

PROGESTERONSUPPLEMENTATIE TIJDENS DE VROEGE DRACHT BIJ MELKKOEIEN

G. Opsomer, S. De Temmerman, A. de Kruif

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke
Geert.Opsomer@UGent.be

SAMENVATTING

De fertiliteit van onze melkveepopulatie daalt gestaag. Zo is het drachtigheidspercentage van de eerste inseminatie post partum in het Verenigd Koninkrijk bijvoorbeeld gedaald van 55,6% in de periode 1975/82 naar 39,7% in de periode 1995/98; dit is een afname van bijna 1% per jaar. Hiervoor kunnen meerdere oorzaken, waaronder zowel managements- als koe-factoren, worden aangegeven. Zo is uit de analyse van melkprogesteronprofielen gebleken dat koeien die atypische progesteronprofielen hebben vóór de inseminatie aanzienlijk minder fertiel zijn dan koeien met een normaal progesteronpatroon. Ook is gebleken dat koeien met een abnormaal progesteronprofiel een veel lager drachtigheidspercentage van de eerste inseminatie hebben en dat bij deze dieren het interval partus-conceptie langer is. Het percentage koeien met atypische progesteronprofielen vóór de eerste inseminatie was toegenomen van 32% in de periode 1975/82 tot 49% in de periode 1995/98.

Hoewel de progesteronconcentratie tijdens de luteale fase van de cyclus een belangrijke determinant is voor het al of niet in stand houden van de dracht, blijkt een vroege stijging van de progesteronconcentratie na de ovulatie nog belangrijker te zijn. Lage progesteronconcentraties na de ovulatie leiden tot een zwakke embryonale ontwikkeling, een gebrekkige maternale herkenning van de dracht en tot vroegembryonale sterfte. Deze vroegembryonale sterfte zou bij zo'n 30-40% van de geïnsemineerde koeien optreden en aldus de belangrijkste oorzaak zijn van 'niet-drachtig worden'.

Er moet nagegaan worden hoe ernstig het probleem van de progesteroninsufficiëntie is en hoe het kan worden tegengegaan. Een analyse van de melkprogesteronegevens vóór en na de inseminatie is nodig om die koeien te identificeren waarbij een behandeling met progesteron succesvol zou kunnen zijn. De supplementatie van progesteron vóór de 6^{de} dag van de dracht zou de drachtigheidsresultaten kunnen verbeteren bij koeien met een lage initiële fertiliteit ten gevolge van progesteroninsufficiëntie. Een alternatief voor de behandeling met exogeen progesteron zou de stimulatie van de endogene progesteronsecretie kunnen zijn door de toediening van hCG- of GnRH-analogen. Alvorens gerichte behandelingsadviezen kunnen worden gegeven, is meer onderzoek met een groter aantal dieren noodzakelijk.

INLEIDING

Eén van de belangrijkste aandachtspunten in de moderne veehouderij is de fertiliteit. De economische gevolgen van een gestoorde vruchtbaarheid zijn groot. Het heeft namelijk consequenties voor de melkproductie, voor het voortbrengen van kalveren voor de vleesproductie en de vervanging van de veestapel, voor de inseminatie- en behandelingskosten en voor de genetische selectiemogelijkheden. Steeds meer koeien vertonen vruchtbaarheidsstoornissen, wat lagere drachtigheidspercentages, langere tussenkalftijden, meer inseminaties per conceptie en een slechtere fertiliteitsstatus tot gevolg heeft.

Met behulp van de bepaling van progesteronconcentraties in de melk kan op een eenvoudige manier een aantal van deze problemen in kaart worden gebracht. Een aanzienlijk deel van de reproductieve verliezen blijkt het gevolg te zijn van vroegembryonale sterfte, meer bepaald op het moment van de maternale herkenning van de dracht, omstreeks dag 14, wanneer de luteolyse moet voorkomen worden. Daarom moet een eventueel aanwezig embryo voldoende sterk ontwikkeld zijn om een antiluteolytisch signaal te kunnen uitzenden.

Progesteron speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van het vroege embryo en dus bij het in stand houden van de dracht. Hogere progesteroncon-

concentraties tijdens de eerste twee weken na inseminatie worden in de literatuur geassocieerd met beter ontwikkelde embryo's, met een sterker antiluteolytisch signaal en met betere drachtigheidspercentages. Dit gegeven heeft geleid tot talrijke experimenten waarbij getracht werd het drachtig worden te verbeteren met exogeen progesteron toegediend tijdens het begin van de dracht.

In dit overzicht zal eerst kort de fertiliteit van de huidige rundveepopulatie beschreven worden. Daarna zal ingegaan worden op het tot stand komen van de graviditeit en de rol van progesteron daarin. Tenslotte zal besproken worden in hoeverre vroegembryonale sterfte kan worden voorkomen door een verhoging van de progesteronconcentratie tijdens de vroege dracht.

DE FERTILITEIT VAN DE HUIDIGE RUNDVEE-POPULATIE

Er wordt algemeen aanvaard dat een koe jaarlijks moet kalven om optimale economische resultaten te behalen. Zo wordt ieder jaar immers niet alleen een kalf verkregen, maar wordt ook de melkproductie gewaarborgd en is een goede genetische selectie mogelijk, aangezien er minder dieren moeten opgeruimd worden wegens slechte bevruchtingsresultaten. Om een jaarlijkse kalving te bekomen, moet een koe 85 dagen post partum opnieuw drachtig worden (de Kruif, 2004).

Steeds meer koeien hebben echter te maken met subfertiliteit. De drachtigheidspercentages van de eerste inseminatie dalen al enkele jaren terwijl de tussenkalftijd stijgt (Mann, 2002). Royal *et al.* (2000 a) definiëren subfertiliteit als elke toestand die ertoe leidt dat drachtigheid niet tot stand kan komen vanaf dag 40-50 post partum, nadat de uterus goed geïnvolueerd is. Dit kan dus zowel een voortplantingsprobleem, zoals (postpartum) anoestrus, het onregelmatig cycleren, het uitblijven van bronstsymptomen en van ovulatie, als een verlies van drachtigheid inhouden.

De economische gevolgen van deze fertiliteitsproblemen zijn groot: een verlenging van de tussenkalftijd met één dag betekent een verlies van minstens 1 euro per dier (de Kruif, 2004). Op een bedrijf van 100 melkkoeien met een tussenkalftijd van 420 dagen in plaats van 385 dagen betekent dit een verlies van 3500 euro per jaar! Wanneer melkverliezen, voerkosten, quota- en extra KI-kosten meegerekend worden, zouden de verliezen volgens Esslemont en Peeler (1993) zelfs 4,5 euro per dier per dag bedragen, exclusief nog de kosten voor afvoer en vervanging van subfertiele

koeien, die 900 euro per dier zouden bedragen. Naast de economische gevolgen heeft subfertiliteit ook invloed op het dierenwelzijn vanwege de behandelingen en het vroegtijdig afvoeren van de dieren. Bovendien kan de tijd die gespendeerd wordt aan subfertiele koeien, niet aan andere werkzaamheden worden besteed. Subfertiliteit wordt door melkveehouders dan ook als de belangrijkste kopzorg ervaren, zelfs meer nog dan mastitis of kreupelheid (Moffit, 1995).

DE VROEGE DRACHT

Voorkomen en tijdstip van embryonale sterfte

Uit onderzoek blijkt dat 80 à 90% van de eicellen na een eerste inseminatie bevrucht is (Sreenan en Diskin, 1983; Wathes *et al.*, 1998; Mann en Lamming, 1999; Mann, 2002). Als bovendien ongeveer 10 % van de zeer jonge embryo's verloren gaat ten gevolge van chromosomale abnormaliteiten die de ontwikkeling van het embryo verhinderen (Mann en Lamming, 1999; Mann, 2002), betekent dit dat er zich bij 70 à 80% van de koeien een levensvatbaar embryo ontwikkelt aan het einde van de eerste week van de dracht. Na zes weken blijkt echter zo'n 50% van de koeien niet drachtig te zijn, wat wijst op een extra verlies aan embryo's van ongeveer 20 à 30% en wel ten gevolge van embryonale sterfte (Mann, 2002). Laatembryonale/foetale sterfte en abortus zouden samen verantwoordelijk zijn voor nogmaals 10% van de verliezen aan drachtigheid (Sreenan en Diskin, 1983; Mann en Lamming, 1999; Mann, 2002), wat resulteert in een gemiddeld afkalfpercentage van de eerste inseminatie van slechts 40 à 50% (Sreenan en Diskin, 1983; Wathes *et al.*, 1998; Mann en Lamming, 1999).

Een deel van de vroegembryonale sterfte zou te wijten zijn aan een onvoldoende ontwikkeling van het embryo, maar de belangrijkste oorzaak blijkt het onvermogen van het embryo te zijn om luteolyse te voorkomen en zo de drachtigheid in stand te houden (Mann en Lamming, 1999; Mann, 2002). Uit onderzoek van Mann (2001) bleek dat er in ongeveer 85% van de baarmoeders die uitgespoeld werden op dag 16 (dus net voor het begin van luteolyse), embryo's aanwezig waren. Wanneer we aannemen dat 40% van de koeien opnieuw bronstig wordt, betekent dit dat 25% van de embryo's kort na de 16^{de} dag sterft.

Maternale herkenning van de drachtigheid en het tot stand komen ervan

Het drachtig blijven is mede afhankelijk van de mogelijkheid van het embryo om luteolyse te voorko-

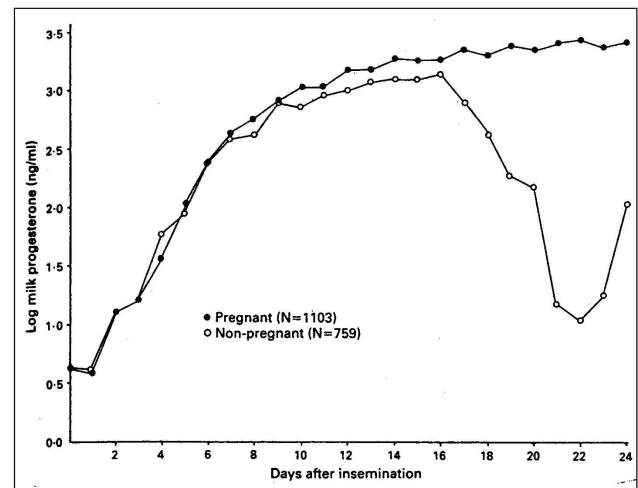
men en zo de aanhoudende vrijstelling van progesteron te garanderen. Luteolyse komt bij cyclerende, niet-geïnsemineerde koeien tot stand door de vrijstelling van PGF_{2α} door het endometrium ongeveer 16 à 17 dagen na de ovulatie. Een belangrijke component van het luteolytisch systeem is de ontwikkeling van oxytocinereceptoren op het endometriumepitheel, aangezien de binding van oxytocine met deze receptoren onontbeerlijk is voor de periodieke secretie van PGF_{2α}. In afwezigheid van oxytocinereceptoren is het PGF_{2α}-secretiepatroon verschillend en komt luteolyse niet tot stand. Het embryo verhindert luteolyse door de vorming van oxytocinereceptoren tegen te gaan en door inductie van een prostaglandine-synthese-inhibitor. Het doet dit door interferon-tau (IFN τ) vrij te stellen dat lokaal inwerkt ter hoogte van het endometriumepitheel (Wathes *et al.*, 1998; Mann en Lamming, 1999; Binelli *et al.*, 2001).

IFN τ wordt in significante hoeveelheden in de uterus aangetroffen vanaf dag 14, wanneer de embryo-elongatie start (Mann *et al.*, 1999). Om luteolyse te kunnen voorkomen, moet het embryo voldoende ontwikkeld zijn, aangezien het voldoende IFN τ moet kunnen secreteren om de PGF_{2α}-afgifte te voorkomen. Een zwakke embryonale ontwikkeling wordt dan ook geassocieerd met een lage IFN τ -productie en het falen van het antiluteolytisch mechanisme, wat resulteert in het verlies van het embryo (Mann en Lamming, 1995; Mann *et al.*, 1998a en b). Het belangrijkste hormoon dat de embryonale ontwikkeling en de IFN τ -productie stimuleert, is progesteron (Mann en Lamming, 1999). Het al dan niet in stand houden van de dracht is dus afhankelijk van het evenwicht tussen het luteolytisch systeem en het signaal van het embryo dat luteolyse moet verhinderen (Mann, 2002).

DE ROL VAN PROGESTERON TIJDENS DE VROEGE DRACHT

De invloed van progesteron op de drachtigheidsresultaten

Het staat reeds jaren vast dat de progesteronconcentratie tijdens de vroege dracht gecorreleerd is met het al of niet drachtig worden na inseminatie. In een aantal studies werd aangetoond dat de progesteronconcentratie vanaf dag 10-12 na inseminatie in zowel melk (Lamming *et al.*, 1989; Mann en Lamming, 1995) als plasma (Lukaszewska en Hansel, 1980; Mann en Lamming, 1995) lager is bij koeien die later niet drachtig worden dan bij koeien die wel drachtig zijn (Mann en Lamming, 1999; Mann *et al.*, 1999; Mann, 2002) (Figuur 1). De variatie binnen beide



Figuur 1. De progesteronconcentraties bij geïnsemineerde drachtig geworden en niet-drachtig geworden koeien (uit Lamming *et al.*, 1989).

groepen is echter groter dan de variatie tussen de groepen, zodat de progesteronconcentratie niet als absolute maatstaf voor drachtigheid mag genomen worden. Het is eerder een factor die de waarschijnlijkheid van al of niet drachtig zijn, beïnvloedt (Mann en Lamming, 1999).

Ook al vroeger, kort na de inseminatie, zijn lagere progesteronconcentraties geassocieerd met minder kans op drachtigheid. Zo vonden Henricks *et al.* (1971) zes dagen na inseminatie lagere progesteronconcentraties bij koeien die niet drachtig werden. Darwash en Lamming (1998) toonden aan dat een late stijging van de progesteronconcentratie na de ovulatie gepaard ging met een gevoelige daling van het drachtigheidspercentage. Volgens deze auteurs stijgt de progesteronconcentratie (tot > 3 ng/ml) bij koeien die drachtig worden vanaf dag 4 terwijl deze stijging pas optreedt op dag 5 bij koeien die niet drachtig worden. Starbuck *et al.* (2001) vonden dat koeien met lage progesteronconcentraties op dag 5 minder kans hadden om drachtig te worden dan koeien met hogere waarden. Was de concentratie hoger dan 3 ng/ml, dan bedroeg het drachtigheidspercentage 50-55% terwijl dit zelfs minder dan 10% bedroeg bij waarden beneden 1 ng/ml. Ongeveer 20% van de onderzochte dieren had concentraties onder de 3 ng/ml, wat de omvang van het probleem van een te lage progesteronconcentratie na inseminatie illustreert. Zo'n te lage progesteronconcentratie hoeft echter lang niet altijd veroorzaakt te worden door een niet-goed functionerend corpus luteum, maar kan ook verband houden met een verkeerd moment van insemineren, bijvoorbeeld veel te vroeg, wat meestal het gevolg is van een ondermaatse bronstdetectie.

De invloed van progesteron op de embryonale ontwikkeling

Progesteron speelt een belangrijke rol in de regulatie van de veranderingen in de uteriene omgeving die moeten leiden tot de innesteling en het behoud van het embryo.

De toediening van progesteron van dag 1 tot dag 4 verhoogt de secretorische activiteit van het endometrium aangezien de totale hoeveelheid eiwit in uteriene "flushes" op dag 14 groter was bij de met progesteron behandelde dieren dan bij de dieren uit de controlegroep (15,2 versus 8,3 mg) (Garret *et al.*, 1988). Bij koeien kunnen dag 8-embryo's getransplanteerd worden naar dag 5-receptorkoeien als deze met progesteron behandeld werden. Dit wijst erop dat progesteron de vrijstelling door het endometrium van een reeks secretieproducten stimuleert zodat een uteriene omgeving wordt gecreëerd die embryo's in een meer geavanceerd stadium in stand kan houden (Garret *et al.*, 1988). Noch de specifieke voedingsstoffen en groeifactoren noodzakelijk voor de embryonale ontwikkeling, noch het mechanisme dat hun vrijstelling controleert, zijn bekend, maar een belangrijke rol zou weggelegd zijn voor het 'insulin like growth factor' (IGF-) systeem in de uterus (Wathes *et al.*, 1998).

Sommige koeien hebben een vrij lage progesteronconcentratie gedurende de eerste 5 dagen van de dracht, zodat het embryo zich gedurende die tijd niet maximaal kan ontwikkelen. De toediening van progesteron van dag 1 tot 4 aan dergelijke koeien verhoogt de plasmaprogesteronconcentratie. Een progesteronbehandeling resulteerde bovendien in een tienvoudige toename van de lengte van de embryonale vruchtvliezen op dag 14 (37,3 versus 3,8 mm) (Mann en Lamming, 2001).

Niet alleen de morfologische ontwikkeling maar ook de biosynthetische activiteit worden versneld door progesteron aangezien IFN τ , dat geassocieerd wordt met het in stand houden van het corpus luteum, wel werd aangetroffen in embryoculturen (dag 14) van behandelde dieren maar niet in die van controledieren (Garret *et al.*, 1988). Messenger-RNA voor IFN τ kan het vroegst rond dag 12 aangetoond worden in de drachtige uterus. IFN τ zelf verschijnt het vroegst rond dag 14-16, wanneer het embryo begint te elongeren (Mann *et al.*, 1999). Om luteolyse te voorkomen, moet het embryo voldoende ontwikkeld zijn om voldoende IFN τ te kunnen produceren. Slecht ontwikkelde embryo's worden geassocieerd met een lage IFN τ -productie, met het falen van het antiluteolytisch systeem en met embryonale sterfte. Het belangrijkste hormoon voor de controle van de embryo-ontwikke-

ling en de IFN τ -productie blijkt progesteron te zijn (Mann en Lamming, 1999).

Kerbler *et al.* (1997) verhoogden de plasmaprogesteronconcentratie door de dominante follikel, die ongeveer 5 dagen na ovulatie aanwezig is, te laten ovuleren met hCG. Aldus wordt een bijkomend corpus luteum gevormd. Vergeleken met de controlegroep waren de progesterongehalten bij de behandelde dieren tussen dag 8 en dag 20 opmerkelijk gestegen en was de productie van IFN τ op dag 18 licht gestegen. Er werd bovendien een relatief hoge correlatie gevonden tussen de IFN τ -synthese en de maternale plasmaprogesteronconcentratie ($r=0,593$). Dit wijst erop dat verhoogde progesteronconcentraties gunstig zijn voor de embryonale ontwikkeling aangezien goed ontwikkelde embryo's samengaan met een hoge IFN τ -productie.

Ook Mann en Lamming (2001) onderzochten het verband tussen de maternale hormonale omgeving en de ontwikkeling van het vroege embryo bij niet-lacterende Holstein koeien. Zij synchroniseerden de koeien via twee injecties met PGF $_{2\alpha}$, toegediend met een interval van 11-13 dagen. De koeien werden nadien ofwel geïnsemineerd 72 of 96 uur na de tweede PGF $_{2\alpha}$ -injectie, ofwel als ongeïnsemineerde controledieren opgevolgd. Er dient echter opgemerkt te worden dat koeien abnormaal kunnen cycleren en zelfs cysteuze ovariële follikels kunnen ontwikkelen na een dubbele behandeling met PGF $_{2\alpha}$. De resultaten van deze studie kunnen dus vertekend zijn door deze synchronisatie (de Kruif, persoonlijke mededeling). In de studie vond men dat geïnsemineerde koeien die niet drachtig waren op dag 16 (embryonegatieve groep) later hadden geovuleerd (hogere oestradiolconcentraties op dag 1, 2 en 3 van de cyclus) in vergelijking met geïnsemineerde koeien die wel drachtig waren op dag 16 (embryopositieve groep). Niet-drachtige koeien vertoonden ook een latere stijging van de progesteronconcentratie na de ovulatie (gemiddeld dag 6,2 na de ovulatie) vergeleken met drachtige koeien (gemiddeld dag 4,9 na de ovulatie). Hierbij dient opgemerkt te worden dat de dieren niet klinisch onderzocht werden (rectaal/echografisch) zodat de lage progesteronconcentraties ook het gevolg kunnen zijn van zich ontwikkelende cysteuze ovariële follikels (Vanholder *et al.*, 2002). Binnen de embryopositieve groep bleek dat er bij de zwak ontwikkelde embryo's sprake was van een verlate progesteronstijging tot lagere luteale niveaus terwijl er bij de goed ontwikkelde embryo's een vroegere progesteronstijging tot hoge luteale niveaus was opgetreden. Wanneer de drachtige koeien bovendien opgedeeld werden in koeien met meetbare IFN τ -con-

centraties op dag 16 na de inseminatie (IFN τ -positieve groep) en koeien met niet-detecteerbare IFN τ -concentraties (IFN τ -negatieve groep), werden (net als in de hiervoor beschreven studies) goed ontwikkelde embryo's aangetroffen in de IFN τ -positieve groep en zwak ontwikkelde embryo's in de IFN τ -negatieve groep. Koeien uit de IFN τ -negatieve groep hadden ook een latere progesteronstijging (1 ng/ml op dag 5,6 na de inseminatie) dan de dieren uit de IFN τ -positieve groep (1 ng/ml op dag 4,1) en bereikten een lager luteaal progesteronniveau. Men moet zich hierbij echter afvragen of deze dieren misschien niet te vroeg geïnsemineerd werden. In de embryopositieve groep waren de plasmaconcentraties van PGF $_{2\alpha}$ na challenge met oxytocine lager dan in de embryonegatieve en de niet-geïnsemineerde controlegroep. Binnen de embryopositieve groep werd de PGF $_{2\alpha}$ -respons op oxytocine volledig onderdrukt in de IFN τ -positieve groep terwijl deze respons in de IFN τ -negatieve groep vergelijkbaar was met die in de embryonegatieve en de controlegroepen.

Hoewel de luteale progesteronconcentratie positief gecorreleerd is met de IFN τ -productie lijkt de bepalende factor in de controle van de embryonale ontwikkeling vooral het tijdstip te zijn waarop de progesteronstijging optreedt. Het uiteindelijk bereikte niveau is minder belangrijk. Bij schapen blijkt im-

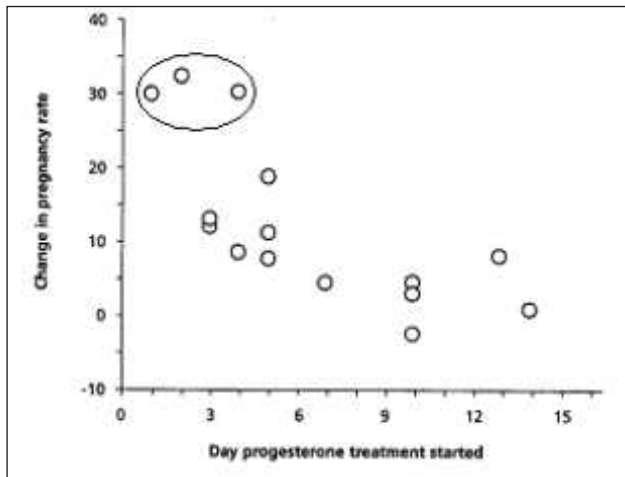
mers ook dat een vertraging van deze stijging met slechts 1 dag resulteert in een zwakke embryonale ontwikkeling en in een drievoudige reductie in de IFN τ -synthese (Nephew *et al.*, 1991). Ook bij koeien blijkt progesteronsupplementatie van dag 1 tot 4 te leiden tot beter ontwikkelde embryo's op dag 14 (Garret *et al.*, 1988), terwijl dit minder het geval is wanneer de progesteronconcentratie later stijgt (bijvoorbeeld dag 8) (Kerbler *et al.*, 1997). De studie van Mann *et al.* (1998a) lijkt dit te bevestigen, aangezien progesterontoeiening tussen dag 5 en 9, maar niet tussen dag 12 en 16 resulteerde in een significante stijging van de IFN τ -productie op dag 16.

Progesteronsupplementatie

Een insufficiënte progesteronconcentratie tijdens de vroege dracht als gevolg van ovariële disfunctie wordt door een aantal onderzoekers als een belangrijke oorzaak van embryonale sterfte aanzien (Robinson *et al.*, 1989; Mann en Lamming, 1999; Mann en Lamming, 2001; Mann, 2002). Reeds in de vijftiger jaren werd onderzocht of progesteronsupplementatie de drachtigheidsresultaten kon verbeteren. Sindsdien werd een groot aantal studies verricht waarin het effect van progesteronsupplementatie op de drachtigheidsresultaten werd onderzocht (Tabel 1). Hierbij

Tabel 1. Overzicht van de resultaten (percentage en aantal dieren) van 17 studies waarin het effect van progesteronsupplementatie op de drachtigheidsresultaten onderzocht werd, gebruikmakend van verschillende supplementatiemethoden over verschillende tijdspannes, met verschillende begintijdstippen en bij verschillende rundveepopulaties (Mann en Lamming, 1999).

Startdag	Controle	Behandeld	Effect	Referentie
0	5,0% (1/20)	35,0% (7/20)	+ 30,0%	Herrick (1953)
4	16,7% (3/18)	46,8% (22/47)	+ 30,1%	Dawson (1954)
3	29,9% (20/67)	41,8% (28/67)	+ 11,9%	Wiltbank <i>et al.</i> (1956)
2-9	37,7% (26/69)	70,0% (49/70)	+ 32,3%	Johnson <i>et al.</i> (1958)
5	45,0% (9/20)	73,7% (14/19)	+ 18,7%	Sreenan en Diskin (1983)
10	61,1% (102/167)	65,4% (102/156)	+ 4,3%	Sreenan en Diskin (1983)
5	40,0% (26/65)	47,5% (29/61)	+ 7,5%	Sreenan en Diskin (1983)
5	30,0% (9/30)	60,7% (17/28)	+ 30,7%	Robinson <i>et al.</i> (1989)
10	30,0%(9/30)	59,3% (16/27)	+ 29,3%	Robinson <i>et al.</i> (1989)
5	57,1% (8/14)	68% (17/25)	+ 10,9%	Walton <i>et al.</i> (1990)
13	42,4% (39/92)	50,0% (18/36)	+ 7,6%	Stevenson en Mee (1991)
7	53,6% (83/155)	57,9% (92/159)	+ 4,3%	Van Cleef <i>et al.</i> (1991)
3	34,9% (22/63)	47,8% (32/67)	+ 12,9%	Larson en Butler (1995)
10	53,3% (72/135)	56,0% (75/134)	+ 2,7%	Mann <i>et al.</i> (1998b)
10-16	67,0% (421/628)	64,3% (317/493)	- 2,7%	MacMillan <i>et al.</i> (2001)
14	63,6% (300/472)	64,0% (325/514)	+ 0,4%	MacMillan <i>et al.</i> (2001)
4	66,3% (309/466)	74,6% (344/461)	+ 8,3%	MacMillan <i>et al.</i> (2001)



Figuur 2. Belang van het tijdstip waarop met de progesteronsupplementatie gestart wordt (uit Mann, 2002). De studies waarin een groot positief effect werd beschreven, bevatten alle weinig dieren zodat zij statistisch niet significant zijn.

werden verschillende aantallen en populaties koeien behandeld met verschillende progesterontherapieën over verschillende tijdspannes en op verschillende tijdstippen van de dracht. Terwijl in vele studies duidelijke verbeteringen van de drachtigheidsresultaten werden aangetoond, kon dit in andere niet worden bevestigd. In een groot aantal studies waren te weinig dieren betrokken zodat zij geen betekenisvolle statistische analyses toelieten. Men moet zich bovendien realiseren dat vele studies met een negatief resultaat waarschijnlijk nooit worden gepubliceerd.

Toen ze de resultaten van 17 (gepubliceerde) studies samen beschouwden, vonden Mann en Lamming (1999) een bescheiden maar significante verbetering van de drachtigheidsresultaten met 5% na progesteronsupplementatie. Een verdere analyse van de gegevens uit deze studies toonde aan dat de timing van de progesteronsupplementatie een kritische factor is: in die studies waar progesteron werd toegediend vóór dag 6 na de inseminatie werd een stijging van het drachtigheidspercentage met 10% vastgesteld, terwijl geen voordeel werd behaald wanneer progesteron na dag 6 gesupplementeerd werd (Figuur 2).

Eenzelfde trend werd waargenomen wanneer de studies opgesplitst werden in die waar de initiële fertiliteit goed was (drachtigheidspercentage hoger dan 50%) en die waar de fertiliteit van de controlegroepen slecht was (drachtigheidspercentage lager dan 50%). Een progesteronbehandeling had enkel effect op bedrijven met een oorspronkelijk slechte fertiliteit.

Een mogelijke verklaring voor het uitblijven van enig effect na progesteronsupplementatie op een later tijdstip werd gezocht in het feit dat een te hoge dosis exogeen progesteron de endogene progesteronsecr-

tie onderdrukt (Royal *et al.*, 2000 a en 2000 b; Mann, 2001). Progesteron remt namelijk de vrijstelling van hypofysair LH, het belangrijkste luteotroop hormoon. Zolang progesteron wordt toegediend, is deze endogene inhibitie van weinig belang maar na stopzetting van de supplementatie kan ze problemen scheppen aangezien de functie van het corpus luteum verminderd wordt. In de praktijk komt dit echter enkel voor na de toediening van relatief hoge doses progesteron en niet met de huidige CIDR's (controlled internal drug release device) die voor dit doel gebruikt worden (Royal *et al.*, 2000a en 2000 b). Mann (2001) toonde aan dat wanneer een aangepaste intravaginale CIDR gebruikt wordt, de plasmaprogesteronconcentratie één dag na het verwijderen ervan vergelijkbaar was met de concentratie op dezelfde cyclusdag zonder behandeling. Dit wijst erop dat de endogene progesteronsecretie niet geïnhibeerd wordt door de behandeling.

Een andere mogelijke verklaring voor de verschillende drachtigheidsresultaten gevonden na supplementatie in de verschillende studies, is dat in de meeste studies de dieren onafhankelijk van hun fertiliteitsstatus werden behandeld. Het ontbreken van effect bij koeien die geen supplementatie nodig hadden, kan het positieve effect bij die koeien die wel behandeling vereisten, verdoezelen. Dit wordt gestaafd door het feit dat de enige studie waarin behandeling vanaf dag 10 resulteerde in een positief effect (MacMillan *et al.*, 1986), plaatsvond bij koeien met een lage initiële fertiliteit.

Hoewel het in de hoger beschreven studie van Mann *et al.* (2001) om koeien ging die voor de tweede maal geïnsemineerd werden (die dus niet drachtig waren van de eerste inseminatie en mogelijk met fertiliteitsproblemen te kampen hadden) en de endogene progesteronproductie niet onderdrukt was, werd geen effect waargenomen na progesteronsupplementatie tussen dag 10 en dag 17. Dit toont nogmaals aan dat supplementatie in het tweede deel van de luteale fase weinig zin heeft om vroeg embryonale sterfte tegen te gaan.

Gebruikmakend van de progesteronconcentratie in de melk op dag 5 na inseminatie identificeerden Starbuck *et al.* (2001) koeien met een progesteroninsufficiëntie om zodoende specifiek deze koeien te kunnen supplementeren met progesteron vanaf dag 6. Op deze manier werd een stijging van het drachtigheidspercentage bekomen van 29% naar 58%. De supplementatie van progesteron vroeg in de dracht bij koeien waarbij aan de hand van afwijkende progesteronprofielen een lage initiële fertiliteit verwacht wordt, zou de vruchtbaarheid dus significant kunnen

Tabel 2. Het effect van progesteronsupplementatie op de drachtigheidsresultaten. De gegevens werden uit 17 studies samengenomen en onderverdeeld in supplementatie vóór of na dag 6 na de inseminatie en bij een goede of slechte fertiliteit van de controlegroep (naar Mann en Lamming, 1999).

Groep	Controle	Behandeld	Effect	Significantie
Alle	58,1% (1459/2511)	63,3% (1508/2384)	+ 5,2%	p < 0,001
Start < dag 6	54,6% (406/743)	64,9% (503/775)	+ 10,3%	p < 0,001
Start > dag 6	61,1% (1026/1679)	62,5% (949/1519)	+ 1,4%	Ns
Controle < 50%	34,3% (124/362)	53,6% (207/386)	+ 19,3%	p < 0,001
Controle > 50%	62,7% (1334/2129)	65,4% (1294/1978)	+ 2,7%	Ns

verbeteren. De kennis van de melkprogesteronconcentratie kort na de inseminatie (< dag 5) kan dan gebruikt worden om dieren te selecteren voor progesteronsupplementatie op het gepaste tijdstip (vanaf dag 6) na inseminatie (Lamming en Royal, 2001).

Hierbij moet worden opgemerkt dat de gunstige resultaten voorzichtig geïnterpreteerd moeten worden omdat studies met een negatief resultaat waarschijnlijk nooit gepubliceerd werden. Zolang er op grote schaal geen eenduidige resultaten bekomen worden, lijkt het erg voorbarig om in de praktijk progesteronsupplementatie te adviseren. Hoewel de drachtigheidsresultaten door het gebruik van PRID's in bepaalde gevallen zouden kunnen verbeterd worden, heeft deze therapie ook enkele nadelen, zoals de verstoring van de vaginale microflora, de kostprijs en de maatschappelijke bezwaren tegen het gebruik van steroïde hormonen.

Naast het verhogen van de progesteronconcentratie via exogene progesteronbehandeling kan men ook de endogene progesteronsecretie stimuleren. Het effect van een behandeling met zowel Human Chorionic Gonadotropin (hCG) als met Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH)-analogen op de drachtigheidsresultaten werd in een aantal studies onderzocht.

De toediening van hCG dient rond dag 5 na inseminatie te gebeuren en steunt op de inductie van de ovulatie of luteïnisatie van de op dat moment aanwezige dominante follikel van de volgende ovariële groeigolf en aldus op de vorming van een secundair corpus luteum. Ook induceert hCG een betere luteïnisatie van het aanwezige corpus luteum. Een behandeling met hCG resulteert in een aanhoudend verhoogde progesteronconcentratie (Kerblar *et al.*, 1997; Walton *et al.*, 1990). In een aantal studies leidde een hCG-toediening dan ook tot hogere drachtigheidspercentages. Ook hier was het echter vaak moeilijk

significante verschillen aan te tonen doordat te weinig dieren in het onderzoek werden opgenomen en ook hier geldt dat de studies met een negatief resultaat vaak niet werden gepubliceerd.

Ook door een behandeling met GnRH-analogen (zoals busereline) kan men de endogene progesteronsecretie stimuleren. GnRH-analogen, toegediend rond het tijdstip van inseminatie, synchroniseren de gebeurtenissen die plaatsvinden rond de ovulatie en promoten op die manier de vorming van het corpus luteum. Een analyse van verschillende studies toonde een significante stijging met 6% aan (van 53% naar 59%) van het drachtigheidspercentage van de eerste inseminatie na een GnRH-toediening rond het tijdstip van inseminatie. Bij repeat breeders werd een stijging van 7% vermeld (van 42% naar 49%) (Kastelic, 1994; Peters, 1996; Sheldon, 1997; Royal *et al.*, 2000b). Andere auteurs konden daarentegen geen verschil vaststellen (Mijten *et al.*, 1992).

GnRH-analogen kunnen ook in de luteale fase van de cyclus gegeven worden. Ze induceren atresie of ovulatie van follikels en reduceren dus de concentratie van circulerende oestrogenen. Oestrogenen stimuleren de vorming van oxytocinereceptoren, die nodig zijn voor de vrijstelling van PGF_{2α}. Via de reductie van de oestrogensecretie door de dominante follikels, kan een GnRH-toediening dus het luteolytisch mechanisme verzwakken, zodat de maternale herkenning van de dracht gestimuleerd wordt. Anderzijds wordt ook de follikelontwikkeling zelf gestimuleerd, waardoor de fertiliteit van de volgende inseminatie eventueel kan verbeteren (Mijten *et al.*, 1992). Volgens verschillende onderzoekers (MacMillan *et al.*, 1986; Mee *et al.*, 1990; Peters *et al.*, 2000) resulteert een toediening van GnRH op dag 11 tot 13 na de inseminatie in een significante stijging van het drachtigheidspercentage met 10 tot 12% ten opzichte van con-

troledieren. In twee Duitse studies (Okyere, 1986; Bentele en Humke, 1987), in een omvangrijke Australische studie (Jubb *et al.*, 1990) en in een Belgische studie (Mijten *et al.*, 1992) werd echter geen effect gevonden.

CONCLUSIE

Hoewel de ultieme oplossing voor het toenemend subfertiliteitsprobleem veeleer dient gezocht te worden in de preventie langs genetische weg en eventueel via de voeding, zijn dit mogelijkheden die slechts op lange termijn soelaas kunnen bieden. Op kortere termijn zouden hormonale therapieën kunnen angewend worden. In een aantal studies wordt aangetoond dat progesteronsupplementatie vroeg in de dracht (< 6 dagen) via het inbrengen van aangepaste CIDR's de drachtigheidsresultaten kan verbeteren, en dit in het bijzonder bij koeien die te kampen hebben met een lage initiële fertiliteit ten gevolge van een progesteroninsufficiëntie. Deze dieren kunnen geselecteerd worden door de progesteronconcentratie in de melk op te volgen via een eenvoudige melkprogesterontest.

In vele studies waarbij positieve resultaten van progesteronsupplementatie werden gevonden, ondergingen de koeien voorafgaande behandelingen, zoals oestrusinductie/-synchronisatie. De vraag dient dan ook gesteld te worden in hoeverre deze behandelingen de resultaten van de studies hebben beïnvloed. Door presynchronisatie worden de drachtigheidsresultaten meestal negatief beïnvloed! In vele studies werden bovendien te weinig dieren betrokken, wat de reproduceerbaarheid en significantie niet ten goede komt. Ook werden veel studies met een negatief resultaat waarschijnlijk nooit gepubliceerd. Verder onderzoek met grotere aantallen dieren is dan ook aangewezen voordat progesteronsupplementatie in de praktijk kan worden geadviseerd.

Een bijkomend bezwaar tegen exogene progesteronsupplementatie is dat dit de endogene productie van progesteron zou kunnen onderdrukken, hoewel dit weerlegd is in studies waar gebruik gemaakt werd van aangepaste CIDR's (Mann *et al.*, 2001). Het gebruik van exogene steroïde hormonen om embryonale sterfte te bestrijden, kan bovendien op maatschappelijke bezwaren stuiten. Het verhogen van de endogene progesteronconcentratie door hCG of door GnRH-analogen toe te dienen zou een alternatief kunnen zijn. Bovendien moet men bij de endocriene behandeling van probleemkoeien steeds de mogelijke erfelijke achtergrond in gedachten houden.

LITERATUURLIJST

- Binelli M., Thatcher W.W., Mattos R. (2001). Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56, 1451-1463.
- Bentele W., Humke R. (1987). Über die Anwendung von Busereline in der Lutealphase bei Kühen nach Zweit- oder Drittbesamung. *Tierärztliche Umschau* 42, 388-394.
- Darwash A.O., Lamming G.E. (1998). The importance of milk progesterone concentrations during early pregnancy in the cow. *Journal of Animal Breeding* 2, 41-43.
- Dawson F.L.M. (1954). Progesterone in functional infertility of cattle. *The Veterinary Record* 66, 324-326.
- de Kruif A., Opsomer G. (2004). Integrated dairy herd health management as the basis for prevention. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 73, 44-52.
- Esslemont R.J., Peeler E.J. (1993). The scope for raising margins in dairy herds by improving fertility and health. *British Veterinary Journal* 149, 537-547.
- Garret J.E., Geisert R.D., Zavy M.T. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 84, 437-446.
- Henricks D.M., Lamond D.R., Hill J.R. (1971). Plasma progesterone concentration before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *Journal of Animal Science* 33, 450-454.
- Herrick J.B. (1953). Clinical observation of progesterone therapy in repeat breeding heifers. *Veterinary Medicine*, 489-490.
- Johnson K.R., Ross R.H., Fout D.L. (1958). Effect of progesterone administration on reproductive efficiency. *Journal of Animal Science* 17, 386-390.
- Jubb T.F., Abhayaratne D., Malmo J., Anderson G.A. (1990). Failure of an intramuscular injection of an analogue of gonadotrophin-releasing hormone 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rate in cattle. *Australian Veterinary Journal* 67, 359-361.
- Kastelic J.P. (1994). Noninfectious embryonic loss in cattle. *Veterinary Medicine*, 584-589.
- Kerbler T.L., Buhr M.M., Jordan L.T., Walton J.S. (1997). Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 47, 703-714.
- Lamming G.E., Darwash A.O., Back H.L. (1989). Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 37, 245-252.
- Lamming G.E., Royal M.D. (2001). Ovarian Hormone Patterns and Subfertility in Dairy Cows. Fertility in the High-Producing Dairy Cow, British Society of Animal Science Occasional Publication, 26 vol 2, 105-118.
- Larson S.F., Butler W.R., Currie W.B. (1995). Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 80, 1288-1295.
- Lukaszewska J., Hansel W. (1980). Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *Journal of Reproduction and Fertility* 59, 485-493.

- MacMillan K.L., Taufa V.K., Day A.M. (1986). Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (Busereline) in cattle. III. Pregnancy rates after post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Animal Reproduction Science* 11, 1-10.
- MacMillan K.L., Taufa V.K., Day A.M., Eagles V.M. (2001). Some effects of post-insemination hormonal therapies on conception rates and re-submission rates in lactating dairy cows. In: Diskin M.G. (ed.): *Fertility in high producing dairy cows*. Volume 1; British Society of Animal Science, Occasional Publication No. 26, 195-208.
- Mann G.E. (2002). Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine. In: 'Recent Developments and Perspectives in Bovine Medicine', edited by Kaske M., Scholz H., Höltershinken M. Proceedings XXII World Buiatrics Congress, Hannover 2002, 300-306.
- Mann G.E., Lamming G.E. (1995). Progesterone inhibition of the development of the luteolytic signal in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 104, 1-5.
- Mann G.E., Lamming G.E., Fisher P.A. (1998a). Progesterone control of embryonic interferon-tau production during early pregnancy in the cow. *Journal of Reproduction and Fertility Abstract Series* 21, Abstract 37.
- Mann G.E., Lamming G.E., Payne J.H. (1998b). Role of early luteal phase progesterone in control of the timing of the luteolytic signal in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 113, 47-51.
- Mann G.E., Lamming G.E. (1999). The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction of Domestic Animals*, 34, 269-274.
- Mann G.E., Lamming G.E., Robinson R.S. (1999). The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.*, 54, 317-328.
- Mann G.E., Lamming G.E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 121, 175-180.
- Mann G.E. (2001). Conception rates during experimentation in dairy cows. *The Veterinary Journal* 161, 301-305.
- Mee M.O., Stevenson J.S., Scoby R.K. (1990). Influence of gonadotrophin hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *Journal of Dairy Science* 73, 1766-1772.
- Mijten P., Coryn M., de Kruif A. (1992). De behandeling van "repeat breeder" koeien met gonadotroop releasing hormoon 12 dagen na de inseminatie. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 61, 42-44.
- Moffit J.E. (1995). The role of the milk development council and its strategy for applied dairy research. Proceedings. Nottingham cattle fertility conference, University of Nottingham, 1995.
- Nephew K.P., McClure K.P., Ott T., Bazer F.W., Pope W.F. (1991). Relationship between variation in conceptus development and differences in estrus cycle duration in ewes. *Biology of Reproduction* 44, 536-539.
- Okyere K. (1986). Über die Wirkung einer einmaligen GnRH-Applikation am 12. Tag post Insemination Bei merhfag besamten Kühen. Dissertatie Gießen.
- Peters A.R. (1996). Embryo mortality in the cow. *Animal Breeding Abstracts* 64, 587-598.
- Peters A.R., Martinez T.A., Cook A.J. (2000). A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 54, 1317-1326.
- Robinson L.A., Leslie K.E., Walton J.S. (1989). Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 72, 202-207.
- Royal M.D., Darwash A.O., Flint A.P.E., Woolliams J.A., Lamming G.E. (2000a). Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science* 70, 487-501.
- Royal M., Mann G.E., Flint A.P. (2000b). Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 160, 53-60.
- Sheldon M. (1997). Bovine fertility-practical implications of the maternal recognition of pregnancy. *Farm Animal Practice*, 546-556.
- Sreenan J.M., Diskin M.G. (1983). Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration. *The Veterinary Record* 112, 517-521.
- Starbuck G.R., Darwash A.O., Mann G.E. (2001). The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. Fertility in the High-Producing Dairy Cow, British Society of Animal Science Occasional Publication, 26 vol 2.
- Stevenson J.S., Mee M.O. (1991). Pregnancy rates of Holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *Journal of Dairy Science* 74, 3849-3856.
- Vanholder T., Govaere J.C.J., Opsomer G., de Kruif A. (2002). De diagnose van cysteuzie ovariële follikels bij melkvee. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 71, 165-171.
- Walton J.S., Halbert G.W., Robinson N.A. (1990). Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Canadian Journal of Veterinary Research* 54, 305-308.
- Wathes D.C., Robinson R.S., Mann G.E. (1998). The establishment of early pregnancy in cows. *Reproduction of Domestic Animals* 33, 279-284.
- Wiltbank J.N., Hawk H.W., Kidder H.E., Black W.G., Ulberg L.C., Casida L.E. (1956). Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. *Journal of Dairy Science* 39, 456-461.