

## PRIMENA HORMONA U INDUKCIJI I SINHRONIZACIJI ESTRUSA I OVULACIJE KOD KRAVA

### Kratak sadržaj

Imajući u vidu značaj i obim stočarske proizvodnje, nameće se pitanje praćenja zdravlja i plodnosti u zaptima krava. Visoka produktivnost povlači za sobom negativne efekte na plodnost, pa tako između proizvodnje mleka i plodnosti postoji „borba za primat”. Jedan od načina borbe za što bolju plodnost u zaptima krava je i primena hormona u manipulaciji polnim ciklusom kod krava. Cilj ove biotehnoške mere je sinhronizacija i indukcija estrusa, kao i sinhronizacija ovulacije u određenim fazama polnog ciklusa. Na taj način omogućava se pravilno i racionalno iskorišćavanje kapaciteta farmi i smanjuju troškovi ljudstva, postiže se bolja iskoristivost semena i efikasnije planiranje proizvodnje. Za indukciju i sinhronizaciju estrusa koriste se preparati prostaglandina i njegovih analoga kroz nekoliko različitih protokola, dok se za sinhronizaciju preovulatornog folikularnog razvoja i indukciju ovulacije koriste preparati na bazi GnRH i progestina u kombinaciji sa prostaglandinima.

**Ključne reči:** krave, sinhronizacija, prostaglandini, GnRH, ovulacija.

---

V. Pavlović, M. Maletić, S. Vakanjac, M. Pavlović, M. Đurić, V. Magaš

## APPLICATION OF HORMONES IN THE INDUCTION AND SYNCHRONIZATION OF OESTRUS AND OVULATION IN COWS

### Abstract

Considering the importance and extent cattle production the question is monitoring health and fertility in dairy cow herds. High productivity implies a

---

<sup>1</sup> Katedra za porodiljstvo, sterilitet i veštačko osemenjavanje domaćih životinja, Fakultet veterinarske medicine Univeziteta u Beogradu.

negative effect on fertility and thus between milk production and fertility of a "struggle for supremacy." One of the ways to fight for better fertility in dairy cow herds is the use of hormones in the manipulation of the sexual cycle of the cow.. The objective of managing sexual cycle in cows and heifers beef and dairy breeds synchronization, induction of estrus and ovulation synchronization in certain phases of the sexual cycle. In this way, a proper and efficient utilization of capacity and reduce farm costs of manpower, better and more efficient utilization of seed production planning. For the induction and synchronization of estrus using the products and analogues of prostaglandins in several different protocols, while the synchronization preovulation follicular development and ovulation induction using products based on GnRH and progestin in combination with a prostaglandin.

**Keywords:** cows, synchronization, prostaglandins, GnRH, ovulation.

## UVOD

Goveda su nesezonski poliestrične životinje kod kojih se polni ciklusi smenjuju svakih 21 ( $\pm 3$ ) dana. Pod polnim ciklusom podrazumevaju se složeni hormonalni i funkcionalni procesi koji se odigravaju na genitalnom traktu polno zrelih, negravidnih ženki. Ovi procesi se odnose na rast i razvoj folikula i jajne ćelije, ovulaciju i stvaranje i regresiju žutog tela. Polni ciklus protiče kroz nekoliko faza:

- estrus (18–24 časa),
- eostestrus (2–4. dana ciklusa),
- diestrus (5–18. dana ciklusa),
- proestrus (19–20. dana ciklusa).

Celokupan polni ciklus krava i junica može se podeliti na dve velike faze: lutealnu i folikularnu. Lutealna faza je dominantna i traje oko 16 dana, obuhvatajući period metestrusa i diestrusa, gde je dominantan uticaj progesterona,

dok folikularna faza obuhvata period proestrusa i estrus, u kom dolazi do pada nivoa progesterona usled regresije žutog tela i rasta dominantnog folikula na jajniku, uz povećanje koncentracije estrogena u folikularnoj tečnosti. Najvažniju ulogu u regulaciji polnog ciklusa ima gonadorelizirajući hormon (GnRH). Sintetiše se u hipotalmusu i pulsativno luči svakih 60 do 180 minuta. Neuro-hormonalnim putem dospeva do adenohipofize, gde podstiče sintezu lučenje folikulostimulišućeg (FSH) i luteinizujućeg hormona (LH). Na sekreciju GnRH utiče mnoštvo endogenih, ali i egzogenih stimulusa. Tokom jednog polnog ciklusa, dolazi do rasta i razvoja folikula kroz dva do tri folikularna talasa. U toku jednog folikularnog talasa dolazi do selekcije samo jednog, ređe dva folikula, koji su sposobni za dalji rast i razviće. Folikulostimulišući hormon pozitivno utiče na rast folikula tek kada on dostigne veličinu od 4–5 mm.

Ovaj folikul se još zove i dominantni, jer sprečava rast i razviće drugih folikula iz istog folikularnog talasa. Folikularni talasi se javljaju 1. i 10. dana ako se radi o dva, odnosno 2, 9. i 16. dana ako se radi o tri folikularna talasa. Dužina lutealne faze polnog ciklusa je u vezi sa brojem folikularnih talasa, jer plotkinje sa tri folikularna talasa, po pravilu, imaju dužu lutealnu fazu. U folikularnoj tečnosti dominantnog folikula koji se nalazi u lutealnoj fazi sintetišu se estradiol i inhibin. Visok nivo progesterona u ovoj fazi blokira dalji rast i razviće folikula i on konačno atrezira. Međutim, može se desiti u određenim situacijama da usled nešto veće sinteze estrogena od strane dominantnog folikula u lutealnoj fazi dođe po pojave znakova estrusa i do 10 dana po osemenjavanju, zbog čega treba biti obazriv prilikom pregleda ovih životinja. Kada dođe do atrezije do tada dominantnog folikula, započinje novi folikularni talas. Do ovulacije dolazi samo u situaciji kada dominantni folikul iz drugog ili trećeg folikularnog talasa dostigne potpuno razviće u fazi regresije žutog tela (stadijum De-grafovog folikula). Ovulacija je indukovana preovulatornim pikom luteinizirajućeg hormona (LH), do kojeg obično dolazi oko 30 časova od početka simptoma estrusa. Istovremeno, LH hormon stimuliše i sintezu žutog tela.

## INDUKCIJA I SINHRONIZACIJA ESTRUSA POMOĆU PROSTAGLANDINSKIH PREPARATA

Prostaglandine kao bioaktivne supstance luče skoro sva telesna tkiva, izuzev eritrocita, a po hemijskom sastavu su nezasićene hidroksilne masne kiseline, sa ciklopentanskim prstenom i 20 ugljenikovih atoma. Arahidonska kiselina je prekursor za sintezu prostaglandina, koji su važni za reproduktivne procese,  $PgF_{2\alpha}$  i prostaglandin E2 (PGE2).

Prostaglandin  $PgF_{2\alpha}$  i njegovi sintetski analozi koriste se u regulaciji polnog ciklusa krava poslednjih 30-ak godina. Efekat davanja prostaglandina zavisi od stadijuma ciklusa u kom se aplikuju, tj. faze razvoja žutog tela. Žuto telo reaguje na davanje prostaglandina od 5. (junice), tj. 7. dana (krave) polnog ciklusa do 17. dana, kada kreće spontana luteoliza od strane endogenih prostaglandina poreklom iz endometrijuma, što znači da je neopravdano aplikovati hormon u periodu do 5. dana i posle 17. dana ciklusa. Pojava estrusa nakon davanja prostaglandina ili njegovih analoga zavisi od stadijuma razvića dominantnog folikula u trenutku aplikacije hormona. Ako se preparat aplikuje u vreme rasta dominantnog folikula prvog folikularnog talasa, može se očekivati pojava ovulacije za 2–3 dana. Međutim, ako se preparat aplikuje u kasnijoj (tzv. „plato“) fazi, kada je folikul izgubio svoju dominantnost, ovulacija se može očekivati tek posle 4–5 dana, kada se iz

drugog folikularnog talasa izdvoji dominantni folikul, koji će i ovulirati.

Postoji nekoliko protokola koji se danas koriste u cilju indukcije i sinhronizacije estrusa davanjem prostaglandinskih preparata i baziraju se na jednom ili višekratnom aplikovanju ovih hormona.

### **JEDNOKRATNO DAVANJE PROSTAGLANDINA**

Ovaj metod aplikacije prostaglandinskih preparata se najčešće koristi u praksi. Podrazumeva davanje hormona samo onim kravama kod kojih je na jajniku kliničkim pregledom ili ultrazvukom, merenjem koncentracije progesterona u mleku ( $> 2$  ng/ml) ili u krvi ( $> 5$  ng/ml) ustanovljeno funkcionalno žuto telo. Prednosti ove metode oledaju se u ekonomičnosti i velikom broju plotkinja koje posle 5–7 dana intenzivnog praćenja ulaze u estrus i bivaju osemenjene. Međutim, 30% plotkinja ne uđe u očekivani estrus posle aplikacije hormona.

### **DVOKRATNO DAVANJE PROSTAGLANDINA**

Plotkinjama kod kojih nije primećen estrus nakon prve injekcije prostaglandina vrši se aplikacija druge doze u razmaku od 11 do 14 dana. Sve krave koji normalno cikliraju trebalo bi od 3 do 5 dana posle druge injekcije prostaglandina da pokažu znake estrusa, bez obzira na fazu polnog ciklusa u kojoj su se nalazile nakon prve doze prostaglandina. Krave koje su dobile dve doze

prostaglandina obično imaju nešto slabiju plodnost. Jedna od često primenjenih metoda dvokratnog davanja prostaglandina vezana je i za plotkinje koje ne pokazuju znake polnog žara i istovremeno nisu gravidne 60 i više dana po porođaju. Kod njih se vrši aplikacija dve doze  $PgF_{2\alpha}$  u razmaku od 11 do 14 dana i, bez obzira na vidljive znake estrusa, vrši osemenjavanje od 72 do 96 sati nakon druge injekcije prostaglandina.

### **VIŠESTRUKO DAVANJE PROSTAGLANDINA**

Ovaj protokol podrazumeva trokratno davanje  $PgF_{2\alpha}$  u razmacima od 11 do 14 dana, pri čemu se životinje prate između aplikacije hormona i vrši osemenjavanje kod plotkinja kod kojih je estrus otkriven. Plotkinje koje ne pokazuju znake estrusa ni posle treće doze  $PgF_{2\alpha}$  osemenjavaju se fiksno od 70 do 80 sati nakon davanja treće doze.

Naposletku, primarni cilj davanja prostaglandina jeste indukcija estrusa i njegovo otkrivanje u tačno određenom periodu. Međutim, u ovakvim uslovima programiranog estrusa i osemenjavanja, rezultati plodnosti su za 20%–30% niži nego kod uobičajenog načina otkrivanja estrusa u zapatu. Najvažniji razlog za ovakav rezultat je taj što prostaglandini indukuju estrus, ali ne dovode do sinhronizacije rasta folikula i LH pika, što negativno utiče na plodnost.

## **SINHRONIZACIJA OVULACIJE KORIŠĆENJEM INJEKCIJA PROSTAGLANDINA F<sub>2A</sub> (PGF<sub>2A</sub>) I GONADOTROPIN RILIZING HORMONA (GNRH) U TAČNO ODREĐENO VREME – „OVSYNCH“ PROGRAM**

„Ovsynch“ су развили Pursley и Wiltbank раних 90-их година на Универзитету Wisconsin – Madison. Циљеви првобитног „Ovsynch“ истраживања били су хормонска контрола почетка новог фолікуларног таласа, контрола животног века спонтаног и индукваног жутог тела, и контрола времена овулације доминантних фолікула. Потребне су три хормонске инјекције како би се постигла сва три циља. Прва инјекција GnRH изазива овулацију, или лутеинизацију, уколико је на најнику присутан доминантни фолікул. Далје, ако је дошло до овулације, нови фолікуларни талас се јавља отприлике након 1,5 до 2 дана. Ако је фаза фолікуларног развоја била у прва три дана спонтаног фолікуларног таласа, GnRH не доводи до овулације. Новоиндуковани талас или спонтани талас, уколико није дошло до овулације, може се развити, уз селекцију доминантног фолікула током наредних седам дана. У то време, PGF<sub>2α</sub> се даје ради индукције лутеолізе, доводећи до даљег раста и матурације доминантног фолікула. Затим, 48 сати касније, следећа инјекција GnRH индукује талас LH, који покреће овулацију око 24 сата након третмана са GnRH, што је и оптимално време за вештачко осеменјаванје. Код јуница је постигнута слаба синхронизација

када су третиране „Ovsynch“ програмом (50%–60%) због бржег тока фолікуларних таласа и раније атрезије доминантног фолікула. Већи број јуница самим тим има краћи лутеални циклус и него јунице које нису биле укључене у програм, највероватније због недовољје стимулације гонадотропинима и настанком жутог тела са скраћеном перзистенцијом.

Постоји више модификација „ovsynch“ програма, као што је Co-Synch, Pre-Synch, Select-Synch, Hibrid-Synch.

Co-Synch модификација подразумева апликацију прве дозе GnRH 0. дана, затим PgF<sub>2α</sub> 7. дана и друге дозе GnRH уз осеменјаванје 10. дана. Главна предност овог протокола је прецизна синхронизација еструса, при чему велики број plotkinja позитивно одговори на третман, укључујући и plotkinje које не показују знаке еструса ни 30 дана после порођаја.

Pre-Synch модификација подразумева апликацију две дозе PgF<sub>2α</sub> у размаку од 14 дана пре започињања класичног „Ovsynch“ програма у циљу постизања одговарајућег овулаторног одговора на прву дозу GnRH, праћеног настанком новог фолікуларног таласа. Ова модификација има за циљ да се већина крава након пресинхронизације налази у фази диеструса (5–12. дана циклуса) у моменту апликације прве дозе GnRH.

Select-Synch модификација подразумева једнократно давање GnRH 0. дана и апликацију PgF<sub>2α</sub> 7. дана код крава које нису у међувремену осеменјене. Најважнија предност ове

modifikacije ogleда se u ekonomičnosti i istovremeno manjem radu sa životinjama jer samo dva puta je potrebno aplikovati hormone, za razliku od Ovsynch ili Pre-Synch programa. Međutim, potrebno je duže vreme opservacije životinja u cilju otkrivanja estrusa.

HCG-Synch je modifikacija koja je vrlo slična Ovsynch programu, ali umesto druge doze GnRH aplikuje se humani horioni gonadotropin (hCG). Optimalno vreme za osemenjavanje je od 17 do 24 časa nakon aplikacije hCG.

### **PRIMENA PROGESTAGENA U SINHRONIZACIJI ESTRUSA KRAVA – PROGRAMI CRESTAR I CIDR**

Progestageni u kombinaciji sa prostaglandinima i GnRH/ eCG, hCG utiču i na funkciju žutog tela i na folikularnu dinamiku. Regresiju žutog tela omogućava kombinacija gestagena sa luteolitičkim faktorima, aplikacijom estrogena na početku tretmana i aplikacijom PgF<sub>2α</sub> na kraju tretmana u okviru CRESTAR programa. CRESTAR program predstavlja aplikaciju supkutanih implantata na bazi 3 mg norgestometa uz parenteralno davanje 2 ml Crestar injekcije na bazi 5 mg estradiol valerata. Kod mlečnih krava, 48 sati pre vađenja implantata aplikuju se prostaglandini. Nakon 9–10 dana, vrši se vađenje implantata i aplikacija eCG. Doza eCG zavisi od starosti životinje, sezone, dužine servis perioda itd. Kombinacija ove dve komponente skraćuje lutealnu fazu na jajniku ako je tretman

započeo u ranoj fazi ciklusa i prouzrokuje ovulaciju i luteinizaciju svakog LH-senzitivnog folikula na jajniku u vreme aplikacije i na taj način sprečava nastanak perzistentnog folikula. U isto vreme, Norgstomet izaziva supresiju estrusa i ovulaciju, inhibirajući sintezu hormona u hipofizi. Ovaj protokol karakteriše fiksno vreme osemenjavanja bez otkrivanja estrusa. Kod krava, osemenjavanje se vrši 56 sati nakon vađenja implantata, a kod junica nakon 48 sati.

Jedan od najčešće korišćenih i najprofitabilnijih programa za sinhronizaciju estrusa u svetu je CIDR (kontrolisano unutrašnje oslobađanje hormona) program. On podrazumeva ubacivanje plastičnog implantata natopljenog progesteronom (1,38 gr) u vaginu plotkinje, gde se preko sluznice vagine dalje resorbuje. Na taj način produžava se lutealna faza na jajnicima kod svih tretiranih plotkinja i sprečava da uđu u estrus. Osnovni CIDR protokol podrazumeva aplikaciju implantanta u vaginu u trajanju od sedam dana. Na 24 časa pre vađenja implantata aplikuje se PgF<sub>2α</sub>. Pojava estrusa može se očekivati za 3–4 dana nakon vađenja CIDR implantata.

### **LITERATURA**

1. Bleach E. C. L., Glencross R. G., Knight P. G. (2004): *Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles*. Reproduction 127: 621–9.

2. Cavalieri J., Hepworth G., Fitzpatrick L. A. (2005): *Synchronising oestrus with oestradiol benzoate after using a twodoseprostaglandin treatment to synchronise luteolysis in dairy heifers*. Aust Vet J 83: 91–6.
3. Cavalieri J., Hepworth G., Fitzpatrick L. A., Shepard R. W., Macmilan K. L. (2006): *Manipulation and control of the estrous cycle in pasture based dairy cows*, Theriogenology 65; 45–64.
4. DeJarnette, J. M., Day M. L., House R. B., Wallace R. A., and Marshall C. E. (2001): *Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of postpartum suckled beef cows following synchronization of estrus using GnRH and PGF J*. Anim. Sci. 79: 1675–1682.
5. Dogan I., Konyali A., Tolu C., Yurdak S. (2008): *Diferent estrous protocols during the transiation period in lacting turkish does following AI*, Acta Veterinaria (Beograd) 58: 259–266.
6. Herlihy M. M., Berry D. P., Crowe M. A., Diskin M., Butler S. T. (2011): *Evaluation of protocols to synchronize estrus and ovulation in seasonal calving pasture-based dairy production systems J*. Dairy Sci 94: 4488–4501.
7. Rivera H., Lopez H., Fricke P. M. (2004): *Fertility of Holstein Dairy Heifers after Synchronization of Ovulation and Timed AI or AI after Removed Tail Chalk*, J. Dairy Sci. 87: 2051–2061.
8. Rivera H., Lopez H., Fricke P. M. (2005): *Use of Intravaginal Progesterone-Releasing Inserts in a Synchronization Protocol before Timed AI and for Synchronizing Return to Estrus in Holstein Heifers*, J. Dairy Sci 88: 957–968.

