

# Przyczyny opóźnionej owulacji u krów\*

Hartwig Bostedt<sup>1</sup>, Zdzisław Boryczko<sup>2</sup>

z Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen<sup>1</sup> oraz Katedry Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie<sup>2</sup>

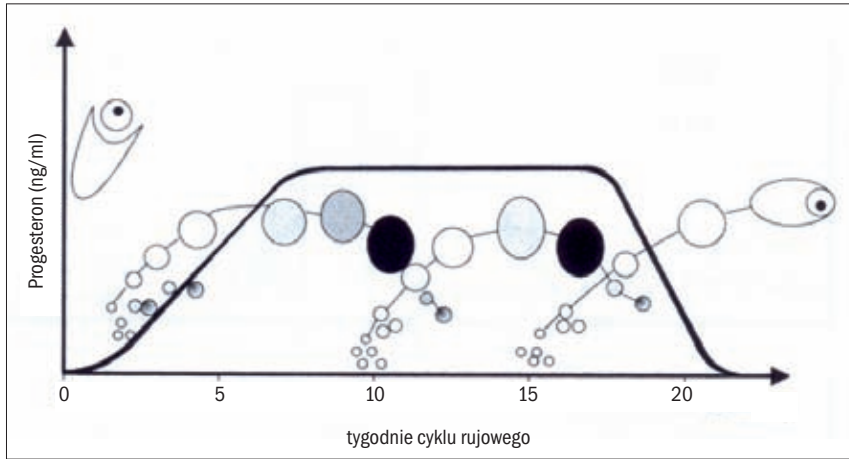
W czasie cyklu rujowego u krów obserwuje się falowy wzrost pęcherzyków jajnikowych (ryc. 1). Najczęściej są to trzy fale rozwoju pęcherzyków, z których tylko w ostatniej zwykle dochodzi do owulacji jednego pęcherzyka (1). U krowy owulacja zachodzi nie podczas rui, jak to najczęściej bywa u innych gatunków zwierząt gospodarskich, lecz na początku fazy porujowej. Fizjologicznie owulacja u krowy występuje pomiędzy 24 a 36 godziną

od początku rui (czyli kilkanaście godzin po jej zakończeniu), natomiast optymalny termin inseminacji, pozwalający na uzyskanie wskaźnika zapłodnialności w granicach 70–80%, zawiera się pomiędzy 8 a 20 godziną od początku fazy rujowej (2). Jeśli zabieg unasienniania jest wykonywany zbyt wcześnie (do 4 godziny) lub zbyt późno (po 24 godzinie od początku objawów rui), wskaźnik zapłodnialności spada poniżej 50%. Z badań Bostedta i wsp. (3) wynika,

że 72% unasiennionych krów owulowało do 24 godzin po zabiegu unasienniania, 19% pomiędzy 25. a 48. godziną, a pozostałe 9% w kolejnych dniach. Jeśli owulacja nie wystąpi w czasie 24 godzin po inseminacji, to skutkiem tego jest widoczne obniżenie wskaźnika zapłodnialności.

U krów w połowie cyklu rujowego (faza lutealna) mogą występować objawy przypominające ruję, uwarunkowane zmianami hormonalnymi i falowym wzrostem pęcherzyków jajnikowych, jednak bez owulacji (taki cykl określany jest mianem cyklu pozornie skróconego). To zjawisko, jak również błędy w wykrywaniu rui są powodem wykonywania u znacznego odsetka krów zabiegu unasienniania w niewłaściwym czasie. Stwierdzone to zostało w badaniach, w których na podstawie analizy stężenia progesteronu w mleku określano prawidłowość wyboru terminu inseminacji (4).

\* Artykuł opracowany na podstawie referatu wygłoszonego 8 maja 2010 r. w Krakowie podczas konferencji pt. „Problemy rozrodu bydła”.



**Ryc. 1.** Schemat przedstawiający falowy wzrost pęcherzyków jajnikowych oraz owulację w czasie cyklu rujowego u krowy. Na obraz wzrostu pęcherzyków nałożono krzywą progesteronu, którego stężenie we krwi w fazie pełnej funkcji ciała żółtego osiąga 6–8 ng/ml (1)

Owulacja w głównej mierze jest procesem sterowanym hormonalnie. W okresie okołowulacyjnym zmiany w stężeniu zarówno gonadotropin przysadkowych, jak i jajnikowych hormonów steroidowych są charakterystyczne i wynikają ze stymulującego działania gonadoliberyny (GnRH). Obserwuje się wzrost stężenia FSH, jak również gwałtowny i znaczny wzrost LH w formie kilkogodzinnego wylewu, poprzedzający owulację. Czas pomiędzy początkiem rui a maksymalnym wylewem LH wynosi  $6 \pm 3$  godziny, natomiast sam wylew LH trwa  $7 \pm 3$  godziny, a odstęp pomiędzy maksimum LH i owulacją  $26 \pm 3$  godziny. U wysoko wydajnych krowek obserwuje się wcześniejszy maksymalny wylew LH, dlatego odstęp od początku rui do owulacji ulega skróceniu. W okresie okołowulacyjnym obserwowany jest też wzrost stężenia estrogenów, natomiast do bardzo niskich wartości spada stężenie progesteronu, co uwidacznia **ryc. 2**. Czynniki wpływające hamująco na sekrecję GnRH są: prolaktyna, kortykoliberyna (CRH),  $\beta$ -endorfina, noradrenalina, interleukiny i inne czynniki wzrostowe, neuroleptyna oraz niedobór energii.

W pęcherzyku jajnikowym trzeciorzędowym dochodzi w trakcie jego wzrostu do wykształcenia jamy pęcherzyka, wypełnionej płynem pęcherzykowym oraz zróżnicowania się komórek i ich warstw w ścianie pęcherzyka. Rozróżnić można trzy rodzaje komórek:

- 1) komórki ziarniste, które produkują płyn pęcherzykowy oraz po owulacji przekształcają się w komórki luteinowe,
- 2) komórki pośrednie odpowiedzialne za transport składników metabolicznych,
- 3) komórki podstawne odpowiedzialne za transformację metabolitów przemiany materii oraz syntezę estrogenów.

W pęcherzykach jajnikowych krowy dochodzi do syntezy hormonów steroidowych. Wysokie stężenie tych hormonów

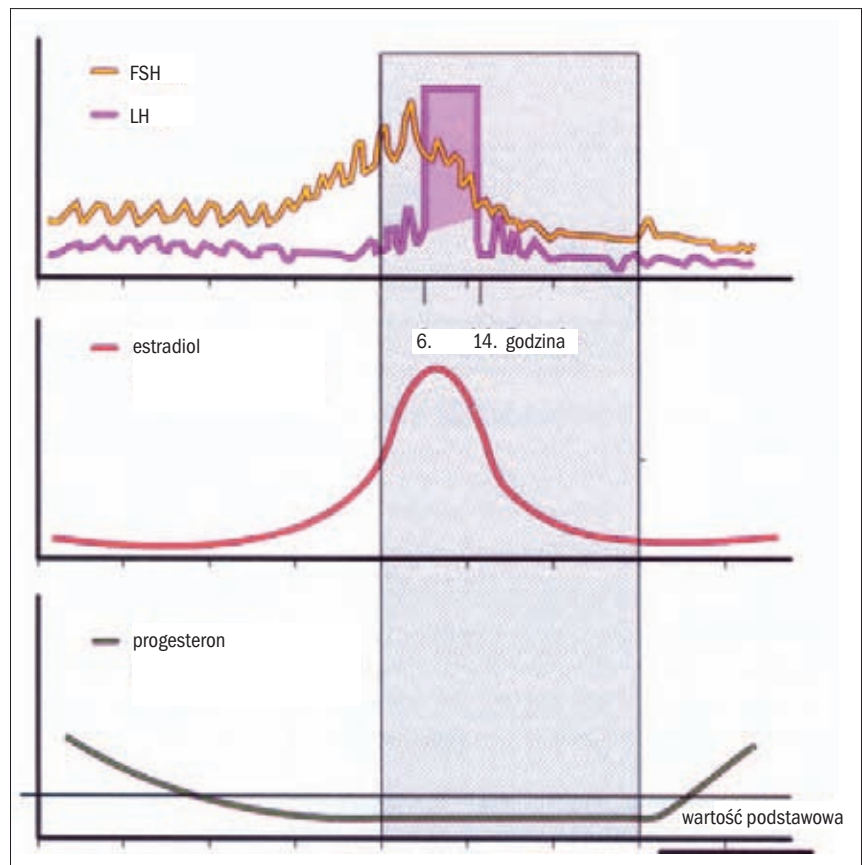
stwierdza się w płynie pęcherzyków jajnikowych. Jest ono zróżnicowane w zależności od średnicy pęcherzyka (5, 6). Zmiany te obrazuje **ryc. 3**. W pęcherzyku jajnikowym, a zwłaszcza w komórkach otaczających oocyt oraz wyścielających jamę pęcherzyka, zachodzą procesy metabolizmu komórkowego. Wyrazem tego jest stężenie składników energetycznych oraz ich metabolitów w płynie pęcherzyków jajnikowych (glukoza i mleczan). Nasilenie metabolizmu tych substancji jest zróżnicowane w zależności od średnicy

### Causes of delayed ovulation in dairy cattle

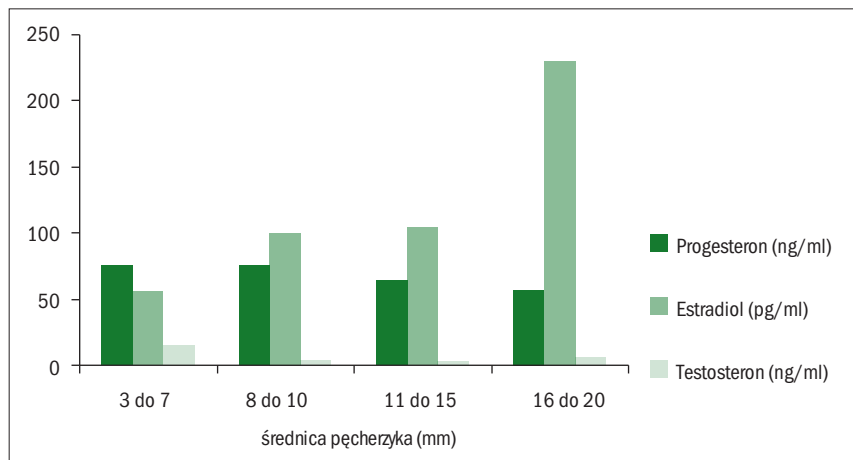
**Bostedt H.<sup>1</sup>, Boryczko Z.<sup>2</sup>**, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen<sup>1</sup>, Department of Large Animal Diseases with Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Science – SGGW<sup>2</sup>

The objective of this research was to present current methods in controlling ovulation disorders in highly productive dairy cattle herds. It has been found that negative energy balance (EB), associated with high milk yield during early lactation can be an important factor in delayed ovulation. Data presented in this paper confirm that in cows with negative EB, glucose concentration is decreased not only in blood but also in ovarian follicle fluid. This may cause the delay in LH release thus influence the onset of ovulation. Highly productive cows are especially prone to this disorder. Such cases need to be supported with glucose infusion in last days before estrus. It has been observed that infusion of 1L of 5% glucose in 19th day of the estrous cycle resulted in the optimization of the reproductive cycle. Management of dairy cattle should include biological and physiological consequences of EB status of highly productive cows to reduce the problem of delayed ovulation and to obtain high fertilization rate.

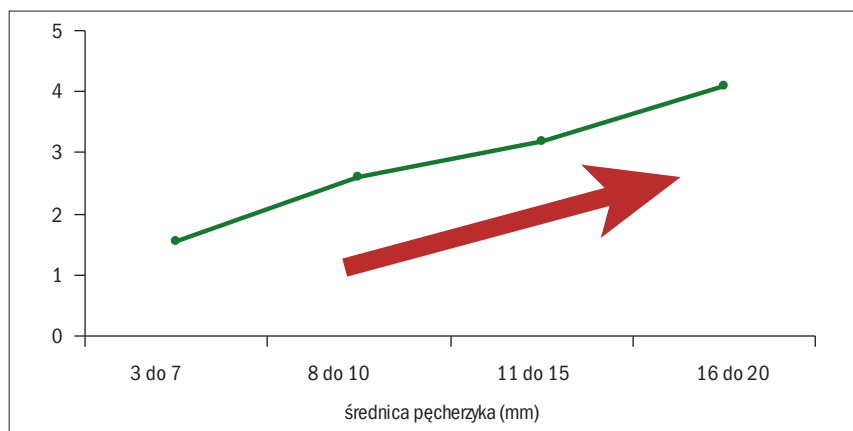
**Keywords:** delayed ovulation, treatment, dairy cattle.



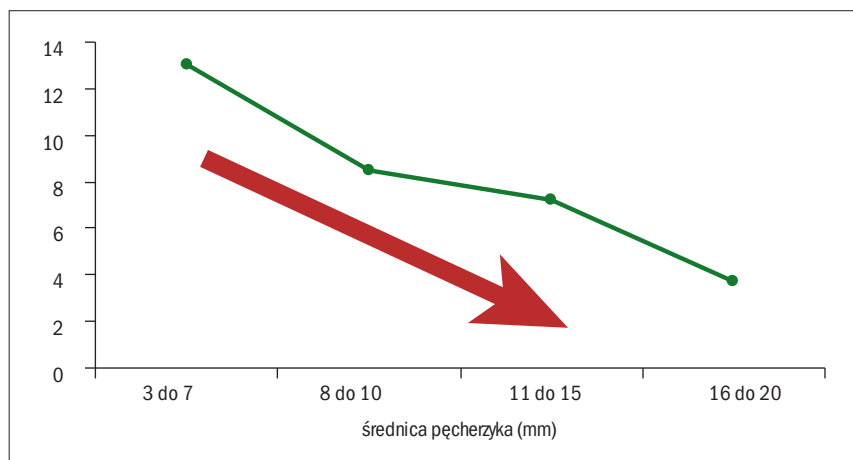
**Ryc. 2.** Schemat przedstawiający stężenie gonadotropin przysadkowych i hormonów steroidowych w okresie okołowulacyjnym (1)



Ryc. 3. Stężenie hormonów steroidowych w zależności od średnicy pęcherzyka jajnikowego (6)



Ryc. 4. Metabolity przemiany materii w pęcherzykach jajnikowych - glukoza (6)



Ryc. 5. Metabolity przemiany materii w pęcherzykach jajnikowych - mleczan (6)

pęcherzyka jajnikowego; różny jest status metaboliczny pęcherzyków jajnikowych małych i dużych. W miarę powiększania się średnicy pęcherzyka obserwuje się wzrost zawartości glukozy oraz

spadek zawartości mleczanu, co przedstawiają **ryc. 4 i 5** (6). Również w stężeniu takich składników płynu pęcherzykowego, jak triglicerydy, kwas  $\beta$ -hydroksymasłowy oraz cholesterol, zaznaczają się wyraźne

Tabela 1. Rodzaje zaburzeń owulacji u krów mlecznych

Krowy mleczne			
Owulacja		Brak owulacji	
1.	Terminowa owulacja 70–75%	1.	Torbiele 5–10%
2.	Opóźniona owulacja 10–22%	2.	Atrezja pęcherzyka 3–5%

różnice w zależności od średnicy pęcherzyka jajnikowego.

Wystąpienie prawidłowej owulacji zależy od:

- terminowego wyrzutu LH,
- powstania odpowiedniego stężenia LH,
- dostatecznej liczby receptorów LH w ścianie pęcherzyka,
- wewnątrzpęcherzykowej syntezy hormonów (maksymalne stężenie estradiolu – E2, minimalne progesteronu P4),
- odpowiedniej zawartości glukozy w płynie pęcherzyka,
- zapoczątkowania procesów lizy w płamce pęcherzyka jajnikowego, jako wyniku działania enzymów oraz pocienienie naczyń włosowatych,
- uwolnienia oocytu otoczonego osłonką przejrzystą i komórkami ziarnistymi.

Do czynników wywierających wpływ na proces owulacji należy zaliczyć:

- sprawność nadrzędnych ośrodków wydzielniczych (leptyna, GnRH),
- pobudzenie sekrecji FSH i LH,
- wewnątrzjajnikową równowagę hormonalną (E2, P4, testosteron – T),
- wewnątrzjajnikowy zrównoważony status metaboliczny,
- uwarunkowania genetyczne.
- kondycję zwierzęcia (body condition score – BCS),
- potencjalną wydajność → stan przemiany materii,
- system utrzymania (np. wpływ światła: 400 luksów/12–16 h),
- sytuacje stresowe (wydzielanie noradrenaliny, kortyzolu).

Istnieje wyraźna korelacja pomiędzy terminem owulacji a wskaźnikiem zapłodnialności, czego dowodzą między innymi wyniki badań Steinhauera (7). Badania te zostały wykonane w stadzie krów mlecznych hereford w wieku powyżej 3 lat, o wydajności 30–40 kg mleka. Ruje były wyraźnie lub bardzo wyraźnie wyrażone. Inseminacje, które przeprowadzono na 324 krowach, były wykonywane przez lekarza weterynarii pomiędzy 14–18 godziną od początku objawów rui. Kontrola owulacji była prowadzona w 16 i 24 godzinie po inseminacji. U 211 krów (65,1%) stwierdzono, że owulacja wystąpiła do 16 godziny po zabiegu inseminacji, natomiast u 113 krów (34,9%) pomiędzy 16 a 24 godziną. Po 6 tygodniach stwierdzono ciążę u 89,1% krów owulujących wcześniej, podczas gdy w grupie z późniejszą owulacją u 68,1%.

Zaburzenia owulacji, do których zalicza się również opóźnioną owulację, są częstym problemem, szczególnie w stadach krów o wysokiej wydajności mlecznej (8, 9). Do innych rodzajów zaburzeń owulacji można zaliczyć występowanie torbiele oraz atrezję pęcherzyków. Ilustruje to **tabela 1**. Występowanie opóźnionej owulacji i innych

zaburzeń owulacji u krów mlecznych jest różnie szacowane, na co ma wpływ wiele czynników (tab. 2; 7, 10, 11). Przyczyn opóźnionej owulacji można się doszukiwać w działaniu czynników endogennych, jak również egzogennych.

Do czynników endogennych można zaliczyć:

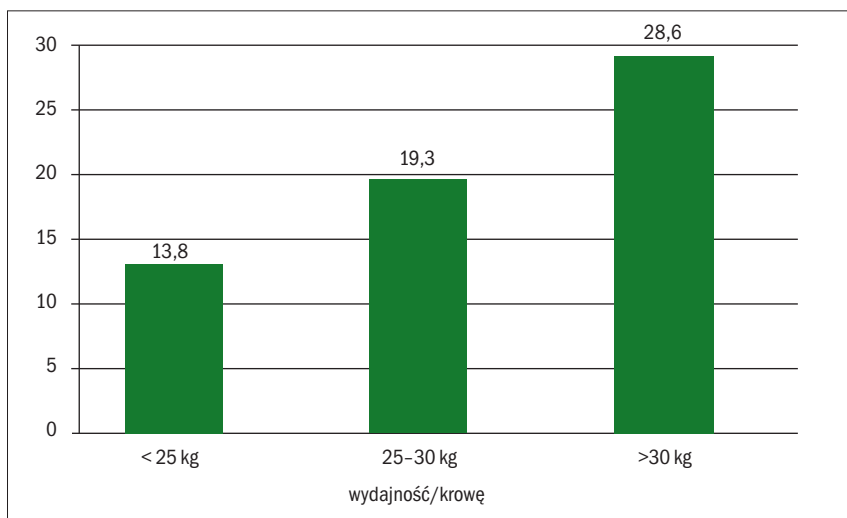
- niedostateczną odpowiedź na działanie stymulujące GnRH, objawiającą się zaburzeniami w syntezie i uwalnianiu LH,
- niedostateczną liczbę receptorów dla LH w ścianie pęcherzyka jajnikowego,
- zaburzenia enzymatycznych procesów owulacji w ścianie pęcherzyka w miejscu płamki,
- zaburzenia metabolizmu w pęcherzyku jajnikowym.

Do czynników egzogennych można zaliczyć:

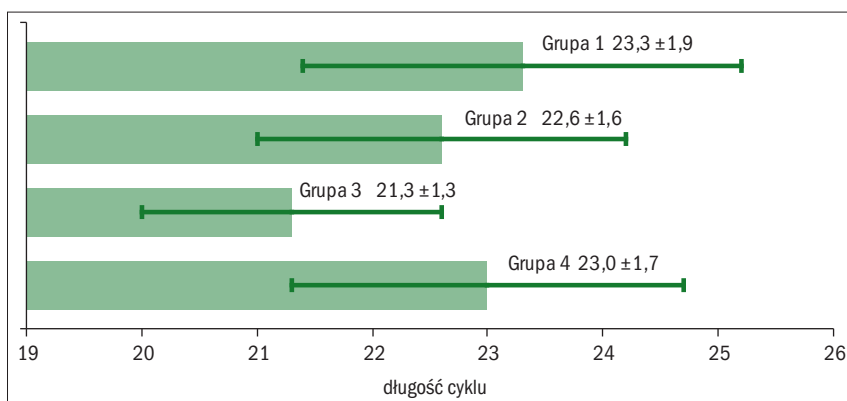
- błędnie wybrany czas inseminacji (?),
- wpływ stresu,
- niedostateczne zaopatrzenie organizmu zwierzęcia w składniki energetyczne,
- niedobór  $\beta$ -karotenu oraz mikroelementów,
- niedostatek światła,
- niewłaściwe warunki utrzymania,
- wpływ klimatu (np. stres cieplny).

Pomiędzy czasem owulacji (opóźnioną owulacją) a aktualną wydajnością dzienną krów stwierdza się wyraźną zależność. Ilustrują to badania na krowach o 3 różnych poziomach wydajności mlecznej. W pierwszej grupie było 87 krów o wydajności dziennej poniżej 25 kg mleka, w drugiej – 88 krów o wydajności 25–30 kg, a w trzeciej – 66 krów dających powyżej 30 kg mleka. W ostatniej grupie stwierdzono najwyższy odsetek zwierząt, u których wystąpiła opóźniona owulacja. Różnice te okazały się statystycznie istotne. Wyniki przedstawia rycina 6. Można założyć, że znaczącą rolę w przypadkach opóźnionej owulacji odgrywa deficyt energetyczny wynikający ze zróżnicowanego (w zależności od wydajności) bardzo dużego zapotrzebowania na glukozę u krów mlecznych, co przedstawia tabela 3 (12). Deficyt ten powoduje zmniejszenie stężenia glukozy we krwi. Wynikiem tego jest niedostateczne zaopatrzenie w glukozę ośrodkowego układu nerwowego, niedoczynność podwzgórza i przysadki, częściowa blokada syntezy i sekrecji GnRH/LH, niedostateczne stężenie glukozy w pęcherzyku jajnikowym, zredukowane przemiany energetyczne (cAMP) oraz zmniejszona synteza estradiolu.

Na korelację pomiędzy egzogennym zaopatrzeniem w węglowodany a endogenną reakcją układu hormonalnego oraz biochemicznymi przemianami w pęcherzyku jajnikowym w cyklu rurowym, a szczególnie w okresie okołowulacyjnym wskazują wyniki badań



Ryc. 6. Zależność pomiędzy aktualną wydajnością dzienną a odsetkiem krów z opóźnioną owulacją. Różnica statystycznie istotna przy  $p < 0,05$



Ryc. 7. Długość cyklu u krów po wlewie glukozy w różnych dniach *prooestrus*. Grupa 1 – cykle spontaniczne, grupa 2 – infuzja 1 litra 5% glukozy w 18 dniu cyklu, grupa 3 – infuzja glukozy w 19 dniu i grupa 4 – infuzja w 20 dniu cyklu. Wysoko istotne statystycznie skrócenie cyklu w grupie 3 ( $p = 0,0077$ )

podjętych w ramach projektu finansowanego przez DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) przez Uniwersytet im. Justusa Liebiga w Giessen przy współpracy SGGW w Warszawie, będące w trakcie opracowania do druku (13). Z badań tych, wykonywanych na krowach z indukowaną oraz spontaniczną owulacją, wynikają

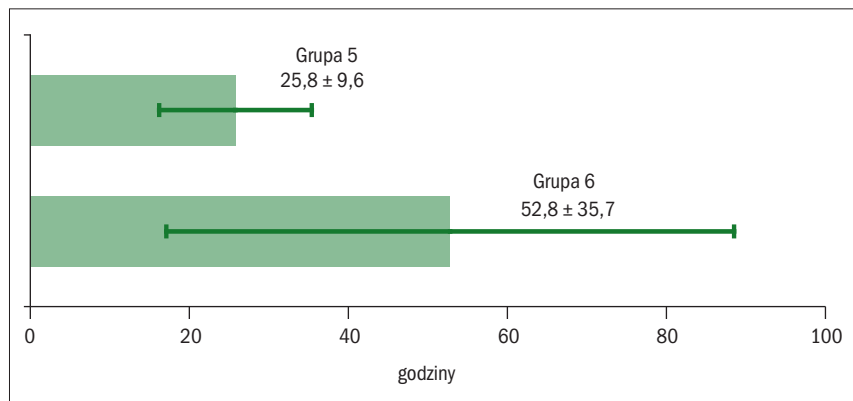
ściśle korelacje pomiędzy stężeniem glukozy, kwasu  $\beta$ -hydroksymasłowego oraz  $17\beta$  – estradiolu w surowicy krwi oraz w płynie pęcherzykowym. Te badania dały podstawę do postawienia hipotezy, że status metaboliczny krowy w rui wpływa na przebieg owulacji. W przeprowadzonych kolejnych badaniach (14)

Tabela 2. Występowanie opóźnionej owulacji u krów mlecznych. Różnice wynikają między innymi z przypadków atrezji pęcherzyków i zespołu torbielowości jajników

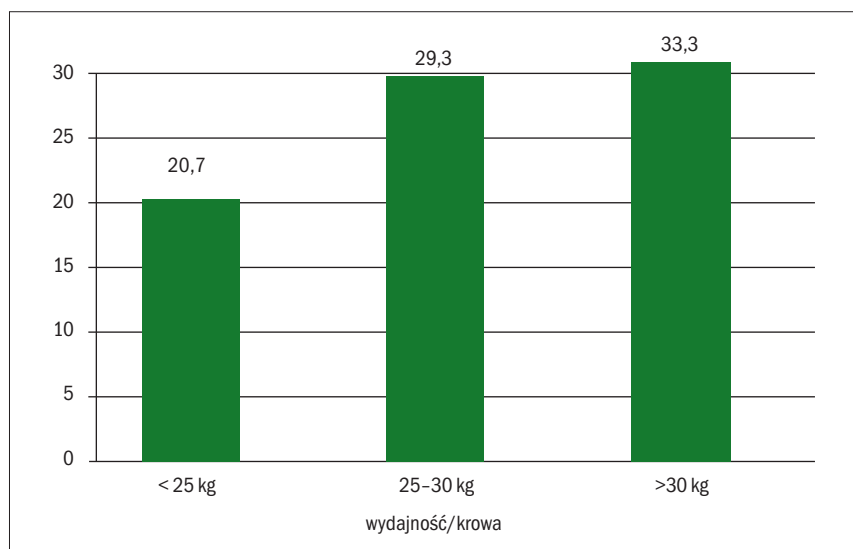
Liczba zwierząt	Prawidłowa owulacja (%)	Opóźniona owulacja (%)	Autor
850	61,3	31,3	Bostedt (1976)
690	68,1	22,5	Steinhauer (2000)
304	48,2	32,9	Braun i Sarmiento (2004)

Tabela 3. Zapotrzebowanie na glukozę u krów w zależności od poziomu wydajności mlecznej (12)

Zapotrzebowanie na glukozę u krów mlecznych	
Wydajność dzienna (kg)	Glukoza – potrzeby (kg)
30	2,0-2,4
40	2,8-3,2
50	3,2-4,0



Ryc. 8. Odstęp czasu w godzinach pomiędzy infuzją glukozy 5% (1 litr) w 19 dniu cyklu a maksymalnym wylewem LH w grupie 5 oraz w grupie 6, w której zamiast glukozy podano 0,9% roztwór NaCl



Ryc. 9. Odsetek krów z ketonurią (ciała ketonowe powyżej 5 mmol/l) w trzech różnych przedziałach wydajności mlecznej. Różnica statystycznie istotna przy  $p < 0,05$

stwierdzono, że infuzje glukozy w fazie *prooestrus* mają wpływ na objawy rui, czas owulacji i mechanizmy sterowania endokrynnego u krów w okresie wysokiej laktacji. Optymalną długość cyklu, prawidłowe nasilenie objawów oraz optymalny w czasie wylew LH, uzyskiwano po dożylnym wlewie 1 litra 5% roztworu glukozy w 19. dniu cyklu (ryc. 7 i 8).

Wpływ na opóźnienie owulacji ma też ketoza. U krów ze stwierdzoną hipoglikemią i ketonurią (obecność ciał ketonowych powyżej 5 mmol/l), owulacja występowała zwykle po 24 godzinach od zabiegu unasienniania. Z cytowanych wcześniej badań i późniejszych (15) wynika, że wraz z większym stężeniem glukozy w osoczu wzrasta przypuszczalnie odsetek owulacji w prawidłowym czasie. Każda krowa, u której stwierdzono hipoglikemię i ketonurię owulowała później niż 24 godziny po inseminacji (ryc. 9).

W stadach problemowych, w których występuje zjawisko opóźniającej się owulacji, można stosować indukację hormonalną. Jako postępowanie o charakterze profilaktycznym jest to najskuteczniejsza metoda.

W tym celu stosowane są 2 hormony: różne syntetyczne analogi GnRH, ewentualnie hCG (16). Aby indukacja owulacji była skuteczna, wymienione preparaty winny być podane w czasie pomiędzy 3 a 14 godziną po rozpoczęciu rui, przed zabiegiem inseminacji. Wynikiem takiego działania jest wzmocnienie przedowulacyjnego wylewu LH. Stosując tę metodę, można uzyskać poprawę wskaźnika zapładnialności o kilka procent.

W przypadkach przedłużającej się rui, która może wynikać z opóźniającej się owulacji, zalecana jest reinseminacja w odstępie 24 godzin od pierwszego zabiegu unasienniania.

W świetle nowych, przedstawionych w tym opracowaniu danych wynika, że znaczący wpływ na zjawisko opóźnionej owulacji ma deficyt energetyczny, szczególnie wyrażający się obniżonym stężeniem glukozy we krwi, a także w płynie pęcherzyka jajnikowego, powodujący zaburzony metabolizm komórek wewnątrz pęcherzyka. Problem ten występuje w wyniku niezbilansowania się energii i szczególnie silnie zaznacza się u krów o wysokiej wydajności

mlecznej. W takich przypadkach wlew glukozy w ostatnich dniach fazy przedrujowej korzystnie oddziałuje na przebieg cyklu. Wpływ na zjawisko opóźnionej owulacji może wywierać szereg innych czynników, które opisano wyżej. Należy podkreślić, że opóźniona owulacja częściej zaznacza się u wysoko wydajnych krów, które wymagają szczególnych zasad postępowania z nimi i uwzględnienia nowości naukowych znajdujących zastosowanie w praktyce hodowlanej.

## Piśmiennictwo

- Bostedt H.: *Fruchtbarkeits-management beim Rind*. DLG-Verlags-GmbH, Frankfurt am Main. 2006.
- Sachsenröder H.: *Untersuchungen zum optimalen Besamungszeitpunkt in der Brunst des Rindes und Versuche zur Beeinflussung der Ovulation durch Gonadotropin-Releasinghormon*. Vet.-med. Diss., HU, Berlin. 1985.
- Bostedt H., Kuhn A., Schädlich R., Schwarz G.: *Ovulationskontrolle beim Rind im Rahmen der artifiziiellen Insemination und ihre Bedeutung für das Graviditätsergebnis*. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 1977, **90**, 113-116.
- Janowski T., Chmiel J., Kucharski J.: *Poziom progesteronu w mleku, jako wskaźnik trafności wyboru dnia inseminacji*. *Medycyna Wet.* 1985, **41**, 678-680.
- Boryczko Z., Bostedt H., Hoffmann B.: *Comparison of the hormonal and chemical composition of the fluid from bovine ovarian follicles and cysts*. *Reprod. Dom. Anim.* 1995, **30**, 36-38.
- Boryczko Z., Bostedt H., Hoffmann B., Ptaszyńska M.: *Chemical and hormonal components of ovarian follicular fluid in cows*. *Arch. Vet. Polon.* 1996, **1-4**, 31-38.
- Steinhauer W.: *Inzidenz von Ovulationsstörungen in Milchrinderbeständen mit herabgesetzter Fertilitätslage*. Vet.-med. Diss., Justus Liebig Universität. Giessen. 2000.
- Max A.: *Zaburzenia owulacji u krów*. *Życie Wet.* 2002, **77**, 464-467.
- Raś A., Glazer T., Woźniak Z., Studziński T., Zduńczyk S.: *Wpływ preparatów zawierających syntetyczny GnRH na zaburzenia owulacji i wyniki zacieleni u krów mlecznych*. *Medycyna Wet.* 1991, **47**, 304-306.
- Bostedt H.: *Ovulationskontrolle beim Rind im Rahmen der artifiziiellen Insemination und seine Bedeutung für das Graviditätsergebnis*. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 1977, **90**, 113-116.
- Braun J. und Sarmento S.: *Verzögerte Ovulation beim Rind – eine Feldstudie*. *Tierärztl. Umschau.* 2004, **59**, 64-68.
- Flachowsky G., Meyer U., Lezien P.: *Zur Fütterung von Hochleistungskühen*. Übers. *Tierernährung.* 2004, **32**, 103-147.
- Bostedt H., Boryczko Z.: *Bericht über das DFG geforderte Forschungsvorhaben 4-36 Nr. POL 1717101. Analyse des Fluids biologisch gereifter oder durch artifiziielle Luteolyse provozierter boviner Follikel beim Rind*. 2007.
- Groeger S.: *Untersuchungen zur Beeinflussung des Ovulationszeitpunkten beim lakterienden Rind durch intravenöse Glukosegaben im Proöstrus*. Vet.-med. Diss. Justus Liebig Univ. Giessen. 2008.
- Wehrend A., Bostedt H.: *Delayed ovulation in dairy cows: Influence of actual energy supply and dairy milk yield*. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 2005, **147**, 83.
- Leidl W., Bostedt H., Lambrecht W., Prinzen R., Wendt V.: *Zur Ovulationssteuerung mit einem GnRH – Analogen und hCG bei der künstlichen Besamung des Rindes*. *Tierärztl. Umschau.* 1979, **34**, 546-555.

Prof. dr hab. Dżyszaw Boryczko, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 100, 02-797 Warszawa