

The vernal transition period in mare reproductive activity

Pinkowska A., Twardoń J., Department of Reproduction and Clinic of Large Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences

The aim of this paper was to present some aspects of vernal transition period in mares. The vernal transition is a normal phase in annual cycle of mare reproductive activity. During this period mares start to restore the follicular activity after winter anestrus. Hormonal imbalance related to inadequate levels of LH and non-effective follicular steroid hormones production may contribute to erratic estrus periods, prolonged estrus behavior and lack of ovulations during vernal transition. These reproductive mare problems should be solved by veterinarians. Appropriate management of transitional mare may accelerate her return reproductive activity and be helpful for induction of early ovulation.

Keywords: vernal transition, reproductive activity, mare.

Klacz należy do samic sezonowo poliestralnych, a jej aktywność reprodukcyjna ulega wahaniom w zależności od pory roku. W cyklu rozrodczym klaczy można rozróżnić 4 fazy:

- 1) zimowy okres *anoestrus*,
- 2) wiosenny okres przejściowy,
- 3) okres aktywności cyklicznej,
- 4) jesienny okres przejściowy.

Wiosenny okres przejściowy cyklu reprodukcyjnego klaczy

Anna Pinkowska, Jan Twardoń

z Katedry Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu

Spśród tych czterech faz największe znaczenie dla hodowców ma wzrost płodności klaczy w fazie drugiej. Związane jest to z dążeniem hodowców do uzyskania potomstwa od klaczy możliwie jak najwcześniej w nowym roku, ponieważ wiek każdego źrebęcia liczony jest tylko na podstawie roku urodzenia, a wiadomo że podczas oceny pokroju czy zdolności sportowych, zwłaszcza młodych koni, różnica kilku miesięcy ma ogromne znaczenie.

Fizjologia aktywności rozrodczej klaczy

Rytm rozrodczy u klaczy sterowany jest pierwotnie poprzez zmiany długości dnia świetlnego. Ten środowiskowy sygnał przetwarzany jest na sygnał układu hormonalnego. Przekaznikiem odbierającym sygnał środowiskowy i przekierowującym na drogę hormonalną jest szyszynka, która podczas fazy ciemności wydziela melatoninę. Gdy dzień świetlny ulega skróceniu, dochodzi do spadku sekrecji gonadotropin, co w konsekwencji prowadzi do zatrzymania aktywności jajników.

Wraz z wiosennym wydłużeniem dnia świetlnego dochodzi do pobudzenia aktywności jajników i wznowienia funkcji rozrodczych klaczy. Jednak w tym okresie poziomy GnRH i LH są wciąż bardzo niskie, co skutkuje nieregularnością cykli. Na jajniku rozwijają się duże nieowulujące pęcherzyki, a okres zachowania rujowego klaczy ulega wydłużeniu (1). Niedostateczny poziom hormonu luteinizującego wraz ze zredukowaną produkcją hormonalną pęcherzyków prowadzi do zatrzymania owulacji.

W początkowej fazie okresu przejściowego jajniki klaczy zawierają tylko małe (10–20 mm) pęcherzyki. Ogólna liczba pęcherzyków wzrasta z 1 nawet do 8–10. W obrazie ultrasonograficznym opisywany jest charakterystyczny dla tego okresu wygląd pęcherzyków na jajniku przypominający kiść winogron (2, 3). W późniejszej fazie okresu przejściowego jeden z pęcherzyków rozrasta się do wielkości ok. 30 mm, lecz nie dochodzi do owulacji. Pęcherzyk taki przez około 7 dni nie zmienia swej wielkości, a następnie ulega regresji,

przy czym w dalszym ciągu pozostaje wypełniony płynem. W tym samym czasie rośnie kolejny pęcherzyk i sytuacja ulega powtórzeniu aż do momentu, gdy poziom LH będzie wystarczający do indukcji owulacji. Zauważalne jest kilka fal wzrostu i regresji pęcherzyków jajnikowych zanim dojdzie do owulacji (4). Zazwyczaj okres pomiędzy pierwszym zauważonym wzrostem pęcherzykowym a owulacją wynosi 60 dni. W tym czasie średnio około 4 pęcherzyków wzrasta, a następnie ulega regresji. Warto przy tym podkreślić, że ostatnie badania podważyły teorię mówiącą, że obrzęk endometrium jest wskaźnikiem nadchodzącej owulacji. Nie należy również odbierać jako pewnik pojawienia się obrzęku, gdyż wzrost poziomu estrogenów nie zawsze idzie w parze z dostatecznym poziomem LH (5).

Ze względu na długi i nie do końca przewidywalny czas oczekiwania na owulację podczas wiosennego okresu przejściowego wprowadzono kilka metod mających na celu skrócenie tego czasu i przyspieszenie owulacji.

Terapia wydłużonym dniem świetlnym

Ponieważ w regulacji cyklu rozrodczego klaczy pierwszoplanową rolę odgrywa długość dnia świetlnego, powszechną metodą stało się używanie sztucznego oświetlenia, aby wydłużyć czas ekspozycji klaczy na działanie światła podczas okresu zimowego. Jednak rozpoczęcie zwiększonej ekspozycji światła powinno nastąpić po wystarczająco długim okresie krótkich dni świetlnych. Wprowadzanie sztucznego oświetlenia w stajniach zaczyna się zazwyczaj wraz z początkiem grudnia. Wymogi dotyczące intensywności sztucznego oświetlenia niezbędnego do przestawienia regulacji hormonalnej u klaczy w *anoestrus* oceniano na minimum 100 lx (6). Eksperymenty w Narodowym Instytucie Badań Rolniczych (INRA) we Francji sugerują, że wystarczające jest oświetlenie stajni na poziomie ok. 10 lx, co odpowiada jednej żarówce o mocy 50 W. Wykazano, iż naświetlanie wystarczające do „przekonania” klaczy o zmianie pory roku, powinno trwać co najmniej 14,5 godziny. Jednak ma to związek nie tyle z samą długością dnia świetlnego, co długością fazy ciemności. Tak więc alternatywą dla ekspozycji klaczy na światło przez 14,5 godziny jest włączenie światła na 1–2 godziny, w 9. godzinie po zapadnięciu zmroku. Tylko 35 dni sztucznego doświetlenia klaczy wystarczy, aby przekazać sygnał do rozbudzenia układu rozrodczego. Średni czas potrzebny do owulacji zarówno klaczy poddanej ekspozycji na sztuczne oświetlenie przez 100 dni, jak i klaczy będącej pod wpływem sztucznego

oświetlenia tylko przez 35 dni jest zbliżony i wynosi około 70 dni.

Należy podkreślić, iż zastosowanie sztucznie wydłużonego dnia świetlnego nie skraca okresu przejściowego, a raczej prowadzi do przemieszczenia całego procesu w czasie, na początek roku kalendarzowego. Okres przejściowy pozostaje dalej fazą trwającą 6–8 tygodni. Jeżeli aktywność cykliczna w danym roku pojawi się u klaczy wcześniej, to również wcześniej się ona zakończy (7).

Pomimo zastosowania sztucznego doświetlenia, nie wszystkie klacze zaczynają okres pełnej aktywności rozrodczej w tym samym czasie. Długość *anoestrus* klaczy różni się wśród klaczy, jak również tej samej klaczy na przestrzeni lat. Ta różnorodność związana jest z tzw. czynnikami hamującymi. Do czynników wywierających hamujący wpływ na rozpoczęcie aktywności płciowej w danym roku należą: stres środowiskowy, kondycja zwierzęcia, żywienie oraz temperatura środowiska, w jakiej zwierzę jest utrzymywane. Niskie temperatury sprzyjają wydłużeniu okresu przejściowego. Uważa się, że niska temperatura hamuje sekrecję prolaktyny. Hormon ten odgrywa ważną rolę w wystąpieniu pierwszej owulacji, dzięki zwiększeniu ilości receptorów dla LH na powierzchni przedowulacyjnych pęcherzyków. Jednocześnie zauważa się wpływ suplementacji diety na czas potrzebny klaczy do rozwinięcia pełnej aktywności rozrodczej. Ma to głównie związek z ilością energii w paszy. Suplementacja taka będzie miała znaczenie u klaczy chudych, jak i o normalnej kondycji. Klacze w bardzo dobrej kondycji lub otluszczone nie będą czerpały korzyści z dodatkowej porcji energii.

W celu przyspieszenia wystąpienia pierwszej rui i owulacji można posiłkować się preparatami hormonalnymi lub ich kombinacjami o skojarzonym działaniu, obejmującym terapię hormonalną wraz z zastosowaniem sztucznego oświetlenia

Terapia hormonalna

GnRH

Stosowanie hormonu uwalniającego gonadotropiny wydaje się najlepszą opcją przyspieszenia okresu pełnej aktywności rozrodczej, ponieważ wpływa on na poziom wszystkich innych hormonów sterujących cyklem płciowym u klaczy. Jednakże GnRH charakteryzuje się krótkim czasem półtrwania, a w związku z tym wymaga częstego podawania. Jego skuteczność jest wyższa, gdy podawany jest wielokrotnie w niewielkich odstępach czasu niż w suplementacji ciągłej.

Syntetyczny analog GnRH – busrelin (preparat Receptal) stosuje się w dawce

20 µg, podawanych dożylnie, w 12-godzinnych odstępach. Nie jest wskazane stosowanie GnRH w *anoestrus* lub wczesnej fazie okresu przejściowego. Po wywołanej w ten sposób owulacji istnieje ryzyko wystąpienia ponownego *anoestrus*, a co za tym idzie, dużej trudności we wprowadzeniu klaczy w kolejną ruję.

Alternatywą dla uciążliwych, częstych iniekcji GnRH czy też jego analogów jest deslorelina (syntetyczny GnRH) w postaci implantu podskórnego (preparat Ovu-plant). Implant ten w ciągu 2–3 dni uwalnia pulsacyjnie małe dawki syntetycznego GnRH. Jego skuteczność potwierdzona została w przypadku klaczy w normalnym cyklu (6). Jeżeli pęcherzyk jest większy niż 35 mm, w 42 godziny od podania tego hormonu dochodzi do owulacji. Metoda ta okazuje się również skuteczna, jeżeli jest stosowana w późniejszej fazie okresu przejściowego. Metoda powtarzanego stosowania implantu przynosi pożądane efekty. Zazwyczaj owulacja pojawia się po ok. 4 dniach, czyli po zastosowaniu kolejno dwóch implantów.

HCG

Stosowanie ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej nie znajduje zastosowania w okresie przejściowym u klaczy. Podanie preparatu zawierającego HCG we wczesnej fazie tego okresu nie odnosi skutku bądź powoduje przejście do *anoestrus* zaraz po owulacji.

Progesteron

Uzasadnieniem zastosowania progesteronu dla przyspieszenia rozpoczęcia właściwego sezonu rozrodczego u klaczy jest niewystarczający poziom gromadzonego i uwalnianego z przysadki LH. Progesteron, który generalnie hamuje uwalnianie LH z przysadki, zapewnia kumulację, a następnie uwolnienie ilości LH właściwej do dojrzewania i owulacji pęcherzyka jajnikowego.

Progesteron lub jego analogi dostępne są na rynku w trzech formach:

- 1) progesteron do stosowania domięśniowego (*i.m.*) w dawce 150 mg/dzień,
- 2) altrenogest do stosowania doustnego w dawce 0,044 mg/kg m.c./dzień (preparat Regumate),
- 3) uwalniające progesteron wkładki dopochwowe (CIDR, PRID).

Bez względu na sposób podania, okres podawania progesteronu powinien wynosić od 8 do 15 dni. Podobnie jak w przypadku GnRH, skutek stosowania zależy od fazy *anoestrus* i poziomu aktywności jajników na początku terapii. Jeżeli klacz znajduje się na początku okresu przejściowego, a na jajnikach występują tylko małe

Tabela 1. Preparaty i ich dawki stosowane u klaczy w wiosennym okresie przejściowym

Substancja czynna	Nazwa handlowa	Dawkowanie
Altrenogest	Regumate® (Intervet Schering-Plough Animal Health)	0,044mg/kg m.c., p.o., co 24 h
Buserelin	Receptal® (Intervet Schering-Plough Animal Health)	20µg, i.m., co 12 h
Deslorelin	Ovuplant®* (Peptech Animal Health)	2,1 mg, s.c. (implant)
Domperidon	Equidone®** (Dechra Veterinary Products)	1,1 mg/kg m.c., p.o., co 24 h
Estradiol 17β****	Estradiol benzoate®**	10 mg, i.m., co 24h
GnRH	LHRH	50-500µg, i.m., co 8-12 h
hCG	Chorulon® (Intervet Schering-Plough Animal Health)	2500 j.m., i.v., jednorazowo
Progesteron	CIDR®/PRID®*** (Sanofi) Progesteronum®*** (Jelfa)	1,9 g/1,55 g, jednorazowo 150mg, i.m., co 24 h
Progesteron+ estradiol 17β****	Progest & Estradiol®** (Rood & Riddle Veterinary Pharmacy)	150mg + 10 mg, i.m., co 24 h
Sulpiryd	Championyl®* (Sanofi-Aventis), Sulpiryd *** (Pliva, Kraków)	0,5-1,0 mg/kg m.c., i.m., co 12-24 h

* Preparat niezarejestrowany w Polsce, dostępny w niektórych krajach UE

** Preparat niezarejestrowany w Polsce, dostępny w USA

*** Preparat niezarejestrowany dla koni

**** Związek niedopuszczony do stosowania u zwierząt przeznaczonych na ubój

pęcherzyki (<20 mm) skuteczność terapii będzie niewielka. W momencie, kiedy zaczęta pojawiać się pęcherzyki >25 mm zastosowana terapia będzie odznaczała się większą skutecznością, przejawiającą się pojawieniem rui w okresie 4–7 dni po wycofaniu preparatu, a następnie owulacji. Rekomendowane jest jednorazowe podanie PGF_{2α} (10 mg/konia i.m.) w dniu zakończenia podawania progesteronu, w sytuacji gdy podczas terapii gestagenowej wystąpiła owulacja i wytworzenie ciała żółtego.

Estradiol

Stosowany jest wspólnie z progesteronem u klaczy w późnej fazie okresu przejściowego. Dodatek estradiolu skutkuje większą supresją pęcherzyków niż przy użyciu samego progesteronu. Jednakże przerwa pomiędzy zakończeniem terapii a wystąpieniem owulacji jest większa niż w przypadku stosowania tylko progesteronu, a termin wystąpienia rui jest dokładniejszy. Połączenie to stosuje się w dziennej dawce 150 mg progesteronu z 10 mg estradiolu-17β i.m.

Antagoniści dopaminy (receptorów dopaminergicznych D2)

Przedstawicielami leków z tej grupy są sulpiryd i domperidon. U klaczy podawanie antagonistów receptorów dopaminergicznych D2 podczas anoestrus prowadzi do wzrostu sekrecji prolaktyny. Prolaktyna wpływa na wzrost ilości receptorów dla gonadotropin w przedowulacyjnych pęcherzykach jajnikowych. Tym samym pęcherzyki te stają się bardziej wrażliwe na działanie LH. Dzienna dawka domperidonu (1,1 mg/kg m.c., p.o.) lub sulpirydu (0,5–1 mg/kg m.c., i.m.) skutkuje wcześniejszą owulacją u klaczy w okresie przejściowym. Jeżeli u klaczy w późnej

fazie okresu przejściowego zastosuje się terapię hormonalną, to owulacja wystąpi w 12–22 dni po zakończeniu jej stosowania. Ostatnie badania dowodzą, iż zastosowanie sulpirydu powoduje w większym stopniu skrócenie oczekiwania na wystąpienie owulacji niż w przypadku podania domperidonu (8). Jednakże należy pamiętać, że antagoniści receptorów D2 nie mają wpływu na sekrecję LH i FSH, więc rozsądne wydaje się połączenie tego leczenia z metodą powodującą wzrost poziomu gonadotropin, np. poprzez zastosowanie sztucznego oświetlenia.

Preparaty i ich dawki stosowane u klaczy w wiosennym okresie przejściowym są przedstawione w tabeli 1.

Leczenie skojarzone

Opieka nad stadem klaczy w okresie przejścia z anoestrus do pełnej aktywności reprodukcyjnej może być bardziej efektywna, gdy połączy się różne metody przyspieszenia wystąpienia pierwszej owulacji. Należy stworzyć i stosować zintegrowany program, którego skuteczność w dużej mierze zależy od dokładności jego stosowania. Najbardziej powszechny, a zarazem skuteczny, obecnie stosowany program, łączy w sobie zastosowanie sztucznego oświetlenia z terapią progesteronową:

- 1 grudnia rozpoczęcie stosowania sztucznego oświetlenia przez 35 dni,
- w połowie stycznia rozpoczyna się podawanie progesteronu przez 14 dni (można stosować razem z estradiolem lub bez),
- w ostatnim dniu podawania progesteronu stosuje się jednorazowo dawkę PGF_{2α},
- gdy pęcherzyk osiągnie rozmiar przedowulacyjny (>35mm), stosuje się HCG lub Ovuplant w celu indukcji owulacji

Po zastosowaniu takiego programu u większości klaczy owulacja wystąpi w pierwszym tygodniu lutego.

Piśmiennictwo

1. McKinnon A. O.: Hormonal control of equine reproduction. *Proceedings of the 11th Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners*. Gold Coast, Australia 2009.
2. McCue P.M., LeBlanc M. M.: Clinical cases in equine reproduction. *The Annual Convention of the AAEP Proceedings*, San Antonio 2006.
3. Murchie T.: Vernal transition: "the waiting game". *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference*. Orlando, Florida 2005.
4. Ginther O. J., Gestal E. L., Gestal M. O., Beg M. A.: Seasonal influence on equine follicle dynamics. *Anim. Reprod.* 2004, 1, 31-44.
5. Watson E.D., Thomassen R., Nikolakopoulos E.: Association of uterine edema with follicle waves around the onset of the breeding season in pony mares. *Theriogenology* 2003, 59, 1181-1187.
6. Guillaume D., Duchamp G., Nagy P.: Determination of minimum light treatment required for photostimulation of winter anoestrous mares. *J. Reprod. Fertil.* 2000, 56 (Suppl.), 205-216.
7. Daels P. F.: Management of spring transition. *8th AAEP Annual Resort Symposium*. Rome 2006.
8. Mari G., Morganti M., Merlo B., Castagnetti C., Parmegiani F., Govoni N., Galeati G., Tamanini C.: Administration of sulpiride or domperidone for advancing the first ovulation in deep anoestrous mares. *Theriogenology*. 2009, 71, 959-965.

Leżak wet. Anna Pinkowska, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, 50-366 Wrocław, pl. Grunwaldzki 49, e-mail: Anna.pinkowska@gmail.com