ($P < 0.05$) volt a vemhesülési arány, mint az üreges sárgatesttel rendelkező csoport egyedei között.

Bár szignifikáns különbséget csak a vemhesülésben találtunk, a termékenyített tehenek aránya is alacsonyabb volt az üreges sárgatesttel rendelkezők csoportjában. Mindez arra utal, hogy – ahogy azt már korábban is leírtuk – bár sokan az üreges sárgatestek jelenlétét nem tartják kórosnak, az eredmények alapján úgy tűnik, hogy az ilyen képlettel rendelkező tehenek szaporodási eredménye gyengébb lehet. Nehéz elkülöníteni, hogy mely állatok esetében van, illetve nincs jelentősége az üreg jelenlétének, ezért ennek a tisztázása mindenképpen további vizsgálatokat igényel.



4. ábra: Az egyszeri PGF_{2α} kezelés hatása a termékenyülési eredményekre (CL – sárgatest, CLÜ – Üreges sárgatest)

	CL		CLÜ	
összesen	217	%	171	%
perzisztált	42	19.4%	27	15.8%
luteolízis 1 héten belül	175	80.6%	144	84.2%
termékenyítve	158	72.8%	110	64.3%
vemhesült	69	31.8%	35	20.5%
nem termékenyített	17	7.8%	34	19.9%
nem termékenyített méhprobléma miatt	14	82.4%	18	52.9%
nem termékenyített aciklia miatt	3	17.7%	10	29.4%
nem termékenyített LK miatt	-	-	6	17.7%

5. táblázat: Sárgatestek és üreges sárgatestek egyszeri PGF_{2α} kezelésének eredményei

Follikulus- és luteális ciszták kezelése PGF_{2α}-val

A rektális ultrahangvizsgálatok alapján 87 tehenet a folliculáris cisztával rendelkező csoportba (továbbiakban: FC) és 182 tehenet a luteális cisztával rendelkező csoportba továbbiakban. LC) soroltunk. Minden állatot egyszeri alkalommal i.m. adott PGF_{2α} (2 ml Estrumate injekció, i.m.) injekcióval kezeltünk.

	FC		LC	
összesen vizsgált	87	%	182	%
perzisztált	43	49.4%	12	6.6%
luteolízis 1 héten belül	44	50.6%	170	93.4%
termékenyített	30	34.5%	79	43.4%
vemhes	19	21.8%	39	21.4%
magzatvesztés	4	21.1%	5	12.8%

6. táblázat: Follikulus- és luteális ciszták egyszeri PGF_{2α} kezelésének eredményei

A táblázatból (6. táblázat) is látszik, hogy a luteolízis sok esetben bekövetkezett a folliculus cisztával rendelkező csoportban is, de szignifikánsan magasabb volt a luteális cisztával rendelkezők csoportjában. Ugyanakkor érdemi különbséget tapasztaltunk a termékenyített tehenek arányában ($P < 0.05$, a luteális cisztás csoportban több a termékenyítés), viszont a vemhesült tehenek aránya azonos volt. A magzatvesztés arányában ugyan nagy a különbség, de nem szignifikáns. Mivel mindkét csoport egyedei reagáltak a kezelésre, valószínűsíthető, hogy a folliculus ciszták egy része is tartalmazhatott lutein sejteket. Ez azt jelentheti, hogy a ciszták korábbi kategorizálásán finomítani kellene.

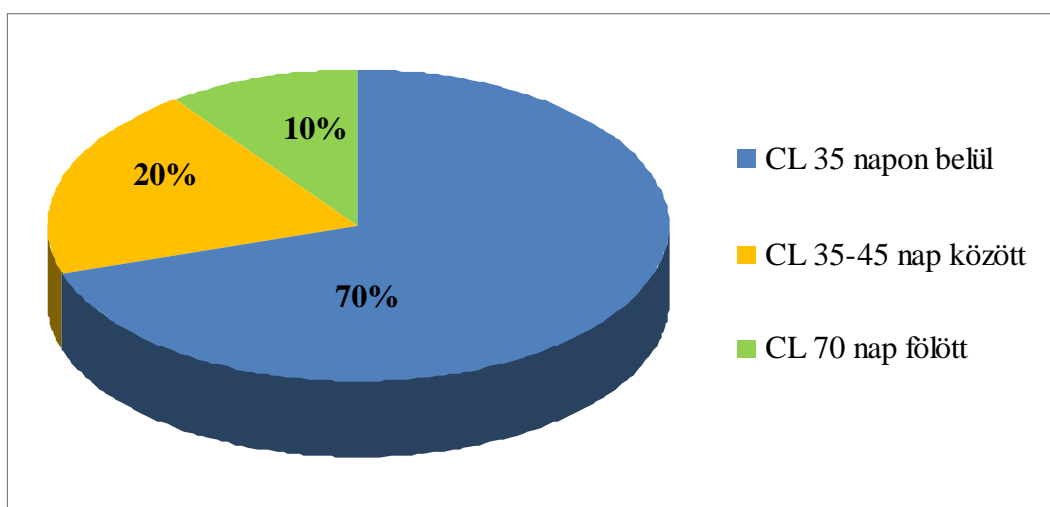
A normál (hormonálisan nem befolyásolt) nemi ciklus nyomon követése

Az ultrahangos ciklusdiagnosztika eredményei

A vizsgálatba vont, azonos laktációs stádiumú, a kísérlet kezdetekor 35 napja ellett tehenek ($n=10$) heti egy alkalommal elvégzett rektális ultrahang vizsgálataiban során készült ultrahang felvételek során nyert információk a 7. táblázatban láthatók. A tehenek 70 %-a a vizsgálat kezdetekor ciklusos petefészek működéssel rendelkezett (legalább egyik petefészekén volt sárgatest), 20 %-nál a 45. napig megjelent a ciklusra jellemző sárgatest, míg egy esetben csak az ellés utáni 79 napon (5. ábra).

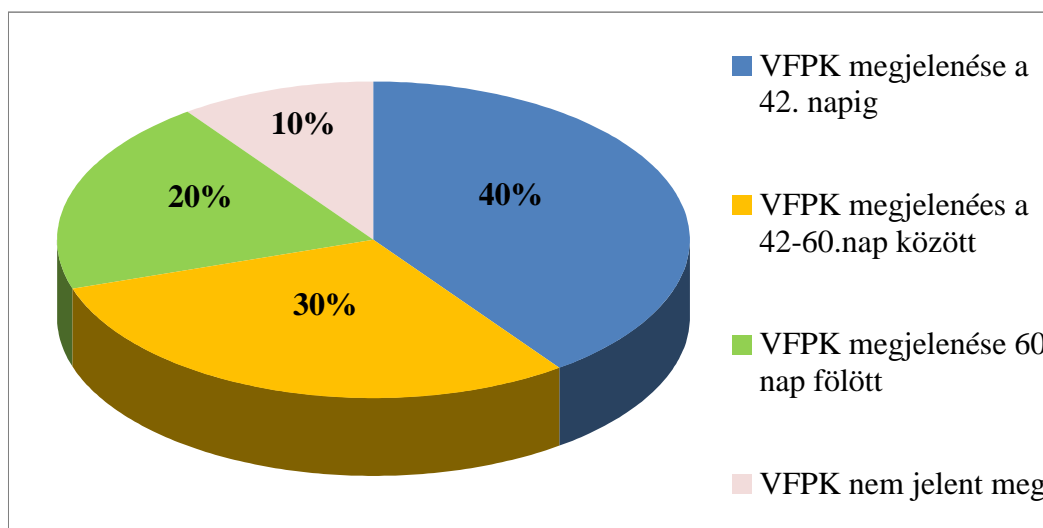
FÜLSZÁM	Első CL megjelenése (ellés óta eltelt napok)	Első termékenyítés ideje (ellés óta eltelt napok)
1752	35	54
1863	35	121
2077	79	90
2920	35	125
2962	35	90
3300	42	101
423	45	81
5045	35	59
617	35	120
951	35	91
ÁTLAG	41.1	93.2

7. táblázat: Az ultrahangos ciklusdiagnosztika eredményei



5. ábra: A ciklusos petefészek működés megindulása az ellés után

A vizsgált tehenek 40 %-nál az ellést követő 42. napig detektáltunk VFPK-t. További 30 %-nál a 60. napig, 20 %-nál csak a 60. nap után jelentek meg ilyen petefészek-képletek. Egy tehenél a vizsgálat teljes időtartama alatt egyetlen alkalommal sem tapasztaltuk VFPK előfordulását (6. ábra). Az időszak kiemelten fontos az esetlegesen okozott meddőség szempontjából, hiszen ez az időszak az egészséges nemi ciklusú tehenekben, a klinikai tünetekben is jól manifesztálódó ivarzások ideje.

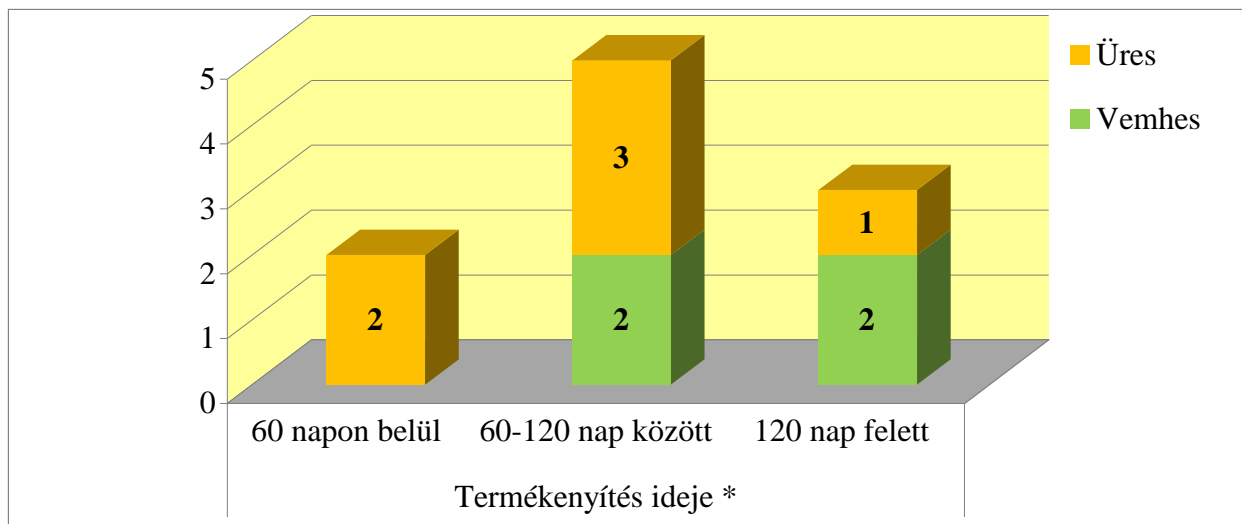


6. ábra: A VFPK megjelenésének ideje az ellés után

Két tehen az ellés utáni 60. napon belül termékenyítésre került, de nem vemhesült. Az állatok 50 %-a az ellés utáni 60-120 nap között került termékenyítésre, 40 %-os vemhesülés mellett. A legjobb (66 %-os) vemhesülési eredményt azonban a 120 nap fölötti termékenyítések (3 tehen) esetén tapasztaltunk (8. táblázat, 7. ábra).

Fülszám	Első termékenyítés ideje (nap)*	Az első termékenyítés eredménye
1752	54	ÜRES
1863	121	VEMHES
2077	90	ÜRES
2920	125	ÜRES
2962	90	VEMHES
3300	101	VEMHES
423	81	ÜRES
5045	59	ÜRES
617	120	VEMHES
951	91	ÜRES

8. táblázat: Az első termékenyítések eredménye

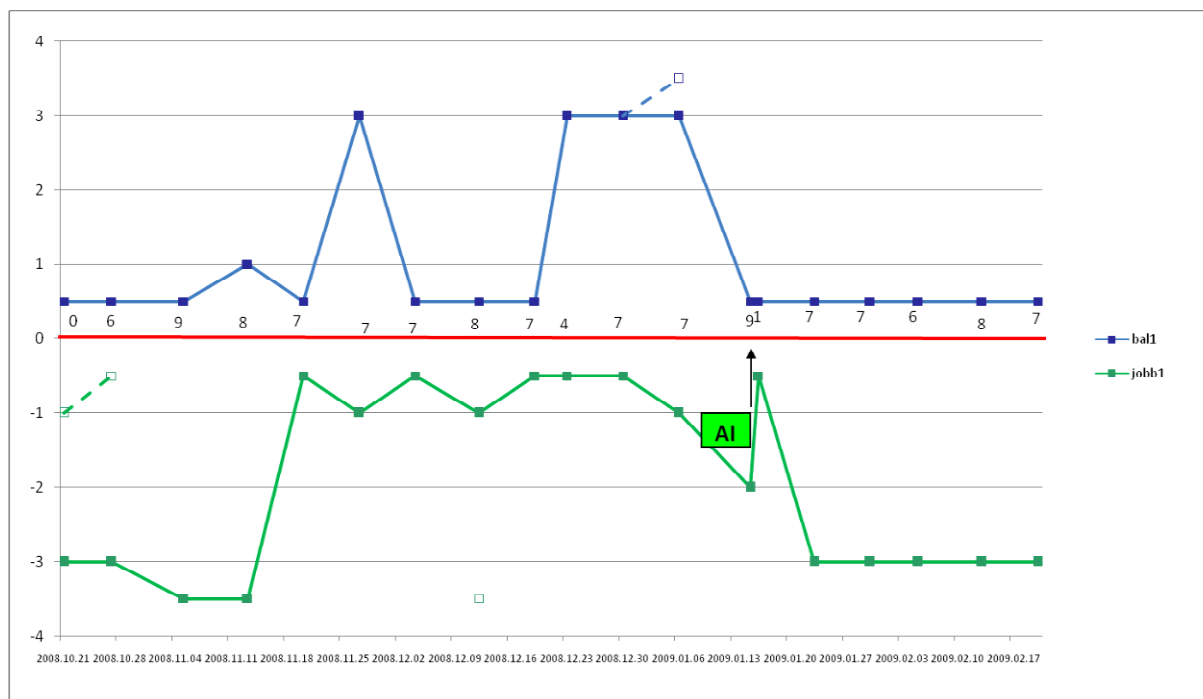


7. ábra: A termékenyítések ideje és eredményessége a normál nemi ciklus nyomon követése során
 *(az ellés óta eltelt napok száma)

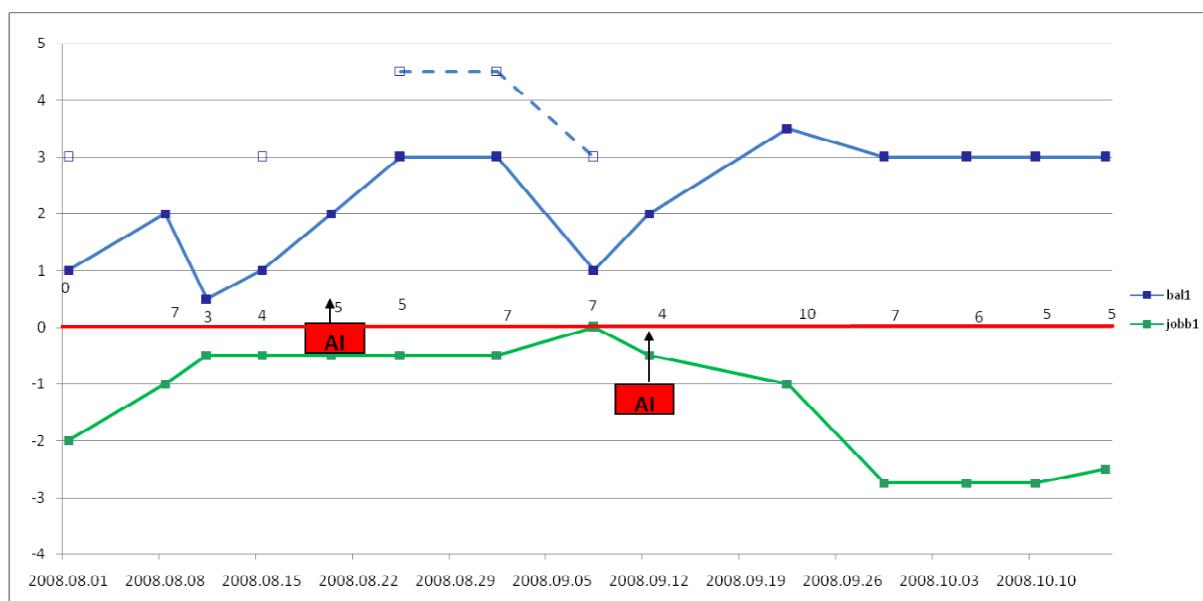
Az eredmény megerősíteni látszik a tejtermelő tehenekkel foglalkozó szakemberek egybehangzó véleményét, miszerint a nagy tejtermelésű tehenészetekben az első termékenyítés időpontja az ellést követő 60. nap után optimális. Ekkorra az évi 9 - 10 ezer kg tejtermelésű tehenek ellést követő negatív energiaegyensúlya is rendeződik, illetve befejeződik a méh szövettani involúciója is. A 60. napig bekövetkezett termékenyítések vemhesülési eredményei jelentősen elmaradnak a post-partum 60. nap fölött végzett inszeminálások eredményeitől.

A ciklusgörbék vizuális elemzése

Az elvégzett rektális ultrahang vizsgálataik során készült ultrahang felvételek alapján minden tehen esetében ciklusgörbe készült. A ciklusgörbék vizuális elemzése alapján megállapítható, hogy azok a tehenek vemhesültek (n=4) a kísérlet időtartama alatt, amelyeknek legalább egyik petefészke folyamatosan ciklusos működést mutatott és lutein tartalmú VFPK (CLÜ, CLC) nem, vagy csak egyetlen alkalommal alakult ki (pl. 1863 fülszámú tehen, 8. ábra). Azok a tehenek, amelyeknek petefészken több esetben és/vagy hosszabb-rövidebb ideig folyamatosan VFPK perzisztált, emellett egyik petefészke inaktív volt, vagy nem volt szabályos ciklusos petefészkek működése, a kísérlet ideje alatt nem vemhesült (pl. 1752 fülszámú tehen, 9. ábra).



8. ábra: A 1863 fülszámú tehen ciklusgörbéje

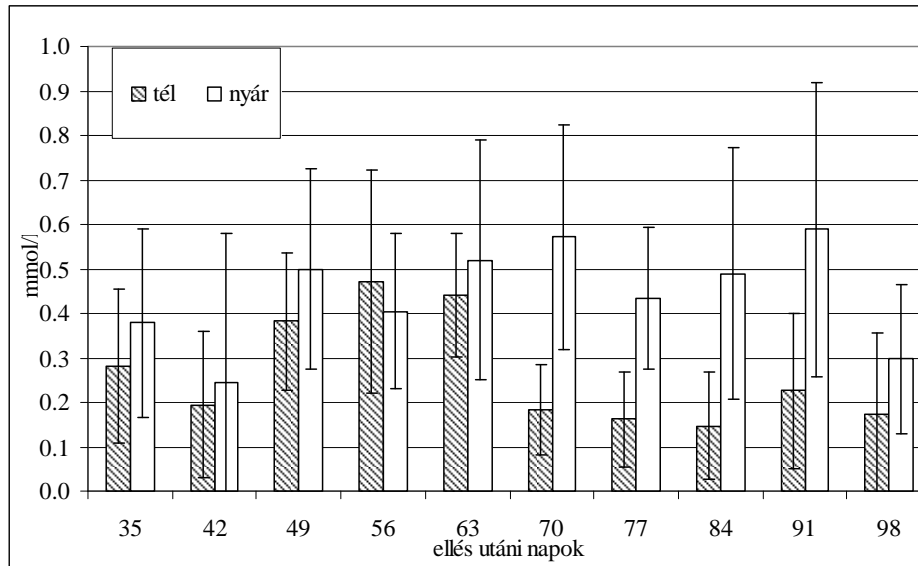


9. ábra: A 1752 fülszámú tehen ciklusgörbéje

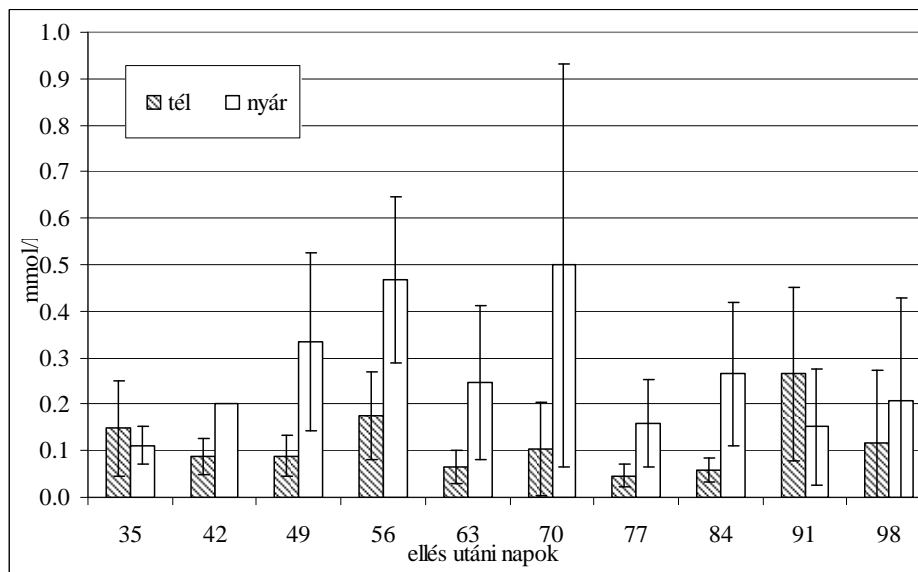
A VFPK-k szezonális előfordulása ovuláció szinkronizálás során

A vizsgálatokat egy nagy tejtermelésű tejlő szarvasmarha telepen végeztük nyári és téli időszakokban (mindkét időszakban 10-10 kísérleti állattal – a nyári kísérlet során 2 tehenet, a téli kísérlet során 1 tehenet méhproblémák miatt ki kellett zárni a vizsgálatokból). Mindkét időszakban az ellést követő 30-35. napon Provsynch protokoll szerint kezdték kezelni a teheneket (0.napon 25 mg $PGF_{2\alpha}$, 14. napon 25 mg $PGF_{2\alpha}$, 26. napon 150 μ g GnRH, 33. napon 25 mg $PGF_{2\alpha}$, 35. napon 150 μ g GnRH majd a 36. napon végzett termékenyítés). Hetente egy alkalommal vérvétel történt a protokoll kezdetétől a termékenyítést követő 30. napig (vemhességvizsgálat), valamint a termékenyítés és a vemhességvizsgálat között ezt kiegészítettük heti egy rektális ultrahang vizsgálattal. A vérmintákból a nem eszterifikált zsírsav (NEFA), béta-hidroxi vajsav (BHB), vasredukáló képesség (FRAP – az antioxidáns ellátottságot jelző paraméter) béta-karotin, progeszteron (P4), tiroxin (T4), trijód-tironin (T3)

valamint havonta egy alkalommal IGF-1 koncentrációkat határoztunk meg. Az eredményeket ANOVA és Wilcoxon rank-sum teszt statisztikai módszerek segítségével elemeztük. A vérparaméterek vizsgálata során nem mutattak jelentős eltérést a FRAP, béta-karotin, T3 ill. T4 és IGF-1 koncentrációk. A plazma NEFA és BHB koncentrációk alakulása a 10. és 11. ábrán látható.



10. ábra: A plazma NEFA koncentrációk alakulása télen ill. nyáron (szórás értékekkel)



11. ábra: A plazma BHB koncentrációk alakulása télen ill. nyáron (szórás értékekkel)

Szignifikáns különbséget találtunk a nyári és téli NEFA és BHB plazma-koncentrációk között ($P < 0.005$). A nyári időszakban az átlagos plazma NEFA koncentrációk a hormonális kezeléseknél megfelelően, az ivarzás körüli időben mutattak kiemelkedő értékeket (49., 70. nap és a visszaivarzások miatt a 91. nap), de szinte folyamatosan az élettani felső határérték felett alakultak (0.4 mmol/l). Mivel a plazma P4 vizsgálatok csak heti rendszerességgel történtek, ezért ezek nem alkalmasak P4 profil vizsgálatára. A nyári időszakban a 10 állatból egy sem vemhesült és 8 tehén alakult ki VFPK-k (a termékenyítést követő 7. naptól kezdve, a 30. napi vemhességvizsgálati időpontig). A téli időszakban 9 tehénből 6 vemhesült.

A vemhes állatoknál a termékenyítést követően csak 2 tehénnél volt látható (a vemhességet nem befolyásoló) VFPK, az üresnek bizonyult állatok között pedig szintén 2 állatnál alakult ki ilyen képlet a termékenyítést követő 30 napon belül.

A vizsgálatba vont állomány táplálóanyag ellátottságának felmérése.

A takarmányok nettó energia (NE), nyersfehérje (CP), bypass fehérje (BP), nyersrost (CF), ADF (savdetergens rost), NDF (neutrális detergens rost), és karotin-tartalmát vizsgáltuk. A tehenek a nagytejű csoportba tartoztak, 45 kg tejtermelést biztosító takarmány-ellátással. A vizsgálatok során (nyáron ill. *télen*) 7.28 (7.12) MJ/kg SZA. NE, 172.64 (170.1) g/kg SZA. CP, 69.37 (68.1) g/kg SZA. BP, 162.13 (164.2) g/kg SZA. CF, 170 (180.2) g/kg SZA. ADF, 347.81 (321.2) g/kg SZA. NDF és 20 (16) mg/kg karotin-tartalmat mértünk. A magas energiatartalmat a gyapotmag (2 kg/nap) egy speciális energia-koncentrátum (védett zsír és omega-3 zsírsavak) biztosította.

Az eredmények alapján a tehenészetekben a nyári fertilitás-csökkenést az energia-mobilizáció következtében, zsírbontásból származó plazma NEFA koncentráció emelkedése okozhatja. Ekkor ugyanis a vérből a zsírsavak átjuthatnak a tüszőbe is, ezzel károsítva a petesejtet és az azt körülvevő egyéb sejtes elemeket is – ez magyarázhatja a nem szokványos petefészek képletek nagyobb arányú nyári előfordulását.

A VFPK sejtösszetétele és szövettana, a cisztás jellegű képletekből nyert folyadék tartalom jellegzetességei (szövettani, biopszia ill. aspirációs eredmények)

B. Laboratóriumi vizsgálatok

Tejelő tehenek méhének és petefészkének vizsgálata vágóhídi mintákból (n=90) és a különböző képletek egyes méreteinek összehasonlítása ultrahangos és makroszkópos felvételek alapján

A vágóhídról gyűjtött tehenek petefészek-képleteit az in vivo kísérleteknél használt definíciók alapján osztályoztuk és két fő csoportba soroltuk őket: ovulációs és anovulációs képletekre. A vizsgálatok során a sárga, a petefészek felületére kidomborodó, tömötten rugalmas, ovulációs papillával rendelkező, tömör képleteket sárgatestként azonosítottuk (n=15). A hasonló megjelenésű, azonban max. 1 cm átmérőjű üreggel rendelkező képleteket üreges sárgatestként, míg az ennél nagyobb üreggel rendelkező (1.5-2 cm) és keskenyebb falú (1 cm-nél keskenyebb) képleteket cisztás sárgatestként definiáltuk. Az ovulációs papilla nélküli képleteket három csoportba soroltuk: a 1.5-2 cm átmérőjű nem luteinizált falú (falvastagság max. 1-1.5 mm) képleteket (a hagyományos nevezéktan szerint ezek sem a normál tüsző, sem a tüszőciszta definíciójának nem felelnek meg) anovulációs tüszőknek neveztük, míg a 2 cm-nél nagyobb átmérőjű üreggel és 3 mm-nél keskenyebb fallal rendelkezőket follikulum cisztának tekintettük. A 2-2.5 cm-nél nagyobb, vastag és luteinizált falú (≥ 3 mm) képleteket luteinizált cisztaként azonosítottuk.

Vágóhídi nemi apparátusok vizsgálata során összesen 15, különböző fejlődési stádiumban levő sárgatestet (CL), 10 üreges sárgatestet (CLÜ), 3 sárgatest cisztát (CLC), 7 anovulációs tüszőt (AT), 4 luteinizált cisztát (LC) és 4 follikulum cisztát találtunk. A jellemző méretekre vonatkozó adatokat rektális ultrahang-vizsgálatok során készített képek elemzésének eredményivel egészítettük ki (9. és 11. táblázat táblázat).

A petefészkeket ultrahanggal is megvizsgáltuk, azok makroszkópos képét rögzítettük, majd a képletekből kimetszettünk és 4 %-os formaldehid oldatban fixáltuk. Paraffinos beágyazást követően a 10 μ m-es metszeteket hematoxillin-eosin, azan, Gömöri-féle ezüst impregnáció ill. PAS festést követően, fénymikroszkóppal vizsgáltuk azok általános szerkezetére ill. sejtösszetételére figyelemmel (a statisztikai értékeléshez t-próbát és ANOVA módszereket alkalmaztuk). A biopsziás mintavételt eltérő vastagságú tüvel (18, 16 és 14G) több

alkalommal megkíséreltük a vágóhídi mintákon ill. élő állatokban, de egyik esetben sem sikerült a szövettani vizsgálatokhoz értékelhető mintákat nyerni (mérete nem volt alkalmas a technikai feldolgozásra ill. értékelésre), ezért a biopsziás mintavétel alkalmazását elvetettük.

Az üreges sárgatesteknél és a sárgatest cisztáknál látható volt a képletek felületén elődomborodó ovulációs papilla, ami egyértelműen az ovulációt követő kialakulást bizonyítja. Az üreges sárgatestekre és sárgatest cisztákra jellemző méretek a 9. táblázatban láthatók.

Üreges sárgatest

Több szerző szerint kisebb-nagyobb üreg a sárgatestben fiziológiás, és a ciklus során előfordulhat. A szakirodalomban ezek az üreges sárgatestek főként az ovulációt követő időszakra jellemzőek, és több forrás szerint is maximum az ovulációt követő 7-8. napra eltűnnek. Fiatal sárgatestben megfigyelhető kisméretű, de szabad szemmel is látható üreg, melyre nem jellemző kötőszövet jelenléte. Ezekben az esetekben mind makroszkóposan, mind mikroszkóposan is látható az üreg megléte, melyet nem határol kötőszövet. Ugyanakkor előfordul olyan eset, amikor hasonlóan fiatal (néhány napos) üreges sárgatest esetében fibrin látható a lumen falához csapódva, melyben a szervülés kezdeti jelei is felismerhetők. Az üreg felőli oldalon finom rosthálózat látható sűrűn elhelyezkedő kapillárisokkal. A felületi részeken kevésbé, a mélyebb területeken aktívabban működő, habosabb citoplazmájú lutein sejtek, de elszórtan piknotikus alakok is felismerhetők. Azan festéssel érett kollagén rost mutatható ki a felszín közelében, Gömöri-féle ezüst impregnációval pedig jól látható a sejtek közötti rácrost-hálózat – hasonlóan a sárgatesthez. Érettebb, idősebb üreges sárgatest esetében (az ovulációt követő 10-11. napon) a lumen felőli részen és a mélyebb rétegekben is sok kötőszöveti elem látható változó rétegvastagságban, kevés és nem aktív lutein sejttel de jó kapillaris-ellátottsággal. Azan festéssel felrostozódott, rendezett kötőszövet jellemzi a lumen felőli oldalt és fiatal, még sok fibroblasztot, fibrocitát tartalmazó kötőszöveti réteg látható az ez alatti területen, ahol a Gömöri-féle ezüst impregnációval a sárgatestre egyébként jellemző finom rácrost-hálózat már nem felismerhető. Az ez alatti rétegben a sárgatestre jellemző kép látható: trabekulás elrendeződésben vérerek, lutein sejtek jellemzik ezt a részt. Osztódó alakok kisebb, kis aktivitású lutein sejtek és piknotikus alakok nagyobb számban láthatók a mélyebb területeken (12. ábra).



12. ábra: Az üreges sárgatest ultrahangos, makroszkópos és mikroszkópos megjelenése

Sárgatest ciszta (vagy cisztás sárgatest)

Az üreges sárgatesthez hasonló, de nagyobb átmérőjű folyadékkal kitöltött centrális ürege van (kitágult üregű cisztára emlékeztető kép), sárga fal-elszíneződéssel. A cisztás sárgatest szövettani felépítése az üreges sárgatestre nagymértékben hasonlít a különbséggel, hogy a *lument bélelő kötőszövetes réteg* 5-6-szor vastagabb az üreges sárgatestekhez képest, és ez alatt kifejezetten keskeny, trabekulákba rendeződött, aktívan működő lutein sejtréteget találunk (13. ábra). A lumenben esetenként fibrin-réteg, szervülésnek induló fibrines anyag látható.



13. ábra: A sárgatest ciszta ultrahangos, makroszkópos és mikroszkópos megjelenése.

	Üreges sárgatest (n=23)			Cisztás sárgatest (n=26)		
	teljes átmérő (cm)	üreg átmérő (cm)	falvastagság (cm)	teljes átmérő (cm)	üreg átmérő (cm)	falvastagság (cm)
átlag	2.8	0.7	1.1	3.5	2.5	0.6
szórás	0.57	0.32	0.38	0.80	0.85	0.23
min	1.5	0.1	0.5	2	1.3	0.25
max	4	1	1.7	5	4	1.2

9. táblázat: A üreges ill. cisztás sárgatestek jellemző méretek

Az üreges sárgatestek, sárgatest ciszták és sárgatestek vizsgálataink során talált jellemző sejtösszetétele a 10. táblázatban látható.

	Nagy lutein sejtek átlagos aránya	Kis lutein sejtek átlagos aránya	Fibroblaszt/fibrociták átlagos aránya	Piknotikus sejtek átlagos aránya	Kötőszövet átlagos vastagsága (µm)
CL	39.6%	37.2%*	22.4%	0.1%	-
CLÜ	32.2%	43.9%	20.5%	3.4%	153.9
CLC	20.9%	68%*	10.1%	0.1%	381.8

10. táblázat: A virágzó (CL), az üreges (CLÜ) és a cisztás sárgatestek (CLC) jellemző sejtösszetétele

(* statisztikailag szignifikáns különbség a két érték között, $P < 0.05$)

A képletek között a kis lutein sejtek arányában volt különbség, aminek jelentősége egyelőre nem ismert.

Az anovulációs tüszők, folliculus ill. luteinizált ciszták esetében nem volt ovulációs papilla a képletek felületén, ami az ovuláció nélkül történő kialakulásra utal. Ezeknek a képleteknek a jellemző méretei a 11. táblázatban láthatók (ahogy már fentebb jeleztük a rektális ultrahangvizsgálatok során készített képek elemzéséből származó mérési eredményekkel kiegészítve).

Anovulációs tüsző

Az anovulációs tüszők esetében általában 1-1.5 milliméter vastag szürkésfehér, csillogó kötőszövetes, vérerekkel átszőtt falat látunk (14. ábra). Ezek a képletek változatos szövettani

felépítésük lehetnek: némely esetekben a theca interna és a granulosa rétegek is megtalálhatóak és az alaphártya elkülöníthető, máskor vagy a theca interna vagy a granulosa réteg hiányzik, töredezett. A sejtrétegekben luteinizációra utaló jel nincs, de a sejtek aktív hormontermelésre jellemző képet mutatnak (habos citoplazma).



14. ábra: Az anovulációs tüsző ultrahangos, makroszkópos és mikroszkópos megjelenése

Follikulus ciszta

Az anovulációs tüszőkhöz képest kissé vastagabb általában 2-2.5 milliméter vastag szürkésfehér, csillogó kötőszövetes, vérerekkel átszótt falúak (15. ábra). Szöveti felépítésük szerint a kötőszövet mellett granulosa ill. theca interna sejtek több-kevesebb rétegben jellemzők, a rétegek leválhatnak. Az azonban mindenképp közös jellemzőjük, hogy egy-egy sejt mutat luteinizációra utaló jelet, és aktív hormontermelésre jellemző sejtmorfológia is látható (habos citoplazma).



15. ábra: A follikulus ciszta ultrahangos, makroszkópos és mikroszkópos megjelenése

Luteinizált ciszta

A luteinizált ciszták valószínűleg az anovulációs tüszők luteinizációjával alakulnak ki. A luteinizáció kezdődő jelei miatti átmeneti formára jellemző, hogy a képlet 2-3 cm átmérőjű, makroszkóposan szintén szürkésfehér, de néhol finom sárgás árnyalatú, kissé kiemelkedő (néha foltszerűen, máskor nagyobb, egybefüggő) területek láthatók a ciszta belső falán (16. ábra). Mikroszkóposan ebben az esetben a kötőszövettel vastagon átszótt fal jellemző, kapillárisokkal (friss kötőszövet), vérerekkel (theca externa sarjadzik) és a működő lutein sejtek között is látható fibroblasztokkal. Granulosa ill. theca interna sejtek több-kevesebb rétegben jellemzők. Luteinizáció jelei a képlet több területén láthatók, de a luteinizált sejtek egyes esetekben a granulosa rétegben, máskor a theca interna rétegében található. Általában jellemző az ilyen stádiumú képletre, hogy a theca externa rétegek megvastagodottak, sok fibroblasztot és kapillárist tartalmaznak (mely az újonnan képződött kötőszövet sajátossága). Néhány esetben nem kizárható, hogy a kötőszövet-szaporodás egy korábban lezajlott gyulladás következménye.

Hasonló makroszkópos megjelenés mellett némely esetekben lazább, szabályosabb mikroszkópos szerkezettel találkozhatunk, levált granulosa sejtekkel, kötőszövettel gyengébben átszőtt fallal, vagy a lumen körül kifejezett retikuláris rost-hálózat jellemző kevés granulosa sejttel.

Néhány esetben az alapot képző kötőszövet felett (üreg felé) kifejezetten vastag, aktívan működő lutein sejt-réteget a lumen felől ismét a felülettel párhuzamos kötőszövetes réteg határol, fibroblasztokkal – szendvics-szerű formációt alkotva (Gömöri festéssel ez a jellegzetesség még jobban látható). Azan festéssel kimutatható a kollagén-rostos kötőszövet a képlet körül, de a granulosa rétegben nem jelenik meg kollagén-rost. Elképzelhető, hogy a GnRH kezelés egy harmadlagos tüsző esetében nem annak felrepedéséhez, hanem a luteinizációjához vezetett, de a vastag kötőszövetes fal miatt ez csak néhány helyen indulhatott el (hipertrófia).



16. ábra: A luteinizált ciszta ultrahangos, makroszkópos és mikroszkópos megjelenése

	Anovulációs tüsző (n=15)			Follikulus ciszta (n=15)			Luteinizált ciszta (n=16)		
	teljes átmérő (cm)	üreg átmérő (cm)	fal-vastagság (cm)	teljes átmérő (cm)	üreg átmérő (cm)	fal-vastagság (cm)	teljes átmérő (cm)	üreg átmérő (cm)	fal-vastagság (cm)
átlag	1.9	1.5	0.2	3.3	3.0	0.2	3.5	2.9	0.4
szórás	0.23	0.19	0.06	0.70	0.71	0.04	0.84	0.82	0.18
min	1.4	1.2	0.1	2.5	2.1	0.1	2.6	2.0	0.3
max	2	1.8	0.25	4.3	3.9	0.2	5.6	4.9	1

11. táblázat: Az anovulációs tüszőkre (AT) follikulus (FC) és luteinizált cisztákra (LC) jellemző méretek

Aspirációs mintavétel a kísérleti állatokból

Vágóhídi vizsgálatok során 15 mintavétel történt (4 CLÜ, 10 AT, 1 LC), élő állatból rektális ultrahangos vizsgálattal történt azonosítást követően, ovum pickup-hoz kifejlesztett készülék segítségével 11 képletet aspiráltunk (2 CLÜ, 2 CLC, 6 LC és 1 AT). A kísérleti állatokat a szakma szabályi szerint előkészítettünk, majd az ultrahanggal detektált luteinizált petefészkek képletekből mintákat vettünk, és a mintavétellel egyidőben vérmintát is vettünk.

Aspirációs minták feldolgoása

A mintákat centrifugáltuk, a felülúszót feldolgozásig -70 fokon tároltuk. A vizsgálati módszereket különböző fejlődési stádiumú tüszőkből és anovulációs tüszőkből post mortem nyert folyadékokkal validáltuk. Az aspirációs mintákból valamint kísérleti állatok vérmintáiból progeszteront (P4), ösztradiolt (E2) valamint a nem-eszterifikált zsírsavak (NEFA) koncentrációját határoztuk meg (12. táblázat), majd az eredményeket ANOVA módszerrel statisztikailag is értékeltük.

		17- β ösztadiol pg/ml	Progeszteron nmol/l	NEFA mmol/l
Graaf tüsző folyadék	aspirátum	248	-	-
Anovulációs tüsző	aspirátum	1379.3	187.4	0.28
	vérplazma	11.6	3.7	0.43
Luteális ciszta	aspirátum	966.2	22.9	0.33
	vérplazma	31.8	1.3	0.14
Üreges sárgatest	aspirátum	162.3	382.2	0.88
	vérplazma	16.6	3.7	0.21
Cisztás sárgatest	aspirátum	650	178.5	0.74
	vérplazma	11.9	8.3	0.53

12. táblázat: Az aspirációs folyadék- és vérminták vizsgálatának eredményei (átlagos értékek)

Az eredményekből látható, hogy a luteinizált cisztákból és anovulációs tüszőkből aspirált folyadékokban ill. a vérplazmában az ösztadiol koncentrációja magas, ami magyarázza a sok esetben tapasztalható ivarzáshoz hasonló tüneteket. Mindkét képlet progeszteront is termel, ami viszont alátámasztja azt a korábbi vizsgálati eredményt, miszerint a nem luteinizált, anovulációs eredetű ciszták egy része reagálhat a prosztoglandin-kezelésre (hiszen progeszteront a luteinizált sejtek termelnek ilyen mennyiségben). Az üreges sárgatestekben szignifikánsan magasabb volt a progeszteron-koncentráció, mint luteinizált cisztákból eltávolított cisztafolyadékokban ($P < 0.05$). Az üreges és cisztás sárgatestek magas progeszteron-termelése nyilvánvaló, hiszen ezeket a képleteket luteinizált sejtek alkotják. A vérplazmában mérhető progeszteron-koncentráció ugyanakkor a cisztás sárgatestek esetében volt a legmagasabb ($P < 0.05$). Vanholder és mtsai (2005) leírták, hogy az apoptózis kezdeti szakaszában a granulosa sejtek fokozott szteroid-szintézisre képesek, mivel a még működőképes sejtalkotók az apoptózis elején közelebb kerülnek egymáshoz. Ez esetleg magyarázhatja a cisztás sárgatestek magas progeszteron-termelését, és információval szolgálhat a cisztás sárgatestek kialakulására vonatkozóan.

Látható, hogy a vizsgált aspirátum folyadékok közül a legmagasabb NEFA koncentrációkat az ovulációt követően kialakuló képletekben mértük, ezen belül az üreges sárgatestek NEFA koncentrációja szignifikánsan magasabb volt a luteinizált cisztákénál ($P < 0.05$); ez utalhat azok kialakulásának körülményeire, vagyis a NEFA tüszősejt-károsító hatásaira.

A bioptátumok szövettani feldolgozása

A vágóhídi és élő állatokon elvégzett próba-biopsziák szövettani képe nehezen áttekinthető volt, mivel a minták méretéből adódóan nem szolgáltattak strukturális információkkal az adott képlet típusára.

Endokrinológiai és biokémiai vizsgálatok a kísérleti állatokból a biopszia időpontjában

A korábbi biopsziás mintavétel nem szolgált értékelhető eredménnyel, ezért ez a kísérlet elmaradt.

Provsynchet követően azonos laktációs stádiumú tehenek szaporasági adatainak összehasonlítása télen illetve nyáron: az luteinizált petefészkek-képletek előfordulási arányának felmérése rektális ultrahang vizsgálatokkal.

A vizsgálatokat egy 8500-9100 kg/tehen/év tejtermelésű tehenészeti telepen végeztük. Télen ill. nyáron 121 ill. 170 állatnál a Provsynch protokollt követően történt termékenyítés

eredményét a 30. napon rektális ultrahang-vizsgálattal ellenőriztük. A vizsgálat során a vemhesség megállapítása vagy kizárása mellett a petefészek-képletek képét is rögzítettük (különös tekintettel a VFVK-ra).

Az adatokat Fischer-féle egzakt teszttel elemeztük. A vizsgálatok eredményei a 13. táblázatban láthatók.

	összes PROV	vemhes	vemhes %	MV	MV%	VFVK	VFVK%	Tej (kg)	kondíció
nyár	170	61	35.9%*	6	9.8%	47	27.6%	31.2	2.8
tél	121	59	48.8%*	2	3.4%	33	27.3%	34.2	2.9

13. táblázat: A Provsynch protokollt követő vizsgálatok eredményei (*-P=0.03, szignifikáns eltérés a vemhesülési eredmények között)

Az eredmények alapján elmondható, hogy nem volt statisztikai különbség a téli és nyári magzatvesztési eredményekben, a VFVK-k előfordulásában ill. a tejtermelésben és kondícióban. A téli vemhesülési arány azonban szignifikánsan magasabb volt (P=0.03) a nyári időszakban elértnél.

Provsynchot követően a nyári időszakban kísérleti (magnövelt energia koncentrációjú takarmánnyal etetett) és kontroll állatok szaporodási teljesítményének összehasonlítása (különös tekintettel a VFVK-k előfordulására).

A vizsgálatot egy 400-as tehénlétszámú, nagy tejtermelésű telepen végeztük 2010 május és szeptember között. A vizsgálati időszakban Provsynch protokollt követően összesen 183 állat került termékenyítésre. Az emelt energia-koncentrációjú takarmányt 89 tehén (átlagosan 7 %-al magasabb energia-tartalmú takarmány – NEI 7.1 MJ/kg szárazanyagra vetítve), alacsonyabb energia-tartalmú takarmányt 94 tehén (NEI 6.5 MJ/kg sz.a.) kapott. Az alacsonyabb energia-tartalom mellett a takarmány fehérje-mérlege -80 g volt, ugyanakkor a magasabb energia-tartalmú takarmányban a fehérje mérleg enyhén pozitív (+40 g) volt. A vizsgált időszakban a magasabb energia-tartalmú takarmányt kapott állatok (ME) közül 32 tehén, az alacsonyabb energia-tartalmú takarmányozású csoportban (AE) 27 tehén vemhesült (36 % és 28.7 % vemhesülés). A tejtermelés is jelentős különbségeket mutatott: a ME csoportban az átlagos napi tejtermelés 36.1 kg/tehén, az AE csoportban 26,5 kg/tehén volt. A VFVK-t a termékenyítést követően vizsgáltuk: ez alapján nem volt jelentős különbség a két csoport eredményei között. A ME csoportban 27 állat, az AE csoportban 28 állat esetében találtunk valamilyen VFVK-t (30.3 % és 29.8 % előfordulás). Az eredményeket statisztikai értékelése Fischer-teszttel és T-próbával történt. A vizsgálat alapján tehát elmondható, hogy Provsynch protokollt követő termékenyítések esetében a magasabb energia-tartalmú takarmányozás szignifikánsan magasabb tejtermelést eredményezett (P<0.001), és jobb szaporasági mutatókkal is járt, de ez utóbbi különbség statisztikailag nem igazolható (P>0.3). A VFVK-k előfordulására ugyanakkor az energia-különbség ebben az esetben nem volt hatással.

Provsynchot követően az energia hiány (napi kétszeri és háromszori fejés) szaporodásra gyakorolt hatásának felmérése.

A vizsgálatokat két, hasonlóan magas tejtermelésű telepen végeztük 2010-ben. Mindkét telepen a korai laboratóriumi vemhességvizsgálatot alkalmazzák. A telepeken 6-6 alkalommal (vagyis havonta felváltva) végeztünk rektális ultrahang vizsgálatokat a VFVK-k előfordulásának felmérésére.

A napi kétszeri fejest alkalmazó üzemből 2010-ben összesen 548 minta érkezett korai vemhességvizsgálatra, melyből 280 (51.1 %) vemhesnek bizonyult. A 60. napi vemhességvizsgálaton 60, korábban vemhes állat üresnek bizonyult, a magzatvesztés mértéke

tehát 21.4 % volt. Az átlagos tejtermelés ebben az üzemben 32.8 kg/tehén/nap volt, míg az átlagos kondíció 2.9 volt. Rektális ultrahang-vizsgálatot összesen 108, 40-60 napja ellett, Provsynch protokoll alapján kezelt állatnál végeztünk, melyek közül 57 esetben találtunk valamilyen VFVK-t (52.8 %).

A napi három fejest alkalmazó üzem esetében 2010 folyamán összesen 334 minta érkezett a laboratóriumba, melyek közül 129 bizonyult vemhesnek (38.6 %). A magzatvesztés mértéke ebben az üzemben 14.7 % volt, az átlagos tejtermelés 36.2 kg/tehén/nap, az átlagos kondíció 2.8 volt. Rektális ultrahang vizsgálatokat összesen 78, 40-60 napja ellett, Provsynch protokoll alapján kezelt állatnál végeztünk, melyek során VFVK-t összesen 42 esetben találtunk (53.8 %). Az adatok statisztikai értékeléséhez Fischer-tesztet és T-próbát használtunk.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a háromszori fejes esetén szignifikánsan alacsonyabb volt a vemhesülés ($P < 0.001$), de tejtermelés magasabb ($P < 0.001$). Kétszori és háromszori fejes esetén azonban nem volt statisztikailag különbség a magzatvesztés gyakorisága és a VFVK-k előfordulása között ($P > 0.13$).

A kutatási eredmények összefoglalása, a kutatási eredmények fényében javaslat a vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek (VFVK) lehetséges nevezék-tanára, kialakulásuk lehetséges oktana, és javaslat a kezelési módszerekre

A petefészekben található, a normál ciklus során általában nem manifesztálódó képleteket meghatározó irodalmi definíciók, valamint a gyakorlati körülmények között (ultrahanggal) diagnosztizált formák sokszor nincsenek összhangban, ezért úgy látszik, hogy a nevezék-tan pontosításra szorul.

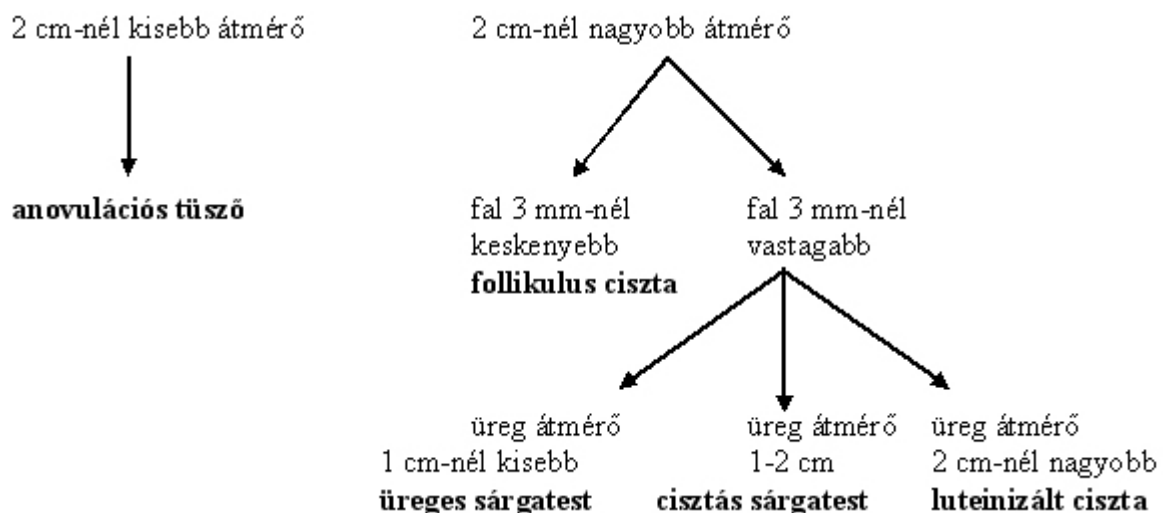
Ezek a petefészek-képletek alapvetően két csoportra oszthatók: az ovuláció nélkül (anovulációs) és ovulációt követően (ovulációs) kialakult képletekre.

Az **anovulációs** képletek között az anovulációs tüszők átmérője kisebb, mint 2 cm, falvastagságuk nem haladja meg a 1.5 mm-t, míg a folliculáris cisztákra jellemző átmérő meghaladja a 2 cm-t, de a falvastagságuk kisebb 3 mm-nél. A luteális ciszták átmérője nagyobb, mint 2 cm, falvastagságuk pedig meghaladja a 3 mm-t. *Makroszkópos* képen a képletek között méretbeli (a folliculus és luteális ciszta mérete nagyobb, átmérője 2 cm-t meghaladja), illetve a fal belső felületén található sárgás, foltszerűen elhelyezkedő kiemelkedő területek előfordulásában van különbség (luteinizált területek – ez főként a luteális ciszta jellemzője). Az anovulációs tüsző mérete (max. 2 cm) és falvastagsága alapján jelenleg nem sorolják a cisztás elváltozások közé, de gyakori előfordulása, vastag, kötőszövetes fala és (vizsgálataink alapján) jelentős ösztadiol-termelése miatt fokozottabb figyelmet érdemelne. A petefészekben perzisztáló, ultrahanggal látható vastagságú fallal rendelkező fel nem repedt, nem luteinizált falú tüsző ivarzáshoz hasonló tüneteket okoz, és ezért a sokszor eredménytelen termékenyítések hátterében valószínűsíthetően gyakran előfordul. *Szövet-tani* vizsgálattal az anovulációs képletek közötti alapvető különbség a luteinizált területek meglétében vagy hiányában illetve azok kiterjedtségében van: a folliculus ciszták falszerkezetében ugyan aktívan hormontermelő sejtek a jellemzők, de luteinizált sejtek csak kis számban lehet találni (elképzeltető, hogy ezek átmeneti formák). Az anovulációs tüszők szövettani megjelenése a harmadlagos tüszőkhöz hasonló, azzal a különbséggel, hogy falában a kötőszövet megvastagodott, valamint a granulosa és theca sejt rétegek leválhatnak.

A luteinizált ciszták falának belső felületén ugyanakkor változóan vagy a granulosa rétegben vagy a theca interna rétegben luteinizált sejtek, kisebb-nagyobb összefüggő területeken előfordulnak. A luteinizált, folliculus cisztákból és anovulációs tüszőkből aspirált folyadékban ill. a vérplazmában az ösztadiol koncentrációja magas, a progeszteron koncentrációja alacsonyabb, mint az ovulált képletek esetén.

Az **ovulációt** követően kialakult képletek az üreges és a cisztás sárgatest. Az üreges sárgatest olyan sárgatesthez hasonló ultrahangos képet mutató forma (átmérője 2 cm-nél nagyobb), amiben kisebb-nagyobb, folyadékkal telt üreg látható (max. 1 cm átmérőjű). A sárgatest ciszta szintén az ovulációt követően kialakult képlet, méretben hasonló az üreges sárgatesthez, de ürege átmérője 1-2 cm, a falvastagsága pedig nem éri el az 1 cm-t. *Makroszkópos* vizsgálattal mindkét forma hasonló (ovulációs papilla látható a képlet felületén, rámettszve élénksárga szövet tűnik elő, a képlet belső felületén szürkésfehér, változó vastagságú réteggel) a különbség a falvastagságban van. *Szövettani* vizsgálattal a sárgatesthez hasonló, trabekuláris szerkezetben elhelyezkedő lutein sejtek láthatók, azonban a képlet falának belső felületén az üreges sárgatestben keskenyebb, a sárgatest cisztában vastagabb kötőszövetes réteg figyelhető meg, valamint az aspirált folyadékban a progeszteron koncentráció is különbözik. A kötőszövet jelenléte ezeknek a képleteknek az üreg felőli részén semmiképpen nem tekinthető fiziológiásnak. Az, hogy a kötőszövet miért alakul ki még nem tisztázott (gyaníthatóan a folyadék nyomása az üreg felől szerepet játszik benne), de ez azt is bizonyíthatja, hogy az üreges, ill. cisztás sárgatest esetleg kóros képlet.

Csupán rektális vizsgálattal a képleteket az ovulációs papilla tapintásával ill. az ultrahangos képen látható méretekkel (teljes átmérő, üreg átmérő, falvastagság) is elkülöníthetőek, ha bár nehezebb a diagnózis felállítása. Amennyiben az ovulációs papilla nem biztosan tapintható, támpontot a képletek mérete ad. A diagnózis felállítására vonatkozó támpontok a 17. ábrán láthatók.



17. ábra: A vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek elkülönítése azok méretei alapján

A vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek kialakulása több okra is visszavezethető.

1. Vizsgálataink alapján a *méhgyulladással terhelt* állatok között szignifikánsan ($P < 0.001$) magasabb arányban fordultak elő VFVK, mint az egészséges állatok esetében. A termékenyítést követő időszakban történt vizsgálatok alapján, a nem vemhesült tehének között szignifikánsan ($P < 0.001$) magasabb arányban találtunk VFVK-t.

2. Azok a VFVK-val diagnosztizált tehének nem vemhesültek a kísérlet időtartama alatt, amelyek magasabb átlagos tejtermelést produkáltak és vérplazmájuk *NEFA koncentrációja* több esetben is meghaladta a 0.4 mmol/l-es élettani határértéket, azaz az energia-bevitel és felhasználás nem volt egyensúlyban és szervezetükben ennek kompenzálására zsírt mobilizáltak. Ezzel összhangban a télen illetve nyáron vizsgált állatok esetében is megállapítható, hogy a magas plazma NEFA koncentráció összefüggésbe hozható a

vemhesülés elmaradásával ill. a VFVK-k kialakulásával is. A vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek aspirációs vizsgálata alapján valószínűsíthető, hogy az üreges sárgatestekből leszívott folyadék NEFA koncentrációja a többi képlethez képest magasabb (statisztikailag nem igazolható a kis esetszám miatt). Ezek alapján egyértelműnek tűnik, hogy a vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek kialakulása összefüggésbe hozható a méhproblémákkal vagy a vérplazma NEFA koncentrációjának emelkedésével is.

3. Háromszori fejés (azaz magasabb beviteli energia igény) esetén szignifikánsan alacsonyabb a vemhesülés ($P < 0.001$), de tejtermelés szignifikánsan magasabb ($P < 0.001$). Ugyanakkor a kétszeri és háromszori fejés esetén nincs különbség a magzatvesztés gyakorisága és a nem szokványos petefészek képletek előfordulása között ($P > 0.13$). Ennek hátterében ugyanis a post partum időszak involúciós zavarai is állhatnak. Hasonló a Provsynch protokollt követő termékenyítések eredménye is: ha a magasabb energia-tartalmú takarmányozási igényt kielégítik, szignifikánsan magasabb tejtermelést eredményez ($P < 0.001$), és jobb szaporasági mutatókkal is jár, bár ez a különbség statisztikailag nem igazolható ($P > 0.3$), amit szintén befolyásolhat az involúció (általunk ebben a kísérletben nem vizsgált) állapota. Az évszak hatását a Provsynch protokollt követő vemhesülési eredményekre igazolni lehetett (magas környezeti hőmérséklet esetén rosszabb), a VFVK-k előfordulására viszont nem.

A vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek sokrétűen képesek negatív módon befolyásolni a szaporodást.

1. Amennyiben a vemhességet üreges sárgatest tartja fenn, nagyobb arányban tételezhető fel a késői magzatvesztés, mint nem üreges sárgatest esetén. Vizsgálataink során 14 esetben üreges sárgatest tartotta fent a vemhességet a termékenyítéseket követő 28-32. napon elvégzett ultrahangos vemhességvizsgálatkor, de a 60. napon történt kontroll vemhességvizsgálatnál már 6 esetben (43 %) magzatvesztés történt, további 8 esetben (57 %) pedig a vemhességet már üreg nélküli sárgatest tartotta fent. Ez arra utalhat, hogy a vemhesség fenntartásában az üreges sárgatestek kisebb hatékonyságúak (azaz nem feltétlenül képesek funkciójukat ellátni), ugyanakkor az üreg jelenléte nem zárja ki a vemhesség fennmaradását sem, hiszen a vemhes állatokban az üreg idővel eltűnt.

2. Az anovulációs tüszők és luteális cisztákkal diagnosztizált tehenekben gyakran megfigyelt ivarzáshoz hasonló tünetek a két képlet magas ösztradiol-termelésére vezethető vissza. Vizsgálataink során az anovulációs VFVK-k aspirátumában átlagosan 3-4-szer magasabb ösztradiol-koncentrációt mértünk, mint az ovuláció előtt álló (Graaf) tüszők esetében.

3. Amennyiben az ellést követően a petefészekeken hosszabb-rövidebb ideig folyamatosan VFVK-k találhatók, nehezen alakul ki a ciklusos petefészek-működés, és kisebb valószínűséggel vemhesülnek a tehenek (kísérletünk ideje alatt követett tehenek közül egy sem vemhesült).

Megállapítható, hogy a vastag fallal rendelkező folyadék tartalmú petefészek képletek kezelése prosztoglandin injekcióval ($PGF_{2\alpha}$) hatékony lehet.

1. Az üreges sárgatestek ill. (hasonló eredetük és szerkezetük alapján a sárgatest ciszták) egyszeri i.m. adott $PGF_{2\alpha}$ -val történő kezelése, a normál ciklusból származó sárgatestek kezeléséhez hasonlóan eredményes lehet a képlet luteolízise szempontjából. Sárgatest kezelését követően szignifikánsan magasabb ($P < 0.05$) vemhesülési arány érhető el, mint az üreges sárgatest kezelésekor. Mindez arra utal, hogy bár az üreges sárgatesttel rendelkező tehenek szaporodási képessége csökkent, de kezelésük $PGF_{2\alpha}$ -val eredményes lehet.

2. Follikulus- és luteális ciszták egyszeri i.m. adott $PGF_{2\alpha}$ -val történő kezelése után a képlet visszaalakulása sok esetben bekövetkezik még a klasszikus kategorizálás alapján follikulus cisztáknál is, de szignifikánsan magasabb a luteális ciszták esetében. Mivel mindkét csoport egyedei zömében reagálnak a PG kezelésre, valószínűsíthető, hogy nem csak a luteális ciszták tartalmaztak lutein sejteket (amit a szövettani vizsgálatok is alátámasztottak).

Irodalomjegyzék

- 1) Brito L.F.C., Palmer C.W: Cystic ovarian disease in cattle. Large animal veterinary rounds 4(10) 2010. http://www.larounds.ca/crus/laveng_1204.pdf
- 2) McEntee K.: Reproductive pathology of domestic mammals. Chapter 4: Cysts in and around the ovary. Academic press Inc. San Diego, California 92101. 1990., pages 52-59.
- 3) Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W. (editors): Veterinary reproduction and obstetrics (Ninth edition). Elsevier Limited 2009., page 444.
- 4) Thomson, R.G.: Thomson's special pathology/(edited by: McGavin M.D., Carlton W.W., Zachary J.F.), Mosby, Inc., 2001.,Pages: 426-427
- 5) Vanholder T., Leroy J.L.M.R., Van Soom A., Opsomer G., Maes D., Coryn M., de Kruif A.: Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro, Animal Reproduction Science 87:33-44, 2005.
- 6) Zemjanis R.: Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction. The Williams & Wilkins Company Baltimore, 1970. pages 67-69.