

после родов (anoestrus) или слизисто-гнойное и гнойное воспаление матки. Животных разделили на 3 группы в зависимости от клинического состояния генеративной системы и способа терапии. Коровы I группы получили препарат Oestrophan (аналог P_gF₂ альфа), II — Oestrophan и в фазе охоты внутриматочно препарат Nestrepina, животные же III группы только средство Nestrepina 2—3-кратно в зависимости от интенсивности процесса болезни. Oestrophan очень эффективен в лечении anoestrus на фоне функциональных нарушений яичников, так как оплодотворилось 89,7% коров. Более положительные результаты получили в лечении E2—E3 у коров II группы. По сравнению с III группой существенные или высоко существенные различия касались процента оплодотворений (84,6 и 64,3%), показателя беременности (1,54 и 1,78) и числа дней от окончания терапии до оплодотворения коров (в среднем 34±14,7 и соответственно 53±20,5 дня).

Samborski Z., Rauluszkiewicz S., Bocianek K., Mazur O. — **The application of the drugs — Oestrophan inj. and Nestrepina comp. endofoam Spofa — in the**

treatment of infertility and uterus diseases in the cow

Fifty eight cows of lowland black-and-white breed with the signs of the lack of heat within 3 months since parturition (anoestrus) or with muco-purulent and purulent uteritis were treated in the following way: a — the cows of the first group received Oestrophan (analogue of P_gF₂ alpha), of the second one — Oestrophan and during heat Nestrepin intrauterinally, and of the third group — only Nestrepin twice or three times dependently upon the degree of a disease. Oestrophan proved to be effective in the treatment of anoestrus due to functional disturbances of ovaria since 89,7% of the cows became pregnant. Better effects were noted in the second group of cows following treatment with E2-E3. Compared with the third group significant differences or highly significant differences in respect to the percentage of calving (84,6 and 64,3%) were found. The index of pregnancy was 1.54 and 1.78, and the number of days from therapy accomplishment to calving of the cows 34 ±14.7 and 53 ±20.5, respectively.

KAROL MARCINKOWSKI, JÓZEF DEJNEKA, STANISŁAW RAULUSZKIEWICZ

Wpływ oksytocyny i progesteronu na motorykę macicy krów — biorczyń, przygotowanych do transcerwikalnego przeszczepu zygoty^{*)}

Katedra Patologii Rozrodu Zwierząt i Klinika Położnicza AR Wrocław, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Krowy, których się używa do niechirurgicznego transferu zarodków (dawczyni i biorczyni), mają cykl jajnikowy zazwyczaj zsynchronizowany przy pomocy luteolitycznej prostaglandyny (2, 4, 5, 6). Domięśniowe podanie P_gF₂alfa w okresie czynnego ciała żółtego powoduje spadek stężenia progesteronu (P4), który wg Barcikowskiego (2) osiąga najniższy poziom między 3 a 4 dobą po iniekcji. Przy równoczesnym wzroście stężenia estrogenów zwykle następuje wtedy jajczkowanie i rozwija się ponowny cykl jajnikowy. Barcikowski (2) podaje, że maksymalne stężenie P4 przypada na 14—15 dzień cyklu, tj. na późne stadium fazy *dioestrus*. Niechirurgiczny przeszczep zygoty jest zazwyczaj wykonywany, kiedy zarodek znajduje się w stadium blastocysty (12), tj. 6—8 dnia cyklu, czyli we wczesnym okresie *dioestrus*. Zachodzi obawa, że w tym okresie, kiedy poziom p4 we krwi nie jest najwyższy (2, 3, 10) może w części przypadków następować nadmierne motoryczne pobudzenie macicy biorczyni — wywołane działaniem oksytocyny, wyzwolonej przez zadrażnienie szyjki macicznej w czasie wprowadzania zygoty — i ekspulsja zdeponowanego zarodka. We wcześniejszych doświadczeniach (8, 9, 18) wykazywaliśmy specyficzne reakcje mo-

toryczne macicy w różnych jej stanach, również uczulonej stilboestrem i w zależności od rozmaitych bodźców, jak również możliwości znacznego ograniczenia jej kurczliwości przez egzogenne podanie P4.

Celem pracy było prześledzenie motoryki macicy krów przeznaczonych na biorczyni zygot w 8 dniu cyklu jajnikowego stymulowanego cloprostenolem (analog P_gF₂alfa Estrumate I.C.I.) oraz sprawdzenie wpływu egzogennej oksytocyny i P4 na zmianę kurczliwości macicy tych krów.

Materiał i metody

Doświadczenia przeprowadzone na 6 krowach ncb w wieku 4—8 lat, o masie ciała 450—550 kg i ze zdrowym narządem płciowym. W 12—13 dniu cyklu jajnikowego tych zwierząt, zsynchronizowanego przy pomocy cloprostenolu, aplikowano im domięśniowo znowu 0,5 mg cloprostenolu, uzyskując w trzy dni później ruję, po której następowało jajczkowanie. W 8 dniu w ten sposób zainicjowanego kolejnego cyklu jajnikowego przeprowadzono uterograficzne badania kurczliwości macicy. Uterografię wykonano metodą balonikową na drodze transmisji powietrznej. W tym celu do trzonu macicy wprowadzano poprzez pochwę i szyjkę maciczną cienki balonik gumowy, umieszczony na cewniku plastikowym. Wolny jego koniec łączono przewodem gumowym z bębenkiem Marey'a i zestaw ten wypełniano powietrzem do ciśnienia 80 mm H₂O (0,8 kPa). Po zapisaniu przez 30—40 min. krzywej wyjściowej skurczów macicy po-

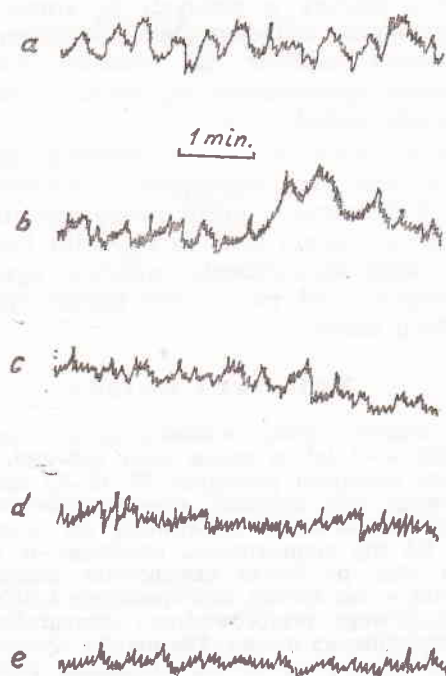
*) Praca wykonana w problemie MR.II.10.

dawano krowom domięśniowo 4 j.m. oksytocyny Spofa i po 15 min. ponownie rejestrowano motorykę macicy przez 45–60 min. Następnie badanym zwierzętom podawano domięśniowo 500 mg progesteronu — Polfa i od 1 do 6 godzin po iniekcji znowu zapisywano ruchy macicy. Po tym czasie każdej krowie aplikowano domięśniowo jeszcze raz 4 j.m. oksytocyny i po 15-minutowej przerwie rejestrowano w dalszym ciągu motorykę macicy przez 30 min. Ocenę uterogramów przeprowadzano podobnie jak w naszych wcześniejszych doświadczeniach (8, 9, 18), porównując zachodzące zmiany w częstotliwości i jakości skurczów macicy z krzywą wyjściową, uzyskaną przed podaniem oksytocyny i P4.

Wyniki i omówienie

Uzyskane uterogramy wykazały, że motoryka macicy krow pod wpływem egzogennej oksytocyny w 8 dniu cyklu jajnikowego, zainicjowanego domięśniowym podaniem 0,5 mg analogu P_{gF}₂ alfa, była dostatecznie sprawna. Rejestrowano często skurcze o średniej amplitudzie i zmieniającym się tonusie. Dopiero 6 godz. po domięśniowym podaniu 500 mg P4 kurczliwość macicy została u trzech krow wygaszona, a również u trzech znacznie ograniczona. Ponowne i.m. podanie w tym czasie 4 j.m. oksytocyny jedynie nieznacznie pobudzało ruchową czynność badanego narządu. Opisane zmiany przedstawia ryc. 1.

Rowson i wsp. (cyt. 17) są zdania, że transfer zygoty poprzez szyjkę maciczną bioreczyny powoduje zadrażnienie, stanowiące bodziec uwalniający oksytocynę z tylnego płata przy-



Ryc. 1. Uterogram krowy — bioreczyny blastocyst. Motoryka macicy w 11 dniu po cloprostenu (analog P_{gF}₂ alfa — Estrumate) 0,5 mg i.m.

Objaśnienia: a — zapis wyjściowy, b — 15 min. po podaniu i.m. 4 j.m. oksytocyny, c, d — 3 do 6 godz. po podaniu i.m. 500 j.m. progesteronu, e — 15 min. po powtórznym podaniu i.m. 4 j.m. oksytocyny.

sadki mózgowej. To oczywiście może wywołać wzmoczoną aktywność macicy i wypchnięcie wprowadzonego do niej zarodka. Uzyskane przez nas uterogramy wykazały, że u bioreczyn w 8 dniu cyklu jajnikowego nie występowała jeszcze pełna „blokada” progesteronowa (7), co świadczyłoby o stosunkowo niskim stężeniu P4 w osoczu. Jackson i wsp. (15) podają, że u krow z cyklem jajnikowym zsynchronizowanym przy pomocy cloprostenu (Estrumate) obserwuje się przedłużony okres utrzymywania się P4 (ponad 8 dni) na niskim poziomie. Podobnego zdania są Beal i wsp. (3). Bamberg i wsp. (1) podkreślają duże wahania indywidualne P4 w 7 dniu cyklu. W badaniach Haslera i wsp. (13) wykonanych u 528 bioreczyn, jałówek i krow, poziom P4 w osoczu w 8 dniu cyklu był średnio niższy niż 1,0 ng/ml.

Uzyskane przez nas wyniki co do aktywności macicy pod wpływem P4 są zgodne z rezultatami badań u owiec, które wykonywali Ley i Porter (16) oraz Fleet i Heap (11). Autorzy ci podkreślają wyraźny związek i zgodność zachowania się kurczliwości mięśniówki macicy z poziomem P4 krążącym we krwi. Ley i Porter (16) są zdania, że „blokada” progesteronowa nie pojawia się wcześniej, niż 8–10 dnia po rui. Tymczasem transfer blastocysty jest dokonywany zwykle 6–8 dniu cyklu, zaś Böving (cyt. 11) sugeruje, że również sama blastocysta pobudza aktywność macicy. Biorąc pod uwagę także różne czynniki stresogenne towarzyszące transferowi zarodków, mogące obniżyć poziom P4 w osoczu (14, 19), egzogenna podaż tego hormonu, znacznie ograniczająca motorykę macicy, może dodatkowo wpływać na rezultaty transferu blastocyst. Dokładniejszego określenia wymaga wielkość dawki P4. Zastosowanie przez nas 500 mg Progesteronu — Polfa i.m. nie u wszystkich bioreczyn wywołało pełną „blokade”, co wydaje się mieć związek z ich indywidualnymi dużymi wahaniami poziomu endogennego P4 (1). Niemniej i w tych przypadkach po 6 godz. wystąpiło znaczne ograniczenie wrażliwości macicy na ponownie podaną oksytocynę.

Wnioski

1. Niski poziom stężenia progesteronu (P4) w organizmie krow sprzyja motorycznej aktywności macicy.
2. U krow — bioreczyn, przygotowanych cloprostenu (analog P_{gF}₂ alfa — Estrumate I.C.I) do niechirurgicznego transferu blastocysty stwierdzono w 8 dniu cyklu jajnikowego sprawna kurczliwość macicy pod wpływem oksytocyny.
3. Podanie i.m. bioreczynom 500 mg Progesteronu — Polfa wyhamowuje lub znacznie ogranicza po 6 godz. czynności ruchowe macicy i wrażliwość na oksytocynę.

4. Ograniczanie motoryki macicy biorecipientów może być celowe przy transcerwikalnym transferze blastocysty i może zapobiegać ewent. ekspulsji wprowadzonego zarodka.

Piśmiennictwo

1. Bamberg E., Stöckl W., Arbeiter K., Choi A. S.: Wien. Tierärztl. Mschr. 62, 130, 1975.
2. Marcinkowski B.: Badania nad udziałem prostaglandyny F₂alpha (PgF₂alpha) w regulacji cyklu rujowego u przeżuwaczy. Praca hab., PAN Jabłonna, 1976.
3. Beal W. E., Milvae A. R., Hansel W.: J. Reprod. Fert. 59, 393, 1980.
4. Bosu W. T. K., Doig P. A., Barker A. N.: Can. Vet. J. 22, 59, 1981.
5. Cooper M. J., Dobson H., Furr J. A.: Vet. Rec. 94, 161, 1974.
6. Cooper M. J., Rowson L. E. A.: Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 15, 427, 1975.
7. Csapo A. J.: Am. J. Anat. 98, 273, 1950.
8. Dejneka J., Samborski Z., Rauluszkiewicz S., Marcinkowski K.: Pol. Arch. Wet. 22, 524, 1980.
9. Dejneka J., Samborski Z., Rauluszkiewicz S., Marcinkowski K.: Pol. Arch. Wet. 23, 70, 1981.
10. Dobrowolski W., Snochowski M., Siaszkiewicz M.: Pol. Arch. Wet. 16, 670, 1973.
11. Fleet I. R., Heap R. B.: J. Reprod. Fert. 65, 195, 1982.
12. Greve T., Lehn-Jensen H., Rasbech N. O.: Tierärztl. Prax. 6, 313, 1978.
13. Hasler J. F., Bowen R. A., Nelson L. D., Seidel (Jr) G. E.: J. Reprod. Fert. 58, 71, 1980.
14. Hill T. G., Alliston C. W.: Theriogenology 15, 201, 1981.
15. Jackson P. S., Johnson C. T., Bulman D. C., Holdsworth R. J.: Br. vet. J. 125, 578, 1979.
16. Lye S. J., Porter D. G.: J. Reprod. Fert. 52, 87, 1978.
17. Mannes J. S., Newcomb R.: Vet. Rec. 96, 384, 1975.
18. Samborski Z., Rauluszkiewicz S., Dejneka J., Marcinkowski K.: Medycyna Wet. 36, 592, 1980.
19. Seguin B. E., Morrow D. A., Louis T. M.: Am. J. Vet. Res. 36, 57, 1974.

Adres autora: doc. dr Karol Marcinkowski, ul. Sopocka 21 m. 5, 50-344 Wrocław.

Марцинковский К., Дейнека Ю., Раулушкевич С. — Влияние окситоцина и прогестерона на мотори-

ку матки коров-реципиенток, приготовленных к трансцервикальной трансплантации зиготы

При помощи утерографии обнаружили, что на 8 день яичникового цикла у 6 синхронизированных коров клопростенолом (аналог PgF₂ альфа-Estrumate) их матка показывала исправную сокращаемость под влиянием окситоцина. В этот период цикла эндогенная прогестероновая „блокада” еще не вполне развита. Низкий уровень прогестерона (P4) в организме благоприятствует моторической активности матки. Из полученных утерограмм вытекает, что ввод i.m. 500 мг P4 совсем тушит или значительно ограничивает через 6 часов моторическую чувствительность матки к окситоцину. Экзогенный ввод P4 реципиенткам может быть целесообразным при трансцервикальном трансфере бластоцист и предотвращать возм. экспульсию зародыша, введенного в матку.

Marcinkowski K., Dejneka J., Rauluszkiewicz S. — The influence of oxytocin and progesterone on the motorial activity of the uterus in cows-recipients prepared to transcervical transplantation of the zygote

In six cows synchronized with Cloprostenol (analogue of PgF₂ alpha — Estrumate) there was noted normal uterus contraction on the 8th day of ovarian cycle. In that period progesterone „blockade” was not completely developed. A low level of progesterone (P4) in the organism supports motorial activity of the womb. The findings indicate that 500 mg of P4 given intramuscularly inhibits after 6 hours the sensitivity of the uterus to oxytocin. The application of P4 to the recipients may be reasonable in the transcervical transfer of blastocysts and it may prevent the expulsion of the embryos introduced into the uterus.

LUCYNA KAŃSKA, ZDZISŁAW SMORAĞ

Zapłodnienie *in vitro* hodowanych oocytów bydłecych

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt Instytutu Zootechniki,
32-083 Balice k. Krakowa

Na jajniku bydłecych dochodzi do wzrostu znacznej liczby pęcherzyków, z których większość ulega atrezji, a tylko 1 lub 2 dojrzewają i owulują w ciągu każdego cyklu. Uzyskiwanie oocytów z rosnących pęcherzyków przed ich atrezją, a następnie hodowla *in vitro*, w wyniku której oocyty osiągałyby zdolność do zapłodnienia, stanowić może źródło przydatnych do transplantacji zarodków*).

Pierwsze cielęta w wyniku transplantacji zarodków rozwijających się z dojrzałych *in vitro* oocytów bydłecych uzyskał Newcomb i wsp. (8). Zapłodnienie tych oocytów przeprowadzano jednakże *in vivo*, co z praktycznego punktu widzenia stanowi znaczne utrudnienie, gdyż wiąże się z koniecznością przeprowadzenia dwukrotnej transplantacji: najpierw oocytów, a następnie zarodków. Optymalne rozwiązanie stanowi więc zapłodnienie hodowanych oocytów *in vitro*.

Po wielu badaniach dopiero próby podjęte przez Fulkę i wsp. (4) przyniosły zachęcające rezultaty. Należy jednakże podkreślić, że do zapłodnienia używali oni oocytów pozbawionych osłonki przejrzystej. Przy stosowanych obecnie metodach hodowli osłonka przejrzysta tylko nielicznych oocytów osiąga stopień dojrzałości umożliwiający przenikanie plemników (8). Można przypuszczać, że przyczynę tych niepowodzeń stanowią ciągle jeszcze niedoskonałe warunki hodowli. Jednym z tych czynników mogą być warunki termiczne hodowli.

Z dotychczasowych prób zapłodniania *in vitro* oocytów bydłecych wynika, że najlepsze właściwości zapładniające posiadają plemniki pochodzące z ogona najądrza (4). Z praktycznego punktu widzenia użycie takich plemników jest jednakże ograniczone. Z kolei właściwości zapładniające plemników nasienia mrożonego, których użycie byłoby optymalnym rozwiązaniem, są znacznie niższe niż plemników nasienia świeżego (2, 3). Istnieje więc potrzeba dalszych prac w tym zakresie.

*) Przegląd piśmiennictwa z zakresu dojrzewania *in vitro* oocytów ssaków — Medycyna Wet. 12, 740, 1978.