

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**A sárgatest, az üreges sárgatest, a sárgatest- és lutein-
ciszta kialakulásának etiológiája és pathogenezeise valamint
hatása a tejelő szarvasmarhák fertilitására**

PhD értekezés

Dr. Balogh Orsolya Gabriella

2013

Témavezetők:

.....

Prof. Dr. Gábor György

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet

témavezető

†Prof. Dr. Huszenicza Gyula

Szent-István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar

Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

.....

Ez az értekezés a Prof. Rátky József elnökletével 2012. október 16-án tartott munkahelyi vita nyomán nyerte el végleges formáját.

Készült 8 példányban. Ez a n. sz. példány.

.....

Dr. Balogh Orsolya Gabriella

Tartalomjegyzék és rövidítések

1. Összefoglalás.....	5
2. Summary.....	7
2. Bevezetés	9
3. Irodalmi áttekintés	12
3.1. A szarvasmarha petefészek-ciklusa – az ovuláció, és a sárgatest életsiklusának áttekintése	12
3.1.1. Tüszőfázis – a tüszők érése.....	12
3.1.2. A sárgatest (corpus luteum) kialakulása.....	13
3.1.3. A sárgatest hormontermelése és annak jellemzői	15
3.1.4. A sárgatest regressziója	16
3.2. A folyadéktartalmú petefészek-képletek morfológiája, nevezéktana	18
3.3. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulása tejelő szarvasmarhában	21
3.4. A folyadéktartalmú petefészek-képletek kialakulásának lehetséges okai	22
4. Anyag és módszer.....	25
4.1. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága egy a magyar átlagot meghaladó tejtermelésű tehenészetben 2008-2011	25
4.2. Szezonális fertilitási különbségek tejelő tehenekben – ultrahangos, metabolikus és endokrinológiai vizsgálatok.....	26
4.3. A folyadék tartalmú petefészek képletek endokrinológiai és morfológiai jellemzői	28
4.4.1. Biopsziás és aspirációs vizsgálatok (Állatkísérlet engedély száma: 22.1/4247/003/2008).....	28
4.4.2. Morfológiai (ultrahangos-, makro- és mikroszkópos) vizsgálatok.....	30
5. Eredmények	33
5.1. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága egy magyar átlagnál magasabb tejtermelésű tehenészetben 2008-2011	33
5.1.1. Ellést követően vizsgált tehenek	33
5.1.2. Termékenyítést követően vizsgált üszők.....	33
5.1.3. Termékenyítést követően vizsgált tehenek	34
5.1.3. Különböző petefészek-kezeléseket követően termékenyített üszők illetve tehenek	35
5.2. Szezonális fertilitási különbségek tejelő tehenekben – ultrahangos, metabolikus és endokrinológiai vizsgálatok.....	38
5.3. A folyadéktartalmú petefészek-képletek endokrinológiai és morfológiai jellemzői	45
5.3.1. Biopsziás vizsgálatok.....	45
5.3.2. Aspirációs vizsgálatok.....	45
5.3.3. Morfológiai (ultrahangos-, makro- és mikroszkópos) vizsgálatok.....	47
6. Megbeszélés, következtetések.....	56
6.1. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága egy magyar átlagnál magasabb tejtermelésű tehenészetben 2008-2011	56
6.2. Szezonális fertilitási különbségek tejelő tehenekben – ultrahangos, metabolikus és endokrinológiai vizsgálatok.....	58
6.3. A folyadéktartalmú petefészek-képletek endokrinológiai és morfológiai jellemzői	61
6.3.1. Aspirációs vizsgálatok.....	61
6.3.2. Morfológiai (ultrahangos-, makro- és mikroszkópos) vizsgálatok.....	62
7. Új tudományos eredmények	70
8. Irodalom	71
9. A doktori kutatás eredményeinek közlései.....	86
a, Lektorált, impakt faktorral bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk	86
b, Lektorált, impakt faktorral nem bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk	87

c, Könyvek, könyvfejezetek	87
d, Konferencia prezentációk	87
e, Egyéb, a kutatás megítélése során értékelhető / értékelendő alkotás.....	90
10. Mellékletek	90
11. Köszönetnyilvánítás.....	90

Rövidítések

BHB – béta-hidroxi vajsav

Ca – kalcium

CL – sárgatest (corpus luteum)

E2 – 17-béta-ösztadiol

FRAP – ferric reduction ability of plasma (antioxidáns ellátottságot jellemző paraméter)

FSH – folliculus stimuláló hormon

FTPK – folyadékkal telt petefészek képlet (az élettani tüszőkön kívül)

GnRH – gonadotróp hormon

IGF-1 – inzulin-szerű növekedési faktor

IL... - interleukin

INF ... - interferon

LH – luteinizáló hormon

NEBAL – negatív energia mérleg

NEFA – nem eszterifikált zsírsavak

Ovsynch – 0. napon GnRH kezelés, 7 nap múlva PG kezelés, 2 nap múlva GnRH kezelés,
majd másnap vakon történő termékenyítés

P4 – progeszteron

PG – prosztaglandin

PP – ellés után

PROV – Provsynch protokoll (az ellést követő 30-35. napon PG kezelés, 14 nap múlva ismét
PG kezelés, 12 nap múlva GnRH kezelés, 1 hét múlva PG kezelés, 2 nap múlva GnRH
kezelés majd 1 nap után vakon történő termékenyítés)

T3 – trijód-tironin

T4 – tiroxin

TNF... - tumor nekrosis faktor

TXA – tromboxán

1. Összefoglalás

Tejelő teheneknél az egyoldalú, tejtermelésre történő szelekció következtében az elmúlt évtizedek során a tejtermelés emelkedett, de ezzel párhuzamosan gyakoribbak lettek a szaporodásbiológiai problémák is. Ezeknek egy része különböző folyadéktartalmú, esetenként cisztásnak mondható petefészek-képletek megjelenéséhez köthető. A képletek megjelenése, nevezéktana a szakirodalmi információk alapján nem egységes, előfordulásukra, kialakulásukra vonatkozóan kevés adat található. Munkám célja volt, hogy a tejelő tehenek petefészkében a tüszőkön kívüli folyadék tartalmú képletek előfordulásáról, kialakulásáról, etiológiájáról illetve felépítéséről részletesebb leírást adjak, majd a kapott adatok segítségével egy széles körben elfogadható, jól használható nevezéktanra tegyek javaslatot.

Elsőként rektális ultrahang vizsgálatok segítségével felmértem az ellést követő 30-60 nap között, valamint a termékenyítést követő 28-60 nap között a folyadéktartalmú petefészek képletek előfordulási gyakoriságát. Ezt követően egy átlagosan 11000 kg/tehen/év feletti tejtermelésű tehenészetben metabolikus- és rektális ultrahangos vizsgálatokat végeztem nyári illetve téli időszakokban. A képletek struktúráját, morfológiai és endokrinológiai jellemzőit aspirációs minták elemzésével, valamint szövettani metszetek segítségével vizsgáltam.

Az *ellést* követően a folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága 30,1%, a *termékenyítést* követően üresnek diagnosztizált üszőknél 29,5%, teheneknél 37,6% volt. A képletek előfordulási arányai az ellést és a termékenyítést követően nem különböztek egymástól szignifikánsan. A *termékenyítést* követően vizsgált üres teheneknél szignifikánsan gyakoribbak voltak a folyadéktartalmú petefészek képletek, mint az üres üszők esetében ($P=0,006$). Az üres tehenek esetében gyakrabban alakult ki nem ovulációs képlet ($P=0,01$), míg az üres üszők esetében gyakoribb volt az ovulációs képlet ($P=0,01$). A tejtermelésnek, az állatok kondíciójának, spontán ivarzást vagy hormonkezelést követő termékenyítésnek nem volt statisztikailag kimutatható hatása a képletek előfordulására. A spontán ivarzást követő sikertelen termékenyítések esetében üszőknél több volt az ovulációs, teheneknél a nem ovulációs képlet ($P=0,001$).

A nyáron illetve télen elvégzett kísérletsorozat bizonyította, hogy nyáron magasabb plazma NEFA koncentrációk mérhetők a tehenekben, mint télen ($P<0,0001$), illetve az ellést követő 35 és 70. nap között, az élettani határértékhez közeli vagy azt meghaladó plazma NEFA koncentráció hatással lehet az állatok vemhesülésére, valamint a folyadéktartalmú petefészek-képletek kialakulására is. Az élettani határértéknél magasabb, vagy ahhoz közeli plazma BHB koncentráció, illetve alacsony IGF-I plazma koncentráció tovább erősítheti ezt a

negatív hatást és a folyadéktartalmú petefészek képletek gyakoribb kialakulásáért is felelősek lehetnek.

A morfológiai vizsgálatok alapján két csoportra osztottam a folyadéktartalmú petefészek képleteket: ovulációs illetve nem ovulációs eredetű formák. A képletek elnevezésére a képlet átmérője, a folyadékkal telt üreg átmérője illetve a falvastagság alapján javaslatot tettem, így üreges sárgatestet és cisztás sárgatestet, perzisztens/anovulációs tüszőt, follikulus-kötőszövetes cisztát és follikulus-luteinizált cisztát különböztettem meg. Az *ovulációs* képletek különböztek sejt-összetételben, lutein-szövet tartalomban és az üreget bélelő kötőszövet vastagságában ($P < 0,07$). E képletek aspirátumaiban mért magas NEFA koncentráció a képletek kialakulásában betöltött szerepére utalhat. Az *anovulációs* képletek esetében az aspirációs mintákban jellemzően magas volt a 17-béta-ösztadiol koncentráció, a follikulus-luteinizált ciszta esetében pedig a progeszteron-szekréció is jelentős volt.

2. Summary

Due to the unilateral selection of dairy cows for milk production in the last decades, fertility problems occurred more frequently. Some of them are associated with formation of fluid filled ovarian phenomena (ovarian cysts). Frequency, morphology and nomenclature of these phenomena is not consistent in the literature, data about formation and etiology are incomplete. The aims of this study were to describe the frequency, etiology, pathogenesis and structure of fluid filled ovarian phenomena (except follicles), and based on findings suggesting a suitable nomenclature.

As a first step, the frequency of fluid filled ovarian phenomena were examined in a dairy farm, in postpartum (30-60 days postpartum) cows and post-insemination (28-60 days) cows and heifers. In the next step, metabolic and rectal ultrasound examination were carried out summer and winter, in a dairy farm with more than 11000 kg/cow/year milk production. Finally, the structure, morphological and endocrinological characteristics of the ovarian phenomena were determined based on analyzing of aspirated fluids and histological slides.

In *post partum* cows the frequency of fluid filled ovarian phenomena was 30,1%. In *post inseminated, open heifers* approximately the same frequency was found (29,5%) and also in *open cows* (37,6%). No significant differences were identified between post partum and post insemination animals. *After insemination*, significantly more ovarian phenomena were found in cows, than in heifers ($P=0,006$), and open cows had more anovulatory forms ($P=0,01$), and more ovulatory forms were diagnosed in open heifers ($P=0,01$). Milk production, body condition and unsuccessful insemination after spontaneous or hormonal treated inseminations had no effect on frequency of different ovarian phenomena. There were more ovulatory forms in heifers ($P=0,001$), while in cows anovulatory forms were detected more often ($P=0,001$) which failed to conceive.

Significantly higher plasma NEFA and BHB concentrations were found in summer than in winter ($P<0,0001$). This high plasma NEFA concentration looked to be in association with the lower BCS caused by depressed appetite. Statistical analysis support the hypothesis that increased plasma NEFA and BHB and decreased plasma IGF-I concentrations may result in reduced fertility and can be associated with the more frequent appearance of fluid filled ovarian phenomena.

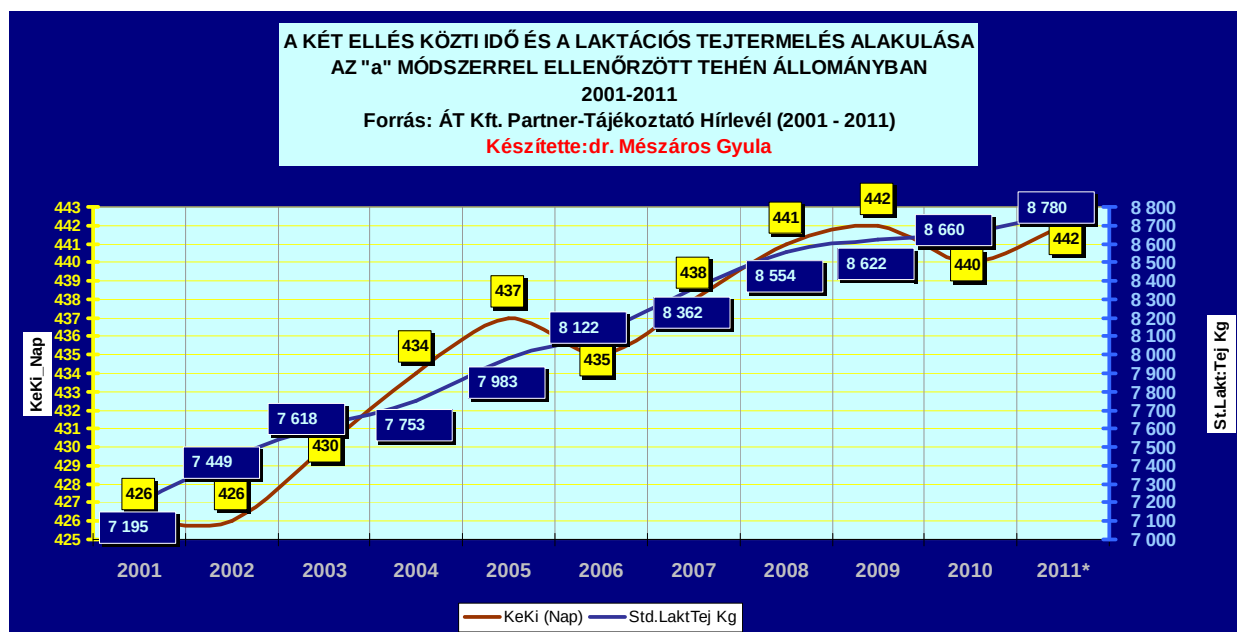
In morphological examinations, fluid filled ovarian phenomena were allocated in two main groups: ovulatory and anovulatory structures. According to the diameter, the cavity diameter and wall thickness I suggested a modified nomenclature of fluid filled ovarian phenomena: CL with cavity, cystic CL, persistens/anovulatory follicle, follicle-fibrous cyst and follicle-luteinized cyst. *Ovulatory* forms differed in cell distribution, lutein tissue volume and the

thickness of connective tissue around the fluid filled cavity ($P<0,07$). High NEFA concentrations in aspirated fluid suggest the possible role in formation of these phenomena. In the aspirated fluid of the *anovulatory* forms 17-beta-estradiol concentrations were high, and in samples from follicle-luteinized cysts progesterone concentrations were also high.

2. Bevezetés

Az elmúlt évtizedekben a tejelő tehenek intenzív, de egyoldalú szelekciójának következtében ma már nem ritka a 10 000 kg/tehen/év feletti tejtermeléssel rendelkező gazdaság. Ezzel párhuzamosan azonban sok olyan szaporodásbiológiai probléma is gyakoribbá vált, melyek korábban csak ritkán fordultak elő. A tejelő tehenészetek legjelentősebb bevételi forrása a tej, ezért a termelő általános célja, hogy a tehenek tejhozama maximális legyen, a lehető legkisebb takarmányozási, állategészségügyi, és egyéb költségek mellett (Ózsvári, 2004). Mivel a tejtermelés szorosan kapcsolódik a reprodukcióhoz, ezért tejtermelő tehenészetekben csak akkor lehet gazdaságos a tejtermelés, ha a fertilitás megfelelő. A szaporodásbiológiai problémákhoz kapcsolható gazdasági veszteség egy 2006-os hazai tanulmány szerint 160-320 Euro/tehen/év-re tehető (Ózsvári és mtsai 2006).

Egy telepre (de akár egy országra) jellemző szaporodásbiológiai képet jól érzékelteti a két ellés közötti idő adata. Az elmúlt években az ellenőrzött tehenészetekben a két ellés közti idő folyamatosan emelkedett, 2011-ben már átlagosan elérte a 442 napot (1. ábra).



1. ábra: A tejtermelés és a két ellés közti idő alakulása Magyarországon (dr. Mészáros Gyula nyomán)

A rövidebb két ellés közti idő, időarányosan több borjú születését jelenti, valamint kevesebb a laktáció végén mutatkozó alacsony tejtermelési napok száma. Az optimális két ellés közti idő zavartalan, egészséges involúcióval, és az önkéntes várakozási periódus leteltével történt sikeres termékenyítéssel biztosítható. A tejtermelő tehenekkel foglalkozó szakemberek egybehangzó véleménye szerint a nagy tejtermelésű tehenészetekben az első termékenyítés időpontja az ellést követő 60. nap után optimális (Gábor és mtsai 2008).

Ekkorra a már Magyarországon is egyre gyakrabban évi 9-10 ezer kg tejtermelésű tehenek ellést követő negatív energia-egyensúlya is megszűnik, illetve befejeződik a méh szövettani involúciója is.

Hazánkban 2001-ben készült felmérés 33 kiemelkedő tejtermelésű telep adatai alapján (Ózsvári, 2004). Akkor átlagosan 432,4 nap volt a két ellés közti idő, az első termékenyítések ideje pedig 83 nap. A telepek a gyenge vemhesülési eredményeket részben állategészségügyi illetve takarmányozási, részben ivarzás-megfigyelési problémákra vezették vissza. A gyenge vemhesülési arányért felelős állategészségügyi problémák közül első helyen az inaktív petefészek gyakori előfordulását, ezt követően pedig a nagyszámban előforduló petefészek cisztákat említették, mint a vemhesülést legnagyobb mértékben hátráltató rendellenességeket. Ezek mellett meghatározó szerepe lehet a magzatburok-retenciónak és a méhgyulladásnak is (Ózsvári, 2004).

Az elmúlt években csaknem folyamatosan növekvő, jelenleg már 442 napos két ellés közti idő és a már évek óta csökkenő (ma átlagosan 2,3) átlagos laktációs szám hűen tükrözi a hazai tejelő állomány szaporodásbiológiai állapotát. Mindezek tükrében tehát jól látszik, hogy a magyar szarvasmarha tenyésztésben, a jelenleg működő szakosított telepeken szaporodásbiológiai szempontból jelentős tartalékok vannak. A tenyésztési-, takarmányozási-, tartási technológiák korszerűsítése mellett, a genetikai képességek minél jobb kihasználtsága a cél, egyre javuló szaporodásbiológiai mutatók mellett.

A szaporodásbiológiai problémák hátterében gyakran az összefoglaló néven petefészek-cisztáknak nevezett képletek állnak. Ezek negatív hatásai nemcsak állategészségügyi szempontból jelentősek (hormontermelésük miatt blokkolhatják és/vagy megzavarhatják a ciklusos petefészek-működést), de gazdasági szempontból is meghatározók. Már egy 1986-ban készült amerikai tanulmányban is olvasható, hogy átlagosan 12,8%-os laktációnkénti előfordulás mellett 137 dollár/laktáció veszteséget okoznak a cisztás petefészek-eltávolítások (Bartlett és mtsai 1986).

A petefészek-képletek diagnózisa kezdetben csak rektális vizsgálattal volt lehetséges, ami azonban nem objektív, és sok esetben fals diagnózist adott (Zöldág 1984). A tejelő szarvasmarhák nemi szerveinek vágóhídi, kórbonctani és szövettani feldolgozásával a különböző, folyadék tartalmú petefészek képletek felépítéséről már több információ áll rendelkezésre, azonban ezeknek a ciklusra való hatása, illetve kialakulása/fejlődési stádiumai nem voltak ismertek.

A képalkotó eljárások az elmúlt két évtizedben robbanásszerű technikai fejlődésen mentek keresztül, melyek közül a különböző ultrahang berendezések terjedtek el a legjobban. Az első, állatorvosi vonalon is elérhető ultrahang-készülékek használatával (1960, Aloka) így jelentős mértékben egyszerűsödött a tejelő tehenek szaporodásbiológiai problémáinak *non invazív* diagnosztizálása és azok funkcionális vizsgálata is (Gábor 2005).

A rektális ultrahang-vizsgálatokkal párhuzamosan már további kiegészítő vizsgálatokat is alkalmazni kezdtek a látható élettani jellegzetességek egyéb jellemzőinek feltárása érdekében: Kastelic és mtsai (1990ab) a sárgatest mérete és a szérum progeszteron (P4) koncentráció közötti összefüggést vizsgálták. A petesejtek in vivo kinyerését (ovum pickup) in vitro embrió előállításához tehenekben (Pieterse és mtsai, 1988), lovakban (Bracher és mtsai, 1993) és prepubertális üszőkben (Brogliatti és Adams, 1996) is ultrahang segítségével végezték el. A speciálisan kialakított (intravaginális) szektor vizsgálófej tartójának tetején húzódott meg a tüszőfolyadék és a petesejt leszívásához szükséges tűvezető. Ugyanezt a berendezést és eljárást eredményesen használták a tüszőfolyadék leszívására (Ginther és mtsai 1997ab) is. Kot és mtsai (1999) kidolgozták a sárgatest biopszia módszerét ultrahang segítségével, ami a későbbi szövettani analízisekre is lehetőséget adott.

Mindezek ellenére azonban továbbra sem tisztázottak a folyadékkal telt (élettani tüszőkön kívül detektálható) petefészek képletek kialakulásának okai, valamint a nevezéktan sem egységes. Munkámban célul tűztem ki, hogy a tejelő tehenek petefészkében (az élettani formákon kívül) található, folyadék tartalmú képletek előfordulásáról, kialakulásáról, etiológiájáról illetve felépítéséről részletesebb leírást adjak, majd a kapott adatok segítségével egy széles körben elfogadható, jól használható nevezéktanra tegyek javaslatot.

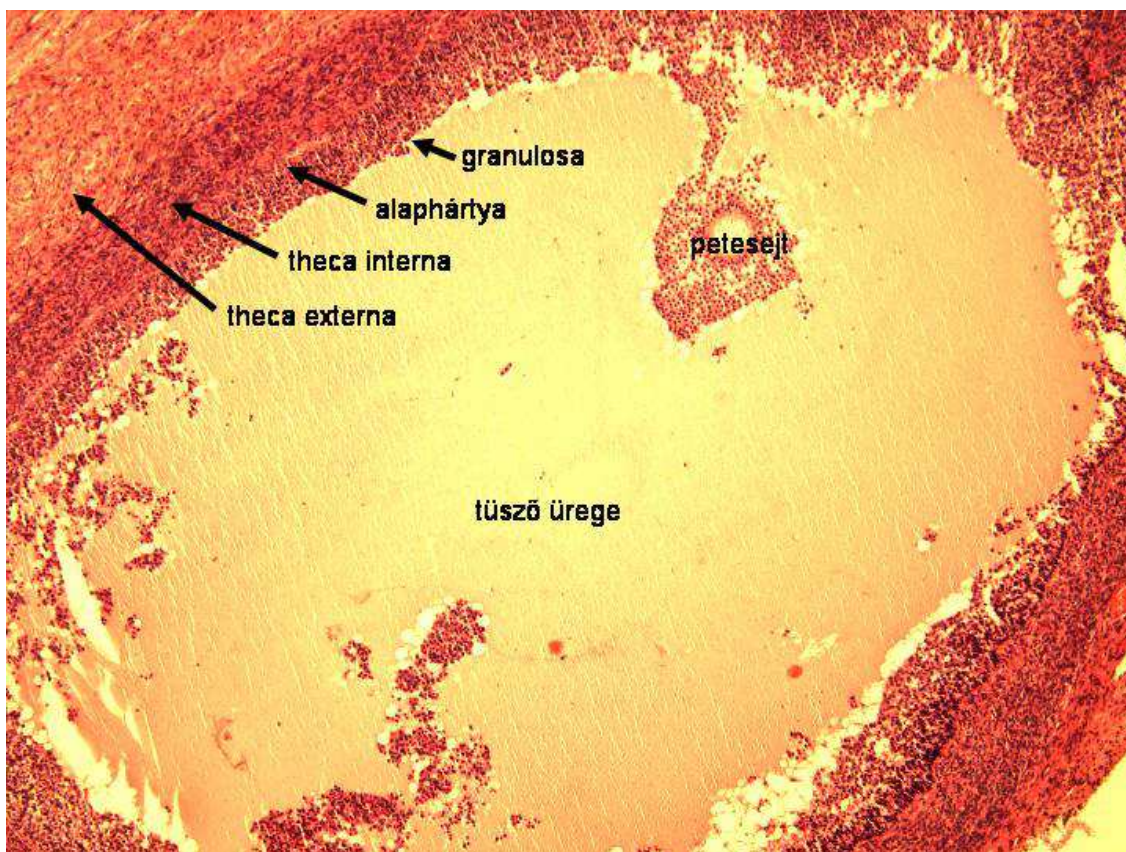
3. Irodalmi áttekintés

3.1. A szarvasmarha petefészek-ciklusa – az ovuláció, és a sárgatest életsiklusának áttekintése

A szarvasmarha petefészek ciklusa 21 napos, melyet két fő részre oszthatunk: a tüszőfázisra és a sárgatest fázisra.

3.1.1. Tüszőfázis – a tüszők érése

A tüszőfázis a ciklus teljes hosszának kb. 20%-át teszi ki, de alapvető folyamatai (tüszőérés, degeneráció) a teljes petefészek-ciklus alatt nyomonkövethetők. A tüszőfázis kezdetén kis tüszők csoportja kezd növekedni és 17-béta-ösztadiolt (E2) termelni. Ezek a kis tüszők (átmérőjük 40-60 μm), a petesejtből és az azt körülvevő egyrétegű tüszőhámból állnak, ultrahangos vizsgálattal még nem detektálhatók. A kis tüszők csoportjából néhány tovább növekedik, a többi atretizálódik (vagyis elsorvad). A növekedésüket folytató tüszőket nevezzük közép méretű, vagy másodlagos tüszőknek. Ezek már 200-300 μm átmérőjűek, petesejtből és két réteg granulosa sejtből állnak. A másodlagos tüszők már nagyobb mennyiségű E2-t képesek termelni. Ezek közül a tüszők közül válogatódnak ki azok, amelyek tovább növekedve harmadlagos tüszökké alakulnak. A harmadlagos tüszők átmérője már eléri az 1 cm-t (így az ultrahangos vizsgálat során is detektálhatók), a tüsző üregébe benyúló, tüszőfolyadékkal körülvett petesejtből, több réteg granulosa sejtből, az alaphártyából és a theca interna és externa rétegekből épülnek fel (2. ábra) és nagyobb koncentrációban képesek E2-t szekretálni. A domináns (és később ovuláló) tüsző csak méretében (a domináns tüszők 2-4 cm átmérőjűek) és E2 termelésében különbözik a harmadlagos tüszőktől (Senger 1999). A domináns tüsző által termelt E2 plazma koncentrációja 15,2-22,3 ng/ml (Lopez és mtsai 2002), koncentrációja a tüszőfolyadékban 285 ± 138 ng/ml (Calder és mtsai 2001). Az a néhány harmadlagos tüsző, ami nem fejlődik tovább, atretizál, a tüsző ürege eltűnik, sejtjei degenerálódnak.



2. ábra: A harmadlagos tűsző szövettani felépítése (HE, 100X nagyítás).

3.1.2. A sárgatest (corpus luteum) kialakulása

A corpus luteum a preovulációs tűsző két sejtípusából, az alaphártyán belül elhelyezkedő granulosa sejtekből és az azon kívül lévő theca interna sejtjeiből alakul ki (Huszenicza és mtsai 1994, Kulcsár és mtsai 1994, Nagy és mtsai 1994, Senger 1999). A preovulációs gonadotropin csúcsot követően, de még az ovuláció előtt a tűsző sejtjei morfológiai és funkcionális (endokrinológiai és biokémiai) átalakuláson mennek keresztül, amelyek az előbb említett sejtek luteinizációjához vezetnek. Ezeket a változásokat alapvetően két hormon az FSH és az LH stimulálja (Stevenson és mtsai 2007, Taponen és mtsai 2002). Luteinizáció fogalmán a preovulációs tűsző ovuláció utáni átalakulását értjük egy nagymértékben vaszkularizált sárgatestté, amely nagy mennyiségű progeszteront (P4) képes termelni.

A preovulációs gonadotropin csúcsot követően a tűsző növekedni kezd, falának szerkezete fellazul. Az LH csúcsot követően más változások is bekövetkeznek a tűszőt körülvevő alaphártyában: a vér- és nyirokerek kitágulnak, az érfal átteresztőképessége megnövekszik valamint ödéma alakul ki és vörösvértestek lépnek ki az érpályából a theca internán belülre. Mindezek mellett az ún. érbimbók megjelenése és növekedése is megindul az alaphártyán belül.

A tüsző hiperémiája valószínűleg a hisztamin és PGE_2 felszabadulásnak köszönhető és a luteinizációban lehet szerepe. A fokozott vérkeringésnek köszönhetően az LH nagyobb eséllyel és könnyebben jut be az érmentes granulosa sejtek rétegébe. A kapilláris-falak nagyobb áteresztő-képessége a szövet ödémáját, a szérum-fehérjéknek és a vörösvértesteknek a vérér lumenéből való kilépését segítik elő az ovuláció előtt álló tüszőn belül. A véráramból ilyen módon kilépő neutrofil és eozinofil granulociták már az ovuláció előtt megtalálhatók a tüszőn belül, a tüszőrepedést követően pedig monociták (makrofágok) valamint bazofil granulociták jelennek meg nagy mennyiségben a fejlődő corpus luteumban (Smith és mtsai 1994, Vinatier és mtsai 1995). A vemhesség alatt a sárgatestben nem láthatók granulociták (Vinatier és mtsai 1995).

Az ovuláció bekövetkezése után a tüsző fala összeesik, az alaphártya széttöredezik, így lehetőség nyílik a granulosa sejtek és a theca interna sejteinek érintkezésére. Ezt követően fibroblasztok, endothel sejtek és theca interna sejtek migrációja indul meg a fejlődő sárgatest belseje felé. A granulosa sejtek hipertrofizálnak és a lutein sejtek többségét képező granulosa-lutein sejtekké (nagy lutein sejtekké) alakulnak át. A theca sejtekből alakulnak ki a kis lutein sejtek, amelyek főként a corpus luteum perifériás zónájában fordulnak elő. A luteinizáció folyamatában a tüszőfolyadékban található vegyületeknek is fontos szerepük lehet (pl. angiogenetikus faktorok) (Smith és mtsai 1994). A tüszőrepedést gyakorlatilag egy gyulladásos jelenséggé is felfoghatjuk azzal a különbséggel, hogy az azt kísérő degeneratív folyamatok mindegyike kizárólag apoptotikus (és nem nekrotikus) irányú.

A fejlődő corpus luteumban nagyon fontos szerepe van a megfelelő erezettségnek, ugyanis az alapvetően érmentes granulosa réteg olyan átalakuláson megy keresztül, amelynek következtében a szervezet legjobb vérellátásával rendelkező szövetévé válik. A fejlődő tüsző körül kapillárisok vannak, amelyek biztosítják a később kialakuló sárgatest keringésének alapját. Az ovuláció után alapvetően ebből az érhálózatból alakul ki a corpus luteumot ellátó érrendszer, melynek fejlődése gyorsan megy végbe. Ez a folyamat több fázisból áll: először eltűnik az alaphártya majd az endothel sejtek migrációja és proliferációja indul meg, végül kialakulnak az ellátó kapillárisok.

Fénymikroszkóppal is megkülönböztethető a kialakult corpus luteumot alkotó két fő sejtípus: a nagy-lutein sejtek nagyobbak a theca eredetű sejteknél (kb. 40 μm átmérőjűek), poligonálisak és nagy, szférikusan elhelyezkedő sejtmagjuk van. Citoplazmájuk számos lipidcseppet tartalmaz. A kis-lutein sejtek kisebbek és citoplazmájuk sötétebb (Senger 1999). Az így kialakult normál sárgatest (ciklikus-, vagy vemhességi) ultrahang-echográfias képe homogén szöveti struktúrát mutat, a képlet középvonalában általában jól látható horizontális echodenz csíkkal.

3.1.3. A sárgatest hormontermelése és annak jellemzői

Szteroid hormonokat a corpus luteumon belül kizárólag a kis és nagy lutein sejtek képesek előállítani. A sejtek szteroid-szintézise alapvetően az elérhető koleszterin mennyiségétől és a specifikus enzimek expressziójától függ.

Az ovulációt megelőző gonadotropin csúcs egyértelműen összefügg a szteroid előállításához szükséges enzimek expressziójával, szabályozásával. A továbbiakban a specifikus enzimek kerülnek tárgyalásra.

1. A koleszterin-pregnenolon átalakuláshoz a koleszterol oldalláncot hasító citokróm P-450 enzim szükséges (P-450_{scc}). Ez az enzim a közepes és nagyméretű tüszőkben továbbá a korai-, közép-, és késői luteális fázisban is megtalálható.
2. A 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz Δ 5- Δ 4 izomeráz a második kulcsenzim a progeszteron bioszintézisében, ugyanis ez az enzim alakítja át a pregnenolont progeszteronná. Ennek aktivitása a luteolízis megindulásáig folyamatosan emelkedik.
3. A 17 α -hidroxiláz citokróm P-450 egy mikroszómális enzim, mely a pregnenolont illetve a progeszteront képes androgénné alakítani. Ezt az enzimet a thecalis szövet expresszálja, de a sárgatestekben nem detektálható, melynek következtében a szarvasmarha corpus luteuma csak csekély mennyiségű tesztoszteront képes termelni.
4. Az aromatáz citokróm P-450 a theca eredetű androgént ösztradiollá alakítja a granulosa sejtrétegben. Az enzim expressziója a luteinizáció alatt blokkolt.

A szteroid hormonokon kívül a luteális sejtek sokféle fehérje típusú vegyületet is termelnek. Ezek közül némelyek bekerülnek a szisztémás keringésbe is (oxitocin, inhibin), némelyek azonban csak helyileg hatnak (proteáz inhibitorok, angiogenetikus faktorok). A corpus luteum hormontermelését számtalan tényező fokozhatja, illetve csökkentheti. Ezek például: a magas környezeti hőmérséklet, a takarmány összetétele, a termelt tej mennyisége, az állat kora vagy a környezeti stressz.

A tejelő tehenek illetve üszők között különbség lehet a termelt progeszteron mennyiségét illetően: a tejelő tehenek sárgatest-szövege általában nagyobb, de szérum progeszteron koncentrációjuk alacsonyabb az üszökéhez képest (Sartori és mtsai 2002, Wolfenson és mtsai 2002).

A környezeti stressz is nagy hatással van a sárgatest működésére. A szarvasmarha petefészke különösen jól ellátott adrenerg idegrostokkal. A perifériás noradrenerg idegrendszer a petefészek minden fejlődési stádiumában fontos szerepet játszik, amelyet a központi idegrendszer direkt módon képes irányítani a petefészek katekolamin koncentrációjának szabályozásával. Feltételezhető, hogy a rövid stressz-hatás stimulálja az ovariális hormonok termelését és leadását is, de a hosszantartó stressz-hatás a tartósan magas katekolamin koncentrációkkal összefüggésben csökkenti a luteális β -receptorok számát.

Ennek megfelelően az adrenerg idegrendszer a sárgatest szekretoros funkciójába több lépcsőben is be tud avatkozni: 1) a központi idegrendszeren keresztül tud hatást kifejteni (extra-hipofízeális, amigdaláris és elülső hipotalamikus régiók), 2) a perifériás és sárgatestben belüli erek kontraktilitására is hatással van, ezzel befolyásolva az átjutó vér mennyiségét és 3) a specifikus enzimek aktivitásának fokozásával növeli az oxitocin és szteroid hormon előállítását a sárgatestben. Ez biztosítja a progeszteron alapszekréciót, továbbá a corpus luteum funkciójának védelmét (Kotwica és mtsai 2002).

3.1.4. A sárgatest regressziója

A sárgatest élettartama valószínűleg függ sejtjeinek számától és érellátottságának mértékétől. A luteolízis két alapvető hormon hatásának tulajdonítható: az oxitocinnak, amely a corpus luteumból származik és a prosztaglandinnak ($\text{PGF}_{2\alpha}$) melyet az endometrium termel. Kísérletekkel bizonyították, hogy a petefészek és a méh közötti speciális keringés segíti elő, hogy az endometrium által termelt $\text{PGF}_{2\alpha}$ az ipszilaterális sárgatestbe jut el és okozza a sárgatest regresszióját (Nagy és mtsai 1994, Senger 1999, Tsai és Wiltbank 1998). A $\text{PGF}_{2\alpha}$ nagy koncentrációban csak a petefészek körüli vérerekben található meg, a szisztémás keringésbe alig kerül be (a szisztémásan keringő $\text{PGF}_{2\alpha}$ -t a tüdő 98%-ban metabolizálja). A sárgatest sejtjeiben (granulosa eredetű nagy lutein sejtek) előállított oxitocin stimulálja a $\text{PGF}_{2\alpha}$ termelését (az ivarzási ciklus első felében a P4 megakadályozza a $\text{PGF}_{2\alpha}$ szerkécióját a méh oxitocin receptorainak blokkolásával).

A $\text{PGF}_{2\alpha}$ hatásmechanizmusával sok kutatás foglalkozott az elmúlt években. Feltételezték, hogy érösszehúzódnást, ezáltal ischémiát hoz létre a sárgatest kapillárisaiban. Ez a hipotézis azonban nem tűnik valószínűnek, mivel a környező petefészek-strómához képest a sárgatest vérellátása még a luteolízis alatt is 5-20-szor jobb. Indokoltnak látszik viszont az a hipotézis, miszerint a $\text{PGF}_{2\alpha}$ érdegenerációt okozhat.

A $\text{PGF}_{2\alpha}$ -t a nagy lutein sejtek képesek receptorok útján kötni, amely visszafordíthatatlan kaszkád-mechanizmust indít el ezekben a sejtekben. Ez a mechanizmus a hormontermelés csökkenését majd megszűnését illetve a Ca-csatornák megnyitásával és a foszfolipáz-C aktivációjával a sejt halálát eredményezi (apoptózis; Senger 1999, Wiltbank és mtsai 1995).

A sárgatest pusztulásának egy másik előidézője lehet a makrofágok illetve limfociták által termelt citokinek hatása, melyet a $\text{PGF}_{2\alpha}$ felerősíthet (Huszenicza és mtsai 1999, Huszenicza és mtsai 1998, Neuvians és mtsai 2004, Senger 1999, Taniguchi és mtsai 2002, Vinatier és mtsai 1995).

A petefészekben normál körülmények között is sok, az immunválaszban szerepet játszó sejt található, amelyek a citokinek potenciális forrásaként szolgálhatnak. Egyes citokineket maga a petefészek illetve a sárgatest saját sejtjei is képesek előállítani (Neuvians és mtsai 2004, Nishimura és mtsai 2004, Taniguchi és mtsai 2002). Az ovuláció pillanatában például

nagyszámú makrofág jelenik meg a theca sejtrétegben. Ezek a sejtek ugyanakkor relatíve ritkán láthatók a fiatal sárgatestben, viszont nagy számban megtalálhatók a hanyatló corpus luteumban. Emberben a terhesség alatt ez a makrofág invázió megszűnik, és csak vajúráskor található meg ismét. A pre-ovulációs tüsző és a sárgatest olyan anyagokat szekretál, amelyek kemotaktikus faktorok az eosinofilok számára.

Az a mechanizmus, amely a tüszőatréziát és a sárgatest regresszióját irányítja, valószínűleg megegyezik. A hanyatlásnak induló sárgatestbe elsőként megérkező sejtek a T-limfociták, az eosinofilok és a makrofágok, melyek a luteolízisben citotoxikus termékeikkel játszhatnak szerepet.

A sárgatestben lévő kapillárisok endothel sejtjei a citokinek sok típusára érzékenyek. A sárgatest sorvadása és a tüszőatrézia során a kapillárisok száma az endothel populációval párhuzamosan csökken. Elektronmikroszkópos vizsgálatok alátámasztják, hogy a programozott sejthalál (apoptózis) megkezdődése után az endothel sejtek száma csökken. Néhány citokin, mint a TNF- α és TNF- β valamint a TGF- β is indukálhatja az endothel sejtek, a granulosa sejtek és a lutein sejtek apoptózisát (Vinatier és mtsai 1995). A TNF és INF kombinációja extrém módon citotoxikus hatású a lutein sejtekre. Az indukált luteolízist követő 2-12 órában az INF γ kifejezetten emelkedett expresszióját figyelték meg a 8-12 napos sárgatestéhez képest. Nagyjából ugyanezek a változások voltak láthatók a TNF- α és az IL-1 β koncentrációjában is. Tehát az említett citokineknek valószínűleg nagy szerepük van a luteolitikus folyamatok elindításában (Neuvians és mtsai 2004).

Az ellést követő időszakban fellépő méhgyulladások és az emiatt bekövetkező fokozott endotoxin-felszabadulás szintén hatással van erre a folyamatra. Ugyanis endotoxin, illetve citokinek hatására a neutrofil granulociták és az egyéb fagociták, valamint a trombociták mind *in vivo*, mind *in vitro* körülmények között számos biológiailag aktív anyag szintézisét és felszabadítását kezdik meg: különböző (fehérje természetű) citokinek (TNF- α , interferonok, interleukinek), egyes biogén aminok (hisztamin, szerotonin), bizonyos szabad oxigéngyököket tartalmazó, egyszerű vegyületek, továbbá – a ciklooxygenáz-2 (COX-2) és lipoxigenáz enzimrendszerek aktiválása révén – számos arachidonsavból keletkező, lipid természetű molekula [prosztanoidok: a prosztaglandin F_{2 α} (PGF_{2 α}) és a prosztaglandin I₂ (PGI₂) tromboxánok: tromboxán A₂ (TXA₂) és leukotriének]. Ezeknek a mediátoroknak a felszabadulása a Gram-negatív baktériumok okozta infekciók leküzdésében játszik szerepet. Összefoglalva a sárgatest regressziójának kezdete egy akut gyulladásos reakcióhoz hasonlítható (a legalábbis a citokinek szemszögéből), amely azonban nem kóros folyamat és nem nekrotikus szövet-károsodás, hanem inkább tömeges apoptózis követ (Neuvians és mtsai 2004). A sárgatest hanyatlása nagyjából a következő ciklus megindulásáig bekövetkezik. A corpus luteum progeszteron termelése a regresszió megindulásakor hamar

lecsökken, de szöveti degenerációja és átalakulása corpus albicansszá több időt vesz igénybe (Kastelic és mtsai 1990a, Neuvians és mtsai 2004, Tom és mtsai 1998).

3.2. A folyadéktartalmú petefészek-képletek morfológiája, nevezéktana

A legtöbb, tejelő szarvasmarha szaporodásbiológiával foglalkozó szakember általában összefoglaló névvel cisztás petefészek-megbetegedésként említi a különböző folyadéktartalmú – a tüszőt nem beleértve – petefészek képletek megjelenését (cystic ovarian disease, COD). Néhány szerző azonban nem ért egyet ezzel a tradicionálisnak mondható elnevezéssel, mivel a korábbiakkal ellentétben, a napjainkban detektálható képletek nem minden esetben indukálnak olyan kifejezett tüneteket, amiket betegségként lehetne azonosítani (Vanholder et al, 2006b). A gyakran kialakuló (sokszor helytelenül csak petefészek-cisztáknak nevezett) képletek általában a ciklusos petefészek-működésre vannak hatással, sokszor kifejezett ivarzási tüneteket okozva, de ma már meglehetősen ritka a maszkulinizáció jeleit mutató tehén, ugyanakkor nimfomániás tünetek gyakran észlelhetők. A szerzők általában egyetértenek abban, hogy a COD anovulációs képletek kialakulásával azonosítható, de ezeken kívül még számos ovulációs eredetű folyadéktartalmú képlet is kialakul a petefészkeken. A leggyakrabban használt nevezéktan alapját az az általános meghatározás adja, miszerint petefészek-cisztának tekinthető a 20-25 mm átmérőnél nagyobb, sárgatest egyidejű jelenlétének hiányában több mint 10 napig perzisztáló petefészek-képlet. Néhány szakember megkülönbözteti az ovulációt követően és a nélkül kialakuló képleteket, azonban az ovulációs képletek kóros mivoltát megkérdőjelezi. A leggyakrabban idézett szerzők definícióit az 1. táblázatban foglaltam össze.

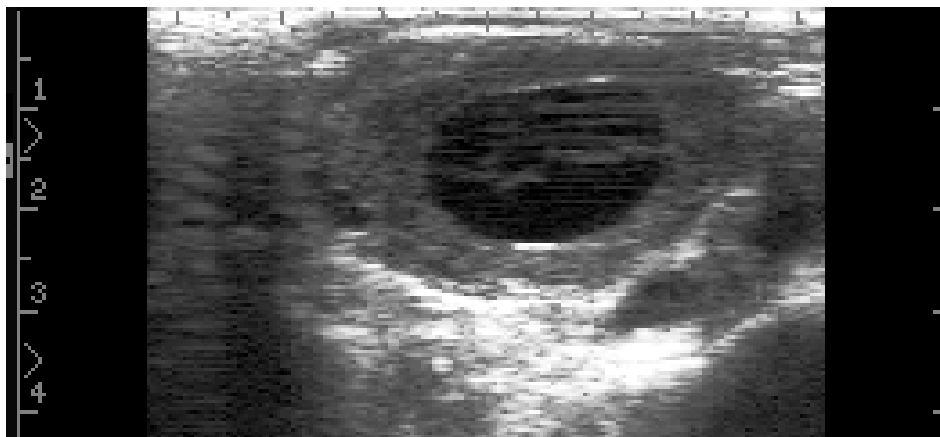
1. táblázat: A legelterjedtebb definíciók és elnevezések a folyadék-tartalmú petefészek-képletekre.

	Zemjanis (1970)	McEntee (1990)	Acland (2001)	Brito és Palmer (2004)	Parkinson (2009)
Follikulus ciszta (cisztás tüsző)	-	anovulációs eredetű, >2,5 cm átmérő, részleges luteinizáció lehet (theca interna)	anovulációs eredetű, vékonyfalú, részleges luteinizáció lehet (theca interna)	>2-2,5 cm átmérő, <3mm falvastagság, <1 ng/ml P4, ovuláció nélkül alakul ki	>2,5 cm átmérő, <3mm falvastagság, perzisztál, ovuláció nélkül alakul ki
Cisztás Graaf tüsző	anovulációs eredetű, hasonló, mint a cisztás tüsző vagy tüszőciszta, egy önmagában álló ciszta melynek átmérője nem haladja meg a 2,5 cm, sima felületű, határozott hullámváz érezhető, relatív vékony fal	-	>2,5 cm átmérő, >10 napig perzisztál, ovuláció nélkül alakul ki	-	-
Luteinizált tüsző		(luteális vagy luteinizált ciszta), anovulációs képlet, nagy, kerek ciszta, teljes fal luteinizálódott	-	-	<2,5 cm átmérő, anovulációs képlet, a vakuolizált sárgatesthez képest nagyobb üreg
Luteális ciszta (Luteinizált ciszta)	anovulációs eredetű, kisebb ciszta, vastagabb a fala (lutein szövet rétege miatt), hullámváz kevésbé érezhető	-	ovuláció nélkül alakul ki, kötőszövet az üreg körül, alatta luteinizált theca sejtek	>2-2,5 cm átmérő, >3mm falvastagság, >1 ng/ml P4, ovuláció nélkül alakul ki	>2,5 cm átmérő, >3mm falvastagság, perzisztál, ovuláció nélkül alakul ki
Cisztás sárgatest	a normál sárgatestre hasonlít, a folyadéktartalom tapintással érezhető	ovuláció után alakul ki, kötőszövet van a lutein sejtek és az üreg között, nagyobb, mint a normál CL	ovuláció után alakul ki, nagy, szabálytalan ciszta	-	-
Vakuolizált sárgatest	-	-	-	-	normál képlet, sárgatest méretű de puhább tapintatú, ovuláció után alakul ki

Az anovulációs képletek esetében egyértelmű, hogy a nem ovulált tüszőből alakulnak ki. A szakirodalomban általában a tüsző eredetű (ovuláció nélkül kialakuló) képletek megkülönböztetése a látható luteinizált réteg meglétén vagy hiányán alapul (Boos és mtsai 1988). Szövetteni vizsgálatok segítségével további leírások olvashatók a luteinizált és nem

luteinizált cisztákról, melyek változatos megjelenést sugallnak (Braw-Tal és mtsai 2009, Farin és mtsai 1990, Isobe és mtsai 2005, Silvia és mtsai 2002, Zöldág 1986), de általánosságban hasonlítanak a harmadlagos tüsző felépítésére. A nem ovulált képletek esetében a diagnózis több szerző szerint csak kiegészítő endokrinológiai vizsgálatokkal lehetséges (P4 plazma koncentráció, de a határérték szerzőnként sokszor eltérő; Carroll és mtsai 1990, Farin és mtsai 1990).

Az ovulációt követően, a sárgatest fejlődésének korai szakaszában sok esetben látható üreg annak belsejében (Donaldson és Hanzel 1965, Senger 1999). Ez azonban legtöbbször a ciklus későbbi stádiumában eltűnik, és ultrahangos vizsgálattal a fiziológiás sárgatestre jellemző képet lehet látni. Azonban több esetben az is előfordul, hogy ez az üreg megmarad, és rektális ultrahangos vizsgálattal később is detektálható, sokszor az üreget körülvevő keskeny, világos-szürke sávval együtt (3. ábra).



3. ábra: A folyadékkal telt üreggel rendelkező sárgatest ultrahangos képe.

Hanzen és mtsai (2000) a fiziológiás képletek között sorolja fel az üreges (folyadékkal telt) sárgatestet, ami ultrahangos kép alapján egy tüszőre hasonlít, azonban általában kevésbé szabályos, luteális szövettel van körülveve, gömbölyű, és gyakran nagy echogenitású kötegek vagy foltok vannak benne, valószínűleg összefüggésben a fibrin-szerű szálak és hemolizált vér jelenlétével. A sárgatest ciszta fogalma is gyakran keveredik az üreges sárgatestével: Booromeo és mtsai (1996) leírása alapján a cisztás sárgatest olyan sárgatest, ami ovulációt követően alakul ki, centrális ürege perzisztál néhány napig, majd az üreg lassan kitöltődik, de nem adja meg az üreges sárgatesttől való elkülönítés szempontjait. A legtöbb szerző az üreggel rendelkező sárgatesteket fiziológiás formának tartja, melynek alapjául a homogén sárgatestével egyenértékű P4 termelés szolgál (Assey és mtsai 1993, Carrol és mtsai 1990, Foley 1996, Hanzen és mtsai 2000, Kastelic és mtsai 1990b, Kito és mtsai 1986), de az üreget körülvevő szürkés sáv jelenlétéről kevés esetben esik szó (Okuda és mtsai /1988/ kötőszövetként azonosították). Néhány szerző szerint, az üreggel

rendelkező sárgatest patológiás állapot, és a nevezéktan módosítására, pontosítására lenne szükség (Grygar és mtsai 1997).

3.3. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulása tejelő szarvasmarhában

Ebben a fejezetben a különböző folyadéktartalmú petefészek-képletek (kivéve a tüszők) elnevezése a feldolgozott szakirodalmak szerzőinek szóhasználatára alapján történt, ezért nem egységes a használt nomenklatura.

Már az 1970-es években publikált szakirodalomban is olvashatók leírások a petefészekeken előforduló cisztás elváltozások megjelenési gyakoriságáról (Zemjanis 1970), amelyek a hagyományos értelmezés szerint nem ovulált képleteket jelentettek. Az ultrahangos diagnosztika mindennapos gyakorlatban történő elterjedéséig azonban csak rektális vizsgálattal tudták elkülöníteni ezeket a képleteket (méret és rigiditás alapján), viszonylag nagy hibaszázalékkal (Zöldág 1984). Ezzel a módszerrel Zemjanis (1970) a vizsgált állatok 4%-nál follikuláris cisztákat, 1,7 %-nál lutein cisztákat diagnosztizált. Foley (1996) szerint a follikuláris ciszták gyakoribbak, mint a luteális ciszták (összességében 3-50%-os előfordulás). Ezt a megfigyelést Parkinson (2009) is megerősíti. Gümen és Wiltbank (2002) megfigyelései alapján azonban a follikulus ciszták előfordulási gyakorisága 6-19%. Az endokrinológiai vizsgálatok elterjedésével, a rektális vizsgálatokat szérumban P4 mérésekkel kiegészítve, már pontosabb diagnózisok állíthatók fel. Zöldág (1984) az ellés utáni 45-80. nap között rektális vizsgálatokkal és a szérumban P4 koncentrációk sorozat-méréseivel az állatok 42,8%-ában talált follikulus cisztákat. A petefészek-ciszták előfordulási gyakorisága mellett azok kialakulásának körülményeire vonatkozóan is találhatók adatok. A cisztás petefészek-elváltozásokat Zöldág (1984), mint a 4-6 éves, 2-4-szer ellett, akkoriban nagy tejhozamúnak tekintett tehének (>16 liter/nap tejtermelés) betegségeként diagnosztizálta. Több esetben tapasztalt a follikuláris ciszták jelenléte mellett elhúzódó ivarzást, és (az esetek 1/3-ában) I. és II. fokú méhhurutot is. Lopez-Diaz és Bosu (1992) gyakrabban láttak luteális cisztákat idősebb illetve magasabb tejtermelésű állatokban. López-Gatius és mtsai szerint (2002) a petefészek-ciszták előfordulásának csúcsidezőszaka az ellés utáni 14-40. nap között van, de az ebben az időszakban kialakuló ciszták több mint 50%-a spontán visszaalakul. A cisztás petefészek-elváltozások leggyakrabban az ellést követő kritikus 30-60 napban fordulnak elő, amikor a petefészek-működés ismét ciklikussá válik (Lopez-Diaz és Bosu 1992). Ez az időszak kiemelten fontos az esetleges okozott meddőség szempontjából, hiszen az involúció befejeződésével ez a klinikai tünetekben is jól manifesztálódó ivarzás ideje, így amennyiben cisztás képlet alakul ki, az – a kifejezett ivarzási tünetek miatt – sikertelen termékenyítésekhez is vezet és így nő a sikeres termékenyítésig eltelt idő. Brito és Palmer (2004) szerint a petefészek-cisztás elváltozásai

két időszakban mutatnak kiemelkedő számot. Az első csúcs az ellést követő 2. hónapig tart, a második időszak pedig a 4-6. hónap közé tehető, de az előfordulás gyakorisága csökkenő tendenciát mutat az egymást követő ciklusokban, a spontán felépülés pedig elérheti a 38-48%-ot is.

A nem ovulált, a szakirodalomban cisztás petefészek-képleteknek nevezett elváltozások mellett, azonban ovulált képletekben is viszonylag gyakran detektálhatóak folyadékkal telt üregek. Az ezekre a képletekre vonatkozó, szakirodalomban elérhető előfordulási adatok nagy része üszőkön, vagy laktáló, nem vemhes teheneken végzett vizsgálatokon alapul, de egyes kísérletekben vemhes tehenek között talált folyadéktartalmú sárgatestekről is olvashatunk (Garcia és Salaheddine 2000).

Kito és Okuda (1986) szerint az üreges sárgatestek előfordulása a vizsgált üszők között 37,2% volt, ezen belül 30,8%-ban 7-10 mm átmérőjű üreget és 24,4%-ban 10 mm-nél nagyobb átmérőjű üreget találtak. Az üreges sárgatestek gyakoriságával foglalkozó szakirodalomban általában az ilyen képletek első megjelenésével számoltak, de a legtöbb esetben a detektált üregek a ciklus későbbi stádiumában eltűntek. Kastelic és mtsai (1990b) vizsgálatai szerint üreges sárgatesteket a nem vemhes üszők 77%-ban, a vemhesek között pedig 86%-ban találtak. Ebben az esetben a nem vemhes állatokban a sárgatestet általában már az első napon detektálták, az üregeket pedig először a 3-5. napon észlelték. A nagyobb üreggel rendelkező sárgatesteket hamarabb diagnosztizálták, mint a kisebbeket. Minden méretű üreg maximális átmérőjét a 6. nap körül érte el. A nagyobb üregek sokkal lassabban, nagyjából a 20. napra tűnnek el teljesen, míg a kisebbek már a 7. napon észrevehetetlenek voltak. Feltételezéseik szerint a legnagyobb üregek csak a körülöttük levő sárgatestek regressziójával párhuzamosan tűnnek el (Kastelic és mtsai 1990b). Ezeket a tényeket további kutatások is alátámasztják (Assey és mtsai 1993., Fralix és mtsai 1996). Leírtak már egyedileg előforduló rendellenesnek tekintett lutein tartalmú képletet is, mely képes volt a vemhesség fenntartására és 92. napig szinte változatlan formában volt jelen (Chuang és mtsai 2010).

3.4. A folyadéktartalmú petefészek-képletek kialakulásának lehetséges okai

A folyadéktartalmú, ovulált képletek kialakulása illetve pontos identifikálása a témában publikált szakirodalmi adatok alapján nem egyértelmű (Assey és mtsai 1993, Bosu és Peter 1987, Choi és mtsai 1982/1983, Foley 1996, Fralix és mtsai 1996, Garcia és Salaheddine 2000, Grygar és mtsai 1997, Kastelic és mtsai 1990a, Kastelic és mtsai 1990b, Kito és mtsai 1986, Kulcsár és mtsai 2005, Senger 1999). A sárgatest morfológiai és/vagy funkcionális rendellenességeinek tömeges előfordulása esetén metabolikus – elsősorban az energiaháztartásról, továbbá a fehérje- és/vagy karotin-ellátottságról tájékoztató –

vizsgálatokkal is próbálták kideríteni a keletkezésük okát (Gábor és mtsai 2004, Pethes és mtsai 1984, Pethes és mtsai 1985, Somorjai és mtsai 1984).

A szervezetben zajló, jelentős endotoxin- és/vagy citokin-felszabadulással járó gyulladásos megbetegedések (puerperalis metritis, súlyos mastitis stb.) szerepet játszanak a sárgatest funkcionális rendellenességeinek a kialakulásában, nem tisztázottak azonban a mögöttes kórélettani mechanizmusok, illetve a funkció és az ultrahang-echográfia kép időbeli változásának jellege és összefüggései. Az involúciós időszakban tapasztalt gyakoribb megjelenésüket támasztja alá az a megfigyelés is, miszerint a magzatburok visszatartással és/vagy méhgyulladással terhelt teheneknél gyakrabban alakulnak ki folyadéktartalmú petefészek-képletek, mint egészséges társaiknál (Hatvani és mtsai 2009). Emellett nem zárható ki egyes *Fusarium* toxinok (Huszenicza és mtsai 2000), illetve bizonyos stressz-tényezők (állatorvosi beavatkozások) esetleges alig ismert mellékhatásainak oktatni szerepe sem (Bage és mtsai 2000). A puerperiális betegségek tehát, valamint a magas tejtermelés is növelheti a ciszták kialakulásának esélyét. López-Gatius és mtsai szerint (2002) a laktációk száma nem, de a kor negatívan befolyásolja a ciszták kialakulási esélyeit. Egyes vizsgálatok alapján az ellés időpontja (összel gyakrabban detektálták) is hatással lehet a ciszták kialakulására.

A környezeti tényezők közül az egyik legjelentősebb tényező valószínűleg a hőmérséklet. A hipertermia direkt és indirekt is befolyásolja a szaporaságot: direkt módon károsítja a sejtfunkciókat a szaporítószervek legkülönbözőbb szöveteiben (Wolfenson és mtsai 2000). A hőstressz csökkenti az érő tüszők dominanciáját, ami a theca és granulosa sejtek csökkent szteroid-szekréciójában, így a vér E2 koncentrációjának csökkenésében nyilvánul meg. A magas környezeti hőmérsékletnek azonban direkt hatása is van a fertilitásra a petefészek hőmérséklet-emelkedése miatt, ami a petesejt minőségét nagyban befolyásolja. A méhbeli környezetet szintén érinti a hőstressz, mivel vérellátottsága csökken, ezáltal a méh üregének hőmérséklete emelkedik (De Rensis and Scaramuzzi, 2003). A meleg időszakban ellett állatoknál 2,6-szor nagyobb eséllyel alakulnak ki ciszták, mivel a hőstressz miatt a végső tüszőérés és a szteroid hormonok szintézise is kárt szenvedhet (López-Gatius és mtsai 2002). A magas környezeti hőmérséklet (nyári kánikula) a homogén sárgatestben csökkent P4 termelést eredményez (Sartori és mtsai 2002, Wolfenson és mtsai 2002). Vizsgálatok kimutatták, hogy hosszantartó nyári melegben a sárgatest sejteinek *in vitro* P4 termelése határozottan alacsonyabb, mint télen (főleg a luteinizált theca sejteké). A hőstressz sárgatestre gyakorolt hatása több okra vezethető vissza: 1) a hipertermia alatti nem megfelelő luteinizáció, 2) a magas hőmérséklet miatt az ovulációs tüszőben bekövetkező minőségromlás (amely így a kialakuló sárgatest minőségét is ronthatja), 3) csökkenés a sárgatest vérellátásában, 4) a P4 fokozott metabolizmusa a májban. További befolyásoló

tényezők lehetnek: a vértérfogatban bekövetkező változások, a hipertermia mértéke, a hőbehatás időtartama, a tehenek kora, takarmányozása és laktációs stádiuma

A magas környezeti hőmérséklet azonban az anyagcserén keresztül is hatással van a tejelő tehenek szaporaságára, mivel súlyosbítja az ellést követően kialakuló negatív energia-mérleget (NEBAL) abban az időszakban, ami a későbbi fertilitást meghatározza. A NEBAL néhány nappal az ellést megelőzően kezdődik, legsúlyosabb mértékben pedig 2 héttel azt követően mutatkozik meg (Butler 2003). Az, hogy milyen súlyos mértékben és milyen hosszán tart ez az időszak, elsősorban tejtermelés kezdetén jellemző szárazanyag-felvétel függvénye. Nyáron, amikor a magas környezeti hőmérséklet következtében az állatok étvágya rosszabb, a takarmány-felvétel is alacsonyabb, ami indirekt úton hat a fertilitásra. Tejelő tehenekben a szárazanyag-felvétel, a laktáció stádiuma, a tejtermelés, az energia-egyensúly és a hőstressz szoros kölcsönhatásban áll egymással, ami végső soron a LH szekréció csökkenését és a domináns tüsző méretbeli csökkenését eredményezi az ellést követő időszakban. A hőstressz alatt, a domináns tüsző theca és granulosa sejteinek csökkent funkciója és szteroid-termelő kapacitása következtében az ovuláció is elmaradhat, de ha mégis bekövetkezik, a sárgatest kialakulása és progeszteron termelése lassabban indulhat meg. A tüsző „sérülése” következtében, a GnRH/LH csúcs ellenére elmaradhat az ovuláció, ami után, a következményesen alacsony P4 koncentráció anovulációs körülményeket teremt (Gümen és Wiltbank 2002).

4. Anyag és módszer

4.1. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága egy a magyar átlagot meghaladó tejtermelésű tehenészetben 2008-2011

A rektális ultrahang-vizsgálatokat 2008. január 1. és 2011. december 31. között egy átlagosan 10000 kg/tehen/év tejtermelésű tehenészeti telepen, kéthetente végeztem Tringa linear típusú, váltófrekvenciás (6-8 MHz) lineáris fejjel ellátott ultrahang készülékkel (Pie Medical, Maastricht, Hollandia). A telep átlagos tehenlétszáma 2011-ben 400 volt, az állatokat kötetlen tartásban, teljes monodiétás takarmányozással tartották (TMR), naponta kétszer fejték. Az átlagos két ellés közti idő 2011-ben 418 nap volt, az első sikeres termékenyítés átlagos időpontja 72 nap, fertilitása 35%. A vizsgálatok során 30-60 napja ellett tehenek és 28-60 napja termékenyített tehenek illetve üszők méhét és petefészkeit is megvizsgáltam, és annak eredményét a CATUS (CATtle UltraSound) adatbázisban rögzítettem. A petefészek áttapintása és ultrahangos vizsgálata segítségével elkülönítettem a ciklusból származó élettani képleteket, valamint a folyadékkal telt, és a normál ciklus során nem jellemző petefészek-képleteket. Ez utóbbiakat az ovulációs papilla megléte vagy hiánya alapján két csoportba soroltam: ovulációs illetve anovulációs képletek. Amennyiben egy állatnál az élettani sárgatest mellett anovulációs képlet is volt, azt (a jelenleg széles körben használt definíció értelmében; Brito és Palmer 2004) nem tekintettük kórosnak. Amennyiben ovulációs képlet és élettani sárgatest is jelen volt ugyanabban az állatban, azt az ovulációs képlettel rendelkező csoportba soroltuk. A vizsgálati eredmények mellett a CATUS adatbázisban rögzítésre került továbbá az

- ENAR azonosító szám
- élettani státusz (üsző illetve tehen)
- a vizsgálat időpontja
- az utolsó lényeges szaporodásbiológiai esemény (ellés/termékenyítés) és annak időpontja
- termékenyítés esetén az is, hogy történt-e hormonális beavatkozás (spontán ivarzás, egyszeri prosztaglandin kezelés – PG, Ovsynch – OVS, Provsynch – PROV)
- napi átlagos tejtermelés (kg)
- a vizsgálat idején becsült kondíció-pontszám (1-5 terjedő, 0,25 ugrású skálán; 1 érték a sovány, 5 érték a kifejezetten kövér állatokat jelöli; Edmonson et al. 1989).

Az eredmények statisztikai feldolgozása az R szoftver segítségével, Fischer egzakt teszt és logisztikus regresszió használatával történtek (R: A Language and Environment for Statistical Computing", 2009).

4.2. Szezonális fertilitási különbségek tejelő tehenekben – ultrahangos, metabolikus és endokrinológiai vizsgálatok

A kísérlet két vizsgálati periódusban történt: 2008 június és augusztus között (továbbiakban nyári vizsgálatok) és 2008 november és 2009 január között (továbbiakban téli vizsgálatok). Mindkét időszakban 10-10 tehenet random módon választottunk ki (ellések száma 1-5, átlagosan 1,75 nyáron és 2 télen). A vizsgálatok helyszíne egy magyarországi, nagy tejtermelésű (12500 kg/tehen/év), holstein-fríz fajtájú tehenekből álló telep volt. A vizsgálatba válogatott tehenek átlagos tejtermelése 36,4 és 41,0 kg volt nyáron illetve télen. Az ellés után levő állatokat kötetlen istállóban tartották, naponta két alkalommal fejték, az elsőborjas tehenek külön csoportban voltak elhelyezve és takarmányozva. A magas tejtermelésű tehenek mindkét időszakban ugyanolyan összetételű TMR takarmányt kaptak (38 kg napi tejtermelésre optimalizálva).

Az állatokat mindkét vizsgálati periódusban az ellést követő 30-36. naptól kezdve Provsynch protokoll szerint kezelték [0. nap prosztoglandin (PG), 14. nap PG, 26. nap GnRH, 33. nap PG, 35. nap GnRH, és termékenyítés a 36. napon]. PG készítményként az Estrumate® (25 mg, izomba történő fecskendezés, Intervet Schering-Plough Animal Health, Boxmeer, The Netherlands), GnRH készítményként a Fertagyl® (150 µg, izomba történő fecskendezés, Intervet Schering-Plough Animal Health; Gábor és mtsai, 2002) készítményeket használták. A nyári időszakban, a Provsynch protokoll idején a napi átlag hőmérsékletek 14-26,7°C között, míg a termékenyítések idején 16,25-30,8°C között alakultak. A téli időszakban a Provsynch protokoll idején a napi átlaghőmérsékletek 0,6-6,2°C, a termékenyítések idején 5-7°C között voltak. A kezelések megkezdésétől a 30. napi vemhességvizsgálatig hetente egy alkalommal vért vettünk egy-egy szérum illetve EDTA kezelt csőbe. A termékenyítéstől a vemhességvizsgálatig e mellett, hetente egy alkalommal rektális ultrahang vizsgálatot végeztem Tringa linear típusú, váltófrekvenciás (6-8 MHz) lineáris fejjel ellátott ultrahang készülékkel (Pie Medical, Maastricht, Hollandia), melyek eredményeit a CATUS adatbázisban rögzítettem. Minden mintavételnél az állatok kondíció-pontszáma (5 pontos skálán) és tejtermelése is rögzítésre került. A vérvételeket követően a mintákat 2000 fordulat/perc értékkel centrifugáltam 10 percig, és a felülúszót feldolgozásig -70°C-on tároltam. A szérum mintákból béta-karotin, a plazma mintákból pedig béta-hidroxi-vajsav (BHB), nem eszterifikált zsírsav (NEFA) és FRAP (ferric reduction ability of plasma – a szervezet antioxidáns ellátottságára utaló paraméter), tiroxin (T4), trijód-tironin (T3), inzulin és IGF-I koncentrációk kerültek meghatározásra, az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet Élettani és a Szent István Egyetem, Állatorvostudományi Kar, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék laboratóriumaiban.

A BHB és NEFA mérések enzimatiszus módszerrel történtek (D-3-Hydroxybutyrate kit és NEFA kit; Randox Laboratories, Ardmore, UK). A FRAP értékek meghatározása Benzie és Strain (1996) leírása alapján történt. A totál szérum béta-karotin koncentrációt spektrofotométer segítségével, Brubacher és Vuilleumier (1974) leírása alapján mérték, etanolos és petróleum-éteres extrakciót követően.

A plazma T4 és T3 meghatározása 125I-Spec RIA coated tube kitékkel történt (Izotóp Intézet, Budapest). A T4 teszt érzékenysége 1,5 nmol/l, a T3 teszt érzékenysége 0,24 nmol/l volt. Az intra-assay CV 6,4–8,1% között alakult a T4 és 6,0–8,3% a T3 esetében. Az inter-assay CV értékek $\leq 5,8$ és $\leq 6,5\%$ között voltak. A vérplazma inzulin koncentrációját, mint a szabad inzulin mennyiségét, a 125I-vel jelölt radioimmunometric sandwich assay kit (BI-Insulin IRMA kit; CIS Bio International, Gif-Sur-Yvette, Franciaország; érzékenység: 0,423 pmol/L; intra- és inter-assay CV: 1,3-5,6 és $\leq 8,5\%$) segítségével határozták meg. A plazma IGF-I koncentráció meghatározása 125I-vel jelölt IGF-1-RIA CT kittel történt (humán mintákra kifejlesztve, melyet megelőzött az IGF-I extrakciója etanolos sósav oldattal, és semlegesítés (CIS Bio International, Gif-Sur-Yvette, Franciaország; érzékenység: 0,85 $\mu\text{g/L}$; intra- és inter-assay CV: 3,4-6,6 és $\leq 7,0\%$). Mind az inzulin, mind pedig az IGF-I tesztek előzetes validálása megtörtént szarvasmarha plazma és szérum mintákkal. Az egy állattól származó minták egy mérési egységben kerültek meghatározásra, így az inter-assay különbségekből eredő koncentráció-különbségeket kiküszöbölték.

A termékenyítést követő 30. napon a vemhesség vizsgálat, vemhesség-specifikus fehérje (PSPB) meghatározásával történt (BioPRYN® ELISA; BioTracking, Moscow, ID, US; Gábor és mtsai, 2007).

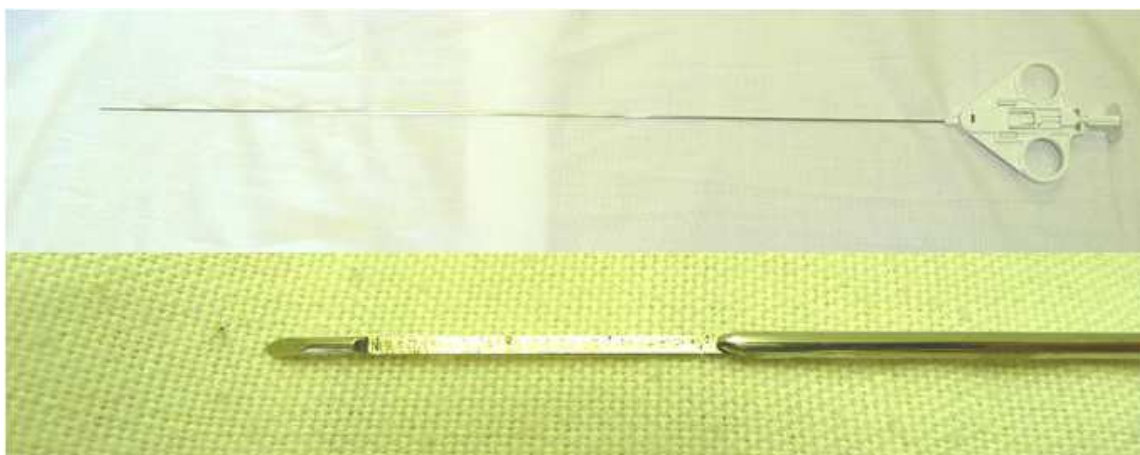
A rektális ultrahang-vizsgálatok során áttekintettem az állatok méhét, illetve petefészkeit. Az állatok petefészkeiről készült ultrahang-felvételeket elmentettem, illetve azokról a vizsgálati lapon feljegyzést készítettem, melyeket később a CATUS adatbázisban rögzítettem. Folyadékkal telt petefészek-képletek közé az alábbi paraméterekkel rendelkező képleteket soroltam (a tüszőt nem vettem ebbe a kategóriába): nem ovulált képletek: 1) átmérő kisebb, mint 2 cm, de fala 1 mm-nél vastagabb, 2) átmérő 2 cm-nél nagyobb, falvastagság több mint 1 mm; ovulált képletek, ezeken felül pedig olyan, ovulációs papillával rendelkező formák, melyekben folyadékkal telt üreg van.

Az eredmények statisztikai értékelését az R programmal végeztük (R: A Language and Environment for Statistical Computing, 2009), ANOVA, lineáris regresszió illetve Wilcoxon-próba módszerekkel.

4.3. A folyadék tartalmú petefészek képletek endokrinológiai és morfológiai jellemzői

4.4.1. Biopsziás és aspirációs vizsgálatok (Állatkísérlet engedély száma: 22.1/4247/003/2008)

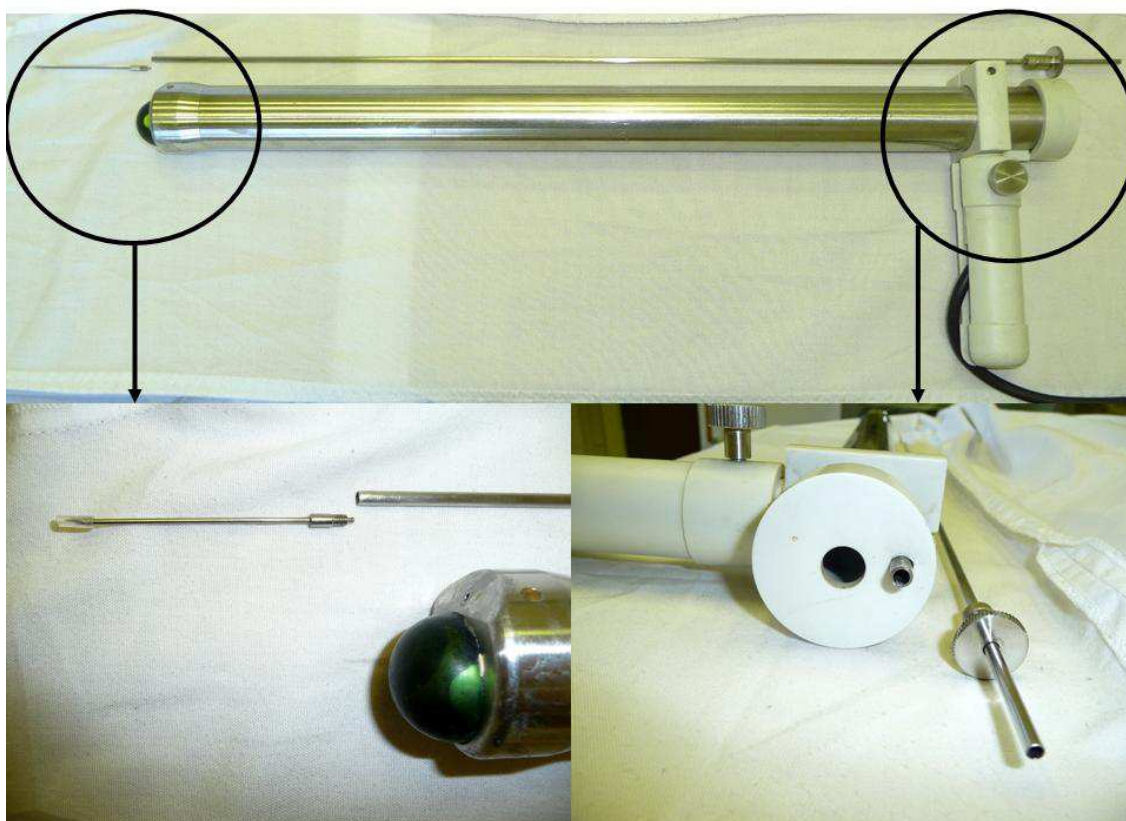
Munkatervemben szerepelt rutin-szerűen végzett biopsziás mintavétel, melyek elvégzése előtt célunk volt vágóhídi minták segítségével a megfelelő eljárás kidolgozása a folyadékkal telt petefészek képletek (FTPK) aspirációs illetve biopsziás mintavételére vonatkozóan. Vágóhídról származó petefészekből, átalakított humán biopsziás mintavevő eszközzel (Cook® Quick-core®, Spencer, USA; 4. ábra) 18, 16 és 14 G vastagságú tűkkel 2-2 mintát vettem ovulált képletekből, melyeket a későbbiekben részletesen ismertetett rutin szövettani eljárással dolgoztam fel, majd összehasonlítottam az ugyanezekből a képletekből készített autopsziás minták szövettani képével. A biopsziával nyert minták azonban nem adtak kielégítő információt a képletek rétegződéséről, pontos szövettani felépítéséről, így a biopsziás mintavétel lehetőségét a későbbiekben el kellett vetnem.



4. ábra: Az átalakított biopsziás mintavevő, 16G vastagságú biopsziás tűvel.

A vágóhídi vizsgálatok során 18G tű és 10 ml-es fecskendő segítségével aspiráltuk a FTPK üregében levő folyadékot (n=15). Egy tejtermelő üzemből 11 termelő, nagytejű tehénből helyi érzéstelenítést követően (lidocain tartalmú spray /Lidocain 10% spray, EGIS Gyógyszertár Rt./ az érintett hüvelyfalra juttatva, majd Lidocain injekcióval /Lidocain 1% injekció, EGIS Gyógyszertár Rt./ a terület beszűrése) speciális mintavevő szerkezet és 5-7,5 MHz váltófrekvenciás mechanikus szektor-vizsgálófejjel ellátott ultrahang (Scanner 100, Pie Medical, Maastricht, Hollandia), valamint 16G-s 65 cm hosszúságú tű segítségével vettünk mintát a folyadéktartalmú petefészek képletekből (5. ábra). Mivel az eszköz ilyen formában egyszerre csak egy mintavételre volt alkalmas, ezért egy egyszerhasználatos, 1 mm belső átmérőjű szilikonsőt fűztünk be a tűvezető fémrészbe illetve a tűbe és azon keresztül szintén egyszer használatos 20 ml-es fecskendővel aspiráltuk a mintákat. Az in vivo

mintavételekkel párhuzamosan az állatok farokvénájából vért vettem szérumszűrésebe, melyet az aspirációval nyert mintákkal együtt dolgoztam fel.



5. ábra: Az aspirációs mintavételre alkalmazott mintavevő eszköz (balra lent: mikrokonvex szektor fej illetve felette a tüvezető fémrész vége és az alkalmazott, cserélhető tű; jobbra lent: a tüvezető csatorna és a tüvezető fémrész)

Az aspirációs mintákból NEFA, P4 és E2 koncentrációt határoztuk meg. A NEFA koncentrációk meghatározása enzimatis módszerrel történt (NEFA kit; Randox Laboratories, Ardmore, UK). Az aspirációs mintavételeket megelőzően vágóhídi mintákból másodlagos, harmadlagos és domináns tüszőkből validáltuk a P4 és E2 méréseket. Az aspirációs mintavételezéseket EDTA-val kezelt csövekbe végeztem, a vérvétel szérumszűrésebe történt, majd a mintákat 2000 fordulat/perc értéken 10 percig centrifugáltam, és a felülúszót feldolgozásig -70°C-on tároltam. A NEFA értékek meghatározása az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet Élettani laboratóriumában, a P4 és E2 mérések a SZIE-Állatorvostudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika laboratóriumaiban történtek. Az E2 kimutatását a következő módszerrel végezték: A mintákat abszolút alkoholban 1:10 arányban hígították, majd 5 ml dietil-éterrel összekeverték, és egy órára -50°C-on tárolták. Ezt követően a felülúszót leöntötték, majd Binder készülékbe helyezték. A bepárlás után 600 µl zselatinos ASB puffert adtak hozzá. A következő lépésben antitest oldatot (1:50 arányú hígítás pufferrel), majd standard sort

készítettek (Total, NSB, Bo, Standard, Minta és Kontrol) 2 ml puffer és 20 µl ösztrogén oldat kiindulási keverékéből. A standard sor összetétele a következő volt: Total: 600 µl puffer, 100µl isotop; NSB: 300 µl puffer, 100 µl isotop, 300 µl dextrán bevonat; Bo: 200 µl puffer, 100 µl antitest, 100 µl isotop, 300 µl dextrán bevonat; Standard: 500 µl standard oldat, 100 µl antitest, 100 µl isotop, 300 µl dextrán bevonat; Minta: 200 µl a puffer, 20 µl minta, melyet 56°C-on 1 órán keresztül inkubáltak.

Ezek mellett régebbi, plazmából nyert kontrol oldatokat is készítettek.

1. cső: alacsony E2 koncentrációjú cső: 200 µl puffer és 20 µl ismert, alacsony hormon koncentrációjú plazma.

2. cső: 200 µl puffer, 20 µl ismert, közepes hormon koncentrációjú plazma.

3. cső: 200 µl puffer és 20 µl ismert, magas hormon koncentrációjú plazma.

100 µl hígított ösztrogén minta és 100 µl antitest került minden csőbe, kivéve a Total és NSB tartalmúakat. Az így elkészített csöveket egy éjszakára +4°C-on hűtőben tárolták.

Az eltelt idő után minden csőbe, kivéve a Total-ba bemértek 300 µl szénoldatot (nem kötött antitestek kötése), 15 percig 4°C-on inkubálták, majd 3000/perces fordulaton 15 percig centrifugálták. Az így nyert felülúszót küvettákba töltötték, majd minden küvettához 5 ml scintillációs folyadékot adtak. Ezután a küvettákat sötétben tárolták 6 órán keresztül, majd Beckman spektrométerrel mérték az E2-koncentrációt.

A P4 koncentráció mérése hasonló módon történt a mintákból, csak ebben az esetben nem történt bepárlás, és 200 µl progeszteronnal készült a standard sor.

Az eredmények összehasonlítása ANOVA statisztikai módszerrel történt.

4.4.2. Morfológiai (ultrahangos-, makro- és mikroszkópos) vizsgálatok

A vizsgálatra került petefészek (n=90) vágóhídról, ismeretlen telepekről és állatoktól származtak (2008. július és 2011. december között). Az állatok levágását követő 4 órán belül azok feldolgozásra kerültek. Az *in vitro* ultrahangos vizsgálathoz egy mély tálat megtöltöttem vízzel, majd Tringa linear típusú, váltófrekvenciás (6-8 MHz) lineáris fejjel ellátott ultrahang készülékkel (Pie Medical, Maastricht, Hollandia), a vizsgálófejet ultrahang-géllal feltöltött kesztyűbe helyezve a víz alatt helyeztem rá a petefészkekre a transzducert. Így megfelelő kontaktus biztosítható és minimalizálhatók a képhibák. Az ultrahang segítségével képeket mentettem el annak memóriájába, majd ezeket a számítógépre letöltve, később elemeztem (a képletek méreteinek felvétele). Az ovulált képletek esetében a képlet teljes átmérője, az üreg átmérője és a falvastagság adatainak segítségével kiszámoltam azok luteinszövet-tartalmát is (gömb űrtartalma= $\frac{4}{3} \times \pi \times \text{sugár}^3$). Ezt követően digitális fényképeket készítettem a petefészkeken talált képletekről, végül azokat 4%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltam. A petefészkeken talált, folyadékkal telt képleteket (a tüszők kivételével –

teljes átmérő kisebb, mint 2 cm, faluk 1 mm-nél keskenyebb; Singh és Adams 2000) a teljes átmérő, üreg átmérő illetve falvastagságok alapján csoportosítottam (2. táblázat). Az ovulációt követően kialakuló, folyadéktartalmú képletek sejttöszetételének objektív elemzéséhez kontrollként négy, ismeretlen korú sárgatestet is feldolgoztam.

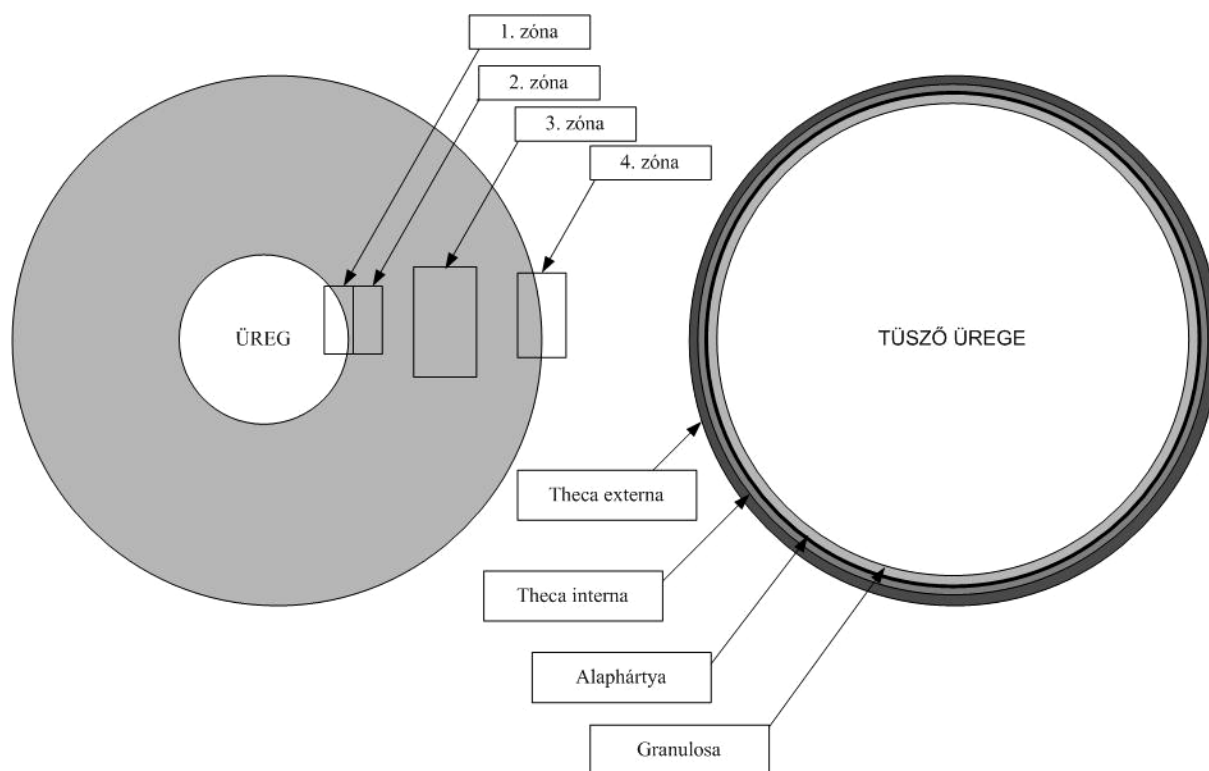
2. táblázat: A vizsgálatra került folyadéktartalmú petefészek-képletek csoportosítása

	Csoportok	Képletek száma	Teljes átmérő	Üreg átmérő	Falvastagság
OVULÁCIÓS KÉPLETEK	A	n=6	>1,6 cm	<1 cm	>10 mm
	B	n=4	>1,6 cm	>1 cm	<10 mm
ANOVULÁCIÓS KÉPLETEK	C	n=8	<2 cm		1-3 mm
	D	n=5	>2 cm		<3 mm
	E	n=4	>2 cm		>3 mm

A szövettani metszetek a Szent István Egyetem Anatómiai és Szövettani Tanszékén készültek. Paraffinos beágyazást követően a metszeteket hematoxillin-eosin, Azan-kék és Gömöri-féle ezüst impregnációval festették (Krutsay 1980). Az ezüst impregnáció első lépéseként a paraffinos metszeteket kálium-permanganáttal oxidálták, majd csapvizes öblítést követően kálium-metabiszulfittal víztelenítették. Desztillált vizes kimosást követően vastimsó oldattal pácolták, majd ismételt csapvizes kimosás után desztillált vízzel kétszer öblítették. A készítmények impregnálása ezüst-nitrát oldattal történt, majd gyors leöblítést követően 5-10%-os csapvízzel redukálták. Csapvizes mosás után 10 percet arany-kolloid oldatba helyezték a preparátumokat, majd desztillált vízzel öblítették. Az így elkészült metszeteket kálium-metabiszulfitos redukálást követően végül nátrium-tiosulfátban fixálták. Fénymikroszkóp segítségével (Olympus BX61, Olympus Europa Holding GmbH, Hamburg, Germany) az ovulációs és anovulációs képletekből készült metszeteket rétegenként elemeztem 100, 200 és 400X nagyításokkal (6. ábra). Az ovulációs képletek esetén a kis- és nagy lutein sejtek, fibroblasztok/fibrociták és piknotikus sejtek számát 200X nagyítás mellett, tíz mikroszkópos látótérben határoztam meg, speciális szoftver segítségével (CellID, Soft Imaging GmbH, Münster, Németország), valamint a képletekben talált üreget körülvevő kötőszövetes réteg vastagságát szintén ennek a használatával mértem (20 ponton, 200X

nagyításnál, tíz mikroszkópos látótérben). A luteális sejteket O'Shea és mtsai (1989) és Smith és mtsai (1994) leírása alapján különítettem el. A nagy lutein sejtek nagyméretű sejtek világos, habos citoplazmával, szférikusan elhelyezkedő, nagy sejtmaggal, prominens sejtmagvacskával (teljes átmérő nagyobb, mint $20\text{ }\mu\text{m}$, sejtmag átmérő nagyobb, mint $10\text{ }\mu\text{m}$). A kis lutein sejtek kisebbek, sötétebb, de szintén habos citoplazmával, kisebb, de szintén eukromatin sejtmaggal (teljes átmérő $20\text{ }\mu\text{m}$ -nél kisebb, sejtmag átmérő $10\text{ }\mu\text{m}$ -nél kisebb). A fibroblasztok/fibrociták hengeres sejtek sötét, szintén hengeres sejtmaggal. Minden olyan egyéb sejtet, melynek sejtmagja sötétre festődött, tömörült volt és a citoplazma is sötét volt, piknotikus sejtneként azonosítottam.

Az ovulációs képletek között a luteinszövet-tartalom és a sejtek száma közötti különbségek kimutatására ANOVA-t használtunk. A csoportok közötti különbségek esetén ($P < 0,05$) azok beazonosítása a legkisebb szignifikáns különbség tesztel (LSD) történt. Minden sejt-kategóriánál azok százalékos előfordulását is értékeltük (amennyiben az arány $0,1$ -nél kisebb volt, arkusz szinusz transzformációt végeztünk és a transzformált adatokkal dolgoztunk). Az A és B csoport között a kötőszövet vastagságára vonatkozó értékeket Student t-tesztel elemeztük. Szignifikánsnak a $P < 0,05$ értékeket tekintettük. A statisztikai értékelések a SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA) és az R szoftverek segítségével történtek (R: A Language and Environment for Statistical Computing", 2009).



6. ábra: Az ovulációs (balra) és anovulációs (jobbra) képletek szövettani rétegződése, mint a vizsgálat alapja

5. Eredmények

5.1. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága egy magyar átlagnál magasabb tejtermelésű tehenészetben 2008-2011

5.1.1. Ellést követően vizsgált tehenek

Az ellést követő 40-53 napban összesen 515, a telepi gyakorlat alapján 30-36. napon Provsynch protokoll szerint kezelt tehenet vizsgáltunk meg 2008. január és 2011. december között. Folyadékkal telt petefészek-képletet (FTPK) 194 esetben diagnosztizáltunk (30,1%), melyek közül 104 anovulációs (53,6%) és 90 ovulációs képletnek bizonyult (46,4%; 3. táblázat). Az állatok tejtermelésére illetve kondíciójára vonatkozó adatok a 4. táblázatban láthatók.

3. táblázat: Az ellést követően vizsgált tehenek eredményei

Ellés után	db	%
összes vizsgált állat	515	
FTPK	194	30,1%
ebből anovulációs képlet	104	53,6%
ebből ovulációs képlet	90	46,4%

4. táblázat: Az ellést követően vizsgált tehenek átlagos tejtermelése és kondíciója vizsgálati kategóriánként

Ellés után	átlagos tejtermelés (kg/nap)	átlagos kondíció
nincs FTPK	32	2,8
FTPK	32,5	2,8
anovulációs képletek	34,1	2,7
ovulációs képletek	32,6	2,8

A statisztikai elemzések során a tejtermelésnek illetve kondíció-pontszámoknak nem volt kimutatható hatása a FTPK-ek előfordulására, sem pedig az ovulációs illetve anovulációs képletek előfordulási gyakoriságára.

5.1.2. Termékenyítést követően vizsgált üszők

A termékenyítéseket követő 28-50 nap között összesen 796 üsző vemhességvizsgálatára került sor. Vemhesnek 484 állat bizonyult (60,8%). Az üres üszők között összesen 92 állatban találtunk FTPK-t (29,5%), 29 anovulációs (31,5%) és 63 ovulációs képletet (68,5%; 5. táblázat). A vemhes állatok között az FTPK jelzés minden esetben ovulációs képletet takar

(a vemhességi sárgatest nem volt homogén). A 484 vemhes üszőből 4 esetben (0,8%) valamilyen folyadéktartalmú sárgatest tartotta fent a vemhességet. A magzatvesztés az ovulált, folyadéktartalmú petefészek képlet által fenntartott 4 vemhesség esetében történt (25%). A termékenyítést követően üres üszők esetében az ovulációs képletek szignifikánsan nagyobb arányban fordulnak elő ($P=0,006$), mint az anovulációs képletek.

5.1.3. Termékenyítést követően vizsgált tehenek

A termékenyítéseket követő 28-50. nap között összesen 3226 tehénél végeztünk vemhességvizsgálatot. Vemhesnek összesen 1399 tehén bizonyult (43,4%). Az üres tehenek között összesen 687 tehénél láttam FTPK-t (37,6%), melyből 316 anovulációs (46%), 371 ovulációs képlet volt (54%; 5. táblázat). A vemhes tehenek között 30 esetben (2,1%) nem homogén sárgatest tartotta fent a vemhességet, a magzatvesztés 5 állat esetében következett be (16,7%).

A termékenyítést követően vizsgált üres tehenekben szignifikánsan gyakoribbak voltak a FTPK-k, mint az üres üszők esetében ($P=0,006$). Az üres tehenek között azonban gyakrabban alakult ki anovulációs képlet ($P=0,01$), míg az üres üszők esetében gyakoribb volt az ovulációs képlet ($P=0,01$).

5. táblázat: A termékenyítés után vizsgált üszők és tehenek eredményei (a különböző betűk a statisztikailag szignifikáns eltéréseket jelölik - $P \leq 0,01$)

		ÜSZÖK		TEHENEK	
Termékenyítés után		db	%	db	%
ÜRES ÁLLATOK	összes vizsgált állat	312		1827	
	FTPK	92	29,5% ^{AB}	687	37,6% ^C
	ebből anovulációs képlet	29	31,5% ^A	316	46,0% ^B
	ebből ovulációs képlet	63	68,5% ^B	371	54,0%
VEMHES ÁLLATOK	összes vizsgált állat	484		1399	
	FTPK	4	0,8%	30	2,1%
	magzatvesztés	1	25,0%	5	16,7%

Az üres illetve vemhes tehenek esetében az átlagos tejtermelés illetve kondíció közötti különbségek csoportonként a 6. táblázatban láthatók. A tejtermelésnek illetve kondíció-pontszámának az üres tehenek esetében nem volt szignifikáns hatása a képletek előfordulására.

Az ovulált képletek mellett bekövetkező magzatvesztések arányában, tehenek illetve üszők között nem volt statisztikailag igazolható különbség ($P=0,686$).

6. táblázat: A termékenyítést követően vizsgált tehenek átlagos tejtermelése és kondíciója csoportonként.

Termékenyítés után		átlagos tejtermelés (kg/nap)	átlagos kondíció
ÜRES TEHENEK	nincs FTPK	31	2,9
	FTPK	31,5	3
	anovulációs képletek	31,9	3
	ovulációs képletek	31,3	3
VEMHES TEHENEK	nincs FTPK	30,5	3
	FTPK	30	3

A tejtermelés/kondíció és a FTPK-k előfordulása és típusainak megoszlása között nem volt kimutatható statisztikai összefüggés. Az ellést követően és termékenyítés után vizsgált tehenek között nem volt különbség a FTPK-k kialakulásában, sem pedig az ovulációs és anovulációs képletek megoszlásában.

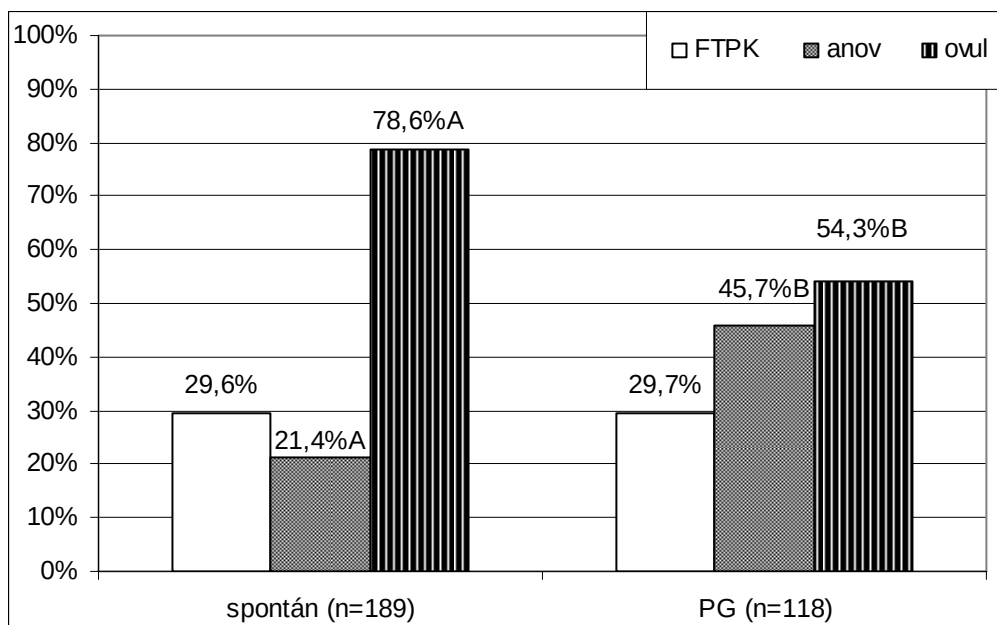
5.1.3. Különböző petefészek-kezeléseket követően termékenyített üszők illetve tehenek

Spontán ivarzást követően 189 üsző bizonyult üresnek, melyek között 56 esetben találtam FTPK-t (29,6%; 12 anovulációs /21,4%/ és 44 ovulációs képlet /78,6%/). Prostaglandin kezelést (PG) követően nem vemhesült 118 üsző között 35 FTPK-t diagnosztizáltunk (29,7%; 16 anovulációs /45,7%/ és 19 ovulációs képlet /54,3%/; 7. ábra). A spontán ivarzást, illetve PG kezelést követően üresen maradt üszőkben a FTPK-k ugyanolyan arányban alakultak ki, de PG kezelést követően üres üszőkben szignifikánsan több anovulációs képletet láttunk ($P=0,02$). Spontán ivarzást követően üresnek diagnosztizált üszőkben szignifikánsan több ovulációs képlet volt jelen ($P=0,02$).

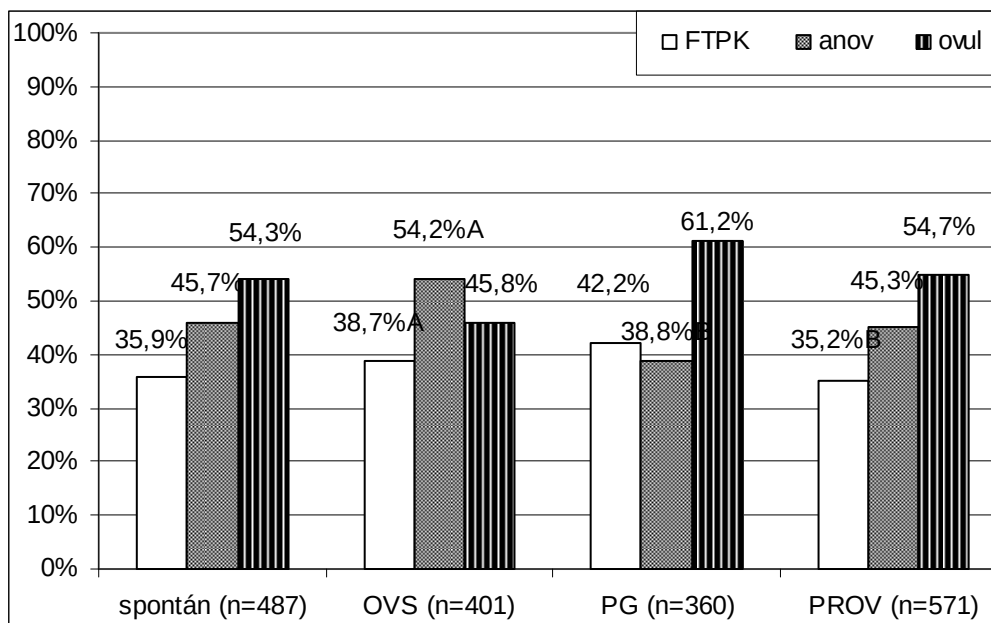
A spontán ivarzást követően nem vemhesült tehenekben 175 esetben láttam FTPK-t (35,9%; 80 anovulációs /45,7%/ és 95 ovulációs képlet /54,3%/). PG kezelést követően nem vemhesült tehenek között az FTPK előfordulási aránya 42,2% volt (152 képlet; 59 anovulációs /38,8%/ és 93 ovulációs képlet /61,2%/). Ovsynch protokollt követően termékenyített 401 üres tehénből 155 esetben találtunk FTPK-t (38,7%; 84 anovulációs /54,2%/ és 71 ovulációs képlet /45,8%/). A Provsynch protokollt követően üres tehenek között 201 esetben fordult elő FTPK (35,2%; 91 anovulációs /45,3%/ és 110 ovulációs képlet /54,7%/; 8. ábra).

A statisztikai elemzés nem mutatott különbséget a spontán ivarzást követően üres illetve a valamilyen kezelést követően üres tehenekben talált FTPK-k gyakorisága között. Ovsynch kezelést követően szignifikánsan magasabb volt az anovulációs képletek előfordulása, mint PG kezelést követően ($P=0,007$). PG kezelést követően nem vemhesült tehenekben sziginifikánsan több FTPK fordult elő ($P=0,032$), mint Provsynch kezelést követően üresen maradt társaikban.

Az üszők és a tehenek adatait összehasonlítva látható, hogy a spontán ivarzást követő sikertelen termékenyítések esetében üszőkben több az ovulációs, tehenekben az anovulációs képlet ($P=0,001$). PG kezelést követő, sikertelen termékenyítés esetén nagyobb arányban alakultak ki FTPK-k a tehenek, mint az üszők között ($P=0,015$).



7. ábra: A spontán ivarzást és PG kezelést követően termékenyített, üres üszőkre vonatkozó adatok (a különböző betűk a statisztikailag szignifikáns eltéréseket jelölik - $P \leq 0,01$)



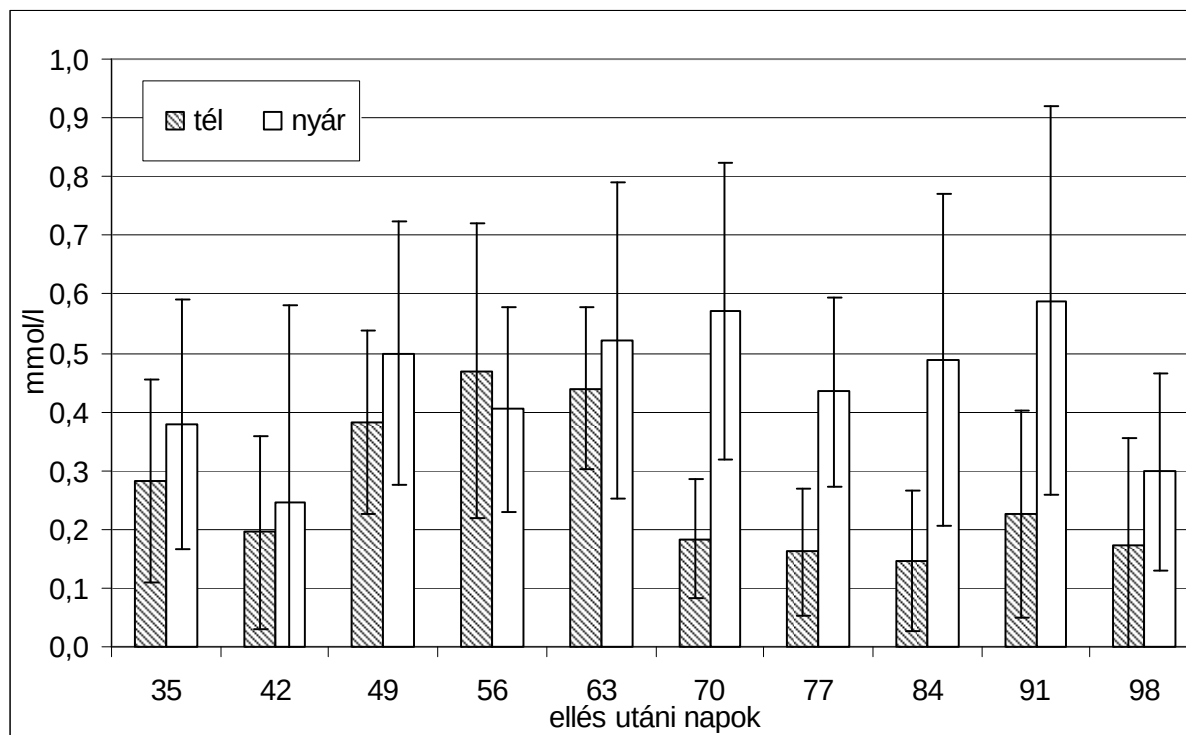
8. ábra: A spontán ivarzást és OVS, PG valamint PROV alkalmazását követően termékenyített, üres tehenekre vonatkozó adatok (a különböző betűk a statisztikailag szignifikáns eltéréseket jelölik - $P \leq 0,01$)

5.2. Szezonális fertilitási különbségek tejelő tehenekben – ultrahangos, metabolikus és endokrinológiai vizsgálatok

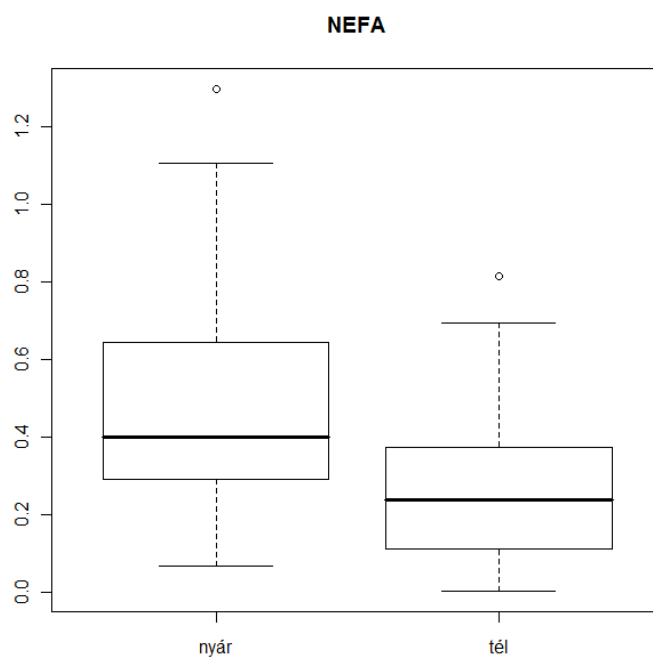
A nyári kísérlet során a 10 állatból 2-t ki kellett zárni a vizsgálatokból méhproblémák miatt. A vizsgálati időszak végén egy állat sem vemhesült. A 8 tehénből 6-nál történt ovuláció, valamilyen FTPK 6 állatnál alakult ki (75%): 5 ovulációs és 1 anovulációs képletet találtam a termékenyítést követő 2 héten belül. A téli időszakban 1 tehenet kellett méhproblémák miatt kizárni a kísérletből. A 9 termékenyített tehénből 6 vemhesült (66,7%). A télen termékenyített 9 tehénből 7-nél történt ovuláció, és 2 állatnál detektáltam FTPK-t (22,2 %): egy ovulációs és egy anovulációs képletet a termékenyítéseket követő 8 napon belül.

A vizsgált tehenek átlagos kondíció pontszáma 2,73 volt nyáron és 2,94 télen (különbség 7,2%).

A nyári kísérleti időszak kezdetén (vagyis az ellést követő 35. napon) az átlagos plazma NEFA koncentrációk közel voltak az élettani felső határhoz ($<0,4$ mmol/l), majd csökkentek az ellést követő (PP) 42. napra, a 49, 63 és 70. napokon viszont kiugró értékek láthatók. A 91. napon (nagyjából 21 nappal a termékenyítéseket követően) az átlagos NEFA plazma koncentráció ismét kiugróan magas volt (9. ábra). A téli időszakban az átlagos plazma NEFA koncentráció 0,28 mmol/l volt az első vizsgálat alkalmával (PP 35. nap), a 42. napra csökkent, majd lassú emelkedést mutatott az 56. napig (legmagasabb átlagos koncentráció 0,47 mmol/l volt). A termékenyítéseket követően a plazma NEFA koncentrációk az élettani határon belül alakultak. Télen az elléstől eltelt idővel párhuzamosan a plazma NEFA koncentrációk csökkentek ($P=0,0255$). A nyáron mért plazma NEFA koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak a télen mért értékeknél ($P<0,0001$; 10. ábra).



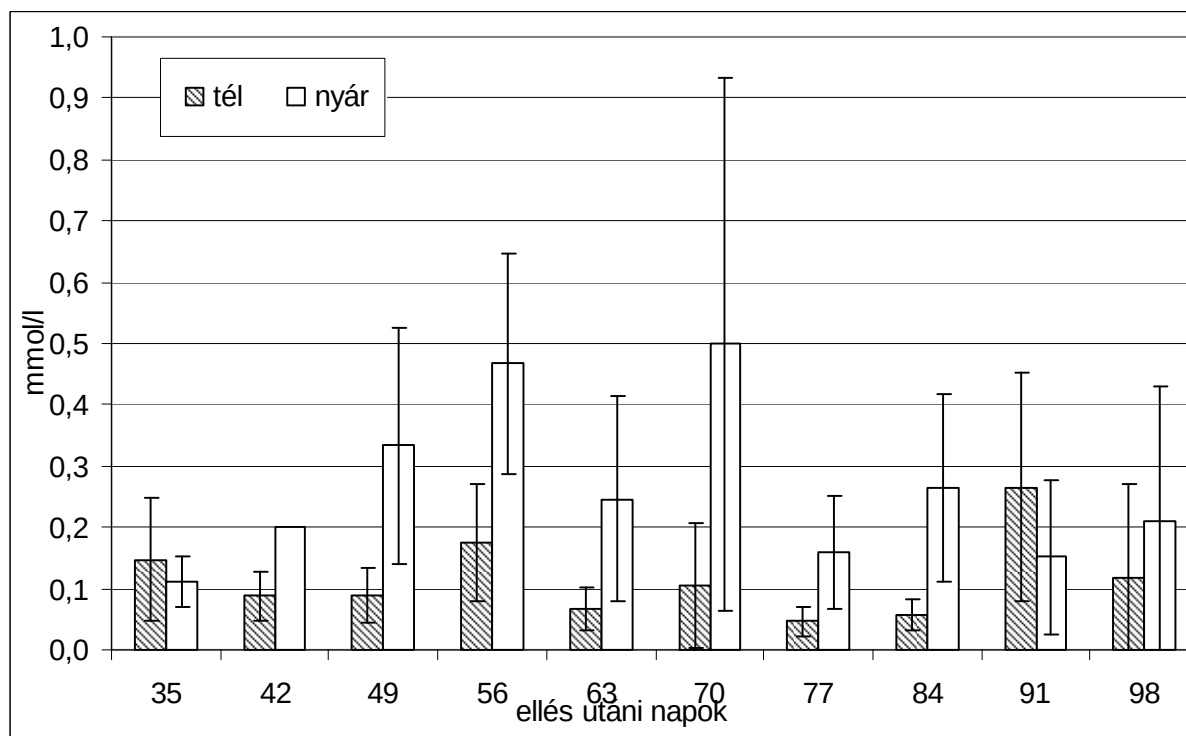
9. ábra: A plazma NEFA koncentrációk alakulása (átlag és szórás) télen illetve nyáron



10. ábra: A plazma NEFA koncentrációk (mmol/l) közötti különbség nyáron illetve télen

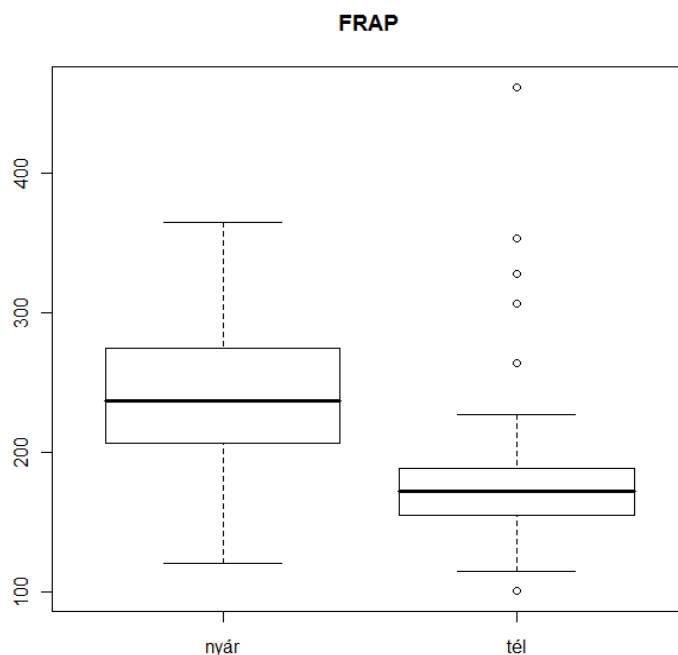
Az átlagos plazma BHB koncentrációk nyáron periodikus hullámzást mutattak, hasonlóan a plazma NEFA koncentrációkhoz, de nem haladták meg az élettani határértéket (<0,8 mmol/l). A téli kísérleti időszakban szintén folyamatosan az élettani határértéken belül voltak

(11. ábra). A plazma BHB koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak nyáron, mint télen ($P < 0,0005$).



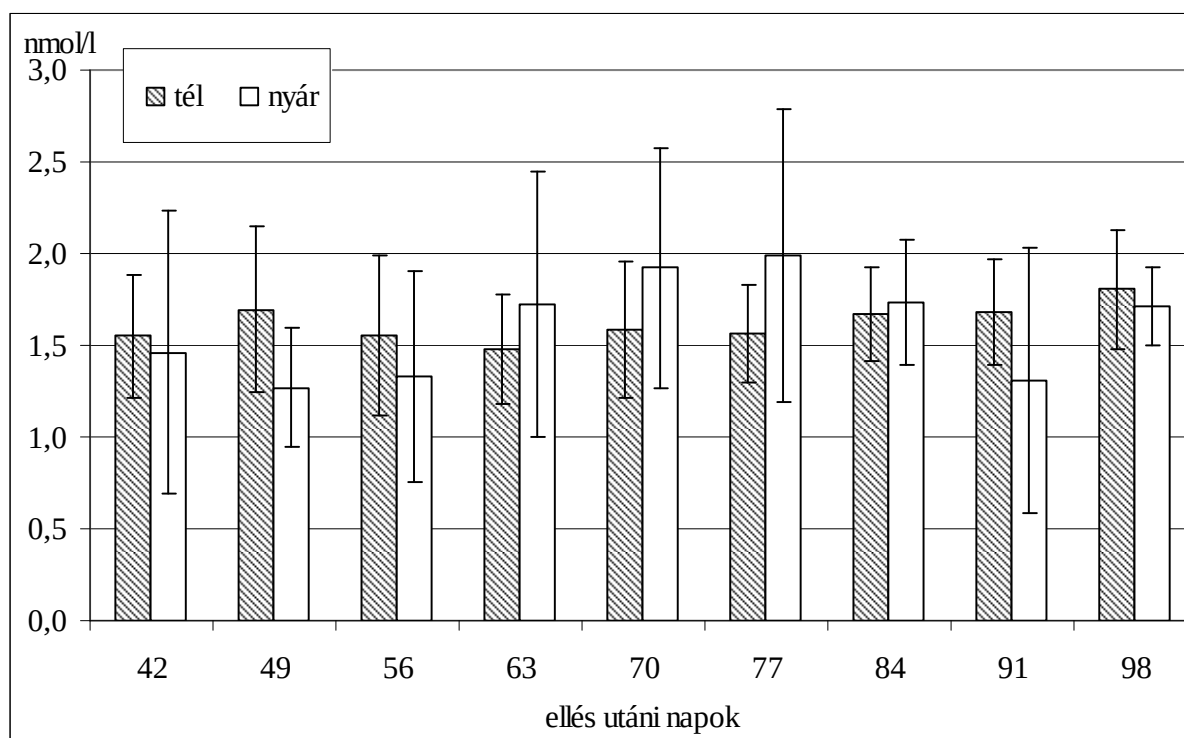
11. ábra: A plazma BHB koncentrációk alakulása (átlag és szórás) télen illetve nyáron

Az átlagos FRAP és béta-karotin plazma illetve szérum-koncentrációk az élettani értékhatáron belül voltak mind a nyári, mind pedig a téli időszakban. Az átlagos FRAP plazma koncentrációk magasabbak voltak nyáron, mint télen ($P < 0,0001$; 12. ábra), és az ellést követően szignifikáns emelkedést mutattak nyáron ($P < 0,0001$), illetve csökkenést télen ($P < 0,0001$).

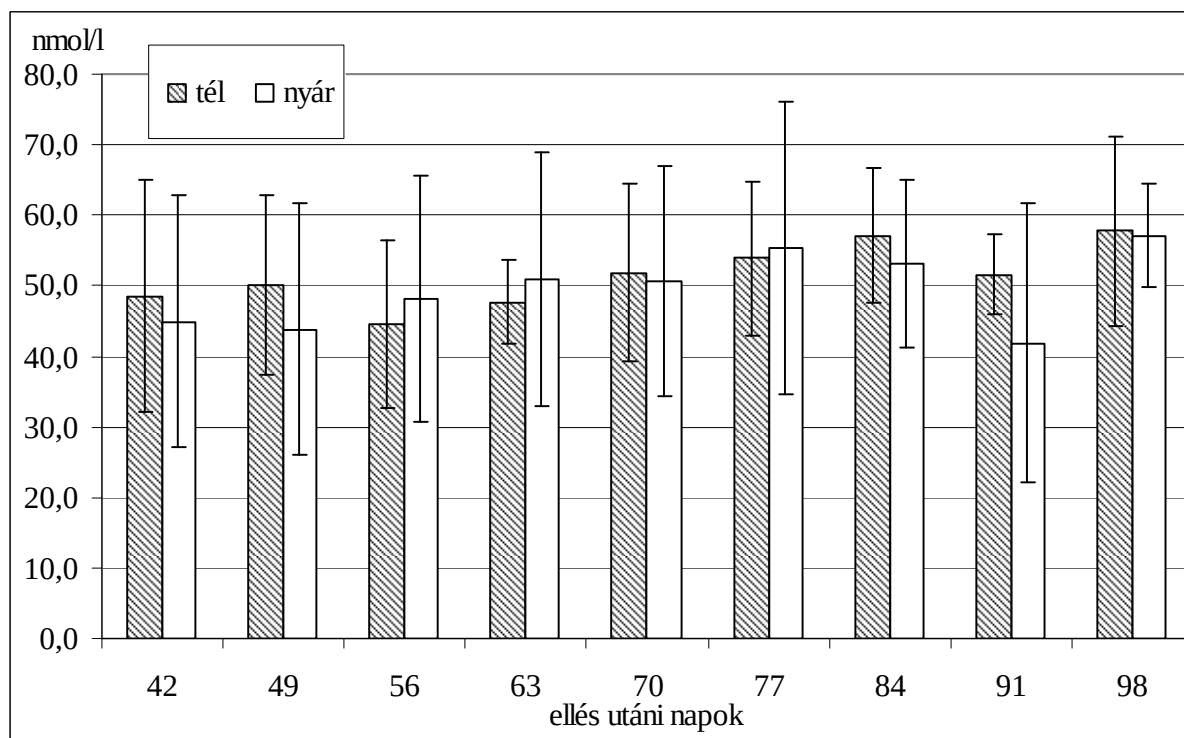


12. ábra: A plazma FRAP koncentrációk ($\mu\text{mol/l}$) közötti különbség nyáron illetve télen

Nyáron az átlagos plazma T3 értékek 1,3 nmol/l (PP 49. nap) és 2,0 nmol/l (PP 77. nap) között alakultak, míg télen a legmagasabb plazma koncentráció a 98. napon látható (1,8 nmol/l). A nyári vizsgálati időszakban az átlagos plazma T4 koncentrációk 41,9 nmol/l és 57,1 nmol/l között voltak. Télen a 84. napon volt mérhető a legmagasabb T4 plazma koncentráció (57,2 nmol/l). A plazma T4 koncentrációk az ellést követően mindkét időszakban csökkenést mutattak ($P < 0,0001$). A téli és nyári időszakokban a plazma T3 és T4 koncentrációk nem különböztek (13. és 14. ábrák).



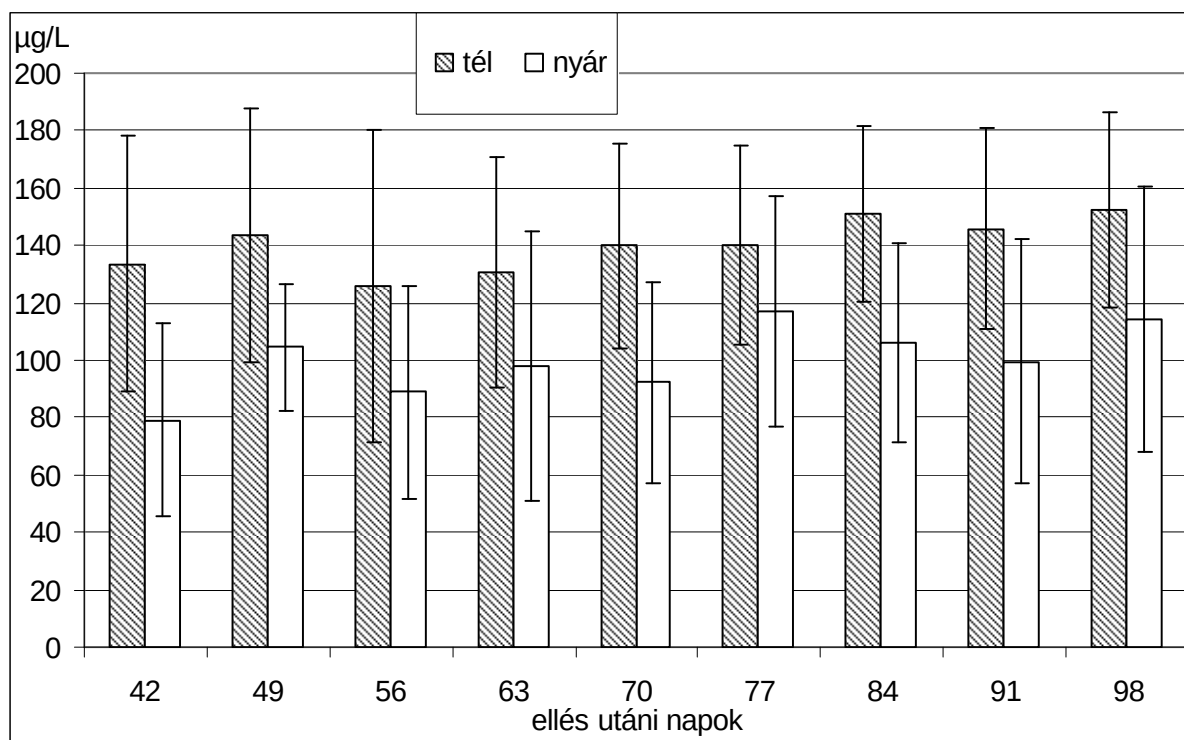
13. ábra: A plazma T3 koncentrációk alakulása (átlag és szórás) télen illetve nyáron



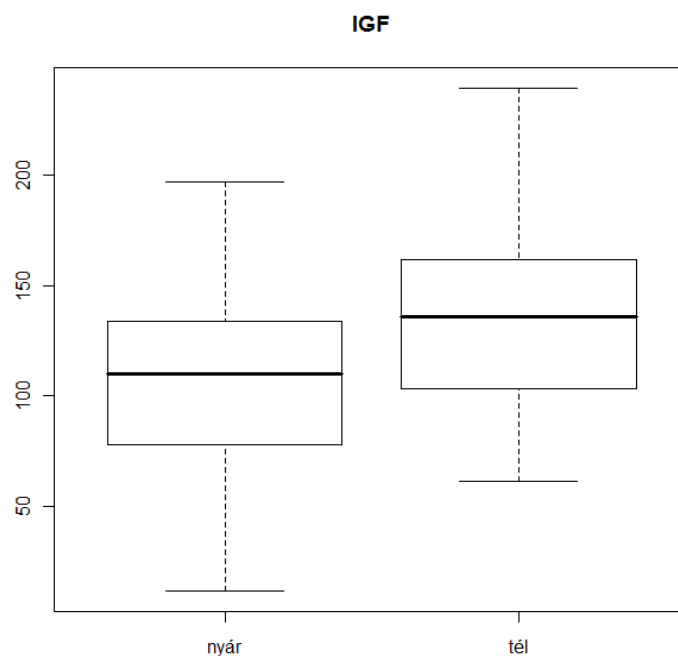
14. ábra: A plazma T4 koncentrációk alakulása (átlag és szórás) télen illetve nyáron

A PP 42. napon az átlagos IGF-I plazma koncentráció 79,12 $\mu\text{g/L}$ volt a nyári időszakban, amely aztán periodikusan változott 80 és 120 $\mu\text{g/L}$ között. A téli időszakban az átlagos plazma IGF-I koncentrációk 122,4 és 152,4 $\mu\text{g/L}$ értékek között változtak (a PP 35. és 98.

nap között; 15. ábra). Télen szignifikánsan magasabb plazma IGF-I koncentrációkat mértem ($P < 0,0001$; 16. ábra).

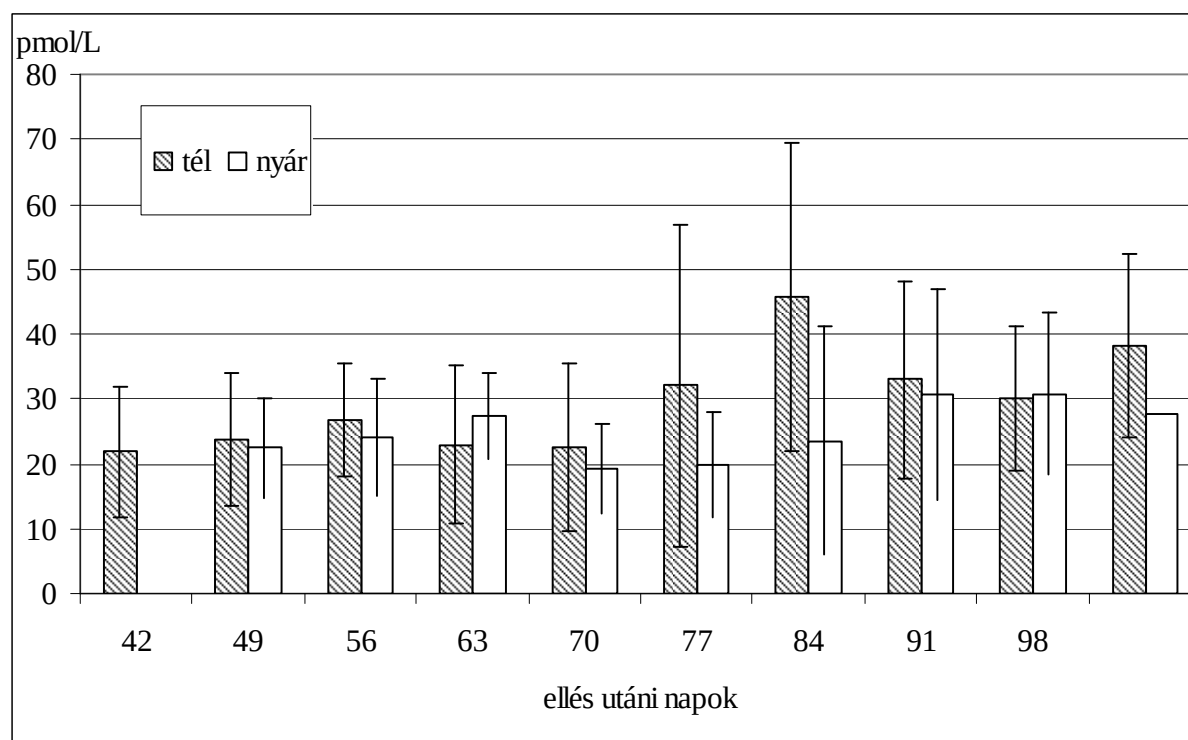


15. ábra: A plazma IGF-I koncentrációk alakulása (átlag és szórás) télen illetve nyáron



16. ábra: A plazma IGF koncentrációk (µg/L) közötti különbség nyáron illetve télen

A legmagasabb átlagos plazma inzulin koncentráció nyáron 30,8 pmol/L (PP 91. nap), télen 45,7 pmol/L volt (PP 77. nap; 17. ábra). A két időszakban mért értékek között nem volt szignifikáns különbség, de az ellést követően mindkét időszakban szignifikánsan emelkedtek a plazma inzulin koncentrációk ($P < 0,0001$).



17. ábra: A plazma inzulin koncentrációk alakulása (átlag és szórás) nyáron illetve télen

5.3. A folyadéktartalmú petefészek-képletek endokrinológiai és morfológiai jellemzői

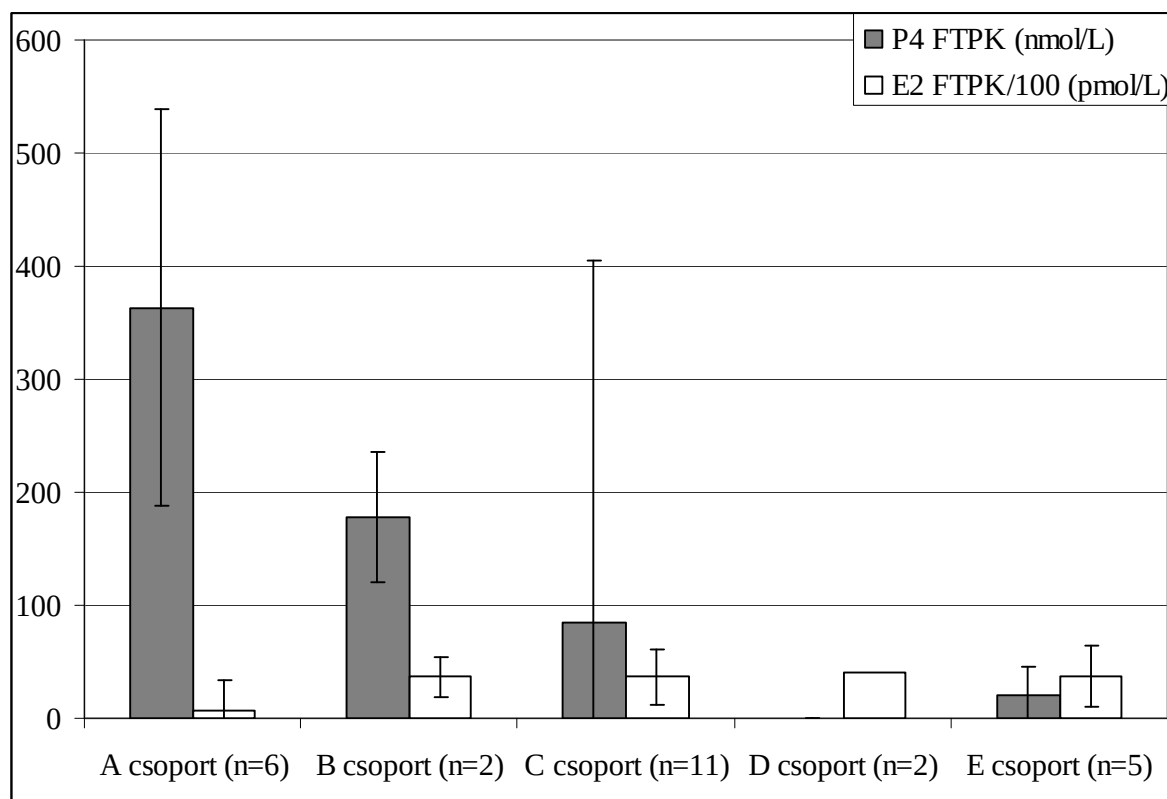
5.3.1. Biopsziás vizsgálatok

A biopsziával nyert minták még a lehető legvastagabb (14G) mintavevő tűvel sem eredményeztek akkora összefüggő szövetállományt, amely kielégítő – az autopsziás mintákkal szinte azonos értékű – információkkal szolgált volna a képletek rétegződéséről, pontos szövettani felépítéséről, így a biopsziás mintavételek értékelése nem volt kivitelezhető.

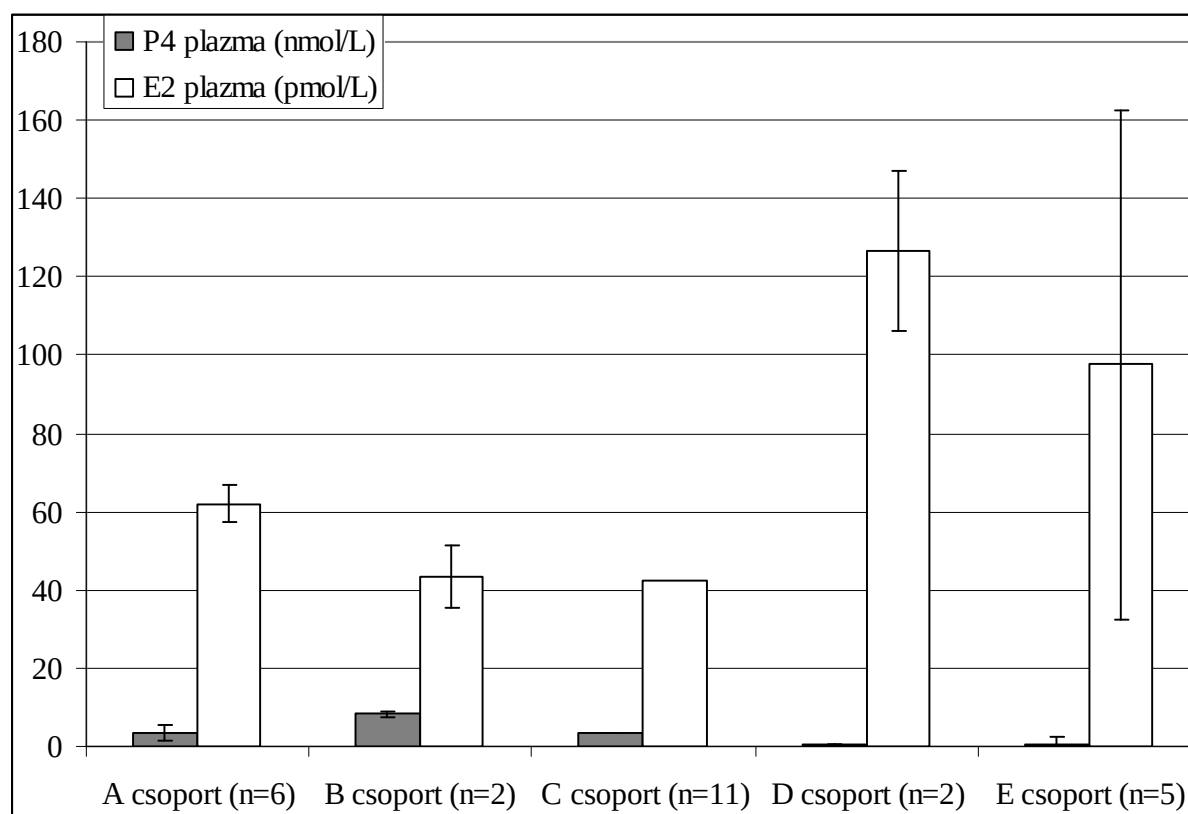
5.3.2. Aspirációs vizsgálatok

Vágóhídról származó petefészekből (a validáláshoz szükséges tüszőkön kívül) összesen 15 képletet, *in vivo* 11 képlet folyadék-tartalmát aspiráltam. Néhány esetben a minta mennyisége nem volt elegendő az összes vizsgálathoz.

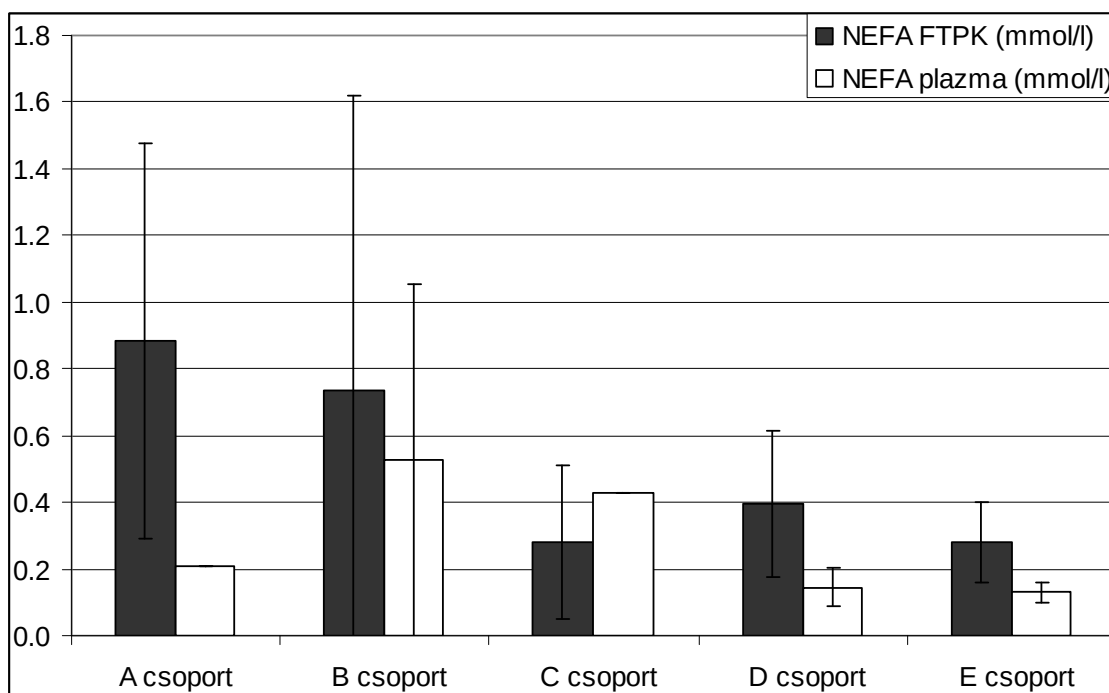
Az eredmények között több szélsőséges érték is található. Az petefészek-képletek közül az aspirált folyadékban a P4 koncentrációk legmagasabb mediánja az A csoportban, a legalacsonyabb a D csoportban volt (a D csoport képleteiből nyert aspirátum P4 koncentrációjának mediánja 0,67 nmol/l volt, ami a 18. ábrán az y tengely skálája miatt szinte 0-hoz közeli értéként jelenik meg). Az aspirátumok E2 koncentrációjának mediánja a C csoportban volt a legmagasabb, az A csoportban a legalacsonyabb (18. ábra). A vérplazmában mért P4 koncentrációk mediánja a B csoportban volt a legmagasabb, a D csoportban a legalacsonyabb, az E2 koncentrációk mediánja pedig a D csoportban volt a legmagasabb, a B és C csoportban pedig közel azonos értékkel a legalacsonyabb (19. ábra). A legmagasabb átlagos NEFA koncentrációt az aspirátumok között az A csoportban, a plazma-minták között a B csoportban mértrem (20. ábra).



18. ábra: Az aspirátumok P4 és E2 koncentrációi a vizsgálati csoportokban (medián és szórás)



19. ábra: Az aspirációval egy időben vett vérminták P4 és E2 koncentrációi a vizsgálati csoportokban (medián és szórás)



20. ábra: Az aspirátumok és vérminták NEFA koncentrációi a vizsgálati csoportokban (átlag és szórás)

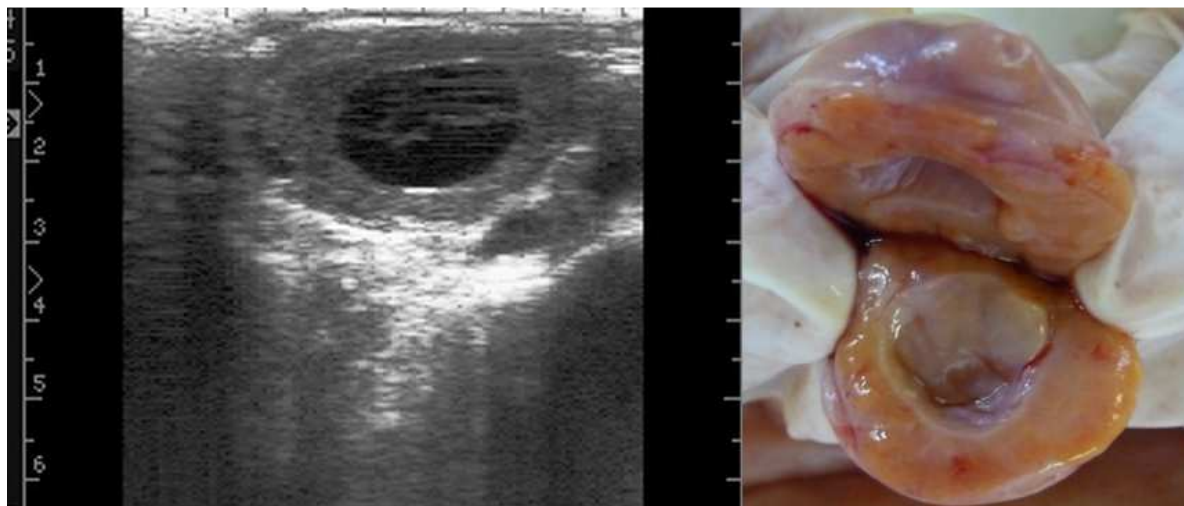
Az aspirátumok P4 koncentrációi között szignifikáns különbséget találtam az A és E csoportok között ($P < 0,0001$). A vérplazmákban mért P4 koncentrációk közül a B csoportban mért értékek szignifikánsan eltértek a többi értéktől ($P < 0,005$). Az aspirátumok NEFA koncentrációi közül az A csoport és E csoportok között szignifikáns különbség volt ($P < 0,05$).

5.3.3. Morfológiai (ultrahangos-, makro- és mikroszkópos) vizsgálatok

5.3.3.1. Ovulációs képletek

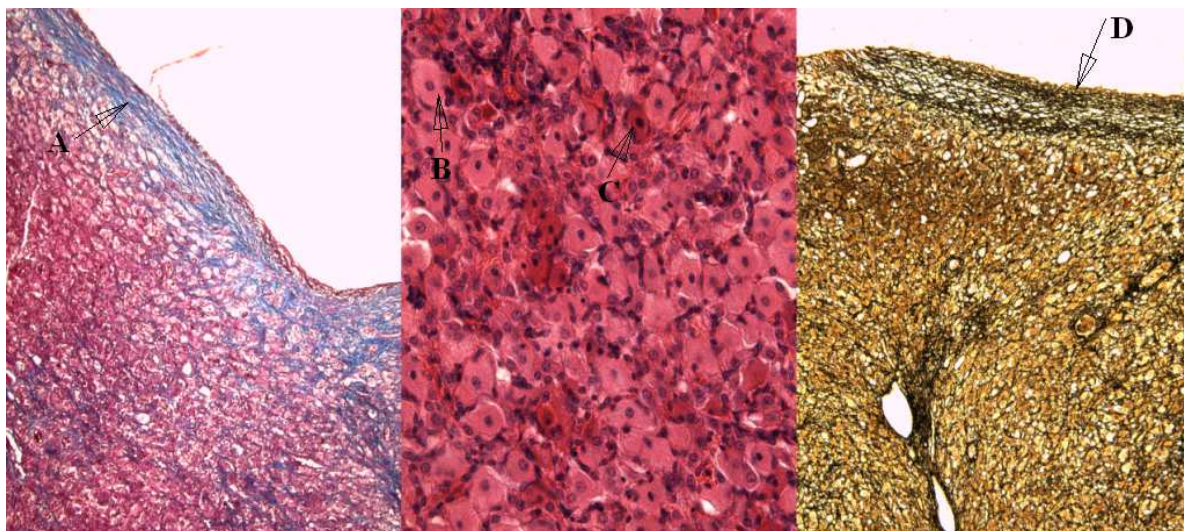
A (n=6) és B (n=4) csoportok

Az A csoportba sorolt képletek (6, üreggel rendelkező képlet, melyek üreg-átmérője 1 cm-nél kisebb, falvastagsága több, mint 10 mm) ultrahangos képén a folyadékkal telt üreget határoló világos-szürke sávot láttam (21/a ábra). A kisebb és nagyobb üreggel rendelkező ovulált képletek makroszkópos megjelenése hasonló volt az élettani sárgatestéhez. Néhány esetben egy kisebb fibrinnel kitöltött hólyagszerű képletet is volt a papilla felülete és az üreg között. Az üreggel rendelkező ovulált képletek metszéspapja sima és fényes, hasonlóan az élettani sárgatestéhez, de a folyadékkal telt üreg körül szürkés, fényes szövet volt (21/b ábra), mely vérerekkel jól átszőtt (üreget bélelő kötőszövetes fal, 1 és 2 zónák).



21. ábra: a) *balra*: az A csoportba sorolt képletek jellegzetes megjelenése az ultrahangos vizsgálatok során: világos-szürke vonal a folyadékkal telt üreg aljánál és tetejénél b) *jobbra*: Ugyanennek a képletnek a makroszkópos megjelenése: világos- szürke, fényes kötőszövetes réteg az üreg körül.

Szövettani vizsgálattal különböző vastagságú kötőszövetet találtam a fent említett világosszürke területen (22/a, c ábrák). Az 1. zónára kollagén rostok jelenléte volt jellemző (Azan festés), a rostszálak között néhány szétesett, piknotikus vagy széttöredezett lutein sejttel. A 2. zónában jól kapillarizált rostos kötőszövetet láttam, néhány ép lutein sejttel. A kötőszövetes rétegek alatt aktívan működő lutein sejtréteg helyezkedett el (hasonlóan a homogén sárgatesthez), több piknotikus és kevesebb mitotikus sejttel. Ebben a csoportban a képlet strukturális alapját (az élettani sárgatesthez hasonlóan) a retikuláris rosthálózat alkotta (Gömöri féle ezüst impregnáció; 22/c ábra). Az élettani sárgatestre jellemző másik szövettani struktúra (kötőszövetes trabekulák a lutein sejtek között) is megtalálható volt mindkét típusú ovulációt követően kialakuló képletben. A 4. zónában kötőszövetes elemeket találtam (fibroblasztok, fibrociták) fiatal kötőszövettel körülvéve.

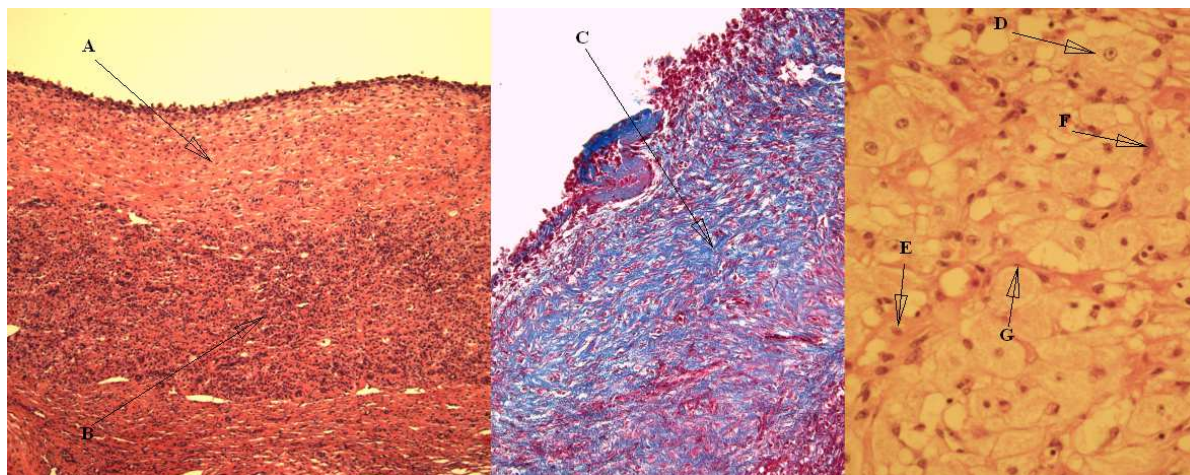


22. ábra: a) *balra*: fiatal kötőszövetes réteg az üreg felőli oldalon (A nyíl; Azan, 100X). b) *középen*: nagy (B nyíl) és kis (C nyíl) lutein sejtek a képlet belső rétegében (3. zóna, HE, 400X). c) *jobbra*: párhuzamosan rendeződött retikuláris rostok az üreget bélelő oldalon (D nyíl; Gömöri ezüst impregnáció, 200X)

A B csoportba sorolt képletek (ovulált képlet, üreg átmérője 1 cm-nél nagyobb, falvastagság 10 mm-nél kisebb) esetében az üreget vastag kötőszövetes fal határolta (23/a és b, 24/c ábrák), ami alatt általában az A csoporthoz hasonló volt a felépítése de az aktív lutein sejtréteg vékonyabb volt (24/a és b ábrák).



23. ábra: a) *balra*: A B csoportba sorolt képletek esetében az ultrahangos képen világosszürke vonal látható, ami szinte teljesen körbeveszi az üreget. b) *jobbra*: a képlet metszéspapja: az üreg körül szürkés, fényes kötőszövet-réteg, alatta élénksárga szövet-réteg.



24. ábra: a) *balra*: vastag kötőszövetes réteg a képlet üreg felöli oldalán (A nyíl), alatta aktív lutein sejt-réteggel (B nyíl; HE, 100X). b) *középen*: az Azan festéssel kékre festődő vastag kötőszövetes réteg (kollagén rostok; C nyíl) az üreg felöli oldalon (Azan, 200X). c) *jobbra*: nagy (D nyíl) és kis (E nyíl) lutein sejtek, fibroblasztok (F nyíl) és fibrociták (G nyíl) a mélyebb rétegben (3. zóna, HE, 400X).

A sejttösszetételre, az üreget bélelő kötőszövet vastagságára és a luteinszövet-tartalomra vonatkozó eredmények a 7. táblázatban láthatók.

7. táblázat: Az ovulált képletek sejttösszetétele, az üreget bélelő kötőszövet vastagsága és a luteinszövet-tartalom a kontrollnak használt sárgatestekben, valamint az A és B csoportokban (darabszámok /No./ és a százalékos arányok legkisebb négyzetes átlaga /LSM/ és a SEM)

	CL (n=4)	A csoport (n=6)	B csoport (n=4)
Nagy lutein sejtek			
No.	48,6	86,2	70,1
SEM	25,3	20,6	25,3
%	39,1	28,8	26,5
SEM	5,7	4,6	5,7
Kis lutein sejtek			
No.	45,8	123,3	208,9
SEM	59,2	48,3	59,2
%	37,4 ^B	44,0 ^{AB}	58,6 ^A
SEM	5,3	4,4	5,3
Összes lutein sejt			
No.	94,4	209,5	279
SEM	72,9	59,2	72,9
%	76,5	72,7	85
SEM	4,6	3,8	4,6

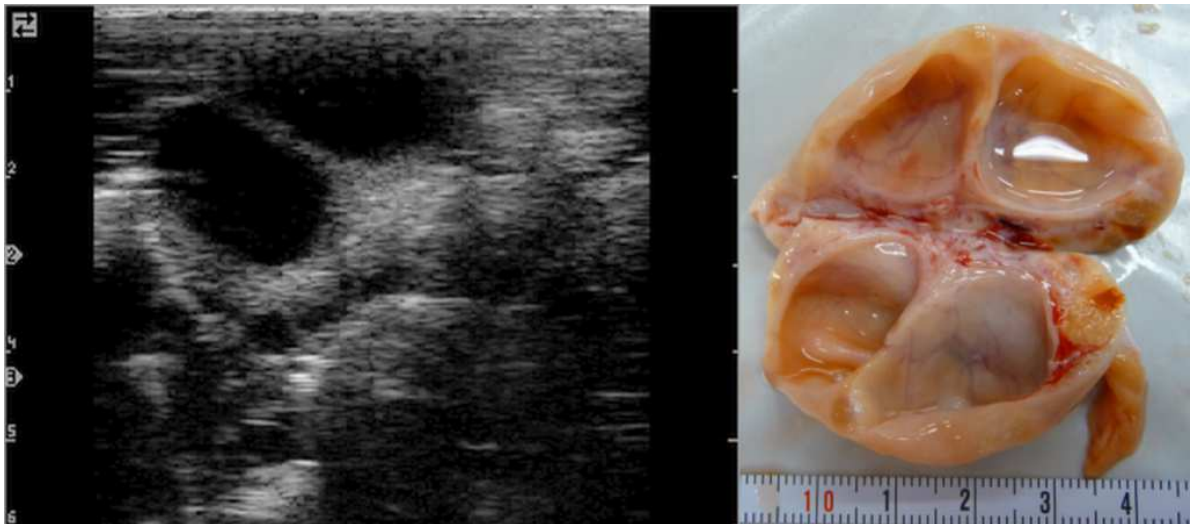
Fibroblasztok/fibrociták			
No.	27,5 ^B	58,8 ^A	33,3 ^{AB}
SEM	9,3	7,3	9,3
%	22,6	22,9	12,4
SEM	3,6	2,9	3,6
Piknotikus sejtek			
No.	1,1 ^B	10,9 ^A	4,4 ^B
SEM	2	1,6	2
%	0,9	4,4	2,6
SEM	1,2	0,9	1,2
Kötőszövet vastagsága (µm)	-	153,9 ^A	295,4 ^B
SEM	-	38,3	46,9
Luteinszövet-tartalom (mm³)	5,8 ^{AB}	11, 22 ^A	4,7 ^B
SEM	1,9	1,6	1,9

Az A csoportban, a B csoporthoz képest, az üreget bélelő kötőszövet keskenyebb volt ($P<0,05$). A kis lutein sejtek nagyobb arányban fordultak elő a B csoportban, mint a sárgatestben ($P<0,05$). A fibroblaszt/fibrociták aránya az A csoportba sorolt képletek esetében nagyobb volt, mint a sárgatestben ($P=0,05$) valamint piknotikus sejtek jelenléte főként szintén az A csoportra volt jellemző ($P<0,05$). Az A csoportban volt a legnagyobb a képletek luteinszövet-tartalma, ami szignifikánsan különbözött a B csoporttól ($P<0,05$).

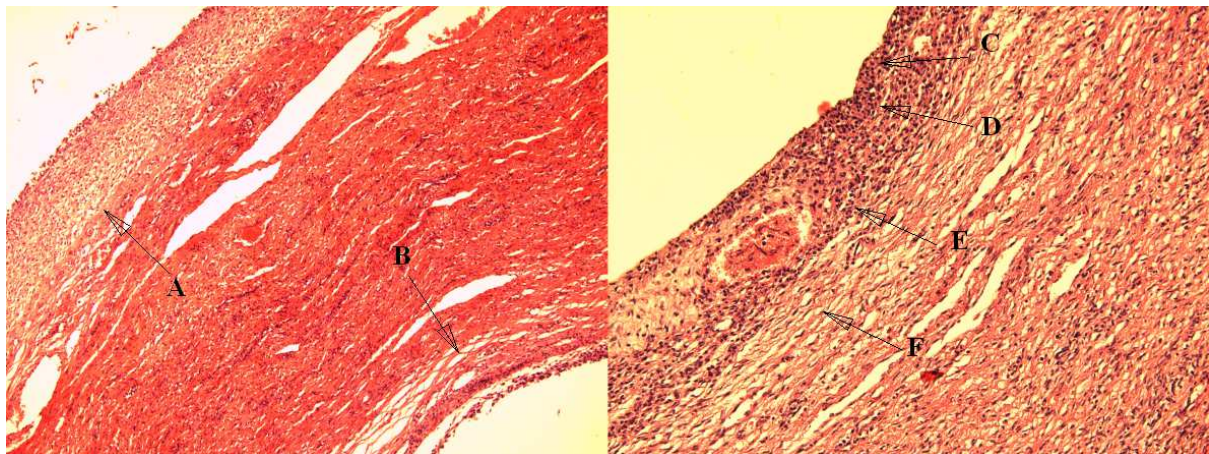
5.3.3.2. Anovulációs képletek

C csoport (n=8)

Az anovulációs képletek közös jellemzője, hogy felületükön nem látható ovulációs papilla. A C csoportba olyan képleteket soroltam, melyek átmérője kisebb 2 cm-nél, de ultrahang segítségével vastag szürkés fal detektálható (25/a ábra). A képletek falának belső oldalát 1-2 mm vastag szürkés, fényes szövet alkotta. Ez a szövet jól kapillarizált, de sárgás elszíneződéstől mentes (25/b ábra). Mivel nem ovulált tüszőkből alakulnak ki, ezért ezeknek a képleteknek a felépítése részben hasonlít a tüszőére (szintén igaz a D csoport képleteire). A C csoportba sorolt képletek falában az üreg felől haladva szövettani vizsgálatokkal általában 2-3 réteg granulosa sejtet láttam (ez több esetben hiányzott). Ezt követően az alaphártya felismerhető volt, ami alatt a theca internában aktív, de nem luteinizált sejtek voltak jelen (6-8 sejtrétegben). A képletet kívülről vastag kötőszövetből álló, vérerekkel átszőtt theca externa határolta (26/a és b ábrák).



25. ábra: a) *balra*: A C csoportba sorolt képletek jellemző ultrahangos megjelenése: jól elkülöníthető szürkés fallal körülvett, folyadékkal telt képletek. b) *jobbra*: a makroszkópos képen ovulációs papilla nem látható, a szürkés fal jól vaszkularizált, sárgás elszíneződés nélkül.



26. ábra: a) *balra*: a C csoportba sorolt képletek eltérő megjelenése: egymás mellett talált képletek közül a bal felső sarokban levőnél jól elkülöníthető rétegek (A nyíl), a jobb alsó sarokban levő képlet esetében csak a kötőszövetes fal és néhány levált granulosa réteg látható (B nyíl; HE, 100X). b) *jobbra*: egy másik, C csoportba sorolt képlet esetében a fal rétegzettsége felismerhető (C nyíl – granulosa réteg, D nyíl – alaphártya, E nyíl – theca interna réteg, F nyíl – theca externa réteg; HE, 200X).

D csoport (n=5)

Ebbe a csoportba olyan képleteket soroltam, melyek ovuláció nélkül alakulnak ki, a teljes átmérő nagyobb, mint 2 cm, falvastagságuk 3 mm-nél kisebb. Az ultrahangos felvételeken világos-szürkés fallal körülvett, folyadékkal telt képletet láttam (27/a ábra), makroszkóposan sima, szürkés felületű kiemelkedésként emelkedett a petefészek felületére. A képlet belső

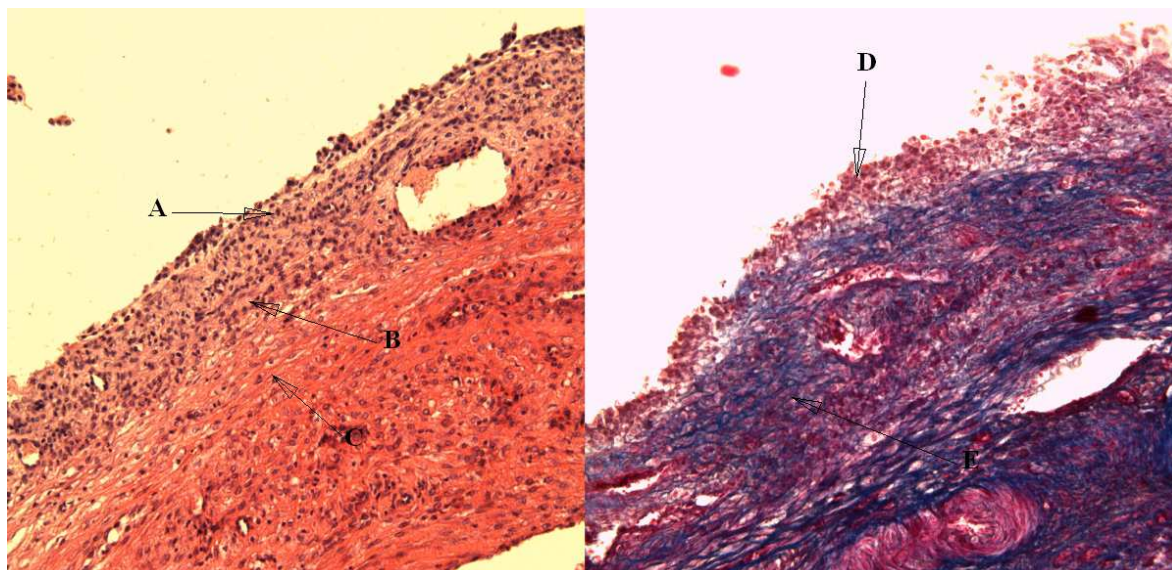
oldalán alkalmanként sárga foltok is felismerhetőek voltak (27/b ábra). A makroszkópos és ultrahangos megjelenés egységesnek tűnt ugyan, de szövettanilag két típust különböztettem meg.

Az 1. típusba sorolt képletek esetében a szövettani rétegek jól megkülönböztethetőek voltak. A képletek fala általánosságban 6-8 sejtrétegből állt (néha kevesebb), a granulosa sejtréteg több esetben levált. Amennyiben jelen volt granulosa réteg, a sejtek aktívak, de nem luteinizáltak. Az alaphártya általában felismerhető volt, de több esetben töredezett. A theca rétegek jól kapillarizáltak voltak, aktív, hormontermelő sejtekkel a theca internában, de a luteinizált sejtek aránya kicsi volt (28/a ábra). A theca rétegekre jellemző volt általában a sok fibroblaszt, jól vaszkularizált, fiatal kötőszövettel körülvéve.

A 2. típusba olyan képletek tartoznak, melyek üregét vastag kötőszövet határolta (kollagén rostok jellemzők), és csak kevés granulosa sejt volt jelen (28/b ábra).



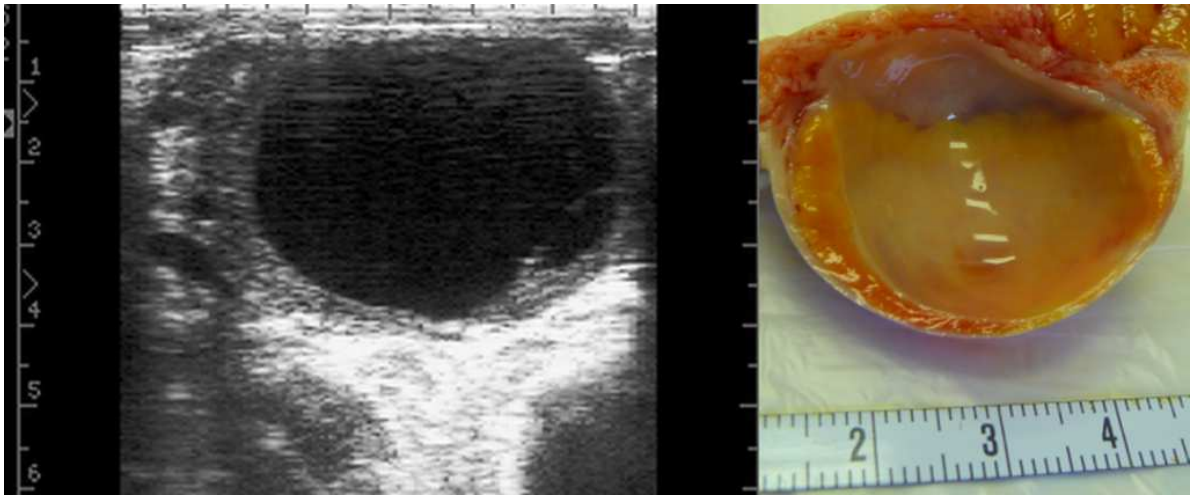
27. ábra: a) *balra*: a D csoportba sorolt képletek jellemző ultrahangos megjelenése: nagy, folyadékkal telt üreg, 3 mm-nél keskenyebb, világos-szürke fallal határolva b) *jobbra*: a makroszkópos kép jellemzően szürkés, vastag falat mutat esetenként kisterületű sárga elszíneződésekkel.



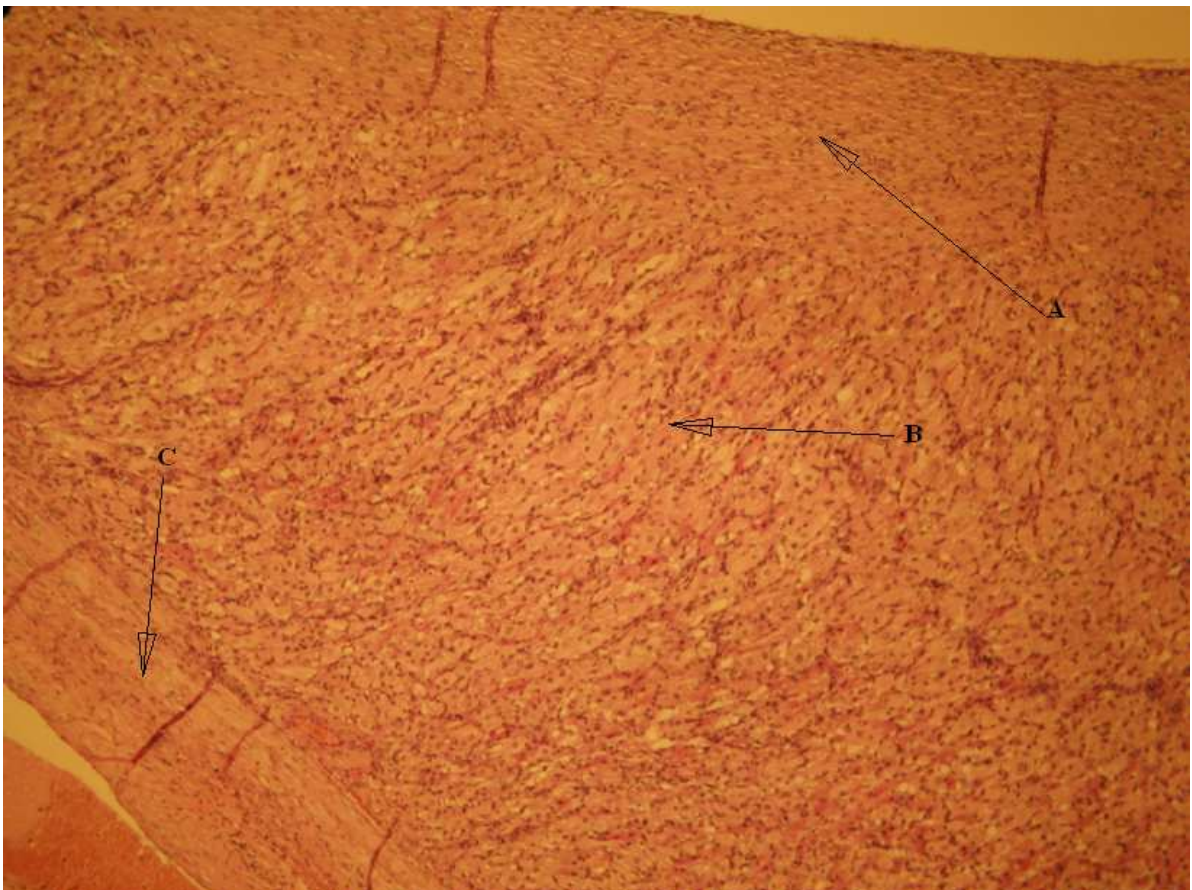
28. ábra: a) *balra*: a D csoportba sorolt képletek 1. típusára jellemző rétegződés (A nyíl – granulosa sejtek rétege, B nyíl – theca sejtek rétege, C nyíl – a kötőszövetes theca externa; HE, 200X). b) *jobbra*: a 2. típusba sorolt képletek jellemző szövettani képe: a granulosa rétegek leváltak (D nyíl), vastag kötőszövetes fal határolja a képletet (E nyíl; Azan, 200X).

E csoport (n=4)

Az ebbe a csoportba sorolt képletek (átmérő nagyobb, mint 2 cm, falvastagság 3 mm-nél vastagabb) ultrahangos megjelenése hasonló volt a D csoportban meghatározott képletekéhez azzal a különbséggel, hogy faluk vastagabb, és sötétszürke kiemelkedések illetve megvastagodások voltak a fal belső felületén (29/a ábra). Makroszkóposan külső felszínük sima volt (nincs ovulációs papilla), teljesen vagy részben sárga elszíneződéssel (29/b ábra). A mikroszkópos vizsgálatok során párhuzamosan rendeződött retikuláris- és kollagén rostokat láttam a képlet belső falán, az üreg körül (Gömöri-féle ezüst impregnáció és Azan festés). Ugyanez a kötőszövet több helyen benyúlt az alatta elhelyezkedő luteinizált sejt-rétegbe, de nem olyan szabályos elrendeződésben, mint az ovulált képletek esetében (nem trabekulázott elrendeződés). A granulosa és theca interna rétegek nem voltak megkülönböztethetőek, luteinizált sejtek (jellemzően nagy lutein sejthez hasonló) 15-16 sejtréteg vastagságban alkották a fal középső részét. A rétegek jól kapillarizáltak, az alaphártya nem elkülöníthető. A képlet falának külső rétegét a theca externa képezte, sok kapillárisal és fibroblasztal (30. ábra).



29. ábra: a) *balra*: az E csoport képleteinek jellegzetes ultrahangos képe: nagy, folyadékkal telt képlet, 3 mm-nél vastagabb, világos-szürke fallal körülvéve b) *jobbra*: az üreget vastag sárgás-szürkés kötőszövetes réteg határolja, alatta élénk-sárga, szinte homogénen elhelyezkedő réteggel



30. ábra: Az E csoport képleteinek jellegzetes mikroszkópos struktúrája: mindkét oldalról vastag kötőszövetes réteg (A és C nyilak) határolja a közepén aktívan szekretáló luteinizált sejtek rétegét (B nyíl; trabekulázottság nem látható) (HE, 100X).

6. Megbeszélés, következtetések

6.1. A folyadéktartalmú petefészek-képletek előfordulási gyakorisága egy magyar átlagnál magasabb tejtermelésű tehenészetben 2008-2011

A tejelő tehenek tejtermelésre történő egyoldalú szelekciójával párhuzamosan a szaporodásbiológiai problémák gyakoribbá váltak. A szaporodásbiológiai zavarok között a petefészek-elváltozásoknak (pl. ciszták) állategészségügyi és gazdasági szempontból is nagy szerepe van, hiszen telep-szinten előfordulásuk akár 50% felett is lehet (Kahn 2005), ami a sikeres termékenyítésig eltelt idő kitolódását (és így a két ellés közti idő növekedését) okozhatja. Az 1950-es és '70-es években a petefészek ciszták előfordulását 0,5 és 18,5% között írták le (Japán: Fujimoto 1956; Ausztrália: Summers 1974), de az 1970-es évek végén vágóhídi felmérések alapján már 38%-os gyakoriságot láttak (Egyesült Királyság: Al-Dahash és David 1977a). A 80-as évekre előfordulásuk meghaladta a 30%-t (Youngquist 1986). A 80-as évek óta azonban a tejtermelés tovább emelkedett és a magas tejtermelésre szelektált genetikai állománnyal rendelkező tehenek világszerte egyre nagyobb számban terjedtek el, ami a petefészek-ciszták gyakoribb előfordulását is eredményezte.

Vizsgálataimban összességében (csak a tehenek esetében) a FTPK-k előfordulási gyakorisága 37,6% volt. Az ellést követően a tehenek 30,1%-ban, a termékenyítést követően pedig 37,6%-ban diagnosztizáltam ebbe a kategóriába sorolt petefészek képletet. A szakirodalomban (a hagyományos szemlélet szerint) csak a nem ovulált, cisztás képleteket tekintik petefészek-cisztának, ami magyarázza a saját eredményekhez képest esetlegesen alacsonyabb előfordulási adatokat. Amennyiben csak a vizsgálataim során nem ovulációs eredetű képleteket tekintem petefészek-cisztának, úgy az előfordulás összességében 17,9% (ellést követően 20,2%, termékenyítést követően üres tehenekben 17,3%). Saját eredményeim alapján az ellést illetve termékenyítést követően nem volt különbség a FTPK-k előfordulásában annak ellenére, hogy több szerző szerint gyakoribbak a cisztás petefészek-képletek az ellést követően (Nelson és mtsai 2010, Prasse és mtsai 2010). Ennek hátterében valószínűleg involúciós problémák állhatnak (metritis, ikerellések stb.), ami esetünkben azért nem jelentkezett, mert valamennyi vizsgált tehenet Provsynch protokoll alapján korábban már kezeltek. A termékenyítést követően vizsgált üres üszőkben az FTPK-k előfordulása 29,5% volt, de csak a nem ovulált képleteket tekintve 9,3% ami így már lényegesen alacsonyabb (és a szakirodalommal összeecsengő) előfordulást mutat. Kahn (2005) összefoglalása alapján a tüszőciszták előfordulása 5-25%-ra tehető (telep-függő), ami hasonló az általam kapott eredményekhez (amennyiben a nem ovulált képleteket tekintjük csak petefészek-cisztának). Szintén hasonló gyakoriságot ír le Foley (1996). Roth és mtsai

(2012) 36%-os előfordulásról számolnak be. Egy norvég felmérés alapján a cisztás petefészek-elváltozások átlagosan 0,82%-ban fordultak elő laktációnként (Nelson és mtsai 2010). Ez az alacsony előfordulás valószínűleg azért lehet, mert nem Holstein-fríz fajtában, hanem norvég vörös fajtában, átlagosan 6500 kg/tehén/év tejtermelés mellett készült a felmérés. Eredményeik alapján az ellések számával (életkor), 85 tehén feletti létszámnál, metabolikus vagy gyulladásos megbetegedésekhez köthetően (mastitis, metritis) és őszi illetve ikerellés után nagyobb eséllyel alakultak ki petefészek-ciszták (Nelson és mtsai 2010, Prasse és mtsai 2010). Az ellések számával való összefüggést saját vizsgálataim is alátámasztják, mivel az üres tehenekben gyakrabban fordultak elő FTPK-k, mint az üres üszőknél ($P=0,006$). Saját eredményeim alapján a kondíciónak nem volt hatása a FTPK-k gyakoriságára, ugyanakkor Hasler és mtsai (2004) túlkondícióval rendelkező tehenekben gyakrabban láttak cisztás petefészek-elváltozásokat, mint normál testalkatú társaiknál (48% vs. 4%).

Eredményeim alapján az ovulációs képletek előfordulása összességében 19,7% (az ellést követően 17,5%, a termékenyítést követően üres tehenekben 20,3%). Ezzel szemben a szakirodalomban gyakoribb előfordulással találkozhatunk: Kito és Okuda (1986) a vizsgált tehenek 37,2%-ban, Garcia és Salaheddine (2000) a sárgatestek 40,7%-ban diagnosztizált folyadéktartalmú üregeket, míg Fralix és mtsai (1996) 74%-ban. Az üres üszők között lényegesen kevesebb volt az anovulációs képlet, mint az ovuláció után kialakuló forma (9,3% vs. 20,2%), míg Kastelic és Pierson (1990b) ovulációt követően kialakuló képletet a nem vemhes üszők 77 %-ban, a vemhesek esetében 86 %-ban diagnosztizálták. A vemhes üszők között a FTPK-k előfordulása vizsgálatomban 0,8% volt, ami lényegesen alacsonyabb a szakirodalmi adatnál. Perez-Marin (2009) vemhes állatok 42,9%-ban, a nem vemhesek 57,1%-ban találtak üreggel rendelkező sárgatesteket. A saját eredményekhez képest a szakirodalomban talált magasabb előfordulási arány oka lehet, hogy saját vizsgálataimban az állatok csak egy alkalommal kerültek vizsgálatra, míg a szakirodalmi utalások esetében általában sorozat-vizsgálatokról volt szó (vagyis arra irányultak a vizsgálatok, hogy mikor és milyen arányban tűnnek el a folyadékkal telt üregek a sárgatestekből). Így eredményeim csak a termékenyítést követő 28-50. nap között látott folyadéktartalmú sárgatestek előfordulási gyakoriságát mutatják.

A spontán ivarzást illetve PG kezelést követően üresen maradt üszőkben a FTPK-k előfordulási gyakorisága között nem volt különbség, de a spontán ivarzás után több ovulációs, PG kezelés után több anovulációs képletet találtunk ($P=0,02$). A PG kezelés után gyakoribb anovulációs képletek megjelenése azzal magyarázható, hogy kizárólag olyan üszőket kezeltek PG-vel, amelyeket korábban ivarzóként nem detektáltak (azaz „problémás” állatok). A termékenyítés után, üresnek diagnosztizált tehenekben a különböző hormonális kezelések között szignifikáns eltérés volt. Az Ovsynch illetve PG kezeléseket követően üres

tehenekben Ovsynch kezelést követően szignifikánsan magasabb volt az anovulációs képletek előfordulása ($P=0,007$). A termékenyítés után üres tehenekben a különböző hormonális kezeléseknek szignifikáns hatása volt a FTPK-ek kialakulására. Az Ovsynch illetve PG kezeléseket követően üres tehenekben Ovsynch kezelést követően szignifikánsan magasabb volt az anovulációs képletek előfordulása ($P=0,007$). Ennek valószínűleg oka, hogy az Ovsynch kezeléssel átesett tehenek a sikertelen termékenyítés után sem mutatnak ciklusos petefészekműködést. A PG kezelést követően termékenyített, üres tehenekben szignifikánsan több FTPK fordult elő ($P=0,032$), mint Provsynch kezelést követően üresen maradt társaikban. A FTPK-k alacsonyabb előfordulását az magyarázhatja, hogy a Provsynch protokollt csak egészséges teheneknél alkalmazták, és az ellést követően nem volt komolyabb probléma az energia-ellátottsággal sem. A különböző hormonális kezeléseket követően termékenyített, üres tehenekre/üszőkre vonatkozóan nincs szakirodalmi adat a FTPK-k előfordulásáról.

A spontán ivarzást követően üres üszőkben több az ovulációs, tehenekben pedig az anovulációs képlet ($P=0,001$). Ennek magyarázata lehet, hogy az üszők esetében a ciklusos petefészek-működést kevesebb tényező befolyásolhatja, mint tehenekben, így az ovulációt követően gyakoribbak a FTPK-k.

6.2. Szezonális fertilitási különbségek tejelő tehenekben – ultrahangos, metabolikus és endokrinológiai vizsgálatok

A nyári időszakban tejelő tehenészetekben gyakran tapasztalható az ivarzási tünetek hiánya vagy gyenge expressziója, a vemhesülési arány csökkenése és a magzatvesztések arányának emelkedése. Ezeket a megfigyeléseket korábbi vizsgálataink is alátámasztják; 2003 és 2008 között végzett 53000 korai, laboratóriumi vemhesség-vizsgálat eredménye alapján a nyári hónapokban (június, július, augusztus) a minták vemhesülése átlagosan 43%, a magzatvesztés 26% volt. A hűvösebb időszakokban viszont (ősz, tél, tavasz) a minták vemhesülése 56%, a magzatvesztés 19% volt átlagosan.

A vizsgált telepen 2008 májusától augusztusáig terjedő időszakban, a Provsynch protokollt követően termékenyített, laboratóriumban vizsgált minták vemhesülése átlagosan 8,7 és 48,9% között volt (átlag 26%), míg ugyanez télen (2008 októbertől 2009 januárig) 38,9 és 65,4% között alakult. De Rensis és Scaramuzzi (2003) hasonló eredmények alapján felhívták a figyelmet a magas környezeti hőmérséklet tejelő tehenekre gyakorolt negatív hatásaira. A hőstressz hatással van a hipotalamusz-hipofízis-petefészek tengelyre, a tüsző-dominanciára, a tüszőérés hullám hosszára, a petesejt minőségére és az energia-egyensúlyra is. Az intrauterin környezetre szintén negatív hatással van a magas környezeti hőmérséklet:

csökken a méh vérellátása, ami a méhbeli hőmérséklet emelkedését okozza. Ezek a változások megakadályozhatják az egészséges embrionális fejlődést, gyakoribbá válhat ezáltal a magzatvesztés és csökken a sikeres termékenyítések aránya (De Rensis és Scaramuzzi 2003). A nyári magas környezeti hőmérséklet ezeken felül olyan változásokat idézhet elő a sejtmembránokban, ami befolyásolhatja a petesejt funkcióját és a fertilitást (Zeron és mtsai 2001).

A hőstressznek közismert hatása a tejelő tehenek étvágyának és ezáltal a szárazanyag-felvétel csökkenése (De Rensis és Scaramuzzi 2003, Wolfenson és mtsai 1997 és 2000). Kísérletemben az átlagos kondíció 0,21 ponttal volt magasabb télen, mint nyáron, ami a testtömeg kismértékű nyári csökkenésére utal. Ez a szervezet saját zsír-raktárainak mozgósításában mutatkozik meg, melyet a plazma NEFA koncentrációk emelkedése jelez. A testtömeg-csökkenés, alacsony plazma inzulin-koncentrációval, és a hőstressz miatti catekolamin felszabadulással elősegíti a zsírbontást, és csökkenti a szabad zsírsavak re-esterifikációját a zsírszövetekben (Leroy és mtsai 2005). Ezzel párhuzamosan a plazma inzulin, glükóz és IGF-I koncentrációja csökken, ugyanakkor a növekedési hormon és a NEFA emelkedik. Eredményeim alapján az átlagos inzulin és IGF-I plazma koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak télen, mint nyáron ($P < 0,01$) ami alátámasztja a csökkent zsírmobilizációt a téli időszakban.

Az energia-raktárok mozgósítása a plazma NEFA és BHB koncentrációk emelkedésével jár. A nyári időszakban tapasztalt NEFA plazma koncentrációk kifejezett emelkedése minden bizonnyal a csökkent étvágy miatt következett be (a magas környezeti hőmérséklet alacsonyabb szárazanyag- és ezáltal energia-felvételt eredményezett – ezt az etetővályúban megmaradt TMR mennyiségéből is lehetett látni), ami a kondíció csökkenését okozta. Az ellések számának nem volt statisztikailag kimutatható hatása a plazma NEFA koncentrációkra. Az átlagos plazma BHB koncentrációk magasabbak voltak nyáron, mint télen, de nem emelkedtek az élettani határértékek fölé, ami ugyan alátámasztja az energia mobilizáció tényét, de nem utal kóros folyamatokra (ketózis). A statisztikai elemzések alapján az évszak szignifikáns hatással volt a plazma NEFA, BHB és IGF-I koncentrációkra ($P < 0,001$).

A NEFA-nak negatív hatása van a granulosa és theca sejtek működésére *in vitro* (Vanholder és mtsai 2005, 2006a) és minden bizonnyal *in vivo* is. A tüsző szerkezetéből adódóan, a granulosa sejtek a tüszőfolyadékkal közvetlenül érintkeznek. A granulosa réteg és az alaphártya is érmentes szövetek, kapillárisok csak a theca rétegekben találhatók, így az alaphártyán belüli sejtek csak innen juthatnak tápanyagokhoz (és a vérben levő egyéb anyagokhoz). Mivel a NEFA koncentráció nagyjából 40%-al alacsonyabb a domináns tüsző tüszőfolyadékában, mint a vérplazmában, a granulosa sejtek körül ezért általában

alacsonyabb a NEFA koncentráció, mint a theca sejtek körül, a NEBAL időszakában (Vanholder és mtsai 2006), de mindkét sejtípus ki van téve a NEFA negatív hatásainak.

A FTPK-k kialakulásának okairól több vizsgálat is beszámol (López-Gatius és mtsai 2002), de a leggyakoribb előidéző tényezőknek a 1) gyulladásos betegségeket (a citokinek szerepe miatt – Bonnett és Martin 1995, Bosu és Peter 1987, Földi és mtsai 2006, Garverick 1997, Huszenicza és mtsai 2005, Vinatier és mtsai 1995), 2) metabolikus okokat (Fralix és mtsai 1996, Haraszi és mtsai 1985, Huszenicza és mtsai 1988) illetve 3) az endotoxinok/stressz szerepét helyezik előtérbe (Bage és mtsai 2000, Huszenicza és mtsai 2000). Mivel vizsgálataim során csak egészséges, Provsynch protokollban termékenyített tehenek szerepeltek a kísérletekben, ezért a méhgyulladás/illetve gyulladás általános hatásai, mint a FTPK-k kialakulásának oka kizárható. A kísérleti elrendezés nem különbözött télen illetve nyáron, így csak a környezeti hőmérséklet volt az egyetlen különböző körülmény a két időszakban, ami befolyásolhatta a FTPK-k kialakulását. Nyáron a FTPK-k előfordulási gyakorisága 75% volt, míg télen csak 22,2%. Az átlagos plazma NEFA és BHB koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak nyáron, mint télen ($P < 0,001$), míg a plazma IGF-I koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak télen ($P < 0,001$). A statisztikai elemzés alátámasztotta azt az összefüggést, miszerint a FTPK-k megjelenése magas NEFA és alacsony IGF-I koncentrációkhoz köthető. Vanholder és mtsai (2005) leírták, hogy a NEFA gátolja a granulosa sejtek proliferációját és túlélését. A NEFA hasonló hatása volt kimutatható a theca sejtek életképességére és osztódására, de a vizsgálatok alapján azok szteroid-termelését nem befolyásolta (Vanholder és mtsai 2006a). Elképzelhető, hogy ez az érzékenységbeli különbség a tüsző szövettani szerkezetére vezethető vissza. Eredményeim alapján tehát úgy tűnik, hogy a FTPK-k kialakulása a NEFA tüszősejtekre (granulosa és theca) gyakorolt hatásának következménye lehet. A télen tapasztalt magasabb IGF-I plazma-koncentrációk ugyanakkor javítják a fertilitást.

Mindezek alapján tehát elképzelhető, hogy a tüszőfolyadékban felhalmozódó NEFA befolyásolja a petesejt minőségét is. A nyári kísérleti időszakban az átlagos plazma NEFA koncentrációk az ellést követő 49, 63, 70 és 91. napon mutattak emelkedést. Az első 3 időpont kiugró értékei minden bizonnyal a Provsynch protokollra reagáló tüszők érésének – és az ivarzásnak – köszönhető, míg a 91. napon tapasztalt emelkedés a sikertelen termékenyítést követő visszaivarzásokra vezethető vissza (21 nappal a termékenyítést követően). Kísérletemben a nyáron mért átlagos plazma NEFA koncentrációk meghaladták az élettani határértéket, így elképzelhető, hogy nagyobb koncentrációban kerültek be a tüszőfolyadékba is. A petesejtek képesek a zsírsavak akkumulációjára, ami megváltoztatja zsírsav-tartalmukat és összetételüket. Ezek felhalmozódása a petesejtben illetve az embrióban csökkentheti azok minőségét és fagyűrő képességét (Leroy és mtsai 2005).

Nyáron tehát a vemhesülés elmaradása valószínűleg a magas plazma NEFA koncentrációkhoz köthető.

Összefoglalva, a statisztikai elemzések alátámasztják azt a feltételezést, hogy a magas plazma NEFA és BHB, és az alacsony plazma IGF-I koncentrációk lehetnek a nyári időszakban tapasztalható gyenge szaporodásbiológiai eredmények mögött, tejelő tehenekben. Ezek a metabolikus változások egyidejűleg a FTPK-k gyakoribb kialakulásáért is felelősek, és negatív hatással vannak a petefészek-funkcióra és a petesejt minőségére.

6.3. A folyadéktartalmú petefészek-képletek endokrinológiai és morfológiai jellemzői

6.3.1. Aspirációs vizsgálatok

A tüszőfolyadék számos biokémiai összetevőt tartalmaz, melyek alapvető fontosságúak a petefészek működése szempontjából (szteroid-termelés, tüsző-növekedés és ovuláció) (Haliloglu és mtsai, 2008). A legtöbb szakirodalmi adat az aspirált képletek E2 és P4 tartalmára vonatkozik, hiszen sok esetben ezek adhatják a ciszta-típus diagnózisának alapját (a határértékek azonban szerzőnként eltérőek lehetnek; Calder és mtsai 2001, Carroll és mtsai 1990, Choi és mtsai 1982/1983, Farin és mtsai 1990, Foley 1996, Roth és mtsai 2012). Ezeken túlmenően több egyéb összetevő koncentrációját is meghatározták (inhibin, FSH, LH – Roberge és mtsai 1993; kortizol, IGF-I – Probo és mtsai 2011; IGF-I – Ortega és mtsai 2007; C-vitamin, A-vitamin, béta-karotin – Haliloglu és mtsai 2008; tesztoszteron, IGF-I, glükóz, laktát – Boryczko és mtsai 1995), és az eredményekről a kialakulást befolyásoló körülményekre következtettek. Saját vizsgálataim során a kapott P4 és E2 eredmények (plazma és aspirátum koncentrációk) nem mutattak minden esetben egyértelmű összefüggéseket a morfológiai jellegzetességekkel (ezeket a morfológiai eredmények értékelésénél részletezem). Az általam mért NEFA koncentrációk az ovulált képletek esetén magasabbak voltak, mint az anovulációs képletekből nyert aspirátumokban. Az A csoport és az E csoport aspirátumainak NEFA koncentrációja közötti különbség szignifikáns volt ($P < 0,05$). A FTPK-k aspirátumában mérhető NEFA koncentráció tekintetében szakirodalmi adat nem elérhető. Probo és mtsai (2011) vizsgálataik során vérből IGF-I, NEFA és kortizolt koncentrációkat határoztak meg az ellést követő 7-16. hét között, naponta kétszer 6 normál petefészek ciklussal és 6 cisztás petefészek-képletek tartós fennmaradásával jellemezhető tehénnél. A kortizol koncentrációk nem különböztek, az ellés utáni 16. héten a ciklusos teheneknél magasabb volt a NEFA plazma koncentráció, mint a petefészek-cisztás

állatoknál, de nem voltak kiugróan magas értékek, ami így nem utalt zsírmobilizációra. Eredményeik azt mutatták, hogy a ciszták fennmaradása nem függ össze a kortizol és NEFA koncentrációk emelkedésével, de az IGF-I-nek nem csak a patogenezisben, de a spontán képződő ciszták fenntartásában is lehet szerepe. Mivel eredményeimben a NEFA plazma-koncentrációkban nem volt szignifikáns különbség a csoportok között (de általában meghaladták az élettani határértéket), ugyanakkor a C csoport kivételével az aspirátumokban magasabb értékeket mértem, mint a plazmában, ezért elképzelhető, hogy a NEFA felhalmozódásának a képletek belsejében szerepe lehet azok kialakulásában (Vanholder és mtsai 2005 és 2006a). Mivel az A és B csoportokban (ovulációt követően kialakuló képletek) mértem a legmagasabb NEFA koncentrációkat, ezért feltételezhető, hogy ezeknek a kialakulásában kifejezett szerepe lehet a NEFA sejtkárosító hatásainak.

6.3.2. Morfológiai (ultrahangos-, makro- és mikroszkópos) vizsgálatok

A FTPK-re leggyakrabban a ciszta elnevezést használják a mindennapos gyakorlatban, azonban ez a gyűjtőfogalom nem minden képlet esetében megfelelő. A petefészek ciszták elkülönítése az általánosan elfogadott gyakorlat szerint azok méretén és falvastagságán alapul, de csak néhány szerző említi az eredet fontosságát (ovulációs és nem ovulációs eredetű – Brito és Palmer 2004, Parkinson 2009). Több szerző kiemeli a nem ovulált tüszőből kialakuló képletek P4/E2 termelése alapján történő elkülönítés jelentőségét is (Calder és mtsai 2001, Carroll és mtsai 1990, Choi és mtsai 1982/1983, Farin és mtsai 1990, Foley 1996, Roth és mtsai 2012), ugyanakkor a hormonok koncentrációinak határértékei nem egységesek.

A petefészek-képletek alapvető elkülönítése vizsgálataim során az ovulációs papilla meglétén (CL, A és B csoport) vagy hiányán (C, D és E csoportok) alapult. Általánosságban elmondható, hogy az A és B csoportba sorolt képletek átmérője annak ellenére hasonló volt, hogy az A csoportban az üreg átmérője kisebb, de a falvastagság nagyobb volt, mint a B csoportban.

Ovulációs képletek

Vizsgálataim során az ovulációs képletek sejttözetételében különbségeket találtam. A kis lutein sejtek aránya szignifikánsan nagyobb volt a B csoportba sorolt képletek esetében a kontroll sárgatestekhez képest (az A csoportban a kis lutein sejtek aránya a két érték között volt). Kastelic és mtsai (1990a) szerint az ivari ciklus különböző stádiumaiban a sárgatestek 79%-ában láthatóak üregek; ezek először az ovulációt követő 3-5. napon detektálhatók és maximális átmérőjüket 5,5-7. napon érik el. Vizsgálataik során minden üreg a ciklus későbbi

stádiumában eltűnt, így ezzel összefüggésben a sejtösszetételben talált különbségek jelezhetik azt is, hogy a nagy üreggel rendelkező sárgatestek a legfiatalabb, a homogén sárgatestek a legidősebb képletek, a kisebb üreggel rendelkező, ovulációs képletek pedig középidősnek tekinthetők. Ezzel a feltételezéssel összhangban van az, hogy a B csoport képleteinél találtam a legnagyobb arányban kis lutein sejtet, mivel több szerző szerint is a kis lutein sejtek idővel nagy lutein sejtekké alakulnak át (Lopez-Diaz és Bosu 1992, Alila és Hansel 1984, O'Shea és mtsai 1989). Hasonló eredményre jutott Okuda és mtsai (1988), miszerint az üreggel rendelkező sárgatestekben több kis lutein sejt van jelen, mint a homogén sárgatestekben.

Az üreget bélelő kötőszövet vastagsága szignifikánsan kisebb volt az A csoportban, mint a B csoportban. Az ovulációt követően kialakuló formák szöveti állományában a kezdeti proliferatív folyamatokat, a tüszőfolyadék visszamaradását követő regresszív elváltozások (parenchyma sejtek zsíros infiltrációja, apoptózis, atrófia, nekrozis) követik, melyek következtében a környező nagyobb vérerek adventitiájából megindul a kollagén- és elasztikus rostokat termelő sarjadzószövet differenciálódása. A kötőszövetes réteg rostjai között sejtörmelék illetve pusztulóban lévő sejtek is láthatóak voltak, amik szintén erre utalnak. Ezek a jelenségek a posztovulációs reparáció megnyílvánulásai (van Sickle 1993, Kissane és Anderson 1985). Minél kifejezettebbek a regresszív folyamatok, annál markánsabb a kötőszövet képződése. Elképzelhető, hogy a regresszív folyamatokat az idő előrehaladtával, a folyadéktartalom hidrosztatikai nyomása fokozta. Mindezek alapján tehát feltételezhető, hogy a B csoportban detektált nagy üregekben a nagyobb mértékű nyomás kiterjedtebb elváltozást, vastagabb kötőszövet kialakulását indukálta.

A luteinszövet-tartalom az A csoportba sorolt struktúrák esetében szignifikánsan nagyobb volt, mint a B csoportban. Egy korábbi tanulmány szerint (Kastelic és mtsai 1990b) nincs különbség az üreggel rendelkező és homogén sárgatestek luteinszövet területe között. Ebben a tanulmányban azonban csak a kétdimenziós képet vették alapul, saját vizsgálataimban ugyanakkor a képletek teljes luteinszövet-tartalma került összehasonlításra, ami így élettanilag jobban értékelhető.

A szakirodalomban eltérő adatok találhatók a homogén és üreggel rendelkező sárgatestek esetében a vérben mérhető P4 koncentrációkkal kapcsolatban. Néhány szerző nem talált eltérést (Kastelic és mtsai 1990a és b, Kito et al. 1986, Veronesi et al. 2002), míg egy esetben különbséget mutattak ki (Simoës és mtsai 2007). Azonban figyelembe kell venni ezek értékelésekor, hogy a különböző mintavételezés miatt (jellemzően egy minta egy állattól) a tényleges biológiai különbségek kimutatásának statisztikai ereje alacsony. Mindezekon túl, habár a legtöbb szerző szerint az üreggel rendelkező sárgatestek képesek a vemhesség fenntartására (Assey és mtsai 1993, Carrol és mtsai 1990, Foley 1996, Garcia és Salaheddine 2000, Hanzen és mtsai 2000, Kastelic és mtsai 1990a és b, Kito és mtsai

1986, Perez-Marin 2009), mások vizsgálatai alapján azonban nem homogén sárgatest negatívan hat a ciklusra és a fertilitásra (Gábor és mtsai 2004, Grygar és mtsai 1997, Zöldág 1984). Hatvani és mtsai (2009) továbbá nagyobb arányban detektáltak késői magzatvesztést üreges sárgatest által fenntartott vemhesség esetében.

Arra vonatkozóan, hogy az ovulált, folyadéktartalmú képletekből aspirálható folyadékokban milyen hormon- illetve egyéb összetevők koncentrációja mérhető, szakirodalmi utalás nem áll rendelkezésre. Az A és B csoportok plazma- és aspirátum-mintáiban mért magas P4 koncentráció alátámasztja a homogén sárgatesthez való hasonlóságot. E mellett ugyanakkor az aspirátumokban az E2 koncentráció is magas volt, aminek oka nem ismert, de a vérplazmában az E2 nem volt jelen magas koncentrációban (az ovulációt megelőzően, az ivarzási tünetek alatt a vérben az E2 koncentráció 30 pg/ml-nél magasabb; de Silva és mtsai 1980). A vérplazmában mérhető progeszteron-koncentráció ugyanakkor a B csoport esetében volt a legmagasabb ($P < 0,05$). Ezt okozhatta az is, hogy az apoptózis kezdeti szakaszában a granulosa sejtek fokozott szteroid-szintézisre képesek, mivel a még működőképes sejtalkotók az apoptózis elején közelebb kerülnek egymáshoz, így felgyorsulhat a hormon-szintézis. (Vanholder és mtsai 2005). Chuang és mtsai (2010) esetleírásukban egy vemhes tehén petefészkén nagyjából 3,6 cm átmérőjű, üreges képletet (kb. 0,5 cm vastagságú fallal) detektáltak a termékenyítést követő 32. és 92. nap között, mely fenntartotta a vemhességet. Ez a méretű képlet az általam meghatározott B csoportba sorolható, és megerősíti azt a megállapítást, miszerint ilyen képletek P4 termelése alapján képesek lehetnek a vemhesség fenntartására.

Mindkét csoport esetében, az aspirált folyadékokban magas NEFA koncentrációt mértem, aminek a képletek kialakulásában szerepe lehet. Az ovulációs képletekből aspirált folyadék hormon- és NEFA koncentrációjára utaló szakirodalmi hivatkozást nem találtam.

Az A csoportba sorolt képletek ultrahangos felépítése hasonlít a homogén sárgatestre, azzal a különbséggel, hogy 1 cm-nél kisebb átmérőjű, nem echodenz üreggel rendelkeznek, faluk minimum 10 mm vastag és az üreget kötőszövet béleli. Ezek alapján tehát az ilyen típusú képletek elnevezésére az *üreges sárgatestet* javaslom. Az 1 cm-nél nagyobb üreggel, 10 mm-nél keskenyebb fallal és az üreg körül kifejezett kötőszövetes réteggel rendelkező ovulációs struktúrák (B csoport) elnevezésére pedig a *cisztás sárgatestet* javaslom, hasonlóan McEntee és Kenneth (1990) ajánlásához.

Anovulációs képletek

Az általánosan elfogadott definíció szerint az anovulációs petefészek-képletek olyan tüszőkből fejlődnek ki, amik nem ovuláltak. Az ovuláció elmaradásának pathogenezeise még nem teljesen tisztázott, több szerző is a hipotalamusz-hipofízis diszfunkciót jelöli meg, mint kiváltó okot (Garverick 1997, Gümen és Wiltbank 2002, Vanholder és mtsai 2006b). Az

anovulációs képletek osztályozása általában azok méretén, perzisztenciáján, a vér P4 koncentrációján és sárgatest egyidejű jelenléte nélküli fennmaradásukon alapul (Brito és Palmer 2004, Calder és mtsai 2001, Gümen és Wiltbank 2002, Parkinson 2009, Vanholder és mtsai 2006). Isobe és mtsai (2005) a cisztás tüszőket két csoportba sorolták a granulosa sejtek megléte vagy hiánya alapján. Boos és mtsai (1988) follikuláris-theca és follikuláris-luteinizált cisztákat különített el, az utóbbiban makroszkóposan is látható, vastag luteális szövet-réteg jelenléte alapján.

A C csoportba sorolt képletek ultrahangos és szövettani morfológiája (átmérő kisebb, mint 2 cm, falvastagság 1-3 mm, nincs ovulációs papilla) részben hasonlított a tüszők felépítésére. Faluk azonban vastagabb volt, főleg kötőszövetből állt, valamint néhány réteg (vagy éppen hiányzó) granulosa sejt volt azonosítható, luteinizált sejtek nélkül. Ezek alapján a tulajdonságok alapján a C csoport képletei *anovulációs/perzisztens tüszők*nek tekinthetők, ahogy az néhány szerzőnél olvasható. López-Gatius és mtsai (2001) leírták a perzisztens tüszők negatív hatásait, míg Bigelow és Fortune (1998) a domináns tüszőkhöz képest a perzisztens tüszők által termelt magasabb E2 vérkoncentrációkra hívták fel a figyelmet. Ahmad és mtsai (1995) továbbá a magas E2 koncentrációkat magasabb korai magzatvesztési arányának növekedésével is összefüggésbe hozták. A vizsgált képletekből aspirált folyadékból az E2 koncentráció általában magas volt, de csak egy esetben tudtam a vérplazmából is meghatározni az E2 koncentrációt, ami nem érte el az ivarzási tünetek kiváltásához szükséges értéket. Ezzel együtt azonban, az aspirátumok magas E2 koncentrációja miatt lehetséges, hogy ennek a képletnek a jelenléte élő állatban ivarzási tüneteket okozhat. Néhány esetben az aspirátumban 100 nmol/l feletti P4 koncentráció volt mérhető, ami ezeknek a képleteknek a P4-termelő képességét bizonyítja. Mivel szövettanilag szegényes képet láttam ezeknél a formáknál, ezért valószínűleg a hormontermelés korábban történt, és az felhalmozódott a cisztafolyadékban. Borycko és mtsai (1995) hasonló értékeket az általuk vegyes funkciójú cisztáknak nevezett képletek aspirátumaiban mérték (vagyis az aspirátum E2 koncentrációja magasabb, mint a luteinizált cisztában, a P4 viszont alacsonyabb). A NEFA koncentráció alacsonyabb volt, mint az ovulált képletekben, de ennek okát nem tudjuk, mivel a képletek kora ismeretlen.

A D csoportba sorolt képletek esetében (átmérő nagyobb, mint 2 cm, falvastagság kisebb, mint 3 mm, nincs ovulációs papilla), a tüszőkhöz hasonló makroszkópos struktúrát láttam azonban azok mérete, a falvastagsága, valamint a cisztafal belső felületén előforduló sárgás foltok jelenléte eltért a tüszők felépítésétől. Szövettanilag két típust különböztettem meg: a tüszőkhöz hasonló falszerkezet (néhány luteinizált sejt a theca internában), illetve vastag kötőszövetes fal néhány levált granulosa sejtrel (1. és 2. típusok). Thomson (2001) leírásában részleges luteinizációra hívta fel a figyelmet egyes cisztáknál, hasonlóan az általam leírt 1. típusú cisztákhoz. Mindezeket túl az általam talált jellemzők hasonlóak a

McEntee (1990) által leírtakhoz, miszerint a ciszták kialakulása során elsőként a granulosa sejtek elváltozása látható, majd a petesejt és a theca interna degenerálódik. Ezt követően bekövetkezik a granulosa sejtek piknózisa és a sejtmagok töredezése, melyek leválva a ciszta üregébe kerülnek, majd a theca interna sejtei is piknotizálnak és a cisztafal fibrózisa figyelhető meg; ami hasonló az általam vizsgált 2. típusú ciszták jellemzőihez. A luteinizált sejtek jelenléte magyarázhatja néhány hasonló makroszkópos kinézetű struktúra regresszióját PG kezelést követően, ahogy azt Hatvani és mtsai (2012) leírták. A cisztákat Bamberg (1981) hasonlóan csoportosította. Braw-Tal és mtsai (2009) és Nakama (1974) az anovulációs, nem-luteinizált ciszták 3 típusát különítették el hasonlóan az általam leírtakhoz, azonban egy további típust is hozzáadva, ami jellemzőiben az általam 1. és 2. típusnak nevezettek között helyezkedik el. A D csoportba sorolt képletek hormontermelésére jellemző, hogy E2-t nagy mennyiségben termelnek, ami eléri az ivarzáskor mérhető vérplazma koncentrációt. Ennek következtében az állat sokszor termékenyítésre kerül, de a vemhesülés (ovuláció hiányában) elmarad. Hasonlóan magas E2 koncentrációt mértek Calder és mtsai (2001), és megállapították, hogy a domináns típusú tüszőcisztaokban magasabb E2 koncentráció mérhető, mint a domináns tüszőkben. Véleményük szerint a szérum E2 koncentrációval lehet jellemezni a ciszták fejlődési stádiumait. Saját méréseim alapján a D csoportba sorolt képletek aspirátumaiban magasabb E2 koncentrációkat láttam, mint a validáció során az ovuláció előtt álló tüszőből aspirált minta esetében, így érthető, hogy élő állatban ilyen képletek jelenlétekor kifejezett ivarzási tünetek láthatók. Boryczko és mtsai (1995) és Haliloglu és mtsai (2008) is tüszőciszta esetében magasabb E2 koncentrációkat mértek a cisztafolyadékban, mint a luteinizált formáknál, hasonlóan az általam kapott értékekhez (a számszerű koncentrációk eltérnek a szakirodalmi adatokhoz képest, mivel az általunk használt eljárással kizárólag a 17-béta ösztadiol koincentrációk kerültek meghatározásra, de a tendenciák megegyeznek a saját mérések és a szakirodalmi adatok között). Az ezekből a képletekből nyert aspirátumok P4 koncentrációi alacsonyabbak az E csoportban mért értékeknél, ami megegyezik a szakirodalmi adatokkal. Az aspirátumok, illetve a vérplazma hormonkoncentrációi alapján tehát megállapítható, hogy ezek a képletek magas E2 termelésük miatt élő állatokban ivarzás-szerű tüneteket okozhatnak, ami növeli a sikertelen termékenyítések arányát. Az aspirátumokban és ezzel párhuzamosan a vérplazmában mérhető NEFA koncentrációk alacsonyabbak voltak, mint az ovulált képletek esetében, de magasabbak a perzisztáló tüszőknél mért értékeknél. Probo és mtsai (2011) a petefészek-ciszta detektálásának idején élettani határértéken belüli plazma NEFA koncentrációról számoltak be, így véleményük szerint ezek kialakulásában a NEFA-nak nincs szerepe. Mivel azonban az általam vizsgált aspirátumokban, a NEFA koncentrációk nagyjából négyszer magasabbak voltak a vérplazmában mért értékeknél,

ezért elképzelhető, hogy ezekben a képletekben is felhalmozódhat a NEFA ami szerepet játszhat kialakulásukban.

A D csoportba sorolt képleteket általában follikulus cisztának nevezik. Figyelembe véve azonban, hogy falukat vastag kötőszövet alkotja és tüszőből képződnek, a *kötőszövetes-follikulus ciszta* elnevezés megfelelőbbnek tűnik.

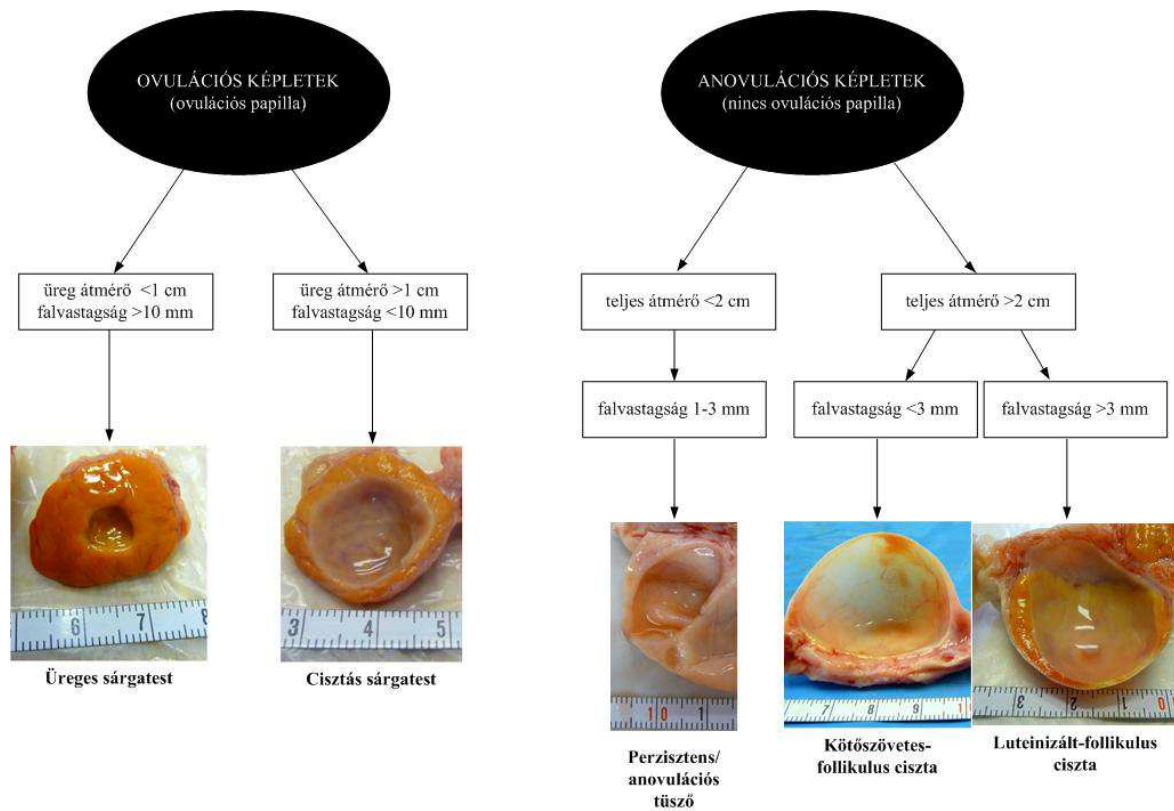
Azokat a nagyméretű anovulációs cisztákat, melyek falában folyamatos, vastag rétegben luteinizált szövet látható (ultrahangos és makroszkópos képeken is jól azonosíthatóan), a többi anovulációs képlettől teljesen eltérő szövettani szerkezet jellemzi (E csoport: átmérő nagyobb, mint 2 cm, 3 mm-nél vastagabb fal, nincs ovulációs papilla). Ebben a csoportban a képletek mikroszkópos felépítése hasonló volt a sárgatestéhez; az üreget körbevevő kollagén- és retikuláris rostok a luteinizált sejtek közé több helyen benyúltak, azonban nem olyan szabályos elrendezésben, mint az ovulált képletek esetében (trabekulák nem voltak jelen). A luteinizált sejtek nagy részét nagy lutein sejtként azonosítottam, de néhány kis lutein sejt is jelen volt. Boos és mtsai (1988) különböző méretű és alakú luteinizált területeket láttak a ciszták mélyebb rétegeiben. A Nakama (1974) által IV. típusként illetve Bamberg (1981) által III. típusba sorolt ciszták, valamint a Thomson (2001) szerint anovulációs luteinizált cisztáknak nevezett képletek hasonlítanak az általam az E csoportba sorolt cisztákhoz (csak a theca sejtréteg azonosítható, nagyban luteinizált formában). Luteinizált cisztákban hasonló szövettani rétegeket különített el Hundshell (1978), Leidl és mtsai (1979) és Peukert-Adam (1981). Lopez-Diaz és Bosu (1992) összehasonlító munkájukban hasonló hisztokémiai jellegzetességeket és fejlődési stádiumokat írtak el a sárgatestek és a luteinizált ciszták esetében. A luteinizált tüsző cisztákban csak a theca rétegben történik luteinizáció és az ovulált képletek nagy lutein sejteieihez hasonló luteinizált sejtek láthatók. A későbbi stádiumokban a kis lutein sejtek (theca eredet) valószínűleg képesek nagy lutein sejtekké alakulni. Így a nagy lutein sejtekhez hasonló sejtek jelenléte a luteinizált tüsző ciszták luteinizált theca rétegében valószínűleg magyarázható a kis lutein sejtek nagy lutein sejtekké történő átalakulásának lehetőségével. A sárgatest és a nagymértékben luteinizált ciszták hasonló összehasonlítása Zöldág (1986) munkájában is olvasható, melyben a follikulus-luteinizált ciszták a sárgatesthez hasonló fejlődési stádiumait különítette el. A ciszta fejlődésének első stádiuma a kis lutein sejtek túlsúlya, és a nagy lutein sejtek emelkedő száma. A második stádiumra – vagyis a ciszta életszakaszának közepére – a nagy lutein sejtek túlsúlya jellemző, de kis lutein sejtek is előfordulnak, míg a harmadik stádiumban (involúciós szakasz) a nagy lutein sejtek degenerációja, piknózisa és a kollagén rostok felszaporodása történik.

A cisztafolyadékban átlagosan mért 31,9 nmol/l P4 koncentráció ugyan szignifikánsan kevesebb volt az A csoportban mért értékeknél, de a D csoport értékéhez képest magasabb, és a vérplazmában is 1 nmol/l-nél magasabb koncentrációban volt jelen. Az aspirátumok E2

koncentrációja azonban az anovulációs képletek közül átlagosan a legalacsonyabb volt, de a vérplazmában az ivarzás idején jellemző koncentrációt mértem. Ennek értelmében tehát ezeknél a képleteknél nem csak a P4 termelés a jellemző – amit a szövettani szerkezet alapján is feltételezni lehet – de az E2 termelés is magas lehet. Ezek következtében tehát ilyen típusú képletek *in vivo* jelenléte esetén vegyes klinikai kép látható: ivarzási tünetek is kialakulhatnak, miközben P4 termelésük blokkolhatja a ciklusos petefészek-működést. Carroll és mtsai (1990) és Brito és Palmer (2004) alapján a ciszták elkülönítése a vér P4 koncentrációjának figyelembe vételével szükséges: a 1 ng/ml érték felett luteinizált cisztáról, az alatt tüszőcisztáról beszélnek. A strukturális elemzések alapján, az általam vizsgált follikulus-luteinizált ciszták diagnózisa egyértelmű, azonban a plazmában mérhető átlagos P4 koncentráció nem haladta meg az 1 ng/ml-t (az 1,44 nmol/l koncentráció 0,45 ng/ml-nek felel meg), így tehát még a vérplazma P4 koncentrációjának ismeretében sem lehet minden esetben egyértelmű diagnózist felállítani. Az aspirátumban mérhető NEFA koncentrációk szignifikánsan alacsonyabbak voltak az A csoportban mért értékeknél ($P < 0,005$), és a vérben mért értékek is az élettani határon belül voltak. Ennek ellenére további vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy a NEFA-nak van-e szerepe a follikulus-luteinizált ciszták kialakulásában.

Mindezek alapján tehát, az E csoportba sorolt ciszták anovulációs eredetét, jelentős luteinizált sejt-tartalmát figyelembe véve, a *luteinizált-follikulus ciszta* elnevezés javasolt a luteális ciszta megnevezés helyett.

A folyadékkal telt petefészek-képletek gyakori előfordulása tejelő tehenekben, valamint azok nem egységes elnevezése indokolja ezeknek a petefészek struktúráknak a tanulmányozását. A makroszkópos, ultrahangos és szövettani jellegzetességek segíthetnek azok azonosításában, kategorizálásában. Az ovulált képletek esetében, az üreg körüli kötőszövet jelenléte és vastagsága utalhat a képlet perzisztenciájára. A sejt-összetételben (kis lutein sejtek, fibroblasztok/fibrociták, piknotikus sejtek), az üreget bélelő kötőszövetes réteg vastagságában, valamint a lutein-szövet tartalmában talált különbségek indokolják az üreges sárgatest és cisztás sárgatest elkülönítését. A gyakran látható átmeneti formák miatt, az anovulációs képletek elkülönítése nem mindig ennyire egyszerű, azonban 1) az ovulációs papilla hiánya, 2) a teljes átmérő és 3) a falvastagság már elég információval szolgálhat a megfelelő ultrahangos diagnózishoz. Vizsgálataim alapján tehát a jelenleg használt nevezéktan módosítása indokolt a 31. ábrán látható kritériumok alapján.



31. ábra: A FTPK-ek elkülönítésének szempontjai, illetve ajánlott nevezéktana.

7. Új tudományos eredmények

1. Az ellés után illetve termékenyítést követően üres tehenekben, az FTPK-k előfordulási gyakorisága között nincs szignifikáns különbség. A tejtermelésnek és az állatok kondíciójának valamint a termékenyítést megelőző hormonális kezeléseknek nincs közvetlen hatása a FTPK-k kialakulására.
2. A termékenyítést követően vizsgált, üres tehenekben gyakrabban fordulnak elő FTPK-k, mint az üres üszőkben.
3. A FTPK-k kialakulásában a megemelkedett plazma NEFA koncentrációnak szerepe lehet, mert magas plazma koncentráció mellett több képlet figyelhető meg, és a képletekből aspirált folyadék NEFA koncentrációja is magas. A magas NEFA (és BHB), valamint az alacsony IGF-I plazma koncentráció nyáron fertilitás csökkenéssel párosul.
4. Az ovulációs eredetű FTPK-k a sárgatesttől sejtösszetételben és a folyadéktartalmú üreg jelenlétében különböznek. Az üreget határoló fal vastag kötőszövetes rétege kóros folyamatra utal, ezért az ovulációs képletek nem tekinthetők minden esetben fiziológiasnak.
5. Az anovulációs képletek magas E2 termelése (vérplazma, aspirátumok) következtében élő állatban kialakulhatnak ivarzás-szerű tünetek, de esetenként (luteinizált ciszták) a P4 termelés is jelentős lehet. Mindkét esetben gyakoribbá válnak a szaporodásbiológiai zavarok (sikertelen termékenyítés, illetve a ciklus blokkolása).
6. Javaslatot dolgoztam ki a FTPK-k nevezéktanának átalakítására (31. ábra).

8. Irodalom

1. Acland H.M.: Reproductive system: Female. In: *Thomson's special pathology*. Szerk.: McGavin, M.D., Carlton, W.W., Zachary, J.F. Mosby, Inc., 2001, p. 512-43.
2. Ahmad, N., Schrick, F.N., Butcher, R.L., Inskeep, E.K.: **Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef-cows**, Biol. Reprod., 52. 1129-1135, 1995.
3. Al-Dahash, S.Y., David, J.S.: **Anatomical features of cystic ovaries in cattle found during an abattoir survey**, Vet. Rec., 101. 320-324, 1977a
4. Al-Dahash, S.Y., David, J.S.: **Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries**, Vet. Rec., 101. 342-347, 1977b.
5. Alila, H.W., Hansel, W.: **Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies**. Biol. Reprod. 31, 1015-1025, 1984.
6. Assey, R.J., Purwantara, B., Greve, T., Hyttel, P., Schmid, M.H.: **Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis**, Theriogenology, 39. 1321-1330, 1993.
7. Bage, R., Forsberg, M., Gustafsson, H., Larsson, B., Rodríguez-Martínez, H.: **Effect of ACTH-challenged on progesterone and cortisol levels in ovariectomized repeat breeder heifers**, Anim. Reprod. Sci., 63. 65-76, 2000.
8. Bamberg, E., Choi, H. S., Mostl, E., Klaring, W. J., Stockl, W.: **Steroidhormongehalt und Aromatasenaktivitat in Ovarialzysten des Rindes**. Zbl. Vet. Med. 28, 366-372, 1981.
9. Bartlett, P.C., Ngategize, P.K., Kaneene, J.B., Kirk, J.H., Anderson, S.M., Mather, E.C.: **Cystic follicular disease in Michigan Holstein-friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and economic impact**, Prev. Vet. Med., 4. 15-33, 1986.

10. Benzie, I.F.F., Strain, J.J.: **The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay**, *Anal. Biochem.* 239. 70-76, 1996.
11. Bigelow, K.L., Fortune, J.E.: **Characteristics of prolonged dominant versus control follicles: follicle cell numbers, steroidogenic capabilities, and messenger ribonucleic acid for steroidogenic enzymes**, *Biol. Reprod.*, 58. 1241-1249, 1998.
12. Bonnett, B.N., Martin, S.W.: **Path analysis of peripartum and postpartum events, rectal palpation findings, endometrial biopsy results and reproductive performance in Holstein-Friesian dairy cows**, *Prev. Vet. Med.*, 21. 279-288, 1995.
13. Borromeo, V., Bramani, S., Berrini, A., Sironi, G., Finazzi, M., Cremonesi, F., Secchi, C.: **Growth hormone but not prolactin concentrations in the fluid of bovine ovarian cysts are related to the cystic stage of luteinization**, *Theriogenology*, 46. 481-489, 1996.
14. Boos, A., Wittkowski, G., Schwarz, R.: **Activity of alkaline phosphatase in uterine flushings if dairy cows affected with ovarian cysts or endometritis**, *Theriogenology*, 30. 217-225, 1988.
15. Boryczko, Z., Bostedt, H., Hoffman, B.: **Comparison of the hormonal and chemical composition of the fluid from bovine ovarian follicles and cysts**, *Reprod. Dom. Anim.*, 30. 36-38, 1995.
16. Bosu, W.T.K., Peter, A.T.: **Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows**, *Theriogenology*, 28. 725-736, 1987.
17. Bracher, V., Parlevliet, J., Fazelli, A.R., Pieterse, M.C., Vos, P.L., Dielmeman, S.J., Taverne, M.A., Colenbrander, B.: **Repeated transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration in the mare**, *Equine Vet. J. Suppl.*, 15. 75–78, 1993.
18. Braw-Tal, R., Pen, S., Roth, Z.: **Ovarian cysts in high-yielding dairy cows**, *Theriogenology*, 72. 690-98, 2009.

19. Brito, L.F.C., Palmer, C.W.: **Cystic ovarian disease in cattle**, Large animal veterinary rounds 4(10); 2004. http://www.larounds.ca/crus/laveng_1204.pdf
20. Brogliatti, G.M., Adams, G.P.: **Ultrasound-guided transvaginal oocyte collection in prepubertal calves**, Theriogenology, 45. 1163–1176, 1996.
21. Brubacher, G., Vuilleumier, J.P.: Vitamin A. In: *Clinical Biochemistry: Principles and Methods*. Szerk.: Curtius, H.C., Roth, M. Walter de Gruyter, Berlin-New York. 1974.
22. Butler, W.R.: **Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows**, Livestock Prod. Sci., 83. 211-218, 2003.
23. Calder, M.D., Manikkam, M., Salfen, B.E., Youngquist, R.S., Lubahn, D.B., Lamberson, W.R., Garverick, H.A.: **Dominant bovine ovarian follicular cysts express increased levels of messenger rnas for luteinizing hormone receptor and 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase Δ 4, Δ 5 isomerase compared to normal dominant follicles**, Biol. Reprod., 65. 417-76, 2001.
24. Carroll, D.J., Pierson, R.A., Hauser, R., Grummer, R.R., Combs, D.K.: **Variability of ovarian structures and plasma progesterone profiles in dairy cows with ovarian cysts**, Theriogenology, 34. 349-370, 1990.
25. Choi, H.S., Möstl, E., Bamberg, E.: **Progesterone, 17 α -hidroxyprogesterone, androgens and oestrogens in bovine ovarian cysts**, Anim. Reprod. Sci., 5. 175-179, 1982/1983.
26. Chuang, S.-T., Liu, W.-B., Chou C.-C., Jack, A., Chan, J.P.-W.: **Corpus luteum graviditatis with a follicular lutein cyst-like structure during early pregnancy in a cow. A case report**, Tierarztl. Prax., 38. 233-236, 2010.
27. De Rensis, F., Scaramuzzi, R. J.: **Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow**, Theriogenology, 60. 1139-1151, 2003.
28. De Silva, A.W.M.V., Anderson, G.W., Gwazdauskas, F.C., Mc Gilliard, M.L., Lineweaver, J.A.: **Interrelationships with estrus behavior and conception in dairy cattle**, J. Dairy Sci., 64. 2409-2418, 1980.

29. Donaldson, L., Hansel, W.: **Histological study of bovine corpora lutea**, J. Dairy Science, 48. 905-909, 1965.
30. Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T., Webster, G.: **A body condition scoring chart for Holstein dairy cows**, J. Dairy. Sci., 72, 68-78, 1989.
31. Farin, P.W., Youngquist, R.S., Parfet, J.R., Garverick, H.A.: **Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography**, Theriogenology, 34. 633-642, 1990.
32. Foley, G.L.: **Pathology of the corpus luteum of cows**, Theriogenology, 45. 1413-1428, 1996.
33. Földi J., Kulcsár M., Pécsi A., Huyghe, B., de Sa, C., Lohuis, J. A.C.M., Cox, P., Huszenicza Gy.: **Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle**, Anim. Reprod. Sci., 96. 265-281, 2006.
34. Fralix, K.D., Patterson, D.J., Schillo, K.K., Stewart, R.E., Bullock, K.D.: **Change is morphology of corpora lutea, central luteal cavities and steroid secretion patterns of postpartum suckled beef cows after melengestrol acetate with or without prostaglandin F2 α** , Theriogenology, 45. 1255-1263, 1996.
35. Fujimoto, Y.: **Pathological studies on sterility in dairy cows**, Jpn. J. Vet. Res., 4: 129-142, 1956.
36. Gábor Gy., Kastelic, J.P., Pintér S., Szász F., Szigeti E., Solymosi N.: **Improving reproductive performance in lactating dairy cows by synchronising ovulation or inducing oestrus**, Acta Vet. Hung., 50. 231-234, 2002.
37. Gábor Gy., Tóth F., Mézes M.: **Preliminary comparison of luteal cavity size with some serum metabolic parameters in dairy cows**, Biol. Reprod., 790. SI 274-274, 2004.
38. Gábor Gy.: **Képalkotó eljárások szaporodásbiológiai felhasználása**, Állattenyésztés és Takarmányozás, 54. 504-515, 2005.

39. Gábor Gy., Tóth F., Ózsvári L., Abonyi-Tóth Zs., Sasser, G.: **Early detection of pregnancy and embryonic loss in dairy cattle by ELISA tests**, *Reprod. Domest. Anim.*, 42. 633-636, 2007.
40. Gábor Gy., Tóth F., Ózsvári L., Abonyi-Tóth Zs., Sasser, G.: **Factors influencing pregnancy rate and late embryonic loss in dairy cattle**, *Reprod. Domest. Anim.*, 43. 53-58, 2008.
41. Garcia, A., Salaheddine, M.: **Ultrasonic morphology of the corpora lutea and central luteal cavities during selection of recipients for embryo transfer**, *Reprod. Domest. Anim.*, 35. 113-118, 2000.
42. Garverick, H.A.: **Ovarian follicular cysts in dairy cows**. *J. Dairy Sci.*, 80. 995-1004, 1997.
43. Ginther, O.J., Kot, K., Kulick, L.J., Wiltbank, M.C.: **Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle**, *Theriogenology*, 48. 75–87, 1997a
44. Ginther, O.J., Kot, K., Kulick, L.J., Wiltbank, M.C.: **Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: oestradiol concentrations early in a follicular wave**, *J. Reprod. Fertil.*, 109. 181–186, 1997b
45. Grygar, I., Kudláč, E., Doležel, R., Nedbálková, J.: **Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity**, *Anim. Reprod. Sci.*, 49. 77-82, 1997.
46. Gümen, A., Wiltbank, M.C.: **An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle**, *Biol. Reprod.*, 66. 1689-1695, 2002.
47. Haliloglu, S., Erdem, H., Serpek, B., Tekeli, T., Bulut, Z.: **The relationship among vitamin C, b-carotene, vitamin A, progesterone and oestradiol 17-b concentrations in plasma and cyst fluid of holstein cows with ovarian cyst**, *Reprod. Dom. Anim.*, 43. 573–577, 2008.

48. Hanzen, C.H., Pieterse, M., Scenczi, O., Drost, M.: **Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum**, Vet. J., 159. 161-170, 2000.
49. Haraszti J., Huszenicza Gy., Molnár L., Solti L., Csernus V.: **Postpartal ovarian activity of healthy cows and those affected by subclinical metabolic disorders**, Anim. Reprod. Sci., 9. 125-136, 1985.
50. Hasler, M., Eigenmann, U., Janett, F., Thun, R.: **Body condition and frequency of ovarian cysts in Brown Swiss cows during the first 40 days of lactation**, Schweiz. Arch. Tierh., 146. 213-221, 2004
51. Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **A tejelő szarvasmarhák petefészkén előforduló, nem szokványos luteinképletek klinikai megjelenésének gyakorisága az ellést, illetve a termékenyítést követő időszakban, egy hazai állományban**, Magy. Allatorvosok., 11. 647-650, 2009.
52. Hatvani Cs., Balogh O.G., Endrődi T., Abonyi-Tóth Zs., Holló I., Kastelic, J., Gábor Gy.: **Estrus response and fertility after a single cloroprosenol treatment in dairy cows with various ovarian structures**, Can. J. Vet. Res. (2012. közlésre elfogadva)
53. Hundschell, C.: Untersuchungen zum Hormongehalt bei Follikelzysten (Follikel-Theca- und Follikel-Lutein-Zysten) im Blut und in der Zystenflüssigkeit sowie zum Auftreten von zyklischen Vorgängen an den Ovarien beim Bestehen von Follikelzysten beim Rind. München, Univ., Fachber. Tiermed., Diss., 1978.
54. Huszenicza Gy., Haraszti J., Molnár L., Solti L., Fekete S., Ekés K., Yaro, A.C.: **Some metabolic characteristics of dairy cows with different post partum ovarian function**, J. Vet. Med. A., 35. 506-515, 1988.
55. Huszenicza Gy., Kulcsár M., Nagy P., Cseh S.: **A sárgatest működésének, valamint az embrió és az anyai szervezet kölcsönhatásának élettani és klinikai vonatkozásai a vemhesség implantatio előtti szakaszában kérődzőkben, sertésben és lovon. Irodalmi összefoglaló I. A sárgatest működése**, Magy. Allatorvosok., 49. 261-264, 1994.

56. Huszenicza Gy., Jánosi Sz., Kulcsár M., Kóródi P., Kátai L.: **Egyes, endotoxin mediálta betegségek endokrinológiai és szaporodásbiológiai következményei gazdasági haszonállatokban.** Magy. Allatorvosok., 120. 329-335, 1998.
57. Huszenicza Gy., Fodor M., Gacs M., Kulcsar M., Dohmen, MJW., Vamos M., Porkolab L., Kegl T., Bartyik J., Lohuis, J.A.C.M., Janosi Sz., Szita G.: **Uterine bacteriology, Resumption of cyclic ovarian activity and fertility in postpartum cows kept in large-scale dairy herds,** Reprod. Dom. Anim., 34. 237-245, 1999.
58. Huszenicza Gy., Fekete S., Szigeti G., Kellems, R.O., Kulcsár M., Fébel H., Nagy P., Cseh S., Veresegyházy T., Hullár I.: **Ovarian consequences of low dose peroral Fusarium (T2) toxin intake in ewe and heifer model,** Theriogenology, 53. 1631-1639, 2000.
59. Huszenicza Gy., Jánosi Sz., Kulcsár M., Kóródi P., Reiczigel J., Kátai L., Peters, A. R., De Rensis, F.: **Effects of clinical mastitis on ovarian function in postpartum dairy cows,** Reprod. Domest. Anim., 40. 199-204, 2005.
60. Isobe, N., Kitabayashi, M., Yoshimura, Y.: **Microvascular distribution and vascular endothelial growth factor expression in bovine cystic follicles,** Domest. Anim. Endocrin., 29. 634-45, 2005.
61. Kahn, C.M.: Cystic ovary disease. In: *The Merck veterinary manual* (Ninth Edition), Szerk.: Kahn, C.M., Merck & Co., Inc.; Whitehouse Station, N.J., USA, 2005, p. 1116-1119.
62. Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Ginther, O.J.: **Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers,** Theriogenology, 33. 1269-1278, 1990a.
63. Kastelic, J.P., Pierson, R.A., Ginther, O.J.: **Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrus cycle and early pregnancy in heifers,** Theriogenology, 34. 487-498, 1990b.
64. Kissane, J.M., Anderson, W.A.D.: Inflammation and healing. In: *Anderson's Pathology.* Szerk.: Kissane, J.M., Anderson, W.A.D., The C.V. Mosby Company, St. Louis, Toronto, Princeton, 1985 (Eighth Edition), p. 47.

65. Kito, S., Okuda, K., Miyazawa, K., Sato, K.: **Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning**, Theriogenology, 25. 325-333, 1986.
66. Kot, K., Anderson, L.E., Tsai, S.J., Wiltbank, M.C., Ginther, O.J.: **Transvaginal, ultrasound-guided biopsy of the corpus luteum in cattle**, Theriogenology, 52. 967–993, 1999.
67. Kotwica, J., Bogacki, M., Rekawiecki, R.: **Neural regulation of the bovine corpus luteum**, Domest. Anim. Endocrin., 23. 299-308, 2002.
68. Krutsay M.: *Histotechnic*, Medicina Könyvkiadó, Budapest 1980, p. 82-83.
69. Kulcsár M., Huszenicza Gy., Cseh S., Nagy P.: **A sárgatest működésének, valamint az embrió és az anyai szervezet kölcsönhatásának élettani és klinikai vonatkozásai a vemhesség implantatio előtti szakaszában kérődzőkben, sertésben és lovon. Irodalmi összefoglaló II. A vemhesség anyai felismerése**, Magy. Allatorvos, 49. 265-266, 1994.
70. Kulcsár M., Jánosi Sz., Lehtolainen, T., Kátai L., Delavaud, C., Balogh O., Chilliard, Y., Pyörälä, S., Rudas P., Huszenicza Gy.: **Feeding-unrelated factors influencing the plasma leptin level in ruminants**, Domest. Anim. Endocrin., 29. 214-226, 2005.
71. Leidl, W., Stolla, R., Hundschell, C., Bostedt, H.: **Zur Ovarialzyste des Rindes. I. Klassifizierung und Diagnose**, Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr., 92. 369-376, 1979.
72. Leroy, J.L.M.R., Vanholder, T., Mateusen, B., Christophe, A., Opsomer, G., de Kruif, A., Genicot, G., Van Soom, A.: **Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro**, Reproduction, 130. 485-495, 2005.
73. Lopez, H., Buncha, T.D., Shipka, M.P.: **Estrogen concentrations in milk at estrus and ovulation in dairy cows**, Anim. Reprod. Sci., 75. 37-46, 2002.

74. Lopez-Diaz, M.C., Bosu, W.T.K.: **A review and an update of cystic ovarian degeneration in ruminants**, *Theriogenology*, 37. 1163-1183, 1992.
75. López-Gatius F., Santolaria P., Yániz J., Ruttlant J., López-Béjar M.: **Persistent ovarian follicles in dairy cows: A therapeutic approach**, *Theriogenology*, 56. 649-659, 2001.
76. López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J., Fenech, M., López-Béjar, M.: **Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows**, *Theriogenology*, 58. 1623-1632, 2002.
77. McEntee, K.: Cysts in and around the ovary. In: *Reproductive pathology of domestic mammals*, Szerk.: McEntee, K., Academic press Inc. San Diego, California 92101. 1990, p. 52-59.
78. Nagy P., Huszenicza Gy., Kulcsár M., Cseh S.: **A sárgatest működésének, valamint az embrió és az anyai szervezet kölcsönhatásának élettani és klinikai vonatkozásai a vemhesség implantatio előtti szakaszában kérődzőkben, sertésben és lovon. Irodalmi összefoglaló III. Gyakorlati vonatkozások**, *Magy. Allatorvos*, 49. 268-270, 1994.
79. Nakama, S.: **Enzyme-histochemical studies on normal and cystic ovaries in the cow and sow**, *Bull. Univ. Osaka Pref.*, Serie B 28. 19 – 98, 1976
80. Nelson, S.T., Martin, A.D., Osteras, O.: **Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle**, *Acta Vet. Scand.*, 52. Article number: 60, 2010.
81. Neuvians, T.P., Schams, D., Berisha, B., Pfaffl, M.W.: **Involvement of pro-inflammatory cytokines, mediators of inflammation, and basic fibroblast growth factor in prostaglandin F2 α -induced luteolysis in bovine corpus luteum**, *Biol. Reprod.*, 70. 473-480, 2004.
82. Nishimura, R., Bowolaksono, A., Acosta, T.J., Murakami, S., Piotrowska, K., Skarzynski, D.J., Okuda, K.: **Possible role of interleukin-1 in the regulation of bovine corpus luteum throughout the luteal phase**, *Biol. Reprod.*, 71. 1668-1693, 2004.

83. Okuda, K., Kito, S., Sumi, N., Sato, K.: **A study of the central cavity in the bovine corpus luteum**, Vet. Rec., 123. 180-183, 1988.
84. Ortega, H.H., Salvetti, N.R., Müller, L.A., Amable, P., Lorente, J.A., Barbeitoyz, C.G., Gimenez, E.J.: **Characterization of cytoskeletal proteins in follicular structures of cows with cystic ovarian disease**, J. Comp. Path., 136. 222-230, 2007.
85. O'Shea, J.D., Rodgers, R.J., D'Occhio, M.J.: **Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow**, J. Reprod. Fert., 85. 483-487, 1989.
86. Ózsvári L.: Állategészségügyi döntéselemzés a tejtermelő gazdaságokban. Doktori (PhD) értekezés, Szent István Egyetem, Gazdálkodás és Szervezéstudományok Doktori Iskola, Gödöllő, p. 38, 2004.
87. Ózsvári L., Tóth F., Gábor Gy.: **The financial importance of reproduction management in dairy herds**, Reprod. Domest. Anim., 41. Abs P148, p. 346, 2006.
88. Parkinson, T.: Infertility and subfertility in the cow: structural and functional abnormalities, management deficiencies and non-specific infections (Part Five: Subfertility and infertility). In: *Veterinary reproduction and obstetrics*, Szerk.: Noakes, D.E., Parkinson, T.J., England GCW (Ed.), 9th Edition Saunders Elsevier, 2009, pp:439-48.
89. Peukert-Adam, I.: Makro- und mikromorphologische Untersuchungen an Follikel-Lutein-Zysten des Rindes, Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss., 1981.
90. Perez-Marin, C.: **Formation of corpora lutea and central luteal cavities and their relationship with plasma progesterone levels and other metabolic parameters in dairy cattle**, Reprod. Dom. Anim., 44. 384-389, 2009.
91. Pethes Gy., Huszenicza Gy., Kulcsár M., Somorjai Gy.: **Szintetikus béta-karotin etetésének tapasztalatai nagyüzemi tehenészetekben. II. A tej progeszteron-koncentrációja és a béta-karotin-kiegészítés közötti összefüggés**, Magyar Allatorvos, 39. 263-266, 1984.

92. Pethes Gy., Horváth E., Kulcsár M., Huszenicza Gy., Somorjai Gy., Haraszti J.: **In vitro progesterone production of corpus luteum cells of cows fed low and high levels of beta-carotene**, Zbl. Vet. Med. A., 32. 289-296, 1985.
93. Pieterse, M.C., Kappen, R.A., Kruip, A.M., Taverne, M.A.M.: **Aspiration of bovine oocyte,during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries**, Theriogenology, 30. 751–762, 1988.
94. Prasse, M.E., Gundling, N., Hoedemaker, M.: **Retrospective analysis of ovarian cysts in dairy cows. Part 1: Risk factors**, Tieraerzt. Umschau, 65. 208+, 2010.
95. Probo, M., Comin, A., Cairoli, F., Faustini, M., Kindahl, H., De Amicis, I., Veronesi, M.C.: **Selected metabolic and hormonal profiles during maintenance of spontaneous ovarian cysts in dairy cows**, Reprod. Dom. Anim., 46. 448-454, 2011.
96. R Development Core Team: **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>, 2006.
97. Roberge, S., Brown, J.L., Reeves, J.J.: **Elevated inhibin concentration in the follicular fluid of dairy cows with chronic cystic ovarian disease**, Theriogenology, 40. 809-818, 1993.
98. Roth, Z., Biran, D., Lavon, Y., Dafini, I., Yakobi, S., Braw-Tal, R.: **Endocrine milieu and developmental dynamics of ovarian cysts and persistent follicles in postpartum dairy cows**, J. Dairy Sci., 95. 1729-1737, 2012.
99. Sartori, R., Rosa, G.J., Wiltbank, M.C.: **Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter**, J.Dairy Sci. 85. 2813-2822, 2002.
100. Senger, P.L.: *Pathways to Pregnancy and parturition*, Current Conceptions, Inc., 1999. pp.17-19., 149-166., 239-247.

101. Silvia, W.J., Hatler, T.B., Nugent, A.M., de Fonseca, L.F.: **Ovarian follicular cysts in dairy cows: An abnormality in folliculogenesis**, *Domest. Anim. Endocrin.*, 23. 167-77, 2002.
102. Simoes, J., Almeida, J.C., Baril, G., Azevedo, J., Fontes, P., Mascarenhas, R.: **Assessment of luteal function by ultrasonographic appearance and measurement of corpora lutea in goats**. *Anim. Reprod. Sci.*, 97. 36-46, 2007.
103. Singh, J., Adams, G.P.: **Histomorphometry of dominant and subordinate bovine ovarian follicles**, *Anat. Rec.*, 258. 58–70, 2000.
104. Smith, M.F., McIntush, E.W., Smith, G.W.: **Mechanisms associated with corpus luteum development**, *J. Anim. Sci.*, 72. 1857-1872, 1994.
105. Somorjai Gy., Kulcsár M., Huszenicza Gy., Pethes Gy.: **Interrelation of milk progesterone and plasma beta-carotene concentrations in the cow**. *Acta Physiol. Hung.*, 63. 374-375, 1984.
106. Stevenson, J.S., Portaluppi, M.A., Tenhouse, D.E., Lloyd, A., Eborn, D.R., Kacuba, S., DeJarnette, J.M.: **Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin and progesterone**, *J. Dairy Sci.*, 90. 331-340, 2007.
107. Summers, P.M.: **An abattoir study of the genital pathology of cows in northern Australia**, *Aust. Vet. J.*, 50. 403–406, 1974.
108. Taniguchi, H., Yokomizo, Y., Okuda, K.: **Fas-Fas ligand system mediates luteal cell death in bovine corpus luteum**, *Biol. Reprod.*, 66. 754-759, 2002.
109. Taponen, J., Kulcsár M., Kátai L., Huszenicza Gy., Rodríguez-Martínez, H., Katila, T.: **Short oestrous cycles and oestrous signs after premature ovulations induced with cloprostenol and gonadotropin-releasing hormone in cyclic dairy cows**, *Theriogenology*, 58. 1291-1302, 2002.

110. Thomson, R. G.: Reproductive system: Female. In: *Thomson's special pathology*. Szerk.: McGavin, M. D., Carlton, W. W., Zachary, J. F. (ed) Mosby Inc., Maryland Heights, USA, 2001, pp. 426-427.
111. Tom, J.W., Pierson, R.A., Adams, G.P.: **Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea**, *Theriogenology*, 49. 1345-1352, 1998.
112. Tsai, S.J., Wiltbank, M.C.: **Prostaglandin F2 α regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea**, *Biol. Reprod.*, 58. 346-352, 1998.
113. Vanholder, T., Leroy, J.L.M.R., Van Soom, A., Opsomer, G., Maes, D., Coryn, M., de Kruif, A.: **Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro**, *Anim. Reprod. Sci.*, 87. 33-44, 2005.
114. Vanholder, T., Leroy, J.L.M.R., Van Soom, A., Maes, D., Coryn, M., Fiers, T., De Kruif, A., Opsomer, G.: **Effect of non-esterified fatty acids on bovine theca cell steroidogenesis and proliferation in vitro**, *Anim. Reprod. Sci.*, 92. 51-63, 2006.a
115. Vanholder, T., Opsomer, G., De Kruif, A.: **Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review**, *Reprod. Nutr. Dev.*, 46. 105-119, 2006.b
116. Van Sickle D.C., Dellmann H.D., Brown E.M.: Connective and supportive tissues. In: *Textbook of veterinary histology*. Szerk.: Dellmann, H.D. Lea&Febiger, Philadelphia, 1993 (Fourth Edition)., p. 29.
117. Veronesi, M.C., Gabai, G., Battocchio, M., Mollo, A., Soldano, F., Bono, G., Cairolì, F.: **Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows**, *Theriogenology*, 58. 61-68, 2002.
118. Vinatier, D., Dufour, Ph., Tordjeman-Rizzi, N., Prolongeau, J.F., Depret-Moser, S., Monnier, J.C.: **Immunological aspects of ovarian function: role of the cytokines**. *Eur. J. Obstet. Gyn. R. B.*, 63. 155-168, 1995.

119. Wiltbank, M.C., Shiao, T.F., Bergfelt, D.R., Ginther, O.J.: **Prostaglandin F_{2α} receptors in the early bovine corpus luteum**, Biol. Reprod., 52. 74-78, 1995.
120. Wolfenson, D., Lew, B.J., Thatcher, W.W., Graber, Y., Meidan, R.: **Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows**, Anim. Reprod. Sci., 47. 9-19, 1997.
121. Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R.: **Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects**, Anim. Reprod. Sci., 60-61. 535-547, 2000.
122. Wolfenson, D., Sonogo, H., Bloch, A., Shaham-Albalancy, A., Kaim, M., Folman, Y., Meidan, R.: **Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells**, Domest. Anim. Endocrin., 22. 81-90, 2002.
123. Youngquist, R.S.: Cystic follicular degeneration in the cow. In: *Current therapy in theriogenology*, Szerk.: Morrow, D.A., WB Saunders, Philadelphia, 1986. p. 349-354.
124. Zemjanis R.: Examination of the cow: Changes in the ovaries and oviducts. In: *Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction*, The Williams & Wilkins Company Baltimore, 1970. p. 67-69.
125. Zeron, Y., Ocheretny, A., Kedari O., Borochoy, A., Sklan, D., Arav, A.: **Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles**, Reproduction, 121. 447-454, 2001.
126. Zöldág L.: **A petefészek nagycystás tüszőelfajulása tejelő tehenekben I. A petefészek nagycystáinak elkülönítő kórjelzése**, Magy. Allatorvos, 39. 467-470, 1984.
127. Zöldág L., Vetési F., Solti L., Molnár L.: **A ciklikus sárgatest és a folliculus-luteincysta összehasonlító endokrinológiai és morfológiai tanulmányozása szarvasmarhában (Comparative endocrinological and morphologic studies of**

the cyclic corpus luteum and follicular-luteinic cyst in cattle), Magy. Allatorvos, 41. 343-347, 1986.

9. A doktori kutatás eredményeinek közlései

a, Lektorált, impakt faktorra bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk

Balogh O.G., Sándor Cs., Lukácsi E., Túry E., Gábor Gy.: **A sárgatest, az üreges sárgatest és a lutein ciszta kialakulásának etiológiája és pathogenezeise tejelő szarvasmarhákban. Irodalmi áttekintés**, Magyar Állatorvosok Lapja, 130. 8-18, 2008. (IF=0,088)

Balogh O.G., Hatvani Cs., Gábor P., Túry E., Gábor Gy.: **A tejelő szarvasmarhák petefészkében előforduló, nem szokványos lutein képletek kialakulásuk metabolikus hátterének, valamint szövettani szerkezetének vizsgálata**, Magyar Állatorvosok Lapja, 131. 587-591, 2009. (IF=0,2)

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **A tejelő szarvasmarhák petefészkén előforduló, nem szokványos lutein képletek klinikai megjelenésének gyakorisága az ellést, illetve a termékenyítést követő időszakban, egy hazai állományban**, Magyar Állatorvosok Lapja, 131. 647-650, 2009. (IF=0,2)

Balogh O.G., Fébel H., Huszenicza Gy., Kulcsár M., Abonyi-Tóth Zs., Endrődi T., Gábor Gy.: **Seasonal fertility differences in synchronised dairy cows: Ultrasonic, metabolic and endocrine findings**, Acta Vet. Hung., 60. 131-143, 2012. (IF 2011= 0,673)

Hatvani Cs., Balogh O.G., Endrődi T., Abonyi-Tóth Zs., Holló I., Kastelic, J., Gábor Gy.: **Estrus response and fertility after a single cloroprosenol treatment in dairy cows with various ovarian structures**, Can. J. Vet. Res. (2012. közlésre elfogadva)

Balogh O.G., Túry E., Abonyi-Tóth Zs., Kastelic J., Gábor Gy.: **Macroscopic and histological differences among fluid-filled ovarian structures in dairy cows**, Acta Vet. Hung. (2013. bírálók által elfogadva/javasolva)

***b, Lektorált, impakt faktorraal nem bíró tudományos folyóiratban
megjelent/elfogadott publikációk***

Balogh O.G., Sándor Cs., Lukácsi E., Gábor Gy., Mézes M.: **Frequency and pathogenesis of luteal cavities and cysts in dairy cattle**, Bulletin of Szent István University, 5-13, 2007.

Gábor Gy., Balogh O.G., Kern L.: **Studies of factors influencing reproductive performance in Hungarian Holtsein-Friesian cows**, Hungarian Agricultural Research, 4. 21-25, 2010.

Gábor Gy., Balogh O.G., Kern L.: **Tejelő tehenek szaporodásbiológiai gondozása**. Magyar Állattenyésztők Lapja, XXXIX. évfolyam (2011). 11. 22-25.

c, Könyvek, könyvfejezetek

d, Konferencia prezentációk

Balogh O.G., Sándor Cs., Abonyi-Tóth Zs., Túry E., Gábor Gy.: **Frequency and the possible background of luteal cavities and cysts in dairy cattle**, Reproduction in Domestic Animals, 43. 31-31. Suppl. 3, 2008 (Poster in 16th International Congress on Animal Reproduction, Jul 13-17, 2008 Budapest, Hungary)

Balogh O.G., Sándor Cs., Abonyi-Tóth Zs., Gábor P.R., Endrődi T., Gábor Gy.: **The possible effect of metritis on formation of irregular corpus luteum (CL) forms in postpartum dairy cows**, Biology of Reproduction, Sp. Iss.:164-165 Meeting Abstract: 469, 2008 (Poster in 41st Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, May 27-30, 2008 Kona, Hi)

Balogh O.G., Hatvani Cs., Gábor p., Túry E., Gábor Gy.: **A nem szokványos lutein képletek szövettani, és kialakulásuk metabolikus hátterének vizsgálata tejelő szarvasmarhákban**, Akadémiai beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Klinikumok, Gyógyszertan, Toxikológia, Budapest, SzIE-ÁOTK, 2009. január. 26-29.

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **A nem szokványos lutein képletek klinikai manifesztációja az ellést illetve termékenyítést követő időszakban tejelő szarvasmarha állományban**, Akadémiai beszámolók, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Klinikumok, Gyógyszertan, Toxikológia, Budapest, SZIE-ÁOTK, 2009. január. 26-29.

Balogh O.G., Hatvani Cs., Gábor P., Túry E., Gábor Gy.: **A nem szokványos lutein képletek szövettani, és kialakulásuk metabolikus hátterének vizsgálata tejelő szarvasmarhákban**, Akadémiai beszámolók, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Klinikumok, Gyógyszertan, Toxikológia, Budapest, SZIE-ÁOTK, 2009. január 26-29.

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **A nem szokványos lutein képletek klinikai manifesztációja az ellést illetve termékenyítést követő időszakban tejelő szarvasmarha állományban**, Akadémiai beszámolók, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Klinikumok, Gyógyszertan, Toxikológia, Budapest, SZIE-ÁOTK, 2009. január 26-29.

Balogh O.G., Hatvani Cs., Gábor P., Túry E., Gábor Gy.: **A tejelő szarvasmarhák petefészkében előforduló, nem szokványos lutein képletek kialakulásuk metabolikus hátterének, valamint szövettani szerkezetének vizsgálata**, 15. Szaporodásbiológiai Találkozó, Eger, 2009. április 17-18.

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **A tejelő szarvasmarhák petefészkén előforduló, nem szokványos lutein képletek klinikai megjelenésének gyakorisága az ellést, illetve A termékenyítést követő időszakban, egy hazai állományban**, 15. Szaporodásbiológiai Találkozó, Eger, 2009. április 17-18.

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **Nem szokványos lutein képletek megjelenésének és hatásának vizsgálata 2 holstein-fríz nagyüzemi tehenészet állományszintű felmérésének tükrében**, Magyar Buiatrikus Társaság 19. Nemzetközi Kongresszusa, Debrecen, 2009. október 14-17. Proceedings: 130-135.

Balogh O.G., Fébel H., Hatvani Cs., Gábor Gy.: **Relationship between NEFA plasma concentrations and fertility in synchronized dairy cows**, Reproduction in Domestic Animals, 44. 82-82, suppl. 3, 2009 (Poster in 13th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Ghent, Belgium, 9-12 September, 2009)

Gábor Gy., Hatvani Cs., Balogh O.G.: **The effect of calving procession for the occurrence and frequency of metritis and irregular luteal forms (ILF) on ovaries in the postpartum dairy cows**, Reproduction in Domestic Animals, 44. 103-103, suppl. 3, 2009 (Poster in 13th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Ghent, Belgium, 9-12 September, 2009)

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I.: **Rendellenes petefészek képletek előfordulási gyakoriságának vizsgálata tejtermelő tehenekben**, XV. Ifjúsági Tudományos Fórum, Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely, 2009. április 16. CD:ISBN 978-963-9639-33-1

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I.: **Rendellenes petefészekképletek hatása a szaporodásbiológiai mutatókra és problémákra tejelő szarvasmarha állományban**, Tavasz Szél Konferencia, Szeged, 2009. május 21-24. Konferencia kiadvány 2009: 534-535.o.

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I., Gábor Gy.: **A nem szokványos lutein képletek (NLK) eltávolításának terápiás lehetőségei és eredményessége tejtermelő tehenészetekben**, Akadémiai beszámolók, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Klinikumok, Gyógyszertan, Toxikológia, Budapest, SZIE-ÁOTK, 2010. január 25-29.

Balogh O.G., Gábor Gy., Barcsik H., Túry E.: **A tejelő tehenek petefészkén előforduló nem szokványos petefészek-képletek szövettani és endokrinológiai vizsgálata**, 16. Szaporodásbiológiai Találkozó, Visegrád, 2010. október 29-30.

Hatvani Cs., Balogh O.G., Holló I.: **Petefészekciszták diagnosztizálása és kezelése tejelő tehenekben**, XXXIII: Óvári Tudományos Napok, Mosonmagyaróvár, 2010. október 7.

Balogh O.G., Túry E., Abonyi-Tóth Zs., Kastelic, J., Gábor Gy.: **Histological characteristics of luteal structures in dairy cows**, Reproduction in Domestic Animals, CD-supplement Poster Nr. 18 43. 31-31. Suppl. 3, 2012 (Poster in 17th International Congress on Animal Reproduction, Jul 29-Aug 2, 2012 Vancouver, Canada)

Balogh O.G.: **A fertilitás javításának hagyományos és újabb lehetőségei tejelő szarvasmarhában**, 18. Szaporodásbiológiai Találkozó, Budapest, 2012. október 26-27.

Faigl V., Balogh O.G.: **Újdonságok a szarvasmarha ciklusos petefészek működéséről**, 18. Szaporodásbiológiai Találkozó, Budapest, 2012. október 26-27.

e, Egyéb, a kutatás megítélése során értékelhető / értékelendő alkotás

10. Mellékletek

11. Köszönetnyilvánítás

Elsőként Prof. Gábor Györgynek köszönöm, hogy minden téren segítette munkámat és dolgozatom elkészülését, valamint elindított tudományos pályámon. Eredeti, majd társtémavezetőmnek, Prof. Huszenicza Gyulának[†], is hálával tartozom a kísérletek tervezése és értékelés során nyújtott segítségével. Az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet főigazgatójának, Prof. Rátky Józsefnek, főigazgató-helyettesének Dr. Hullárné Dr. Fébel Hedvignek valamint munkatársaimnak szeretném megköszönni, hogy munkájukkal közvetlenül vagy közvetve segítették dolgozatom elkészülését. Hálás vagyok továbbá a nagykőrösi Toldi-tej Kft. és a Seregtej Szarvasmarhatenyésztő Kft. munkatársainak a vizsgálatok helyszíneinek és a vizsgálatba vont állatok biztosításáért, a dabasi (D-Meat Kft) valamint a jászszentandrás (Ko-bor-hús Kft) vágóhidak segítségével az aspirációs és szövettani vizsgálatokhoz. Köszönettel tartozom Prof. Túry Ernőnek és Gombár Gabriellának (SZIE-ÁOTK Anatómiai és Szövettani Tanszék), valamint Dr. Babarczi Edit főorvos asszonynak (Fővárosi Egyesített Szent István és Szent László Kórház Patológia és Kórszövettani osztály) a szövettani metszetek elkészítésében és értékelésében nyújtott segítségével. Az endokrinológiai és néhány biokémiai vizsgálatok elvégzését és értékelését Dr. Kulcsár Margitnak és munkatársainak, a statisztikai értékelést Dr. Németh Tímeának és Abonyi-Tóth Zsoltnak szeretném megköszönni.

A dolgozat az OTKA 73805 számú pályázatának támogatásával készült.