

**Szent István Egyetem  
Állatorvos -tudományi Doktori Iskola**

**Szexuál endokrin diagnosztikai és gyógykezelési technikák  
házasított vadászgörényben**

**Ph.D. dolgozat tézisei**

**Dr. Proháczik Angella**

**2009**

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

Témavezető:

.....  
Dr. Huszenicza Gyula egyetemi tanár, DSc  
Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar  
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Témabizottsági tagok:

.....  
Dr. Hornung Erzsébet int. vez. egyetemi docens, CSc  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Biológiai Intézet

.....  
† Dr. Rudas Péter tv. egyetemi tanár, DSc  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Élettani és Biokémiai Tanszék

Az értekezés a Dr. Huszenicza Gyula témavezető elnökletével Budapesten 2009. augusztus 28. án tartott munkahelyi vita nyomán nyerte el végleges formáját.

Készült 20 példányban. Ez a \_\_\_\_ sz. példány.

.....  
dr. Proháczik Angella

## BEVEZETÉS

A vadászgörény (*Mustela putorius furo*), esztétikai értékei következtében újabban egzotikus társállatként egyre népszerűbb világszerte. Bár a faj hasznosítása és tenyésztésbe vonása már több évszázada elkezdődött, a múltban ez idáig az egyedeket külső kennelekben, a természetes fotoperiódus és környezeti hőmérséklet változásainak kitéve tartották. Az állat társállattá válásának egyik legnagyobb következménye a tartási körülmények nagyfokú megváltozása viszonylag rövid idő alatt (néhány évtized). Az egyedek teljesen elszigetelődtek a természetes környezettől és tartásuk elsősorban lakásban (mesterséges fény, környezeti hőmérsékletszabályozás és bőséges – bár nem mindig a faj igényeit kielégítő - takarmányozás) valósul meg. E változások következtében a tenyészszезон az év teljes egészére kiterjedhet. A társ-, illetve kísérleti állatok nőstény egyedek gyakran hímeiktől elszigetelten tartják, így azok nincsenek fedeztetve. A faj sajátosságaiból adódóan (kizárólag párzás által kiváltott ovuláció és ivarzás megszűnés), egyre nagyobb az igény a nem tenyészállatok sebészi ivartalanítására, illetve azok ciklikus petefészek-működésének hormonális elnyomására. Mindezen tényezők hozzájárulnak számos hormonális működészavar kialakulásához. Ilyen kórkép például az ösztrogénszékreció fokozódása elhúzódó ivarzás, ivartalanítást követő mellékvesekéreg megbetegedés, illetve visszamaradt petefészek szindróma. Az állatorvosok egyre gyakrabban találkoznak vadászgörény páciensekkel és ez által igénylik a faj biológiájának, élettanának és betegségeinek széleskörű ismeretét.

## CÉLKITŰZÉSEK

A szerző, jelenlegi munkájával, hozzá kíván járulni az állatorvoslás vadászgörény fajjal foglalkozó, gyorsan fejlődő tudományágához. Célkitűzéseink a következők voltak:

- (a) Egy korábban már egyéb (kérődző) fajokban általunk is használt, a bélsár progeszteron-metabolit ( $P_4$ -met) tartalmának a meghatározására szolgáló analitikai módszernek az adaptálása, majd az eljárás vadászgörényen történő biológiai validálása. Ez az analitikai módszer alkalmas a petefészek-működés ciklikus működésének (az ovulációt követő sárgatest képződésnek) nyomon követésére nem invazív módon, sorozatosan gyűjtött bélsárminták alapján (1a, 1b és 1c kísérlet).
- (b) A bélsár  $P_4$ -met tartalmának meghatározása alapján az ellés utáni, laktáció alatti petefészek-működés nyomon követése és annak az atipikus jelenség meglétének vagy hiányának bizonyítása, amelyet nemrégiben írtak le hiúzbán (a bélsár emelkedett  $P_4$ -met tartalma a laktáció alatt). A jelenség meglétének esetén további célunk volt (i) az emelkedett  $P_4$ -met tartalom petefészek eredetének igazolása, (ii) a hormon termelő petefészek struktúra azonosítása, és (iii) annak monitorozása, hogy a  $P_4$ -met értékek emelkedésének tendenciája milyen befolyással van az ellést / választást követő visszaivarzásra (2a és 2b kísérlet).
- (c) A petefészek ciklikus működésének elnyomására / ovuláció kiváltására használt hormonális kezelések összehasonlítása a bélsár  $P_4$ -met tartalmának meghatározása, illetve tradicionális diagnosztikai módszerek alapján (3. kísérlet).
- (d) Ivartalanított vadászgörények ösztrogéntermelés fokozódásával járó megbetegedések kategorizálása és egy új gyógykezelési eljárás hatásosságának vizsgálata (4. kísérlet).
- (e) Juhok vemhességi toxikózisában leírt endokrin változások nyomon követése vadászgörényben (5. kísérlet).

## SAJÁT VIZSGÁLATOK

### 1a, 1b és 1c kísérlet

#### **Kísérleti elrendezés és eredmények**

Az 1a kísérletben 6 nőstény vett részt. Az állatokat, az ivartalanítást megelőző tüzelésénél (kb. 9-21 nappal az ivartalanítás előtt) 100 NE humán choriongonadotropin hormonnal (hCG<sup>1</sup>)-val kezeltük. Az ivartalanításkor (ketamin-xylazin anesztéziában<sup>2</sup>) vér- és bélsármintát gyűjtöttünk, majd a petefészkeket eltávolítottuk. A petefészkeken ekkor 3-12 sárgatestet lehetett látni. A plazma P<sub>4</sub>- (MEIA; microparticle enzyme immunoassay<sup>3</sup>) és a bélsár P<sub>4</sub>-met (ELISA; enzyme-linked immune assay<sup>4</sup>) tartalma 7 és 33 nmol/L, illetve 600 és 2500 ng/g között változott és pozitív korrelációt mutatott (r=0,817; p<0,05). A 7-9 nappal az ivartalanítás után gyűjtött bélsár mintákban alacsony (< 500 ng/g) P<sub>4</sub>-met értékek voltak mérhetőek (ELISA). Nem meglepő módon egy bélsármintából sem lehetett P<sub>4</sub> meghatározást végezni MEIA módszerrel, amely specifikusan P<sub>4</sub> koncentrációt mér nem keresztreakáló ellenanyaggal (azaz a bélsárban jelenlévő P<sub>4</sub>-met meghatározására alkalmatlan). Az 1b kísérletben 3 korábban ivartalanított nőtől 6 héten keresztül gyűjtöttünk bélsármintát heti egyszer. Minden mintában alacsony (< 500 ng/g) P<sub>4</sub>-met értékek voltak mérhetőek (ELISA). Az 1c kísérletben több hónappal az ivartalanítás után, 2 nőstény és 1 hím vadászgörényt kezeltünk 12,5 mg progeszteronnal<sup>5</sup>. Bélsármintákat gyűjtöttünk 12 óránként 11 napig, 60 órával a kezelés előtt kezdve. A kezelés előtt gyűjtött mintákban alacsony (< 500 ng/g), amíg 12 órával a kezelés után emelkedett P<sub>4</sub>-met értékek (3400-4000 ng/g) voltak mérhetőek, amelyek 60-84 órán belül egyenletesen ismét az alapszintre (< 500 ng/g) csökkentek (ELISA).

#### **Megbeszélés és következtetések**

Az álvemhes nőstényekben (1. kísérlet), a vérben MEIA-val mért P<sub>4</sub> koncentráció erős pozitív korrelációban volt a bélsárban ELISA-val mérhető P<sub>4</sub>-met koncentrációval és mindkét technikával mérhető volt a sárgatestek által termelt, emelkedett gesztagénszint. Az 1a, 1b és 1c kísérletek eredményei alapján megállapítottuk, hogy vadászgörényben, a sárgatest működését a bélsárban mérhető emelkedett ( $\geq 500$  ng/g) P<sub>4</sub>-

<sup>1</sup> Choriogonin inj. Richter Gedeon, Budapest, Magyarország

<sup>2</sup> Intramuszkuláris ketamine (2.5 mg/100 g testtömeg; SBH-Ketamine inj., Produlab Pharma BV.) és xylazin (0.2 mg/100 g testtömeg; Rompun inj., Bayer AG) kombináció.

<sup>3</sup> P<sub>4</sub> specifikus ellenanyag (gesztagén metabolitokkal való keresztreakció: 5 $\alpha$ -pregnán-3,20-dion: 6.3%; 5 $\beta$ -pregnán-3,20-dione: 3.2%; 5 $\alpha$ -pregnán-3 $\alpha$ -ol-20-n: 1.7%; pregnenolon: 1.5%)

<sup>4</sup> anti-P<sub>4</sub> monoklonális ellenanyag (5D4) amely kereszt reagál számos gesztagén metabolittal (5 $\beta$ -pregnán-3,20-dion: 100%; 11 $\alpha$ -OH-progeszteron: 20%; 5 $\alpha$ -progeszteron -3,20-dione: 15.6%; 17 $\alpha$ -OH-progeszteron: 3.6%; pregnenolon: 1.8%; 11 $\beta$ -OH-progeszteron: 1.6%)

<sup>5</sup> Luteosan inj. Wefft-Chemie, Vienna, Austria

met tartalom jellemzi. Ezen megállapítás alapján, küszöbértékként ezt az emelkedett koncentrációt használtuk további kísérleteinkben a sárgatest működés bizonyítására (2. és 3. kísérlet). Az 1a kísérlet eredményei bizonyítják továbbá, hogy a P<sub>4</sub> az epével és a bélsárra ürül metabolitok formájában (5β-pregnán-3, 20-dion és egyebek). Ez a megállapítás teljesen egyezik az irodalomban leírtakkal (*Möstl et al., 1993; Larter et al., 1994; Schwarzenberger et al., 1996a*), miszerint nem metabolizált P<sub>4</sub> csak elhanyagolható mennyiségben (vagy egyáltalán nem) ürül húsevőkben a bélsárra. Ezek alapján nyilvánvaló, hogy a rendkívül P<sub>4</sub> specifikus MEIA módszer miatt alkalmas a vérből törő P<sub>4</sub> meghatározásra, és miért alkalmatlan a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalmának mérésére.

## **2a és 2b kísérlet**

### **Kísérleti elrendezés és eredmények**

A 2a kísérletben 18 kennel körülmények között élő (magántenyészet, Veszprém, Magyarország) vadászgörény petefészek-működését követtük nyomon a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalma alapján (mintagyűjtés: heti kétszer) februártól októberig, illetve novemberig. A kísérlet alatt szaporodásbiológiai adatokat (ivarzás-, fedeztetés-, ellés-, választás- és a választást követő visszaivarzás időpontjai) gyűjtöttünk minden nőténytől. A 18 állat 23 vemhességét és számos álvemhességét követtük nyomon. A vemhesség/laktáció/választás utáni visszaivarzás jellegzetességeinek részletesebb megismeréséhez további 11 (márciusban/áprilisban vemhesült, a tenyész farmon élő) késővemhes anyát vontunk be a kísérletbe (bélsár mintavételezés és klinikai megfigyelés, mint az első 18 állatban). Így összesen 34 vemhességet és az azt követő időszakot tudtunk nyomon követni. A laktáció hossza alapján a nőtényeket 3 csoportba soroltuk: *szabályos (> 5 hét) laktáció (NormL)* csoport (n=21), *közepes hosszúságú (15- 30 nap) laktáció (ML)* csoport (n=9) és *rövid (4-6 nap) laktáció (SL)* csoport (n=4). Az ML csoportban, a nőtényekben tejhiány (n=9) vagy emlőgyulladás (n=1) volt megfigyelhető. Az SL csoportban, 3 nőtény technikai okok miatt vesztette el az almot az ellés után pár nappal, illetve 1 nőténytől méhgyulladás és láz miatt a kölyköket 6 naposan elválasztottuk (nevelőanyához adtuk). A nőtények 5±3, 7±2 és 4±3 kölyköt ellettek 41±2, 41±2 és 40±2 napos vemhesség után, és laktációjuk 44±5, 23±6 és 5±1 nap volt a NormL, ML és az SL csoportban. Két, márciusban vemhesült, 2-5 kölyköt nevelő nőtényben (NormL csoport) a laktáció alatt (5-11 nappal az ellés után) ivarzás volt megfigyelhető, amely

spontán elmúlt. Továbbá, az alábbi jelenségeket figyeltük meg: (1) a kora nyártól az őszi időszak felé haladva a vemhesülési arány csökkent, amíg az álvemhesülési arány és a vissza nem ivarzó nőtények aránya nőtt, és (2) az ivarzás/fedeztetés időpontjától függetlenül a vemhességek- és a szabályos laktációk hossza, és a született kölykök száma hasonló volt. A fajban kevés irodalommal rendelkező vagy eddig még nem publikált megfigyeléseink az alábbiak voltak: (1) **a sárgatest működés hossza őszi fedeztetést követően rövidebb (~3 hét)** lehet, mint a szabályos 42 nap a tenyészszезон korábbi szakaszaiban történő fedeztetés után, (2) **laktáció alatti ivarzás** csak a tavaszi vemhességek után lehetett megfigyelni, amíg (3) **fedeztetést követő sárgatest képződés hiánya (anovuláció)** csak ősszel (szeptember-november) volt megfigyelhető és (4) **fedeztetés nélküli ivarzásmegszűnés és tüszöluteinizáció** csak kora nyárral (június) volt tapasztalható.

A 2b kísérletben, 17 kennel körülmények között élő (magántenyészet, Veszprém, Magyarország) vemhes vadászgörényt petefészek-működését követtük nyomon a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalma alapján (mintagyűjtés: heti háromszor a fedeztetéstől a laktáció egy meghatározott időpontjáig). Az anyákat 3 csoportba soroltunk: (i) nem laktáló (NL) csoport (n=4, kölykök az ellés után 24 órán belül elválasztva), (ii) 12-14 napig laktáló csoport (L1; n=4) és (iii) 16-22 napig laktáló csoport (L2; n=9). Az NL nőtényeket 5-11 nappal, az L1 és L2 nőtényeket 14, illetve 16-22 nappal az ellés után ivartalanítottuk. A kölyköket az L1 és L2 csoportban csak közvetlenül a műtét előtt választottuk el az anyáktól. Minden kölyök (NL, L1 és L2 csoport) nevelőanyához került és egészségesen felnevelkedett. Az anyákból eltávolított petefészkeket szövettanilag (fény- és elektronmikroszkóposan) megvizsgáltuk. A nőtények 6±2 és 5±2 kölyköt ellettek 43±1 és 42±1 napos vemhesség után az NL- és a két laktáló csoportban. Az NL csoportban lévő mind a négy nőtény ivarzott 5±1 nappal az ellést/választást követően. A másik 2 csoportban ivarzás nem volt megfigyelhető az ivartalanításig.

A mindkét kísérletben (2a és 2b kísérlet) a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalma (ELISA) alacsony (< 500 ng/g) volt az ivarzás alatt és a fedeztetéskor, emelkedni kezdett 3-4 nappal a fedeztetést követően, magas (≥ 500-800 ng/g) maradt a vemhesség időtartama alatt és az alapszintre (< 500 ng/g) csökkent az ellés körül (általában 2-4 nappal az ellés után). Öt-hét nappal az ellés után, a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalma ismét emelkedni kezdett (≥ 500-800 ng/g) az összes laktáló állatban (2a és 2b kísérlet; n=47), amíg a nem laktálóknakban (az ellés után elválasztottakban) (2b kísérlet; n=4) az alapszinten maradt (< 500 ng/g). A 2b

kísérlet laktáló állatainak bélsarában (L1 és L2 csoport, n=13) emelkedett P<sub>4</sub>-met értékek voltak mérhetőek az ivartalanításig, amíg a 3, 4, illetve 5 nappal az ivartalanítás után gyűjtött bélsár mintákban csak alapszintű (< 500 ng/g) P<sub>4</sub>-met értékek voltak detekálhatók. Ez a P<sub>4</sub>-met szintcsökkenés igazolja az emelkedett hormonértékek petefészek eredetét.

A 2a kísérletben, 37±12 (n=21), 21±9 (n=9) és 8±11 (n=4) napig mértünk emelkedett P<sub>4</sub>-met értékeket a NormL, ML és a SL csoportban. Választás után a nőtények 13±6 (n=12/21), 8±8 (n=7/9) és 11±6 (n=3/4) nap múlva ivarzottak vissza. Ssem a visszaivarzási arány, sem a visszaivarzáshoz szükséges idő nem különbözött szignifikánsan a csoportok között.

A 2b kísérlet laktáló állataiban a petefészek szövettani képén különböző fejlődési szakaszban lévő tüszőket és nagyszámú luteinizálódott sejteket lehetett látni. A luteinizálódott sejtek egyrészt a késő pre-antral/korai antral stádiumban megrekedt tüszők falának granulosa-sejtjei, másrészt, pedig sárgatesthez hasonló szerkezetű, nagy kiterjedésű területek sejtjei voltak. A sárgatesthez hasonló területekről származó luteinizálódott sejtekben, az elektronmikroszkópos felvételeken, endoplasmaticus reticulummal telt nagy sejtanyag, és tubuláris szerkezetű mitochondriumok voltak láthatók. A nem laktáló nőtények petefészkén (2b kísérlet), nagyszámú növekvő, terciér-, érett antral- és atretizálódó tüszők voltak túlnyomó részben. Luteinizálódott sejtek kisebb számban voltak jelen, mint a laktáló állatokban.

### **Megbeszélés és következtetések**

A 2a kísérlet célja volt hogy nyomon kövessük vadászgörényben azt az atipikus jelenséget (bélsár laktáció alatti P<sub>4</sub>-met tartalmának emelkedését) amit nemrégiben hí-úzbán publikáltak. Eredményeink teljesen megegyeztek a laktáló eurázsiai és ibériai hí-úzbán leírtakkal (*Pelican et al., 2006; Dehnhard et al., 2008; Göritz et al., 2009*). Vadászgörényben, a laktáció alatt, emelkedett P<sub>4</sub>-met értékek voltak mérhetőek, továbbá ezen időszak hossza (37±12, 21±9 és 8±11 nap) közelített a laktáció hosszához (44±5, 23±6 és 5±1 nap). Hasonló jelenséget nem tapasztaltak más reflexesen ovuláló fajokban, például házasított macskában (*Tsutsui and Stabenfeldt, 1993*) és vidrában (*Bateman et al., 2009*). A 2b kísérlet egyik célja volt hogy megállapítsuk melyik szerv (petefészek vagy egyéb, esetleg mellékvese) felelős a laktáció alatti P<sub>4</sub> termelésért. Az ivartalanítás után drasztikusan csökkenő hormonszintek (n=5) bizonyították, hogy a bélsárban mért P<sub>4</sub>-met szintemelkedés petefészek eredetű volt.



Mivel a nevelt kölykök számának csökkenése ( $\leq 5$  kölyök) az ellést követő 2.-3. héten ivarzáshoz vezethet (ha a fotoperiódus megfelelő), feltételezik, hogy a szopási inger elsődleges szerepet játszik a laktáció fenntartásában. Laktáció alatti ivarzást mi is megfigyeltünk, amikor az alomban csak 2-5 kölyök volt (2a kísérlet,  $n=2$ ). Ezzel szemben, érdekes, hogy a többi,  $\leq 5$  kölyköt nevelő anya (NL csoport,  $n=8/21$ ) nem mutatott laktáció alatti ivarzást.

A laktáció/kölyöknevelés utáni választást kb. 2 héten belül ivarzás követi, ha a fotoperiódus megfelelő (*Fox and Bell, 1998*). Ezt a jelenséget mi is megfigyeltük (2a kísérlet), ráadásul eredményeink alapján kimondható, hogy a laktáció hossza nem befolyásolta közvetlenül a petefészek-működés ciklikussá válásához (visszaivarzáshoz) szükséges időt (lásd L1 és L2 csoport). Érdekes viszont, hogy a visszaivarzáshoz, a szabályosan ( $> 5$  hétig) laktáló állatoknak több időre ( $13\pm 6$  nap) volt szükségük, mint azoknak az anyáknak, amelyeket az elléskor elválasztottunk kölykeiktől ( $5\pm 1$  nap;  $p < 0.05$ ).

Kísérletünk utolsó, tájékozódó szakaszában arra kerestük a választ, hogy melyik petefészek struktúra felelős a laktáció alatti  $P_4$  termelésért (2b kísérlet). Laktáló (L1 és L2 csoport) és nem laktáló anyák (NL csoport) petefészkeit szövettanilag megvizsgálva megállapítható volt, a laktáló anyákban a tüszőnövekedés megreked a késő preantral/korai antral stádiumban és egyes tüszők falának granulosa-sejtjei luteinizálódnak, továbbá, hogy egyéb nagy kiterjedésű területeken a sárgatesthez hasonló szerkezetű petefészek struktúra található, amelynek luteinizálódott sejtjei hasonlóak a sárgatest luteinsejtjeihez. Ezzel szemben, a nem laktáló állatok petefészkein luteinizálódott sejtterületek csak kisebb mértékben vannak jelen és a tüszőnövekedés nem blokkolt, érett harmadlagos tüszők (az élettani állapotra (ivarzásra) jellemzően) dominálnak.

Számos elméleti feltételezés magyarázhatja, hogy melyik petefészeksejtek lehetnek felelősek a  $P_4$  termelésért. Luteinizálódott sejtek származhatnak a még működő (prolaktin stimulálta) vemhességi sárgatestből vagy egy ellés utáni ovuláció nyomán keletkező sárgatestből. A második feltevés azonban nagyon valószínűtlen, hiszen a laktáció alatt a tüszők végső fejlődéséhez szükséges LH (luteotrop hormon) pulzusfrekvencia hiányzik, továbbá az állatfajban ovuláció kizárólag a párzás hatására jöhet létre.

A luteinizálódott granulosa-sejttel rendelkező tüszők hasonlatosak lehetnek, egy közel rokon fajban, a nyércben ismert petefészek struktúrával, a LUF-fal (luteinized unruptured follicle; luteinizálódott, meg nem repedt tüsző), amely a tenyészszezón vé-

gén (amikor a nemi működést gátló fotoperiódus hatására az LH pulzusfrekvencia alacsony), a nem fedezettett nőtények petefészkén keletkezik (Douglas *et al.*, 1994; Jallageas *et al.*, 1994a, 1994b). Legtöbb emlősállatban, a laktáció gátló hatással van az LH termelésre, illetve annak pulzusfrekvenciájára. Nagy valószínűség szerint, ez törtenhet vadászgöreyben is serkentvén a fenn részletezett luteinizálódott képletek kialakulását. Továbbá, mivel a prolaktinnak luteotrop hatása van (Agu *et al.*, 1986; McKibbin *et al.*, 1984) és feltételezvén, hogy a prolaktin szint emelkedett vadászgöreyben laktáció alatt, ez is hozzájárulhat a petefészeksejtek luteinizációjához.

A kísérleti eredmények alapján kimondható, hogy a nem laktáló vadászgörey anyákban ellés után gyorsan visszatér a petefészek ciklikus működése, míg a végső tüszőérés blokkolt a laktáló egyedekben (bár alkalmasszerűen laktáció alatti ivarzás megfigyelhető). Egybevágóan a hiúzbán leírt jelenséggel, a laktáló vadászgöreyek bélsarában, emelkedett szintű, petefészek eredetű P<sub>4</sub>-met koncentrációk mérhetők. Továbbá, az emelkedett P<sub>4</sub>-met értékekkel jelezhető időszak hossza közelít a laktáció hosszához. Feltételezzük, hogy a szoptatási- és egyéb hormonális hatásokkal együtt ez a jelenség hozzájárul a laktáló anyák korai ciklusba lendülésének megakadályozásához.

### **3. kísérlet**

#### **Kísérleti elrendezés és eredmények**

Huszonöt nőtény vadászgöreynt vizsgálva (n=20 kezelt (5/csoport) és n=5 kontroll)), négy, az ivari működés elnyomására használt hormonális kezelés hatékonyságát, biztonságosságát és visszafordíthatóságát hasonlítottunk össze. Az állatokat (1) a tenyész-szezon kezdete (2002. február 20. án) előtt kezeltük az alábbiak valamelyikével: 15 mg medroxiprogesteron-acetát (MPA<sup>6</sup>), 40 mg proligeszton (PROL<sup>7</sup>), ill. 4,7 mg deslorelin (srGnRH<sup>8</sup>); (2) a tavaszi első ivarzáskor kezeltük 100 NE hCG<sup>9</sup>-vel; (3) vagy kezeletlenül hagytuk (kontroll). A nőtények ivarzási tüneteit 10 hónapon keresztül (februártól novemberig) naponta kétszer figyeltük, és az ivarzáskor megjelenő hím irányába kifejeződő receptivitáskor fedezettük. Azokon az egyedeken, amelyek nem ivarzottak 2002-ben (srGnRH csoport), az ivarzás megfigyelés (heti kétszer) további 2 évig folytatódott. Az ivarzási-, fedezettési- és ellési időpontok, és a született kölykök száma

<sup>6</sup> Depo-Promone inj.®, Pharmacia & Upjohn, MPA csoport

<sup>7</sup> Covinan inj.®, Intervet International B.V.; PROL csoport

<sup>8</sup> 4,7 mg per jüll; Deslorelin implantátum®, Peptech Animal Health; srGnRH csoport

<sup>9</sup> (Choriogonin inj.®, Richter Gedeon; hCG group)

feljegyzésre került. A petefészek-működést továbbá, az állatoktól egyedileg (heti kétszer) gyűjtött bélsárminták P<sub>4</sub>-met tartalma alapján követtük nyomon. A kezelések biztonságosságát a szőrzet minőségének és az állat általános kondíciójának változása alapján követtük nyomon. Ezen vizsgálatokat heti kétszer, az első kezelés utáni ellésig, illetve állvemhesség végéig végeztük.

A kezelések biztonságosságát 25, míg hatásosságát és visszafordíthatóságát 22 nőtényen bíráltuk el. A tenyészszезонban, a nem kezelt (**kontroll**; n=5) állatokban 8 vemhességet, 1 állvemhességet és 1 fedeztetés után ovuláció nélkül elmúló tüzelést (anovuláció) figyeltünk meg. A **hCG csoportban** (n=5), a kezelés ovulációt és következményes sárgatest szakaszt (állvemhességet) váltott ki. Négy nőtény ivarzott vissza májusban-júniusban, 53±9 nappal a kezelés után. Fedeztetésük után, 3 vemhesült (75%) és ellet, 1 állvemhes lett. A **gesztagén kezelt állatok** 94±18 (MPA csoport; n=4) és 99±40 nappal (PROL csoport; n=5) a kezelés után ivarzottak. Fedeztetésüket követően vagy állvemhesültek (n=1/csoport) vagy vemhesültek (n=3/csoport; közülük egy MPA kezelt állat gennyes jellegű hüvelyfolyást és koraellést mutatott a vemhesség 37. napján) vagy fedeztetés után ovuláció nélkül elmúló tüzelést (anovuláció) (PROL csoport; n=1). A kontroll, hCG, MPA és PROL csoportban, a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalma az élettani állapotokat tükrözte. Minden **srGnRH kezelt nőtény** intenzív ivarzási tüneteket mutatott az implantátum behelyezését követő 4 napon belül. Két héttel később ezek az ivarzási tünetek spontán, ovuláció vagy tüszöluteinizáció megszűntek; a bélsár P<sub>4</sub>-met tartalma az alapszinten (< 500 ng/g) maradt. Négy nőtény mutatott ivarzási tüneteket 17-27 hónappal (698±122 nappal) az implantátum behelyezése után. Fedeztetésüket követően az összes állat állvemhesült. A négy állatból három nőtény lett fedeztetve az állvemhesség követő ivarzáskor és ekkor az összes nőtény sikeresen vemhesült.

Mindkét gesztagén kezelés progresszív hormonális szőrhullást okozott egy-egy esetben (n=1 / MPA és PROL csoport). Négy **srGnRH kezelt nőtény**, enyhe szőrhullást mutatott a faroktájékon 166 nappal a kezelés után. Ez az állapot kb. 6 hétig tartott. A hCG csoportban nem figyeltünk meg mellékhatást és a **srGnRH implantátumot** az állatok jól tolerálták.

### **Megbeszélés és következtetések**

A két gesztagén kezelés (15 mg MPA és 40 mg PROL) 3-5 hónapig (94±18 és 99±40 napig) bizonyult hatásosnak a petefészek ciklikus működésének elnyomásában. Nem meglepő módon, a hCG kezelés ezzel szemben rövidebb ideig (53±9 napig) volt

hatásos. Ez a kezelés alkalmatlan a ciklikus petefészek-működés elnyomására, hiszen a tüszőnövekedést nem gátolja, csak egy álvemhességi időszakot indukál. A leghosszabb hatású kezelésnek ( $23\pm 4$  hónap) a srGnRH bizonyult. Ez a kezelés, megfelelő időszakban adva, akár két tenyészszezonon keresztül is képes elnyomni a ciklikus petefészek-működést. A hCG, MPA és PROL csoportokban tapasztalt, az első tüzelést követő vemhesülési arány nem különbözött a korntoll állatok termékenységétől. Ezzel szemben a srGnRH-val kezelt állatok, az első tüzeléskor való fedeztetéskor mind álvemhesültek és csak a második tüzeléskor való fedeztetéskor ( $26\pm 1$  hónappal az implantátum behelyezése után) vemhesültek. A kezelések biztonságossága szempontjából a srGnRH (Deslorelin implantátum) és a hCG kezelés bizonyult a legjobbnak.

## **4. kísérlet**

### **Kísérleti elrendezés és eredmények**

E kísérlet során 4,7 mg srGnRH kezelés hatását vizsgáltuk ivartalanított vadászgörényekben (2 ivarzási és szőrhullásos tüneteket mutató nőstény és 1 szőrhullásos tüneteket mutató hím), amelyek vérében, nagy valószínűség szerint mellékvesekéreg eredetű, emelkedett ösztrogénszint ( $E_2$ ) ( $n=3$ ,  $E_2$  kezelés előtt: 99,5 – 13,9 pmol/L) volt mérhető ( $^{125}\text{I}$ -RIA; radio immuno assay). A kísérletben 14 kontroll nőstényt ( $E_2$ -ivarzó: 61,6 – 123,0 pmol/L,  $E_2$ -nem ivarzó: 12,0 – 30,6 pmol/L) használtunk. A szőrhullást mutató 3 vadászgörényt 4,7 mg srGnRH<sup>10</sup>-val kezeltük az első (kezelés előtti) vérvétel után. Az implantátum behelyezését követően, kb. 1 hónappal, ismét vért vettünk  $E_2$  meghatározás céljából. Ezekben a mintákban, alacsony (a kezelés előtti állapothoz képest szignifikánsan csökkent,  $p=0,035$ ), a nem ivarzó kontroll állatokéhoz hasonló (12,89 – 16,08 pmol/L)  $E_2$  koncentrációk voltak mérhetőek. Továbbá az állatok ( $n=3$ ) klinikailag meggyógyultak (szőrnövekedés és általános állapot javulás, illetve nőstényekben az ivarzás megszűnése volt megfigyelhető). Mindhárom állatot 19-21 hónappal az implantátum behelyezése után klinikailag ismét megvizsgáltunk, és mind a szőrminőségüket, mind az általános klinikai állapotukat megfelelőnek találtuk.

### **Megbeszélés és következtetések**

Három ivartalanított vadászgörényben, a klinikai tünetek alapján (ivarzás a nőstényekben és hormonális szőrhullás mindkét nemben), fokozott ösztrogén termelés gya-

---

<sup>10</sup> Deslorelin implantátum® Peptech Animal Health, North Ryde, Australia

núja merült fel és ezért vért vettünk tőlük E<sub>2</sub> koncentráció meghatározás céljából. A visszamaradott petefészek szindróma (nőstények) és egyéb szőrhullással járó megbetegedések kizárása után a diagnózis mellékvesekéreg eredetű fokozott E<sub>2</sub> termelés volt. A jelenlegi referenciák alapján a srGnRH (Deslorelin implantátum) sikeresen alkalmazható vadászgörények mellékvesekéreg betegségében (mellékvesekéreg noduláris hyperplasiájában) (*Wagner et al., 2005*). Ezek alapján, illetve miszerint a Deslorelin implantátum, a ciklikus petefészek-működés elnyomására sikeresen, hosszú ideig ( $\geq 1,5$  év) és biztonságosan alkalmazható volt (3. kísérlet), a fenn említett 3 szőrhullásos állatot is srGnRH-val kezeltük. A kezelést követő csökkenő E<sub>2</sub> koncentrációk és javuló klinikai tünetek alapján bebizonyosodott, hogy a hormonális szőrhullást minden egyedben az emelkedett E<sub>2</sub> termelés váltotta ki. Ez az emelkedett E<sub>2</sub> termelés nagy valószínűség szerint mellékvesekéreg eredetű volt. A Deslorelin kezelés sikeresen alkalmazhatónak bizonyult ezen szexuál szteroid túltermelés gyógykezelésére és hatása hosszan tartó, legalább 19 hónap volt.

## **5. kísérlet**

### **Kísérleti elrendezés és eredmények**

A kísérletben 4, vemhességi toxikózis tüneteit (súlyos elesettség, kiszáradás, testhőmérséklet csökkenés a vemhesség utolsó napjaiban) mutató 9-14 kölyköt hordó nőstény vadászgörény és 14 egészséges kontroll nőstény vett részt. A vemhességi toxikózisban szenvedő nőstények az állatorvosi vizsgálatkor végső, kómás állapotban voltak és a császármetszés előtt elhullottak. Elhullás után az állatok azonnal boncolásra kerültek, illetve vér- és vizeletmintát vettünk tőlük. A vizelet pH-ját, urobilinogén-, bilirubin- és keton tartalmát mértük<sup>11</sup>. A beteg és a kontroll állatoktól gyűjtött vérmintákból BHB- ( $\beta$ OH-vajsav), glükóz-, inzulin-, T<sub>4</sub>- (tiroxin) és T<sub>3</sub> (3,3',5-trijódtironin) méréseket végeztünk<sup>12</sup>. A vemhességi toxikózisban szenvedő állatok boncolása (közepes fokú sárgaság, máj lipidózis, ketonuria, alacsony pH és emelkedett urobilinogén és bilirubin szintek a vizeletben) igazolta a diagnózist. A kontroll állatokhoz képest a beteg állatok vérében csökkent glükóz- és emelkedett BHB koncentrációk voltak mérhetőek ( $p=0,034$  és

<sup>11</sup> Medi-Test Combi-9 strips, Macherey-Nagel, Duren, Germany

<sup>12</sup> Glükóz: Glucose kit, Cat. #40841, Diagnosztikum Co. Ltd., Budapest, Hungary, BHB: D-3-Hydroxybutyrate kit, Cat. #RB 1007, Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK, inzulin: <sup>125</sup>I-Insulin RIA CT kit (CIS Bio International Ltd, Gif-Sur-Yvette, France), T<sub>4</sub> : <sup>125</sup>I- T<sub>4</sub> RIA-Spec MIS kit (Institute of Isotopes Co. Ltd., Budapest, Hungary) és T<sub>3</sub>: <sup>125</sup>I-T<sub>3</sub> RIA MIS kit (Institute of Isotopes Co. Ltd., Budapest, Hungary)

0,001). Továbbá, az endokrin paraméterek (inzulin, T<sub>4</sub> és T<sub>3</sub>) szignifikánsan alacsonyabbak volt a beteg állatokban az egészségesekéhez képest (p=0,0001, 0,024 és 0,001).

### **Megbeszélés és következtetések**

E kísérletben, vemhességi toxikózisban szenvedő nőstények vérében mérhető glükóz-, BHB-, inzulin-, T<sub>4</sub>- és T<sub>3</sub> koncentrációkat mértünk és hasonlítottuk azokat egészséges állatokban mérhető azonos paraméterekhez. Minden paraméterben eltérést tapasztaltunk, bár a vizsgált állatok alacsony száma miatt, az eredményeket elővigyázatosan kell kezelni. Amíg a vemhességi toxikóziskor meglévő vér biokémiai paraméterváltozása (ketonaemia, hypoglycemia és ketonuria) jól dokumentáltak az irodalomban (*Fox et al, 1998; Batchelder et al., 1999; Dalrymple, 2004; Lewington, 2007a*), a vemhesség utolsó napjaiban, a relatív vagy valós éhezésre adott endokrin válaszokat (inzulin-, T<sub>4</sub>- és T<sub>3</sub> koncentrációváltozások) eddig még nem vizsgálták vadászgörényben. Eredményeinket összefoglalva, a negatív energia egyensúly alapján, a vemhesség késői időszakában kialakuló kórkép hasonló a más fajokban – leggyakrabban ikervemhes juhokban – kialakuló hyperketonaemiához, továbbá a kórkép hátterében mindkét fajban hasonló endokrin változások következnek be.

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A szerző reméli, hogy kísérletei eredményeivel hozzájárul a vadászgörény szaporodásbiológiai gondozásának és tenyésztésének egyre bővülő tudásanyagához. A kísérletek eredményeiből következő, kevés irodalommal rendelkező vagy eddig még egyáltalán nem közzétett megállapítások jelentőségük szerint az alábbiak:

### 1) Szaporodásbiológiai jellemzők (ivarzás, ovuláció/sárgatest képződés, laktáció és visszaivarzás)

- a) A nőtények  $9 \pm 4$  napos ivarzást követően készek a fedeztetésre és ekkor fogadják el a hím közeledését. Ekkor a péra mérete eléri maximumát, a péraajkak kissé megnyílnak, és felszínük enyhén mattá válik. A nőtények tavasszal, megfelelő időben fedeztetve nagy eséllyel vemhesülnek (2. kísérlet).
- b) Késő nyáron, illetve ősszel fedeztetett nőtényekben előfordul, hogy, (1) a tüzelés, fedeztetés után elmúlik ugyan, de ovuláció nem következik be (**anovuláció**), (2) a tüzelés fedeztetés nélkül spontán elmúlik, de luteális sejtek képződnek (**az érett tüszők spontán luteinizációja**), továbbá (3) a fedeztetést a tüzelés elmúlása és ovuláció követi, de a **sárgatest szakasz hossza rövidebb** (~ 3 hét), mint a tenyészszезон egyéb szakaszaiban (42 nap) (2a kísérlet). Bár e jelenségek előfordulása szórványos és létrejöttükhöz valószínűleg rendkívüli, jelenleg még nem ismert vagy nem publikált körülmények szükségesek, hozzájárulhatnak a nyári/őszi kisebb alomszám születéséhez.
- c) A **laktáló görényekben** – mint egyéb indukált ovulációjú ragadozó fajban, a hiúzban – **emelkedett P<sub>4</sub>-met koncentrációk mérhetők a bélsárban**. E hormon forrása a petefészek és szintje hasonló ideig emelkedett, mint a laktáció hossza (2b kísérlet). Ez a jelenség, a szoptatással és egyéb hormonális hatásokkal együtt valószínűleg hozzájárul a kölyöknevelő anyák korai ciklusba lendülésének megakadályozásához.
- d) Az ellés után lévő, nem laktáló anyákban a petefészek ciklikus működése 1 héten belül az ellés után ciklikussá válik, amíg a laktáló anyákban a végső tüszőérés akadályozott (habár laktáció alatti ivarzás olykor megfigyelhető). A

**laktáció alatti ivarzásnak** nincs káros hatása a tejtermelésre, és spontán elmúlik (kezelése nem szükséges) (2a kísérlet).

- e) A szabályosan (> 5 hétig) szoptató anyákban a választás utáni ivarzás később (~2 hét múlva) jelenik meg, mint azokban az anyákban, amelyek az elléskor elveszítik az almot (< 1 hét) (2a kísérlet).

## 2) Klinikai endokrinológia

A vemhesség utolsó napjaiban relatívan vagy valósan éhező anyákban kialakuló negatív energiaegyensúly vemhességi toxikózishoz vezethet, amely kórkép endokrin (hormonális) háttere hasonlít a késő vemhes kiskérődzők ketonaemiájához (5. kísérlet).

## 3) Sexuál endokrin diagnosztika

A bélsár P<sub>4</sub>-met koncentrációjának mennyiségi mérésére alkalmas, a klinikai gyakorlat számára elérhető és nem invazív mintagyűjtést igénylő diagnosztikai módszer (ELISA) adaptálása, amely segítség a vadászgörény állategészségügyi- és szaporodásbiológiai gondozásának szakszerű ellátásához (1. kísérlet).

## 4) Állatorvosi gyógykezelés

- a) A Deslorelin implantátum (4,7 mg deslorelin acetát) alkalmas a petefészek-működés ciklikus működésének hosszú távú (~ 23 hónap) elnyomására (3. kísérlet). Ez a kezelés alkalmas továbbá a mellékvesekéreg noduláris hyperplasia eredetű, emelkedett ösztrogén termelés miatt kialakuló hormonális szőrhullás hosszú távú (>19 hónap) kezelésére ivartalanított vadászgörényben (4. kísérlet).
- b) Mindkét gesztagénkezelés (proligeszton és medroxiprogesteron-acetát) alkalmas a ciklikus petefészek-működés középtávú (3-5 hónap) felfüggesztésére, de mellékhatásokkal (szőrhullás és méhgyulladás) számolni kell. A proligeszton használata biztonságosabb, mint a másik gesztagén (medroxiprogesteron-acetát) kezelés.

# AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK



**Folyóiratokban megjelent / közlésre elfogadott, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények, angol nyelven**

*Proháczik A., Kulcsár M., Huszenicza G.* (2009): Metabolic and endocrine characteristics of pregnancy toxemia in the ferret. *Vet. Med. Cz.* 54, pp. 75-80. (IF: 0,659)

*Proháczik A., Kulcsár M., Huszenicza G.* (2009): Deslorelin treatment of hyperoestrogenism in neutered ferrets (*Mustela putorius furo*). *Vet. Med. Cz.* 54, pp. 89-95. (IF: 0,659)

*Proháczik A., Kulcsár M., Huszenicza G., Trigg T., Driancourt M.A.* (2009): Comparative study on suppression of ovarian activity in ferrets (*Mustela putorius furo*). *Vet. Rec.* accepted for publication. (IF: 1,240)

*Proháczik A., Kulcsár M., Huszenicza G., Glávits R.* (2009): Reproductive features and fecal progesterone metabolite profile in female ferrets. *Reprod. Domest. Anim.* ongoing publication (IF: 1,526)

**Folyóiratokban megjelent / közlésre elfogadott, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények, magyar nyelven**

*Proháczik A., Fodor K., Kulcsár M., Huszenicza Gy.* (2004): A vadászgörény (*Mustela putorius furo*) nemi működése, valamint gyakoribb ivarszervi és hormonális megbetegedései. 1. A faj bemutatása, táplálása és ivari működésének élettana. Irodalmi áttekintés. *Magyar Állatorvosok Lapja.* 126, 353-363. (IF: 0,088)

*Proháczik A., Kulcsár M., Huszenicza Gy.* (2004): A vadászgörény (*Mustela putorius furo*) nemi működése, valamint gyakoribb ivarszervi és hormonális megbetegedései. 2. Ivarszervi működészavarok, megbetegedések. Irodalmi áttekintés. *Magyar Állatorvosok Lapja.* 126, 364-369. (IF: 0,088)

*Proháczik A., Kulcsár M., Juhász Cs., Huszenicza Gy.* (2004): A vadászgörény (*Mustela putorius furo*) nemi működése, valamint gyakoribb ivarszervi és hormonális megbetegedései. 3. A nem kívánt ivarzás megelőzésének lehetőségei és korlátai. Irodalmi áttekintés. *Magyar Állatorvosok Lapja.* 126, 419-423. (IF: 0,088)

*Proháczik A., Kulcsár M., Huszenicza Gy.* (2004): A vadászgörény (*Mustela putorius furo*) nemi működése, valamint gyakoribb ivarszervi és hormonális megbetegedései. 4. Endokrin eredetű bőrelváltozások, hormonális megbetegedések. Irodalmi áttekintés. *Magyar Állatorvosok Lapja.* 126, 553-560. (IF: 0,088)

**KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS**

Először is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, *Prof. Dr. Huszenicza Gyulának*, akinek folyamatos kitartó munkája, lelkesítő és motiváló törődése mindvégig segítette ezen értekezés elkészültét. A nehézkes, sós könnyes, harapós kezdetet végül sikeres, örömkönnyes vég követte. A Professzor úr lehetőséget adott szakmai utam eredetileg soha el nem képzelt előrehaladásához és végül kiteljesedéséhez. Ezért nem csak köszönettel, hanem örök hálával is tartozom neki.

Kimondhatatlan köszönettel és hálával tartozom *Dr. Kulcsár Margitnak*, aki szakmai segítségével, anyai gondoskodásával terelgetett utamon, mindig készen arra, hogy azonnal, önfeláldozó módon segítsen.

Külön köszönöm *Dr. Glávits Róbertnek* a szövettani metszetek elkészítését és a petefészek képletek értelmezését. Köszönöm továbbá *M.A. Driancourtnak* az Intervet Pharma R&D kutatójának naprakész szakmai tanácsait, magyarázatait és önfeláldozó segítségét.

Szeretném megköszönni mindazoknak a segítségét, akik az értekezés elkészítéséhez legjobb tudásuk szerint közreműködtek az alma mater-en belül és azon kívül is: *Prof. Solti László* tanszékvezető úrnak a lehetőséget, *Dr. Reiczigel Jenőnek* a statisztikai értékelésekhez nyújtott magas színvonalú, hozzáértő segítségét, *Dr. Faigl Verának*, *Dr. Keresztes Mónikának* és *Dr. Márton Alíznek* a barátságukat, és segítségüket, *Vonáné Nagy Alice-nak* a laborban nyújtott kitűnő munkáját, *Kissné Erzsikének* és *Simonné Czigány Ibo-lyának* pontos analitikai munkáját.

Külön kitüntetett köszönet illeti meg az opponenseket, *Prof. Zöldág Lászlót*, *Prof. Zomborszky Zoltánt* és *Dr. Gál Jánost*, akik szűkös idejükből áldoztak dolgozatom alapos elolvasására és értékes javaslataikkal, megfontolt tanácsaikkal segítették az értekezés végső formába való öntését.

A vizsgálatok pénzügyi háttérét az *Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok Iroda* OTKA-T/046826 számú pályázata biztosította.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretném megköszönni édesanyámnak, édesapámnak és húgomnak a végtelen, önfeláldozó segítséget, szeretetet és kitartást, ahhoz hogy elérkezzem oda, ahol most vagyok. Éveken át éjjel, nappal egy rossz szó nélkül kitartottak mellettem és a görényeim mellett. Szerettek és lelkesítettek még akkor is, amikor már az egész udvart... a kocsiszínt és a házukat is ellepték a görények, és a több mint 100 görény tartásához szükséges, nem kis teret elfoglaló kellek. Édesapám vég nélkül készítette és javította a ketrecek. Édesanyám és húgom időt nem kímélve segítettek etetni, takarítani és mintázni az állatokat. A családom több mint ezer bélsármintát gyűjtött és több füzetet telejegyzett az évek során. És ez még nem volt elég... húgom és édesanyám önfeláldozóan segítettek a bélsárminták analitikai előkészítésében. Egyszer még az is megtörtént, hogy belefeledkezve a bélsármérésbe olyan későig maradtunk a laborban, hogy éjjelre ránk zárták az ajtókat, mert senki sem gondolta hogy ott vagyunk a húggal.

Végül szeretném megköszönni a lelki támogatását azoknak a barátaimnak és kollégáimnak, akik hittek bennem és a céljaimban a kezdetektől a végsőig.

Budapest, 2009. szeptember 7.

Proháczik Angella