

ΓΕΩΡΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΖΩΩΝ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : Ε. ΣΤΟΦΟΡΟΣ

ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ  
ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ ΜΕ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟ (ΜΑΡ) ΚΑΙ  
ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗ ΟΡΟΥ ΕΓΚΥΟΥ ΦΟΡΒΑΔΑΣ (ΡΜSG) ΣΤΙΣ  
ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ

ΙΩΑΝΝΟΥ ΓΕΩΡΓ. ΜΕΝΕΓΑΤΟΥ  
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 1990

ΓΕΩΡΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΖΩΩΝ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Ε.ΣΤΟΦΟΡΟΣ

ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ  
ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ ΜΕ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟ (ΜΑΡ) ΚΑΙ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΦΙΝΗ ΟΡΟΥ ΕΓΚΥΟΥ  
ΦΟΡΒΑΔΑΣ (PMSG) ΣΤΙΣ ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ

ΙΩΑΝΝΟΥ Γ. ΜΕΝΕΓΑΤΟΥ  
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 1990



Αφιερώνεται  
στον Καθηγητή μου κο Ε. Στοφόρο



Στη μνήμη του  
φίλου Σπύρου Πιτούλη

" Η έγκριση της παρούσας διδακτορικής διατριβής από το Γεωργικό Πανεπιστήμιο δε σημαίνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα."

(Νόμος 5343/1932, άρθρο 202)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ανατομίας και Φυσιολογίας Αγροτικών Ζώων της Ανωτάτης Γεωπονικής Σχολής Αθηνών (που ονομάστηκε τώρα Γεωργικό Πανεπιστήμιο), στο Εργαστήριο της Ενδοκρινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και στο Κέντρο Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Παθολογίας της Αναπαραγωγής Διαβατών Θεσσαλονικής.

Επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σ' όλους όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίησή της. Ειδικότερα ευχαριστώ θερμά:

Τον Καθηγητή μου κ. Ευθ. Στοφόρο για τη βοήθεια, την καθοδήγηση και την ηθική συμπαράσταση που μου προσέφερε κατά την πορεία της εργασίας και για τη βοήθειά του στη δημιουργία του Εργαστηρίου Ραδιοανοσολογικών προσδιορισμών.

Τον Καθηγητή κ. Εμμ. Ρογδάκη για την πολύτιμη βοήθεια του και τις εύστοχες υποδείξεις του που έδωσαν την τελική μορφή στην εργασία.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεώρ. Παπαδόπουλο για τις υποδείξεις του και την συμπαράστασή του καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας.

Τον αείμνηστο Λέκτορα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Σπύρο Πιτούλη.

Τον Καθηγητή και δάσκαλό μου κ. Μεν. Μπατρίνο.

Τους συναδέλφους του Κέντρου Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Παθολογίας Αναπαραγωγής Διαβατών Θεσσαλονικής κα. Λόλα Κούσκουρα και τον Dr. Dr. Σταύρο Κουϊμτζή για την πολύ μεγάλη βοήθειά τους καθώς επίσης και τον Διευθυντή του Κέντρου Dr. Ελευθ. Ελευθερίου για την ουσιαστική του βοήθεια και τις χρήσιμες υποδείξεις του.

Τον Καθηγητή και δάσκαλό μου κ. Παύλο Τσακάλωφ για τις πολύτιμες υποδείξεις του και την ηθική του συμπαράσταση.

Τον Καθηγητή κ. Μιχ. Λουκά για τη βοήθεια του στην επεξεργασία των κειμένων.



Την συνάδελφο κα. Ευτ. Ξυλούρη για τη βοήθειά της στους πρώτους πειραματισμούς.

Τους συναδέλφους του Εργαστηρίου Βιοτεχνίας Γεώργιο Καθηγητή κ. Τριαν. Παπαδημητρίου, την Λέκτορα κα. Ελευθ. Πανοπούλου και το Λέκτορα κ. Στελ. Δεληγιώργη για την πολύτιμη βοήθειά τους καθόλη τη διάρκεια της εργασίας.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ την Επιστημονική Συνεργάτιδα του Εργαστηρίου κα. Στελ. Χαδιώ για την πολύτιμη βοήθειά της στην ανάπτυξη των εργαστηριακών μεθόδων και στις ραδιοανοσολογικές αναλύσεις.

Τέλος ευχαριστώ τους συναδέλφους της Δ/σης Κτηνοτροφίας του Υπ. Γεωργίας και ιδιαίτερα τον προϊστάμενο κ. Γεώρ. Γκιώση για την πολύτιμη, προς το Εργαστήριο, οικονομική βοήθεια μέσω των προγραμμάτων έρευνας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
Ιστορικό της μεθόδου και βιβλιογραφική ανασκόπηση .....	16
Η έρευνα για τα κατάλληλα προγεσταγόνα .....	18
Η ανάπτυξη της τεχνικής των ενδοκολπικών σπόγγων .....	19
Αίτια μειωμένης γονιμότητας κατά την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού του οίστρου .....	21
Η έρευνα σχετικά με την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού του οίστρου των προβατίων στην Ελλάδα.....	26
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	29
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ.....	30
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	33
Ζωικό υλικό και ορμόνες (Σκευάσματα ορμονικής αγωγής).....	33
Ορμονικοί προσδιορισμοί	
Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός (RIA) της πρόβειας ωχρινοποιητικής ορμόνης (oLH) .....	33
Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός (RIA) της οιστραδιόλης-17β και της προγεστερόνης.....	34

1ος ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

"ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΟΙΣΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΟΙΣΤΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟ".....	35
1.1. Μελέτη της ωοθηκικής λειτουργίας κατά την ορμονική αγωγή στην οιστρική περίοδο.....	35
Υλικά και Μέθοδοι.....	35
Αποτελέσματα και Σχολιασμός.....	35
1.2. Μελέτη της ωοθηκικής λειτουργίας κατά την ορμονική αγωγή στην άνοιστρη περίοδο.....	43
1.2.1. Μελέτη της ωοθηκικής λειτουργίας, κατά την ορμονική αγωγή, στους μήνες Μάρτιο-Απρίλιο.....	43
Υλικά και Μέθοδοι.....	45
Αποτελέσματα και Σχολιασμός.....	45
1.2.2. Μελέτη της ωοθηκικής λειτουργίας κατά την ορμονική αγωγή στους μήνες Μάιο-Ιούνιο.....	50
Υλικά και Μέθοδοι.....	50

Αποτελέσματα και Σχολιασμός.....	51	
Σχολιασμός επί όλων των επιμέρους πειραματισμών του 1ου Πειράματος.....	63	
<u>2ος ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ</u>		
"Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΣΤΟΝ ΑΞΟΝΑ ΥΠΟΘΑΛΑΜΟΣ-ΥΠΟΦΥΣΗ-ΩΟΘΗΚΗ.....		69
Υλικά και Μέθοδοι.....	69	
Αποτελέσματα και Σχολιασμός.....	75	
<u>3ος ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ</u>		
"Η ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟ-ΩΟΘΥΛΑΚΙΟΡΡΗΚΤΙΚΗΣ ΚΟΡΥΦΗΣ ΤΗΣ LH ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ".....		78
Υλικά και Μέθοδοι.....	78	
Αποτελέσματα και Σχολιασμός.....	78	
Απαντήσεις σε ερωτήματα που απορρέουν απο την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στην πράξη.....	106	
1. Πτώση του σπόγγου.....	106	
2. Τοποθέτηση και δεύτερου σπόγγου.....	106	
3. Έγχυση μεγαλύτερης δόσης PMSG.....	106	
4. Απουσία εμφάνισης δεύτερων οίστρων.....	106	
5. Πρώιμη διάγνωση εγκυμοσύνης.....	107	
6. Ανεπιθύμητη πολλαπλή ωοθυλακιορρηξία.....	108	
ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	112	
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	115	
SUMMARY.....	117	
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	119	

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η προβατοτροφία αποτελεί από την αρχαιότητα το σπουδαιότερο κλάδο της ελληνικής κτηνοτροφίας. Η μεγάλη ανάπτυξη της οφείλεται στο γεγονός ότι το πρόβατο επιδεικνύει εξαιρετική προσαρμοστική ικανότητα σε δυσμενείς συνθήκες περιβάλλοντος. Η ικανότητα του αυτή οφείλεται μεταξύ των άλλων και στην ύπαρξη της άνοιστρης περιόδου που έχει σαν αποτέλεσμα οι προβατίνες να γεννούν την κατάλληλη εποχή για την επιβίωση των αρνιών. Η άνοιστρη περίοδος όμως αποτελεί μειονέκτημα στην προγραμματισμένη αναπαραγωγή. Γι' αυτό το λόγο οι ερευνητές ασχολήθηκαν με την εξεύρεση μεθόδων που θα διέκοπταν την φυσική αντισύλληψη της άνοιστρης περιόδου.

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται σήμερα σε ευρεία κλίμακα είναι αυτή των ενδοκολπικών σπόγγων που είναι εμποτισμένοι με ένα προγεσταγόνο. Η παραμονή στον κόλπο διαρκεί 12-14 ημέρες και η αφαίρεση του συνοδεύεται με μία ενδομυϊκή ένεση γοναδοτροφίνης ορού εγκύου φορβάδος (Pregnant Mare Serum Gonadotropin-PMSG).

Η επιτυχία της μεθόδου εξασφαλίζει:

- 1ον πρώιμους τοκετούς και ως εκ τούτου μεγαλύτερη γαλακτική περίοδο, στην περίπτωση που εφαρμοστεί κατά το τέλος της άνοιξης°
- 2ον τοκετούς σε επιθυμητή εποχή του έτους°
- 3ον τρεις τοκετούς σε δύο χρόνια°
- 4ον είσοδο των αμνάδων νωρίτερα στην αναπαραγωγή°

Το ποσοστό όμως των τοκετών στις προβατίνες που υπέστησαν ορμονική αγωγή δεν είναι πάντοτε ικανοποιητικό και κυμαίνεται από 10-70 ο/ο.

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ανατομίας και Φυσιολογίας Ζώων του Γεωργικού Πανεπιστημίου, στο Εργαστήριο Ενδοκρινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και στο Κέντρο Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Νοσημάτων Αναπαραγωγής Θεσσαλονίκης. Σε όλους εκείνους που βοήθησαν στην πραγματοποίηση της εκφράζω τις ευχαριστίες μου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αναπαραγωγή του προβάτου επηρεάζεται ποικιλοτρόπως από τις κλιματολογικές και οικολογικές συνθήκες του περιβάλλοντος. Κι' αυτό, γιατί η εκτροφή του βασίζεται κατά κανόνα στην εκμετάλλευση των φυσικών νομευτικών πόρων που αναγκάζει τα ζώα να διαβιούν στο ύπαιθρο και να υφίστανται τις επιδράσεις του περιβάλλοντος κατά την εναλλαγή των εποχών.

Αυτός ο τρόπος διαβίωσης και το γεγονός ότι η διάρκεια της εγκυμοσύνης του είναι 5 μήνες, προσάρμοσε τις φυσιολογικές λειτουργίες του προβάτου έτσι ώστε να γίνει "εποχικώς πολυοιστρικό". Δηλαδή, να εμφανίζει επαναλαμβανόμενους οιστρικούς κύκλους κατά τη διάρκεια μιάς αναπαραγωγικής περιόδου, της "οιστρικής περιόδου" οι οποίοι διακόπτονται κατά τη διάρκεια μιάς άλλης περιόδου που είναι η "άνοιστρη περίοδος".

Η άνοιστρη περίοδος είναι ένας τρόπος "φυσικής αντισύλληψης" που σκοπό έχει να περιορίσει τους τοκετούς τότε που η εποχή είναι η πιο κατάλληλη για την επιβίωση των αρνιών.

Το γεγονός αυτό, όμως, παρουσιάζει δύο μεγάλα μειονεκτήματα για την παραγωγή:

- το ένα είναι ότι οι τοκετοί συγκεντρώνονται σε ορισμένη εποχή·
- το άλλο είναι ότι δεν είναι δυνατή η εκμετάλλευση των πρώιμων τοκετών (Οκτωβρίου) με αποτέλεσμα μικρότερη γαλακτική περίοδο και, κατ' επέκταση, μικρότερη γαλακτοπαραγωγή.

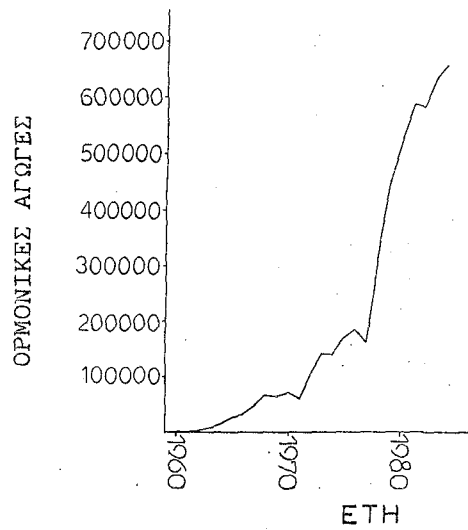
Για να ξεπεραστούν τα εμπόδια αυτά και για να πραγματοποιηθεί η προγραμματισμένη αναπαραγωγή θα έπρεπε, εναλλακτικά, να δημιουργήσουν οι γενετιστές φυλές πολυοιστρικές (φυλές χωρίς άνοιστρη περίοδο) ή να αντικαταστήσουν οι φυσιολόγοι τον ενδοκρινικό μηχανισμό της άνοιστρης περιόδου με αυτόν της οιστρικής περιόδου. Η πρώτη περίπτωση είναι και δύσκολη και μακροχρόνια. Όσον αφορά τη δεύτερη δυνατότητα, οι πρωτοπόροι ερευνητές της ενδοκρινολογίας της αναπαραγωγής του προβάτου κατά τη δεκαετία του 50 (βλέπε Ιστορικό Μεθόδου σελ. 16 ) ανέπτυξαν μία μέθοδο συγχρονισμού οίστρου και ωοθυλακιορρηξιών

που ανταποκρινόταν και στην άνοιστρον περίοδο. Η μέθοδος αυτή που χρησιμοποιείται και σήμερα, συνίσταται στην ενδοκολπική τοποθέτηση ενός κυλινδρικού σπόγγου από πολυουρεθάνη εμποτισμένου με προγεσταγόνο. Ο προγεσταγονούχος αυτός σπόγγος σκοπό έχει να αναστέλει τον οίστρο και να δημιουργεί μία ωχρινική φάση που είναι απαραίτητη για την εμφάνιση του οίστρου και τη διατήρηση του νέου ωχρού σωματίου. Ο σπόγγος παραμένει στον κόλπο 12-14 ημέρες, διάρκεια που είναι ίση με την ωχρινική φάση του φυσιολογικού οιστρικού κύκλου ή διάστημα που απαιτείται για να παλινδρομήσει ένα ωχρό σωματίο που μπορεί να έχει δημιουργηθεί από ωοθυλακιορρηξία πριν από την τοποθέτηση του σπόγγου. Τη στιγμή της αφαίρεσης του σπόγγου γίνεται ενδομυϊκή ένεση 500 IU γοναδοτροφίνης ορού εγκύου φορβάδος (PMSG). Η ορμόνη αυτή έχει δράση κυρίως ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και λιγότερο ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH). Η ωοθυλακιοτρόπος δράση της ορμόνης PMSG συνίσταται στην ανάπτυξη ωοθυλακίων που παράγουν οιστρογόνα. Τα τελευταία προκαλούν αφενός την ενεργοποίηση του κυκλικού κέντρου του υποθαλάμου, την προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH και τελικά την ωοθυλακιορρηξία και αφετέρου την εμφάνιση του οίστρου σε συνδυασμό με την προηγηθείσα προγεστερονική δράση. Ο χειρισμός αυτός έχει σαν αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται συγχρονισμός των οίστρων οποιαδήποτε εποχή του έτους σε ποσοστό που πλησιάζει το 100 ο/ο.

Η μέθοδος αυτή βρήκε εφαρμογή στη χώρα μας από το έτος 1960 πρώτα στο Κέντρο Τεχνητής Σπερματέγχυσης Αθηνών και έπειτα στο αντίστοιχο Κέντρο της Θεσσαλονίκης.

Έτσι στη χώρα μας από το 1960 σημειώθηκε μία ραγδαία αύξηση του αριθμού των συγχρονισμών των οίστρων που έφθασαν τα τελευταία χρόνια τους 700 000 ετησίως. Η αύξηση αυτή δίνεται σχηματικά στην εικόνα 1.

Ενώ όμως το ποσοστό των ζώων που εμφανίζουν οίστρο φθάνουν περίπου το 100 ο/ο (Gordon, 1974\* Τσακάλωφ και συν., 1981\* Alifaciotis, 1985), τα ποσοστά τοκετών όμως, είναι πολύ χαμηλότερα και στην πράξη κυμαίνονται από 10 έως 70 ο/ο.



Εικόνα 1.-Η εξέλιξη του αριθμού των ορμονικών αγωγών στα πρόβατα, με προγεσταγονούχο σπόγγο και PMSG, στην Ελλάδα μετά το 1960 (Ποΐλας, 1987).

Στο κτηνοτροφείο της ΑΓΣΑ το ποσοστό αυτό, τα τελευταία χρόνια (1980-1986), ήταν 44,2 ο/ο. Τα ποσοστά τοκετών σε σχέση με τη φυλή παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Παρά τον μεγάλο αριθμό των ερευνητικών εργασιών που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τις ορμονικές αγωγές (βλέπε Ιστορικό της μεθόδου σελ. 16), πολλά προβλήματα εξακολουθούν να παραμένουν άλυτα σε ό,τι αφορά τις λειτουργικές μεταβολές που προξενεί αυτή η αγωγή στο νευροενδοκρινικό σύστημα. Η απάντηση στα ερωτήματα αυτά θα επιτρέψει την πληρέστερη ερμηνεία και αξιοποίηση των μέχρι τώρα αποτελεσμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΜΕΣΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΣΑΝ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΕΙΟ ΤΗΣ ΑΓΣΑ ΣΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΑΠΟ 1980-1986.

ΦΥΛΗ	ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΠΟΥ ΥΠΕΣΤΗΣΑΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ	ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΣΑΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΤΥΧΙΑΣ
ΚΑΡΑΓΚΟΥΝΙΚΗ	277	121	43,7 ο/ο
ΑΝΑΤ. ΦΡΙΣ/ΔΙΑΣ	221	89	40,3 ο/ο
F <sub>1</sub> (Α.Φ. Χ Κ.)	240	117	48,7 ο/ο
ΣΥΝΟΛΟ	738	327	44,2 ο/ο

Σήμερα με την εφαρμογή των ραδιοανοσολογικών μεθόδων ποσοτικής ανάλυσης των ορμονών (Radioimmunoassay-RIA) είναι δυνατή η μελέτη των ενδοκρινικών μεταβολών που συμβαίνουν κατά την περίοδο της ορμονικής αγωγής. Η μελέτη των μεταβολών αυτών θα επιτρέψει την κατανόηση των μηχανισμών του προκαλούμενου αυτού κύκλου και επομένως την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων στην προγραμματισμένη αναπαραγωγή.

Έτσι, ειδικότερα η εργασία αυτή αποσκοπεί στη μελέτη της λειτουργίας της ωοθήκης κατά τη διάρκεια της ορμονικής αγωγής και κατά τον κύκλο που ακολουθεί, καθώς και στη μελέτη των αλληλεπιδράσεων στον άξονα "υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκη" που οδηγούν στην εμφάνιση οίστρου και πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας.



ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η πορεία της ανάπτυξης της μεθόδου της ορμονικής αγωγής ακολουθούσε τέσσερα στάδια.

Το πρώτο στάδιο χαρακτηρίζεται από την παρατήρηση ότι ημερήσιες εγχύσεις προγεστερόνης αναστέλλουν την ωοθυλακιορρηξία στην προβατίνα και ότι αυτή λαμβάνει χώρα 2-4 ημέρες μετά την παύση της χορήγησης (Dutt and Casida, 1948· O'Mary et al., 1950). Το δεύτερο στάδιο χαρακτηρίζεται από την παρατήρηση ότι η χρήση της προγεστερόνης πριν από την έγχυση της PMSG προκαλεί οίστρο με ωοθυλακιορρηξία σε προβατίνες που βρίσκονται σε άνοιστρη περίοδο (Dauzier and Wintenberger, 1952· Dutt, 1952, 1953· Robinson, 1952, 1954a).

Ήταν ήδη γνωστό από τις εργασίες των Cole και Miller (1933, 1935) ότι είναι δυνατόν να προκληθεί ωοθυλακιορρηξία σε προβατίνες άνοιστρης περιόδου με έγχυση PMSG, χωρίς να συνοδεύεται η ωοθυλακιορρηξία αυτή από οίστρο. Εάν ακολουθούσε μία δεύτερη έγχυση, περίπου 16 ημέρες αργότερα, τότε η ωοθυλακιορρηξία που θα επακολουθούσε θα συνοδευόταν από οίστρο (αποτέλεσμα της συνδυασμένης δράσης της προγεστερόνης του ωχρού που σχηματίστηκε μετά την πρώτη έγχυση και των οιστρογόνων που παράχθηκαν από την ανάπτυξη των ωοθυλακίων από τη δεύτερη έγχυση). Ήταν επίσης γνωστό ότι η πρώτη ωοθυλακιορρηξία κατά την ήβη και κατά την έναρξη της οιστρικής περιόδου δε συνοδεύεται από οίστρο. Η διαλεύκανση αυτού του φαινομένου αποτελεί το τρίτο στάδιο.

Εκτεταμένες έρευνες στην Αυστραλία στα μέσα της δεκαετίας του 1950 απέδειξαν ότι οι κανονικοί οίστροι στα πρόβατα εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση προγεστερόνης-οιστρογόνων (Robinson, 1954b, c, 1955a, b· Robinson, 1965· Moore and Robinson, 1957a, b). Παράλληλες μελέτες σε ωοθηκεκτομημένες και σε κανονικές προβατίνες στην άνοιστρη περίοδο οδήγησαν στα παρακάτω αποτελέσματα: (Robinson et al., 1956).

1. Για την εμφάνιση του οίστρου είναι απαραίτητη μία περίοδος προγεστερονικής δράσης πριν από τη δράση των οιστρογόνων.

2. Η σχέση μεταξύ προγεστερόνης και οιστρογόνων είναι καθορισμένη. Η εκδήλωση της οίστρικής συμπεριφοράς επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη διάρκεια της θεραπείας με προγεστερόνη, από τη δόση της προγεστερόνης και του οιστρογόνου και από το χρόνο που μεσολαβεί μεταξύ της χορήγησης προγεστερόνης και της χορήγησης οιστραδιόλης.

3. Τα αποτελέσματα της συνδυασμένης δράσης της προγεστερόνης και των οιστρογόνων στην οίστρική συμπεριφορά είναι επακριβώς προκαθορισμένα.

4. Η ποσότητα των παραγομένων οιστρογόνων από την ωσθήκη είναι πολύ μικρή και ισοδυναμεί με μία ποσότητα οιστραδιόλης 20 mg.

Το τέταρτο στάδιο χαρακτηρίζεται από την αξιολόγηση των προγεσταγόνων. Για την αξιολόγηση αυτή χρησιμοποιήθηκε από τον Shelton (1965) η βιολογική μέθοδος, η οποία συνίστατο στη χορήγηση σε ωσθηκεκτομημένες προβατίνες διαφορετικών ποσοτήτων προγεστερόνης και οιστραδιόλης και στη μελέτη του προκαλούμενου απ' αυτές οίστρου.

Το ενδιαφέρον για τη μέθοδο αυτή του συγχρονισμού των οιστρων εγκαταλείφθηκε γρήγορα γιατί παρατηρήθηκε ότι διάφοροι τύποι προγεσταγόνων μακράς διάρκειας δράσης, ενώ ήταν αποτελεσματικοί στην αναστολή του οίστρου, δεν είχαν καλά αποτελέσματα στη δημιουργία συγχρονισμένων οίστρων (Robinson, 1960, 1962). Αριθμός τέτοιων σκευασμάτων χρησιμοποιήθηκε από το 1950 για αντισύλληψη στον άνθρωπο.

Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου έγιναν πειραματισμοί για πρόκληση συγχρονισμού του οίστρου με χορήγηση προγεταγόνων μέσω της τροφής. Τα αποτελέσματα ήταν καλά αλλά η εφαρμογή στην πράξη παρουσιάζει μειονεκτήματα.

Άλλοι ερευνητές και ειδικά ο Lammond (1964), μελέτησαν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ εποχής και συστημάτων εκτροφής των ζώων και της ανταπόκρισης στη χορήγηση της προγεστερόνης με ή χωρίς PMSG.

Τέλος, μία διαφορετική κατεύθυνση προς το σκοπό αυτό ήταν η χρησιμοποίηση προγεσταγόνων βραχείας δράσης ή προγεστερόνης ή πιο δραστικών αναλόγων της, ενσωματωμένων σ'ένα τεχνητό ωχρού σωματίο (Robinson, 1964).

Οι τεχνικές της εισαγωγής και της εξαγωγής αυτού του τεχνητού ωχρού σωματίου έπρεπε να είναι απλές και τα υλικά φθηνά. Δύο ήταν οι κατάλληλες οδοί χορήγησης, η υποδόρια και η ενδοκολπική. Χρειαζόταν ένα προγεσταγόνο, βραχείας δράσης με μεγάλη ισχύ, που θα απορροφόταν από τα τοιχώματα του κόλπου. Η αλληλεπίδραση προγεσταγόνου-οιστραδιόλης σε ωθηκεκτομημένες προβατίνες χρησιμοποιήθηκε ως δοκιμή στην έρευνα ενός τέτοιου προγεσταγόνου.

#### Η ΕΡΕΥΝΑ ΓΙΑ ΤΑ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΑ

Το έτος 1959 η Εταιρεία G.D. SEARLE & Co ανάθεσε σε Αυστραλούς ερευνητές τη μελέτη της δράσης διαφόρων προγεσταγόνων σε προβατίνες. Έτσι, άρχισε ένα ερευνητικό πρόγραμμα από τον Shelton το 1964. Το πρόγραμμα πρόβλεπε αρχικά τη μελέτη των προγεσταγόνων σε ωθηκεκτομημένες προβατίνες και σε δεύτερη φάση τη μελέτη σε κανονικά θηλυκά ζώα. Οι ωθηκεκτομημένες προβατίνες χρησιμοποιούνταν κάθε 16-17 ημέρες, ενώ οι κανονικές μόνο κατά την οιστρική περίοδο και μία φορά η κάθε μία. Ο σκοπός της έρευνας ήταν να βρεθεί ένα ισχυρό προγεσταγόνο το οποίο σε αλληλεπίδραση με τα οιστρογόνα να έχει συμπεριφορά φυσικής προγεστερόνης. Με τη βιολογική μέθοδο στην ανταπόκριση του οίστρου, τα διάφορα προγεσταγόνα μελετήθηκαν τόσο καλά ώστε σήμερα να μη χρειάζεται να επαναληφθούν τέτοια πειράματα (Shelton et al., 1967· Robinson, 1967).

Αρχικά μελετήθηκαν 11 προγεσταγόνα και αργότερα περισσότερα, για περίοδο τριών ετών, σε μία εκτροφή 160 ωθηκεκτομημένων προβατίνων. Οι ερευνητές εξέτασαν την ισχύ του εξεταζόμενου προγεσταγόνου και τη διάρκεια δράσης του. Τα συμπεράσματά τους ήταν τα εξής:

- Το προγεσταγόνο SC-9880, γνωστό σήμερα με την ονομασία

FGA ή CRONOLONE, είναι βραχείας δράσης, με χαρακτηριστικά εκείνων της προγεστερόνης, με τη διαφορά ότι είναι περίπου 25 φορές δραστικότερο.

- Το PROVERA (MAP) έδειξε αντίδραση ίδια με αυτή του SC - 9880, μόνο που είχε ελαφρώς μακρύτερη διάρκεια δράσης και τη μισή ισχύ απ' αυτό.
- Το CHLORMADINONE (CAP) έχει μεγάλη ισχύ, αλλά αξιοσημείωτα μακρύτερη διάρκεια δράσης.

#### Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΤΩΝ ΕΝΔΟΚΟΛΠΙΚΩΝ ΣΠΟΓΓΩΝ

Σε μία προσπάθεια να βρεθούν καταλληλότερα μέσα χορήγησης των προγεσταγόνων από την κολπική οδό, η προσοχή των ερευνητών στράφηκε στη δυνατότητα χορήγησης κυλινδρικών σπόγγων από πολυουρεθάνη. Χρησιμοποιήθηκαν σπόγγοι μεγέθους 2,5 cm και 3,2 cm και διαφορετικής υφής. Διαλύματα προγεστερόνης ή SC - 9880 σε αλκοόλη καθώς και μίγμα τους, παρασκευάστηκαν κατά τέτοιο τρόπο ώστε σε όγκο 5 ml να περιέχεται η απαιτούμενη δόση στεροειδούς, για το SC-9880 30 ή 50 mg και για την προγεστερόνη 500 ή 800 mg. Η ποσότητα αυτή ενσταλάζεται σε κάθε σπόγγο και μετά ο σπόγγος αναρτάται για να εξατμιστεί η αλκοόλη. Τα δύο αρχικά πειράματα που έγιναν το 1964 σημείωσαν πολύ μεγάλη επιτυχία (Robinson, 1964, 1965). Η τοποθέτηση των σπόγγων έγινε υποδόρια ή ενδοκολπικά για το συγχρονισμό του οίστρου των προβατίνων κατά την οιστρική περίοδο. Η ενδοκολπική συγκράτηση ήταν καλύτερη για το μεγαλύτερο μέγεθος του σπόγγου (3,2 cm) και για το σκληρότερο τύπο. Ο ενδοκολπικός τρόπος ήταν τουλάχιστον ισοδύναμος σε αποτελεσματικότητα με τον υποδόριο στην καταστολή του οίστρου. Το SC-9880 φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικό από την προγεστερόνη. Το ποσοστό τοκετών ανάμεσα στις προβατίνες που υποβλήθηκαν σε αγωγή με SC-9880 και σ' εκείνες με προγεστερόνη ανήλθε σε 71 ο/ο και 31 ο/ο αντίστοιχα.

Προς το τέλος του 1964 μελετήθηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης σε προβατίνες, ενδοκολπικών σπόγγων με προγεσταγόνο σε συνδυασμό με χορήγηση PMSG, κατά την άνοιστρον περίοδο.

Λίγο αργότερα ενδοκολπικοί σπόγγοι εμποτισμένοι με προγεσταγόνο, με ή χωρίς PMSG, χρησιμοποιήθηκαν σε προβατίνες της φυλής Dorset Horn, που πλησίαζαν στην οιστρική περίοδο. Τα αποτελέσματα αυτού του πειραματισμού υπήρξαν ικανοποιητικά (Moore and Holst, 1967· Robinson and Smith, 1967a).

Τον Οκτώβριο του έτους 1964 σχεδιάστηκε ένα μεγάλο πείραμα στη Νέα Νότιο Ουαλλία, όπου χρησιμοποιήθηκε το SC-9880, σε 536 προβατίνες (30 mg ανά προβατίνα), ενώ σε 2852 προβατίνες χρησιμοποιήθηκε προγεστερόνη (500 mg ανά προβατίνα). Τα αποτελέσματα από τη χρήση της προγεστερόνης δεν ήταν ικανοποιητικά σε σύγκριση με εκείνα από τη χρησιμοποίηση του προγεσταγόνου SC-9880. Ακολούθησε ένα εκτεταμένο πρόγραμμα σε 9552 προβατίνες της φυλής Merino. Η δόση όμως των 10 mg ανά προβατίνα ήταν πολύ χαμηλή κι έτσι, παρά τον καλό συγχρονισμό και την ωοθυλακιορρηξία, τα αποτελέσματα δεν υπήρξαν ικανοποιητικά. Τελικά χρησιμοποιήθηκε δόση 20-40 mg CRONOLONE, οπότε παρατηρήθηκε κάποια βελτίωση (Robinson et al., 1967).

Αυτό ήταν το ιστορικό του συγχρονισμού των οίστρων στα πρόβατα.

Οι περισσότερες από τις πρώτες αυτές εργασίες είναι συγκεντρωμένες στο βιβλίο του Robinson "The Control of the Ovarian Cycle in the Sheep" (1967).

Από τότε η μέθοδος εφαρμόστηκε σε πολλές χώρες.

Τα αποτελέσματα όμως της μεθόδου παρουσίαζαν μεγάλη παραλλακτικότητα και πολλές φορές το ποσοστό τοκετών ήταν πολύ χαμηλό. Έτσι, μετά τον πρώτο ενθουσιασμό, η μέθοδος άρχισε να εγκαταλείπεται ευρέως.

Έκτοτε πολλές ερευνητικές ομάδες έστρεψαν την έρευνα τους στη διερεύνηση των αιτίων της μικρής αποτελεσματικότητας της μεθόδου.

ΑΙΤΙΑ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ  
ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΟΙΣΤΡΩΝ

Οι Allison και Robinson (1970) παρατήρησαν ότι η μεγαλύτερη ποσότητα του προγεσταγόνου του σπόγγου απορροφάται εντός των πρώτων ημερών και στην περίπτωση που ο σπόγγος έχει χαμηλή περιεκτικότητα αυτή δεν είναι επαρκής για να προκαλέσει πλήρη αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στον άξονα "υποθαλαμο-υπόφυση" κι έτσι να αναστείλει σιωπηλούς οίστρους.

Η ανεπαρκής ποσότητα του διαλυτικού που εμποτίζει το σπόγγο είναι αιτία μειωμένης γονιμότητας (Gordon, 1975· Robinson, 1970).

Η μεταφορά και η ζωτικότητα του σπέρματος στο γεννητικό σωλήνα της προβατίνας απαιτούν μία πολύ ευαίσθητη ισορροπία μεταξύ των ενδογενών και εξωγενών στεροειδών (Allison and Robinson, 1970· Croker et al., 1975a, b). Έχει αναφερθεί ότι τα προγεσταγόνα ασκούν βλαβερή επίδραση στη μεταφορά και ζωτικότητα των σπερματοζωαρίων (Quinlivan and Robinson, 1967, 1969· Hawk and Conley, 1971a,b).

Η χαμηλή περιεκτικότητα του σπόγγου σε προγεσταγόνο ασκεί περισσότερο επιβλαβή επίδραση στα σπερματοζωάρια παρά η υψηλή (Allison and Robinson, 1970). Αυτό συνδέεται με την ανώμαλη έκκριση της τραχηλικής βλέννας (Smith and Allison, 1971) και την ανώμαλη παραγωγή οιστρονών (Smith and Robinson, 1970).

Όσον αφορά την έκλυση των γοναδοτροφινών μετά από ορμονική αγωγή, η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH γίνεται σημαντικά νωρίτερα απ'ότι στον φυσιολογικό κύκλο, τουλάχιστον για το προγεσταγόνο FGA και 750 IU PMSG που περιλάμβανε η ορμονική αγωγή που μελετήθηκε και πολλές φορές η κορυφή της LH προηγείται του οίστρου (Cumming et al., 1970· Lintin et al., 1973· Baumgartner et al., (1974). Αφού όμως το διάστημα από την προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH μέχρι την ωοθυλακιορρηξία είναι σταθερό (Cumming et al., 1971, 1973· Haresigne, 1978), τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι δεν υπάρχει συγχρονισμός

μεταξύ οίστρου και ωοθυλακιορρηξίας στα ζώα που υπέστησαν ορμονική αγωγή, αν και αναφέρθηκε (Robinson et al., 1987) ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ εμφάνισης οίστρου και κορυφής LH.

Πάντως η τεχνητή σπερματέγχυση θα πρέπει να γίνεται βάσει της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH και όχι βάσει της εμφάνισης του οίστρου. Για να γίνει όμως αυτό πρέπει να βρεθεί η προ-ωοθυλακιορρηκτική έκλυση της LH για τη συγκεκριμένη φυλή και τη συγκεκριμένη ορμονική αγωγή.

Ο Robinson (1970) αναφέρει ότι η επιτυχία της τεχνητής σπερματέγχυσης (Τ.Σ.) βελτιώνεται κατά 11 ο/ο όταν γίνονται δύο σπερματεγχύσεις. Αναφέρεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν η Τ.Σ. γίνεται 48 και 60 ώρες μετά την αφαίρεση του προγεσταγόνου και την έγχυση της PMSG (FGA και 400 IU PMSG), στην οιστρική περίοδο (Colas et al., 1973). Ομοίως στη Βρετανία το ποσοστό επιτυχίας μετά από ορμονική αγωγή στην αναπαραγωγική περίοδο ήταν 70 ο/ο όταν έγινε διπλή Τ.Σ. 50 και 64 ώρες μετά την αφαίρεση του προγεσταγονόου σπόγγου MAP και την έγχυση 750 IU PMSG (Haresign, 1978). Το ποσοστό επιτυχίας μειώνεται κατά 5 ο/ο όταν γίνεται μία μόνο Τ.Σ. (Reed προσωπική ανακοίνωση, αναφέρεται από Haresign, 1978).

Όσον αφορά την επίδραση του σπέρματος αυτού καθ' αυτού ο Salamon (1962) αναφέρει ότι ο ελάχιστος αριθμός σπερματοζωαρίων που απαιτείται για να επιτευχθούν τα καλύτερα αποτελέσματα στην Τ.Σ. είναι  $120-125 \times 10^6$  ανά δόση αν και η πυκνότητά του φαίνεται να παίζει σημαντικότατο ρόλο (Allison and Robinson, 1971· Colas et al., 1973· LeRoux, 1976).

Προσπάθειες για βελτίωση της μακροβιότητας του σπέρματος απέτυχαν (Lightfoot and Salamon, 1970b· Loginova and Zheltobruk, 1972· Visser and Salamon, 1973). Το κατεψυγμένο σπέρμα έχει 50 ο/ο μειωμένη μακροβιότητα στο γεννητικό σωλήνα της προβατίνας (Loginova and Zheltobruk, 1968· Lightfoot and Salamon, 1970a). Τα ανωτέρω έχουν ως αποτέλεσμα ο χρόνος της Τ.Σ. σε σχέση με την ωοθυλακιορρηξία να είναι πολύ κρίσιμος. Η δυσκολία αυτή είναι δυνατόν να αντιμετωπιστεί με

την αύξηση του αριθμού των σπερματεγχύσεων.

Η αναλογία επίσης των προβατίνων προς τους κριούς δεν πρέπει να υπερβαίνει το 10:1. Ο Gordon (1974) αναφέρει ότι η καθυστέρηση της εισόδου των κριών μέχρι 48 ώρες μετά την εξαγωγή των σπόγγων βελτιώνει το ποσοστό των συλλήψεων.

Η επίδραση της εποχής παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Στην άνοιστρον περίοδο παρατηρείται μειωμένη γονιμότητα έπειτα από ορμονική αγωγή (Dutt, 1953° Dauzier et al., 1954° Robinson, 1954a), αν και το ποσοστό των ζώων που εμφανίζουν οίστρο και ωοθυλακιορρηξία είναι υψηλό. Πάντως την άνοιξη εμφανίζεται μειωμένη αναπαραγωγική δραστηριότητα και σε προβατίνες φυλών που δεν είναι αυστηρά εποχικώς πολυοιστρικές (Schafer, 1963° Thimonier and Mauleon, 1969° Land and McClelland, 1971° Timariu et al., 1974, 1975). Ο Colas (1975a) είχε πολύ καλά αποτελέσματα έπειτα από εφαρμογή ορμονικής αγωγής στην άνοιστρον περίοδο. Έχει παρατηρηθεί (Thimonier and Mauleon, 1969) ότι προς το τέλος της άνοιξης εμφανίζεται αυξημένη ωοθηκική δραστηριότητα (σιωπηλοί οίστροι). Πιθανόν εφαρμογή ορμονικής αγωγής σ' αυτή την περίοδο να έχει καλά αποτελέσματα. Καλά αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και σε φυλές με μεγάλη οιστρική περίοδο (Thimonier et al., 1968).

Εκτός από την εποχική άνοιστρον περίοδο, υπάρχει και η μετά τον τοκετό άνοιστρον περίοδος (άνοιστρος γαλουχίας) η οποία μειώνει τη γονιμότητα κυρίως σε φυλές με μικρή αναπαραγωγική περίοδο (Thimonier et al., 1968° Cognié et al., 1974). Έχει αναφερθεί (Van Wyk et al., 1972a, 1972b) ότι το ποσοστό συλλήψεων σε προβατίνες που είχαν γεννήσει προ εικοσαημέρου και είχαν υποστεί ορμονική αγωγή ήταν 33 ο/ο ενώ στις προβατίνες μάρτυρες ήταν 73 ο/ο. Τα ίδια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν σε διασταυρωμένες προβατίνες Finnsheep X Dorsethorn (Shevah et al., 1975). Όταν η ορμονική αγωγή εφαρμοστεί 17 ημέρες μετά τον τοκετό το ποσοστό επιτυχίας είναι 10 ο/ο, εάν όμως η ορμονική αγωγή γίνει την 25η ημέρα το ποσοστό ανεβαίνει στο 35 ο/ο.



Η επιτυχία εξαρτάται ακόμη από τη φυλή. Αναφέρεται ότι το ποσοστό επιτυχίας για τη φυλή Prealpes είναι 55 ο/ο ενώ για την Ile de France είναι 32 ο/ο (Thimonier et al., 1968). Αναφέρεται επίσης ότι το ποσοστό επιτυχίας επηρεάζεται και από τον αριθμό των αρνιών που θηλάζουν την προβατίνα (Cognié et al., 1975). Για να εξαλειφθούν οι δυσμενείς επιπτώσεις της μετά τον τοκετό ανοίστρου περιόδου, πρέπει μεταξύ τοκετού και ορμονικής αγωγής να παρεμβάλεται διάστημα 30 ημερών (Boshoff and Faure, 1976), αν και πάλι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της φυλής, της άνοιστρης περιόδου μετά τον τοκετό και της εποχής είναι σημαντικές (Cognié et al., 1974).

Εκτός από την εποχική και την άνοιστρη περίοδο μετά τον τοκετό η επιτυχία της ορμονικής αγωγής επηρεάζεται και από το στάδιο της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου (Mauleon and Dauzier, 1965° Shevah et al., 1975° Timariu et al., 1974). Η καταστολή των επιπέδων της κυκλοφορούσης προλακτίνης έχει ευνοϊκά αποτελέσματα στην αποκατάσταση της ωθηκικής δραστηριότητας (Kann and Martinet, 1975° Kann et al., 1977° Peklaris, 1988).

Η εμφάνιση του οίστρου μετά την ορμονική αγωγή σε προβατίνες που γαλουχούν καθυστερεί και η ωοθυλακιορρηξία δεν συγχρονίζεται, με αποτέλεσμα τη μείωση της γονιμότητας (Signoret and Cognié, 1975° Cognié et al., 1975). Η εμβρυική θνησιμότητα στις προβατίνες που γαλουχούν και υποβάλλονται σε ορμονική αγωγή είναι αυξημένη. Ο Van Wyk (1972) θεωρεί ότι αιτία είναι το "αφιλόξενο" περιβάλλον της μήτρας, παρά την πλήρη παλινδρόμηση της. Η αύξηση αυτή της εμβρυικής θνησιμότητας εμφανίζεται πριν από τη δωδέκατη ημέρα (Cognié et al., 1975). Γι' αυτό και η παλινδρόμηση του ωχρού σωματίου γίνεται κανονικά κατά την 17η ημέρα (Shevah et al., 1975).

Θεωρείται ότι αιτία της αυξημένης εμβρυικής θνησιμότητας είναι η ανεπάρκεια της παραγωγής γοναδοτροφινών και η χαμηλή ωθηκική ανταπόκριση στην ορμονική αγωγή των προβατίνων που γαλουχούν (Cognié et al., 1975). Υπάρχει επίσης μείωση στη συνολική ποσότητα της εκλυόμενης LH κατά τον προκαλούμενο

οίστρο από ορμονική αγωγή (Shevah et al., 1975· Pelletier and Thimonier, 1973, 1975· Cognié and Pelletier, 1976). Οι Haresign and Lamming (1978) αποδίδουν αυτή τη μείωση της συνολικής ποσότητας της εκλυόμενης LH στην ανεπαρκή ευαισθητοποίηση της υπόφυσης από τα οιστρογόνα πριν την προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH.

Οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης έπειτα από ορμονική αγωγή σε ζώα που γαλουχούν και σε ζώα που δεν γαλουχούν εμφανίζουν σημαντική διαφορά ιδίως κατά την περίοδο της μέγιστης λειτουργίας του ωχρού σωματίου, δηλαδή από τη 10η έως τη 14η ημέρα (Cognié et al., 1975). Αυτή η διαφορά μαζί με τη χαμηλή παραγωγή οιστρογόνων είναι δυνατόν να προκαλούν σοβαρές επιπλοκές στην προετοιμασία ενός κατάλληλου περιβάλλοντος στη μήτρα για τη διατήρηση της εγκυμοσύνης (Mauleon, 1979).

Εκτός της μειωμένης γονιμότητας που εμφανίζεται κατά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής, ένα άλλο σοβαρό πρόβλημα είναι η μετάπτωση σε αναφροδισία αρκετών προβατίνων οι οποίες δεν έμειναν έγκυες.

Μετά από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση συμπερασματικά καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι τα προβλήματα που παρουσιάζει η μέθοδος αυτή είναι εκείνα που απορρέουν από τη διαφορετική φυσιολογική κατάσταση που βρίσκονται τα ζώα κατά την περίοδο της εφαρμογής της.

Ο Mauleon (1975) συγκεκριμένα αναφέρει τα ακόλουθα:

*"Au cours de ces années et même actuellement, les personnes decues ont été celles qui ont cru trouvé la méthode universelle alors que c' est et doit être une méthode raisonnée".*

Δηλαδή η μέθοδος απογοήτευσε εκείνους που πίστεψαν ότι είναι μία διεθνής μέθοδος, η μέθοδος όμως είναι "ορθολογική".

Ο πρωτοπόρος στον τομέα αυτό Robinson (1979) αναφέρει:

"Η έρευνα και η ανάπτυξη αυτής της τεχνικής πρέπει να βαδίσουν χέρι-χέρι σε κάθε νέο περιβάλλον που εισάγονται. η μέθοδος δεν είναι διεθνής, δεν είναι πανάκεια, δεν είναι όπως ένα ευρείας κυκλοφορίας αντισυλληπτικό του ανθρώπου, αλλά στην επιτυχία της διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο πολλοί παράγοντες, εσωτερικοί από το ζώο και εξωτερικοί από το περιβάλλον".

Έτσι, όπως και παραπάνω αναφέρθηκε η μελέτη της μεθόδου σε βάθος, σε κάθε περιβάλλον θεωρείται αναγκαία.

#### Η ΕΡΕΥΝΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ ΤΩΝ ΠΡΟΒΑΤΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Στην Ελλάδα, η έρευνα σχετικά με την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού του οίστρου άρχισε κατά τη δεκαετία του 1960, πρώτα στο Ίδρυμα Γεωργικής Έρευνας Κτηνοτροφίας Αθηνών και μετά στο αντίστοιχο της Θεσσαλονίκης, με σκοπό την εφαρμογή της στην πράξη σε συνδυασμό με την τεχνητή σπερματέγχυση. (Τσάμης, 1977). Κατ' αρχήν μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα της χρησιμοποίησης ενέσιμης προγεστερόνης, καθώς και διάφορων ειδών προγεσταγόνων που χορηγήθηκαν ενδοκολπικά ή με την τροφή. Η ποσότητα της PMSG ήταν η ίδια σ' όλους τους πειραματισμούς ανερχόταν σε 500 IU και γινόταν ενδομυϊκά (IM) κατά τη στιγμή της εξαγωγής των σπόγγων. Τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν οι ενδοκολπικοί σπόγγοι MAP (VETERDIF CYCLE) κι ακολούθησε η ενέσιμη προγεστερόνη, η οποία όμως ως μέθοδος είναι πρακτικά ανεφαρμοστή (Μινωτάκης και συν., 1971β). Σ' άλλο πείραμα συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα μεταξύ εμφυτευμάτων φυσικής προγεστερόνης και σπόγγων κατά την άνοιστρη περίοδο καθώς και μεταξύ διάφορων ειδών σπόγγων κατά την μεταβατική και την οιστρική περίοδο. Τα βασικά συμπεράσματα ήταν:

1. η δυνατότητα χρησιμοποίησης των εμφυτευμάτων, και
2. η υπεροχή των σπόγγων MAP (VETERDIF CYCLE) από τα άλλα είδη σπόγγων που χρησιμοποιήθηκαν (Xenoulis et al., 1972).

Αργότερα συγκρίθηκαν δύο είδη σπόγγων (SPOGOSAN και VETERDIF CYCLE) με εμφυτεύματα φυσικής προγεστερόνης σε τρεις διαφορετικές φάσεις της αναπαραγωγικής περιόδου. Η PMSG στο πείραμα αυτό χορηγήθηκε 24 ή 48 ώρες πριν από την εξαγωγή των σπόγγων ή των εμφυτευμάτων. Τα αποτελέσματα του πειραματισμού έδειξαν ότι τα εμφυτεύματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία καθ'όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου κι ακόμη ότι οι σπόγγοι VETERDIF CYCLE δίνουν καλύτερα αποτελέσματα από τους SPOGOSAN (Poilas et al., 1974). Τα ίδια αποτελέσματα είχαν και άλλοι ερευνητές σε παρόμοιο πείραμα (Tsamis et al., 1974). Μετά το 1974 έγιναν διάφορα συγκριτικά πειράματα με προγεσταγόνα MAP (60 mg), MAP 50(mg) και CHRONOGEST (30 mg), χωρίς όμως να διαπιστωθούν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Τσάμης, 1977). Σ'άλλο πείραμα, κατά την άνοιστρη περίοδο, χορηγήθηκαν ταυτόχρονα με την PMSG και 200 IU HCG, 48 ώρες πριν από την εξαγωγή των σπόγγων, με αποτέλεσμα την αύξηση του συντελεστή πολυδυμίας κατά 24 ο/ο (Τσάμης, 1977). Οι ανωτέρω πειραματισμοί έγιναν στο Κέντρο Κτηνοτροφικής Έρευνας Αθηνών.

Στη Θεσσαλονίκη η έρευνα σχετικά με την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού των οίστρων άρχισε στο Ίδρυμα Τεχνητής Σπερματέγχυσης Διαβατών. Ο πρώτος πειραματισμός αφορούσε έγχυση προγεστερόνης ενδομυϊκά επί 16 ημέρες (10 mg ανά ζώο) και ένεση 500 IU PMSG 48 ώρες μετά τη διακοπή της χορήγησης της προγεστερόνης. Αν και τα αποτελέσματα υπήρξαν ικανοποιητικά (98 ο/ο εμφάνιση οίστρου και 60 ο/ο ποσοστό τοκετών με εφαρμογή Τ.Σ.) η μέθοδος αυτή αποκλείστηκε γιατί πρακτικά είναι ανεφάρμοστη (Βλάχος, 1973).

Από το 1965 και μετά στο Ίδρυμα των Διαβατών άρχισαν να χρησιμοποιούνται στους πειραματισμούς ορμονικών αγωγών τα προγεσταγόνα. Τα αποτελέσματα της εργασίας των Μαργαρίτη και συνεργατών του (1974), που συνέκριναν σπόγγους SPOGOSAN και VETERDIF CYCLE με εμφυτεύματα SILESTRUS στην άνοιστρη περίοδο, έδειξαν ότι η χρήση των εμφυτευμάτων έχει μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας απ'ότι οι σπόγγοι.

Ο Τσακάλωφ και συν. (1981) πειραματίστηκαν με υποδόρια εμφυτεύματα προγεστερόνης και σπόγγους MAP και στις τρεις φάσεις της αναπαραγωγικής περιόδου. Τα συμπεράσματα τους ήταν ότι κατά την άνοιστρη και τη μεταβατική περίοδο η χρησιμοποίηση των σπόγγων δίνει καλύτερα αποτελέσματα, ενώ κατά την οιστρική περίοδο δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ σπόγγων και εμφυτευμάτων.

Αν και το ποσοστό εμφάνισης οίστρων σ' όλα τα παραπάνω πειράματα ήταν μεγαλύτερο από 90 ο/ο, το ποσοστό τοκετών κυμαίνονταν από 20 έως 70 ο/ο, ανάλογα με την εποχή και το σκεύασμα.

Η έρευνα σχετικά με την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού του οίστρου στη Γεωπονική Σχολή του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης ξεκίνησε από τα τέλη της δεκαετίας του 1970 (Alifaciotis, 1985). Ο ερευνητής αυτός σε εκτεταμένο πείραμα που πραγματοποίησε στην περιοχή της Θεσσαλονίκης, έκανε σύγκριση μεταξύ τριών ειδών προγεσταγόνων (σπόγγους MAP και CRONOLONE και μικροεμφυτευμάτων NORGESTOMET) σε συνδυασμό δύο δοσολογιών PMSG (500 και 1000 IU), στην άνοιστρη περίοδο. Η εμφάνιση του οίστρου έφθασε σε υψηλά επίπεδα (94-100 ο/ο), η γονιμότητα όμως κυμάνθηκε από 59 έως 71 ο/ο στις περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκαν 500 IU PMSG, ενώ με 1000 IU η γονιμότητα ήταν από 28 έως 49 ο/ο, ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο προγεσταγόνο. Η έρευνα στη Γεωπονική Σχολή του Πανεπιστημίου της Θεσσαλονίκης συνέχιστηκε από το Μιχαηλίδη (1986). Ο ερευνητής αυτός, αφού μελέτησε τις αναπαραγωγικές παραμέτρους προβατίνων και αμνάδων των φυλών Χίου και Κύμης εφάρμοσε διάφορα πειραματικά σχήματα ορμονικής αγωγής του συγχρονισμού του οίστρου, σε αμνάδες κατά την οιστρική και άνοιστρη περίοδο, χρησιμοποιώντας διάφορα προγεσταγόνα. Στις προβατίνες άνοιστρης περιόδου εκτός από τα διάφορα προγεσταγόνα αξιοποίησε και την "επίδραση του αρσενικού". Από την εργασία αυτή φαίνεται ότι κάθε φυλή σε κάθε ηλικία και στάδιο αναπαραγωγικής φάσης αντιδρά διαφορετικά στις διάφορες ορμονικές αγωγές.

Από την ανασκόπηση της έρευνας σχετικά με την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού του οίστρου στην Ελλάδα, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η διερεύνηση των ενδοκρινικών μηχανισμών που προκαλούνται με την ορμονική αγωγή κρίνεται αναγκαία.

#### ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η μέθοδος εκείνη η οποία χρησιμοποιείται ευρέως σήμερα για την πρόκληση συγχρονισμού του οίστρου στις προβατίνες, είναι αυτή της ορμονικής αγωγής με τη χρήση ενδοκολπικού σπόγγου εμποτισμένου με προγεσταγόνο και την ένεση της PMSG. Η επίτευξη υψηλού ποσοστού γονιμότητας με την εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι απαραίτητη προϋπόθεση στην επιτυχία της προγραμματισμένης αναπαραγωγής. Όπως όμως προαναφέρθηκε (βλέπε Ιστορικό της Μεθόδου και Βιβλιογραφική Ανασκόπηση, σελ. 16) τό ποσοστό γονιμότητας με την εφαρμογή της μεθόδου, είναι κατώτερο εκείνου που προκαλείται από φυσιολογικό οίστρο. Επιπλέον τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου στην άνοιστρη περίοδο ποικίλλουν περισσότερο από εκείνα της οιστρικής περιόδου.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση των ενδοκρινικών μεταβολών που προκαλούνται κατά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής του συγχρονισμού του οίστρου με στόχο την εξασφάλιση μεγάλης επιτυχίας στην προγραμματισμένη αναπαραγωγή.

Για την επίτευξη αυτού του στόχου θα πρέπει να είναι δυνατή η επιτυχής εφαρμογή της ορμονικής αγωγής σ' οποιαδήποτε εποχή του έτους. Μιά τέτοια όμως εφαρμογή δημιουργεί σειρά ερωτημάτων που αποτέλεσαν το έναυσμα για την εργασία αυτή. Τα ερωτήματα αυτά είναι:

- ποιά είναι η ωθητική λειτουργία έπειτα από ορμονική αγωγή στην οιστρική περίοδο και ποιά στην άνοιστρη περίοδο;
- ποιά είναι η τύχη του ωχρού σωματίου που τυχόν υπήρχε κατά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής;

Επειδή η περίοδος εφαρμογής της ορμονικής αγωγής στην πράξη είναι το δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου (Μάιος-Ιούνιος), δημιουργούνται πρόσθετα ερωτήματα για την περίοδο αυτή στα οποία η παρούσα μελέτη θα προσπαθήσει να δώσει απαντήσεις, όπως:

- ποιά είναι η επίδραση του προγεσταγόνου στον άξονα "Υπόθαλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη";
- πότε συμβαίνει η προ-ωοθυλακιωρηκτική κορυφή της LH μετά την ορμονική αγωγή σ' αυτή την περίοδο;

Επιπλέον θα πρέπει να απαντηθούν ερωτήματα που έχουν σχέση με την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στην πράξη, όπως:

- είναι δυνατή η εφαρμογή της διάγνωσης της εγκυμοσύνης με μετρήσεις της προγεστερόνης στον ορό αίματος και πότε;
- γιατί στην πράξη ένα ποσοστό προβατίλων, ύστερα από εφαρμογή ορμονικής αγωγής, παρουσιάζει διαταραχές της ωοθηκικής λειτουργίας με τελική κατάληξη την αναφροδισία;

#### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

Προκειμένου να επιτευχθεί ο σκοπός της εργασίας σχεδιάστηκαν οι εξής πειραματισμοί:

1. Γιά τον έλεγχο της ωοθηκικής λειτουργίας του κύκλου που προκαλείται μετά την ορμονική αγωγή .

1.1. Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στην οιστρική περίοδο.

1.2. Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στην άνοιστρη περίοδο

συγκεκριμένα:

1.2.1. Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο πρώτο μισό της άνοιστρης περιόδου.

1.2.2. Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου.

(Ο πειραματισμός αυτός, επειδή είναι εκείνος ο οποίος ενδιαφέρει περισσότερο στην πράξη, εφαρμόστηκε σε τρία διαφορετικά χρόνια).

1.2.2.1. Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου κατά τον πρώτο χρόνο.

1.2.2.2.Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο δεύτερο μισό της άνοιξης περιόδου κατά το δεύτερο χρόνο.

1.2.2.3.Εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο δεύτερο μισό της άνοιξης περιόδου κατά τον τρίτο χρόνο.

2. Γιά τον έλεγχο της επίδρασης του προγεσταγόνου στον άξονα "Υποθάλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη".

Γιά την επίτευξη του σκοπού αυτού του πειραματισμού έγιναν αιματοληψίες (0, 1, 2,5 και 5 ώρες) πριν από την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου, κατά την παραμονή του και μετά την εξαγωγή του για μέτρηση των συγκεντρώσεων της LH και καθημερινές αιματοληψίες για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων της οιστραδιόλης-17β και της προγεστερόνης.

Από τις μετρήσεις της LH θα εκτιμηθεί η επίδραση του προγεσταγόνου στην τονική έκλυση της LH και από τις καθημερινές αιματοληψίες (μέτρηση προγεστερόνης και οιστραδιόλης-17β) η έμμεση επίδραση του προγεσταγόνου (μέσω της LH) στην ωοθήκη.

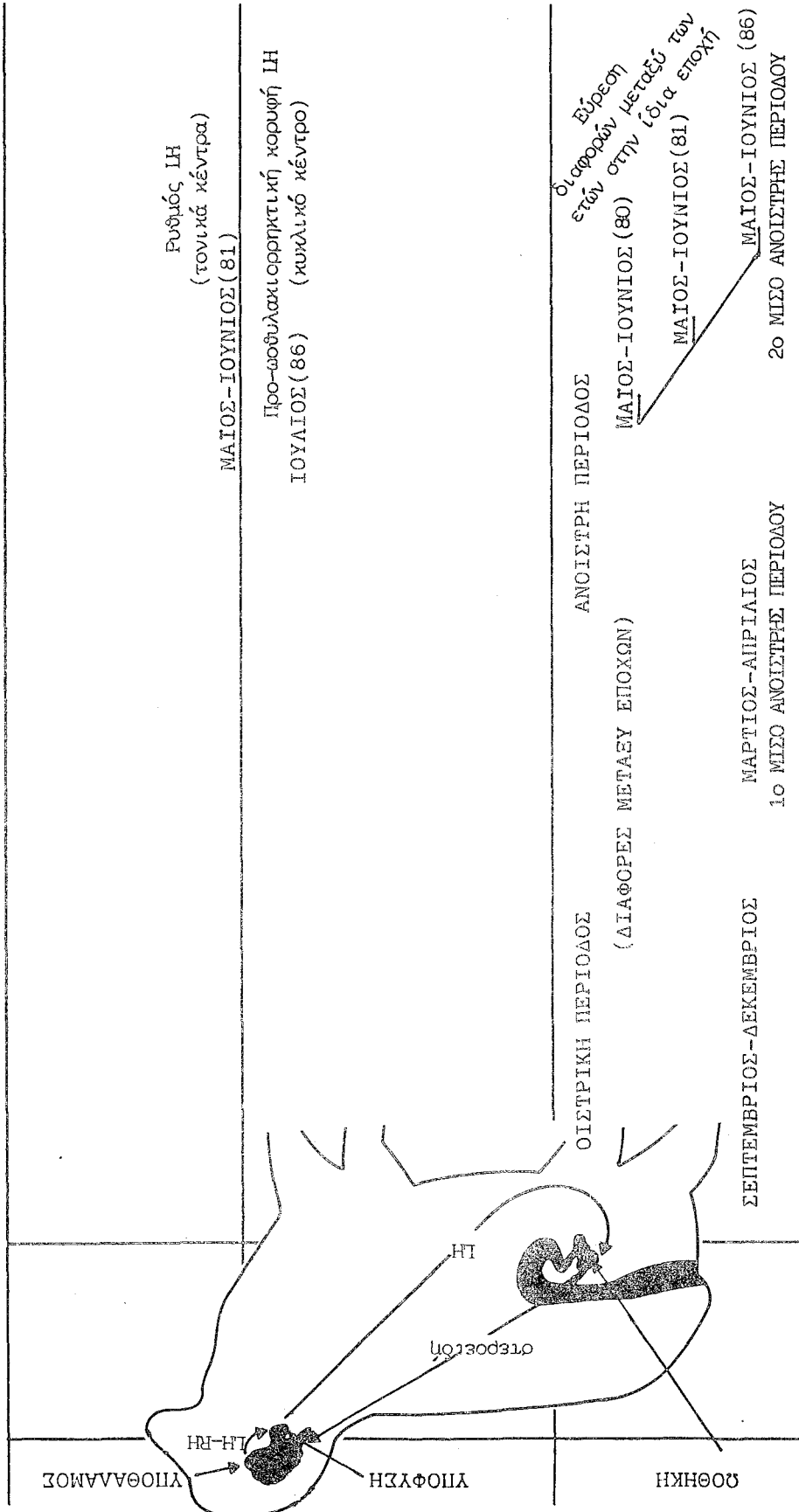
3. "Διερεύνηση του χρόνου εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH, έπειτα από την ορμονική αγωγή του συγχρονισμού των οίστρων με προγεσταγόνο MAP (60 mg) και έγχυση 500 IU PMSG."

Στον πειραματισμό αυτό οι αιματοληψίες γίνονταν ανά δίωρο μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG για τη μέτρηση της LH.

Η ορμονική αγωγή σ'όλους τους πειραματισμούς ήταν η ίδια, περιλάμβανε την εισαγωγή και παραμονή των σπόγγων MAP (MEDROXY-HYDROXY-PROGESTERONE-ACETATE 60 mg) στον κόλπο των ζώων για 13 ημέρες και ενδομυϊκή έγχυση 500 IU PMSG, κατά τη στιγμή της εξαγωγής των σπόγγων.

Στο σχεδιάγραμμα που παρουσιάζεται στην εικόνα 2 παριστάνονται γραφικά οι πειραματικοί σχεδιασμοί.





Εικόνα 2.- Σχεδιάγραμμα των περιστατικών σχεδιασμών.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Ζωικό υλικό και ορμόνες (σκευάσματα ορμονικής αγωγής)

Σ'όλους τους πειραματισμούς χρησιμοποιήθηκαν προβατί-  
νες ενήλικες, καλής θρεπτικής κατάστασης και φυσιολογικής ανα-  
παραγωγικής λειτουργίας. Στους πειραματισμούς 1 και 2 οι προ-  
βατίνες ήταν παραγκούνικης φυλής ενώ στον πειραματισμό 3, ή-  
ταν των φυλών Καραγκούνικης, Σερρών, Χίου και Ανατολικής Φρι-  
σλανδίας.

Η αιματοληψία γινόταν από την σφαγίτιδα φλέβα, προκειμένου  
γιά τις καθημερινές αιματοληψίες αυτές γίνονταν το μεσημέρι  
πριν από την παροχή τροφής στα ζώα.

Το αίμα φυγοκεντρείτο στις 3000 /min και ο ορός φυλασσό-  
ταν στους  $-40^{\circ}\text{C}$  μέχρι την ημέρα της μέτρησης των ορμονών.

Οι σιρόγγοι που χρησιμοποιήθηκαν σ'όλους τους πειραματισμούς  
περιείχαν 60 mg προγεσταγόνο MAP (17 $\alpha$ -acetoxy-6 $\alpha$ -methylpregn-4-  
ene-3,20-dione) της Εταιρείας UPJOHN. Η ορμόνη PMSG προερχόταν  
από εξαηριβομένης περιεκτικότητας αποθέματα του Υπουργείου  
Γεωργίας.

### Ορμονικοί προσδιορισμοί

Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός (RIA) της πρόβειας ωχρινοποιη-  
τικής ορμόνης (oLH).

Η μέθοδος μέτρησης της oLH αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο μας.  
Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα εξής:

1. Πρότυπος (standard) oLH (CNRS LH-M<sub>4</sub>)
2. Σεσημασμένη με  $^{125}\text{J}$  oLH.

Η σήμανση της oLH έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Hunter  
and Greenwood (1962).

3. Αντίσωμα anti-LH (CNRS). Ορός ινδοχοίρου ανοσοποιημένου έ-  
ναντι oLH. Χρησιμοποιήθηκε σε αραίωση χρήσεως 1/80.000.
4. Δεύτερο αντίσωμα. Ορός κουνελιού ανοσοποιημένου έναντι γ-  
σφαιρινών ινδοχοίρου. Παρασκευάστηκε στο Εργαστήριο μας και  
χρησιμοποιήθηκε σε αραίωση 1/8.

Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 1 ng/ml. Ο συντελεστής πα-  
ραλλακτικότητας γιά τον ίδιο προσδιορισμό (intra-assay) είναι

10 ο/ο και μεταξύ των προσδιορισμών (inter-assay) είναι 14 ο/ο.

Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός (RIA) της οιστραδιόλης-17β  
και της προγεστερόνης.

Ο προσδιορισμός της προγεστερόνης και της οιστραδιόλης-17β στον ορό του αίματος των προβατίνων έγινε με τη μέθοδο ανθρακα - δεξτράνης έπειτα από εκχύλιση του δείγματος με διαιθυλαιθέρα.

Τα ραδιενεργά στεροειδή (1,2,6,7-<sup>3</sup>H) προγεστερόνη (80-110 Ci/μmol) και (2,4,6,7-<sup>3</sup>H) (85-110 Ci/μmol) οιστραδιόλη αγοράστηκαν από την Εταιρεία Amersham και τα καθαρά στεροειδή από την Sigma Chemical Company.

Ο αντιορός που χρησιμοποιήθηκε παρασκευάστηκε σε κουνέλια που ανοσοποιήθηκαν έναντι προγεστερόνης και έναντι οιστραδιόλης-6-Ο carboxymethyl oxime συνδεδεμένης με βόειο αλβουμίνη.

Η ευαισθησία της μεθόδου για την οιστραδιόλη είναι 10 pg/ml και για την προγεστερόνη 0,3 ng/ml.

Για την οιστραδιόλη, ο συντελεστής παραλλακτικότητας για τον ίδιο προσδιορισμό (intra-assay) είναι 8 ο/ο, μεταξύ δε των προσδιορισμών (inter-assay) είναι 14 ο/ο.

Για την προγεστερόνη τα ποσοστά αυτά είναι 5 ο/ο και 10 ο/ο αντίστοιχα.

## 1ος ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

### "ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ ΣΤΗΝ ΟΙΣΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΟΙΣΤΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟ".

Ο πειραματισμός αυτός εφαρμόστηκε προκειμένου να διαπιστωθούν υπάρχουσες διαφορές στην ωοθηκική λειτουργία έπειτα από ορμονικές αγωγές που εφαρμόστηκαν στην οιστρική και άνοιστρη περίοδο.

#### 1.1. "ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΟΙΣΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ".

Ο πειραματισμός αυτός έγινε στο κτηνοτροφείο της ΑΓΣΑ, στο χρονικό διάστημα μεταξύ των μηνών Σεπτεμβρίου 1986 και Ιανουαρίου 1987, σε προβατίνες φυλής Καραγκούνικης.

##### Υλικά και Μέθοδοι

Οι προβατίνες που χρησιμοποιήθηκαν βρίσκονταν σε ξηρά περίοδο και διατηρούνταν ενσταυλισμένες. Η διατροφή τους ήταν υπό τον έλεγχο του Εργαστηρίου Διατροφής της Σχολής. Τα υλικά για την ορμονική αγωγή και οι μέθοδοι των ορμονικών προσδιορισμών περιγράφηκαν ήδη στο Κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι (σελίδα 33 ).

##### Αποτελέσματα και Σχολιασμός

Τα αποτελέσματα του πειραματισμού αυτού παρουσιάζονται στον πίνακα 2 και διαγραμματικά οι μέσοι όροι στην εικόνα 3.

Με βάση το κριτήριο των τιμών της προγεστερόνης, οι προβατίνες κατά την τοποθέτηση του σπόγγου κατατάχθηκαν σ' αυτές που είχαν ωχρινική λειτουργία και σ' αυτές που απουσίαζε ωχρινικός ιστός.

##### Προβατίνες που κατά την τοποθέτηση του προγεσταγονούχου σπόγγου είχαν ωχρινική λειτουργία.

Όλες οι προβατίνες του πειράματος κατά την τοποθέτηση του σπόγγου είχαν ωχρινική λειτουργία εκτός των προβατίνων Νο 038 και 927.

Στις προβατίνες αυτές η ωχρινική λειτουργία ενδέχεται να προερχόταν από κανονικό λειτουργικά ωχρο σωματίο η από υπο-

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 : ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΤΗΣ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΟΙΣΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ.

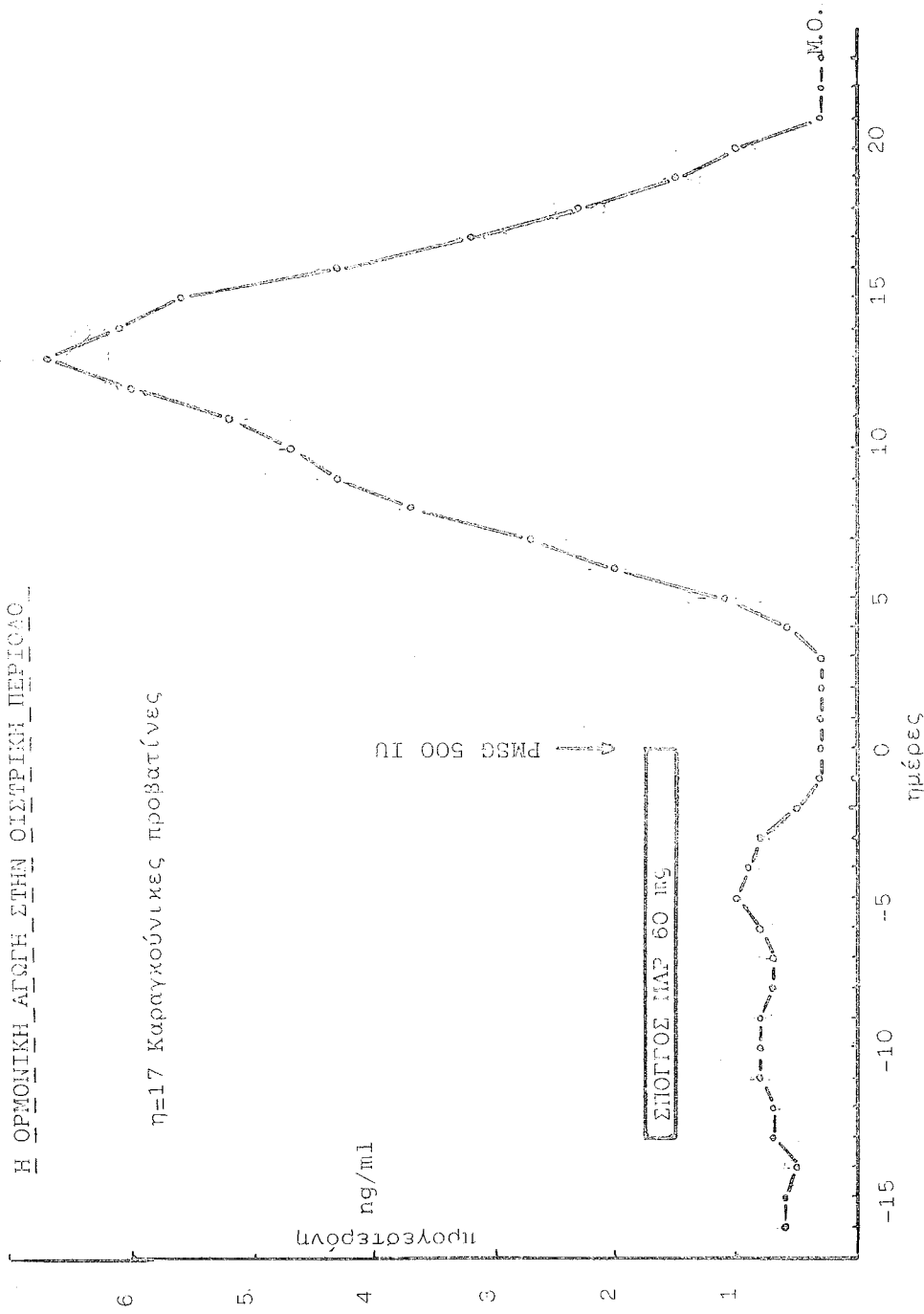
No	ΗΜΕΡΕΣ ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ PMSG													
	-16	-15	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
48	1,1	1,0	0,9	2,0	1,5	1,1	1,8	2,5	1,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
58	2,2	1,8	1,5	2,7	2,0	1,5	0,9	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
38	2,5	1,7	1,0	1,7	1,4	1,2	0,7	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
60	1,5	1,4	1,4	1,2	1,5	1,9	1,2	0,6	0,6	0,6	0,4	0,3	0,3	0,3
927	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
982	0,3	0,4	0,6	0,7	0,8	1,0	1,1	1,6	2,1	2,5	3,2	4,0	4,5	4,0
954	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,4	0,3	0,3	0,5	0,7	0,8	1,0
958	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9	1,0	0,9	0,8
567	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	1,0	1,5	1,0	1,2	1,6	1,0	0,6
41	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	1,0	1,1	1,0	0,9	1,0	1,7	2,5	2,0	1,3
44	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,8	0,6	0,5
45	0,3	0,3	0,3	0,3	0,7	1,1	1,4	1,0	0,7	0,3	0,4	0,5	0,5	0,6
52	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0,8	0,7	0,8	0,8
038	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4	0,3
048	0,3	0,3	0,4	0,4	0,7	1,1	1,4	1,2	1,0	0,8	1,2	1,7	1,3	0,5
058	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,8	1,1	1,0	0,8	0,6	1,0	1,4	1,0	0,5
060	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,6</u>	<u>0,9</u>
$\bar{X}$	0,6	0,6	0,5	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,8	1,0	0,9	0,8
SD	0,7	0,5	0,4	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,5	0,5	0,7	1,0	1,0	0,9
SE	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 (συνέχεια)

-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	1,5	2,5	3,3	4,2	7,0
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	1,6	2,2	3,0	3,7	4,0
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	1,5	2,5	3,0	3,7	3,5
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	1,0	1,4	1,6	1,8	3,1
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,9	1,5	2,5	4,4	6,5	8,6	7,8	6,9	8,2
1,0	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,6	0,9	1,7	2,7	4,0	5,6	4,6	3,6	5,5
0,8	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,8	2,0	5,0	5,2	5,6	5,7	5,8	6,5
0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	1,0	2,0	3,1	3,2	3,0	4,3	5,6	6,0
0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	1,0	1,7	2,6	4,0	5,0	7,0	6,3	5,6	6,5
0,8	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	1,0	1,8	2,1	2,6	3,5	4,4	5,0	5,8	5,7
0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	1,1	2,5	4,0	5,5	7,0	7,3	7,6	9,0
0,5	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	5,0	7,0	1,0	10,0	9,0	10,0	11,4	10,0
0,5	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,7	1,1	2,1	2,8	2,5	2,3	3,0	3,5	4,0
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	1,1	2,3	3,0	3,3	3,7	4,8	6,0	6,5
0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	1,3	2,4	2,5	2,5	2,6	2,7	4,0
0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,8	1,0	2,5	4,2	3,8	3,5	3,8	3,9	5,5
<u>0,5</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>	<u>0,4</u>	<u>0,5</u>	<u>1,0</u>	<u>1,6</u>	<u>1,8</u>	<u>2,0</u>	<u>4,0</u>	<u>6,4</u>	<u>6,5</u>
0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	1,1	2,0	2,7	3,7	4,3	4,7	5,2	6,0
0,2						0,2	1,1	1,5	1,5	2,3	2,4	2,1	2,2	1,9
						0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 (συνέχεια)

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
10,0	8,0	6,4	4,5	2,7	1,5	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
4,2	3,3	2,5	1,8	1,2	0,7	0,3	0,3	0,3	0,4	0,6
3,2	4,8	6,4	4,4	2,5	1,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4
4,5	3,8	3,1	2,3	1,5	0,9	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
9,6	7,2	4,9	3,4	2,0	1,6	1,3	1,0	0,3	0,3	0,3
7,6	7,1	6,6	5,7	4,8	3,5	2,2	1,5	0,6	0,3	0,3
7,0	6,4	6,0	6,0	6,0	4,5	3,5	1,9	0,4	0,4	0,5
6,0	5,5	5,1	5,0	4,7	3,0	1,7	1,0	0,4	0,3	0,3
7,6	6,6	5,8	4,0	2,5	2,2	2,0	1,6	0,3	0,3	0,3
5,6	6,5	7,8	5,8	3,8	2,5	1,5	1,2	0,3	0,3	0,3
10,0	11,0	13,0	9,0	5,2	3,5	2,0	1,0	0,3	0,3	0,4
8,0	5,7	3,5	2,5	1,5	1,5	1,5	0,9	0,3	0,3	0,3
4,6	5,0	5,8	4,0	2,3	2,0	1,8	1,1	0,4	0,3	0,3
7,0	5,7	4,5	3,5	2,5	2,0	1,5	0,9	0,4	0,3	0,3
5,4	4,8	4,2	4,1	4,0	2,6	1,2	0,8	0,4	0,3	0,3
7,2	7,0	6,4	5,0	3,9	2,8	1,8	1,0	0,3	0,3	0,3
<u>6,6</u>	<u>4,8</u>	<u>3,0</u>	<u>3,0</u>	<u>2,9</u>	<u>2,4</u>	<u>2,0</u>	<u>1,4</u>	<u>0,4</u>	<u>0,3</u>	<u>0,3</u>
6,7	6,1	5,6	4,3	3,2	2,3	1,5	1,0	0,3	0,3	0,3
2,0	1,8	2,4	1,7	1,4	1,0	0,8	0,5	0,1		0,1
0,5	0,4	0,6	0,4	0,3	0,2	0,2	0,1			



Εικόνα 5.-Τα επίπεδα της προγεστερόνης κατά την ορμονική αγωγή στην οιστρική περίοδο.



λειτουργικό ωχρό σωμάτιο (ωχρό μικρής διάρκειας ζωής ή ωχρινοποιημένα ωθυλάκια).

Θεωρείται ότι επίπεδα προγεστερόνης μεγαλύτερα από 1,5 ng/ml προέρχονται από κανονικό λειτουργικά ωχρό σωμάτιο (Robinson et al., 1987).

Προβατίνες που κατά την τοποθέτηση του προγεσταγονούχου σπόγγου είχαν ωχρινική λειτουργία από κανονικό λειτουργικά ωχρό σωμάτιο.

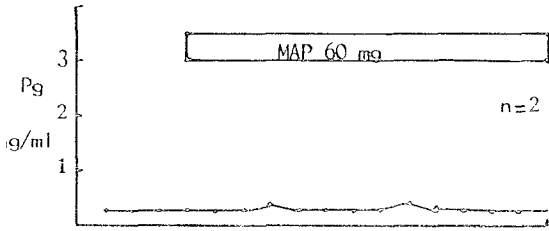
Στις προβατίνες αυτές όταν τοποθετήθηκε ο σπόγγος το ωχρό σωμάτιο μπορούσε να βρísκεται είτε στη φάση της εξέλιξης είτε στη φάση της παλινδρόμησης. Σε εξέλιξη βρισκόταν στις προβατίνες Νο 48, 60, 982, 048, 567, 41 και σε παλινδρόμηση στις προβατίνες Νο 38 και 58 (Εικ. 4).

Προβατίνες που κατά την τοποθέτηση του προγεσταγονούχου σπόγγου είχαν ωχρινική λειτουργία από μη κανονικό λειτουργικά ωχρό σωμάτιο (υπολειτουργικό ωχρό σωμάτιο ή ωχρινοποιημένα ωθυλάκια).

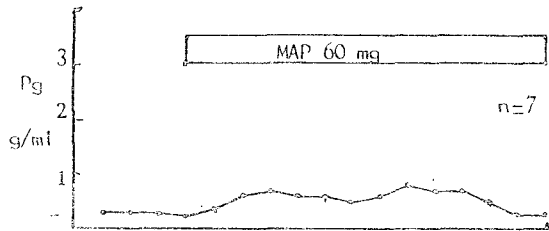
Οι προβατίνες αυτής της κατηγορίας ήταν οι εξής:  
Νο 954, 958, 567, 41, 44, 45, 52, 048 και 058.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 4, εάν κατά την τοποθέτηση του προγεσταγονούχου σπόγγου υπάρχει ωχρό σωμάτιο ή ωχρινικός ιστός από υπολειτουργικό ωχρό σωμάτιο ή ωχρινοποιημένα ωθυλάκια, οι σχηματισμοί αυτοί θα ακολουθήσουν την εξέλιξη τους μέχρι να παλινδρομήσουν πλήρως. Στην περίπτωση που υπήρχε ωχρό σωμάτιο σε εξέλιξη, η παλινδρόμηση του ολοκληρώθηκε σχεδόν τη 13η ημέρα της παραμονής του προγεσταγόνου (5/6 ζώα είχαν τιμή προγεστερόνης 0,3 ng/ml και 1/6 είχε 0,4 ng/ml την ημέρα αυτή).

Εικόνα 4. -Τα επίπεδα της προγεστερόνης Καραγκούνικων στην οιστρική περίοδο κατά τη διάρκεια της παραμονής του προγεσταγονούχου σπόγγου, ανάλογα με τη παρουσία ωχρινικού ιστού.

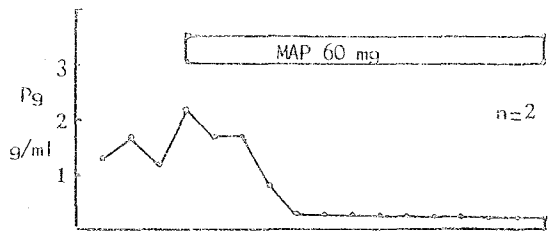


ΑΠΟΥΣΙΑ ΩΧΡΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

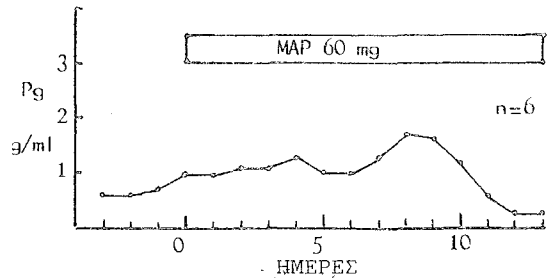


ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΩΧΡΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

(υπολειτουργικό ωχρό  
ή ωχρινοποιημένα ω-  
θυλάκια)



(ωχρό σωματίο σε παλινδρόμηση)



(ωχρό σωματίο σε εξέλιξη)

Αρα το διάστημα των 13 ημερών της παραμονής του σπόγγου κρίνεται αρκετό για την πλήρη παλινδρόμηση των ωχρών σωματίων. Εξάλλου μεγαλύτερη παραμονή του προγεσταγόνου δεν επιφέρει και αντίστοιχη προγεστερονική δράση αφού το μεγαλύτερο μέρος της ποσότητας του απορροφείται στην αρχή της παραμονής του (Allison και Robinson, 1970).

Γι' αυτό η παραμονή του προγεσταγονούχου σπόγγου πρέπει να είναι τουλάχιστον όση η διάρκεια της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου της συγκεκριμένης φυλής κατά την εποχή που γίνεται η ορμονική αγωγή. Αναφέρεται ότι η χορήγηση προγεστερόνης στην αρχή του οιστρικού κύκλου μειώνει τη διάρκεια του (Woody et al., 1967a' Lewis et al., 1968). Αίτιο αυτής της μείωσης πρέπει να είναι η έντονη αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση που προκαλεί η ορμόνη αυτή στην τονική έκλυση της LH, αφού χορήγηση ανθρώπιου χοριακής γοναδοτροφίνης (HCG) αποκαθιστά την κανονική διάρκεια του κύκλου (Lewis et al., 1968).

Ήταν ήδη γνωστό (Kaltenbach et al., 1966) ότι τουλάχιστον τις 5 πρώτες ημέρες μετά την ωοθυλακιορρηξία η διάρκεια της ζωής του ωχρού σωματίου εξαρτάται από την τροφοδοσία με LH από την υπόφυση.

Προβατίνες που κατά την τοποθέτηση του προγεσταγονούχου σπόγγου δεν παρουσίαζαν ωχρινική λειτουργία.

Τα ζώα της κατηγορίας αυτής ή βρίσκονταν στην αρχή της οιστρικής περιόδου, όπως οι προβατίνες No 038, 44 και 060 (Εικόνα 4) ή το προγεσταγόνο τοποθετήθηκε λίγο πριν συμβεί η θετική παλίνδρομη ρύθμιση.

Τα ανωτέρω είναι σε πλήρη συμφωνία με το θεωρητικό πρότυπο της καμπύλης της προγεστερόνης κατά την ορμονική αγωγή που έδωσε ο Cumming (1979).

Η αναστολή της ωοθυλακιορρηξίας από τοποθέτηση προγεσταγόνου λίγο πριν συμβεί η θετική παλίνδρομη αλληλορρύθμιση επιβεβαιώθηκε από τον Ainsworth (1985) ο οποίος χρησιμοποιώντας προγεσταγόνο 48 ώρες ύστερα από άλλη ορμονική αγωγή που είχε

προηγηθεί και στην οποία είχε χρησιμοποιήσει άλλο προγεσταγόνο, αλλά την ίδια ποσότητα PMSG, παρατήρησε ότι άλλα ζώα παρουσίασαν ωοθυλακιορρηξία και άλλα όχι. Προφανώς ωοθυλακιορρηξία έγινε στα ζώα εκείνα που η θετική παλίνδρομη ρύθμιση έλαβε χώρα πριν από την τοποθέτηση του δεύτερου προγεσταγόνου (δηλαδή πριν από τις 48 ώρες).

## 1.2. "ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΟΙΣΤΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟ"

Η άνοιστρη περίοδος για την Καραγκούνικη φυλή στην Αττική εκτείνεται από το Φεβρουάριο έως το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Αυγούστου (Μπιζέλης, 1989). Η Βοσνιάκου (1983) αναφέρει ότι η άνοιστρη περίοδος της Καραγκούνικης φυλής στη Θεσσαλονίκη είναι από τον Απρίλιο μέχρι τον Αύγουστο. Είναι δυνατόν εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες να αποτελούν τα αίτια αυτής της διαφοράς.

Σε ίδιο πειραματισμό στον οποίο μετρήθηκαν τα επίπεδα της προγεστερόνης 15-20 καραγκούνικων προβατίνων του Κτηνοτροφείου της ΑΓΣΑ, από το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Φεβρουαρίου μέχρι το δεύτερο του Αυγούστου (δύο αιματοληψίες εβδομαδιαίως), διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της προγεστερόνης των μηνών Φεβρουαρίου, Μαρτίου και Απριλίου είναι χαμηλότερα εκείνων των μηνών Μαΐου, Ιουνίου και Ιουλίου (Εικ.5). Έτσι εφαρμόστηκαν δύο πειραματισμοί, ένας στο διάστημα Μαρτίου-Απριλίου (πρώτο μισό άνοιστρης περιόδου) και άλλος στο διάστημα Μαΐου-Ιουνίου (δεύτερο μισό άνοιστρης περιόδου).

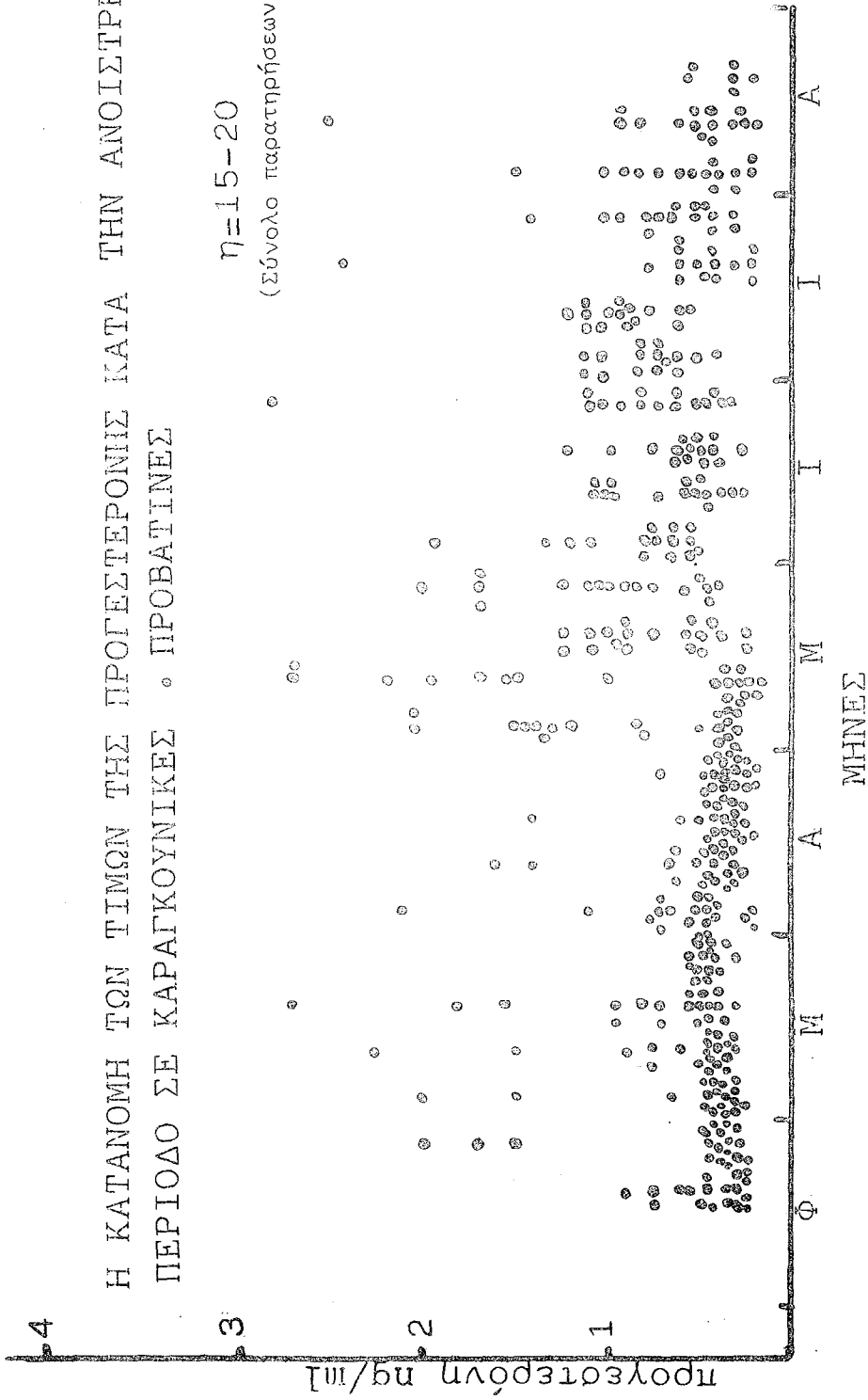
### 1.2.1. "ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΙΣΤΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟ ΚΑΤΑ ΤΟΥΣ ΜΗΝΕΣ ΜΑΡΤΙΟ-ΑΠΡΙΛΙΟ".

Ο πειραματισμός αυτός και ο επόμενος, είχαν στόχο να βρουν υπάρχουσες διαφορές στους ωοθηκικούς κύκλους που προκαλούνται μετά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο πρώτο και δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου.

Η ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΗΣ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΟΙΣΤΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟ ΣΕ ΚΑΡΑΓΚΟΥΝΙΚΕΣ • ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ

$\eta = 15-20$

(Σύνολο παρατηρήσεων = 960)



Εικ. 5. - Η κατανομή των τιμών της προγεστερόνης καραγκούνικων προβατινών στην άνοιστρον περίοδο. Είναι εμφανής η διαφοροποίηση που παρατηρείται μετά το μάτο. (Λόγω του μεγάλου αριθμού των παρατηρήσεων, δύο ανά εβδομάδα, στην εικόνα παρουσιάζονται οι εβδομαδιαίοι Μ.Ο.).

## Υλικά και Μέθοδοι

Ο πειραματισμός αυτός έγινε στο Κτηνοτροφείο της ΑΓΣΑ. Χρησιμοποιήθηκαν 16 προβατίνες φυλής Καραγκούνικης. Από τις προβατίνες αυτές 10 είχαν γεννήσει τουλάχιστον προ διμήνου και αμέλγονταν, ενώ οι υπόλοιπες 6 (No 58, 38, 49, 60, 26 και 48) δεν είχαν οχευθεί στην προηγούμενη οιστρική περίοδο.

Τα ορμονικά σκευάσματα (προγεσταγονούχοι σπόγγοι και PMSG) ήταν τα ίδια με αυτά του προηγούμενου πειραματισμού καθώς και το πειραματικό πρωτόκολλο της ορμονικής αγωγής. Οι μέθοδοι των ορμονικών προσδιορισμών περιγράφονται στο γενικό κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι (σελίδα 33).

## Αποτελέσματα και Σχολιασμός

Τα αποτελέσματα του πειραματισμού αυτού παρουσιάζονται στον πίνακα 3 και οι μέσοι όροι των τιμών της προγεστερόνης απεικονίζονται διαγραμματικά στην εικόνα 6.

Κατά την περίοδο που οι προβατίνες έφεραν τον προγεσταγονούχο σπόγγο, μία προβατίνα (No 949) είχε τιμές προγεστερόνης μεγαλύτερες από 1,5 ng/ml για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από μία εβδομάδα, κατά πάσα πιθανότητα η προγεστερόνη αυτού του ζώου προερχόταν από κανονικό λειτουργικά ωχρό σωματίο. Οι προβατίνες No 38, 979, 972, 948, 871 και 977 είχαν τιμές προγεστερόνης μεγαλύτερες από 1,0 ng/ml, για χρονικό διάστημα όμως μικρότερο από μία εβδομάδα, πιθανόν η προγεστερόνη αυτών των ζώων προερχόταν από υπολειτουργικό ωχρό σωματίο. Οι προβατίνες No 58, 60, 851, 26 και 48 είχαν τιμές προγεστερόνης που κυμαίνονταν από 0,5 έως 1,0 ng/ml γεγονός που υποδηλώνει ότι υπήρχε ωχρινικός ιστός ενώ οι προβατίνες No 49, 844, 811 και 966 δεν είχαν ωχρινικό ιστό αφού οι τιμές της προγεστερόνης τους ήταν κάτω από 0,4 ng/ml.

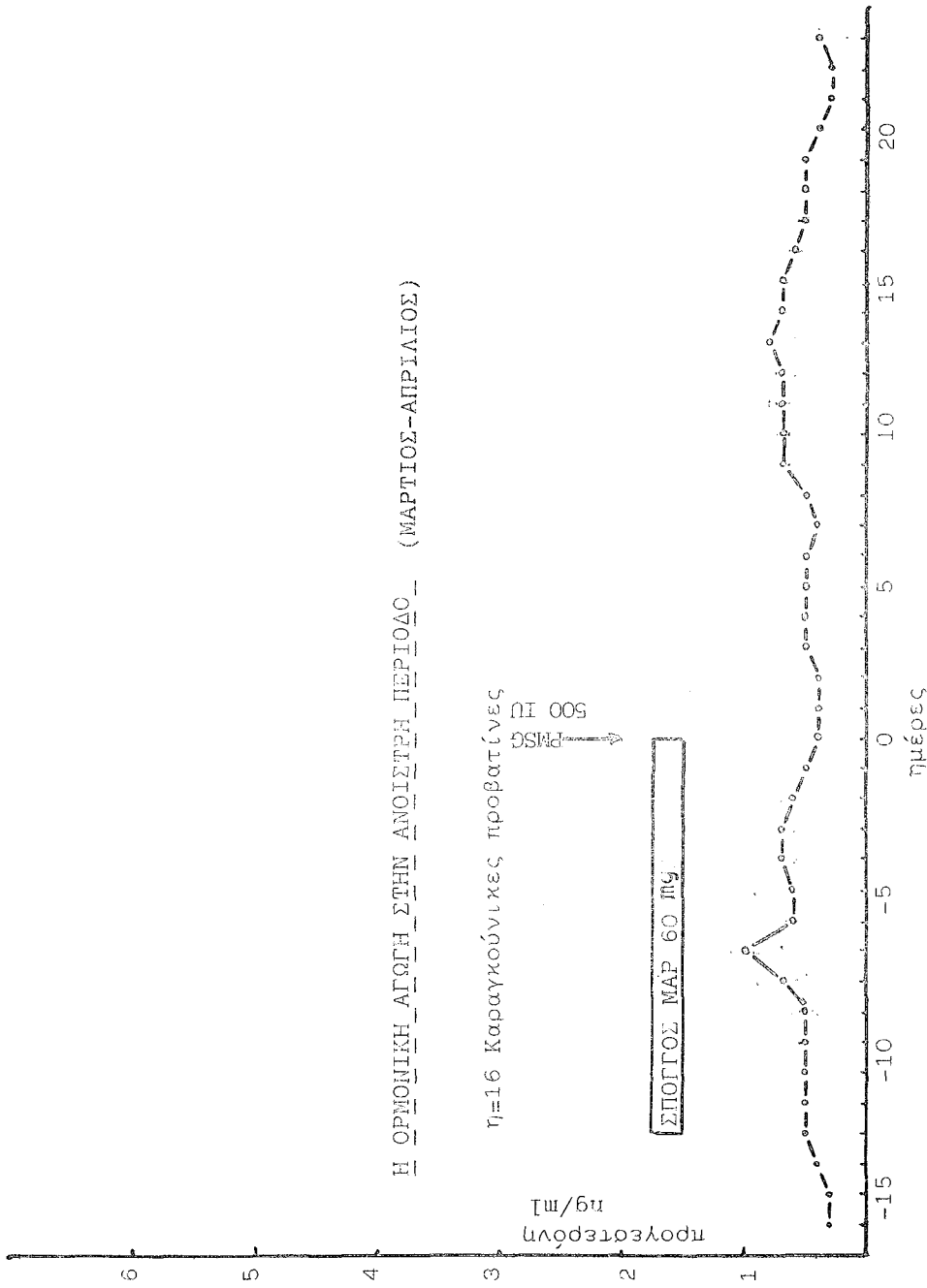
Κατά τον κύκλο που ακολούθησε την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου και την έγχυση της PMSG τιμές προγεστερόνης μεγαλύτερες από 1,5 ng/ml για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από μία εβδομάδα, παρουσίασε μόνο η προβατίνα No 977. Αξιοσημείωτο



ΠΙΝΑΚΑΣ 3 (συνέχεια)

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3
0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,5	0,3	0,3	0,4
0,4	0,6	0,5	0,5	0,4	0,3	0,4	0,6	0,4	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3	0,6	1,0	0,6	0,3	0,3	0,3
0,4	0,4	0,5	0,7	0,5	0,3	0,5	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,5	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
0,3	0,3	0,5	0,7	0,5	0,3	0,4	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
0,4	0,4	0,4	0,5	0,6	0,7	0,6	0,6	0,5	0,4	0,5	0,7	0,5	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
0,5	0,6	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,7	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,9	1,2	0,8	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
0,4	0,5	0,5	0,5	0,7	1,0	1,0	1,0	1,2	1,5	1,5	1,6	1,2	0,9	0,9	1,0	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,6	0,5	0,4	0,3	0,3
0,5	0,5	0,6	0,8	0,5	0,3	0,4	0,6	0,6	0,7	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,4	0,5
0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,7	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3
0,6	0,7	0,5	0,4	0,3	0,3	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,5	0,4	0,4	0,6	0,9	0,6	0,3	0,4	0,6
0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,8	0,7	0,7	0,7	0,8	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3
<u>0,4</u>	<u>0,3</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>	<u>1,0</u>	<u>1,6</u>	<u>1,9</u>	<u>2,2</u>	<u>2,6</u>	<u>3,0</u>	<u>3,5</u>	<u>4,0</u>	<u>2,5</u>	<u>1,1</u>	<u>0,7</u>	<u>0,3</u>	<u>0,4</u>	<u>0,5</u>	<u>0,4</u>	<u>0,4</u>
0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,6	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3	0,3	0,4
0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0,9	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
							0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1						





Εικ. 6. -Η καμπύλη της προγεστερόνης 16 καραγκούνικων προβατίνων κατά την ορμονική αγωγή στην ανοιστή, περίοδο (Μαρτίου-Απριλίου). Τα σημεία της καμπύλης αντιστοιχούν στις μέσες τιμές.

είναι ότι η προβατίνα Νο 949 που κατά την περίοδο με το προγεσταγόνο είχε υψηλές τιμές προγεστερόνης, στον κύκλο που ακολούθησε οι τιμές ήταν πολύ χαμηλές. Όλες οι άλλες προβατίνες είχαν τιμές προγεστερόνης κάτω από 0,7 ng/ml εκτός της προβατίνας Νο 871 που οι τιμές της προγεστερόνης της ήταν μεγαλύτερες από 1,5 ng/ml, μόνο όμως για διάστημα τριών ημερών.

Ουσιαστικά, δηλαδή, η πλειονότητα των ζώων είχε υπολειπургικό ωχρό σωματίο που σε περίπτωση γονιμοποίησης θα ήταν αδύνατον να συντηρήσει την εγκυμοσύνη. Θεωρητικά το ποσοστό επιτυχίας (ποσοστό έγκυων ζώων) μετά ορμονική αγωγή στην περίοδο αυτή δεν θα έπρεπε να ήταν μεγαλύτερο από 6 ο/ο (1/16 ζώα).

Από τη σύγκριση των επιπέδων της προγεστερόνης των κύκλων που προήλθαν μετά από την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στην οιστρική περίοδο και πρώτο μισό της άνοιστρης περιόδου παρατηρείται ότι:

Η μέση τιμή της προγεστερόνης για το διάστημα από την 4η ημέρα έως την 20η μετά την αφαίρεση του σπύγγου και την έγχυση της PMSG στο πρώτο μισό της άνοιστρης περιόδου (Μάρτιος-Απρίλιος) είναι 0,6 ng/ml ενώ για το αντίστοιχο διάστημα της οιστρικής περιόδου ήταν 3,6 ng/ml. Από τη σύγκριση των δύο αυτών μέσων όρων προκύπτει ότι  $t=6,27$ . Η πιθανότητα να παρατηρηθεί αυτή η τιμή του  $t$  με  $B.E=32$  είναι μικρότερη του 0,001 γεγονός που δείχνει ότι οι δύο τιμές διαφέρουν σημαντικά και μάλιστα με επίπεδο σημαντικότητας το 1 ο/οο.

Είναι πιθανόν η αραιή επεισοδιακή έκκριση της LH της άνοιστρης περιόδου (Karsch, 1980) να είναι η αιτία της μη δημιουργίας κανονικού λειτουργικά ωχρού σωματίου.

1.2.2 "ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΩΘΗΚΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΟΙΣΤΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟ ΚΑΤΑ ΤΟΥΣ ΜΗΝΕΣ ΜΑΪΟ-ΙΟΥΝΙΟ".

Όπως προαναφέρθει (σελ. 42 ) τα επίπεδα της προγεστερόνης φυσιολογικών καραγκούνικων προβατίνων κατά την άνοιστρη περίοδο εμφανίζουν διαφορές. Τα επίπεδα της προγεστερόνης των μηνών Φεβρουαρίου, Μαρτίου και Απριλίου είναι χαμηλότερα εκείνων των μηνών Μαΐου, Ιουνίου και Ιουλίου οπότε η εφαρμογή άλλου πειραματισμού στο δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου ήταν επιτακτική προκειμένου να διαπιστωθούν διαφορές στα επίπεδα της προγεστερόνης των κύκλων που θα προέκυπταν μετά την εφαρμογή των ορμονικών αγωγών στο πρώτο και το δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου. Η περίοδος αυτή, επιπλέον, ενδιαφέρει ιδιαίτερα στην πράξη, αφού το σύνολο σχεδόν των συγχρονισμών γίνονται σ' αυτό το διάστημα προκειμένου οι τοκετοί να είναι πρώιμοι. Προκειμένου να διαπιστωθούν διαφορές μεταξύ των ετών ο πειραματισμός αυτός επαναλήφθηκε σε τρία διαφορετικά έτη.

Υλικά και Μέθοδοι

Την πρώτη χρονιά (1980) χρησιμοποιήθηκαν 5, τη δεύτερη (1981) 6 και την τρίτη (1986) 12 προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής. Σ' όλους τους πειραματισμούς όσα ζώα είχαν γεννήσει είχαν απογαλακτίσει τα αρνιά τους τουλάχιστον προ μηνός.

Τα ορμονικά σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν στις ορμονικές αγωγές των παραπάνω πειραματισμών καθώς και το πρωτόκολλό τους ήταν τα ίδια με τους προηγούμενους πειραματισμούς.

Οι μέθοδοι των ορμονικών προσδιορισμών περιγράφονται στο γενικό κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι (σελίδα 33).

## Αποτελέσματα και Σχολιασμός

Τα αποτελέσματα του πειραματισμού της πρώτης χρονιάς παρουσιάζονται στον πίνακα 4, της δεύτερης στον πίνακα 5 και της τρίτης στον πίνακα 6. Στην εικόνα 7 παρουσιάζονται διαγραμματικά οι καμπύλες της προγεστερόνης όλων των παραπάνω πειραματισμών.

Από τους πίνακες 4, 5 και 6 παρατηρούμε ότι οι προβατίνες κατά την περίοδο που έφεραν ενδοκολπικά τον προγεσταγονούχο σπόγγο, ωχρινική λειτουργία είχαν μόνο 3 στις 6 προβατίνες του δεύτερου χρόνου και 8 στις 12 του τρίτου χρόνου (τιμές προγεστερόνης μεγαλύτερες από 0,5 ng/ml Robertson and Sarda, 1971).\*

Αν και, όπως παρατηρήθηκε στον προηγούμενο πειραματισμό, η ύπαρξη ωχρινικής λειτουργίας κατά την περίοδο που οι προβατίνες φέρουν τον ενδοκολπικό σπόγγο δεν αποτελεί εγγύηση ότι η ορμονική αγωγή θα προκαλέσει κανονική ωχρινική λειτουργία στον κύκλο που θα την ακολουθήσει, εντούτοις αποδεικνύεται ότι η ωθητική δραστηριότητα την εποχή αυτή παρουσιάζει διαφορές από χρονιά σε χρονιά.

Αυτή η αυξημένη ωθητική δραστηριότητα στο τέλος της άνοιξης, που στην πλειονότητα της εκδηλώνεται με σιωπηλούς οίστρους, παρατηρήθηκε από τους Thiébaudier και Mauleon (1969) στη φυλή Ile-de-France, από τη Βοσνιαίου (1983) στις φυλές Χίου, Καραγκούνικη και Σερρών και από τον Μπιζέλη (1989) στις φυλές Χίου και Καραγκούνικη.

Είναι πιθανόν η εμφάνιση και η διάρκεια (αριθμός ωθητικών κύκλων) αυτής της ωθητικής δραστηριότητας που παρουσιάζεται στο τέλος της άνοιξης, εκτός των κληρονομικών παραγόντων (φυλή, ατομικότητα) να επηρεάζεται και από άλλους ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες (ατομική κατάσταση, διατροφή και περιβάλλον).

---

\* Θεωρείται ότι τιμή προγεστερόνης 0,5 ng/ml υποδηλώνει παρουσία ωχρινικού ιστού ενώ > 1,5 ng/ml υποδηλώνει κανονικό λειτουργικά ωρό σωματίο (Robinson et al., 1987). Βλέπε "Διάγνωση εγκυμοσύνης" σελ. 104.













ΠΙΝΑΚΑΣ 5 (συνέχεια)

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1,1	1,0	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
2,0	1,9	1,8	1,5	1,3	0,9	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
1,8	1,8	1,8	1,6	1,4	1,2	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
1,8	1,8	1,7	1,5	1,3	1,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
2,1	1,9	1,9	1,7	1,5	1,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
1,8	1,8	2,0	1,7	1,3	1,0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
1,8	1,7	1,7	1,5	1,2	1,0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	-	-	-	-	-
0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1					

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΤΗΣ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ (ng/ml) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ  
ΤΟΥΣ ΜΗΝΕΣ ΜΑΙΟ-ΙΟΥΝΙΟ ΤΟΥ ΤΡΙΤΟΥ ΕΤΟΥΣ

ΗΜΕΡΕΣ ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ PMSG

No	-16	-15	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
986	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4
850	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3
877	1,1	0,8	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
871	1,0	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
949	1,2	0,8	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
948	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
935	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
979	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,7	0,9	0,8	0,6	0,5	0,5	0,4
48	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,6	0,7	0,5	0,5	0,3
58	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,7	1,0	0,7	0,7	0,6	0,4	0,3	0,3
60	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,8	0,8	0,7	0,5	0,7
38	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6	0,6	0,4	0,4	0,3
X	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3
SD	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
SE	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-

ΠΙΝΑΚΑΣ 6 (συνέχεια)

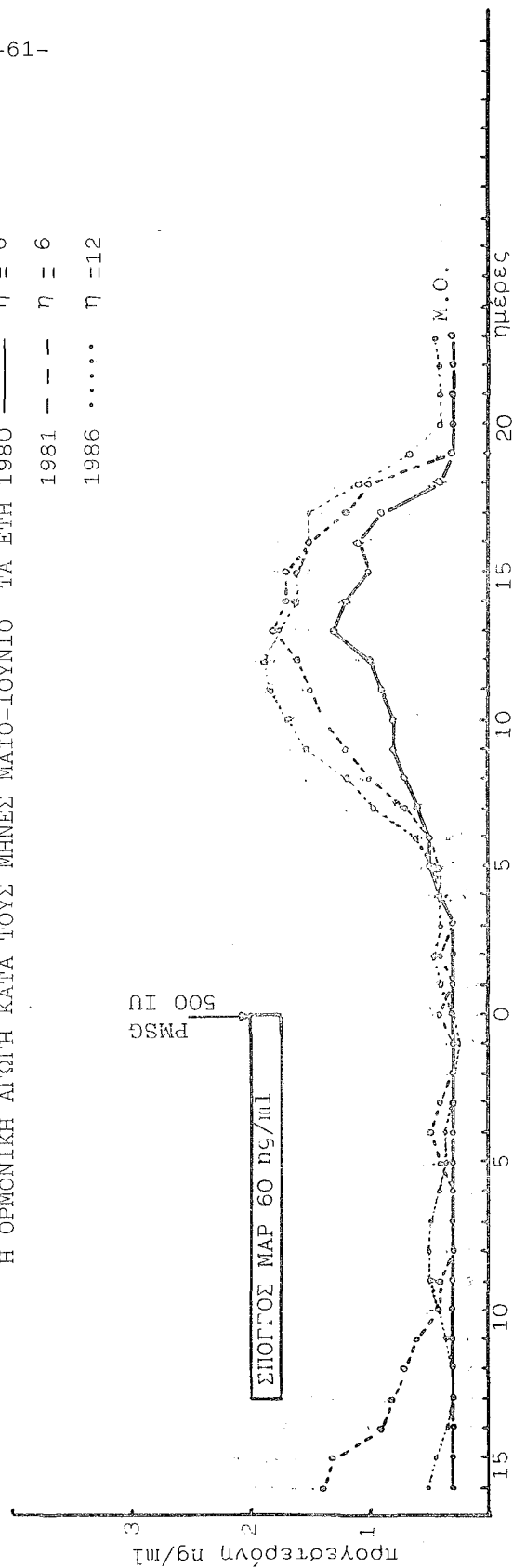
-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,7	2,1	2,5	3,5	3,0	2,6	2,6
0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,7	1,0	1,2	1,5	1,8	1,9
0,3	0,3	0,3	0,4	0,7	0,5	0,4	0,4	0,7	1,3	1,5	2,2	2,8	3,5	3,6
0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,8	1,0	1,4	1,8	2,3	2,4
0,3	0,3	0,3	0,5	0,9	0,9	1,0	1,1	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,0
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,6	1,3	1,8	2,3	2,2	2,0	2,2
0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	1,4	1,8	2,2	2,2	2,3	2,3
0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3
0,3	0,4	0,5	0,8	0,5	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6
0,5	0,5	0,6	0,6	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4
0,2	0,5	0,5	0,5	0,3	0,4	0,5	0,4	1,0	1,5	1,8	2,0	2,8	4,0	3,5
0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,5	0,4
0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,6	1,0	1,2	1,6	1,8	2,0	2,0
0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,7	0,8	1,1	1,1	1,4	1,3
-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4

ΠΙΝΑΚΑΣ 6 (συνέχεια)

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
2,8	3,0	3,0	2,7	2,5	2,5	1,0	0,5	0,5	0,6	0,7
1,6	1,4	1,4	1,4	1,5	1,0	0,5	0,2	0,3	0,3	0,3
3,0	2,5	2,5	2,0	1,5	1,0	0,7	0,5	0,5	0,5	0,6
2,5	2,5	2,5	3,0	4,5	2,0	1,3	0,6	0,5	0,5	0,5
3,4	2,2	2,2	2,0	1,8	1,2	0,8	0,4	0,4	0,4	0,5
2,3	2,5	2,5	2,7	2,5	2,0	1,0	0,4	0,4	0,4	0,5
2,2	2,2	2,2	1,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4
0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,2	0,2	0,5	0,6	0,6
0,5	0,4	0,4	0,5	0,6	0,9	0,7	0,7	0,6	0,5	0,4
0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
2,6	2,7	3,2	3,6	4,0	4,5	2,2	1,7	1,2	0,5	0,3
0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
1,8	1,7	1,8	1,7	1,7	1,4	0,8	0,5	0,5	0,4	0,5
1,1	1,0	1,1	1,1	1,4	1,2	0,5	0,4	0,2	0,1	0,1
0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	-	-

Η ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥΣ ΜΗΝΕΣ ΜΑΙΟ-ΙΟΥΝΙΟ ΤΑ ΕΤΗ 1980 1981 1986

$\eta = 6$   
 $\eta = 6$   
 $\eta = 12$



Εικ. 8. -Οι καμπύλες της προγεστερόνης κατά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στο 2ο μισό της άνοιξης περιόδου (Μάιο-Ιούνιο) τα έτη 1980, 1981 και 1986.

Αν υποθέσουμε ότι, τιμές προγεστερόνης ίσες ή μεγαλύτερες από 1,5 ng/ml αποτελούν ένδειξη ύπαρξης κανονικού λειτουργικά ωχρού σωματίου, τότε, την πρώτη χρονιά μόνο μία προβατίνα\* είχε κανονικό λειτουργικά ωχρό σωματίο (α), εικόνα 8, τη δεύτερη χρονιά 2 στις 6 και την τρίτη χρονιά 8 στις 12. Τα ποσοστά για την πρώτη, τη δεύτερη και την τρίτη χρονιά είναι 17 ο/ο, 33 ο/ο και 67 ο/ο, συνολικά 11 ζώα στα 24 δηλαδή ποσοστό 45,8 ο/ο. Το ποσοστό αυτό συμπίπτει με το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου (ποσοστό τοκετών) στις προβατίνες του Κτηνοτροφείου της ΑΓΣΑ.

Η σύγκριση των μέσων τιμών της προγεστερόνης του πρώτου χρόνου με τις μέσες τιμές προγεστερόνης του δεύτερου χρόνου του πειραματισμού και για περίοδο 17 ημερών (4η - 20η μετά την αφαίρεση του σπύγγου και την έγχυση της PMSG) έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές (P 0,05).

Η σύγκριση μεταξύ των μέσων τιμών προγεστερόνης του πρώτου και τρίτου έτους όπως επίσης μεταξύ δεύτερου και τρίτου χρόνου και για την ίδια περίοδο, έδωσε αντίστοιχα (P 0,001) και (P 0,20).

Η μέση τιμή της προγεστερόνης 7 Καραγκούνικων προβατίνων (No 979, 972, 949, 948, 871, 977, 38) που υποβλήθηκαν σε ορμονική αγωγή την άνοιξη περίοδο (Μαρτίου-Απριλίου) βρέθηκε να είναι 0,6 ng/ml (4η-20η ημέρα). Η αντίστοιχη μέση τιμή των ίδιων ζώων που υποβλήθηκαν στην ίδια ορμονική αγωγή στην άνοιξη περίοδο (Μαΐου-Ιουνίου) βρέθηκε ίση με 1,2 ng/ml. Η δοκιμασία

για τη σύγκριση των δύο μέσων τιμών είναι στατιστικά σημαντική (P 0,001).

Τα ανωτέρω δείχνουν ότι η ωχρινική λειτουργία διαφέρει στατιστικά σημαντικά, όχι μόνο μεταξύ των εποχών αλλά και εντός της ίδιας της εποχής (στην προκειμένη περίπτωση για την άνοιξη περίοδο Μαΐου-Ιουνίου) από χρονιά σε χρονιά. Το γεγονός αυτό εξηγεί το διαφορετικό ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου μεταξύ των ετών.

---

\*την προβατίνα αυτή, No 8, δεν συμπεριλάβαμε στον πίνακα 4, πληροφοριακά αναφέρουμε ότι τη 13η και 21η ημέρα είχε τιμές Pg 1,6 και 3,1 ng/ml αντίστοιχα.

Σχολιασμός επί όλων των επιμέρους πειραματισμών του 1ου πειράματος.

Είναι γνωστό ότι η χορήγηση προγεστερόνης στην αρχή του οιστρικού κύκλου, εκτός του ότι μειώνει τη διάρκεια του κύκλου (Woody et al., 1967a), μειώνει και το βάρος του ωχρού σωματίου (Woody et al., 1967b). Αυτό είναι επόμενο αφού από τη μία πλευρά η προγεστερόνη προκαλεί έντονη αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην τονική έκκριση της LH, ενώ από την άλλη το δημιουργούμενο ωχρό σωματίο έχει ανάγκη από την υποφυσιακή υποστήριξη κατά τις 5 πρώτες ημέρες της ζωής του (Kaltenbach et al., 1966).

Ο Woody και οι συνεργάτες του (1968) αναφέρουν ότι το βάρος των ωχρών που δημιουργούνται στην άνοιστρη περίοδο είναι σημαντικά μικρότερο απ' αυτό της οιστρικής, και είναι επόμενο αφού η επεισοδιακή έκκριση της LH είναι αραιή στην άνοιστρη περίοδο (Karsch, 1980).

Η σημασία της συχνής επεισοδιακής έκκρισης της LH στο βάρος του ωχρού σωματίου τεκμηριώνεται και από παρατηρήσεις των Woody και των συνεργατών του (1968) σύμφωνα με τις οποίες η υστερεκτομή μειώνει το βάρος του ωχρού μόνο στην άνοιστρη περίοδο. Φαίνεται ότι υπάρχει παλίνδρομη αλληλορύθμιση μεταξύ προγεστερόνης και  $PGF_{2\alpha}$ , η οποία είναι εμφανής στην άνοιστρη περίοδο αφού η συχνή επεισοδιακή έκκριση της LH στην οιστρική περίοδο δεν επιτρέπει την εμφάνιση διαφοράς μεταξύ των ωχρών σωματίων σε ζώα που έχουν η δεν έχουν υποβληθεί σε υστερεκτομή. Ο Ottobre και οι συνεργάτες του (1980) αναφέρουν ότι τις εγχύσεις προγεστερόνης ακολουθούν εκκρίσεις  $PGF_{2\alpha}$  και ότι οι τελευταίες παίζουν σιουδαιότερο ρόλο στην παλινδρόμηση του ωχρού, παρά οι χαμηλές συγκεντρώσεις της LH, αφού το αναπτυσσόμενο ωχρό διατηρεί την ικανότητα του να παράγει προγεστερόνη.



Οι χαμηλές τιμές της προγεστερόνης που παρατηρήθηκαν κατά την ορμονική αγωγή στην άνοιστρη περίοδο, που υποδηλώνουν ανεπαρκή ωχρινική λειτουργία και ως εκ τούτου αδυναμία υποστήριξης της εγκυμοσύνης, πρέπει να οφείλονται στο μικρότερο βάρος των ωχρών σωματίων αυτής της περιόδου σε σχέση με εκείνων της οιστρικής.

Έχει παρατηρηθεί ότι οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης σχετίζονται κυρίως με το βάρος των ωχρών σωματίων παρά με τον αριθμό τους (Plotca and Harington, 1970).

Εξάλλου, η υποφυσεκτομή μειώνει το βάρος του ωχρού σωματίου, τον αριθμό των μικρών ωχρινικών κυττάρων, την παραγωγή της προγεστερόνης και τον αριθμό των μη κατειλημμένων υποδοχέων της LH (Farin et al., 1987).

Ο Lewis και οι συνεργάτες του (1968) παρατήρησαν ότι η μείωση της διάρκειας του οιστρικού κύκλου που προκαλείται από τη χορήγηση προγεστερόνης αναστέλλεται με τη χορήγηση HCG. Η χορήγηση οLH ή συνδυασμού οLH και προλακτίνης έχει μικρή επίδραση στην διάρκεια του οιστρικού κύκλου, ενώ η χορήγηση μόνο προλακτίνης δεν έχει κανένα αποτέλεσμα. Αυτό είναι προφανές αφού η περιεκτικότητα της HCG σε σιαλικό οξύ είναι μεγάλη και ως εκ τούτου η δράση της παρατεταμένη.

Από τα ανωτέρω είναι φανερό η σπουδαιότητα που έχει η υπόφυση στην ωχρινική λειτουργία.

Είναι γνωστό ότι η έγχυση LH-RH σε προβατίνες κατά την άνοιστρη περίοδο προκαλεί έκκριση LH και ωθυλακιορρηξία, χωρίς όμως να ακολουθεί ωχρινική λειτουργία, τουλάχιστον στα περισσότερα ζώα (Foster and Crighton, 1973· Haresign et al., 1975· Haresign and Lamming, 1978). Θεωρήθηκε ότι αιτία της μη κανονικής ωχρινικής λειτουργίας ήταν η χαμηλότερη κορυφή της εκκρινόμενης LH που είχαν οι προβατίνες αυτές σε σχέση με εκείνη κατά τον φυσικό οίστρο (Foster and Crighton, 1974).

Προσπάθειες που έγιναν για να αυξηθεί η ποσότητα της LH που εκκρίνεται με χορήγηση μεγαλύτερων ποσοτήτων LH-RH απέτυχαν (Haresign, 1975).

Ο Reeves και οι συνεργάτες του (1971a,b) ανέφεραν ότι η υποφυσιακή ανταπόκριση στην LH-RH αυξάνεται μετά από προθεραπεία με βενζοϊκή οιστραδιόλη. Όμως, οι ερευνητές αυτοί δυστυχώς δεν αναφέρουν αν, ύστερα από την αγωγή αυτή ακολούθησε κανονική ωχρινική λειτουργία.

Οι Crighton και οι συνεργάτες του (1973), μετρώντας ταυτόχρονα LH και LH-RH κατά τον οίστρο, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η χορηγούμενη LH-RH, για να μιμηθεί τη φυσική προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH, πρέπει να χορηγείται επανειλημμένα, ανά μικρά χρονικά διαστήματα.

Πρώτος ο Lincoln (1979) χρησιμοποίησε πολλαπλές εγχύσεις LH-RH σε μία προσπάθεια να προκαλέσει σεξουαλική δραστηριότητα σε κριάρια άνοιστρης περιόδου.

Αργότερα ο Wildt και οι συνεργάτες του (1980) προκάλεσαν καταμηνιαίο κύκλο σε πρόθυες πιθήκους με την ίδια τεχνική. Εξάλλου, οι Crowley και McArthur (1980) προκάλεσαν έναρξη καταμηνιαίου κύκλου σε γυναίκες με σύνδρομο Kallmann (υπογοναδικές).

Οι πρώτοι που χρησιμοποίησαν φορητή αντλία LH-RH και προκάλεσαν εγκυμοσύνη σε γυναίκες που έπασχαν από υποθαλαμική αμηνόρροια ήταν ο Leyendecker και οι συνεργάτες του (1980).

Ο Riley και οι συνεργάτες του (1981) για να αποκαταστήσουν την ωθηκική δραστηριότητα κρεοπαραγωγικές αγελάδες που έπασχαν από αναφροδισία μετά τον τοκετό, χρησιμοποίησαν την τεχνική της επανειλημμένης χορήγησης μικρών δόσεων LH-RH. Ο McNatty και οι συνεργάτες του (1981) χρησιμοποιώντας συνεχή χορήγηση LH-RH σε προβατίνες άνοιστρης περιόδου που είχαν προηγούμενα υποστεί θεραπεία με προγεστερόνη, προκάλεσαν ανάπτυξη ωοθυλακίων, οίστρο, ωοθυλακιορρηξία και κανονική ωχρινική λειτουργία.

Ο McNatty και οι συνεργάτες του (1982) παρατήρησαν ότι, η ωοθηκική δραστηριότητα η οποία προκαλείτο σε προβατίνες άνοι-  
στρης περιόδου, μετά από αγωγή με προγεστερόνη και μακροχρό-  
νια χορήγηση LH-RH (40-80 ημέρες) διακοπτόταν μετά την παύση  
της χορήγησης της LH-RH και οι προβατίνες επανέρχονταν σε ά-  
νοιστρο.

Ο McLeod και οι συνεργάτες του (1982a) προκάλεσαν ωοθυλακι-  
ορρηξία και ωχρινική λειτουργία σε προβατίνες άνοιστρης περι-  
όδου με τη χορήγηση πολλαπλών εγχύσεων LH-RH. Οι ίδιοι ερευνη-  
τές λίγο αργότερα (1982b) ανέφεραν ότι, η ωοθυλακιορρηξία και  
η ωχρινική λειτουργία που προκαλείται σε προβατίνες άνοιστρης  
περιόδου μετά από χορήγηση πολλαπλών εγχύσεων LH-RH συνοδεύε-  
ται από οίστρο αν προηγηθεί των χορηγήσεων της LH-RH αγωγή με  
προγεστερόνη. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι χαμηλές δόσεις LH-RH  
έχουν καλύτερα αποτελέσματα από τις υψηλές. Όπως φαίνεται οι  
τελευταίες προκαλούν το φαινόμενο "Down regulation" (Knobil,  
1980).

Οι McLeod και Haresign (1984) θεωρούν ότι η έλλειψη κανο-  
νικής ωχρινικής λειτουργίας έπειτα από πρόκληση ωοθυλακιορρηξί-  
ας οφείλεται στην ανεπαρκή ανάπτυξη του ωοθυλακίου.

Ενδείξεις από το ρυθμό έκκρισης των γοναδοτροφινών κατά  
την ωοθυλακική φάση του οιστρικού κύκλου στην προβατίνα υπο-  
δηλώνουν ότι η τελική φάση της αύξησης και ανάπτυξης του ωο-  
θυλακίου βρίσκεται υπό τον έλεγχο της τονικής έκκρισης της LH  
(Yuthasastrakosol et al., 1977\* Baird, 1978) κι αυτό ενισχύ-  
εται από το γεγονός ότι πολλαπλές εγχύσεις χαμηλών δόσεων LH-  
RH προκαλούν ωοθυλακιορρηξία και ωχρινική λειτουργία σε πρόη-  
βα αρνιά (Ryan and Foster, 1980) και σε προβατίνες κατά την ά-  
νοιστρη περίοδο (McNeilly et al., 1980\* McLeod et al., 1982a).

Κατα τους McLeod και Haresign (αδημοσίευτα δεδομένα) δεν  
είναι δυνατή η εμφάνιση προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH,  
ωοθυλακιορρηξίας και οίστρου σε προβατίνες που έφεραν εμφύτευ-  
μα με προγεστερόνη αν σ'αυτές δεν χορηγηθεί LH-RH.

Κατά την άνοιστρη περίοδο η επεισοδιακή έκκριση της LH πραγματοποιείται σε αραιά χρονικά διαστήματα (μία ώση ανά 3,6 ώρες, έναντι μίας ανά 2,2 ώρες στην οιστρική περίοδο) αυτό αναφέρεται από τον McNatty και τους συνεργάτες του (1981). Αυτή η διαφορά οφείλεται στη συχνότητα έκλυσης της LH από τον υποθάλαμο (Carmel et al., 1976\* Belchetz et al., 1978) παρά σε κάποια μεταβολή της λειτουργίας αυτής της ίδιας της υπόφυσης (Karsch et al., 1980).

Αποτέλεσμα του χαμηλού ρυθμού της επεισοδιακής έκκρισης της LH είναι το δημιουργούμενο ωχρό σωματίο κατά την άνοιστρη περίοδο να έχει μικρότερο μέγεθος (O'Shea et al., 1984). Το μικρό μέγεθος οφείλεται κυρίως στο μικρό αριθμό και στο μικρό όγκο των ωχρινικών κυττάρων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα κύτταρα αυτά να παράγουν λιγότερη προγεστερόνη, οπότε η συγκέντρωση της τελευταίας στο αίμα είναι χαμηλή, (O'Shea et al., 1984).

Είναι γνωστό (Rodgers et al., 1983) ότι η παραγωγή προγεστερόνης από τα μικρά ωχρινικά κύτταρα είναι τρεις φορές μεγαλύτερη απ'ότι εκείνη των μεγάλων και ότι τα μικρά ανταποκρίνονται καλύτερα από τα μεγάλα στην LH (Fitz et al., 1982\* Rodgers and O'Shea, 1982). Έχει αναφερθεί επίσης ότι τα μικρά ωχρινικά κύτταρα είναι 3-5 φορές περισσότερα στις έγκυες (O'Shea et al., 1979) και στις προβατίνες κατά την οιστρική περίοδο (Rodgers et al., 1983). Τα μικρά ωχρινικά κύτταρα ανταποκρίνονται στην πρόβεια LH (oLH) και όχι στις, πρόβεια ωοθυλακιοτρόπο (oFSH), πρόβεια προλακτίνη (oPRL), πρόβεια πλακουντική γαλακτογόνο ορμόνη (oPL), πρόβεια αυξητική ορμόνη (oGH) και ανθρώπια αυξητική ορμόνη (GH) αυτά αναφέρονται από τον Rodgers και τους συνεργάτες του (1983).

Η ανεπάρκεια που παρατηρείται στα ωχρινικά κύτταρα (μεγάλα και μικρά) των ωχρών σωματίων που δημιουργούνται στην άνοιστρη περίοδο οφείλεται στην ατελή δημιουργία του γρααφιανού ωοθυλακίου.

Η σημασία των κυττάρων του κοκκώδη υμένα είναι μεγαλύτερη για την περίοδο πριν από την ωθυλακιορρηξία, αφού τα κύτταρα αυτά δεν έχουν ή έχουν ελάχιστη ικανότητα πολλαπλασιασμού (McClellan et al., 1975° O'Shea et al., 1980), ενώ τα κύτταρα της έσω θήκης συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται επί 5 ημέρες μετά την ωθυλακιορρηξία. Πάντως, ένας ικανός αριθμός κυττάρων του κοκκώδη υμένα είναι απαραίτητος, αφού απ'αυτά θα προέλθουν τα μεγάλα ωχρινικά κύτταρα που με τη σειρά τους θα ελέγξουν την ωχρινοποίηση των μικρών ωχρινικών κυττάρων (O'Shea et al., 1984).

Από τα παραπάνω συνάγεται ότι το αίτιο της ανεπαρκούς ωχρινικής λειτουργίας που εμφανίζεται κατά την ορμονική αγωγή στην άνοιστρη περίοδο, παρά το υψηλό ποσοστό εμφάνισης οίστρων που παρατήρησαν πολλοί ερευνητές (Gordon, 1975° Τσακάλωφ και συν. 1981° Alifakiotis, 1985), είναι ο μειωμένος ρυθμός έκλυσης της LH-RH που είναι χαρακτηριστικός γι'αυτή την περίοδο (Karsch, 1980) και που έχει σαν αποτέλεσμα (μέσω της LH) αφενός την ατελή ανάπτυξη του γρααφιανού ωθυλακίου και αφετέρου την ανεπαρκή τροφοδοσία του νεοσχηματισμένου ωχρού σωματίου.

## 2ος ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

### "Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΣΤΟΝ ΑΞΟΝΑ ΥΠΟΘΑΛΑΜΟΣ-ΥΠΟΦΥΣΗ-ΩΟΘΗΚΗ".

#### Εισαγωγή

Ο πειραματισμός αυτός έγινε στο Κτηνοτροφείο της ΑΓΣΑ προκειμένου να μελετηθεί η δράση του προγεσταγόνου του σπόγγου στον άξονα "Υποθάλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη".

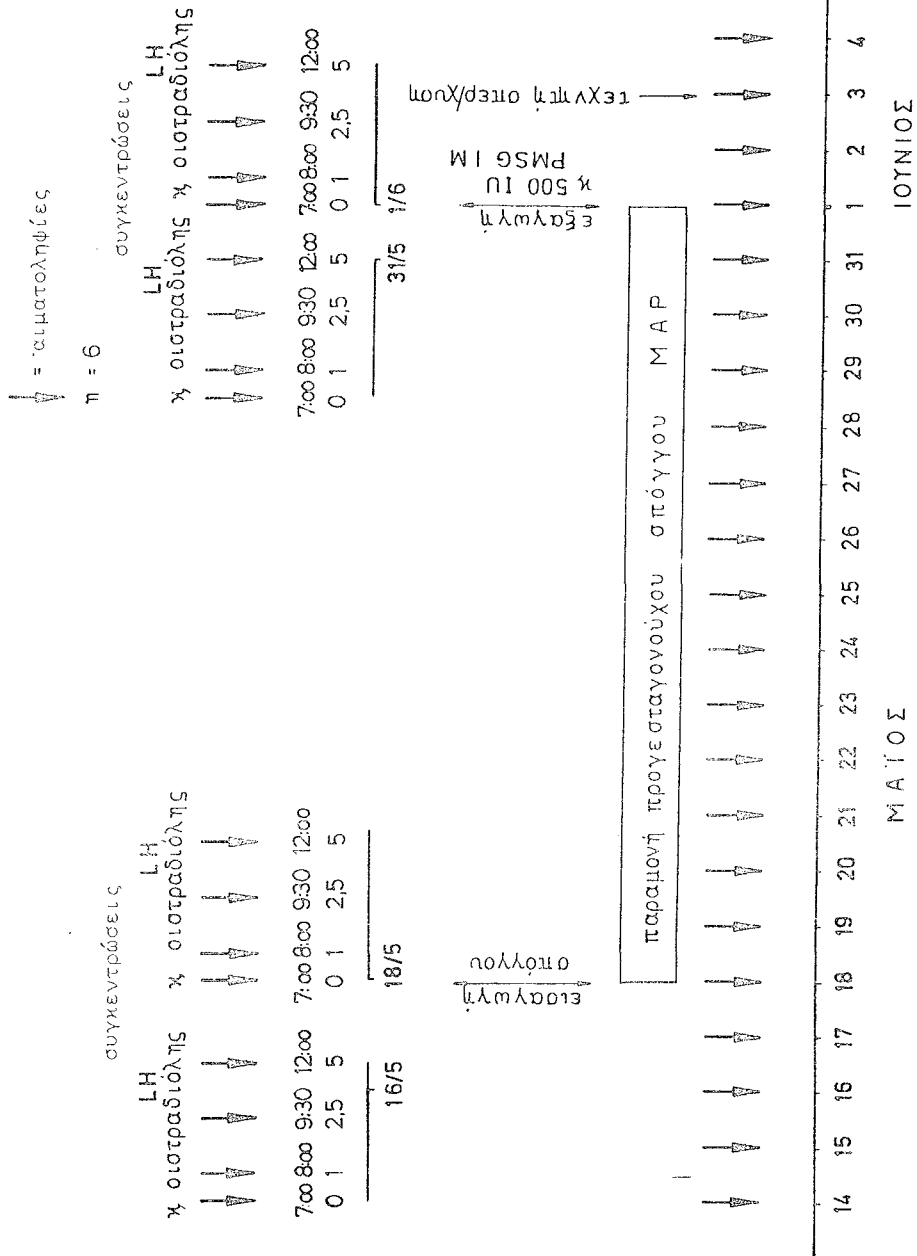
Όπως είναι γνωστό, η συνισταμένη των δράσεων των ενδογενών και εξωγενών παραγόντων που ελέγχουν την αναπαραγωγή σε υποθαλαμικό επίπεδο, επιδρά στη ρύθμιση της έκλυσης της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροφινών (LH-RH). Η ορμόνη αυτή θα δράσει σε υποφυσιακό επίπεδο και θα ελευθερώσει την FSH και την LH. Η έκκριση της LH ακολουθεί την έκλυση της LH-RH (Clarke and Cummins, 1985). Ο απώτερος στόχος αυτού του πειραματισμού ήταν να ευρεθούν οι συγκεντρώσεις της LH κατά την ορμονική αγωγή, ώστε μελλοντικά να μελετηθεί η αντικατάσταση της μεθόδου του προγεσταγόνου με τη χορήγηση LH-RH, σε ρυθμό και δοσολογία τέτοια ώστε να δίνουν στην προβατίνα τις κατάλληλες συγκεντρώσεις LH για την πρόκληση τεχνητής ωχρινικής φάσης και ωοθυλακιορρηξίας.

#### Υλικά και Μέθοδοι

Κατά τον πειραματισμό αυτό χρησιμοποιήθηκαν 6 προβατίνες φυλής Καραγκούνικης. Ο πειραματισμός έγινε στην πλέον ενδιαφέρουσα για την πράξη περίοδο, που είναι το τέλος της άνοιξης (Μάιος-β'μισό άνοιστρης περιόδου) το έτος 1981. Οι προβατίνες που χρησιμοποιήθηκαν είχαν απογαλακτίσει τα αρνιά τους και αμέλγονταν, συνεπώς αποτελούσαν τυπικό δείγμα των προβατινών της εκτροφής σ' αυτή την εποχή.

Τα ορμονικά σκευάσματα (προγεσταγονούχοι σπόγγοι και PMSG) ήταν τα ίδια με αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στους προηγούμενους πειραματισμούς καθώς και το πειραματικό πρωτόκολλο της ορμονικής αγωγής. Οι μέθοδοι των ορμονικών προσδιορισμών περιγράφονται στο γενικό κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι (σελίδα 33).

# ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ

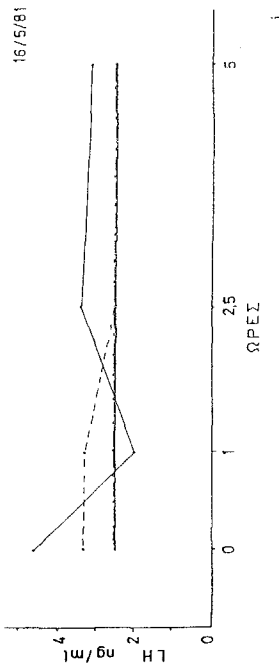


Εκ. 9 - Διαγραμματική απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού

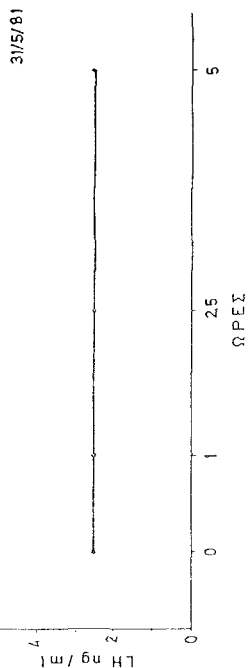
ΝΟ. ΠΡΟΒΑΤΙΝΩΝ

- No 1
- - - No 2
- No 3
- - - No 6
- - - No 8
- - - No 11

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ LH ΔΥΟ ΜΕΡΕΣ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ. (Χρόνος 0 η 9:00 π.μ.)

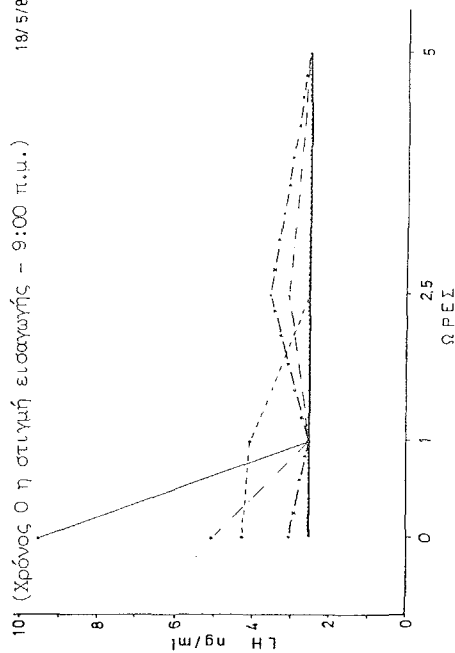


ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ LH ΜΙΑ ΜΕΡΑ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ. (Χρόνος 0 η 9:00 π.μ.)



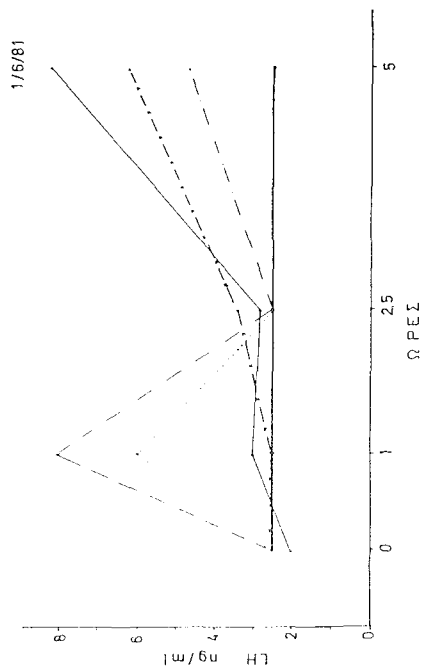
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ LH ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ.

101 (Χρόνος 0 η στιγμή εισαγωγής - 9:00 π.μ.) 10/5/81



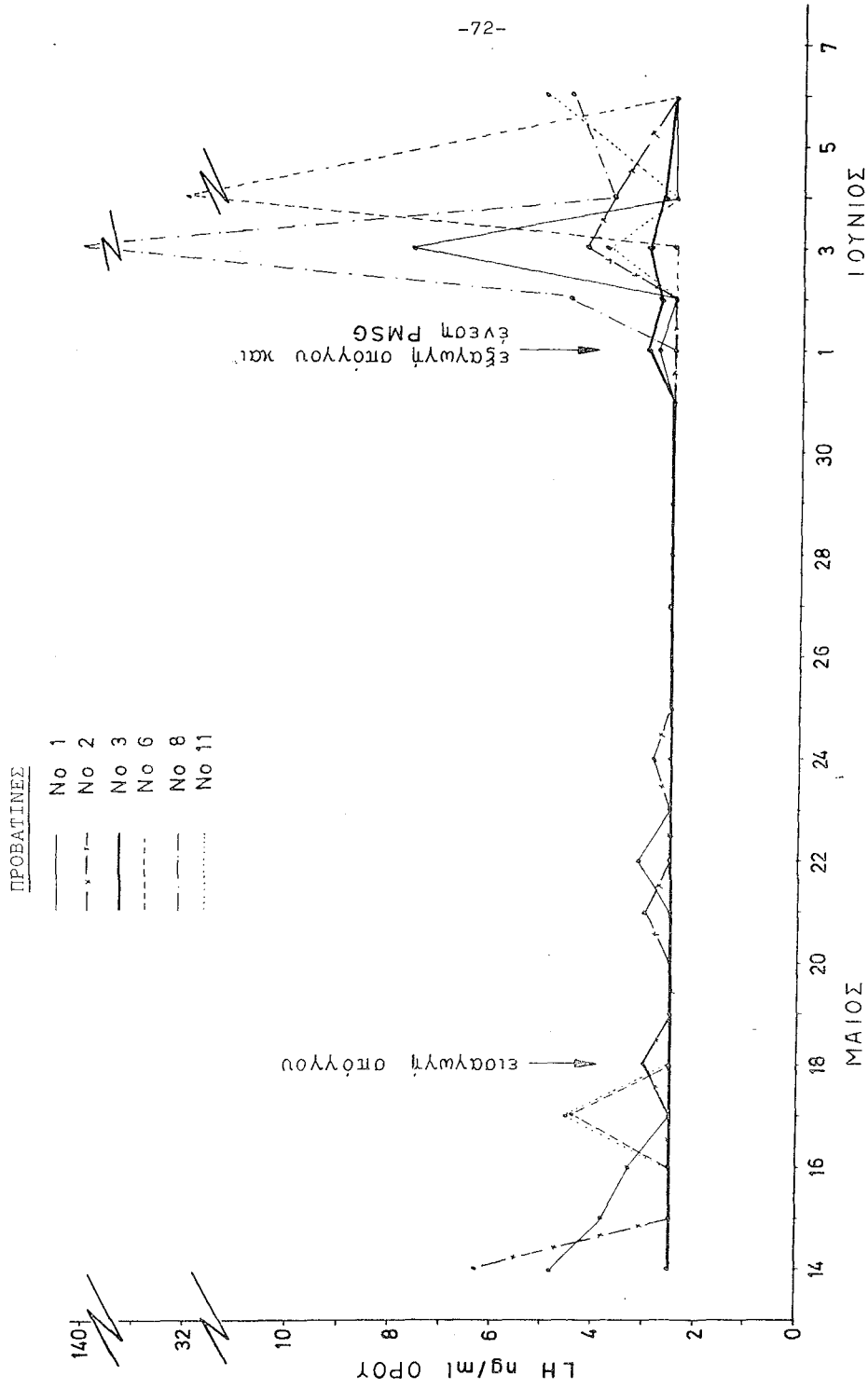
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ LH ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ.

(Χρόνος 0 η στιγμή εξαγωγής - 9:00 π.μ.)



Εικ. 10 -Οι συγκεντρώσεις της LH πριν από την εισαγωγή του σπόγγου, κατά την εισαγωγή του, πριν από την εξαγωγή του και κατά την εξαγωγή του και την έγχυση της PMSG στις προβατίνες του πειράματος.

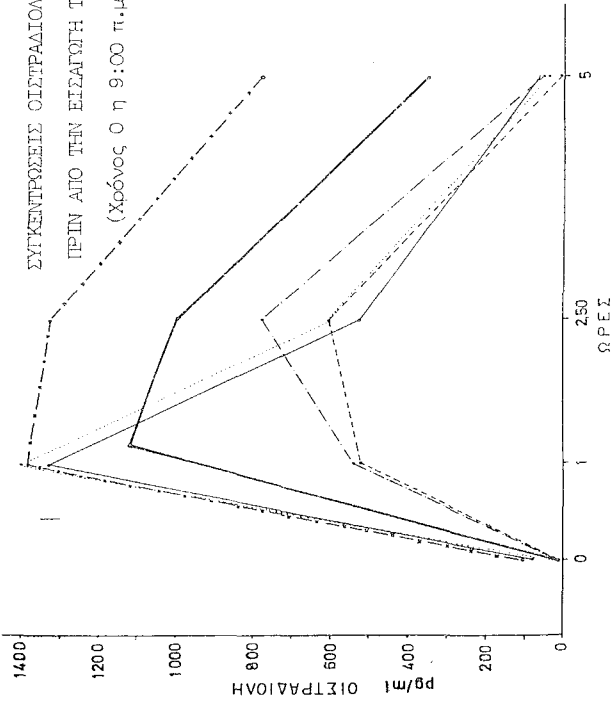




Εικ. 11 -Οι συγκεντρώσεις της LH των προβατινών του πειράματος, 4 ημέρες πριν από την εισαγωγή του σπύγγου μέχρι 5 ημέρες μετά την εξαγωγή του και την έγχυση της PMSG.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΟΙΣΤΡΑΔΙΩΝΣ ΔΥΟ ΜΕΡΕΣ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ, (Χρόνος 0 η 9:00 π.μ.)

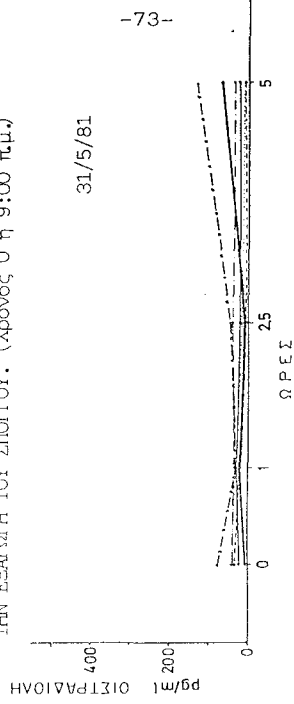
16/5/81



No. 1  
No. 2  
No. 3  
No. 6  
No. 8  
No. 11

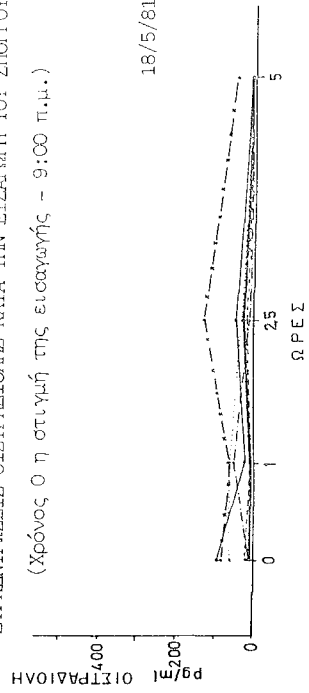
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΟΙΣΤΡΑΔΙΩΝΣ ΜΙΑ ΜΕΡΑ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ. (Χρόνος 0 η 9:00 π.μ.)

31/5/81



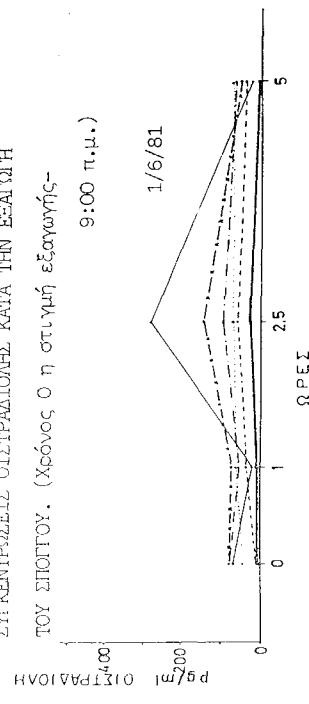
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΟΙΣΤΡΑΔΙΩΝΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ. (Χρόνος 0 η στιγμή της εισαγωγής - 9:00 π.μ.)

18/5/81

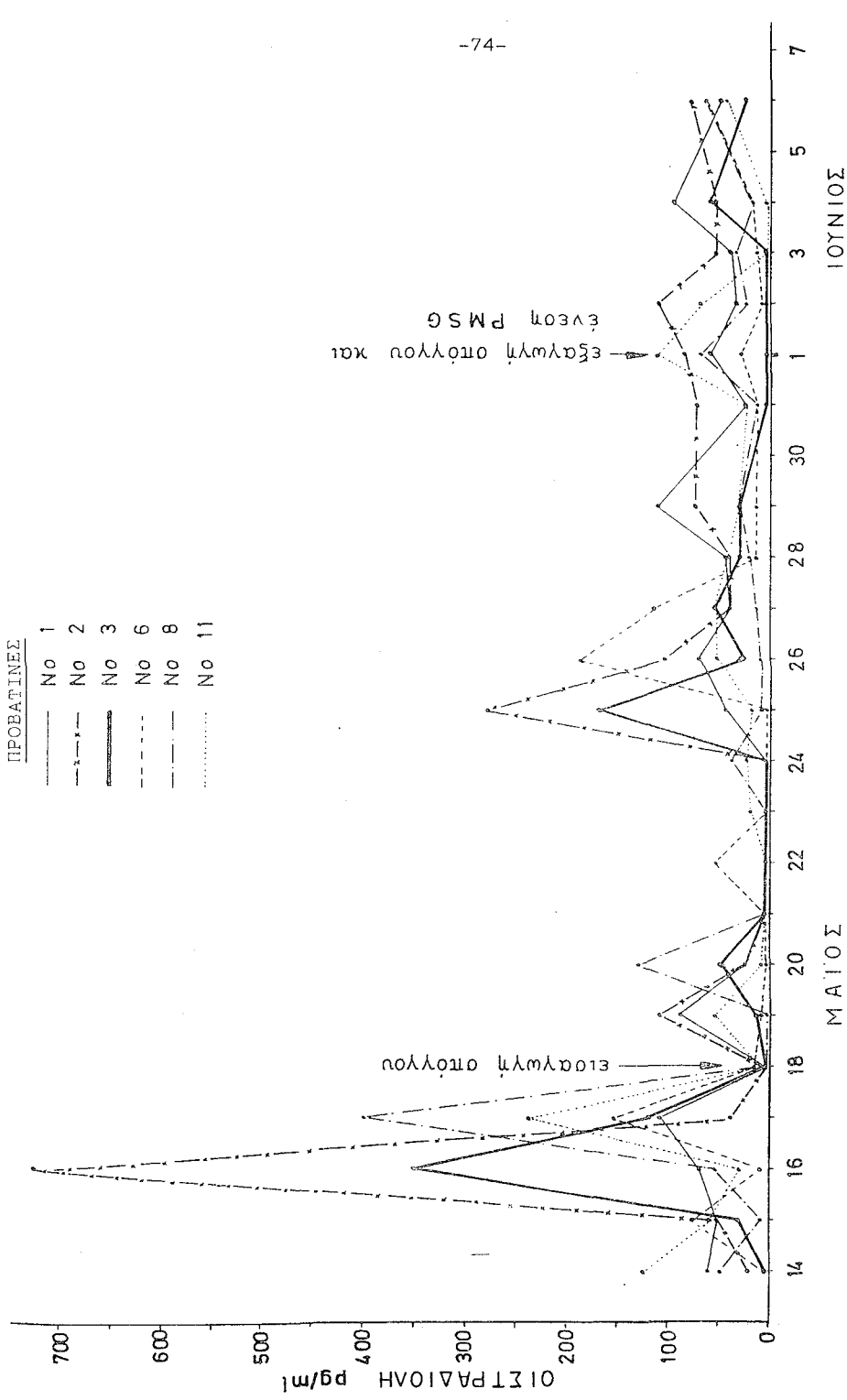


ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΟΙΣΤΡΑΔΙΩΝΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ. (Χρόνος 0 η στιγμή εξαγωγής - 9:00 π.μ.)

1/6/81



Εικ. 12 -Οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης πριν από την εισαγωγή του σπόγγου, κατά την εισαγωγή του, πριν από την εξαγωγή του και κατά την εξαγωγή του και την έγχυση της RMSG στις προβατίνες του πειράματος.



Εικ. 13 -Οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης-17β του ορού των προβατινών του πειράματος, 4 μέρες πριν από την εισαγωγή του σπόγγου μέχρι 5 μέρες μετά την εξαγωγή του και την έγχυση της MSG.

Ο πειραματικός σχεδιασμός παρουσιάζεται σχηματικά στην εικόνα 9.

#### Αποτελέσματα και Σχολιασμός

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στις εικόνες 10, 11, 12 και 13. Στην εικόνα 10 παριστάνονται διαγραμματικά οι συγκεντρώσεις της LH των προβατίνων του πειράματος, πριν από την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου, κατά τη στιγμή της εισαγωγής του, πριν από την αφαίρεση του και κατά τη στιγμή της αφαίρεσης του. Στην εικόνα 11 παρουσιάζονται οι τιμές της LH 4 ημέρες πριν από την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου, καθόλη τη διάρκεια της παραμονής του και 5 ημέρες μετά την αφαίρεση του. Στην εικόνα 12 παριστάνονται διαγραμματικά οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης-17β των ζώων του πειράματος, πριν από την εισαγωγή του σπόγγου, κατά την εισαγωγή του, πριν από την εξαγωγή του και κατά την εξαγωγή του. Στην εικόνα 13 παρουσιάζονται οι τιμές της οιστραδιόλης-17β πριν από την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου, καθόλη τη διάρκεια της παραμονής του και 5 ημέρες μετά την εξαγωγή του.

Οι αυξομειώσεις των συγκεντρώσεων της LH που εμφανίζονται πριν και μετά την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου είναι αποτέλεσμα του ρυθμού της τονικής της έκκρισης. Η επεισοδιακή αυτή έκκριση της LH αντανακλά την επεισοδιακή έκλυση της LH-RH από τον υποθάλαμο (Lincoln and Short, 1980\* Clarke, 1987).

Αυτό είναι το αποτέλεσμα της μεταβολής που επέφερε η "μεγάλου κυκλώματος αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση", αφενός του προγεσταγόνου στο ρυθμό έκλυσης της LH-RH στα τονικά κέντρα του υποθαλάμου και στην υπόφυση και αφετέρου της οιστραδιόλης, που παρήχθει από τα ωοθυλάκια που αναπτύσσονταν κάτω από την επίδραση της LH. Η οιστραδιόλη εκλύεται 5 λεπτά ύστερα από κάθε ώση της LH (Baird et al., 1976). Το εύρος των αυξομειώσεων αυτών τείνει να μειωθεί όσο παραμένει το προγεσταγόνο.

Συγκεκριμένα, 2,5 ώρες μετά την εισαγωγή του προγεσταγόνου, οι επεισοδιακές εκκρίσεις της LH αρχίζουν να συγχρονίζονται και σε 5 ώρες έχουν συγχρονιστεί σ'όλα τα ζώα (Εικόνα 10).

Η μειωμένη συχνότητα των ώσεων της LH παραμένει μέχρι τη στιγμή που αφαιρείται ο προγεσταγονούχος σπύγγος και γίνεται η έγχυση της PMSG.

Δεδομένου ότι η ωχρινική φάση χαρακτηρίζεται από μειωμένη συχνότητα ώσεων (Karsh, 1980), η φάση του τεχνητού ωχρού σωματίου που αρχίζει 5 ώρες μετά την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπύγγου και διαρκεί καθόλη τη διάρκεια της παραμονής του είναι παρόμοια με την ωχρινική φάση ενός φυσιολογικού κύκλου. Ο Lewis και οι συνεργάτες του (1974) παρατήρησαν ότι οι τιμές της LH σε προβατίνες που προγεταγονούχο σπύγγο εμποτισμένο με CRONOLONE παρέμειναν στα βασικά επίπεδα καθόλη τη διάρκεια της παραμονής του σπύγγου. Επίσης, οι Friman και Haresign (αναφέρεται από τους McLeod και συν. 1982) αναφέρουν ότι τα εμφυτεύματα προγεστερόνης μειώνουν τη συχνότητα των επεισοδιακών εκκρίσεων της LH και αναστέλλουν την ωοθυλακική ανάπτυξη σε τέτοιο βαθμό, ώστε, όταν αφαιρεθεί το εμφύτευμα τα ωοθυλάκια είναι σε κατάλληλο στάδιο ανάπτυξης για να ανταποκριθούν πλήρως στις εκκρίσεις της LH που προκαλούνται από χορηγήσεις LH-RH.

Η μεταβολή αυτή στον ρυθμό έκκρισης της LH έχει επίδραση στην εξέλιξη των ωοθυλακίων, με αποτέλεσμα την έκκριση απ'αυτά οιστραδιόλης -17β. Είναι γνωστό ότι το ωοθυλάκιο είναι ευαίσθητο και στις μικρές διακυμάνσεις των γοναδοτροφινών (Baird et al., 1976).

Οι καμπύλες της οιστραδιόλης των προβατίνων όπως παρουσιάζονται στην εικόνα 13 είναι πανομοιότυπες μ'εκείνες του φυσικού κύκλου (Hansel, 1972· Robertson, 1977· Haresign et al., 1985) και αντιπροσωπεύουν τα κύματα των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων.

Το ότι η προγεστερόνη έχει επίδραση στην ωθηκική λειτουργία των προβατίων κατά την άνοιστη περίοδο επιβεβαιώθηκε και από τον Haresign και τους συνεργάτες του (1985). Ο Cognie και οι συνεργάτες του (1982) παρατήρησαν ότι η επίδραση του αρσενικού επιφέρει έντονες μεταβολές στην ωθηκική λειτουργία προβατίων που είχαν υποστεί προηγούμενα αγωγή με προγεστερόνη.

Όπως αναφέρθηκε από τον Hunter και τους συνεργάτες του (Haresign et al., 1985), η προγεστερόνη αυξάνει την παραγωγή οιστραδιόλης-17β 2 ώρες μετά την εμφάνιση της προ-ωθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH, που προήλθε έπειτα από πολλές συνεχείς και μικρές δόσεις LH-RH, καθώς και τον αριθμό των υποδοχέων της LH στα κύτταρα του κοκκώδη υμένα.

Στην εικόνα 13 φαίνεται επίσης και τρίτη (τελευταία) αύξηση των συγκεντρώσεων της οιστραδιόλης-17β που προέρχεται από το τελευταίο κύμα των αναπτυσσομένων ωθυλακίων, αυτών που προήλθαν από την έγχυση της PMSG. Η οιστραδιόλη αυτή θα ενεργοποιήσει τους νευρικούς πυρήνες του κυκλικού κέντρου του υποθαλάμου και θα προκαλέσει τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση. Η LH-RH που εκλύεται από τους νευρικούς πυρήνες του κέντρου αυτού θα προκαλέσει την έκκριση της προ-ωθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH.

Από τον πειραματισμό αυτό καταλήγουμε στα εξής συμπεράσματα:

- Το προγεσταγόνο προκαλεί αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση (μεγάλου κυκλώματος) στον υποθάλαμο και τροποποιεί το ρυθμό έκκρισης της LH σε ρυθμό ωχρινικής φάσης.
- Ο ρυθμός έκκρισης της LH προκαλεί ανάπτυξη τριών διαδοχικών κυμάτων αναπτυσσομένων ωθυλακίων όπως ακριβώς στην ωχρινική φάση του φυσιολογικού οιστρικού κύκλου.

### 3ος ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

"Διερεύνηση της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH μετά από ορμονική αγωγή σε προβατίνες των φυλών Καραγκούνικης, Σερρών, Χίου και Α. Φριςλανδίας".

#### Εισαγωγή

Η σημασία του προσδιορισμού του χρόνου κατά τον οποίο εμφανίζεται η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH έλαβε ιδιαίτερη αξία αφότου ο Cumming και οι συνεργάτες του (1973) ανακάλυψαν ότι η ωοθυλακιορρηξία γίνεται 24 ώρες μετά την εμφάνιση της κορυφής αυτής. Άρα ο προσδιορισμός του χρόνου εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH καθορίζει έμμεσα το χρόνο ωοθυλακιορρηξίας και βοηθά στο σωστό προγραμματισμό των τεχνητών σπερματεγχύσεων.

Ο σκοπός του πειραματισμού αυτού ήταν να προσδιοριστεί ο χρόνος κατά τον οποίο εμφανίζεται η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH ύστερα από ορμονική αγωγή με προγεσταγόνο MAP και PMSG.

#### Υλικά και Μέθοδοι

Ο πειραματισμός αυτός έγινε στο Κτηνοτροφείο του Κέντρου Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Νοσημάτων Αναπαραγωγής Διαβατών.

Χρησιμοποιήθηκαν 43 προβατίνες, 10 φυλής Καραγκούνικης, 11 φυλής Χίου, 11 φυλής Σερρών και 11 φυλής Α. Φριςλανδίας.

Στα ζώα εφαρμόστηκε ορμονική αγωγή στις αρχές του θέρους (1-7-86) και μετά την έγχυση της PMSG λαμβάνετο αίμα ανά δίωρο και τα ζώα ελέγχονταν για οίστρο (εμφάνιση και διάρκεια) με ανιχνευτές κριούς.

Τα ορμονικά σκευάσματα (προγεσταγονούχοι σπόγγοι και PMSG) ήταν τα ίδια με αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στους προηγούμενους πειραματισμούς. Οι μέθοδοι των ορμονικών προσδιορισμών περιγράφονται στο γενικό κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι (σελίδα 33).  
Αποτελέσματα και Σχολιασμός

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους πίνακες 7, 8, 9 και 10 (τιμές LH σε ng/ml και διάρκεια οίστρου). Στους πίνακες 11, 12, 13 και 14 παρουσιάζεται η στατιστική επεξεργασία των παραπάνω αποτελεσμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8 : ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΤΗΣ LH ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ PMSG  
ΣΕ ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΦΥΛΗΣ ΣΕΡΡΩΝ, (ng/ml).

No	15	21	25	27	29	31	33	35	37	39	41	43	45	47	49	51	5B
1Σ	1.1	1.5	2.8	4.7	3.8	3.7	2.4	2.0	2.0	2.8	2.6	4.0	10.5	4.0	31.9	46.4	24.8
2Σ	4.3	5.3	5.4	6.6	4.3	2.4	2.9	13.6	13.4	13.8	13.2	10.0	4.7	4.7	4.2	5.2	5.3
3Σ	1.0	2.7	3.3	3.2	3.9	3.7	5.4	4.2	2.8	5.2	2.8	4.4	4.5	1.5	31.7	47.3	40.0
4Σ	3.5	0.9	1.0	2.7	1.1	4.6	2.9	3.1	4.7	1.2	4.9	3.2	3.1	3.3	2.3	2.0	2.8
5Σ	3.6	3.1	1.1	3.5	3.4	3.1	3.8	1.0	3.7	3.5	3.5	2.9	2.9	2.2	2.4	7.6	26.1
6Σ	1.9	3.5	3.4	1.1	2.8	1.4	1.0	3.0	1.2	3.0	1.0	5.6	24.8	26.9	22.3	6.9	5.1
7Σ	2.3	1.9	3.2	1.9	2.7	3.5	2.6	33.2	39.6	40.1	24.2	14.7	8.8	3.2	4.6	4.0	3.5
8Σ	7.3	2.9	4.2		5.9	3.3	3.5	2.9	6.2	3.7	14.3	7.3	2.7	7.9	5.5	6.0	3.6
9Σ	2.7	2.1	3.5	2.1	3.4	2.3	2.8	3.6	12.5	60.5	62.7	34.0	23.2	13.8	11.3	5.1	5.5
10Σ	3.8	3.9	3.7	3.3	3.5	4.7	2.5	2.0	4.9	24.1	33.5	30.4	11.2	6.8	5.4	5.9	3.7
11Σ	2.5	2.0	3.0	3.4	3.7	25.2	57.6	30.8	21.7	11.3	7.9	3.6	4.6	18.3	4.4	4.9	5.1

Η διάρκεια του οίστρου έχει υπογραμμιστεί.



ΠΙΝΑΚΑΣ 7 (συνέχεια)

55	57	59	61	63	65	67	69	71	73	75	77	79	81	83	85	87
0.5	4.9	1.5	2.6	1.4	1.0	2.3	2.5	1.0	1.3	6.0	3.5	5.9	4.2	3.4	2.9	2.9
5.7	4.9	5.9	4.7	3.2	1.9	1.2	3.2	3.0	1.8	4.1	3.1	1.0	1.8	2.9	3.7	3.7
7.9	2.3	4.8	2.9	4.1	1.8	4.2	3.3	4.4	1.6	11.0	6.4	8.0	4.5	2.8	5.2	5.8
1.5	1.0	1.6	1.4	3.6	6.2	26.6	60.0	70.0	45.0	10.0						
4.4	9.8	7.9	1.0	6.0	4.4	5.2	3.6	6.0	8.7	10.8						
1.0	1.2	5.0	1.2	4.1	4.3	4.3	1.2	1.0	1.7	3.9	3.8	3.5	3.0	3.4		1.0
5.3	22.3	11.9	5.1	1.5	1.2	5.0	1.8	1.0	4.0	5.7	6.7	2.7	3.2	3.8	5.4	4.4
4.8	4.9	4.2	1.2	1.5	1.3	1.0	8.8	28.8	52.0	35.7	20.3	15.6	7.5		1.1	2.9
1.5	1.8	4.5	1.0	3.2	3.5	3.2	3.0	3.4	3.7	3.0						
3.7	1.4	2.7	3.2	3.8	7.4	4.2	3.3	4.9	3.9	3.5						

ΠΙΝΑΚΑΣ 7 : ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΤΗΣ ΙΗ ΕΜΕΙΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΦΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡΜSG  
 ΣΕ ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΦΥΛΗΣ ΚΑΡΑΓΚΟΥΝΙΚΗΣ, (ng/ml).

		ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΦΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡΜSG															
No	15	21	25	27	29	31	33	35	37	39	41	43	45	47	49	51	53
1K	1.0	1.0	3.7	1.0	3.5	3.2	1.0	2.2	3.2	2.5	2.6	5.7	3.9	18.5	24.8	21.3	14.2
2K	3.7	2.4	3.7	2.4	10.5	3.8	2.5	2.0	9.8	27.7	28.6	56.7	45.6	25.6	23.5	11.1	8.5
3K	2.1	2.2	3.1	2.2	3.2	2.6	3.2	2.0	3.2	3.5	2.4	1.0	3.6	8.6	12.6	8.3	9.4
4K	4.9	3.2	3.0	3.2	2.9	3.7	2.7	2.6	2.4	1.0	3.3	8.2	4.8	1.7	4.2	1.0	1.0
5K	3.3	2.9	9.2	2.8	3.8	7.8	6.2	10.4	6.5	9.4	8.2	7.5	7.6	10.5	6.9	8.0	6.5
7K	3.8	2.6	2.8	2.6	2.4	1.0	2.3	2.8	8.7	3.9	10.1	17.3	28.0	45.5	35.6	13.4	5.5
8K	1.0	1.0	2.6	1.0	2.2	1.9	1.0	1.0	2.8	3.3	2.8	2.8	3.9	23.5	23.6	17.5	13.7
9K	2.7	3.1	3.8	3.1	2.9	3.2	2.3	2.6	6.2	2.4	7.8	3.4	3.5	2.0	1.0	2.6	3.1
10K	1.0	2.6	3.0	4.0	2.0	2.3	2.8	1.0	3.1	9.3	29.3	42.9	27.9	15.2	3.9	1.0	3.6
11K	1.0	3.1	2.0		2.5	3.9	4.1	3.7	2.6	3.2	4.8	6.5	2.9	4.7	4.6	1.0	2.8

Η διάρκεια του οίστρου έχει υπογραμμιστεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8 (συνέχεια)

55	57	59	61	63	65	67	69	71	73	75	77	79	81	83	85	87
15.8	4.6	1.4	3.6	1.0	3.4	6.4	3.6	3.5	3.7	2.8						
3.9	4.3	4.6	5.0	4.8	3.7	7.0	8.7	7.5	7.2	4.5						
5.1	7.7	1.7	1.1	3.2	3.6	1.1	3.4	3.3	1.6	2.8						
3.7	3.0	5.6	47.1	62.3	52.3	29.4	16.6	5.6	3.7	1.8	3.5	2.9	3.2	3.2		1.6
13.6	32.7	11.6	5.8	5.6	3.3	1.7	4.5	1.2	3.5	3.4	3.0	3.9	3.8	3.5	3.0	5.9
5.3	4.7	4.1	1.0	1.8	1.3	3.0	1.0	1.0	1.3	2.8	2.7	9.9	3.0	2.8		4.3
5.3	4.6	3.1	1.6	1.4	2.4	3.3	1.4	1.4	1.1	2.8	3.0	3.5	1.0	3.2		3.5
1.0	7.0	4.8	6.0	5.2	4.5	3.7	9.1	26.3	70.4	37.3	10.4	9.7	9.5	3.4	2.9	3.4
5.4	5.5	6.0	1.0	1.7	2.4	3.6	1.0	1.7	3.0	4.0	3.5	1.0	3.2	7.4	2.7	5.7
3.5	6.9	4.5	4.2	3.5	3.2	3.1	3.6	2.7	5.8	3.6						
1.2	1.5	4.2	3.3	2.7	3.0	3.8	3.5	2.9	3.0	3.7						

ΠΙΝΑΚΑΣ 9 : ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΠΡΟΣΕΛΕΥΣΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡΜΣΓ  
ΣΕ ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ, (ng/ml).

No	ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡΜΣΓ																
	15	21	25	27	29	31	33	35	37	39	41	43	45	47	49	51	53
1X	2.0	1.7	1.5	2.6	1.7	1.0	3.0	2.0	2.3	2.6	1.0	1.7	1.0	2.0	2.0	2.1	1.8
2X	1.5	1.6	2.0	1.7	1.6	4.4	5.4	3.7	4.8	3.2	5.0	2.0	1.9	1.0	2.1	5.0	30.2
3X	2.2	2.5	2.0	2.2	1.5	2.8	3.1	2.4	2.3	2.3	2.8	1.0	1.9	1.0	1.7	15.7	22.3
4X	3.0	3.0	2.2	1.0	2.6	2.2	2.7	3.4	2.3	1.0	57.8	47.9	45.8	30.8	12.7	8.0	3.3
5X	1.0	1.0	2.5	2.0	1.5	1.4	1.0	1.0	1.8	1.5	1.0	1.0	2.6	3.2	2.0	2.0	2.0
6X	3.7	2.9	2.6	1.0	2.2	3.2	2.0	3.8	3.8	2.9	20.8	25.5	22.4	21.8	11.3	8.2	5.5
7X	1.0	1.0	1.4	1.0	1.4	1.0	1.8	1.0	1.9	2.5	2.0	1.0	1.0	2.6	3.0	1.0	4.4
8X	2.3	2.2	3.4	3.4	20.0	56.8	30.0	24.0	13.2	10.2	22.5	3.2	2.1	3.4	4.2	2.3	3.5
9X	1.0	2.7	2.7	1.0	1.0	3.6	1.0	3.7	2.9	2.6	20.6	19.0	30.0	29.9	19.2	11.3	7.8
10X	2.8	1.5	1.9	1.7	2.2	5.4	2.4	3.4	6.1	7.9	14.0	21.3	22.4	19.9	14.8	4.0	2.2
11X	2.2	3.9	3.0	1.9	1.5	3.3	4.3	5.4	12.4	28.6	41.6	22.4	12.4	3.5	2.5	3.2	1.4

Η διάρκειά του οίστρου έχει υπογραμμιστεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9 (συνέχεια)

55	57	59	61	63	65	67	69	71	73	75	77	79	81	83	85	87
1.4	29.0	2.0	2.5	1.0	1.8	1.8	1.9	2.0	2.2	2.0						
7.6	43.1	20.0	3.2	3.1	2.0	2.8	2.8	2.5	2.0	2.2						
1.0	29.2	23.0	4.0	2.5	2.0	3.0	1.8	2.5	1.5	1.0						
2.0	1.0	1.0	1.0	1.4	1.4	2.5	1.0	2.3	1.8	1.0	1.0	1.8	2.2	1.5	1.3	1.0
1.9	2.0	4.1	22.0	26.0	25.6	17.0	8.0	4.0	1.5	1.5	1.0	1.0	3.0	1.4	2.1	2.0
1.8	1.8	1.0	1.8	1.8	1.6	1.5	2.0	2.5	1.0	1.8	1.9	2.0	1.5	2.0	2.1	2.0
1.7	1.0	3.5	24.8	51.4	41.5	28.6	15.2	4.5	1.8	1.7	1.6	1.7	1.4	2.4	2.0	1.0
1.8	1.0	1.5	1.5	1.9	1.0	2.8	1.8	2.8	1.7	2.5	2.0	1.5	2.0	1.4	2.1	1.0
2.3	1.9	1.6	1.0	1.7	2.5	2.0	3.2	2.5	1.0	1.8	2.5	2.0	1.4	1.9	1.0	2.0
2.2	3.8	2.5	1.0	1.7	1.0	1.0	2.6	2.1	1.9	1.0						
3.0	3.2	4.0	2.2	3.3	3.0	2.5	3.3	1.8	2.2	6.0						

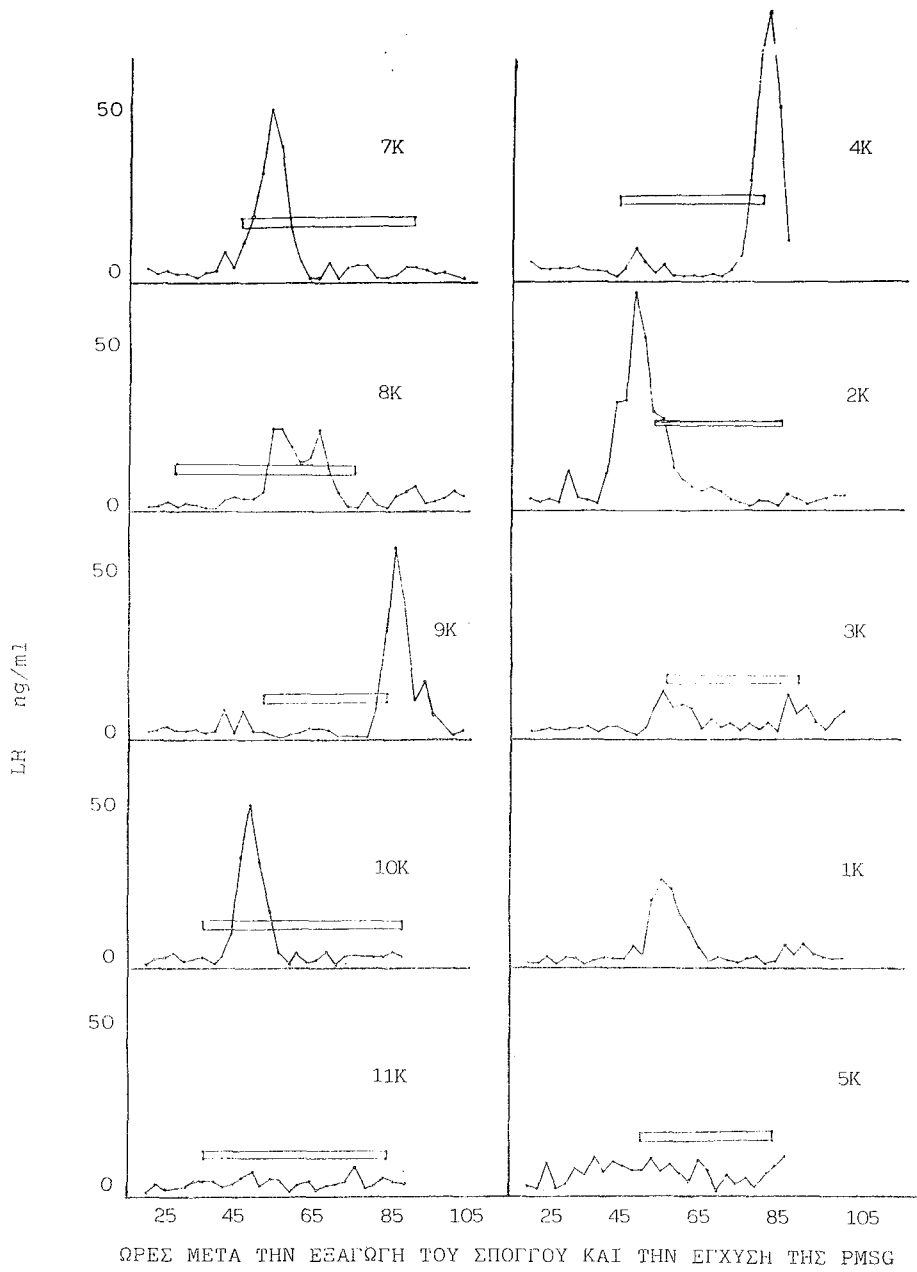
ΠΙΝΑΚΑΣ 10: ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΤΗΣ ΙΗ ΣΕΙΡΑΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡΜΣG  
ΣΕ ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΦΥΛΗΣ ΑΝ. ΦΡΙΣΣΑΝΔΙΑΣ, (ng/ml).

No	ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ																
	21	25	27	29	31	33	35	37	39	41	43	45	47	49	51	53	
1F	3.1	5.0	3.4	4.4	3.8	1.0	2.2	2.9	1.0	1.0	12.3	30.0	53.4	30.6	8.8	4.5	3.0
2F	5.4	3.2	3.2	3.4	2.9	2.9	3.3	2.8	2.9	7.4	3.5	1.5	1.8	3.1	1.8	1.0	1.9
3F	3.2	3.5	3.9	3.7	8.7	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	4.3	22.4	49.8	31.2	27.2	12.0	2.5
4F	4.8	3.3	3.6	3.6	4.6	3.7	1.2	4.7	5.8	5.7	7.0	1.0	4.8	3.8	8.4	18.6	26.5
5F	3.4	3.9	3.0	3.7	3.5	3.2	3.0	3.4	3.3	3.2	6.3	7.6	16.8	20.2	22.0	11.4	5.3
6F	4.4	4.8	3.3	7.8	3.7	7.4	5.8	4.4	3.8	4.8	9.5	6.7	24.6	26.7	29.5	20.0	10.1
7F	4.1	3.5	3.4	2.9	3.5	3.1	13.2	51.2	60.7	51.2	36.4	8.6	6.0	1.0	1.0	2.4	2.5
8F	3.3	3.2	1.4	3.1	3.2	3.2	6.3	27.3	46.8	26.5	21.5	5.8	2.3	1.0	1.0	3.5	2.9
9F	3.0	1.0	3.0	1.0	3.0	1.0	2.9	11.2	12.8	18.7	18.4	18.2	8.3	7.3	2.4	3.1	1.0
10F	1.0	2.8	2.9	2.7	3.4	14.8	24.8	20.5	16.0	8.5	4.1	1.7	1.5	2.5	1.5	2.0	1.7
11F	2.9	3.7	4.3	3.6	9.9	3.7	2.3	23.2	29.8	27.4	7.2	1.5	1.4	1.5	1.8	1.0	5.4

Η διάρκειά του οίστρου έχει υπογραμμιστεί.

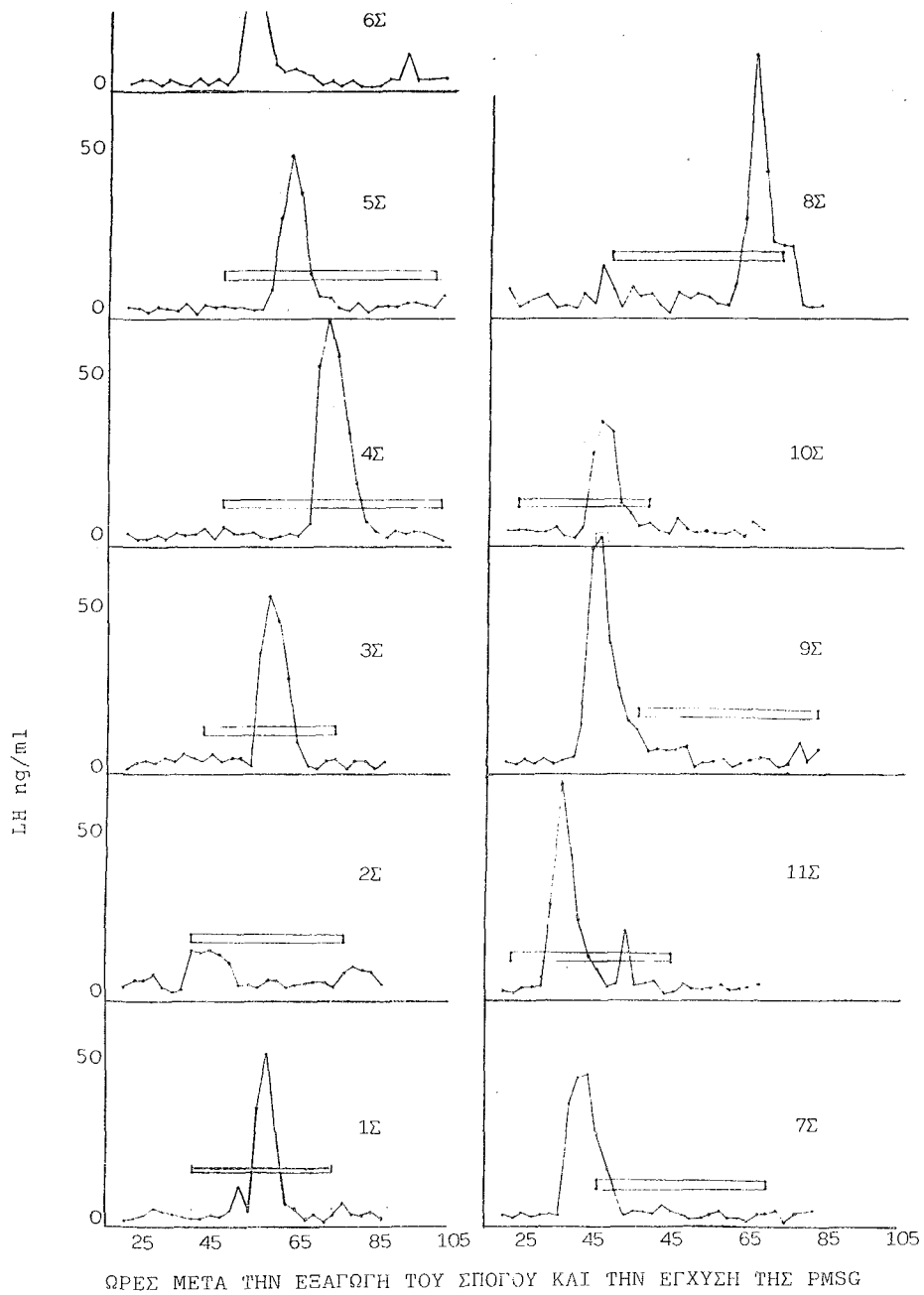
ΠΙΝΑΚΑΣ 10 (συνέχεια)

PMSG	55	57	59	61	63	65	67	69	71	73	75	77	79	81	83	85	87	105
	1.4	2.2	1.8	1.5	1.0	1.0	2.5	1.8	1.0	2.4	1.5							
	1.8	1.8	2.2	3.7	9.1	24.5	27.2	32.7	29.8	19.4	5.9							
	2.1	2.5	1.0	2.0	2.0	3.5	1.8	3.8	1.7	1.9	1.6							
	21.2	10.9	5.6	1.5	2.0	1.5	1.5	1.8	2.0	1.4	1.4	1.5	1.8	2.3	2.8	2.3	2.0	2.0
	1.8	1.4	2.0	1.4	1.0	2.3	2.1	1.0	2.5	2.5	1.9	2.5	2.0	1.6	2.8	1.8	1.0	1.0
	3.2	1.4	1.5	1.8	1.9	1.6	2.0	1.5	1.0	1.8	2.2	2.0	2.5	2.8	1.6	1.9	2.0	2.0
	1.0	2.0	1.4	1.5	1.7	1.8	1.5	1.8	2.0	1.7	1.8	2.3	3.0	2.5	2.5	2.5	2.0	2.0
	2.0	2.2	1.0	2.0	1.2	1.5	1.0	1.5	2.5	1.8	1.7	1.4	2.5	2.0	1.7	2.3	1.0	1.0
	1.8	1.5	1.6	2.2	1.5	1.0	2.0	2.8	1.5	1.8	1.5	3.0	2.8	2.5	2.0	2.2	1.0	1.0
	1.8	1.8	2.5	2.3	1.8	1.8	1.9	3.5	3.0	3.0	1.0							
	2.0	1.5	1.9	2.6	1.9	1.5	1.4	1.5	1.7	2.7	1.0							

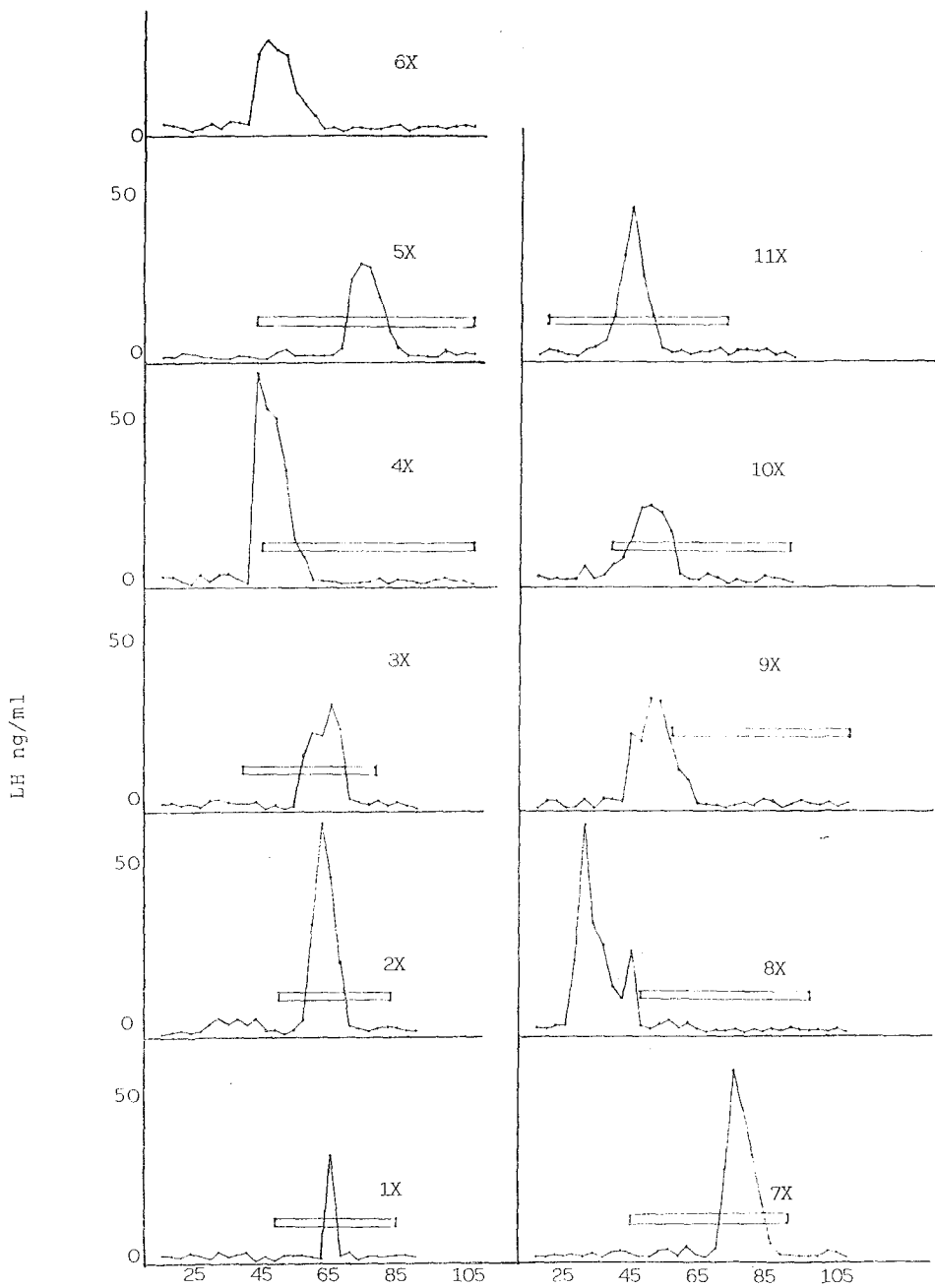


Εικ. 14.-Η εμφάνιση της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH σε προβατίνες φυλής Καραγκούνικης, η οριζόντια γραμμή παριστάνει τη διάρκεια του οίστρου.



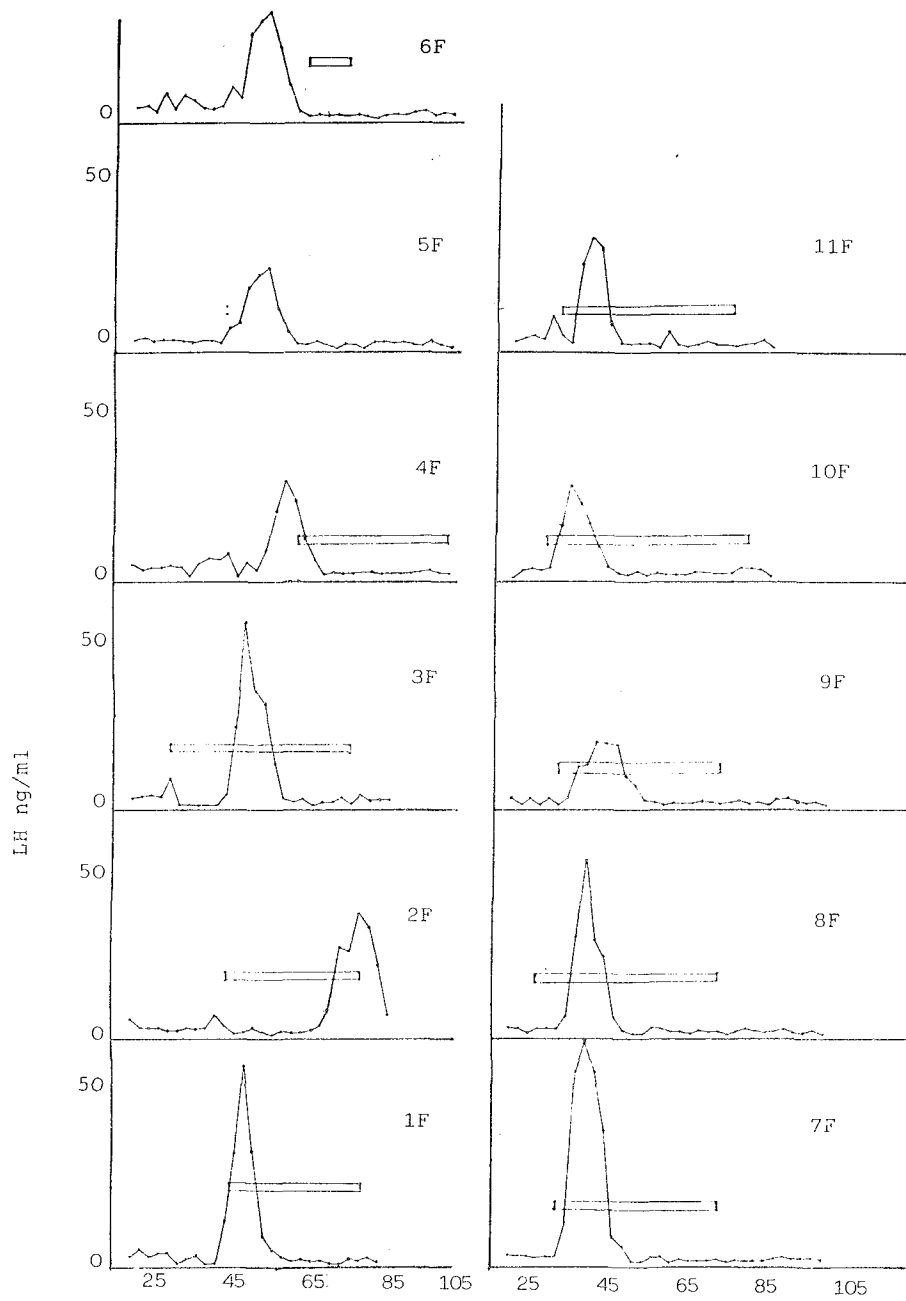


Εικ. 15 - Η εμφάνιση της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH σε προβατίνες φυλής Σερρών, η οριζόντια γραμμή παριστάνει τη διάρκεια του οίστρου.



ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ RMSG

Εικ. 16 -Η εμφάνιση της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH σε προβατίνες φυλής Χίου, η οριζόντια γραμμή παριστάνει τη διάρκεια του οίστρου.



ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΠΟΓΓΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ PMSG

Εικ. 17 -Η εμφάνιση της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH σε προβατίνες φυλής Αν. Φρισλανδίας, η οριζόντια γραμμή παριστάνει τη διάρκεια του οίστρου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 11.(προβατίνες φυλής Καραγκούνικης)

No	ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡMSG					ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ	
	ΟΙΣΤΡΟΣ		ΚΟΡΥΦΗ LH			ΩΧΡΟΥ	
	ΕΝΑΡΞΗ-ΔΙΑΡΚΕΙΑ		ΕΜΦΑΝΙΣΗ-ΤΙΜΗ ng/ml	-ΔΙΑΡΚΕΙΑ			
1K	-	-	49	24,8	9	+	-
2K	49	28	43	56,7	15	+	-
3K	49	28	-*	-	-	+	-
4K	40	32	71	70,0	9	+	+
5K	45	28	-*	-	-	+	-
7K	41	36	47	45,5	11	+	+
8K	28	38	55	25,3	14	+	-
9K	45	24	73	52,0	11	+	-
10K	33	42	43	42,9	9	+	-
11K	33	39	-*	-	-	+	-
$\bar{X}$	40,3	32,8	54,4	45,3	11,1		
SD	± 7,5	± 6,2	± 12,7	± 16,4	± 2,5		
SE	± 2,5	± 2,0	± 4,8	± 6,2	± 0,9		

\* παρόλο που οι τιμές της LH ήταν πολύ χαμηλές για να θεωρηθούν ωοθυλακιορρηκτικές, ωοθυλακιορρηξία έγινε αφού δημιουργήθηκε λειτουργικό ωχρό σωματίο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. (προβατίνες φυλής Σερρών)

No	ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗ					ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ	ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ
	ΟΙΣΤΡΟΣ		ΚΟΡΥΦΗ LH		ΩΧΡΟΥ		
	ΕΝΑΡΞΗ-ΔΙΑΡΚΕΙΑ		ΕΜΦΑΝΙΣΗ-ΤΙΜΗ ng/ml-	ΔΙΑΡΚΕΙΑ			
1Σ	35	30	51	46,4	11	+	+
2Σ	35	32	39	13,8	8	+	-
3Σ	37	28	51	47,3	9	+	-
4Σ	41	46	63	62,3	11	+	-
5Σ	41	44	55	43,6	9	+	+
6Σ	-*	-	47	26,9	7	+	+
7Σ	41	36	39	40,1	11	+	-
8Σ	43	36	73	70,4	9	+	+
9Σ	49	38	41	62,7	13	+	+
10Σ	19	43	41	33,5	8	+	+
11Σ	<u>19</u>	<u>38</u>	<u>33</u>	<u>57,6</u>	<u>11</u>	+	+
$\bar{X}$	36,0	37,1	48,4	45,9	9,7		
SD	± 9,8	± 6,0	± 11,8	± 6,9	± 1,8		
SE	± 3,1	± 1,9	± 3,5	± 5,1	± 0,5		

\* Η προβατίνα Νο 6Σ, αν και δεν εμφάνισε οίστρο, συνέλαβε ύστερα από Τ.Σ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 13. (προβατίνες φυλής Χίου)

No	ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΓΧΥΣΗ ΤΗΣ ΡMSG					ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ	ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ
	ΟΙΣΤΡΟΣ		ΚΟΡΥΦΗ LH		ΩΧΡΟΥ		
	ΕΝΑΡΞΗ-ΔΙΑΡΚΕΙΑ		ΕΜΦΑΝΙΣΗ-ΤΙΜΗ ης/ml	--ΔΙΑΡΚΕΙΑ			
1X	45	27	57	29,0	- *	+	-
2X	45	25	53	57,6	9	+	-
3X	37	28	57	29,2	10	+	-
4X	41	46	41	57,8	11	+	+
5X	41	44	63	26,0	9	+	-
6X	- **	-	43	25,5	10	+	+
7X	41	36	63	51,4	10	+	-
8X	43	36	31	56,8	14	+	-
9X	49	38	45	30,0	12	+	-
10X	37	38	45	22,4	10	+	-
11X	<u>19</u>	<u>43</u>	<u>41</u>	<u>41,6</u>	<u>9</u>	+	+
$\bar{X}$	39,8	36,1	49,0	38,8	10,4		
SD	± 8,2	± 7,3	± 10,3	± 14,4	± 1,6		
SE	± 2,6	± 2,3	± 3,1	± 4,3	± 0,5		

\*Η κορυφή της LH στην προβατίνα Νο 1X δεν είχε διάρκεια.

\*\* Η προβατίνα Νο 6X, αν και δεν εμφάνισε οίστρο, εντούτοις συνέλαβε ύστερα από Τ.Σ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 14. (προβατίνες φυλής Αν. Φριολανδίας).

No	ΟΙΣΤΡΟΣ		ΚΟΡΥΦΗ LH		ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ ΩΧΡΟΥ		ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ
	ΕΝΑΡΞΗ-ΔΙΑΡΚΕΙΑ		ΕΜΦΑΝΙΣΗ-ΤΙΜΗ ng/ml -ΔΙΑΡΚΕΙΑ				
1EF	41	28	45	53,4	8	+	-
2EF	41	28	69	32,7	11	+	-
3EF	29	38	45	49,8	12	+	+
4EF	55	32	53	26,5	8	+	-
5EF	41	65	49	22,0	7	+	-
6EF	57	8	49	29,5	9	+	-
7EF	31	34	37	60,7	10	+	-
8EF	27	38	37	46,8	9	+	-
9EF	31	34	39	18,7	10	+	-
10EF	29	43	33	24,8	9	+	-
11EF	<u>31</u>	<u>36</u>	<u>37</u>	<u>29,8</u>	<u>7</u>	+	-
$\bar{X}$	37,4	34,9	44,8	35,9	9,1		
SD	± 10,1	± 13,5	± 10,2	± 14,2	± 1,6		
SE	± 3,0	± 4,0	± 3,1	± 4,3	± 0,5		





Αυτά τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε στατιστική ανάλυση με τη βοήθεια της ανάλυσης της παραλλακτικότητας, από την οποία δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των φυλών, ούτε στην τιμή και στη διάρκεια της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH, ούτε και στην έναρξη και τη διάρκεια του οίστρου.

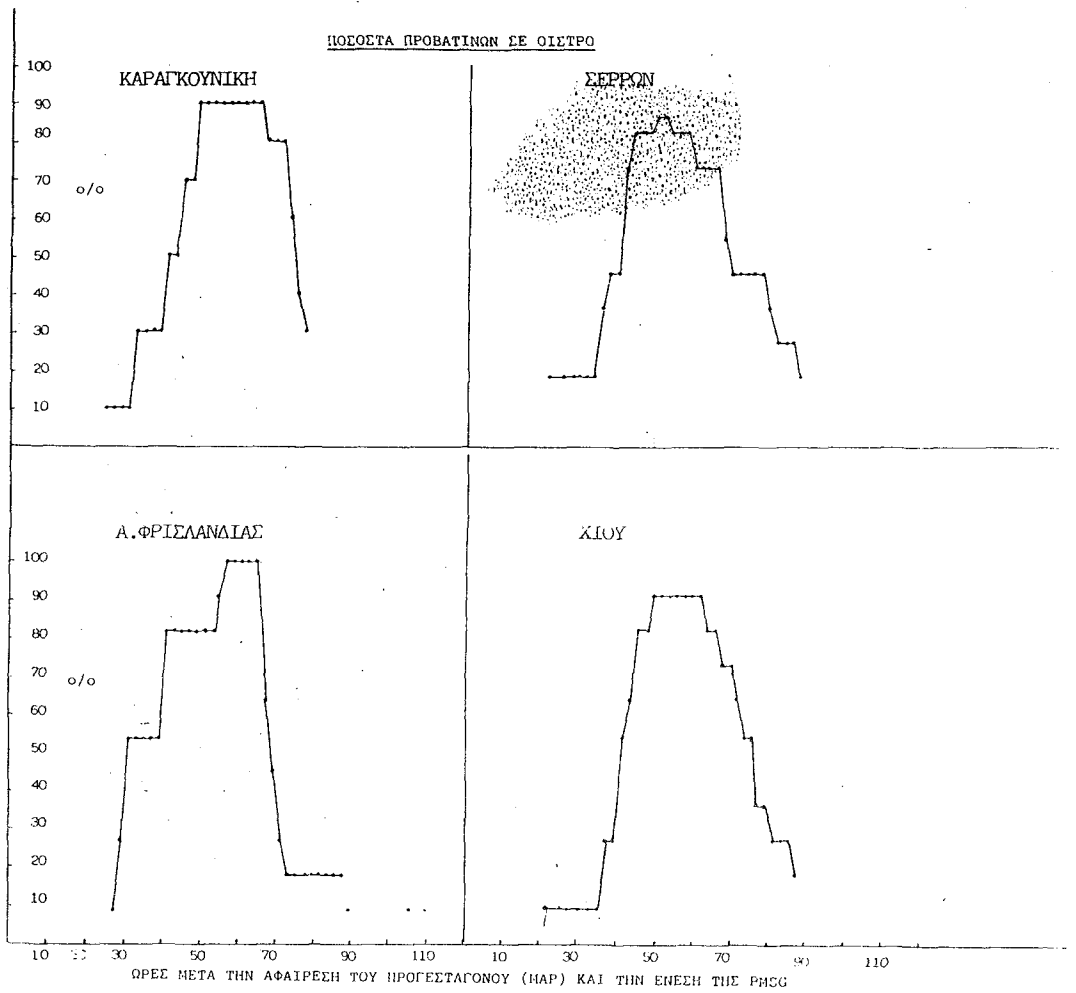
Οι μέσοι όροι των χαρακτηριστικών αυτών για όλα τα ζώα ανεξάρτητα από τη φυλή είναι: (σε ώρες μετά την εξαγωγή του σπύγγου και την έγχυση της PMSG).

-έναρξη οίστρου.....	38,5 ± 9,0 ώρες
-διάρκεια οίστρου.....	35,3 ± 8,8 ώρες
-εμφάνιση κορυφής της LH....	48,7 ± 11,1 ώρες
-τιμή κορυφής LH.....	41,5 ± 15,0 ng/ml
-διάρκεια κορυφής LH.....	10,0 ± 1,9 ώρες

Στην εικόνα 18 παρουσιάζονται οι προ-ωοθυλακιορρηκτικές κορυφές της LH και το χρονικό διάστημα που έγιναν οι αντίστοιχες ωοθυλακιορρηξίες (υπολογισμένο θεωρητικά - 24 ώρες μετά την κορυφή της LH, Cumming et al., 1971). Στο σχήμα της εικόνας 18 που παρουσιάζει την περίοδο των ωοθυλακιορρηξιών των προβατίνων ατομικά, τα ζώα που γέννησαν έχουν υπογραμμιστεί. Όπως φαίνεται στο σχήμα αυτό τα περισσότερα ζώα που έμειναν έγκυα, προφανώς από την πρώτη σπερματέγχυση (48η ώρα) είναι εκείνα που έκαναν ωοθυλακιορρηξία την 65η ώρα, δηλαδή όταν η σπερματέγχυση γίνεται 17 νωρίτερα από την ωοθυλακιορρηξία. Η σημειούμενη με αστερίσκο προβατίνα φυλής Σερρών είχε και δεύτερη κορυφή της LH την 47η ώρα και ωοθυλακιορρηξία (-ες) περί την 71η ώρα. Πιθανόν η γονιμοποίηση να έγινε στη δεύτερη ωοθυλακιορρηξία. Η περίοδος ωοθυλακιορρηξιών των ζώων μαθηματικά υπολογισμένη για να συμπεριλαμβάνει το 95 ο/ο των προβατίνων είναι από την 50η ώρα ως την 95η ( $\bar{X}$  χρόνος εμφάνισης κορυφής της LH  $\pm$  2SD, 48,7  $\pm$  11,1 ώρες + 24 ώρες). Άρα, αφού η σπερματεγχύση πρέπει να γίνεται 11-15 ώρες νωρίτερα από την ωοθυλακιορρηξία (Dziuk, 1970) ή 17 ώρες όπως βρέθηκε παραπάνω, είναι απαραίτητο η πρώτη Τ.Σ. να γίνεται τουλάχιστον περί την 35η ώρα. Πάντως ο συγχρονισμός των ωοθυλακιορρηξιών απαιτεί εκτενέστερη έρευνα, αφού οι περισσότερες σπερματεγχύσεις θα προκαλέσουν Stress με δυσάρεστα αποτελέσματα στη γονιμοποίηση.

Ο Quirke και οι συνεργάτες του (1981) παρατήρησαν ότι ο οίστρος εμφανίζεται  $31,2 \pm 1,5$  (S.E.) ώρες ενώ η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH εμφανίζεται  $37,6 \pm 1,19$  (S.E.) μετά την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου και την έγχυση της PMSG. Αυτή η νωρίτερη εμφάνιση των φαινομένων αυτών σε σχέση με τα αποτελέσματα του δικού μας πειράματος, πιθανόν να οφείλεται στο διαφορετικό προγεσταγόνο (CRONOLONE) που χρησιμοποίησε η ομάδα του Quirke ή στη διαφορετική φυλή ή στο γεγονός ότι ο πειραματισμός τους έγινε στην οιστρική περίοδο. Είναι πιθανόν η εποχή να παίζει δευτερεύοντα ρόλο αφού ο Robinson και συνεργάτες του (1987), οι οποίοι χρησιμοποίησαν το ίδιο προγεσταγόνο (CRONOLONE), είχαν σχεδόν τα ίδια αποτελέσματα με αυτά της ομάδας του Quirke παρόλο που ο πειραματισμός έγινε στην άνοιστρη περίοδο. Αξιοσημείωτο είναι ότι ο Robinson και οι συνεργάτες του στον ίδιο πειραματισμό βρήκαν ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ( $r = 0,93$ ,  $P < 0,001$ ) μεταξύ εμφάνισης οίστρου και εμφάνισης προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH, αντίθετα στον δικό μας πειραματισμό βρέθηκε ότι η συσχέτιση αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική, η αιτία της διαφοράς αυτής θα πρέπει να αναζητηθεί στο διαφορετικό είδος προγεσταγόνου που χρησιμοποιήθηκε, αφού και οι δύο πειραματισμοί έγιναν στην άνοιστρη περίοδο.

Τα ποσοστά των προβατίνων που ήταν σε οίστρο σε σχέση με το χρόνο μετά την αφαίρεση του προγεσταγονούχου σπόγγου και την έγχυση της PMSG παρουσιάζονται στην εικόνα 19.



Εικόνα 19 -Τα ποσοστά των προβατινών των 4 φυλών που ήταν σε οίστρο ανά ώρες μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG.

Η διάρκεια του οίστρου στις προβατίνες κυμαίνεται από 24 ως 36 ώρες (Vaissaire, 1977). Η ωοθυλακιορρηξία επισυμβαίνει στο τέλος του οίστρου και κατά τους Signoret και Cognie (1975), 32 ώρες μετά την έναρξη του οίστρου, ενώ κατά τον Deriveaux (1971), 18 ως 24 ώρες μετά την έναρξη του οίστρου.

Η διάρκεια του οίστρου διαφέρει μεταξύ των διαφόρων φυλών. Οι πολύδυμες φυλές Finnsheep και Romanon έχουν σημαντικά μεγαλύτερη διάρκεια οίστρου σε σύγκριση με άλλες λιγότερο πολύδυμες φυλές (Land, 1970° Hanrahan and Quirke, 1975° Cahill et al., 1981). Συγκρίσεις που έγιναν μεταξύ ατόμων της ίδιας φυλής απέδειξαν ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του διαστήματος από την εμφάνιση του οίστρου μέχρι την προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH (Thimonnier and Pelletier, 1971).

Οι Colas και Courot (1979) αναφέρουν ότι το μεγαλύτερο ποσοστό συλλήψεων επιτυγχάνεται όταν οι σπερματεγχύσεις γίνονται 12 ώρες μετά την έναρξη του οίστρου.

Κατά τον Goding και τους συνεργάτες του (1969) και τους Wheelley και Radford (1969), η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH εμφανίζεται πριν από την εμφάνιση του οίστρου. Επίσης ο Lishman και οι συνεργάτες του (1974) θεωρούν ότι υπάρχει διακύμανση στο χρόνο εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH σε σχέση με τον οίστρο, επειδή παρατήρησαν ότι πολλά ζώα παρουσιάζουν κορυφές της LH πριν από την εμφάνιση του οίστρου. Το ίδιο είχαν παρατηρήσει και παλαιότερα άλλοι ερευνητές που χρησιμοποίησαν βιολογικές μεθόδους για τον προσδιορισμό της LH (Santolucito et al., 1960° Robertson and Hutchinson, 1962).

Η κορυφή της LH εμφανίζεται  $3,9 \pm 1,4$  ώρες μετά την έναρξη του φυσικού οίστρου (Acritopoulou et al., 1977) ή  $6,82 \pm 1,3$  ώρες (Lintin et al., 1973).

Η κορυφή της LH μετά την εμφάνιση του οίστρου που προκλήθηκε με μία έγχυση  $\text{PGF}_{2\alpha}$  παρουσιάζεται στις  $4,5 \pm 1,1$  ώρες (Acritopoulou et al., 1977) ή ύστερα από δύο εγχύσεις  $\text{PGF}_{2\alpha}$

(σε διάστημα 9 ημερών) εμφανίζεται στις  $12,2 \pm 1,9$  ώρες (Acritoroulou and Haresign -μη δημοσιευμένα δεδομένα).

Ο Haresign (μη δημοσιευμένα δεδομένα) αναφέρει ότι η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH μετά από έγχυση βενζοϊκής οιστραδιόλης εμφανίζεται σε  $13 \pm 5$  ώρες, ενώ μετά από PMSG σε  $34 \pm 3$  ώρες. Αναφέρεται από τους (Haresign and Lamming, 1978) ότι η ανταπόκριση στην LH-RH είναι μεγαλύτερη όταν προηγηθεί χορήγηση PMSG και αυτό οφείλεται στην παραγωγή της ενδογενούς οιστραδιόλης. Κατά τους ανωτέρω ερευνητές το ίδιο συμβαίνει αν πριν από τη χορήγηση της LH-RH χορηγηθεί οιστρογόνο. Πάντως η χαμηλή ανταπόκριση δεν σημαίνει υπολειπургικό ωχρό σμάτιο, αφού στον παρόντα πειραματισμό ζώα που δεν εμφάνισαν προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH παρουσίασαν κανονική ωχρινική λειτουργία (πίνακας 13).

Ο Nett και οι συνεργάτες του (1984) διατύπωσαν ότι η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH μετά από χορήγηση οιστραδιόλης εμφανίζεται ενωρίτερα στην περίπτωση που η χορήγηση της γίνεται κατά την περίοδο συνεχών χορηγήσεων LH-RH παρά στην περίπτωση που η χορήγηση της γίνεται χωρίς εγχύσεις LH-RH.

Ο Haresign και οι συνεργάτες του (1985) παρατήρησαν ότι η προηγούμενη αγωγή με προγεστερόνη προκαλεί καθυστέρηση της εμφάνισης της κορυφής της LH που προκαλείται από συνεχείς εγχύσεις LH-RH κατά 12 περίπου ώρες, σε σχέση με χορηγήσεις LH-RH χωρίς προγεστερόνη.

Ο Lintin και οι συνεργάτες του (1973) αναφέρουν ότι η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH που προκαλείται από ορμονική αγωγή με προγεσταγόνο FGA (30 mg) και 750 IU PMSG εμφανίζεται  $2,78 \pm 1,35$  ώρες μετά την εμφάνιση του οίστρου.

Η παραλλακτικότητα στην εμφάνιση της κορυφής της LH σε σχέση με την εμφάνιση του οίστρου είναι κανόνας κατά την ορμονική αγωγή (Hunter, 1980).

Παρατηρήθηκε ότι το χρονοδιάγραμμα του οίστρου κατά την ορμονική αγωγή παραλλάσσει . και θεωρούν ότι αίτια αυτής της παραλλακτικικότητας είναι η εποχή που γίνεται η αγωγή, η φυλή, η ηλικία, η γαλακτοπαραγωγή, το είδος του προγεσταγόνου και η ποσότητα της PMSG (Cognie et al., 1974; Cognie and Mauleon, 1978; Quirke et al., 1981).

Εξάλλου η μέγιστη τιμή και η διάρκεια της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH ποικίλλουν πολύ (Goding et al., 1969; Reeves et al., 1972; Lishman et al., 1974).

Η εμφάνιση του οίστρου γίνεται ενωρίτερα στις προβατίνες ξηράς περιόδου παρά σ'αυτές που είναι σε γαλακτοπαραγωγή, το διάστημα όμως από την εμφάνιση του οίστρου μέχρι την ωοθυλακιορρηξία είναι μικρότερο στις τελευταίες των οποίων το ύψος της κορυφής της LH είναι σημαντικά χαμηλότερο (Cognie and Pelletier, 1976).

Κατά τους Thimonier και Pelletier (1971) η ποσότητα της LH και η διάρκεια της προ-ωοθυλακιολλακιορρηκτικής κορυφής της δεν διαφέρουν μεταξύ των ζώων που εμφάνισαν μία ή περισσότερες ωοθυλακιορρηξίες, ενώ παρουσιάζεται αξιοσημείωτη διαφορά όσον αφορά το διάστημα από την εμφάνιση οίστρου μέχρι την κορυφή της LH. Η διαφορά αυτή κατά τους ίδιους ερευνητές οφείλεται σε γενετικές διαφορές της υποθαλαμοϋποφυσιακής λειτουργίας.

Οι Raabe και Wheaton (1976) βρήκαν ότι υπάρχουν γενετικές διαφορές στις φυλές των προβάτων Finnsheep, Suffolk και Suffolk X Finnsheep στις μεγαλύτερες τιμές της κορυφής της LH με υπεροχή της πολύδυμης φυλής Finnsheep. Οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το διάστημα από την εμφάνιση του οίστρου μέχρι την κορυφή της LH είναι μεγαλύτερο στην πολύδυμη φυλή Finnsheep ( $9,49 \pm 9$  ώρες, ενώ στην Suffolk είναι  $2,7 \pm 1,8$  ώρες και στο υβρίδιο  $4,2 \pm 2,9$  ώρες. Η διάρκεια της κορυφής ήταν 14 ώρες και στις δύο φυλές και στο υβρίδιο.

Γενετικές διαφορές μεταξύ των φυλών υπάρχουν και στο διάστημα από την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου μέχρι την κορυφή της LH και στο διάστημα από την εμφάνιση του οίστρου μέχρι την κορυφή της LH (Williams and Madani, 1981).

Η μεγαλύτερη φωτοπερίοδος έχει σαν αποτέλεσμα τη μικρή επιμήκυνση του διαστήματος από την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου μέχρι την εμφάνιση της κορυφής της LH (Williams and Madani, 1981).

Οι Pelletier και Thimonier (1969) παρατήρησαν ότι η σειρά εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH σε τρεις ομάδες προβατίνων (η 1η είχε υποβληθεί σε ορμονική αγωγή με προγεσταγόνο και PMSG, η 2η μόνο με προγεσταγόνο και η 3η δεν είχε υποστεί καμμία αγωγή) ήταν η εξής:

Στις προβατίνες που είχαν υποστεί πλήρη ορμονική αγωγή ο χρόνος εμφάνισης της κορυφής της LH ήταν 48 ώρες, στις προβατίνες που τους χορηγήθηκε μόνο προγεσταγόνο ήταν 52 ώρες και στις προβατίνες μάρτυρες 60 ώρες. Η μέγιστη τιμή της LH ήταν σημαντικά χαμηλότερη στις προβατίνες μάρτυρες ( $13,7 \pm 14$  ng/ml σε σύγκριση μ'αυτές που τους χορηγήθηκε προγεσταγόνο ( $78 \pm 8$  ng/ml), ενώ στις προβατίνες με προγεσταγόνο και PMSG η τιμή ήταν  $99 \pm 14$  ng/ml. Κατά τον Ainsworth και τους συνεργάτες του (1983) η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH παρουσιάστηκε 8 ώρες ενωρίτερα στα ζώα στα οποία είχε τοποθετηθεί εμφύτευμα προγεστερόνης σε σύγκριση με εκείνα στα οποία είχε τοποθετηθεί σπόγγος με προγεσταγόνο.

Οι Williams και Madani (1981) βρήκαν ότι το διάστημα από την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου μέχρι την εμφάνιση της κορυφής της LH σε διάφορες βρετανικές φυλές κυμαίνεται από  $46,7 \pm 5,7$  μέχρι  $56,0 \pm 2,0$  ώρες.

Σε προηγούμενο πείραμα (μη δημοσιευμένα δεδομένα) στο Κτηνοτροφείο της ΑΓΣΑ σε 14 προβατίνες φυλής Καραγκούνικης βρέθηκε ότι η κορυφή της LH εμφανίστηκε στις  $59,3 \pm 11,0$  (SD)

ώρες μετά την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου και την έγχυση της PMSG (το είδος και η ποσότητα του προγεσταγόνου καθώς και η PMSG ήταν τα ίδια που χρησιμοποιήθηκαν και στους προηγούμενους πειραματισμούς). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 15.

---

ΠΙΝΑΚΑΣ 15

---

Αποτελέσματα πειράματος για τη διερεύνηση του χρόνου εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH μετά από ορμονική αγωγή με προγεσταγόνο MAP (60 mg) και PMSG 500 UI.

No Ζώου	ώρες μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG
939.....	78
948.....	48
806.....	54
871.....	54
808.....	71
846.....	71
922.....	78
807.....	48
746.....	60
895.....	47
757.....	57
941.....	57
771.....	60
854.....	48
	M.O. 59,3
	S.D. $\pm$ 11,0
	S.E. $\pm$ 2,9

---

Οι μέσες τιμές των ωρών εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH στο πείραμα αυτό και στο προηγούμενο



(59,3 και 54,4 ώρες αντίστοιχα) δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά με επίπεδο σημαντικότητας το 5 ο/ο ( $t = 0,92$ , B.E. = 19, 0,20  $\langle P < 0,40$ ).

Όπως προαναφέρθηκε η ωοθυλακιορρηξία συμβαίνει 24 ώρες μετά την προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH (Cumming et al., 1973) και κατά τον φυσικό οίστρικό κύκλο και κατά τον τεχνητό που προκαλείται από την ορμονική αγωγή με προγεσταγόνο και PMSG (Cumming, 1979).

Το γεγονός αυτό καθιστά εξαιρετικά ενδιαφέρουσα τη διερεύνηση της χρονικής στιγμής που επισυμβαίνει η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH, αφού η τεχνητή σπερματέγχυση πρέπει να γίνεται 11 έως 15 ώρες ενωρίτερα από την ωοθυλακιορρηξία (Dziuk, 1970).

Στον πειραματισμό αυτό τα καλύτερα αποτελέσματα είχαμε 17 ώρες μετά την πρώτη σπερματέγχυση (βλέπε εικόνα 18), πιθανόν όμως το stress των αιματοληφιών να καθυστέρησε τις ωοθυλακιορρηξίες (στις αγελάδες το stress επιμηκύνει το διάστημα "εμφάνιση κορυφής LH-ωοθυλακιορρηξία" (Cumming et al., 1976).

Εφόσον κατά την ορμονική αγωγή δεν συσχετίζεται η εμφάνιση του οίστρου με την προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH, δεν μπορούμε να λάβουμε ως σημείο αναφοράς την εμφάνιση του οίστρου για να προγραμματίσουμε η τεχνητή σπερματέγχυση να γίνεται 12 ώρες μετά, όπως προτείνεται από τους Colas και Courot (1979).

Έτσι μοναδικό σημείο αναφοράς για την εύρεση του κατάλληλου χρόνου για την διεξαγωγή της τεχνητής σπερματέγχυσης είναι η διαπίστωση του χρόνου εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH.

Σε αντίθεση με ξένους ερευνητές, οι οποίοι παρατήρησαν διαφορές μεταξύ των φυλών, στον πειραματισμό αυτό δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των φυλών που μελετήθηκαν.

Διαφορές επίσης δεν παρατηρήθηκαν και μεταξύ των ομάδων ζώων της ίδιας φυλής (Καραγκούνικη) που μελετήθηκαν η μεν μία στη Θεσσαλονίκη η δε άλλη στην Αθήνα. Αυτό είναι ενθαρρύντικό γιατί θα μπορούσε να σχεδιαστεί ένα κοινό χρονοδιάγραμμα σπερματεγχύσεων ευρείας εφαρμογής, αφού στη χώρα μας το προγεσταγόνο και η ορμόνη PMSG που χρησιμοποιούνται είναι τα ίδια σ'όλη την επικράτεια (κρατικής προμήθειας).

Απάντήσεις σε ερωτήματα που απορρέουν από την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής στην πράξη.

1. Πτώση του σπόγγου.

Διακρίνουμε δύο περιπτώσεις:

1.1. Να υπάρχει ωχρινική λειτουργία (προγεστερόνη) τη χρονική περίοδο που κανονικά ο προγεσταγονούχος σπόγγος θα έπρεπε να είναι στον κόλπο.

Στην περίπτωση αυτή, εφόσον βέβαια γίνει η έγχυση της PMSG, το ζώο θα κάνει ωοθυλακιορρηξία (εσ) θα προκληθούν λειτουργικά ωχρά σωματίδια που κατά πασα πιθανότητα θα υποστηρίξουν την εγκυμοσύνη. Τέτοια περίπτωση παρουσιάζεται στην εικόνα 20.

1.2. Να μην υπάρχει ωχρινική λειτουργία κατά τη χρονική περίοδο που κανονικά ο προγεσταγονούχος σπόγγος θα έπρεπε να είναι στον κόλπο.

Στην περίπτωση αυτή, εφόσον βέβαια γίνει η έγχυση της PMSG, το ζώο θα κάνει ωοθυλακιορρηξία, ενδεχομένως καθυστερημένη, η ζωή όμως του ωχρού σωματίου είναι περιορισμένη (εικόνα 21).

2. Τοποθέτηση και δεύτερου σπόγγου.

Στην περίπτωση αυτή επιμηκύνεται ο προκαλούμενος κύκλος

3. Έγχυση μεγαλύτερης δόσης PMSG.

Στην περίπτωση αυτή οι τιμές της προγεστερόνης του κύκλου που προκαλείται από την ορμονική αγωγή είναι πολύ μεγαλύτερες λόγω των περισσότερων ωχρών σωματίων. Η διάρκεια όμως του οιστρικού κύκλου δεν μεταβάλλεται.

4. Απουσία εμφάνισης β'οίστρων.

Πιθανόν το σοβαρότερο πρόβλημα που εμφανίζεται στις προβατίνες μετά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής είναι διαταραχές της ωοθηκικής λειτουργίας και τελικά αναφροδισία. Για τη διερεύνηση αυτής της διαταραχής μελετήσαμε την ωοθηκική λειτουργία 6 προβατίνων караγκούνικης φυλής, οι οποίες δεν έμειναν έγκυες μετά από ορμονική αγωγή και τεχνητή σπερματέγχυση που εφαρμόστηκε το Μάιο του έτους 1981. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην εικόνα 22.

ζονται στην εικόνα 22. Όπως φαίνεται στην εικόνα αυτή οι προβατίνες μετά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής περιπέσανε πάλι στην άνοιτρο κατάσταση. Οι οίστροι εμφανίστηκαν τον Αύγουστο και συνέπεσαν με τους οίστρους των υπόλοιπων караγκούνικων προβατίνων της εκτροφής. Οι γάλλοι ερευνητές Perget και Roussely (1984) παρατήρησαν και αυτοί ότι η επανεμφάνιση των οίστρων σε προβατίνες φυλής Lacaupe μετά από ορμονική αγωγή συμπίπτει με την εμφάνιση των φυσικών οίστρων των ζώων που δεν υπέστησαν ορμονική αγωγή.

Σε επαναληπτικό πείραμα (Απρίλιος 1986), που εφαρμόστηκε η ίδια ορμονική αγωγή σε караγκούνικες προβατίνες, παρατηρήσαμε ότι οι καμπύλες που διαγράφουν οι μέσες τιμές της προγεστερόνης βαίνουν ελατούμενες ενώ η διάρκεια των ωθητικών κύκλων βαίνει αυξανόμενη (εικόνα 23), κατάσταση παρόμοια της αραιομηνόρροιας που εμφανίζεται στις γυναίκες λίγο πριν την κλιμακτήριο (Μπατρίνος, 1984). Πάντως το πρόβλημα αυτό χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

##### 5. Πρώιμη διάγνωση της εγκυμοσύνης μετά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής.

Η διάγνωση της εγκυμοσύνης γίνεται με μέτρηση της προγεστερόνης. Κατά την συμπλήρωση ενός οιστρικού κύκλου μετά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής, το ωχρό σωματίο (α) σωματίο καταστρέφεται από την προσταγλανδίνη  $F_{2\alpha}$  στις προβατίνες που δεν έμειναν έγκυες και η προγεστερόνη που παρήγαγε πέφτει στα χαμηλότερα ανιχνεύσιμα επίπεδα ή και σε μη ανιχνεύσιμα (0,3 ng/ml). Όπως φαίνεται στους πίνακες 2, 3, 4, 5 και 6 κοινή ημέρα σ' όλους τους πειραματισμούς που η προγεστερόνη έπεσε στα χαμηλότερα ανιχνεύσιμα επίπεδα ήταν η 22η ημέρα μετά το πέρας της ορμονικής αγωγής.

Άρα, γενικά η 22η ημέρα μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG κρίνεται η καλύτερη για την αιματοληψία για τη διάγνωση της εγκυμοσύνης με μέτρηση της προγεστερόνης.

Οριακή τιμή προγεστερόνης για τη διάγνωση της εγκυμοσύνης θεωρείται η τιμή 1,0 ng/ml (Cognie and Mauleon, 1978). Οι ίδιοι αναφέρουν ότι η καλύτερη ημέρα για τη μέτρηση, είναι η 18η μετά την οχεία. Από δικές μας παρατηρήσεις στο Κτηνοτροφείο της ΑΓΣΑ οι τιμές έγκυων προβατίνων 19 ημέρες μετά την ορμονική αγωγή που είχε εφαρμοστεί τους μήνες Μάιο-Ιούνιο (1983-1984) ήταν, ανά φυλή:

<u>ΦΥΛΗ</u>	<u>η</u>	<u>ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗ ng/ml<sup>±</sup>S.E.</u>
Καραγκούνικη	67	2,04 ± 0,17
Χίου	31	2,60 ± 0,31
Αν.Φρισιλανδίας	43	2,90 ± 0,25
F <sub>1</sub> (Αν.Φρ. Χ Καρ.)	55	2,55 ± 0,26

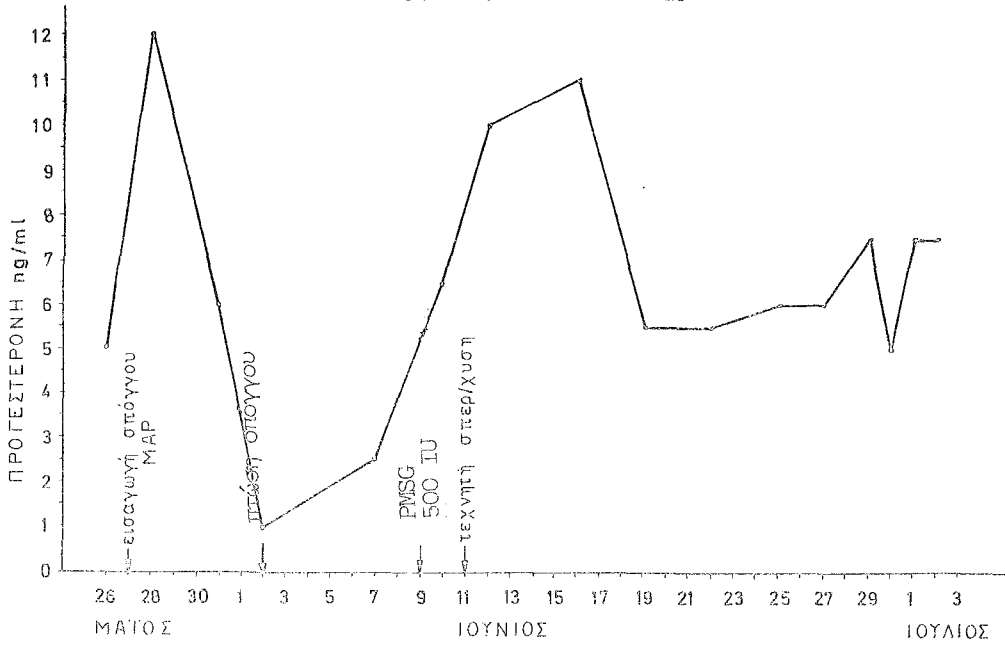
Η γαλακτοπαραγωγή μειώνει τα επίπεδα της προγεστερόνης (Cognie and Mauleon, 1978) με αποτέλεσμα τη μείωση του ποσοστού επιτυχίας της μεθόδου. Το ποσοστό αυτό μπορεί να αυξηθεί εφόσον γίνουν δύο μετρήσεις από αιματοληψίες που απέχουν η μία της άλλης 2-3 ημέρες.

Η πρόιμη διάγνωση της εγκυμοσύνης κρίνεται απαραίτητη στην προγραμματισμένη αναπαραγωγή όταν η ορμονική αγωγή γίνεται στην άνοιστρη περίοδο που οι β'οίστροι δεν εμφανίζονται ή εμφανίζονται σποραδικά.

6. Ανεπιθύμητη πολυ-ωοθυλακιορρηξία μετά από ορμονική αγωγή.

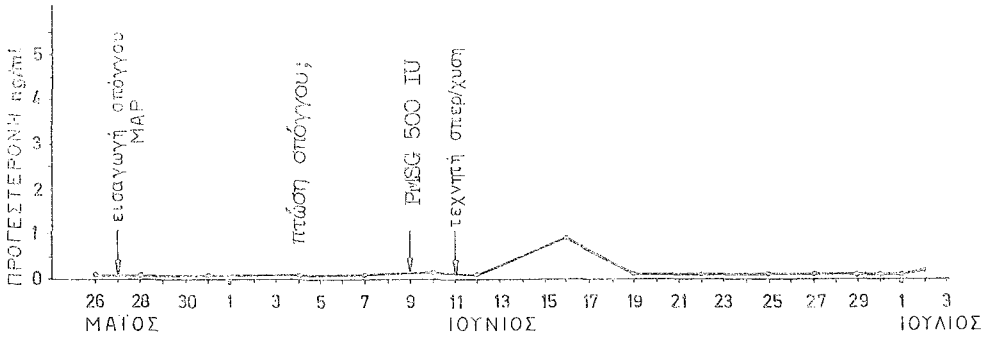
Στην περίπτωση αυτή συνιστάται η χορήγηση μικρής ποσότητας βενζοϊκής οιστραδιόλης στο πέρας της ορμονικής αγωγής.

ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ Νο 735 ΑΝ. ΦΡΙΣΣΛΑΝΔΙΑΣ

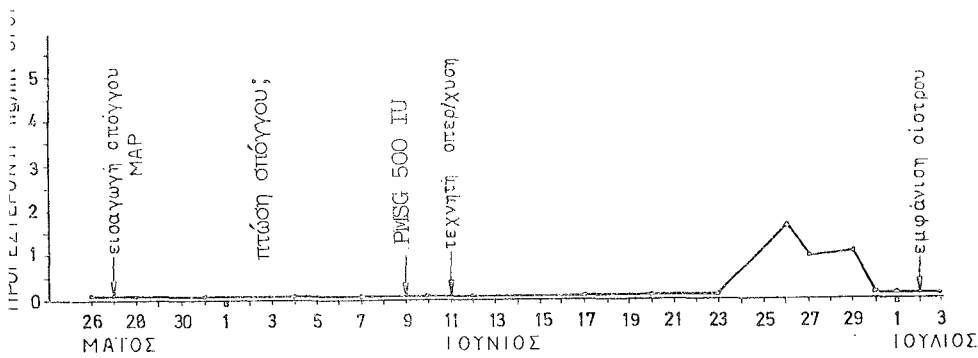


Εικόνα 20 - Η καμπύλη της προγεστερόνης της προβατίνας Νο 735 η οποία είχε αχρυνική λειτουργία όταν έγινε η εισαγωγή του σπόγγου. Μετά την πτώση του έκανε ωοθυλακιωρρηξία και ξανακάνε με τη χορήγηση της PMSG. Η προβατίνα αυτή έμεινε έγκυος από την τελευταία ωοθυλακιωρρηξία (-ες) και γέννησε τρίδυμα.

ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ Νο 725 ΑΝ. ΦΡΙΣΣΛΑΝΔΙΑΣ

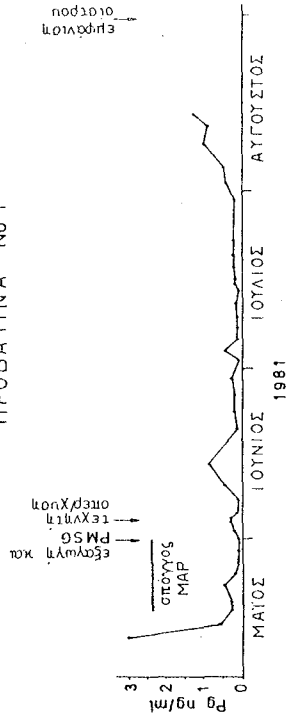


ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ Νο 660 ΧΙΟΥ

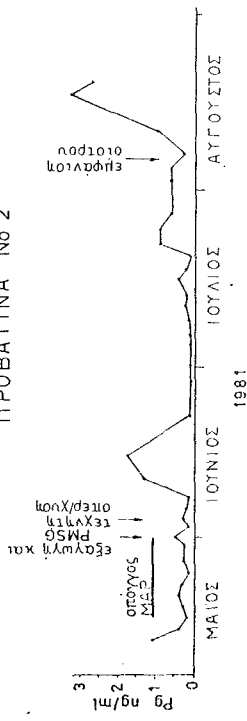


Εικόνα 21 - Οι καμπύλες της προγεστερόνης προβατίνων που τους έπεσε ο σπόγγος, τους έγινε όμως έγχυση PMSG.

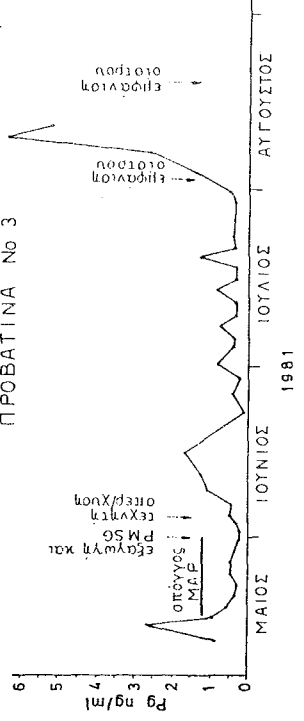
ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ No 1



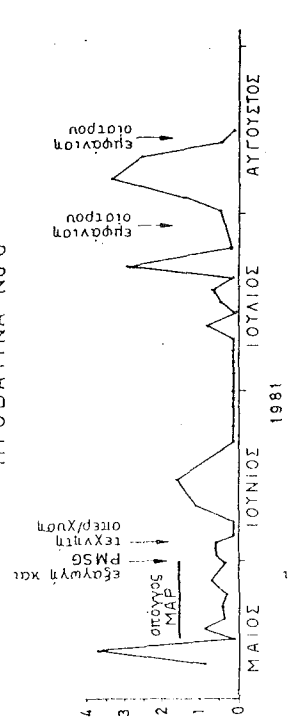
ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ No 2



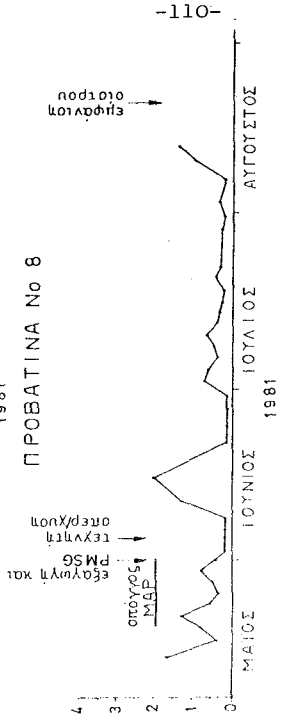
ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ No 3



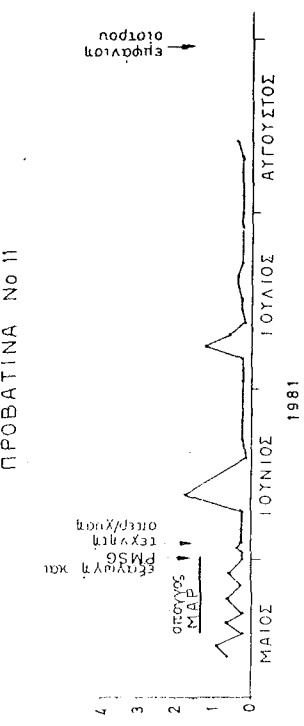
ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ No 6



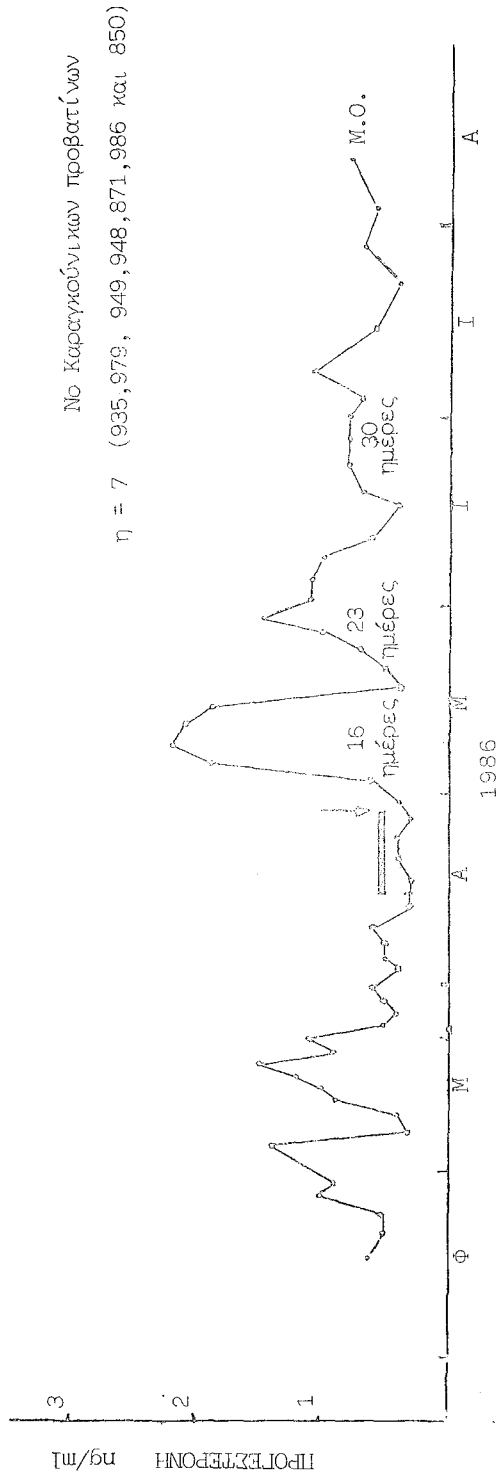
ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ No 8



ΠΡΟΒΑΤΙΝΑ No 11



Εικ. 22 - Οι καμπύλες της προγεστερόνης των προβατινών από την αρχή του πειραματισμού (πριν την εισαγωγή του προγεσταγόνου, με το προγεσταγόνο και στον κύκλο που ακολούθησε) μέχρι την εμφάνιση οίστρου.



Εικόνα 23 - Οι ωθητικοί κύκλοι 7 καραγκούνικων προβατινών πριν και μετά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής. Η διάρκεια των σιωπηλών κύκλων που ακολούθησαν τον κύκλο που προκλήθηκε από την ορμονική αγωγή βαίνει αυξανόμενη μέχρι την έναρξη της νέας οιστρικής περιόδου.



## ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η ορμονική αγωγή με προγεσταγόνο (MAP 60 mg) και PMSG (500 IU) προκαλεί οίστρο και ωθυλακιορρηξία στην οιστρική και στην άνοιστρη περίοδο.

- Κανονική ωχρινική λειτουργία, στον ωθηκικό κύκλο που ακολουθεί την ορμονική αγωγή, παρατηρείται:

στην οιστρική περίοδο σε ποσοστό 100 ο/ο των ζώων\*

στο α' μισό της άνοιστρης περιόδου σε ποσοστό 0 ο/ο των ζώων.

στο β' μισό της άνοιστρης περιόδου σε ποσοστό 45,8 ο/ο, το ποσοστό αυτό είναι ο μέσος όρος τριών ετών (17 ο/ο, 33 ο/ο και 67 ο/ο).

Έτσι εξηγείται το διαφορετικό ποσοστό συλλήψεων που παρατηρείται σ' ένα κοπάδι από χρονιά σε χρονιά, παρόλο που τα υλικά της ορμονικής αγωγής είναι τα ίδια. Αίτια της μη κανονικής ωχρινικής λειτουργίας είναι η ανεπαρκής ανάπτυξη του ωθυλακίου και η ανεπαρκής υποφυσιακή υποστήριξη του νεοαναπτυσσόμενου ωχρού σωματίου. Άρα, μεγαλύτερη δόση PMSG\* και χορήγηση LH-RH ή καλύτερα HCG μετά την ωθυλακιορρηξία θα βελτιώνει την ωχρινική λειτουργία και την επιτυχία της μεθόδου.

- Η διάρκεια των 13 ημερών της παραμονής του προγεσταγόνου κρίνεται απαραίτητη για την εξέλιξη ενός αναπτυσσόμενου ή για την παλινδρόμηση ενός υπάρχοντος ωχρού σωματίου η για την δημιουργία της τεχνητής ωχρινικής φάσης στην περίπτωση που η ορμονική αγωγή εφαρμόζεται στην άνοιστρη περίοδο.

- Η μεγαλύτερη παραγωγή προγεστερόνης από το ωχρο σωματίο που δημιουργήθηκε από την ορμονική αγωγή εμφανίζεται τη 13η ημέρα μετά την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου και την έγχυση της PMSG. Άρα έλεγχος για τη λειτουργική επάρκεια του ωχρού σωματίου που προήλθε από την ορμονική αγωγή θα μπορούσε να γίνει με μέτρηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης τη 13η ημέρα μετά το πέρας της ορμονικής αγωγής.

---

\*Παραμένει όμως το ερώτημα του εντοπισμού των ζώων εκείνων στα οποία απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα PMSG.

- Η διάγνωση της εγκυμοσύνης με μέτρηση των συγκεντρώσεων της προγεστερόνης θα μπορούσε να γίνει την 22η ημέρα μετά την εξαγωγή του προγεσταγονούχου σπύγγου και την έγχυση της PMSG, την ημέρα αυτή η τιμή της προγεστερόνης του ωχρού που παλινδρόμησε είναι στο χαμηλότερο επίπεδο στην οίστρική και στην άνοιστρη περίοδο.

- Οι μεταβολές που προκαλεί το τεχνητό ωχρό σωματίο (προγεσταγόνο) στον άξονα "Υποθάλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη", στο β'μισό της άνοιστρης περιόδου (που έγινε ο αντίστοιχος πειραματισμός), είναι ίδιες μ'αυτές που προκαλούνται κατά την ωχρινική φάση από την προγεστερόνη του φυσικού ωχρού σωματίου (κύματα αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων). Η αραιή όμως συχνότητα έκκρισης της LH που ακολουθεί την εξαγωγή του σπύγγου στην άνοιστρη περίοδο δεν επιτρέπει την ανάπτυξη ώριμου ωοθυλακίου γι'αυτό η έγχυση της ορμόνης PMSG είναι απαραίτητη.

- Η καμπύλη που διαγράφει η προγεστερόνη μετά από ορμονική αγωγή εξαρτάται από την ποσότητα του προγεσταγόνου και της PMSG, περισσότερη ποσότητα προγεσταγόνου επιμηκύνει την καμπύλη ενώ μεγαλύτερη ποσότητα PMSG την αυξάνει σε ύψος.

- Η προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH είναι ανεξάρτητη της εμφάνισης του οίστρου, άρα, η Τ.Σ. πρέπει να γίνεται βάσει του χρόνου εμφάνισης της κορυφής της και όχι βάσει του χρόνου εμφάνισης του οίστρου (προκειμένου για τα υλικά και τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα αυτό).

- Είναι δυνατόν να μην εμφανιστεί προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH και να εμφανιστεί οίστρος, ωοθυλακιορρηξία και κανονική ωχρινική λειτουργία, μετά από ορμονική αγωγή.

- Είναι δυνατόν να μην εμφανιστεί οίστρος, μετά από ορμονική αγωγή, αλλά να εμφανιστεί προ-ωοθυλακιορρηκτική κορυφή της LH, ωοθυλακιορρηξία, ανάπτυξη κανονικού λειτουργικά ωχρού σωματίου και εφόσον οι προβατίνες υποβληθούν σε Τ.Σ. να μείνουν έγκυες.

- Δεν βρέθηκαν γενετικές διαφορές όσον αφορά το χρόνο εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH, στις φυλές που

που μελετήθηκαν (Καραγκούνικη, Σερρών, Χίου και Αν. Φριςλανδίας), αυτό θα διευκόλυνε το σχεδιασμό κοινού χρονοδιαγράμματος εφαρμογής της Τ.Σ. εφόσον τα υλικά της ορμονικής αγωγής θα ήταν τα ίδια.

- Η περίοδος των ωοθυλακιορρηξιών (θεωρητικά υπολογισμένη βάσει του γεγονότος ότι λαμβάνει χώρα 24 ώρες μετά την εμφάνιση της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH) είναι από την 50η ως την 84η ώρα μετά το πέρας της ορμονικής αγωγής (συμπεριλαμβανομένου του ποσοστού 95 ο/ο των ζώων), άρα η πρώτη Τ:Σ: πρέπει να γίνεται περί την 35η ώρα μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG. Πάντως ο συγχρονισμός των ωοθυλακιορρηξιών δεν είναι ικανοποιητικός και απαιτείται περισσότερη έρευνα στον τομέα αυτό.

- Ζώα τα οποία δεν έμειναν έγκυα ύστερα από ορμονική αγωγή που εφαρμόστηκε σ'αυτά κατά την άνοιστρη περίοδο, ενδέχεται, ή να περιπέσουν πάλι στην άνοιστρη περίοδο και να εμφανίσουν οίστρους με την έναρξη της νέας οιστρικής περιόδου ή να διαταραχθεί ο άξονας "Υποθάλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη" και να ακολουθήσουν μακρείς σιωπηλοί κύκλοι των οποίων η διάρκεια βαίνει αυξανόμενη (όπως η αραιομηνόρροια που εμφανίζεται συχνά στις γυναίκες λίγο πριν την κλιμακτήριο).

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι η διερεύνηση των ενδοκρινικών μεταβολών που προκαλούνται κατά την εφαρμογή της ορμονικής αγωγής του συγχρονισμού του οίστρου με προγεσταγόνο MAP (60 mg) και 500 IU PMSG στα πρόβατα.

Γιὰ το σκοπό αυτό σχεδιάστηκαν τρεις κύριοι πειραματισμοί. Ο πρώτος αφορά στον έλεγχο της ωοθηκικής λειτουργίας του κύκλου που προκαλείται από την ορμονική αγωγή στην οιστρική και στην άνοιστρη περίοδο. Ο δεύτερος αφορά στον έλεγχο της επίδρασης του προγεσταγόνου στον άξονα "Υποθάλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη". Ο τρίτος πειραματισμός αφορά στη διερεύνηση του χρόνου εμφάνισης της προ-ωοθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH μετά την ορμονική αγωγή.

Στον πρώτο πειραματισμό, κατά την οιστρική περίοδο χρησιμοποιήθηκαν 17 προβατίνες φυλής Καραγκούνικης ενώ στο πρώτο μισό της άνοιστρης περιόδου 16 της ίδιας φυλής. Ο πειραματισμός στο δεύτερο μισό της άνοιστρης περιόδου, λόγω της σπουδαιότητας που παρουσιάζει αυτή η εποχή στις ελληνικές συνθήκες πράξης, έγινε σε τρεις διαφορετικές χρονιές. Τον πρώτο και δεύτερο χρόνο χρησιμοποιήθηκαν 6 προβατίνες φυλής Καραγκούνικης και τον τρίτο χρόνο 12 της ίδιας φυλής. Σ' όλα τα πειράματα του πρώτου πειραματισμού γινόνταν καθημερινές αιματοληψίες για μέτρηση προγεστερόνης από την ημέρα -16 ως την +23 από την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG. Στο δεύτερο πειραματισμό χρησιμοποιήθηκαν 6 προβατίνες φυλής Καραγκούνικης, στον πειραματισμό αυτό έγιναν αιματοληψίες (εκτός των καθημερινών) στις 0, 1, 2,5 και 5 ώρες πριν την εισαγωγή του προγεσταγονούχου σπόγγου, κατά την εισαγωγή του, πριν την εξαγωγή του και κατ' αυτήν, για μέτρηση LH και οιστραδιόλης. Κατά τον τρίτο πειραματισμό χρησιμοποιήθηκαν 43 προβατίνες, 10 φυλής Καραγκούνικης και από 11 των φυλών Σερρών, Χίου και Α.Φρισλανδίας. Στις προβατίνες γινόνταν έλεγχος για οίστρο και αιματοληψία (για μέτρηση LH) ανά δίωρο από την 25η ώρα από το πέρας της εφαρμογής της ορμονικής αγωγής μέχρι τουλάχιστον την 75η ώρα ή το πέρας του οίστρου εφόσον αυτός διαρκούσε περισσότερο.

Από τον πρώτο πειραματισμό προέκυψαν τα ακόλουθα:

Κατά την οιστρική περίοδο, όλα τα ζώα εμφανίζουν κανονική ωχρινική λειτουργία στον κύκλο που ακολουθεί την ορμονική αγωγή. Κατά την άνοιστρη περίοδο και συγκεκριμένα στο πρώτο μισό της περιόδου αυτής σ'όλα τα ζώα δεν παρουσιάστηκε κανονική ωχρινική λειτουργία ενώ στο δεύτερο μισό εμφανίστηκε σε ποσοστό 45,8 ο/ο (Μ.Ο τριών χρόνων; 17, 33 και 67 ο/ο αντίστοιχα).

Η παραμονή του προγεσταγονούχου σπόγγου στον κόλπο επί 13 ημέρες κρίνεται απαραίτητη επειδή τόσο είναι το διάστημα που χρειάζεται για να παλινδρομήσει ένα νεοαναπτυσσόμενο ωχρό σωματίο. Η συγκέντρωση της προγεστερόνης παρουσιάζει το μεγαλύτερο ύψος της τη 13η ημέρα μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG, επομένως η μέτρηση της προγεστερόνης 13 ημέρες μετά την ορμονική αγωγή θα μπορούσε να αποτελέσει δοκιμασία ελέγχου της λειτουργικής επάρκειας του ωχρού σωματίου. Η χαμηλότερη συγκέντρωση προγεστερόνης παρατηρήθηκε 22 ημέρες μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG, επομένως η ημέρα αυτή είναι η πιό κατάλληλη για την πρώιμη διάγνωση της εγκυμοσύνης με τη μέθοδο της μέτρησης της προγεστερόνης.

Από το δεύτερο πειραματισμό προέκυψε ότι:

Οι μεταβολές που προκαλεί το τεχνητό ωχρό σωματίο (προγεσταγονούχος σπόγγος) στον άξονα "Υποθάλαμος-Υπόφυση-Ωοθήκη" είναι ανάλογες αυτών που προκαλεί το φυσικό ωχρό σωματίο. Επομένως οιοσδήποτε χειρισμός για πρόκληση ωοθυλακικής φάσης, ωοθυλακιόρρηξις και ανάπτυξης κανονικού λειτουργικά ωχρού σωματίου προαπαιτεί δημιουργία ωχρινικής φάσης.

Από τον τρίτο πειραματισμό προέκυψαν τα εξής:

Η εμφάνιση της προ-ωοθυλακιόρρηκτικής κορυφής της LH είναι ανεξάρτητη της εμφάνισης του οίστρου (προκειμένου για το συγκεκριμένο προγεσταγόνο και την PMSG) και τη φυλή (τουλάχιστον για τις φυλές που μελετήθηκαν -Καραγκούνικη, Σερρών, Χίου και Αν. Φριλανδίας). Επομένως το χρονοδιάγραμμα της Τ.Σ. θα μπορούσε να σχεδιαστεί με βάση την εμφάνιση της κορυφής της LH, η οποία παρουσιάστηκε στον παρόντα πειραματισμό στις  $48,7 \pm 11,1$  (S.D.) ώρες μετά την εξαγωγή του σπόγγου και την έγχυση της PMSG.

ENDOCRINOLOGICAL CHANGES IN EWES AFTER HORMONAL TREATMENT FOR  
OESTRUS SYNCHRONIZATION WITH PROGESTAGEN (MAP) AND PMSG

The aim of this study was to investigate the endocrine changes brought about in ewes, after hormonal treatment for estrus synchronization with progestational sponges impregnated with MAP (60 mg) and administration of 500 IU PMSG.

To this effect, three experiments were designed. The object of the first was to study the pattern of the ovarian function of the cycle induced by the hormonal treatment in the breeding, as well as in the anestrus period. The second experiment was planned so as to study the influence of the progestagen on the "Hypothalamus-Hypophysis-Ovary" axis. The purpose of the third experiment was to investigate the time of appearance of the preovulatory peak of LH secretion after the hormonal treatment.

In the breeding season 17 Karagouniko breed ewes were used and 16 ewes of the same breed were used in the first half of anestrus period, while in the second half of the same period the experiment took place in three different years because of the importance of this period in our country. Six Karagouniko breed ewes were used in the 1st and 2nd year and 12 in the 3rd year. During all above experiments serum progesterone was measured every day from -16 to -23 day from the sponge removal and PMSG injection. In the second experimentation

Karagouniko breed ewes were used. In this experiment besides the daily blood collections we examined LH and estradiol at 0, 1, 2, 5 and 5 hours before and after the insertion as well as the removal of the sponge. In the third experimentation we used 10 Karagouniko, 11 Serrai, 11 Chios and 11 E.Friesian ewes. The ewes were detected for estrus every two hours from 25 to 75 hours after sponge removal. At the same time the blood collection took place, we continued the blood collection until the estrus was over.

The conclusions drawn from each experiment were the following:  
1st experiment:

During the breeding season all the ewes have a normal luteal function in the cycle following the hormonal treatment. During the anestrus

period and especially in the first half of this period, none of the ewes had a normal luteal function, while in the second half of this period the mean percentage of the ewes with normal luteal function was 45,8 % (17, 33 and 67 % for the 1st, 2nd and 3rd year respectively - 11/24 ewes). It is necessary for the progestagen sponge to remain in the ewe for 13 days, as this is the time necessary for a newly developing corpus luteum to regress. The maximum concentration of progesterone takes place on the 13th day after withdrawal of the sponge and PMSG injection. Thus, the progesterone measurement 13 days after the end of the hormonal treatment could be a test of the control of corpus luteum function. The minimum progesterone concentration was observed 22 days after sponge withdrawal and PMSG injection, therefore, this day appears to be the most suitable for early pregnancy diagnosis by means of progesterone assay.

2nd experiment:

The influence that the artificial corpus luteum (progestagen sponge) exerts on the "Hypothalamus-Hypophysis-Ovary" axis is similar to that of a natural corpus luteum. Therefore, a luteal phase is a prerequisite for any manipulation scheduled to induce a follicular phase, ovulation or development of a normal corpus luteum.

3rd experiment:

The appearance of the preovulatory peak of LH is independent of the appearance of oestrus (as regards the progestagen MAP) and the breed (at least for the breeds studied, i.e. Karagouniko, Serrai, Chios and E.Friesian). Therefore, an artificial insemination program could be designed on the basis of the appearance of the LH surge which occurs  $48,7 \pm 11,1$  (S.D.) hours after withdrawal of the sponge and PMSG injection.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Acritopoulou, S., Haresign, W., Foster, J. P. and Lamming, G. E. (1977). Plasma progesterone and LH concentration in ewes after injection of an analog of prostaglandin F<sub>2α</sub>. *J. Reprod. Fert.*, 49, 337-340.
- Ainsworth, L. (1985). Effects of Norgestomet implants and Fluorogestone acetate impregnated sponges on oestrous cycle length and luteal function of ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 9, 63-73.
- Ainsworth, L., Lachance, R. and Labrie, F., (1983). Effects of progestagen treatments and PMSG on the induction of the preovulatory LH discharge in ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 5, 281-286.
- Alifaciotis, T. (1985). Induced breeding in anestrus milking ewes of dairy breeds' comparison of norgestomet, medroxyprogesterone and fluorogestone in two regimes of PMSG. In "Endocrine Causes of Seasonal and Lactational Anestrus in Farm Animals". Ed. by F. Ellendorf and F. Elsaesser. Martinus Nijhoff Publishers, pp. 6-18.
- Allison, A. J. and Robinson, T. J. (1970). The effect of dose level of intravaginal progesterone on sperm transport, fertilization and lambing in the cyclic Merino ewe. *J. Reprod. Fert.*, 22, 515-531.
- Allison, A. J. and Robinson, T. J. (1971). Fertility of progestagen treated ewes in relation to the numbers and concentration of spermatozoa in the inseminate. *Aust. J. Biol. Sci.*, 24, 1001-1008.



- Baird, D. T. (1978). Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod.*, 18, 359-364.
- Baird, D. T., Swanston, I. and Scaramuzzi, R. J. (1976). Pulsatile release of LH and secretion of ovarian steroids in sheep during the luteal phase of the estrous cycle. *Endocrinology*, 98, 1490-1496.
- Baumgartner, J. P., Lishman, A. W., Louw, B. P., Botha, W. A. (1974). Luteinizing hormone (LH) and prolactin levels at oestrus following synchronization with progestagens in the ewe. *S. Afr. Jour. Anim., Sci.* 4, 137-141.
- Belchetz, P. E., Plant, T. M., Nacai, Y., Keagh, E. J. and Knobil, E. (1978). Hypophyseal responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin releasing hormone. *Science*, 202, 631-633.
- Βλάχος, Κ. (1973). Ερευνητικάί εργασίαι επί του συγχρονισμού του οίστρου των μικρών μηρυκαστικών εν Βορείω Ελλάδι. Δελτίον Φυσιοπαθολογίας της Αναπαραγωγής και Τεχνητής Σπερματέγχυσης, 1, 42-46.
- Boshoff, D. A. and Faure, A. S. (1976). Time of ovulation in lactating Karakul ewes following synchronization of oestrus during the breeding season. *S. Afr. Jour. Anim. Sci.*, 3, 187-190.
- Βοσνιάκου, Α. (1983). Συγκριτική μελέτη της ετήσιας οιστρικής και ωοθηκικής δραστηριότητας των ελληνικών φυλών προβάτων Χίου, Καραγκούνικης και Σερρών. Διδακτορική Διατριβή. Κτηνιατρική Σχολή Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
- Cahill, L. L., Saumande, J., Ravault, J. P., Blanc, M., Thimonier, J., Mariana, J. C. and Mauleon, P. (1981). Hormonal and follicular relationships in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod. Fert.*, 62, 141-150.

- Carmel, P. W., Araki, S. and Ferin, M. (1976). Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys: evidence for pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Endocrinology*, 99, 243-248.
- Clarke, I. J. (1987). GnRH and ovarian hormone feedback. In "Oxford Reviews of Reproductive Biology" Vol. 9 Ed. by J. R. Clarke. Clarendon Press-Oxford. pp. 54-95.
- Clarke, I. J. and Cummins, J. T. (1985). Increased GnRH pulse frequency associated with estrogen induced LH surges in ovariectomized ewes. *Endocrinology*, 116, 2376-2383.
- Cognie, Y., Cornu, C. and Mauleon, P. (1974). The influence of lactation on fertility of ewes treated during post-partum anoestrus with vaginal sponges impregnated with PGA (CHRONOGEST). *Inter. Symp. Physiopath. Reprod. and Art. Insem. in Smal. Rum.*, May 1974. Thessaloniki. pp. 33-36.
- Cognie, Y., Hernandez-Barreto, M. and Saumande, J. (1975). Low fertility in nursing ewes during the non-breeding season. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 15, 329-343.
- Cognie, Y., Gray, S. J., Lindsay, D. R., Oldham, C. M., Peace, D. T. and Signoret, J. P. (1982). A new approach to controlled breeding in sheep using the "ram effect". *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 14, 519-522.
- Cognie, Y. and Mauleon, P. (1978). Control of Reproduction in the ewe. In "Control of Ovulation". Ed. by D.B. Crighton, N.B. Haynes, G.R. Foxcroft and G.E. Laming. Butterworths. pp.381-392.
- Cognie, Y. and Pelletier, J. (1976). Preovulatory LH release and ovulation in dry and lactating ewes after progestagen and PMSG treatment during the seasonal anoestrus. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 16, 529-536.
- Colas, G. (1975a). The use of progestagen SC 9880 as an aid for artificial insemination in ewes. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 15, 317-327.

- Colas, G. and Courot, M. (1979). Storage of ram semen. In "Sheep Breeding". Second Edition, G. Thomes, D. Robertson and R. Lightfoot. Revised by W. Haresign. Butterworths pp. 521-532.
- Colas, G., Thimonier, J., Courot, M. and Ortavan, R. (1973). Fertilité, prolificité et fécondité pendant la saison sexuelle de brebis inseminées artificiellement après traitement à l'acétate de fluorogestone. *Annales de Zootechnie*, 22, 441-451.
- Cole, H. H. and Miller, R. F. (1933). Artificial induction of ovulation and oestrus in the ewe during anoestrus. *Amer. Jour. of Physiology*, 104, 165-171.
- Cole, H. H. and Miller, R. F. (1935). Changes in the reproductive organs of the ewes with some data bearing on their control. *Amer. Jour. of Anatomy*, 57, 39-97.
- Crighton, D. B., Foster, J. P., Holland, D. T. and Jeffcoate, S. L. (1973). Simultaneous determination of luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone in the jugular venous blood of sheep at oestrus. *J. Endocr.*, 59, 373-374.
- Crocker, K. P., Robinson, T. J., Shelton, J. N. (1975a). The passage of spermatozoa through the cervix of ovariectomized ewes treated with progesterone and oestrogen. *J. Reprod. Fert.*, 43, 405-410.
- Crocker, K. P., Robinson, T. J., Shelton, J. N. (1975b). The effect of oestrogen administered during the progestational phase of the cycle of transport of spermatozoa in ewes. *J. Reprod. Fert.*, 44, 11-23.
- Crowley, W. F. and McArthur, J. W. (1980). Simulation of the normal menstrual cycle in Kallman's Syndrome by pulsatile administration of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH). *J. Clin. Endocr. Metab.*, 51, 173-175.

- Cumming, I. A. (1979). Synchronization of ovulation. In "Sheep Breeding". Second Edition, G. Thomes, D. Robertson and R. Lightfoot. Revised by W. Haresign. Butterworths. pp. 403-421.
- Cumming, I. A., Baxter, R. W., White, M. B. and Findlay, J. K. (1976). Proceedings of the VIIIth International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination Vol III, 453. αναφέρεται από Cumming (1979)
- Cumming, I. A., Blockey, M. A. deB., Brown, J. M., Catt, K. J., Goding, J. R. and Kaltenbach, C. C. (1970). Proceedings of the Australian Society of Animal Production, 8, 383. αναφέρεται από Cumming (1979).
- Cumming, I. A., Brown, J. M., Blockey, M. A. deB., Winfield, C. G., Baxter, R. and Goding, J. R. (1971). Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. J. Reprod. Fert., 24, 134-135.
- Cumming, I. A., Buckmaster, J. M., De-Blockey, M. A., Goding, J. R., Winfield, C. G. and Baxter, R. W. (1973). Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. Biol. Reprod., 42, 237-248.
- Dauzier, L., Ortavant, R., Thibault, C. and Wintenberger, S. (1954). Résultats nouveaux sur la gestation à contre saison chez la brebis et chez la chèvre. Possibilité d'utilisation pratique. Annales de Zootechnie, (Paris), 3, 89-94.
- Dauzier, L. and Wintenberger, S. (1952). Declanchement simultané de l'oestrus dans un lot de brebis avec possibilité de gestation ultérieure. Annales de zootechnie. (Paris), 4, 49-52.

- Derivaux, S. (1971). *Reproduction chez les animaux domestiques. 1. Physiologie* Editions Derouaux, Liege.
- Dutt, R. H. (1952). Induction of estrus and ovulation in anestrual ewes by use of progesterone and pregnant mare serum. Abstracts of papers to be presented at the Forty-fourth Annual Meeting of the American Society of Animal Production. *J. Anim. Sci.*, 11, 792.
- Dutt, R. H. (1953). Induction of estrus and ovulation in anestrual ewes by use of progesterone and pregnant mare serum. *J. Anim. Sci.*, 12, 515-523.
- Dutt, R. H. and Casida, L. E. (1948). Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effects up on subsequent ovulation and fertility. *Endocrinology*, 43, 208-217.
- Dziuk, P. K. (1970). Estimation of optimum time for insemination of gilts and ewes by double-mating at certain times relative to ovulation. *J. Reprod. Fert.*, 22, 697-699.
- Farin, C. E., Nett, T. M. and Niswender, G. D. (1987). Role of LH in the cellular development of the ovine corpora lutea. Twentieth Annual Meeting of the Society of Reproduction. *Biol. Reprod.* Vol 36, § 369, pag. 169. July 20-23, 1987. Urbana, Illinois.
- Fitz, T. A., Mayau, M. H., Sawyer, H. R. and Niswender, G. D. (1982). Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, 27, 703-711.
- Foster, J. P. and Crighton, D. B. (1973). Preliminary observations on the administration of a synthetic preparation of gonadotropin releasing factor to cyclic and anoestrous ewes. *J. Endocr.*, 57, XXV.

- Foster, J. P. and Crighton, D. B. (1974). Luteinizing hormone (LH) release after simple injections of a synthetic LH-releasing hormone (LH-RH) in the ewe at three different reproductive stages and comparison with natural LH release at oestrus. *Theriogenology*, 2, 87-100.
- Goding, J. R., Catt, K. J., Brown, J. M., Kaltenbach, C. C., Cumming, I. A. and Mole, B. J. (1969). Radioimmunoassay for ovine luteinizing hormone. Secretion of luteinizing hormone during estrus and following estrogen administration in the sheep. *Endocrinology*, 85, 133-142.
- Goodman, R. L. and Karsch, F. J. (1981). The hypothalamic pulse generator: a key determinant of reproductive cycles in sheep. *Biological Clocks in Seasonal Reproductive Cycles*. Ed. B. K. and D. E. Follet. Bristol, Wright, pp. 223-236.
- Gordon, I. (1974). Controlled breeding in sheep. *Ir. vet. J.*, 28, 118-126.
- Gordon, I. (1975). Hormonal control of reproduction in sheep. *Proceedings of the British Society of Animal Production*, 4, (New Series), 79-93.
- Hanrahan, J. P. and Quirke, J. F. (1975). Repeatability of the duration of oestrus and breed differences in the relationship between duration of oestrus and ovulation rate of sheep. *J. Reprod. Fert.*, 45, 29-36.
- Hansel, et al., (1972). *Am. Zoologist*, 12, 225-243. αναφέρεται από Vaissaire (1977).
- Haresign, W. (1975). Ovarian response to synthetic LH-RH in anoestrous ewes. *J. Reprod. Fert.*, 44, 127-129.
- Haresign, W. (1978). Ovulation control in the sheep. In "Control of Ovulation. Ed. by D. B. Crighton, N. B. Haynes, G. R. Foxcroft and G. E. Lamming . Butterworths pp. 431-451.

- Haresign, W., Foster, J. P., Haynes, N. B., Crighton, D. B. and Lamming, G. E. (1975). Progesterone levels following treatment of seasonally anoestrous ewes with synthetic LH-releasing hormone. *J. Reprod. Fert.*, 43, 269-279.
- Haresign, W. and Lamming, G. E. (1978). Comparison of LH release and luteal function in cyclic and LH-RH treated anoestrous ewes pretreated with PMSG or oestrogen. *J. Reprod. Fert.*, 52, 349-353.
- Haresign, W., McLeod, B. J., Webster, G. M., Worthy, K. (1985). Endocrine basis of seasonal anoestrus in sheep. In "Endocrine Causes of Seasonal and Lactational Anoestrus in Farm Animals". Ed. by F. Ellendorff and F. Elsaesser. Martinus Nijhoff Publishers, pp. 6-18.
- Hawk, H. W. and Conley, H. H. (1971a). Sperm transport in ewes administered synthetic progestagen. *J. Anim. Sci.*, 33, 255.
- Hawk, H. W. and Conley, H. H. (1971b). Loss of spermatozoa from the reproductive tract of the ewe and intensification of sperm "breakage" by progestagen. *J. Reprod. Fert.*, 27, 339-347.
- Hunter, R. H. F. (1980). "Physiology and Technology of Reproduction in Female Domestic Animals". Academic Press. pp. 35-63.
- Hunter, W. M. and Greenwood, F. C. (1962). Preparation of iodine-131 labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature*, 194, 495.
- Kaltenbach, C. C., Niswender, J. D., Graber, J. W. (1966). Corpus luteum function in the hypophysectomized ewe. *Pr. 48th Meeting Endocr. Soc., Chicago, Ill.*, pp. 82.
- Kann, G. and Martinet, J. (1975). Prolactin levels and duration of postpartum anoestrus in lactating ewes. *Nature, Lond.*, 257, 63-64.
- Kann, G., Martinet, J. and Schirar, A. (1977). Modifications of gonadotrophin secretion during natural and artificial hyperprolactinaemia in the ewe. In "Prolactin and Human Reproduction". Ed. Crossigniani, P. and Rodyn, C. Acad. Press. pp. 47-59.

- Karsch, F. J. (1980). Seasonal Reproduction: A saga of reversible fertility. *The Physiologist*, 23, 29-38.
- Karsch, F. J., Goodman, R. L. and Legan, S. J. (1980). Feedback basis of seasonal breeding: test of an hypothesis. *J. Reprod. Fert.*, 58, 521-535.
- Knobil, E. (1980). The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog. Horm. Res.*, 36, 53-88.
- Lammond, D. R. (1964). Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. *Anim. Breed. Abstr.*, 32, 269-285.
- Land, R. B. (1970). A relationship between the duration of oestrus, ovulation rate and litter size of sheep. *J. Reprod. Fert.*, 23, 49-53.
- Land, R. B. and McClelland, T. H. (1971). The performance of the Finn-Dorset sheep allowed to mate four times in two years. *Anim. Prod.*, 13, 637-641.
- Legan, S. J., I'Anson, H., Fitzgerald, B. P. and Akaydin, M. S. Jr. (1985). Importance of short luteal phases in the endocrine mechanism controlling initiation of estrous cycles in anestrus ewes. *Endocrinology*, 117, 1530-1536.
- Lewis, P. E., Bolt, D. J. and Inskeep, E. K. (1974). Luteinizing hormone release and ovulation in anestrus ewes. *J. Anim. Sci.*, 38, 1197-1203.
- Lewis, P. E., Taylor, W. C. and Inskeep, E. K. (1968). Exogenous progesterone on ovine corpora lutea. *J. Anim. Sci.*, 27, 1193 (Abstr.).
- Leyendecker, G., Wildt, L. and Hansmann, M. (1980). Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) administration of Gn-RH means of a portable pump ("Zyklomat") a new approach to the treatment of infertility in hypothalamic amenorrhea. *J. clin. Endocr. Metab.*, 51, 1214-1216.



- Lightfoot, R. J. and Salamon, S. (1970a). Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 22, 385-398.
- Lightfoot, R. J. and Salamon, S. (1970b). Fertility of ram spermatozoa frozen by pellet method. II The effect of method of insemination on fertilization and embryonic mortality. *J. Reprod. Fert.*, 22, 399-408.
- Lincoln, G. A. (1979). Use of a pulsed infusion of luteinizing hormone releasing hormone to mimic seasonally induced endocrine changes in the ram. *J. Endocr.*, 83, 251-260.
- Lincoln, G. A. and Short, R. V. (1980). Seasonal breeding: Nature's contraceptive. *Recent Prog. Horm. Res.*, 36, 1-51.
- Lintin, K., Lamming, G. E. and Butt, W. R. (1973). The effects of progestagen and PMSG on peripheral plasma LH levels in the Clun Forest ewes. *J. Reprod. Fert.*, 35, 607-609.
- Lishman, A. W., Stielan, W. J., Dreosti, I. E., Botha, W. A., Stewart, A. M. and Swart, C. E. (1974). The release of LH at oestrous in ewes on two planes of nutrition during lactation. *J. Reprod. Fert.*, 41, 227-230.
- Loginova, N. V. and Zheltobrukh, N. A. (1968). VIth International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination Paris, 2, 1077. Αναφέρεται από Colas and Courot (1979)
- Loginova, N. V. and Zheltobrukh, N. A. (1972). VIIth International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination. München, 2, 1507. Αναφέρεται από Colas and Courot (1979)
- McClelland, M. C., Diekman, M. A., Abel, J. H., Niswender, G. D. (1975). Luteinizing hormone, progesterone and the morphological development of normal superovulated corpora lutea in sheep. *Cell and Tissue Research*, 164, 291-307.
- McLeod, B. J. and Haresign, W. (1984). Evidence that progesterone may influence subsequent luteal function in the ewe by modulating preovulatory follicle development. *J. Reprod. Fert.*, 71, 381-386.

- McLeod, B. J., Haresign, W. and Lamming, G. E. (1982a). The induction of ovulation and luteal function in seasonally anoestrous ewes treated with small-dose multiple injections of Gn-RH. *J. Reprod. Fert.*, 65, 215-221.
- McLeod, B. J., Haresign, W. and Lamming, G. E. (1982b). Response of seasonally anoestrous ewes to small-dose multiple injections of Gn-RH with and without progesterone pretreatment. *J. Reprod. Fert.*, 65, 223-230.
- McNatty, K. P., Ball, K., Gibb, M., Hudson, N. and Thurley, D. C. (1982). Induction of cyclic ovarian activity in seasonally anoestrous ewes with exogenous Gn-RH. *J. Reprod. Fert.*, 64, 93-96.
- McNatty, K. P., Gibb, M., Dobson, C. and Thurley, D. C. (1981). Evidence that changes in tonic luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. *J. Endocr.*, 90, 375-389.
- McNeilly, A. S., O'Connell, M. and Baird, D. T. (1980). Induction of ovulation by pulsatile injection of LH in anoestrous ewes. *Biol. Reprod.*, 22 48A Abstr.
- Margaritis, I., Samouelidis, S. and Semadopoulos, V. (1974). Conception rate in sheep following estrus synchronization by means of "SILESTRUS" implants, MAP sponges and injection of PMSG, during anestrus. *Inter. Symp. Physiopath. Reprod. and Art. Insem. in Smal. Rum. May 1974. Thessaloniki.* pp.58-66.
- Mauleon, P. (1975). In "Maitrise des Cycles Sexuels chez les Ovins". Proceedings of Meeting at Montpellier, France, Feb. 1975. (Searle: Paris).
- Mauleon, P. (1979). Manipulation of the breeding cycle. In "Sheep Breeding". Ed. by G.Tomes, D.Robertson, R.Lightfoot. Rev. by W.Haresign. Butterworths, pp. 439-449.

- Mauleon, P. and Dauzier, L. (1965). Variations de durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile de France. *Ann. Biol. Biochim. Biophys.*, 5, 131-143.
- Μινωτάκης, Κ., Τσάμης, Κ., Ξενούλης, Π. (1971β). Επίδρασις διαφόρων μεθόδων ορμονικού χειρισμού προκλήσεως συγχρονισμένων οίστρων εις τα άνοιστρα πρόβατα και του επιτυγχανομένου ποσοστού συλλήψεως. *Δελτίον ΣΓΕΚΑ*, 3, 164.
- Μιχαηλίδης, Ι. (1986). Αναπαραγωγικοί παράμετροι προβάτων φυλής Χίου και Κύμης. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονική Σχολή Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης.
- Moore, N. W. and Holst, P. J. (1967). In "The Control of the Ovarian Cycle in the Sheep". Ed. by T.J.Robinson. Sydney University Press, Sydney. pp. 133.
- Moore, N. W. and Robinson, T. J. (1957a). The vaginal response of the spayed ewe to repeated injections of oestradiol benzoate given or preceded by progesterone. *J. Endocr.*, 14, 297-303.
- Moore, N. W. and Robinson, T. J. (1957b). *J. Endocr.*, 15, 360. αναφέρεται από Robinson (1979).
- Μπατρίνος, Μ. (1982). "Σύγχρονη Ενδοκρινολογία". Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη. σελ. 568-583.
- Μπιζέλης, Ι. (1989). Ηλικία της ήβης και χαρακτηριστικά της πρώτης οιστρικής περιόδου αμνάδων των φυλών Χίου και Καργούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής. Διδακτορική διατριβή. Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Nett, T. M., Crowder, M. E., Wise, M. E. (1984). Role of estradiol in inducing an ovulatory like surge of luteinizing hormone in sheep. *Biol. Reprod.*, 30, 1208-1215.
- O'Mary, C. C., Pope, A. L. and Casida, L. E. (1950). The use of progesterone in the synchronization of the estrual periods in a group of ewes and the effect on their subsequent lambings record. *J. Anim. Sci.*, 9, 499-503.
- O'Shea, J. D., Cran, D. G. and Hay, M.F. (1979). The small luteal cell of the sheep. *J. Anatomy*, 128, 239-251.

- O'Shea, J. D., Cran, D. G. and Hay, M. F. (1980). Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. *Cell Tissue Research*, 210, 305-319.
- O'Shea, J. D., Rodgers, R. J., Wright, P. J. (1984). Nature of "defects" in corpora lutea following induction of ovulation during seasonal anoestrus in the ewe. In Proc. XVith Ann. Conf. Austral. Soc. Reprod. Biol. Melbourne Australia. Aug. 1984. Paper No 76.
- Ottobre, J. S., Lewis, G. S., Thayne, W. V. and Inskeep, E. K. (1980). Mechanism by which progesterone shortens the estrus cycle of the ewe. *Biol. Reprod.*, 23, 1046-1053.
- Peclaris, G. M. (1988). Effect of suppression of prolactin on reproductive performance during the postpartum period and seasonal anoestrus in a dairy ewe breed. *Theriogenology*, 29, 1317-1327.
- Pelletier, J. and Thimonier, J. (1969). Etude de la décharge ovulante par dosage radioimmunologique de la LH plasmatique chez la brebis normale ou traitée par un progestagène. *C. R. Acad. Sc., Paris, Ser. D*, 268, 573-576.
- Pelletier, J. and Thimonier, J. (1973). Comparison of the induced preovulatory LH discharge in lactating and dry sheep during seasonal anoestrus. *J. Reprod. Fert.*, 33, 310-313.
- Pelletier, J. and Thimonier, J. (1975). Interactions between ovarian steroids or progestagens and LH release. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 15, 131-132.
- Perret, G. and Roussely, M. (1984). Performances de reproduction des femelles des races ovines exploitées en France. In "La Reproduction chez les ovins et les caprins". Journées Rech. ovine et caprine (9e) 29-61. INRA. Ed. ITOVIC.
- Plotka, E. D., Erb, R. E. and Harrington, R. B. (1970). Female sex steroid relationships during the estrous cycle of the ewe. *J. Anim. Sci.*, 30, 412-419.
- Ποΐλας, Σ. (1987). Στοιχεία Κέντρου Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Νοσημάτων Αναπαραγωγής Αθηνών. (Μη δημοσιευμένα).

- Poilas, s., Tsamis, C., Coutras, A., Hatjithomas, Y. and Liossis, G. (1974). Induction of fertile oestrus in ewes using intravaginal sponges and implants. Inter. Symp. on Physiopath. of Reprod. and Art. Insem. in Smal. Rum. May 1974. Thessaloniki. pp. 46-52.
- Quinlivan, T. D. and Robinson, T. J. (1967). In "The Control of the Ovarian Cycle in the Sheep". Ed. by T.J. Robinson. Sydney University Press. Sydney. pp. 177-194.
- Quinlivan, T. D. and Robinson, T. J. (1969). Numbers of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen treated ewes. J. Repr. Fert., 19, 73-86.
- Quirke, J. F., Hanrahan, J. P. and Gosling, J. P. (1981). Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, totaloestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lamb. J. Reprod. Fert., 61, 265-272.
- Quirke, J.F., Hanrahan, J.P., Sheehan, W. and Gosling, J.P. (1981 ) Effect of lactation on some aspects of reproduction in progestagen-PMSG treated ewes during the non-breeding season. Ir. J. Agr. Res., 20, 1-8.
- Raabe, T. J. and Wheaton, J. E. (1976). Ovine breed differences in the ovulatory release of LH. J. Anim. Sci., 42, 1360.
- Reeves, J. J., Arimura, A. and Schally, A. V. (1971). Changes in pituitary responsiveness to luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) in anestrus ewes pretreated with estradiol benzoate. Biol. Reprod., 4, 88-42.
- Reeves, J. J., Arimura, A. and Schally, A. V. (1971). Pituitary responsiveness to purified luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) at various stages of the estrous cycle in sheep. J. Anim. Sci., 32, 123-126
- Reeves, J. J., Arimura, A., Schally, A. V., Kragt, C. L., Beck, T. W. and Casey, J. M. (1972). Effects of synthetic luteinizing-releasing hormone (LH-RH/FSH-RH) on serum LH, serum FSH and ovulation in anestrus ewes. J. Anim. Sci., 35, 84-89.

- Riley, G. M., Peters, A. R. and Lamming, G. E. (1981). Induction of pulsatile LH release and ovulation in postpartum acyclic beef cows by repeated small doses of Gn-RH. *J. Reprod. Fert.*, 63, 559-565.
- Robertson, H. A. (1977). Reproduction in the ewe and the goat. In "reproduction in Domestic Animals". Ed. by Cole and Cupps. Academic Press. pp. 475-498.
- Robertson, H. A. and Hutchinson, J. S. M. (1962). The levels of FSH and LH in the pituitary of the ewe in relation to follicular growth and ovulation. *J. Endocr.* 34, 143-151.
- Robertson, H. A. and Sarda, I. B. (1971). A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, ewe, and sow. *J. Endocr.*, 49, 407-419.
- Robinson, T. J. (1952). Role of progesterone in the mating behaviour of the ewe. *Nature (Lond.)*, 170, 373-374.
- Robinson, T. J. (1954a). The production of coincident oestrus and ovulation in the anoestrous ewe with progesterone and pregnant mare serum. *J. Endocr.*, 10, 117-123.
- Robinson, T. J. (1954b). Relationship of oestrogen and progesterone in oestrus behaviour of the ewe. *Nature (Lond.)*, 173, 878.
- Robinson, T. J. (1954c). The necessity for progesterone with estrogen for the induction of recurrent estrus in the ovariectomized ewe. *Endocrinology*, 55, 403-408.
- Robinson, T. J. (1955a). Quantitative studies on the hormonal induction of oestrus in spayed ewes. *J. Endocr.*, 12, 163-173.
- Robinson, T. J. (1955b). Endocrine relationships in the induction of oestrus and ovulation in the anoestrous ewe. *J. agric. Sci.*, 46, 37-43.
- Robinson, T. J. (1960). Advances in controlled breeding. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, 20, 42-51.

- Robinson, T. J. (1962). Coparative studies of several gonadotrophin, progestin and oestrogen treatments in the anoestrous ewe. *J. Endocr.*, 24, 33-51.
- Robinson, T. J. (1964). Proceedings of the Australian Society of Animal Production, 5, 47. Αναφέρεται από Robinson (1979).
- Robinson, T. J. (1965). Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrus cycle in the sheep. *Nature (Lond.)*, 206, 39-41.
- Robinson, T. J. (1967). "The control of the Ovarian Cycle in the Sheep". Sydney University Press.
- Robinson, T.J. (1970). Fertility following sychronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. II Effect of dose of progesterone and rate of absorption. III Effects of supplementary oestrogen duting treatment, duration of treatment and number of inseminations. *Aust. J. agric. Res.*, 21, 783-800.
- Robinson, T. J. (1979). Controlled breeding of the sheep and goats. In "Sheep Breeding". Ed. by G. Thomes, D. Robertson and R. Lightfoot. Rev. by W. Haresign. Butterworths. pp. 423-437.
- Robinson, T. J., Moore, N. W. and Binet, F. E. (1956). The effect of the duration of progesterone pretreatment on the response of the spayed ewe to oestrogen. *J. Endocr.*, 14, 1-7.
- Robinson, T. J., Salamon, S., Moore, N. W. and Smith, J. F. (1967). The evaluation of SC-9880 impregnated intravaginal sponges for the synchronization of oestrus for large scale artificial insemination of Merino ewes in summer and autumn. In "The Control of the Ovarian Cycle in the Sheep". Ed. by T.J. Robinson. Sydney University Press. Sydney. pp. 208-235.

- Robinson, T. J., Scaramuzzi, R. J. and Smith, C. A. (1987).  
The time of mating and LH release and subsequent fertility of anestrus Border Leicester X Merino ewes treated with progestagen and PMSG. *Anim. Reprod. Sci.*, 13, 23-36.
- Robinson, T. J. and Smith, J. F. (1967a). The evaluation of SC-9880 impregnated intravaginal Sponges used with or without PMS for the advancement of the breeding season of British breed ewes. In "The Control of the Ovarian Cycle in the Sheep", Ed. by T.J. Robinson. Sydney University Press. Sydney. pp. 144-157.
- Roux, P. J. Le (1976). The conception rate of MAP and MAP-PMSG-treated Karakul ewes inseminated with diluted semen. *S. Afr. Jour. Anim. Sci.*, 6, 1-15.
- Rodgers, R. J. and O'Shea, T. D. (1982). Purification, morphology and progesterone production and content of three cell types isolated from the corpus luteum of the sheep. *Austr. J. Biol. Sci.*, 35, 441-445.
- Rodgers, R. J., O'Shea, J. D. and Findlay, J. K. (1983). Progesterone production in vitro by small and large ovine luteal cells. *J. Reprod. Fert.*, 69, 113-124.
- Ryan, K. D. and Foster, D. L. (1980). Neuroendocrine mechanisms involved in the onset of puberty in the female: concepts derived from the lamb. *Fedn Proc. Fedn Am. Soc. exp. Biol.*, 39, 2372-2377.
- Salamon, S. (1962). Studies on the artificial insemination of Merino sheep. III The effect of frequent ejaculation on serum characteristics and capacity. *Austr. J. agric. Res.*, 13, 1137-1150.
- Santolucito, J. A., Clegg, M. T. and Cole, H. H. (1960). Pituitary gonadotrophins in the ewe at different stages of the oestrus cycle. *Endocrinology*, 66, 273-279.
- Schäfer, H. (1963). (The interval between birth and subsequent conception in the sheep). *Züchtungskunde*, 35, 158-167.  
*Από Anim. Breed. Abstr.*, Vol. 32, § 1169.



- Shelton, S. N. (1965). Identification of progesterone of high activity for the control of the oestrus cycle in the sheep. *Nature (Lond.)*, 206, 156-158.
- Shelton, J. N., Robinson, T. J. and Holst, P. J. (1967). The evaluation of several progestagen treatments in spayed ewe. In "The Control of the Ovarian Cycle in the Sheep". Ed. by T.J. Robinson. Sydney University Press. Sydney. pp. 14-38.
- Shevah, Y., Black, W. J. M., Land, R. B. (1975). The effects of nutrition on the reproductive performance of Finn X Dorset ewes. II Post-partum ovarian activity conception and plasma concentration of progesterone and LH. *J. Reprod. Fert.*, 45, 289-299.
- Signoret, J. P. and Cognie, Y. (1975). Determination of the moment of ovulation in ewe and sow. Influence of environment and hormonal treatment. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 15, 205-214.
- Smith, J. F. and Allison, A. J. (1971). The effect of exogenous progesterone on the production of cervical mucus in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 24, 279-282.
- Smith, J. F. and Robinson, T. J. (1970). The effect of exogenous progestagen on the levels of free oestrogen in ovarian vein plasma of the ewe. *J. Endocr.*, 48, 485-496.
- Thimonier, J. and Mauléon, P. (1969). variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 9, 233-250.
- Thimonier, J., Mauleon, P., Cognie, Y. and Ortavant, R. (1968). Induction of oestrus and pregnancy in ewes during post-partum anoestrus with the aid of vaginal sponges impregnated with fluorogestene acetate. *Annales de Zootechnie*, 17, 257-273.

- Thimonier, J. and Pelletier, J. (1971). Différences genetiques dans la décharge ovulante (LH) chez les brebis de race Ile-de-France: relations avec le nombre d'ovulations. Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys., 11, 559-567.
- Thimonier, J., Cornu, C. and Terqui, M. (1975). Journées de la Recherche Ovine et Caprine en France, Paris, 232. Αναφέρεται από Mauleon (1979).
- Timariu, S., Ursescu, A., Petcu, D. (1974). A study on the oestrus activity after parturition in Merino of Palas sheep. Inter. Symp. Physiopath. Reprod. and Art. Insem. in Smal. Rum., May-1974. Thessaloniki. pp. 98-104.
- Timariu, S., Ursescu, A., Petcu, D. (1975). (The effect of season and physiological status on the natural expression of oestrus in Pallas Merino ewes). Από Anim. Breed. Abstr. Vol. 43, § 128.
- Τσακάλωφ, Π., Τρίκας, Μ., Παρλίτσης, Ι. και Καραγιαννίδης Α. (1981). Αποτελέσματα συγχρονισμού του οίστρου σε πρόβατα με υποδόρια εμφυτεύματα και ενδοκολπικούς σπόγγους σε τρεις διαφορετικές εποχές του έτους. Δελτίον Ελληνικής Κτην. Εταιρείας, 32, 330-340.
- Τσάμης, Κ. (1977). "Τεχνητή Σπερματέγχυση και Συγχρονισμός Γονίμων Οίστρων επί των Προβάτων". Αθήνα.
- Tsamis, C., Poilas, S., Baronos, S., Carasios, (1974). Effect of injection of PMSG on the fertility of anoestrous ewes. Inter. Symp. Physiopath. Reprod. and Art. Insem. in Smal. Rum., May 1974. Thessaloniki. pp. 52-58.
- Vaissaire, J. P. (1977). "Sexualité et Reproduction des Mammifères Domestiques et de Laboratoire". Paris. Maloinés S. A., pp. 157-267, 299-399.
- Van Niekerk, C. H. (1979). Limitations to female reproductive efficiency. In "Sheep Breeding". Ed. by G. Tomes, D. Robertson and R. Lightfoot. Rev. by W. Haresign. Butterworths. pp. 303-313.

- Van Wyk, L. C., Van Niekerk, C. H., Belonje, P. C. (1972a). Involution of the post partum uterus of the ewe. *Jour. S. Afr. Vet. Ass.*, 43, 19-26.
- Van Wyk, L. C., Van Niekerk, C. H., Belonje, P. C. (1972b). Further observations on the involution of the post partum uterus of the ewe. *Jour. S. Afr. Vet. Ass.*, 43, 29-33.
- Visser, D. and Salamon, S. (1973). *Austr. J. Biol. Sci.*, 26, 513. Αναφέρεται από Colas and Courot (1979).
- Wheatley, I. S. and Radford, H. M. (1969). Luteinizing hormone secretion during the oestrus cycle of the ewe as determined by radioimmunoassay. *J. Reprod. Fert.*, 19, 211-214.
- Wildt, L., Marshall, G. and Knobil, E. (1980). Experimental induction of puberty in the infantile female Rhesus monkey. *Science, N. Y.*, 207, 1373-1375.
- Williams, H. and Madani, O. (1981). Genotype-environment interactions and sheep reproduction. *Proc. 32th Ann. Meet. E.A.A.P. Zagreb 1981.*
- Woody, C. O., First, N. L. and Pope, A. L. (1967a). Effect of exogenous progesterone on estrous cycle length. *J. Anim. Sci.*, 26, 139-141.
- Woody, C. O., Ginther, O. J. and Pope, A. L. (1967b). Effects of exogenous progesterone on corpora lutea induced in anestrus ewes. *J. Anim. Sci.*, 26, 1113-1115.
- Woody, C. O., Ginther, O. J. and Pope, A. L. (1968). Effects of exogenous progesterone and hysterectomy on corpora lutea in ewes. *J. Anim. Sci.*, 27, 1382-1386.
- Xenoulis, P., Minotakis, K., Tsamis, C. (1972). The valuation of progesterone, implants and MAP impregnated sponges for the advancement of the breeding season in ewes. *VII Inter. Congr. Anim. Reprod. and Art. Insem. München. Vol. II 995.*
- Yuthasastrakosol, P., Palmer, W. M. and Howland, B. E. (1977). Release of LH in anoestrous and cyclic ewes. *J. Reprod. Fert.*, 50, 319-321.