

Protocols of hormonal treatment of fertility disorders in cows

Boryczko Z.¹, Jaśkowski B.M.¹, Urbaniak K.¹, Trela M.², Bostedt H.³, Jaśkowski J.M.¹,

Veterinary Institute, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Poznań University of Life Sciences¹, Department of Large Animals Diseases with Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW², Faculty of Veterinary Medicine, Institute Justus Liebig University Giessen³

This article aims at the presentation of a current approach to the treatment of fertility disorders in cows. Effectiveness of hormonal therapy is influenced by many exogenous factors and is directly related to the accuracy of clinical diagnosis. Here, we describe and discuss clinical examples of improper use of hormones due to the erroneous diagnosis. Also the efficiency of one-hormone therapy and more complex protocols of treatment were presented. Examples of different hormones combinations used for establishing the effect of stimulation, substitution and inhibition were given in the context of modern therapy for treating fertility disorders in cows. Among them cases were discussed with the lack of ovulation, with ovarian cysts, dysfunctional corpus luteum and delayed ovulation and also cases when induction and synchronization of cycle has allowed to shorten the service period and to improve the first conception rate.

Keywords: fertility disorders, hormonal therapies, dairy cows.

Zaburzenia płodności u krów mogą mieć różne podłoże. W okresie poporodowym istotną rolę odgrywa prawidłowa endokrynną funkcja podwzgórza oraz przysadki, które są powiązane z działaniem hormonów steroidowych jajników na drodze sprzężenia zwrotnego ujemnego lub dodatniego. Ta relacja jest szczególnie ważna w regulacji zmian cyklicznych, jakie zachodzą w jajnikach; zachwianie tej relacji może być przyczyną zaburzenia funkcji jajników. Drugą istotną grupą zaburzeń płodności krów są choroby macicy. Największą podatność i częstotliwość występowania zaburzeń rozrodo u krów stwierdza się w okresie poporodowym. Wydaje się jednak, że pierwotnych przyczyn zaburzeń płodności u krów należy w dużej mierze szukać w nieprawidłowych warunkach utrzymania i żywienia, a także odbiegającej od standardów higieny środowiska, zwłaszcza w okresie okołoporodowym, określanym mianem błędów w zarządzaniu (management). Bez wcześniejszej korekty tych czynników efektywność terapii hormonalnej pozostaje niska.

W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost wykorzystania hormonów w leczeniu zaburzeń rozrodo oraz biotechnikach

Możliwości leczenia hormonalnego zaburzeń płodności u krów

Zdzisław Boryczko¹, Bartłomiej M. Jaśkowski¹, Krzysztof Urbaniak¹, Michał Trela², Hartwig Bostedt³, Jędrzej M. Jaśkowski¹

z Instytutu Weterynarii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu¹, Katedry Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie² oraz Kliniki Ginekologii i Andrologii Dużych i Małych Zwierząt z Ambulatorium Uniwersytetu Justusa Liebiga w Giessen³

rozrodo do tzw. wspomagania rozrodo. Coraz częściej stosowane są złożone protokoły, polegające na podawaniu kilku preparatów hormonalnych, przeważnie w ściśle określonej sekwencji czasowej. Są one proponowane i upowszechniane przez firmy farmaceutyczne, które opierają się na wynikach licznych badań naukowych. Warto jednak pamiętać, że zastosowanie określonych hormonów bez wcześniejszego rozpoznania przyczyn zaburzeń płodności, które w znacznej mierze mogą być spowodowane błędami w zarządzaniu oraz brakiem lub nieprawidłowym określeniem funkcji narządów rozrodczych, w tym szczególnie jajników, może być powodem niedostatecznych efektów leczenia. Wprawdzie efektywność terapii hormonalnych stosowanych u bydła jest raczej przeszacowana, to w nieodległej perspektywie można oczekiwać dalszego zwiększania się wykorzystania hormonów, zwłaszcza do leczenia zaburzeń rozrodo u krów o wysokim potencjale produkcyjnym.

Przykłady błędów w stosowaniu hormonów

- Prostaglandyna $F_{2\alpha}$ wywołuje efekt luteolizy w jajniku krowy tylko pomiędzy 5 a 17 dniem cyklu rujowego (obecność ciała żółtego na jajniku). Tylko w tym okresie ciało żółte jest wrażliwe na działanie tego hormonu. Warto pamiętać, że palpacyjne ustalenie obecności w pełni rozwiniętego ciała żółtego może być zawodne. Pewną pomocą jest w tych przypadkach posłużenie się ultrasonografem (1, 2). Przeciętnie rozwinięte ciało żółte okresowe u bydła holsztyńsko-fryzyskiego ma około 24 mm średnicy.
- Podanie prostaglandyny $F_{2\alpha}$ krowie we wczesnej ciąży powoduje lizę ciała żółtego, obumarciu zarodka i jego resorpcję. Sytuacje takie zdarzają się sporadycznie po ultrasonograficznej diagnozie ciąży przeprowadzanej pomiędzy 25 a 28 dniem po zapłodnieniu. Szansa pomyłki w tym okresie jest stosunkowo duża.

- Podanie eCG (gonadotropiny surowicy źrebnych klaczy) w fazie przedrujowej może spowodować powstanie torbieli pęcherzykowych.
- Podawanie, a szczególnie przedawkowanie eCG może wywołać efekt hiperstymulacji jajników i powstanie licznych torbieli pęcherzykowych, a także ewentualność ciąży mnogiej.
- Gestageny podawane od 16 do 18 dnia cyklu mogą spowodować wystąpienie licznych torbieli pęcherzykowych.

Formy terapii hormonalnej

Wybierając formę terapii, można zastosować terapię pojedynczą – prostą, lub terapię złożoną, w której stosowane są dwa lub więcej preparatów o różnym działaniu użytych w określonej sekwencji czasowej. Przy wyborze terapii hormonalnej należy również uwzględnić efektywność przypisywaną rodzajowi zastosowanego leczenia (3). Użycie preparatów hormonalnych ma na celu uzyskanie określonego efektu, którymi są stymulacja, substytucja i inhibicja. Poprzez stosowanie preparatów hormonalnych szczególnie w złożonych procedurach uzyskuje się również efekt, który można określić jako „zresetowanie” funkcji gruczołów dokrewnych osi podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowej.

- Stymulacja – efektywność leczenia mierna (szacunkowo do 30%), przykład: stymulacja jajników nieaktywnych przez podanie GnRH (gonadoliberyny) lub eCG.
- Substytucja – efektywność leczenia średnia; przykład 1: przy zaburzeniach owulacji, niedostatecznym wylewie przedowulacyjnym LH – podanie hCG (ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej) lub GnRH; przykład 2: wspomaganie funkcji ciała żółtego gestagenami, przy zapobieganiu obumarciu zarodka (wczesny okres ciąży) i poronieniu już w zaawansowanej zagrożonej ciąży.
- Inhibicja – blokowanie działania hormonów lub blokowanie receptorów, efektywność dobra; przykład 1: PGF_{2α} jako hormon o działaniu luteolitycznym,

przykład 2: gestageny – blokowanie cyklu.

- Połączone dwie lub trzy formy terapii prostej (terapia złożona) według różnych protokołów (Ovsynch: stymulacja-inhibicja-stymulacja).

Rozpatrując możliwości zastosowania leczenia hormonalnego w przypadkach zaburzeń rozrodu krów, należy uwzględnić najczęściej spotykane w praktyce lekarsko-weterynaryjnej przypadki, takie jak:

- Brak owulacji, torbiele jajnikowe, opóźniona owulacja, dysfunkcja ciała żółtego jako wynik zaburzeń funkcji jajnika.
- Potrzeba indukowania cyklu (owulacji) lub synchronizacji i przez to polepszenie wartości wskaźnika usługi oraz skrócenie okresu międzyciążowego.
- Anafrodyzja – cicha ruja.
- Stany chorobowe macicy – zapalenia macicy.

Brak owulacji

Brak owulacji związany z zaburzeniami wzrostu pęcherzyków jajnikowych, występuje często w przypadkach poporodowego zaniku jajników u krów. W sytuacjach takich obserwowany jest brak prawidłowego wzrostu pęcherzyków jajnikowych; na jajnikach może występować pewna pula pęcherzyków o średnicy 3 do 4 mm. Niektóre z nich wzrastają do 8 mm średnicy, po czym ulegają atrezji. Podobny problem zdarza się u jałówek w stanach niedożywienia. Na jajnikach nie stwierdza się obecności ciała żółtego. Brak funkcjonalnego ciała żółtego odróżnia te przypadki od występujących u krów i jałówek, z zachowaną aktywnością cykliczną, u których zjawisko atrezji jest zjawiskiem fizjologicznym. Podczas cyklu rujowego towarzyszy ono falowemu wzrostowi pęcherzyków jajnikowych. Z wyjątkiem pęcherzyka owulacyjnego większość z nich ulega atrezji. W takiej sytuacji na jajnikach stwierdza się zawsze obecność ciała żółtego. Tłumacząc mechanizm niedostatecznego wzrostu pęcherzyków jajnikowych oraz braku owulacji w wyżej opisanych przypadkach, Wiltbank i wsp. (4) przedstawili hipotezę ujemnego oddziaływania estradiolu w tzw. dużym łuku sprzężenia zwrotnego, czyli wpływu niskiego stężenia estradiolu pochodzącego z płynu pęcherzykowego na wydzielanie oraz amplitudę pulsacyjną GnRH/LH. Potwierdzenia założeń tej hipotezy można się doszukiwać pośrednio także w badaniach, w których analizowano stężenie estradiolu w płynie pęcherzyków jajnikowych o różnej średnicy (5, 6). Stężenie to w płynie pęcherzyków przedowulacyjnych o dużej średnicy wynosiło około 250 pg/ml w porównaniu do pęcherzyków małych (średnicy 3–7 mm), w których

nieznacznie przekraczało 50 pg/ml. Wiltbank i wsp. łączą opisywane przypadki niedostatecznego wzrostu pęcherzyków jajnikowych i braku owulacji z nieprawidłowym żywieniem, w konsekwencji niedożywieniem zwierzęcia. W takich przypadkach należy uwzględnić fakt ścisłego powiązania ogólnych procesów metabolicznych ze specyfiką i natężeniem metabolizmu w pęcherzykach jajnikowych oraz skutków niezbilansowanego zapotrzebowania na substancje, które są ważne dla właściwego przebiegu tych procesów (7). Z powyższych badań wynika, że kluczową rolę w procesach metabolicznych w obrębie pęcherzyka jajnikowego odgrywa glukoza, której poziom, jak i koncentracja powstających metabolitów są różnicowane w zależności od średnicy pęcherzyka jajnikowego. Klindworth i wsp. (8) stwierdzili wyraźną zależność pomiędzy kondycją zwierzęcia ocenianą za pomocą wskaźnika BCS (body condition score, punktowy wskaźnik kondycji) a wynikami zacieleń po indukcji i synchronizacji rui metodą Ovsynch. Optymalna wartość BCS gwarantująca najlepsze wyniki wynosiła 3,0.

Postępowanie

Dla uzyskania zadowalających wyników postępowania leczniczego konieczna jest korekta czynników żywieniowo-środowiskowych oraz wybór optymalnego protokołu leczenia.

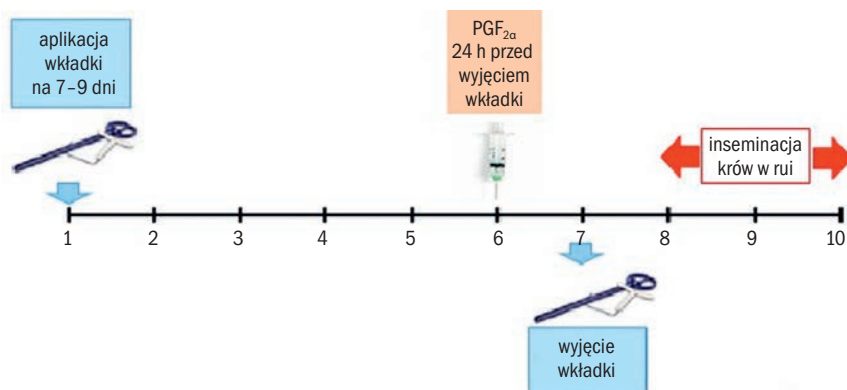
1. Iniekcja pojedyncza GnRH lub eCG (jako forma terapii prostej) daje mierne rezultaty zarówno u krów acyklicznych, jak również wykazujących zmiany cykliczne na jajnikach. Szacowany wskaźnik zapładnialności wynosi od kilku do około 30%.
2. Protokół 1. Iniekcja GnRH plus implant norgestometu, podanie PGF_{2α} w 7 dniu, usunięcie implantu, iniekcja GnRH po upływie 48 godzin, a następnie – po 16 godzinach inseminacja. Posługując się takim protokołem, osiągnięto wskaźnik zapładnialności na poziomie 62% u zwierząt z acyklią oraz 59% u zwierząt przejawiających regularny cykl rujowy. W grupie kontrolnej, w której zastosowano 2 iniekcje PGF_{2α} w odstępie 14 dni, uzyskano wskaźnik zapładnialności na poziomie 27% dla zwierząt z acyklią i 56% u zwierząt wykazujących cykliczną aktywność jajników. Badania prowadzono na bydło mięsny (9).
3. Protokół 2. U 182 krów będących w laktacji oraz z brakiem owulacji zastosowano Ovsynch z użyciem pomiędzy iniekcjami GnRH i PGF_{2α} – dopochwowej wkładki progesteronowej. W grupie, w której dodatkowo wprowadzono wkładkę, zapładnialność

wyniosła 55,2%, podczas gdy w grupie krów nieowulujących, u których zastosowano Ovsynch bez wkładki dopochwowej progesteronowej – 34,7% (Wiltbank i wsp.; 4).

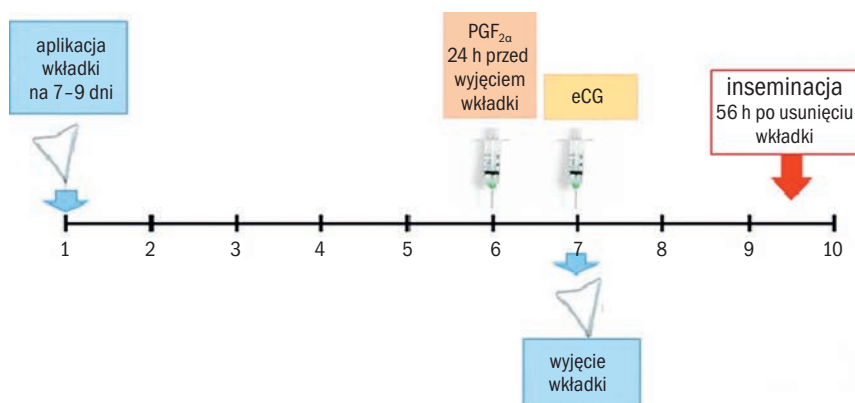
4. Protokół 3. Program – Ovsynch według Pursleya i wsp. (10) w 7 dniu po iniekcji GnRH podanie PGF_{2α}, a następnie po 48 godzinach kolejna dawka GnRH. Owulacja obserwowana jest 10 dnia protokołu. W wielu badaniach porównawczych uzyskano zróżnicowane wyniki. Według Klindworth i wsp. (8) u acyklicznych zwierząt po zastosowaniu programu Ovsynch uzyskano wskaźnik zapładnialności wynoszący 25%. W grupie zwierząt, w której po iniekcji GnRH stężenie progesteronu było wyższe niż 3,18 nmol/l, wskaźnik zapładnialności wyniósł 43,13%. Pozytywny efekt odnośnie do zacieleń krów uzyskiwany w przypadku zastosowania metody Ovsynch należy łączyć ze stymulującym działaniem GnRH na aktywność jajników. Stymulujące działanie GnRH zostało potwierdzone przez Thatcherą i wsp. (11) oraz Roche i Mihm (12). W grupie krów, u których zastosowano Ovsynch, wskaźnik zapładnialności wyniósł 48,1%, a w grupie kontrolnej – 33,3%.
5. Stosowanie egzogennych progestagenów jest uznawane za odpowiednią terapię przy braku cykliczności oraz anestrus typu II (13). Stosowane są tutaj z powodzeniem preparaty CIDR i PRID w połączeniu z późniejszym podaniem PGF_{2α} (ryc. 1) oraz ewentualnie hormonu eCG (ryc. 2). W badaniach López-Gatius i wsp. (14) wykazano, że u 64,2% krów, u których zastosowano progesteronowe wkładki dopochwowe, zaobserwowano powrót do cykliczności.

Torbiele jajnikowe

Torbiele jajnikowe występują u krów z dużą częstotliwością w okresie poporodowym. Można rozróżnić dwa rodzaje torbieli: pęcherzykowe oraz luteinowe. Z własnych niepublikowanych obserwacji wynika, że w przypadku licznych torbieli występujących na jajnikach jednej krowy, u części z nich można w ścianie torbieli dostrzec wyraźne ogniska tkanki luteinowej, natomiast część ma charakter torbieli pęcherzykowych. Etiologia powstawania torbieli nie jest do końca wyjaśniona i jest od wielu lat obiektem dociekań i spekulacji naukowych. Przyjmuje się, że jest ona efektem braku właściwego oddziaływania LH (braku lub niedostatecznego wylewu LH) na pęcherzyk dominujący, wskutek czego pęcherzyki mogą dalej wzrastać do większych rozmiarów niż pęcherzyk owulacyjny i pozostawać na



Ryc. 1. Schemat użycia dopochwowej wkładki progesteronowej CIDR z iniekcją $PGF_{2\alpha}$



Ryc. 2. Schemat użycia dopochwowej wkładki progesteronowej PRID z iniekcją $PGF_{2\alpha}$ i eCG

jajnikach jako torbiele jajnikowe. Według Wiltbanka i wsp. (4) najbardziej prawdopodobną przyczyną powstawania dużych nieowulujących pęcherzyków jest niski poziom progesteronu, który blokuje normalny dodatni efekt w dużym łuku sprzężenia zwrotnego poprzez brak oddziaływania estradiolu na wydzielanie GnRH/LH. Badania Erba i wsp. (15) z lat 80. wskazują na efekt hiperstymulacji, wywołany wysokim stężeniem krążącego FSH, powodujący nadmierny wzrost pęcherzyków jajnikowych w okresie poporodowym i przekształcenie ich w torbiele. Inne badania (16, 17) dotyczące porównania wielkości amplitudy i stężenia wydzielanego FSH u krów z torbielami jajnikowymi oraz z prawidłową owulacją nie potwierdzają tych spostrzeżeń.

Postępowanie

Znaczny odsetek torbieli jajnikowych ulega podczas okresu poporodowego spontanicznej regresji. Tego typu zmiany, mimo przyczyn wynikających z zaburzeń funkcji nie jajników, lecz podwzgórze, mają znaczny wpływ na parametry płodności. W leczeniu torbieli jajnikowych u krów nie zaleca się obecnie, powszechnie używanych wcześniej, wyciągów przysadkowych zawierających gonadotropiny oraz stosowanego nadal w terenie mechanicznego zgniatania torbieli.

1. W leczeniu torbieli jajnikowych od wielu lat stosuje się jako formę terapii prostej podawanie hCG lub GnRH. Efektem działania tych hormonów jest najczęściej luteinizacja ściany torbieli. Z obserwacji własnych wynika, że kontrolowana ultrasonograficznie luteinizacja po podaniu hCG następuje bardzo szybko (24–48 godz.). Ocena efektywności metod leczenia torbieli jajnikowych jest trudna z uwagi na zjawisko spontanicznej regresji torbieli, które obserwuje się w okresie poporodowym. Retrospektywna analiza dotycząca skuteczności stosowania różnych hormonów w leczeniu torbieli jajnikowych u krów została przedstawiona w pracy Nanda i wsp. (18). Z badań populacyjnych wynika, że podanie hCG lub GnRH daje porównywalne wyniki. Co interesujące, połączenie iniekcji hormonów z wygnieciem cysty podnosi efektywność leczenia. W przypadku torbieli luteinowej zalecaną terapią jest stosowanie iniekcji $PGF_{2\alpha}$.
2. Dobre efekty leczenia wyżej wymienionymi hormonami uzyskuje się w przypadku włączenia do terapii progesteronu – PRID lub CIDR (ryc. 1 i 2).

Opóźniona owulacja

Opóźniona owulacja u krów jest zaburzeniem występującym dosyć często.

W prawidłowym czasie owuluje tylko nieco powyżej 70% krów (19). U pozostałych owulacja może się opóźnić nawet o kilkadziesiąt godzin. Owulacja u krowy powinna mieć miejsce między 24 a 36 godziną w odniesieniu do momentu rozpoczęcia objawów rui. W cytowanych wyżej badaniach stwierdzono również, że jeśli owulacja po zabiegu unasiwienia nie wystąpiła w ciągu 24 godzin, to następuje wyraźne obniżenie wskaźnika zapłodnialności. Owulacja jest procesem sterowanym hormonalnie. W okresie okołowulacyjnym obserwuje się szereg znaczących zmian w stężeniu GnRH, gonadotropin przysadkowych oraz estradiolu. Wzrost stężenia LH ma charakter wylewu trwającego 7 ± 3 godziny, który zwykle występuje 6 ± 3 godziny od początku objawów rui. Oprócz tego obserwowany jest wzrost stężenia FSH i estradiolu. Wystąpienie owulacji zależne jest od wielu czynników zarówno egzo-, jak i endogennych, w tym takich jak dostateczny i terminowy wylew LH, odpowiednia liczba receptorów LH w ścianie pęcherzyka przedowulacyjnego, rozpoczęcie procesów lizy enzymatycznej w płamce pęcherzyka jajnikowego, wewnętrzopęcherzykowej wysokiej zawartości estrogenów w płynie pęcherzykowym czy prawidłowym metabolizmie komórek pęcherzyka jajnikowego (5, 6, 7). Równie istotny wpływ na proces owulacji mają czynniki o oddziaływaniu pośrednim; kondycja zwierzęcia (BCS), potencjalna wysoka wydajność (u krów o wysokiej wydajności opóźniona owulacja jest częstym zaburzeniem; 20, 21), warunki środowiskowe – szczególnie wpływ światła, pory roku (zima i wczesna wiosna są porami roku z nasilonym występowaniem opóźnionej owulacji), hipoglikemia (7).

Postępowanie

W postępowaniu terapeutycznym zakłada się wczesne wspomaganie indukcji owulacji na drodze farmakologicznej. Najczęściej stosowanymi preparatami stosowanymi u krów do indukcji owulacji są GnRH lub hCG. W leczeniu przypadków opóźnionej owulacji, stwierdzanych w określonym stadzie, ustalono, że warunkiem niezbędnym do skutecznego działania zarówno hCG, jak i GnRH jest podanie ich pomiędzy 3 a 14 godziną po rozpoczęciu rui. Ważnym elementem profilaktyki w przypadkach występowania opóźnionej owulacji jest uwzględnienie czynników odpowiedzialnych za tę patologię (7).

Dysfunkcja ciała żółtego

Dysfunkcja ciała żółtego okresowego i ciążyowego może być u krów przyczyną skrócenia cyklu, jak również nieinfekcyjnej obumieralności zarodków lub płodu.

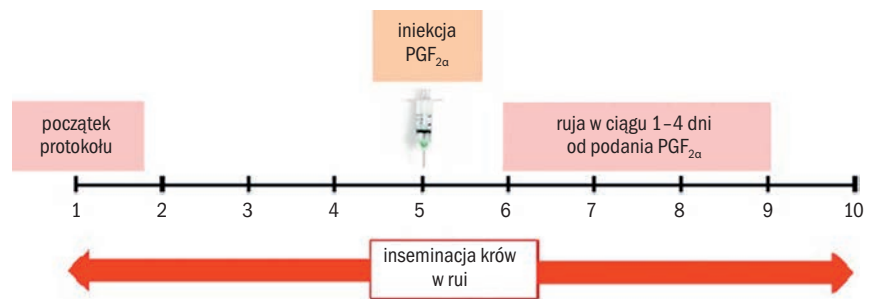
Ciałko żółte zarówno okresowe, jak i ciąży u krowy jest podstawowym miejscem syntezy progesteronu. Stężenie progesteronu w krwi żyłnej wynosi podczas szczytowej fazy wydzielniczej od 6 do 8 ng/ml. Niewiele wyższe stężenie progesteronu stwierdza się podczas ciąży. W przypadkach, kiedy stężenie progesteronu jest w szczytowej fazie wydzielniczej wyraźnie niższe (1–2 ng/ml), obserwuje się skrócenie cyklu rujowego. Taki profil wydzielania progesteronu ma najczęściej miejsce w dwóch pierwszych cyklach wczesnego okresu poporodowego, które są z reguły cyklami skróconymi. Obniżenie i niskie stężenie progesteronu w czasie ciąży mogą świadczyć o zagrożeniu takiej ciąży.

Postępowanie

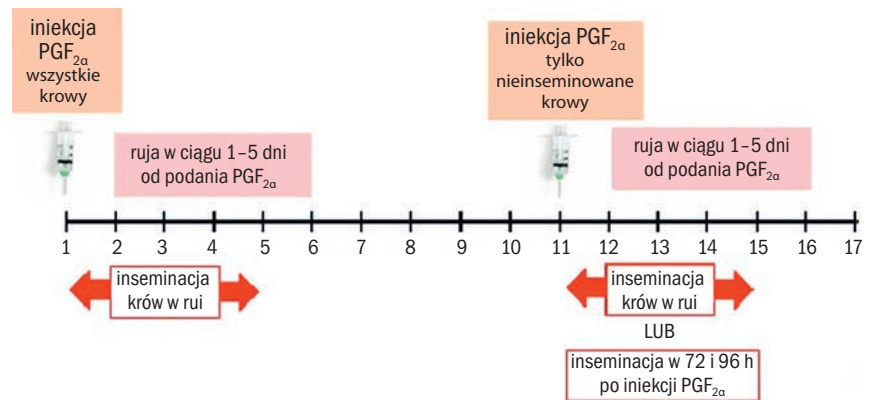
Leczenie może się opierać na stymulacji funkcji ciała żółtego lub substytucji gestagenami. Wartość takiego postępowania jest wątpliwa i ma małe zastosowanie praktyczne. Z niepublikowanych danych wynika, że korzystny efekt uzyskiwano, stymulując funkcje ciała żółtego w 5–7 dniach po zabiegu unasienniania poprzez podanie GnRH lub hCG, wykorzystując pośredni lub bezpośredni efekt działania luteotropowego wymienionych hormonów.

Indukcja i synchronizacja cyklu w celu poprawy wartości wskaźnika okresu usługi i zapłodnialności

Poprawę wskaźników okresu usługi i zapłodnialności można osiągnąć, wywołując planową indukcję cyklu jajnikowego. Jedną z możliwości jest skrócenie cyklu poprzez wywołanie luteolizy przez podanie $\text{PGF}_{2\alpha}$. Warunkiem efektywnego stosowania prostaglandyny jest jej podanie w fazie aktywnego hormonalnie ciała żółtego. Protokoły stosowania $\text{PGF}_{2\alpha}$ uwzględniają pojedynczą lub dwukrotną iniekcję prostaglandyny w odstępie 11 do 14 dni. (ryc. 3, 4). W przypadku jednokrotnego podawania $\text{PGF}_{2\alpha}$ inseminację powinno się wykonywać według objawów rui. Pojawia się ona przeważnie 1 do 4 dni po podaniu prostaglandyny. W optymalnych warunkach wskaźnik zapłodnialności po zastosowaniu protokołu może wynosić około 50% i jest porównywalny z wynikami uzyskanymi po spontanicznej rui (22, 23, 24, 25). Przeprowadzając inseminację 80 godz. po jednokrotnym podaniu $\text{PGF}_{2\alpha}$, odnotowano wskaźnik zapłodnialności na poziomie 23%, tymczasem wskaźnik ten u krow insemowanych przy spontanicznych rujach wynosił 54%. Jeśli unasiennienie wykonano dwukrotnie w 72 i 96 godz. po jednokrotnym podaniu $\text{PGF}_{2\alpha}$, wskaźnik ten wzrósł do 30% (26). Jeśli po pierwszym zastosowaniu $\text{PGF}_{2\alpha}$ ruja nie występuje, iniekcję powtarza się



Ryc. 3. Schemat indukcji rui z zastosowaniem jednej iniekcji $\text{PGF}_{2\alpha}$ od 5 dnia cyklu przy obecnym ciałku żółtym



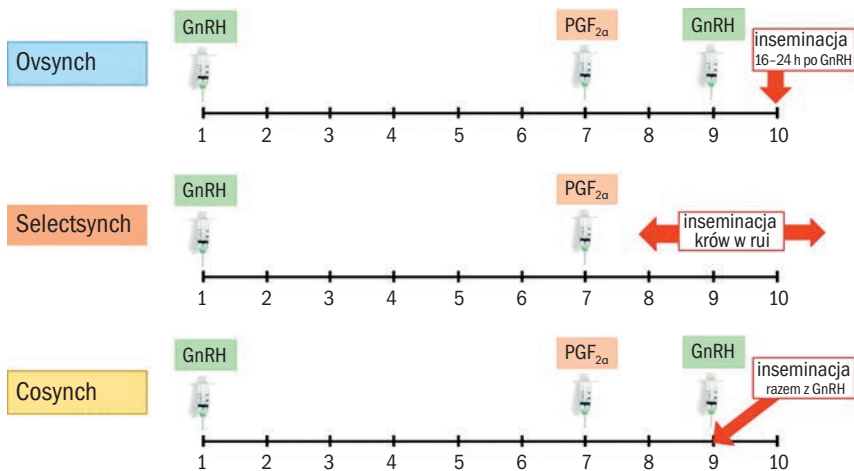
Ryc. 4. Schemat indukcji rui z zastosowaniem dwóch iniekcji $\text{PGF}_{2\alpha}$ w dowolnym momencie cyklu

po 11–14 dniach. Unasiennienie można wykonać stosownie do występujących objawów rujowych bądź w 72 i 96 godz. po drugim podaniu prostaglandyny. Jeśli podanie $\text{PGF}_{2\alpha}$ wykonano w odstępie 14 dni, następne unasiennienie wykonywane jest w 66 i 90 godz. po podaniu preparatu. Uzyskane wyniki porównywalne były do wyników unasiennienia na podstawie stwierdzanych objawów rui (27).

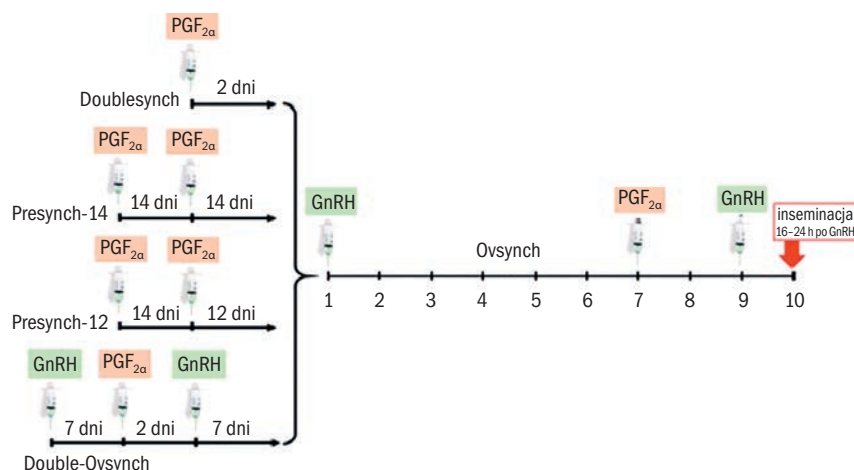
Programy z wykorzystaniem prostaglandyny

Programy synchronizacji rui na bazie podawania prostaglandyny lub jej analogów polegają na skróceniu fazy lutealnej cyklu rujowego poprzez indukcję luteolizy. Skuteczna synchronizacja wymaga obecności ciała żółtego, użycie zatem samej prostaglandyny u krow z brakiem ciała żółtego oraz torbielami pęcherzykowymi mija się z celem. Samice otrzymujące prostaglandynę wykazują ruję w ciągu 2–4 dni. Czasami ruja występuje później (do 7 dni). Okres między iniekcją prostaglandyny a pojawieniem się rui zależy od stadium rozwoju pęcherzyka dominującego. O ile pęcherzyk dominujący w momencie podania hormonu znajduje się w statycznej fazie swojego rozwoju, owulacja pojawia się 3 dni później; o ile jednak pęcherzyk znajduje się w fazie wzrostu, termin pojawienia się owulacji wydłuża się do 4,5 dnia. Z tego powodu, o ile prostaglandynę podaje się w pierwszej fazie diestrus (5–8 dzień) uzyskuje się

wysoki stopień synchronizacji rui i zarazem wcześniejsze jej pojawienie się niż w drugiej połowie diestrus (8–15 dzień cyklu). Jednokrotne podanie prostaglandyny sensowne jest wyłącznie wtedy, kiedy na jajniku znajduje się dobrze rozwinięte, wrażliwe na prostaglandynę ciało żółte. Jego obecność można ustalić w oparciu o badanie rektalne oraz USG, względnie pomiar koncentracji progesteronu w mleku. Ciało żółte do 5 dnia cyklu rujowego wykazuje małą wrażliwość na prostaglandynę. Podanie preparatu może wywołać ruję u maksymalnie 70% samic. Podając dwukrotną iniekcję prostaglandyny w odstępie 11–14 dni, uzyskuje się wyższy stopień synchronizacji. Zwierzęta wykazujące obecność wrażliwego ciała żółtego podczas pierwszej iniekcji prostaglandyny będą je miały także podczas drugiej iniekcji hormonu, natomiast te samice, u których brak było ciała żółtego wrażliwego na hormon, będą reagowały rują (obecne ciało żółte) po drugiej iniekcji prostaglandyny. Przyjmuje się, że po drugiej iniekcji ruję wykazuje 95% samic. Podobnie ruja po dwukrotnym podaniu $\text{PGF}_{2\alpha}$ zaaplikowanej 11 dni po pierwszej pojawia się wcześniej niż analogiczna ruja po 14-dniowym odstępie. Niemniej, wyższy wskaźnik cieleń uzyskiwano, podając prostaglandynę w 14-dniowym odstępie. Poglądy odnośnie do wskaźnika cieleń uzyskiwanego po zastosowaniu prostaglandyny zbliżonej do naturalnej (dinoprost)



Ryc. 5. Schemat protokołów Ovsynch, Selectsynch i Cosynch



Ryc. 6. Schematy modyfikacji protokołu Ovsynch – Doublesynch, Presynch-14, Presynch-12 oraz Double-Ovsynch

i syntetycznej (kloprostenol) są niejednoznaczne (28). Wymienione wyżej programy prostaglandynowe stosowane były w przeszłości w organizacji rozrodu pod nazwą Targeted Breeding, Pharmacia-Upjohn. W Polsce wprowadzał je Branicki na początku lat 90. ubiegłego wieku. Rezultaty programu szerzej przedstawili Jaśkowski i Urbaniak (29). W niektórych przypadkach celem poprawy wskaźnika zacielenia wykorzystuje się orientowaną w czasie inseminację, względnie dwukrotną inseminację po upływie 72 i 90 lub 96 godzin po drugiej (na ogół) iniekcji prostaglandyny. W obu przypadkach wskaźnik zacielenia nie różnił się istotnie.

Programy z wykorzystaniem $\text{PGF}_{2\alpha}$ i GnRH

Podstawowym programem opartym na kombinacji podawania $\text{PGF}_{2\alpha}$ i GnRH jest Ovsynch (32; ryc. 5). Polega on na iniekcji 100 μg GnRH w 0 dniu cyklu rujowego. Egzogenny GnRH prowadzi (także przy wysokim poziomie progesteronu) do wzmoczonego wyrzutu LH i FSH. Działanie obu hormonów powoduje, w zależności od

stopnia rozwoju pęcherzyka jajnikowego, atrezję lub owulację z wytworzeniem prowokowanego podaniem GnRH ciała żółtego. Przy poziomach progesteronu powyżej 8 ng/ml dochodzi do atrezji pęcherzyka dominującego, ponieważ hormon ten redukuje pulsacyjne uwalnianie LH oraz liczbę receptorów LH. Z kolei FSH inicjuje 1,5–2,5 dnia po podaniu GnRH nową falę pęcherzykową. O ile w momencie podania pierwszej dawki GnRH na jajniku brak jest pęcherzyka dominującego, w ciągu trzech kolejnych dni dochodzi do pojawienia się następnej fali pęcherzykowej. Niezależnie od występującej owulacji lub obecności ciała żółtego z fali pęcherzykowej wykształca się pęcherzyk dominujący. W ten sposób, synchronizowany rozwój pęcherzyków, jak również indukowane podaniem GnRH powstanie ciała żółtego powodują pojawienie się rui 6–7 dni później. W tym okresie podana prostaglandyna wywołuje luteolizę ciała żółtego. Pełna luteoliza zapewnia pojawienie się terminowej owulacji i skuteczność programu Ovsynch.

Dwa dni po iniekcji $\text{PGF}_{2\alpha}$ aplikowana jest kolejna, domięśniowa iniekcja 100 μg

GnRH. Podanie GnRH synchronizuje i skraca okres do owulacji. Pursley i wsp. (32) zalecali unasienianie zwierząt 24 godziny po iniekcji GnRH. W nowszych badaniach zalecana jest inseminacja w 0, 12, 24 lub 36 godzinie po drugiej iniekcji GnRH. Wydłużający się okres pomiędzy iniekcją GnRH a inseminacją powodował poprawę wyników zacielenia (33). Z nowszych badań Pursleya i wsp. (34) wynika, że inseminacja 36 godzin po podaniu drugiej iniekcji GnRH kończyła się niższym odsetkiem zacielenia niż w grupach krów inseminowanych wcześniej. Ostatecznie ustalono, że przeprowadzenie inseminacji w okresie 8–16 godzin zapewnia wyższy wskaźnik zacielenia niż w terminie późniejszym (24–36 godzin). Efektywność programu Ovsynch w dużym stopniu zależała od rozmiarów pęcherzyka dominującego. Jego mniejsze rozmiary w okresie owulacji korelowały z gorszymi wskaźnikami zacielenia. W przypadku pęcherzyków o rozmiarach 11–13 mm w momencie podania GnRH wskaźniki zacielenia były istotnie niższe niż w przypadku obecności pęcherzyków większych, niezależnie od tego, czy krowy inseminowano 16 godzin po iniekcji GnRH, czy zgodnie z objawami rui. Najlepsze rezultaty uzyskiwano wówczas, gdy pęcherzyk dominujący przy drugiej iniekcji GnRH miał średnicę 16 do 18 mm. Po zastosowaniu programu Ovsynch zapłodnialność wynosiła 11 do 47% (35, 36). Wprowadzenie modyfikacji programu Ovsynch, takich jak Cosynch lub SelectSynch, nie poprawia wyników zacielenia (37).

Modyfikacje programu Ovsynch

Inseminacja przeprowadzana jednocześnie z drugą iniekcją GnRH w programie Ovsynch pozwala na zmniejszenie liczby zabiegów z czterech do trzech. Program ten to Cosynch (ryc. 5). Ponieważ czas życia plemników ograniczony jest do 24 godzin, wyniki zacielenia mogą być gorsze od uzyskiwanych po zastosowaniu programu Ovsynch. Niektórzy zalecają podanie GnRH i inseminację w 72 godzinie po iniekcji prostaglandyny, co ma sprzyjać poprawie wyników zacielenia. Podobny efekt uzyskuje się, przedłużając okres pomiędzy pierwszą iniekcją GnRH a podaniem prostaglandyny z 7 do 8 lub 9 dni. Druga iniekcja GnRH i inseminacja następują 48 godzin po podaniu prostaglandyny. Szersze dane odnośnie do różnych wariantów programu Cosynch przedstawili Schmidt i wsp. (28, 38). Przez Selectsynch rozumie się kombinowane podanie GnRH i $\text{PGF}_{2\alpha}$ w odstępie 7 dni z orientowaną w czasie inseminacją (ryc. 5). Ponieważ podanie egzogennej GnRH wywołuje owulację nie tylko u krów wykazujących

regularne cykle rujowe, ale także u samic acyklicznych, sprawdza się Selectsynch jako metoda leczenia laktacyjnego anoestrus u krów mlecznych. Wskaźnik zacielenia po zastosowaniu programu Selectsynch kształtuje się na poziomie 31–36% u krów i 69% u jałówek. W programie Heatsynch zamiast drugiej iniekcji GnRH podaje się znacznie tańszy estradiol 17-beta lub jego pochodne. Inseminacja następuje albo w momencie iniekcji estradiolu, albo 48 godzin później. Według nowszych danych przedstawionych przez Pancarci i wsp. (37) 75% samic owuluje w ciągu 48–72 godzin po podaniu estradiolu. Poleca on inseminację wszystkich samic wykazujących ruję do 24 godzin po podaniu estradiolu a następnie orientowaną inseminację dokładnie 48 godzin po podaniu tego hormonu. Warto nadmienić, że estradiol i jego pochodne są w UE zabronione od 2006 r. Ultrasynch jest kombinacją programu Ovsynch i możliwości płynących z wykorzystania transrektalnej ultrasonografii. W zależności od obecności ultrasonograficznie stwierdzanego ciała żółtego podawana jest jednokrotna iniekcja prostaglandyny (Ultra-PGF) lub – w przypadku jego braku – przeprowadzany jest pełen program Ovsynch (Ultra-Ov). Skuteczność tych programów wykazuje znaczne zróżnicowanie i istotnie zależy od poziomu wykrywania rui w stadzie (38). Programy Ovsynch (i ich modyfikacje) mogą być poprzedzane dwukrotną iniekcją prostaglandyny, aplikowanej w 14-dniowym odstępie. Noszą wówczas nazwę Presynch. W zależności od odstępu (10, 11 lub 14 dni) pomiędzy drugą iniekcją prostaglandyny a podaniem pierwszej iniekcji GnRH programy te nazywamy Presynch-10, Presynch-11 i Presynch-14. Z kolei naprzemiennie podanie PGF_{2α} i GnRH oraz PGF_{2α} i GnRH z inseminacją następującą 10–16 godzin po drugiej iniekcji GnRH nosi nazwę Double-synch, natomiast Double-Ovsynch zakłada dwukrotne zastosowanie programu Ovsynch z 7-dniowym odstępem pomiędzy programami (36). Poszczególne modyfikacje Ovsynch prezentuje **ryc. 6**.

Anafrodyzja

Cicha ruja jest zjawiskiem stosunkowo częstym w stadach o wysokiej wydajności mlecznej. W sytuacji tej, w przeciwieństwie do acyklii, zachowana jest czynność jajników, brakuje natomiast zewnętrznych objawów ich aktywności. Do czynników prowadzących do anafrodyzji zalicza się niedobór energii oraz złe zbilansowanie makro- i mikroelementów w paszy, choroby metaboliczne oraz ogólnoustrojowe, a także warunki utrzymania zwierząt, a nawet wpływy genetyczne. Podczas diagnozy należy wyeliminować czynnik ludzki,

czyli możliwość niewystarczającej obserwacji krów. Ponadto należy wykluczyć jej inne przyczyny, takie jak: ciąża, ciało żółte przetrwałe czy omawiane torbiele jajnikowe. Podczas badania palpacyjnego jajników najczęściej stwierdza się na nich ciała żółte, ale możliwa jest także obecność różnej wielkości pęcherzyków, diagnozę warto potwierdzić przy użyciu ultrasonografii. Anafrodyzję leczy się najczęściej poprzez podanie PGF_{2α}. Po jej iniekcji ciążę stwierdzano u 47,3% krów; dla porównania u krów grupy kontrolnej współczynnik ten wynosił 40,1%. Jednocześnie zastosowanie terapii skróciło okres przestoju poporodowego średnio o 8 dni. Wprowadzono również różne inne kombinacje hormonalne (GnRH, PGF_{2α}, progesteron z wykorzystaniem progesteronowych wkładek dopochwowych). Badania z wykorzystaniem takich kombinacji umożliwiały zacielenie 36–56% krów, przy czym wyniki te nie odbiegały znacząco od wyników notowanych u zwierząt niepoddawanych terapii i wykazujących spontaniczną ruję (40, 41).

Stany zapalne błony śluzowej macicy – endometritis

Różne postaci stanu zapalnego błony śluzowej są szczególnym problemem okresu poporodowego. Leczenie form klinicznych *endometritis* u krów polega głównie na stosowaniu preparatów domacicznych. Na polskim rynku dostępne są antybiotyki w postaci pianek lub tubostrzykawek. Najważniejszy z punktu widzenia hodowcy jest okres karencji zastosowanych preparatów. Należy zwracać uwagę na miejscowe działania wybranych antybiotyków i brak przenikania do krwi, a w konsekwencji do mleka (zerowy okres karencji). Podczas leczenia *endometritis*, jako lek wspomagający, często stosowana jest PGF_{2α}. W wyniku podania prostaglandyny dochodzi nie tylko do luteolizy, ale również opróżnienia macicy z patologicznej treści (działanie skurczowe na ścianę macicy). Szersze poglądy odnośnie do leczenia *endometritis* przedstawiła Gundling i wsp. (41).

Podsumowanie

W artykule przedstawiono najczęstsze problemy rozrodcze krów, przy których wykorzystuje się terapię hormonalną, z uwzględnieniem poszczególnych metod i wyników obserwacji prowadzonych podczas ich stosowania. Reasumując, coraz więcej używanych hormonów w terapii prostej i złożonej zaburzeń rozrodu bydła nasuwa pytanie, czy nie prowadzi to do selekcji negatywnej krów, u których stosowane jest wielokrotne korygowanie układu dokrewnego osi podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowej. Przedstawione możliwości

terapii hormonalnej wybranych zaburzeń płodności, a także uzyskiwane efekty i wyniki postępowania leczniczego nie zawsze są jednoznaczne i proste do interpretacji. Ponadto należy brać pod uwagę koszty stosowania dużej ilości hormonów w stadzie, szczególnie przy braku przełożenia na pozytywne wyniki rozrodu.

Piśmiennictwo

1. Jaśkowski J.M.: Badanie powierzchni jajników u krów. *Lecznica Dużych Zwierząt* 2006, **1**, 38–42.
2. Grygar I., Vaňatka F., Vinkler A., Kudlač.: Comparison of the accuracy of diagnostics of physiological and pathological conditions in bovine ovaries by means of rectal palpation and ultrasonography. *Acta Vet. (Brno)* 1992, **60**, 219–230.
3. Grunert E., De Kruijff A.: *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*. 3. Auflage. Parey Verlag, Berlin 1999.
4. Wiltbank M., Gümen A., Sartori R.: Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002, **57**, 21–52.
5. 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.
6. Boryczko Z., Bostedt H., Hoffmann B., Ptaszyńska M.: Chemical and hormonal components of ovarian follicular in cows. *Arch. Vet. Polon.* 1996, **1–4**, 31–38.
7. Bostedt H., Boryczko Z.: Przyczyny opóźnionej owulacji u krów. *Życie Wet.* 2011, **86**, 792–796.
8. Klindworth H.P., Hoedemaker M., Burfeindt D., Heilkenbrinken T.: Ovulationssynchronisation (OVSYNCH) in hochleistenden Milchviehherden: Fruchtbarkeitsparameter, Body Condition Score und Plasmaprogesteronkonzentration. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 2001, **108**, 11–19.
9. Stevenson J.S., Hoffman D.P., Nichols D.A., Mckee R.M., Krehbiel C.L.: Fertility in estrus-cycling and noncycling virgin heifers and suckled beef cows after induced ovulation. *J. Anim. Sci.* 1977, **75**, 1343–1350.
10. Pursley J.R., Mee M.O., Wiltbank M.C.: Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2 alpha and GnRH. *Theriogenology* 1995, **44**, 915–923.
11. Thatcher W.W., Drost M., Savio J.D., Macmillan K.L., Entwistle K.W., Schmitt E.P., De La Sota R.L., Morris G.R.: New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 1993, **33**, 27–49.
12. Roche J.F., Mihm M.: Physiology and practice of induction and control of oestrus in cattle. *Bovine Pract.* 1997, **31**, 3–10.
13. Peter A.T., Vos P.L.A.M., Ambrose D.J., Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* 2009, **71**, 1333–1342.
14. López-Gatius F., Mirzaei A., Santolaria P., Bech-Sabat G., Nogareda C., Garcia-Ispuerto I, et al. Factors affecting the response to the specific treatment of several forms of clinical anestrus in high producing dairy cows. *Theriogenology* 2008, **69**, 1095–1103.
15. Erb H.N., Surve A.H., Callahan C.J., Randal R.D., Garverick H.A.: Reproductive steroids in the bovine. VII. Changes postpartum. *J. Anim. Sci.* 1973, **33**, 1060–1071.
16. Cook D.L., Parfet J.R., Smith C.A., Moss G.E., Youngquist R.S., Garverick H.A.: Secretory patterns of LH and FSH during development of steroid-induced ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J. Reprod. Fert.* 1991, **91**, 19–28.
17. Hamilton S.A., Garverick H.A., Keisler D.H., Xu Z.Z., Loos K., Youngquist R.S., Salfer B.E.: Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol. Reprod.* 1995, **53**, 890–899.
18. Nanda A.S., Ward W.R., Williams P.C., Dobson H.: Retrospective analysis of the efficacy of different hormone treatments of cystic ovarian disease in cattle. *Vet. Rec.* 1988, **122**, 155–158.
19. Bostedt H., Kuhn A., Schädlich R., Schwarze G.: Ovulationskontrolle beim Rind im Rahmen der artifiziiellen Insemination und ihre Bedeutung für das Graviditätsergebnis. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 1977, **90**, 113–116.
20. Max A.: Zaburzenia owulacji u krów. *Życie Wet.* 2002, **77**, 464–467.
21. Raś A., Glazer T., Woźniak Z., Studziński T., Zduńczyk S.: Wpływ preparatów zawierających syntetyczny GnRH na zaburzenie owulacji i wyniki zacielenia u krów mlecznych. *Med. Weter.* 1991, **47**, 304–306.
22. Kristula M., Bartolomew R., Galligan D., Uhlinger C.: Effect of a prostaglandin F_{2α} synchronization program in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1992, **75**, 2713–2718.

23. Lucy M.C., Stevenson J.S., Call E.P.: Controlling first service and calving interval by prostaglandin F_{2a} gonadotropin-releasing hormone and timed insemination. *J. Dairy Sci.* 1986, **69**, 2186–2194.
24. Cairoli F., Mollo A., Veronesi M.C., Renaville B., Faustini M., Battocchio M.: Comparison between cloprostenol – induced and spontaneous oestrus fertility in dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.* 2006, **41**, 175–179.
25. Lauderdale J.W., Seguin B.E., Stellflug J.N., Chenault J.R., Thatcher W.W., Vincent C.K., Loyancano A.F.: Fertility of cattle following PGF_{2a} injection. *J. Anim. Sci.* 1974, **38**, 964–967.
26. Stevenson J.S., Lucy M.C., Call E.P.: Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F_{2a}. *Theriogenology* 1987, **28**, 937–946.
27. Tenhagen B.A., Drillich M., Heuwieser W.: Synchronization of lactating dairy cows with prostaglandin F_{2a}: Insemination on observed oestrus versus timed artificial insemination. *J. Vet. Med. A* 2000, **47**, 577–584.
28. Schmidt C., Gajewski Z., Wehrend A.: Strategische hormonelle Fruchtbarkeits – programme bei Kühen, Teil 1: Übersicht, Ovsynch und seine Modifikationen. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2013, **41**, 45–54.
29. Jaśkowski J.M., Urbaniak K.: Płodność krów objętych programem organizacji rozrodu (Targeted Breeding) z zastosowaniem prostaglandyny F_{2a}. *Med. Weter.* 1997, **53**, 407–409.
30. Stevenson J.S., Kobayashi Y., Shipka M.P., Rauchholz K.C.: Altering conception of dairy cattle by gonadotropin – releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F_{2a}. *J. Dairy Sci.* 1996, **79**, 402–410.
31. Thatcher W.W., Macmillan K.L., Hansen P.J., Drost M.: Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 1989, **31**, 149–164.
32. Pursley J.R., Kosorok M.R., Wiltbank M.C.: Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 1997, **80**, 301–306.
33. Peters M.W., Pursley J.R.: Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility. *Theriogenology* 2003, **60**, 1197–1204.
34. Pursley J.R., Silcox R.W., Wiltbank M.C.: Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1998, **81**, 295–300.
35. Köhn R.: Eine betriebswirt – schaftliche Bewertung Ovsynch – Verfahren. *Großtierprax.* 2000, **1–9**, 30–35.
36. Klindworth H.P., Hoedemaker M., Burfeindt D., Heikenbrinker T.: Ovulationsynchronisation (Ovsynch) in hochleistenden Milchviehherden: I Fruchtbarkeitsparameter, Body Condition Score und Plasmalogesteronkonzentration. *Dtsch Tierärztl Wschr* 2001, **108**, 11–19.
37. Rabiee A.R., Lean I.J., Stevenson M.A.: Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: A meta – analysis. *J. Dairy Sci.* 2005, **88**, 2754–2770.
38. Schmidt C., Gajewski Z., Wehrend A.: Strategische hormonelle Fruchtbarkeits – programme bei Kühen, Teil 2: Präsynchrisation und Resynchronisation. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2013, **41**, 95–104.
39. Pancarci S.M., Jordan E.R., Risco C.A., Schouten M.J., Lopes F.L., Moreira F., Thatcher W.W.: Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002, **85**, 122–131.
40. Max A.: Brak rui u krów mlecznych. *Życie Wet.* 2010, **85**, 766–769.
41. Gundling N., Feldmann M., Hoedemaker M.: Hormoneinsatz bei Fruchtbarkeitsstörungen des Rindes. *Tierärztliche Praxis Großtiere.* 2012, **40**, 255–263.

Prof. dr hab. Zdzisław Boryczko, Instytut Weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań