

Clinical diagnosis of bovine twin pregnancy

Literature review

Z. Szelényi^{1,2}
Á. Cs. Bajcsy³
O. Szenci^{1,2}1. Állatorvostudományi Egyetem,
Haszonállat-gyógyászati
Tanszék és Klinika
H-2225 Üllő, Dóra Major

*e-mail: Szelenyi.Zoltan@univet.hu

2. MTA-SZIE,
Nagyállatklinikai Kutatócsoport
Üllő3. Stiftung Tierärztliche Hochschule
Hannover, Klinik für Rinder, Hannover,
Németország**Az ikervemhesség klinikai megállapításának lehetőségei szarvasmarhában****Irodalmi összefoglaló****Szelényi Zoltán^{1,2}, Bajcsy Árpád Csaba³, Szenci Ottó^{1,2}****ÖSSZEFOGLALÁS**

A szerzők az ikervemhesség megállapítási lehetőségeit tekintik át az irodalmi adatok és saját eredményeik tükrében. A különböző módszereket sorra véve térnek ki az ikervemhesség megállapításának lehetőségeire, értékelve azok előnyeit és hátrányait. A vizsgálati eredmények értékelését nagyban befolyásolja az embrionális/magzati mortalitás, azáltal, hogy torzítja a vemhességi diagnózisok eredményeinek értékelését. Ezt figyelembe kell vennünk akkor, amikor kiválasztjuk a vemhesség elbírálásának módszerét. Bár a vemhességi fehérjék a szérumban vagy a tejben mért koncentrációja a korai vemhességvizsgálat során ikervemhességek esetében nagyobb, jelenleg nem áll olyan határérték a rendelkezésünkre, amellyel klinikai értelemben véve el tudnánk különíteni az egy borjúval vemhes és az ikervemhes állatokat. Ultrahangvizsgálattal a vemhesség 24–25. napjától nemcsak a vemhesség tényét, hanem az ikervemhességet is diagnosztizálhatjuk. A gyakorlatban az embrionális fejlődés végét megelőző vizsgálatokat a magzati fejlődés korai szakaszában meg kell ismételni, mert embrionális mortalitás következtében a vemhességek egy része ilyenkor megszakadhat.

SUMMARY

Background: The authors overview the relevant literature on clinical diagnostic possibilities of twin pregnancy in cattle.

Objectives: The different methods of pregnancy diagnosis were evaluated, underlining the advantages and disadvantages of each method. In practice the pregnancy loss due to embryonic/foetal mortality is the main factor affecting the results of pregnancy diagnoses, therefore the nature of the phenomenon must be taken into consideration when evaluating any method. However, the measurement of pregnancy proteins either in sera or milk is an accurate method for setting up pregnancy diagnosis, at the moment it is not accurate for distinguishing between twin and singleton pregnancies.

Diagnosing pregnancy from Days 24–25 by means of ultrasonography is also proper for diagnosing twins, but because of the above-mentioned effect of pregnancy loss, confirming diagnosis is required in cases of twin pregnancies by means of ultrasonography.

SZARVASMARHA

A tejelő szarvasmarha-állományokban az ikeremhesség megfelelő időben történő megállapítása (elsősorban a jelenség nem kívánt következményei miatt) napjainkban a szaporodásbiológiai diagnosztika fontos része. A nem kívánatos következmények között elsősorban a vemhesség során a nagyobb arányú veszteségeket (14, 24, 58, 60), a rövidebb vemhességi időtartamot, az ellés körüli rendellenességek halmozott előfordulását (2, 6, 43) és az ellés után fellépő megbetegedések gyakoribb kialakulását (6, 17) értjük. Az ikeremhességnek a születendő utódok szempontjából is lehetnek káros következményei. Irodalmi adatok számolnak be az újszülöttek kisebb születési testtömegéről. Az egyes születésű borjak testtömege átlagosan 25%-kal nagyobb lehet, mint az ikerellésből származó borjaké, de az ikrek jobb növekedésükkel csökkenthetik hátrányukat, így a választáskori testtömegkülönbség már csak 15% körül mozog (16). Emberekben a magzati fejlődés során rendellenességek alakulhatnak ikerterhességek esetén, molekuláris diagnosztikai vizsgálatokkal ezek tesztelése ma már elérhető rutinszerűen (55), esetleg biokémiai markerek is jelen lehetnek (61), állatokban ilyen irányú vizsgálatokat rutinszerűen nem végzünk. Az ellentétes ivarú magzatok közötti placenta-anasztomózis miatt freemartinizmus alakul ki üszőborjakban, amely miatt az ilyen születésű üszők mindegyikét célszerű kizárni a tenyésztésből (17).

Az ikeremhesség előfordulási aránya tejelő állományokban 3–9%

A szarvasmarha jellemzően egyet ellő faj (fajtánkénti különbségekről nem számolnak be irodalmi adatok), az ikeremhesség előfordulási aránya 3–9% között mozog pl. a norvégiai tejelő állomány összes ellésére vetítve (34). Saját korábbi felmérésünkben egy 5 évet felölelő retrospektív, mintegy 13000 ellésre kiterjedő vizsgálatban az ikerellések előfordulási gyakorisága 3,4% volt (7), hasonló előfordulásról számoltak be más hazai szerzők is (2). A már említett vizsgálatban is előfordultak olyan évek egyes gazdaságokban, amikor 8–9% volt az ikerellések előfordulási gyakorisága. Mindemellett – klinikai megfigyelések alapján – hazánkban olyan állományokkal is lehet találkozni, ahol sosem történik 2–3%-nál több ikerellés, ez a fent említett retrospektív vizsgálatban is megfigyelhető volt.

Az ikerszületésnél lényegesen nagyobb arányban fordul elő a vemhességvizsgálatkor megállapított ikeremhesség. A manapság kiterjedten alkalmazott korai vemhességvizsgálati módszerekkel évszaktól függően (7) 2–15% között mozog az ikeremhesség megállapítási aránya. Saját – korábban említett – felmérésünkben az ikeremhességek kialakulása elsősorban a késő téli-tavaszi hónapokban volt gyakoribb. Egy spanyol felmérésben 20% volt az ultrahangvizsgálattal megállapított ikeremhességek gyakorisága (39). Ilyen nagy arányú előfordulást hazai irodalomban nem találtunk még, saját vizsgálataink során is csak ritkán.

A tavaszi és őszi hónapokban, ill. a laktációk számának növekedésével gyakoribb az ikerellés

Az ikerellések előfordulását számos környezeti, elsősorban takarmányozási, de más klimatikus, szezonális tényező is befolyásolhatja. A tavaszi és őszi hónapokban, ill. a kor előrehaladtával, a laktációk számának növekedésével gyakoribb az ikerellés, az üszők 1%-os ikerellése az idősebb teheneknél akár a 10%-ot is elérheti (7). A különböző, széles körben alkalmazott hormonkezelések közül az eCG és az FSH hormonok alkalmazása növeli a többes ovulációk valószínűségét – ez a szuperovulációs protokollok alapja –, míg a GnRH használatával végzett ivarszinkronizálási eljárások, amelyek szintén kiterjedten használatosak a gyakorlatban, nem befolyásolják azt.

A húshasznú szarvasmarhák tartásakor egy tehen után ikerellést követően két hízóborjú állítható elő a termelési ciklusban. Az ikerellésekkel a hústermelés hatékonysága az elletési és állatorvosi költségekkel, a fokozottabb gondoskodással mintegy 24%-kal növelhető. Emiatt a húsmarhatartók igyekeznek az ikerellések számát szelekcióval is növelni. Az ikerkutatások eredményei szerint az

Az ikerellésből származó borjak választáskori testtömege 15%-kal kisebb, mint az egyes születésűeké

Húsmarháiban genetikai szelekcióval próbálják növelni az ikerellések számát

ikerellések aránya húsmarháiban szelekciós eszközökkel 1–4 %-ról 20–25 %-ra is növelhető (16). Ennél jobb eredményekről irodalmi adatok nem számolnak be, vélhetőleg a jelenség gyenge örökölhetősége miatt ($h^2 = 0,09$). Azok a tehenek, amelyek anyja valamikor a korábbiakban ikreket hordott ki, mintegy háromszor nagyobb valószínűséggel (1,9–5,6%) fognak ismét ikermagzatokat elleni (42). Egyesült Államokbeli szerzők vizsgálatai szerint azok a tehenek, amelyek egyszer már ikreket ellettek 7% eséllyel újra azokat fognak (83065 állatból 5852 ellett ismét két borjút) (68). Az is igazolt, hogy azon tehenek, amelyek 2-szer vagy többször ellettek ikreket, 7,2% eséllyel újra azokat fognak (17).

1. ÁBRA. Szarvasmarha ikermagzatok a magzati fejlődés kezdetén (a cotyledonok fejlődése makroszkóposan látható)

FIGURE 1. Bovine twin pregnancy at the beginning of the foetal development (the development of the cotyledons is macroscopically visible)



Az egytetéjű ikrek előfordulása szarvasmarháiban ritka

Az ikrek legtöbbször a két méhszarvban indulnak fejlődésnek

Ikervemhesség kialakulása esetén két, ún. kodomináns tüsző érik egyszerre, és a sikeres ikerovulációt követően kettős termékenyülés jön létre, ennek következtében a petefészteken két sárgatest található, a méhszarv(ak)ban pedig két embrió fog fejlődésnek indulni (33) (1. ábra). Az egyes ovulációt követő spontán embriófeleződésből kialakuló, ún. egytetéjű ikrek előfordulása szarvasmarháiban ritka, egy vizsgálatban az összes ikervemhességen belül 5%-nál kisebb volt ezek előfordulása (58). A hármas-, ill. többes ikrek születése csak elvétve fordult elő. Habár a két sárgatest ugyanazon petefészken is jelen lehet ikervemhesség esetén, a bilaterálisan helyeződő ikrek mégis sokkal gyakoribbak, mint az unilaterálisan helyeződők (39). Ugyanakkor a diagnosztikai vizsgálat során a kettős sárgatest jelenléte nem feltétlenül utal ikervemhességre, hiszen a kettős ovulációk előfordulása mintegy kétszerese az ikerellések előfordulási gyakoriságának, valamint a spontán megszűnése az ikervemhességeknek is ismert jelenség (38). Az ikerovuláción belül az uni- és a bilaterális ovulációk egyformán gyakoriak (39), azonban unilaterális ikervemhességek esetén növekszik az embrió/magzatvesztés aránya (40).

Az ikerovuláció kialakulásának hátterében az állatok élettani igényeinek kielégítése (és ezáltal a nagyobb laktációs termelés elérése) valószínűsíthető. Egy amerikai vizsgálatban (36) 50 kg/nap tejtermelés felett a többes ovulációk előfordulása 50% feletti volt. WILTBank és mtsai szerint a kodomináns tüszők ovulációjára eltérő preovulációs FSH-koncentrációk vezetnek, emiatt néhány órás különbséggel ugyan, de ugyanabban a tüszőnövekedési hullámban több tüsző

ovulációja következik be. Ez vagy a tüszők hierarchiájának felborulása miatt, vagy pedig az FSH-koncentráció változás egy tüsző eredetű faktor, legvalószínűbben az ösztadiol miatt következik be. A tüszők által termelt, emelkedett 17β -ösztadiol mennyiség az önkéntes takarmányfelvétel növekedéséből következő növekvő tejtermelés miatt következik be. Ebből adódóan, a folyamatos, bélből történő tápanyagfelszívódás miatt a májon átáramló vér mennyisége is megnő. Ez a különböző szteroid hormonok, elsősorban a 17β -ösztadiol fokozott metabolizmusához is vezet (ez magyarázza, miért lehet kisebb szteroidhormon-koncentrációkat mérni nagyobb termelésű tehenekben) (68).

AZ IKERVEMHESÉG MEGÁLLAPÍTÁSÁNAK KLINIKAI LEHETŐSÉGEI

REKTÁLIS TAPINTÁS

Egy nemrégiben készült magyarországi felmérésben a gazdaságok 70%-a alkalmazott valamilyen korai vemhességvizsgálati módszert. A gazdaságok közel egyharmadában még ma is rektális tapintással végzik a szaporodásbiológiai gondozást (19). Az ikervemhesség klinikai megállapítása napjainkban a gyakorló állatorvosok számára nem okoz nehézséget, mégsem találunk irodalmi adatot arról, hogy hazánkban rendszeres lenne-e az ikervemhességek megállapítása.

A vemhesség megállapítása többféle vizsgáló módszerrel lehetséges. Ilyenek az amnionhólyagok tapintása (70), ill. a magzatburkok átcsúsztatásának technikája (73). Leggyakrabban ezen módszerek magukban hordozzák az amnionhólyag sérülésének veszélyét (4, 12, 20, 35, 45, 65).

A vemhes méhszarv *fluktuációjának tapintása* hazánkban a legelterjedtebben használatos vemhességvizsgálati módszer. A vizsgálat kivitelezésekor pozitív vemhességi diagnózist jelent, hogy a vemhes méhszarv – elsősorban az allantoisfolyadék felszaporodása miatt – részaránytalanná válik és benne hullámozó tapintási leletet adó folyadék állapítható meg. Ez a vemhesség 60. napja körül nagy biztonsággal, a vemhesség 30–40. napja körül pedig a vizsgáló gyakorlatosságától függően (1, 54) ad biztos diagnózist. Ikervemhesség esetén a két embrió allantochorionjában kétszeres mennyiségű allantoisfolyadék képződik, mégis a magzati elongáció miatt nem minden esetben tapintható egyértelműen az ikervemhesség jelenléte az egyes vemhességek néhol jelentős méretbeli különbségeinek köszönhetően. Az ikervemhesség szempontjából lényegesen könnyebb a két méhszarvbéli (bilaterális) ikervemhességet megállapítani. A módszer alkalmazása során viszont rutinszerűen az ikervemhességek megállapítása nem lehetséges.

Az *amnionhólyagot* a rektális vizsgálat során egy gyakorlott vizsgáló korán, a vemhesség 30. napja körül már ki tudja tapintani. Az 1–2 cm átmérőjű amnionhólyagokat rendszerint a tapintható sárgatest(ek)el azonos oldali méhszarvban lehet érezni. A vizsgálat során nagyon óvatosan kell eljárni, ugyanis az irodalmi adatok alapján ikervemhesség során kétszer nagyobb a rektális „manipuláció” okozta károsodás kockázata, mint egyes vemhességnél (13, 33). A rektális vizsgálat során fokozott mértékben okozhatunk amnionkárosodást, és az ebből származó magzatelhalás egyes vemhesség esetén akár 3–10 % is lehet. Ezen túlmenően a rektális vizsgálat a méh nyálkahártyából történő endogén prosztaglandin-felszabaduláshoz is vezethet. Megkísérelték a magzatelhalásokat ikervemhes tehenekben is diagnosztizálni: az arány akár 30–50 % is lehet (5).

Az ujjak közötti *ún. magzatburkok átcsúsztatásának* („Fetal membrane slip”) alkalmazása hazánkban nem elterjedt, a tengerentúlon jóval népszerűbb módszer. Erre is utal az a felmérés, amelyben korai ultrahangvizsgálattal vemhesnek bizonyult teheneket vizsgáltak meg az ún. „magzatburkok átcsúsztatása”

Hazánkban a tehenészetek 70%-a alkalmaz valamilyen korai vemhességvizsgálati módszert

A méhszarv fluktuációjának tapintásával rutinszerűen nem lehet az ikervemhességet megállapítani

Az amnionhólyag rektális tapintása ikervemhesség során nagyobb eséllyel okoz magzatkárosodást

technikával a vemhesség 34. és 41. napja között. Bár a korai vizsgálatok fokozott arányú magzatvesztést jelentettek (66), későbbi dolgozatokban ismételt ultrahangvizsgálatokkal igazolták (54), hogy a kísérleti csoportban nem volt nagyobb az embrió/magzatelhalás aránya, azonban az összes kísérleti tehenet figyelembe véve a 30. és a 60. nap között 14%-os volt a magzatvesztés, ami jelentősnek mondható, magyarázható ez a rutintól eltérő, négyszeri rektális vizsgálatlal is.

Érdemes megemlíteni, hogy míg a korábbi dolgozatok kiemelten kezelték a vizsgálatokkal együtt járó fokozott arányú embrionális/magzati veszteségek vizsgálatát, napjainkban (valószínűleg a más vemhességvizsgálati módszerek elterjedtségének köszönhetően) ezek a vizsgálatok háttérbe szorultak.

ULTRAHANGVIZSGÁLAT

Az ultrahangvizsgálatot az 1980-as években kezdték a vemhesség megállapítására használni szarvasmarhában. A kezdeti időszakban a tudományos igényességű vizsgálatok célja elsősorban a módszer pontosságának megállapítását szolgálták egy adott vemhességi időszakban. CURRAN és mtsai pontosan definiálták az egyes magzati képletek megállapíthatóságának idejét. Dolgozatukban a magzati szívverés megállapíthatósága a vemhesség 22–24. napja közé volt tehető, ma is ez a pozitív vemhességvizsgálati kritériumok egyike (10). Ezen túlmenően az embrió jelenléte, az amnionhólyag leképezése és az allantoisfolyadék jelenléte képezik a pozitív vemhességi diagnózist a klinikai gyakorlatban. Az allantoisfolyadék többször ellett állatban a 25–26. naptól, először ellő állatban már a 23–24. napokon látható, majd a vemhesség előrehaladtával mennyiségi növekedése könnyen megállapíthatóvá teszi a vemhességet. A késői embrionális fejlődés során (a vemhesség 16–42. napja) az embrió jelentős mértékben megnyúlik, elongálódik (1. ábra) (ahogyan a korai embrionális fejlődés során a 0–16. napok között is), ezért az ultrahangvizsgálattal mért méhszarvátmérő nem alkalmas a vemhesség korának megállapítására. Ugyanezen időszakok során az embrió legnagyobb átmérője is növekszik, az embrionális fejlődés végén, a 42. napon 15–25 mm-es legnagyobb átmérővel lehet számolni.

A magzati fejlődés kezdete a vemhesség 42. napja, ekkortól lehet diagnosztikai vizsgálat során a méhpogácsákat leképezni (11). A korai diagnosztikai vizsgálatokat követően a klinikai gyakorlatban is széles körben elterjedté vált az ultrahangkészülék használata (28, 48, 64). A kétdimenziós b-mód ultrahang mellett a Doppler-ultrahanggal is vizsgálható a szarvasmarhák női nemű traktusa. A különböző erek leképezése, ill. bennük a véráramlás mérése akár a vemhességgel is összefüggést mutathat már a vemhesség korai időszakában is (30).

Iker vemhesség során a klinikai diagnózis kimondásához mindkét embrió meglétére, a magzati szív működés megállapítására és az amnionhólyagok felkeresésére is szükség van. Az embriók helyeződésük szerint fellelhetők az azonos oldali méhszarvban (unilateralis ikrek) (2. ábra) és az ellentétes oldali méhszarvban is (bilateralis ikrek). Egy spanyol vizsgálatban a bilateralis ikrek gyakoribb előfordulását figyelték meg (39).

A diagnosztikai ultrahangvizsgálat során fontos szerep jut vemhességvizsgálatkor a sárgatest felkeresésének is. Iker vemhességek esetén, mivel iker vemhesség általában kodomináns tüszők ovulációja után következik be (33) a monozigóta (egypetűjű) ikrek előfordulási gyakorisága kicsi (58), a vemhes méhszarvnak megfelelő számú és oldalaságú sárgatestet lehet találni. Saját gyakorlatunkban ehhez hasonló eredményeket állapítunk meg azzal a megjegyzéssel, hogy alkalmanként három sárgatesttel rendelkező iker vemhes állatok is előfordultak. Sokkal nagyobb, mintegy 10% volt azoknak az állatoknak

Ultrahangvizsgálattal a magzati szívverés megállapíthatósága a vemhesség 22–24. napja közé tehető

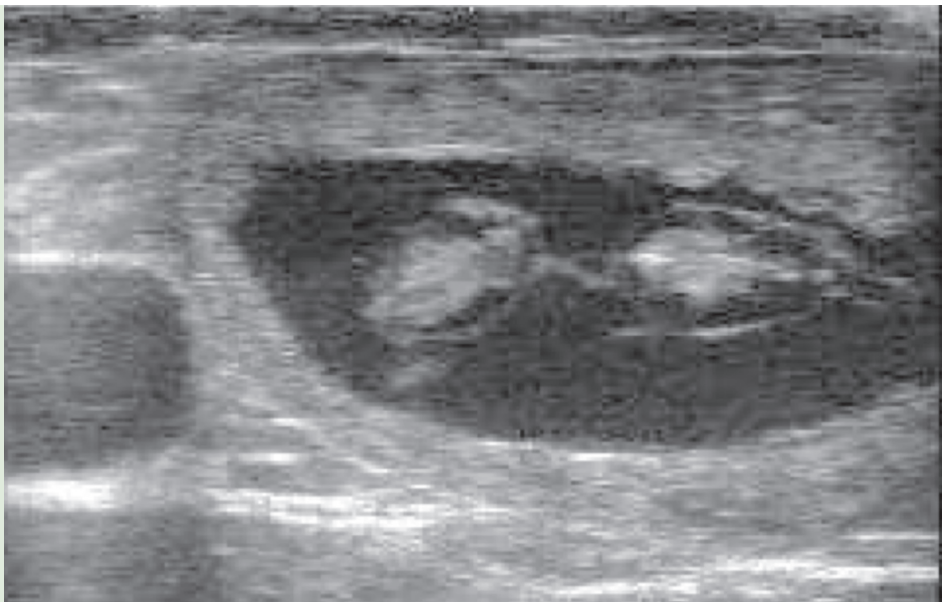
Iker vemhesség kimondásához mindkét embrió, azok szív működése és az amnionhólyagok felkeresése is szükséges

A sárgatestet is fel kell keresni ilyenkor

az érintettsége, amelyeknél egyes vemhesség mellett két sárgatestet lehetett találni. Jelenlegi diagnosztikai módszereinkkel nehéz megállapítani, hogy kodomináns tüszők ovulációjából származó egyes vemhességről, vagy embrionális mortalitást szenvedett ikervemhességekről van-e szó ezekben az esetekben. Emberekben az ultrahangvizsgálatnak az ikervemhességek nyomkövetésében is van szerepe, egyes paraméterek, pl. a méhnyak hosszának mérete összefüggésben lehet az abortusz bekövetkeztével (44), állatokban ilyen méréseknek nincs szerepe és kivitelezésük is nehezebb.

2. ÁBRA. *Unilateralis ikervemhesség ultrahangképe*

FIGURE 2. *Echographic picture of a unilateral twin pregnancy*



A szarvasmarha synepitheliochorialis placentájának trophoblast eredetű sejtjei termelik a vemhességi fehérjéket

A vemhességi fehérjéket PAG-1 és 2 alcsoportokra különítjük

A VEMHESSÉGI FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA

A vemhességi fehérjék kérődző állatok vérszérumában és -plazmájában kimutatott fehérjetermészetű vegyületek, amelyek eredete a föto-placentáris egység (74).

A vemhesség 22. napjától kezdődően a trophoblast eredetű mononuclearis sejtek átjutnak az endometriumba, miközben binuclearis, ill. trinuclearis sejtekké alakulnak. Emiatt a szarvasmarha placentáját synepitheliochorialis placentának nevezzük (3, 29). A trophoblast eredetű sejtek vándorlása az egész vemhesség alatt megfigyelhető, és ezek a sejtek termelik a vemhességi fehérjéket (18), a placentaris lactogént és a vemhesség kb. 150. napjától kezdődően a progeszteront is (57).

A vemhességi fehérjéket (pregnancy associated glycoprotein – PAG) 2 alcsoportra lehet elkülöníteni (8, 72). A PAG-2 alcsoport főként az anyai-magzati határfelületen helyeződik (a keringésben nem mérhető), a PAG-1 alcsoport, ami elsősorban a trophoblast binuclearis sejtjein expresszálódik, ezért az anyai keringésben a beágyazódás környékén (kb. a 25. napon) jelenik meg, az ellésig nő a mennyisége a vérben. Bár biológiai funkcióját a közel harminc éve tartó kiterjedt kutatások ellenére sem ismerjük, jól használhatóak akár állomány szinten a vemhesség megállapítására (52, 62), a magzat életképességének előrejelzésére (46, 74), valamint a vemhesség elvesztésének megállapítására a késői embrionális vagy korai magzati időszak alatt, akár más állatfajokban is (49, 50, 71). Munkacsoportunk korábban juhokban is sikerrel alkalmazta a különböző tesztek a korai vemhességi diagnózis felállítására (32), ill. más fajokban is megállapították a tesztek alkalmazhatóságát (50). A technológiai fejlődésnek köszönhetően előbb-utóbb istállótesztek is várhatóak a vemhességi fehérjék mérésére, ezek egyelőre még nem megbízhatóak (41).

Az e téren végzett kutatások során többféle vemhességi fehérjét írtak le. Egy amerikai munkacsoport (56) egy másik vemhességi fehérjefrakciót különített el. Bár a vemhesség megállapítására szolgáló összehasonlító vizsgálatok száma csekély, valószínű, hogy ezek a fehérjék csak szénhidrát-oldalláncaikban különböznek egymástól. A PSPB (Pregnancy Specific Protein B) fehérjével kapcsolatosan is több vizsgálat igazolta, hogy alkalmas a vemhes állatok elkülönítésére (23, 24, 26, 67).

Klinikai szempontból tehát fontos, hogy milyen biológiai folyadékban és milyen módszerrel mérjük a fehérjék koncentrációját. Több mint 20 évig a különböző mérőmódszerek a vérszérumban/vérplazmában mutatták ki a fehérjéket, német szerzők írták le a tejből történő mérés lehetőségét (22). Egyes szerzők beszámoltak a vizelettel ürülő vemhességi fehérjék méréséről kétdimenziós elektroforézis segítségével (51), azonban eredményeik alapján klinikai alkalmazhatóságról még nem beszélhetünk. A vér-tej gát miatt a tejben kisebb koncentrációk mérhetőek (9, 25, 69), ez nehezíti a klinikai diagnózis felállítását is. A különböző mérőmódszerek közül az eredeti leírások mindegyik fehérje esetében RIA-módszerrel készültek (56, 74). A technológiai fejlődés lehetővé tette, hogy ma már ELISA-módszerrel is megbízhatóan tudjuk mérni a fehérjék koncentrációit (22, 27, 59), akár még húshasznú szarvasmarhákban is (53). A különböző ELISA-tesztek összehasonlításáról is számos dolgozat készült (31, 47).

A vemhességi fehérjék koncentrációját a vérben számos tényező befolyásolja. Egy vizsgálatban azt is megállapították, hogy a PAG-1-koncentráció negatívan korrelál a nagy tejtermeléssel a korai magzati időszakban. A vemhesség elvesztésére 10-szer nagyobb az esély kis PAG-1-koncentráció esetében (< 2,5µg/ml) és 6,8-szor nagyobb az esély nagy (> 4µg/ml) PAG-1-koncentráció esetében (16). A fehérjék csekély koncentrációja a méhlepény rossz vérellátását tükrözi, a PAG-1 megjelenése a vérben tulajdonképpen a magzati jólét jele (63). Fontos kérdés az, hogy mekkora az a koncentráció, ami vetélés bekövetkeztére utalhat, esetleg a határ változhat-e, ha hidegebb időben történik a mintavétel. A veszteségek mértékére egy vizsgálatban az apaállatok is hatást gyakoroltak (40).

Több vizsgálatban is megállapították, hogy a két embrióval/magzattal vemhes állatokban több vemhességi fehérjét is ki lehet mutatni, és hogy a vemhesség előrehaladtával ikervemhes állatokban a fehérjekoncentráció emelkedése kifejezettebb (40). Ennek ellenére az ikervemhes állatok azonosítása a PAG-mérések alapján nem egyszerű. Egy vizsgálatban a korai és az ellenőrző vizsgálat ideje közötti vemhességi veszteség háromszoros volt ikervemhes állatok esetében (40). Nehezíti a diagnózist, hogy a spontán embrióvesztés jelenségét is leírták ikervemhes állatokban, ez a PSPB-nek a PAG-nál hosszabb felezési ideje miatt tovább nehezíti a diagnózis felállítását. LOPEZ-GATIUS és mtsai arra a következtetésre jutottak, hogy van összefüggés a tejtermelés és a PAG vérkoncentrációja között. Szignifikáns negatív összefüggés találtak a tejtermelés és a PAG-koncentráció között a vemhesség 63. napján mérve RIA-497 és RIA-706 alapján. Néhány esetben nem tudták a vegyületet kimutatni, vagy téves negatív eredményt adtak a PAG-koncentrációk mérései a vemhesség 35. és 56. napja között. Ennek az oka szerintük az lehetett, hogy a nagy termelésű tehénekben fokozottabb a PAG lebontása, és emiatt nem mutatja ki a teszt. Szintén megállapították vizsgálatukban, hogy a bPAG (szarvasmarha PAG) jelentős mennyisége választódhat ki a tejjel is (37).

Annak igazolására, hogy a két embrióval/magzattal vemhes állatokban a nagyobb bPAG-koncentrációk klinikailag alkalmasak-e ikervemhesség megállapítására a vemhesség első trimeszterében vett vérmintákban, több esetben is statisztikailag szignifikáns különbséget tudtunk kimutatni egy borjúval vemhes és ikervemhes állatok között, de klinikailag alkalmazható határértéket csak a vemhesség 3. hónapjától (a 85. nap után) kaptunk. Mindezek alapján azt a

A PAG-1-koncentrációja negatívan korrelál a nagy tejtermeléssel a korai magzati időszakban

Két embrióval/magzattal vemhes állatokban több vemhességi fehérjét is ki lehet mutatni

következtetést vontuk le, hogy a késői embrionális és a korai magzati időszakban a transzrektális ultrahangvizsgálat az ikervemhességek elkülönítésének biztos módszere.

AZ EMBRIONÁLIS/MAGZATI MORTALITÁS BEFOLYÁSA AZ IKERVEMHESÉGEK KLINIKAI DIAGNÓZISÁRA

A háziállataink közül a kérődzők, és azon belül a szarvasmarha esetében az embrionális/magzati mortalitás gyakorolja a legnagyobb hatást a klinikai eredményekre a vemhesség-vizsgálatok eredményeinek tekintetében. Bár a veszteségek aránya az egyes placentációs szakaszokban vagy a magzat fejlődése során változhat (15, 40) mégis amerikai kutatók (69) is hasonló időszakokat jelöltek meg kritikus időszaknak, mint amelyeken mi is vizsgálatokat végzünk. A vemhesség klinikai megállapítása a késői embrionális fejlődés (az embrió és a placenta fejlődésének) végére, a vemhesség 30. és 42. napja közötti időre esik. Ez kijelöli azt is, hogy a gyakorlatban, amennyiben korai vemhességi diagnózis kimondására törekszünk, állománymérettől függően hetente, két hetente kell vizsgálatokat végezni, ellenkező esetben nagyobb időintervallumot vizsgálva már nem lesz korai a vemhességvizsgálat, hiszen a rektális tapintás is elérhető vizsgálati módszer lesz.

A veszteségek mértéke (a korai vemhes állatokra vonatkoztatva akár 15%, egyes spanyol vizsgálatokban [40] akár 20%) viszont kijelöli az ellenőrző vemhesség-vizsgálat szükségességét (21). A veszteségek bekövetkezésének ideje túlnyomórészt a késői embrionális és a korai magzati fejlődés szakaszára esik (5). Tapasztalataink szerint a 60. nap környékén (57–63. nap) végezve az ellenőrző vemhesség-vizsgálatot a további veszteségek mértéke 5% alatti. Megállapításra került, hogy a vemhességi fehérjék vizsgálata alkalmas a magzati veszteségek nyomkövetésére is (24, 27, 63).

Ikervemhességek esetén a veszteségek bekövetkezése és megoszlása további vizsgálatokat igényel. Először LOPEZ-GATIUS és mtsai számoltak be mintegy 20%-os vemhességi veszteségről a korai vemhes állatokra vonatkoztatva. Adataik alapján felmerül, hogy ikervemhességek esetén eltérő vemhességi menedzsmentet kellene alkalmaznunk (39).

Befolyásolja a veszteségek mértékét az *embriók elhelyezkedése* is. Két méhszarvban vemhes (bilaterális vemhes) állatokban az irodalmi adatok szerint kisebb arányú volt a veszteségek mértéke (40), mint az egy méhszarvban ikervemhes (unilateralis) teheneiben. Saját vizsgálatainkban ezeket az adatokat megerősíteni nem mindig tudtuk, ebben bizonyosan szerepet játszik az ikervemhességek változó arányú részleges magzatvesztése (38). A *vemhességi diagnózis módja* is károsan befolyásolta egyes adatok szerint a veszteségek mértékét. Rektális tapintással végzett vemhességvizsgálat esetén az amnionhólyag felrepedése oka lehet a gyakoribb magzat-felszívódásnak (1). Egy texasi munkacsoport adatai szerint azonban a magzatburkok átcsúsztatásának technikájával végzett vemhességvizsgálat nem okozott nagyobb arányú veszteségeket. Unilateralis ikervemhességekben beszámoltak az amnionhólyag tapintásával végzett vemhesség-vizsgálat során fokozott arányú veszteségekről (54).

Az évszak egy vizsgálatban szintén hatást gyakorolt az ikervemhességek veszteségeire. Nyári időszakban megállapított ikervemhességek esetén nagyobb volt a veszteségi arány.

MEGVITATÁS

Az ikervemhességek mint nem kívánatos jelenségek a tejtermelő tehének tartásakor különböző mértékben hatással vannak a vehem kihordásának esélyére, a szaporodásbiológiai menedzsmentre is. Jelen ismereteink szerint az említett

A vemhességi fehérjék vizsgálata a magzati veszteségek nyomkövetésére is alkalmas

Az ikervemhességek nem kívánatos jelenségek a tejtermelő tehének tartásakor

Elengedhetetlen a minél korábbi, és minél pontosabb ikervemhességi diagnózis

módszerek használatosak a vemhesség megállapítására, bár irodalmi adatok állnak rendelkezésre más módszerek használatáról (30, 41), ezek klinikai alkalmazhatósága kérdéses. Emberekben különböző biokémiai markerek az ikerterhességet – és fenyegető következményeit – előrejelezhetik (61), sőt molekuláris biológiai markereket is tesztelnek a magzati diagnosztikában (55). A veszteségek ismeretében a minél korábbi, és minél pontosabb ikervemhességi diagnózis elengedhetetlen. Ez jelenlegi ismereteink szerint csak ultrahangvizsgálattal érhető el. Egyes irodalmi adatok a késői embrionális és a korai magzati időszakban fokozott arányú veszteségre hívják fel a figyelmet. Ezért az ikervemhességek esetén a szokásos, 60. napi ellenőrző vemhességvizsgálat mellett egy korábbi alkalommal, a vemhesség 45. napja körül már javasolnak egy ellenőrző vemhességvizsgálatot.

IRODALOM

1. ABBITT, B. – BALL, L. et al.: Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1978. 73. 973–977.
2. ARI, M. – ORBÁN, M. – JANBAZ, J. – SZŰCS, E. – KOVÁCSNÉ GAÁL, K. – GULYÁS, L.: Ikerellések vizsgálata hazai holstein-fríz tenyészetekben. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2011. 133. 396–402.
3. AUGUSTINE, T. P.: Bovine placenta: A review on morphology, components, and defects from terminology and clinical perspectives. *Theriogenology*, 2013. 80. 693–705.
4. BALL, L. – CARROLL, E. J.: Induction of fetal death in cattle by manual rupture of the amniotic vesicle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1963. 142. 373–374.
5. BAXTER, S. J. – WARD, W. R.: Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner. *Vet. Rec.*, 1997. 140. 287–288.
6. BEEREPOOT, G. M. M. – DYKHUIZEN, A. A. et al.: The Economics of Naturally Occurring Twinning in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 1992. 75. 1044–1051.
7. BOLDIZSÁR Sz.: Az ikervemhesség előfordulása, diagnosztikája és egyes vonatkozásai szarvasmarhában. Szakdolgozat. 2009.
8. BUTLER, J. E. – HAMILTON, W. C. et al.: Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol. Reprod.*, 1982. 26. 925–933.
9. COMMUN, L. – VELEK, K. et al.: Detection of pregnancy-associated glycoproteins in milk and blood as a test for early pregnancy in dairy cows. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2016. 28. 207–213.
10. CURRAN, S. – PIERSON, R. A. – GINTHER, O. J.: Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 20 through 60. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986. 189. 1295–1302.
11. DAVIS, M. E. – HAIBEL, G. K.: Use of real-time ultrasound to identify multiple fetuses in beef cattle. *Theriogenology*, 1993. 2. 373–382.
12. DAWSON, F. L. M.: Methods for early termination of pregnancy in the cow. *Vet. Rec.*, 1974. 94. 542–548.
13. DAY, J. D. – WEAVER, L. D. – FRANTI, C. E.: Twin pregnancy diagnostics in Holstein cows. *Canadian Vet. J.*, 1995. 36. 93–97.
14. DEL RIO, N. S. – STEWART, S. et al.: An observational analysis of twin births, calf sex ratio, and calf mortality in Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2007. 90. 1255–1264.
15. DOBSON, H. – ROWAN, T. G. et al.: Assessment of fetal number, and fetal and placental viability throughout pregnancy in cattle. *Theriogenology*, 1993. 40. 411–425.
16. ECHTERNKAMP, S. E. – CUSHMAN, R. A. et al.: Effects of ovulation rate and fetal number on fertility in twin-producing cattle. *J. Anim. Sci.*, 2007. 85. 3228–3238.
17. ECHTERNKAMP, S. E. – GREGORY, K. E.: Effects of twinning on postpartum reproductive performance in cattle selected for twin births. *J. Anim. Sci.*, 1999. 77. 48–60.
18. ECKBLAD, W. P. – SASSER, R. G. et al.: Localization of pregnancy-specific protein B (PSPB) in bovine placental cells using glucose oxidase-anti-glucose oxidase immunohistochemical stain. *J. Anim. Sci.*, 1985. 61. (Suppl.). 149–150.
19. FODOR I. – BÚZA L. – ÓZSVÁRI L.: Nagy létszámú hazai tejelő szarvasmarhatelepek teheneinek főbb szaporasági mutatói és szaporodásbiológiai menedzsmentje. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2016. 138. 653–663.
20. FRANCO, O. J. – DROST, M. et al.: Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. *Theriogenology*, 1987. 27. 631–644.
21. FRICKE, P. M. – RICCI, A. et al.: Methods for and Implementation of Pregnancy Diagnosis in Dairy Cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2016. 32. 165–180.
22. FRIEDRICH, M. – HOLTZ, W.: Establishment of an ELISA for measuring bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum or milk and its application for early pregnancy detection. *Reprod. Domest. Anim.*, 2010. 45. 142–146.
23. GÁBOR, Gy. – KASTELIC, J. P. et al.: Improving reproductive performance in lactating dairy cows by synchronising ovulation or inducing oestrus. *Acta Vet. Hung.*, 2002. 50. 231–234.
24. GÁBOR, G. – KASTELIC, J. P. – ABONYI-TÓTH, Zs. – GÁBOR, P. – ENDRŐDI, T. – BALOGH, O.: Pregnancy Loss in Dairy Cattle: Relationship of Ultrasound, Blood Pregnancy-Specific Protein B, Progesterone and Production Variables. *Reprod. Domest. Anim.*, 2016. 51. 467–473.
25. GAJEWSKI, Z. – MELO DE SOUSA, N. et al.: Concentration of bovine pregnancy associated glycoprotein in plasma and milk: its application for pregnancy diagnosis in cows. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2008. 59. (Suppl.) 55–64.
26. GIORDANO, J. O. – GUENTHER, J. N. et al.: Changes in serum pregnancy-associated glycoprotein, pregnancy-specific protein B, and progesterone concentrations before and after induction of pregnancy loss in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2012. 95. 683–697.
27. GREEN, J. A. – PARKS, T. E. et al.: The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. *Theriogenology*, 2005. 63. 1481–1503.

28. HUGHES, E. A. – DAVIES, D. A.: Practical uses of ultrasound in early pregnancy in cattle. *Vet. Rec.*, 1989. 124. 456–458.
29. IGWEBUIKE, U. M.: Trophoblast cells of ruminant placentas--A minireview. *Anim. Reprod. Sci.*, 2006. 93. 185–198.
30. KANAZAWA, T. – SEKI, M. et al.: Pregnancy prediction on the day of embryo transfer (Day 7) and Day 14 by measuring luteal blood flow in dairy cows. *Theriogenology*, 2016. 86. 1436–1444.
31. KAREN, A. – SOUSA, N. M. – BECKERS, J. F. – BAJCSY, Á. Cs. – TIBOLD, J. – MÁDL, I. – SZENCI, O.: Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radiomimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 2015. 159. 31–37.
32. KAREN, A. – BECKERS, J. F. – SULON, J. – SOUSA, N. M. – SZABADOS, K. – REICZIGEL, J. – SZENCI, O.: Early pregnancy diagnosis in sheep by progesterone and pregnancy-associated glycoprotein tests. *Theriogenology*, 2003. 59. 1941–1948.
33. KARLSEN, A. – KLEMETSAL, G. – RUANE, J.: Twinning in cattle. *Animal Breeding Abstracts*, 2000. 68. 1–8.
34. KARLSEN, A. – RUANE, J. et al.: Twinning rate in Norwegian cattle: frequency, (co)variance components, and genetic trends. *J. Anim. Sci.*, 2000. 78. 15–20.
35. KASSAM, A. – BONDURANT, R. H. et al.: Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1987. 191. 417–420.
36. LOPEZ, H. – CARAVIELLO, D. Z. et al.: Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2005. 88. 2783–2793.
37. LÓPEZ-GATIUS, F. – GARBAYO, J. M. et al.: Milk production correlated negatively with plasma levels of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) during the early fetal period in high *Dom. Anim. Endocrinol.*, 2007. 32. 29–42.
38. LOPEZ-GATIUS, F. – HUNTER, R. H. F.: Spontaneous reduction of advanced twin embryos: its occurrence and clinical relevance in dairy cattle. *Theriogenology*, 2005. 63. 118–125.
39. LOPEZ-GATIUS, F. – LOPEZ-BEJAR, M. et al.: Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: Risk factors and effects. *Theriogenology*, 2005. 63. 1298–1307.
40. LOPEZ-GATIUS, F. – SANTOLARIA, P. et al.: Timing of early foetal loss for single and twin pregnancies in dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.*, 2004. 39. 429–433.
41. MAYO, L. M. – MOORE, S. G. et al.: Technical note: Validation of a chemical pregnancy test in dairy cows that uses whole blood, shortened incubation times, and visual readout. *J. Dairy Sci.* 2016. 99. 7634–7641.
42. MORRIS, C. A. – WHEELER, M.: Genetic variation in twin calving incidence in herds with a high phenotypic mean. *New Zeal. J. Agr. Res.*, 2002. 45. 17–25.
43. NIELEN, M. – SCHUKKEN, Y. H. et al.: Twinning in dairy cattle: A study of risk factors and effects. *Theriogenology*, 1989. 32. 845–862.
44. PAGANI, G. – STAGNATI, V. et al.: Cervical length at mid-gestation in screening for preterm birth in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 2016. 48. 56–60.
45. PAISLEY, L. G. – MICKELSON, W. D. – TRÖST, O. L.: A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. *Theriogenology*, 1978. 9. 481–491.
46. PATEL, O. V. – DOMEKI, I. et al.: Effect of fetal mass, number and stage of gestation on pregnancy specific protein concentrations in the bovine. *Theriogenology*, 1995. 44. 827–833.
47. PIECHOTTA, M. – BOLLWEIN, J. et al.: Comparison of commercial ELISA blood tests for early pregnancy detection in dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 2011. 57. 72–75.
48. PIETERSE, M. C. – SZENCI, O. – WILLEMSE, A. H. – BAJCSY, Á. Cs. – DIELEMAN, S. J. – TAVERNE, M. A. M.: Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, 1990. 33. 697–707.
49. POHLER, K. G. – PEREIRA, M. H. et al.: Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 2016. 99. 1584–1594.
50. POHLER, K. G. – PERES, R. F. et al.: Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. *Theriogenology*, 2016. 85. 1652–1659.
51. PYO, J. – HWANG, S. I. et al.: Characterization of a bovine pregnancy-associated protein using two-dimensional gel electrophoresis, N-terminal sequencing and mass spectrometry. *Proteomics*, 2003. 3. 2420–2427.
52. RICCI, A. – CARVALHO, P. D. et al.: Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. *J. Dairy Sci.*, 2015. 98. 2502–2514.
53. ROBERTS, J. N. – BYREM, T. M. – GROOMS, D. L.: Application of an ELISA Milk Pregnancy Test in Beef Cows. *Reprod. Domest. Anim.*, 2015. 50. 651–658.
54. ROMANO, J. E. – THOMPSON, J. A. et al.: Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. *Theriogenology*, 2007. 67. 486–493.
55. SARNO, L. – REVELLO, R. et al.: Prospective first-trimester screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2016. 47. 705–711.
56. SASSER, R. G. – RUDER, C. A. et al.: Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biol. Reprod.*, 1986. 35. 936–942.
57. SCHULER, G. – GREVEN, H. et al.: Placental steroids in cattle: hormones, placental growth factors or by-products of trophoblast giant cell differentiation? *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2008. 7. 429–436.
58. SILVA DEL RÍO, N. – COLLOTON, J. D. et al.: Factors affecting pregnancy loss for single and twin pregnancies in a high-producing dairy herd. *Theriogenology*, 2009. 71. 1462–1471.
59. SILVA, E. – STERRY, R. A. et al.: Accuracy of a pregnancy-associated glycoprotein ELISA to determine pregnancy status of lactating dairy cows twenty-seven days after timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.*, 2007. 90. 4612–4622.
60. SPITZNER Á. – NÉMETH T. – EGRSZEGI I. – BALOGH O. – KERN L. – GÁBOR Gy.: Az ikeremhesség és az ikerelés előfordulása és hatása a szaporodásra kérődzőkben : Irodalmi összefoglalás. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2013. 135. 595–608.
61. SVIRSKY, R. – LEVINSOHN-TAVOR, O. et al.: First- and second-trimester maternal serum markers of pre-eclampsia in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 2016. 47. 560–564.

62. SZENCI, O. – BECKERS, J. F. – HUMBLLOT, P. – SULON, J. – SASSER, G. – TAVERNE, M. A. M., – VARGA, J. – BALTUSEN, R. – SCHEKK, GY.: Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy specific protein B, and bovine pregnancy associated glycoprotein 1 test for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 1998. 50. 77–88.
63. SZENCI, O. – BECKERS, J. F. – SULON, J. – BEVERS, M. M. – BÖRZSÖNYI, L. – FODOR, L. – KOVÁCS, F. – TAVERNE, M. A. M.: Effect of induction of late embryonic mortality on plasma profiles of pregnancy associated glycoproteins in heifers. *Vet. J.*, 2003. 165. 307–313.
64. TAVERNE, M. A. M. – SZENCI, O. – SZÉTAG, J. – PIROS, A.: Pregnancy diagnosis in cows with linear-array real-time ultrasound scanning: a preliminary note. *Vet. Quart.*, 1985. 7. 264–270.
65. THURMOND, M. C. – PICANSO, J. P.: Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1993. 203. 432–435.
66. VAILLANCOURT, D. – BIERSCHWAL, C. J. et al.: Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979. 175. 466–468.
67. VASQUES, M. I. – HORTA, A. E. M. et al.: Levels of bPSPB throughout single and twin pregnancies after AI or transfer of IVM/IVF cattle embryos. *Anim. Reprod. Sci.*, 1995. 38. 279–289.
68. WILTBANK, M. C. – FRICKE, P. M. et al.: Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2000. 83. 2998–3007.
69. WILTBANK, M. C. – BAEZ, G. M. et al.: Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 2016. 86. 239–253.
70. WISNICKY, W. – CASSIDA, L. E.: A manual method for diagnosis of pregnancy in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1948. 113. 451.
71. WOODING, F. B. – MORGAN, G. – ADAM, C. L.: Structure and function in the ruminant synepitheliochorial placenta: central role of the trophoblast binucleate cell in deer. *Microsc. Res. Tech.*, 1997. 38. 88–99.
72. WOODING, F. B. – MORGAN, G. et al.: Functional specialization in the ruminant placenta: evidence for two populations of fetal binucleate cells of different selective synthetic capacity. *Placenta*, 1996. 17. 75–86.
73. ZEMJANIS, R.: *Diagnostic and Therapeutic Techniques in Animal Reproduction*. 2nd ed., Baltimore, Md, USA, Williams and Wilkins, 1970.
74. ZOLI, A. P. – GUILBAULT, L. A. et al.: Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biol. Reprod.*, 1992. 46. 83–92.

Közlésre érk.: 2018. ápr. 2.