

**HELSINGIN YLIOPISTO**  
ELÄINLÄÄKETIETEELLINEN TIEDEKUNTA  
KLIINISEN ELÄINLÄÄKETIETEEN LAITOS  
KOTIELÄINTEN LISÄÄNTYMISTIEDE

Anna Lehtonen

NAUDAN MUNASARJARAKKULAN HOIDOT JA  
TIINEHTYMINEN HOITOJEN JÄLKEEN

Eläinlääketieteen  
lisansiaatin  
tutkielma

**HELSINKI 2009**

## Sisällys

### **Osa I: Kirjallisuuskatsaus**

#### Naudan munasarjarakkula, munasarjarakkulan hoitovaihtoehdot ja hoitojen teho

1. Johdanto	2
2. Munasarjarakkula	3
2.1 Etiologia ja patogeneesi	4
2.2 Diagnosointi	5
3. Hoidot ja hoitojen teho	6
3.1 GnRH	7
3.2 hCG	10
3.3 Prostaglandiini $F_{2\alpha}$ :n yhdistäminen GnRH-hoitoon	10
3.4 Prostaglandiini $F_{2\alpha}$	11
3.5 Ovsynch-ohjelma	12
3.6 Progesteroni	14
3.7 Muut hoidot	16
3.8 Yhteenveto	17

### **Osa II: Tutkimusosio**

#### Naudan munasarjarakkulan hoidot ja tiinehtyminen hoitojen jälkeen

4. Aineisto ja menetelmät	18
4.1 Aineisto	18
4.2 Tarkasteltavat hedelmällisyysparametrit ja laskenta	19
5. Tulokset	20
5.1 Hoitoajankohta	20
5.2 Rakkulahoidettujen poikimakerta	20
5.3 Siementäminen hoidon jälkeen	21
5.4 Tiinehtyminen	21
5.4.1 Tiinehtymisprosentti ja karjasta poistuneet	21
5.4.2 Tiinehtymisaika	22
5.5 Hormonihoitojen vaikutus	23
6. Pohdinta	24
Kiitokset	26
Kirjallisuus	27

## **Osa I: Kirjallisuuskatsaus**

### **Naudan munasarjarakkula, munasarjarakkulan hoitovaihtoehdot ja hoitojen teho**

#### 1. Johdanto

Hedelmällisyshäiriöt ovat naudalla utaretulehduksen jälkeen määrällisesti merkittävin sairausryhmä. Rakkula on yksi naudalla tavallisimmista hedelmällisyshäiriöistä, ja se aiheuttaa tiinehtymättömyyden ja pidentyneiden poikimavälien kautta taloudellisia tappioita karjanomistajille (Garverick, 1997; Vanholder ym, 2006). Munasarjarakkulan hoidossa käytetään monia erilaisia hormonikäsittelyjä. Kliinisessä käytössä olevista hoidoista on kuitenkin melko vähän tietoa siitä, kuinka nopeasti eläimet keskimäärin kunkin hoidon jälkeen tiinehtyvät. Työn tavoitteena on selvittää tavallisimpien munasarjarakkulan hoitoon käytettävien hormonihoitojen hoitotulosta sekä eläinten tiinehtymistä hoitojen jälkeen.

Työ koostuu kirjallisuuskatsauksesta sekä tutkimusosasta. Kirjallisuuskatsauksessa perehdytään naudalla munasarjarakkulan yleispiirteisiin kuten etiologiaan, patogeneesiin, oireisiin ja diagnosointiin. Seuraavaksi syvennytään munasarjarakkulan eri hoitovaihtoehtoihin ja vertaillaan eri hoitovaihtoehtojen tehokkuutta tutkimustiedon perusteella. Eri hoitovaihtoehtojen kartoittaminen ja hoitotulosten vertaaminen tarjoavat tärkeän apuvälineen käytännön työssä sopivimman hoitovaihtoehdon valinnalle.

Tutkimusosiossa tarkastellaan 15 tilan munasarjarakkulahoidettuja lemmiä vuosien 2000–2008 ajalta. Tarkoituksena oli selvittää lemmien tiinehtyminen hoitojen jälkeen. Lisäksi selvitettiin, kuinka nopeasti hoidon antamisen jälkeen lemmät päästiin siementämään. Huomiota kiinnitettiin myös hoidon antamisajankohdan, poikimäkerran ja eri hoitovaihtoehtojen vaikutukseen.

## 2. Munasarjarakkula

Munasarjarakkula (kysta) on follikkelimainen rakenne, jonka halkaisija on vähintään 2,5 cm ja joka ei ovuloidu, vaan säilyy munasarjassa vähintään kymmenen päivää. Samanaikaisesti munasarjoista ei ole löydettävissä toimivaa keltarauhasta (Garverick, 1997). Munasarjarakkulan määritelmä tosin vaihtelee, esimerkiksi rakkulan koon suhteen, hieman lähteestä riippuen (Peter, 1997; Hooijer ym; 1999). Munasarjarakkulat eivät ole muuttumattomia rakenteita, vaan ne saattavat regressoitua ja korvautua uusilla rakkuloilla (Kesler ym, 1980; Hamilton ym, 1995).

Naudan kiimakierron aikana follikkelikasvu tapahtuu aaltomaisesti. Yhteen kiimakiertoon mahtuu kaksi tai kolme follikkeliaaltoa. Jokaisen aallon aikana ryhmä follikkeleja lähtee kasvuun, mutta yleensä vain yhdestä follikkelista tulee dominoiva follikkeli. Jokainen follikkeliaalto vaatii follikkelia stimuloivan hormonin (FSH) erittymisen aivolisäkkeestä lähteäkseen kasvuun (Peter, 1997). Yksi follikkeliaalto kestää keskimäärin 7–10 vuorokauteen ja päättyy joko dominoivan follikkelin ovulaatioon tai surkastumiseen. Dominoivan follikkelin kohtalo riippuu keltarauhasen olemassaolosta (Wiltbank ym, 2002). Follikkeli tarvitsee ovuloituakseen luteinisoivan hormonin (LH) erittymisen aivolisäkkeestä. Jos toimiva keltarauhanen on olemassa, sen progesteronieritys estää preovulatorisen LH-aallon erittymisen. Tällöin dominoiva follikkeli muuttuu toimimattomaksi ja surkastuu (Wiltbank ym, 2002). Munasarjarakkula kehittyy, kun yksi tai useampi follikkeli ei ovuloidu eikä surkastu, vaan jatkaa kasvua ja steroidogeneesiä (Vanholder ym, 2006).

Munasarjarakkulat ovat yleisimpiä hedelmällisyshäiriöitä lypsylehmillä. Keskimäärin 10–13 prosenttia lehmistä kehittää munasarjarakkulan lypsykauden aikana (Garverick, 1997), mutta esiintymisen on raportoitu vaihtelevan 5,6–18,8 prosenttiin (Whitmore ym, 1974; Garverick, 1997). Munasarjarakkulat aiheuttavat siten hedelmättömyyden ja pidentyneiden poikimavälien kautta taloudellisia tappioita lypsykarjatiljoilla (Garverick 1997; Vanholder ym, 2006).

Munasarjarakkulan tavallisin oire on kiimattomuus (Fernandes ym, 2005). Osa lehmistä voi oireilla myös näyttämällä kiimaoireita epäsäännöllisin välein. Muita oireita ovat

lisääntynyt sukupuolivietti, ulkoisten sukuelinten koon suureneminen, limainen emätinvuoto sekä lantiositeiden löystyminen (Peter, 1997).

Munasarjarakkulat jaetaan follikulaari- ja luteaalirakkuloihin. Follikulaarirakkuloita voi esiintyä yksi tai useampia, joko toisessa tai molemmissa munasarjoissa. Follikulaarirakkulat ovat tavallisesti ohutseinäisiä ja erittävät vain hieman progesteronia. Luteaalirakkulat ovat useimmiten yksittäisiä paksuseinäisiä rakenteita (Garverick, 1997; Peter, 1997). Ne erittävät yleensä jonkin verran progesteronia (Garverick, 1997; Douthwaite ja Dobson, 2000). Follikulaarirakkulat voivat kehittyä edelleen luteaalirakkuloiksi luteinisaation kautta (Peter, 1997).

## 2.1 Etiologia ja patogeneesi

Munasarjarakkulan etiologia on huonosti tunnettu. Rakkuloiden kehittyminen on kuitenkin voitu yhdistää runsaaseen maidontuotantoon, ruokintahäiriöihin sekä vähäiseen liikuntaan etenkin talvikauden aikana (Baitlesov ym, 2007). Erään tutkimuksen mukaan eniten munasarjarakkuloita esiintyi kesällä (Lodhi ym, 1996). López-Gatius ym. (2002) totesivat poikimavuodenajan, poikimakerran ja runsaan maidontuotannon lisäävän munasarjarakkuloita. Runsaan maidontuotannon ei ole kuitenkaan kaikissa tutkimuksissa havaittu lisäävän munasarjarakkuloiden esiintymistä (Zulu ja Penny, 1998). Rakkuloiden kehittyminen on liitetty myös kohtutulehduksiin tai muihin poikimisen jälkeisiin sairauksiin (Peter, 1997). Lehmän iän on niin ikään todettu lisäävän rakkuloiden esiintymistä (Zulu ja Penny, 1998). Kahdesti poikineilla on pienempi riski rakkulanmuodotukseen kuin tätä vanhemmilla lehmillä (Gröhn ym, 1994). Fernandes ym. (2005) puolestaan havaitsivat munasarjarakkuloiden esiintymisen olevan yleisintä kuudennen poikimakerran jälkeen. Joissain tutkimuksissa on saatu viitteitä myös munasarjarakkuloiden perinnöllisyydestä (Ashmawy ym, 1990).

Munasarjarakkulan patogeneesiä on tutkittu paljon, mutta rakkulan syntyyn johtavat mekanismit ovat edelleen osittain epäselviä (Bartolome ym, 2000). Nykyisin yleisimmin hyväksyttynä teoriana pidetään hypotalamus–aivolisäke-akselin endokriinista epätasapainoa. Tällä tarkoitetaan epänormaalia LH/FSH-suhdetta tai gonadotropiinien (FSH, LH) vapautumista väärään aikaan (Kesler ym, 1980; Kesler ja Garverick, 1982; Cook ym, 1990; Vanholder ym, 2006). Pitkään munasarjarakkuloiden selitettiin johtu-

van ensisijaisesti LH-erityksen puuttumisesta, tehottomuudesta tai tapahtumisesta väärään aikaan dominoivan follikkelin kehittymisen suhteen (Day, 1991; Hamilton ym, 1995). Toisissa tutkimuksissa on kuitenkin todettu, että munasarjarakkuloista kärsivillä lehmillä on normaali LH-eritys (Dobson ym, 1977; Roberge ym, 1993). Kawate ym. (1997) puolestaan havaitsivat, että follikulaarirakkuloista kärsivillä lehmillä aivolisäke reagoi normaalisti GnRH (gonadotropin releasing hormone) -hoitoon erittämällä LH:ta. Tutkimuksia on tehty myös estrogeenin feedback-mekanismiin muuttumisesta hypotalamus–aivolisäke-akselilla ja tämän vaikutuksesta rakkulan muodostumiseen. GnRH:n ja LH:n vapautuminen ennenaikaisesti, kun yhtään ovulaatioon kykenevää follikkeliä ei ole paikalla, saattaa muuttaa hypotalamuksen reagoimattomaksi estradiolin feedback-mekanismille. Tämä voi edelleen johtaa munasarjarakkulan muodostumiseen (Gumen ym, 2002). Eräissä artikkeleissa ehdotetaan munasarjarakkuloiden patogeneesiksi FSH- ja LH-reseptoreiden vähentynyttä määrää munasarjoissa (Kawate, 1990).

## 2.2 Diagnosointi

Munasarjarakkuladiagnoosi tehdään useimmiten ensimmäisten 60 päivän aikana poikimisesta (Kesler ja Garverick, 1982). Rakkulat kehittyvät tavallisesti juuri tähän aikaan eli munasarjatoiminnan käynnistyessä poikimisen jälkeen (Hogeveen ym, 1994).

Munasarjarakkuladiagnoosiin päästään tavallisesti rektaalisesti suoritettuna munasarjojen palpaation kautta (Peter, 1997). Rakkula on mahdollista sekoittaa normaalia suurempiin tavallisiin follikkeleihin, kehittyvään keltarauhaseen (corpus hemorrhagicum) tai keltarauhaseen (corpus luteum, CL), joka on normaalia pehmeämpi. Pehmeä keltarauhanen saattaa olla onteloinen, ja juuri tällainen keltarauhanen sekoitetaan usein luteaalirakkulaan (Garverick, 1997). Onteloinen keltarauhanen ei ole patologinen rakenne (Peter, 1997).

Follikulaari- ja luteaalirakkulan erottaminen toisistaan pelkästään rektaalisesti tehdyn tutkimuksen perusteella on vaikeaa (Bartolome ym, 2005). Ultraäänitutkimus on osoittautunut kuitenkin suhteellisen luotettavaksi menetelmäksi erotusdiagnostiikassa (Farin ym, 1992). Ultraäänitutkimuksessa follikulaarirakkuloilla havaitaan ohut seinämä ( $\leq 3$ mm) ja rakkulan sisältämä neste nähdään kuvassa kaiuttomana mustana alueena. Luteaalirakkuloilla on follikulaarirakkuloita paksumpi seinämä ( $> 3$ mm), ja neste havai-

taan runsaskaikuisempana verkkomaisena alueena (Vanholder ym, 2006). Douthwaite ja Dobsonin (2002) tutkimuksen perusteella ultraäänitutkimus antoi varmemman diagnoosin follikulaarirakkuloista kuin luteaalirakkuloista.

Rakkulatyypit on mahdollista erottaa toisistaan myös niiden erittämän progesteronipitoisuuden perusteella. Progesteroni voidaan määrittää plasmasta tai maidosta. Tämäkään diagnosointimenetelmä ei ole täysin luotettava, sillä progesteronieritys saattaa vaihdella. Näin ollen raja-arvon löytäminen rakkulatyypien välille on vaikeaa. Tutkimuksissa käytetyt raja-arvot vaihtelevat paljon (Douthwaite ja Dobson, 2002; Vanholder ym, 2006).

Täysin varmaa menetelmää follikulaari- ja luteaalirakkulan erottamiseksi toisistaan ei siis ole olemassa. Varmimpaan tulokseen päästään yhdistämällä ultraäänitutkimus plasman progesteronipitoisuuden määrittämiseen (Douthwaite ja Dobson, 2002).

### 3. Hoidot ja hoitojen teho

Munasarjarakkuloiden hoidoissa on käytetty monenlaisia hormonivalmisteita ja näiden yhdistelmiä. Hoitojen tehoista on saatu ristiriitaisia tuloksia. Yleisesti munasarjarakkulan hoidossa käytetään niin sanottuja luteotroppeja hormonihoidoja, GnRH:ta tai sen agonistisia analogeja tai ihmisen istukkagonadotropiinia (human chorionic gonadotropin, hCG). Nämä hoidot vapauttavat elimistön omaa LH:ta tai niillä on suora LH-vaikutus. Näiden vaihtoehtona käytetään progesteronikuureja emätinkierukan muodossa. Prostaglandiini  $F_{2\alpha}$ :aa ( $PGF_{2\alpha}$ ) on käytetty luteaalirakkuloiden hoitamiseen, mutta tämä vaatii rakkulatyypityksen ennen hoitoa (Sprecher ym, 1990; Gillund ym, 1997; Oh KiSeok ym, 2003). Lisäksi käytössä on erilaisia yhdistelmähoitoja, kuten  $PGF_{2\alpha}$  yhdistettynä GnRH-hoitoon (Fantini Filho ym, 2003; Oh KiSeok ym, 2003; Kang HyunGu ym, 2004). Myös ovulaation synkronointi -ohjelmaa (Ovsynch-ohjelma) voidaan käyttää munasarjarakkulan hoitovaihtoehtona (Pursley ym, 1995; Bartolome ym, 2005). Näiden lisäksi on tehty tutkimuksia myös harvinaisemmista hoitovaihtoehdoista, esimerkiksi naloksonin (Palomar ym, 2008), naudan kasvuhormonin (Bartolome ym, 2003) ja munasarjarakkulan aspiraatiotekniikan (Cruz ym, 2004) soveltuvuudesta rakkulahoitoon.

Munasarjarakkuloiden on havaittu häviävän myös spontaanisti (Cook ym, 1995; Hamilton ym, 1995). Noin puolet varhain kehittyvistä rakkuloista regressoituu ilman hoitoa seitsemään viikkoon mennessä poikimisesta (Peter, 1997). Rakkula estää kuitenkin kiihakiertojen alkamisen ja pidentää näin ollen merkittävästi poikimaväliä. Tämän vuoksi rakkulan hoitaminen on kannattavampaa kuin rakkulan spontaanin häviämisen odottaminen (Vries ym, 2006).

### 3.1 GnRH

GnRH:ta ja sen agonistisia analogeja on käytetty munasarjarakkulan hoidossa 1970-luvulta lähtien (Peter, 1997; López-Gatius ja López-Bejar, 2002), koska munasarjarakkulan patogeneesiin arvellaan liittyvän vähäinen GnRH:n ja LH:n erityis (Kesler ja Garverick 1982; Bartolome ym, 2000). Tutkimuksissa on käytetty useita eri GnRH-valmisteita. Osawa ym. (1996) sekä Veronesi ym. (2003) käyttivät busereliiniä. Lisäksi tutkimuksissa on käytetty gonadoreliiniä (Hooijer ym, 1999), kystoreliiniä (Jou ym, 1999) sekä lesireliiniä (López-Gatius ja López-Bejar, 2002). Busereliinin ja fertireliinin tehoa follikulaarirakkuloihin on verrattu Osawan ym. (1996) tutkimuksessa. Eri vaikuttavilla-aineilla hoidettujen lehmien tiinehtymisprosenttien välille ei saatu tilastollisesti merkitsevää eroa.

GnRH ja sen agonistit aiheuttavat fysiologisen LH-aallon kaltaisen LH:n vapautumisen. Hoidon vaikutuksesta useimmissa tapauksissa rakkula luteinisoituu (Kesler ja Garverick, 1982). Joissain tapauksissa GnRH aiheuttaa munasarjan dominoivan follikkelin ovulaation. Itse rakkulan ovulaatiota hoidon seurauksena ei kuitenkaan ole havaittu (Kesler ym, 1981; Cook ym, 1990). Lisääntynyt LH:n erityis vähentää rakkulan estrogenieritystä, jolloin FSH pääsee vapautumaan ja uusi follikkeliaalto aloittaa kasvunsa. Rakkula luteinisoituu, ja lehmän munasarjatoiminta palaa normaaliksi rakkulan estovaihtuksen poistuttua (Peter, 2004).

Eri rakkulatyypin reagoinnista GnRH-hoitoon on olemassa ristiriitaisia käsityksiä. Yhtäältä GnRH:n on todettu tehoavan sekä follikulaari- että luteaalirakkuloihin (Veronesi ym, 2003). Toisaalta GnRH on näyttänyt tehoavan follikulaarirakkuloihin, mutta ei luteaalirakkuloihin (Ax ym, 1986; Sprecher ym, 1990; López-Gatius ja López-Bejar, 2002).



Veronesi ym. (2003) tutkivat follikulaari- ja luteaalirakkuloiden reagointia busereliinihoitoon. Rakkulaksi määriteltiin halkaisijaltaan vähintään 2,5 cm:n kokoinen follikkelimainen rakenne, jonka todettiin persistoivan vähintään kymmenen päivän ajan. Samanaikaisesti rakkulan kanssa munasarjoista ei ollut löydettävissä toimivaa keltarauhas- ta. Rakkulatyypit eroteltiin progesteronipitoisuuksien perusteella. Rakkula luokiteltiin luteaalirakkulaksi, jos plasman progesteronipitoisuus oli yli 1 ng/ml, ja follikulaari- rakkulaksi, jos progesteronipitoisuus oli tämän alle. Paraneminen määriteltiin tapahtu- neeksi, kun lehmälle tuli normaali kiima 30 päivän sisällä hoidosta eikä sillä ollut merkkejä uusiutuvista rakkuloista. Follikulaari- ja luteaalirakkulat paranivat ja lehmät tiinehtyivät yhtä hyvin. Paraneminen ei siis ollut riippuvainen rakkulatyypistä.

Ax ym. (1986), Sprecher ym. (1990) sekä Lòpez-Gatius ja Lòpez-Bejar (2002) totesivat GnRH:n tehoavan follikulaariseen rakkulatyypisiin, mutta tehon luteaalirakkulaan ole- van heikko. Ax ym. (1986) luokittelivat rakkulat maidon progesteronipitoisuuden perus- teella hoitohetkellä. Raja-arvoksi katsottiin 1 ng/ml, ja pitoisuuden ollessa tätä pienempi rakkulaa pidettiin follikulaarisena ja vastaavasti ylittävillä pitoisuuksilla luteaalisisena. Hoidon teho arvioitiin 7 ja 14 päivää hoidon jälkeen maidon progesteronipitoisuuden perusteella. Hoitohetkellä progesteronipitoisuudeltaan alhaiset lehmät olivat reagoineet hoitoon, jos progesteronipitoisuus oli kohonnut. Lehmillä, joilla oli hoitohetkellä korkea progesteronipitoisuus, ei havaittu muutoksia progesteronipitoisuuksissa. Sprecher ym. (1990) puolestaan määrittivät follikulaari- ja luteaalirakkulan raja-arvoksi maidon progesteronipitoisuuden 3,68 ng/ml. Myös tässä tutkimuksessa lehmien katsottiin vas- tanneen GnRH-hoitoon, jos maidon progesteronipitoisuudet ennen hoitoa ja hoidon jäl- keen olivat vastakkaisia. Lehmät, joilla oli korkea progesteronipitoisuus ennen hoitoa, eivät vastanneet GnRH-hoitoon eli progesteronipitoisuus säilyi korkeana hoidosta huo- limatta. Lòpez-Gatius ja Lòpez-Bejar (2002) pitivät follikkeli- ja luteaalirakkulan rajana maidon progesteronipitoisuutta 1ng/ml. Lehmistä, joilla oli todettu korkean progestero- nipitoisuuden perusteella luteaalirakkula, yksikään ei näyttänyt kiimaa eikä ovuloinut ennen hoidon päättymistä.

Joidenkin tutkimusten mukaan GnRH ei ole tehonnut munasarjarakkulaan ollenkaan. Dailey ym. (1983) arvioivat hoidon tehon 25 päivän sisällä hoidosta havaittujen kiima- oireiden perusteella. Lehmät hoidettiin GnRH:lla ja kontrolliryhmän lehmät keittosuola- liuoksella. GnRH-hoidon saaneet lehmät eivät tulleet keittosuolaliuoksella hoidettuja

lehmii nopeammin kiimaan. Myös Jou ym. (1999) eivät havainneet GnRH:n olevan hyödyllinen munasarjarakkulan hoidossa. He tarkastelivat hoidon tehoa aikaväleinä hoidosta keltarauhasen havaitsemiseen sekä rakkulan häviämiseen. Lisäksi määritettiin seerumin LH- ja FSH-pitoisuudet sekä näiden suhde ennen ja jälkeen hoidon. Lehmät hoidettiin joko kystoreliinillä tai keittosuolaliuoksella. Kaikki lehmät saivat lisäksi kloprostenoli-pistoksen 10–12 päivän kuluttua hoidosta. LH-pitoisuuden ja LH/FSH-suhteen havaittiin nousevan GnRH-hoidon jälkeen. Tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu yhteyttä gonadotropiinivasteen ja keltarauhasen ilmestymisen tai rakkulan häviämiseen välillä. GnRH-hoidolla ei ollut vaikutusta keltarauhasen ilmestymiseen eikä rakkulan häviämiseen. Tutkimus kyseenalaisti GnRH:n tehokkuuden munasarjarakkuloiden hoitona.

Perinteisen yhteen GnRH-pistokseen perustuvan hoitotavan lisäksi Eissa ja ElBelely (1996) tutkivat kahden GnRH-pistoksen hoitotapaa. Tutkimuksessa lehmät hoidettiin satunnaisesti joko injektiolla steriiliä vettä, yhdellä busereliini-injektiolla (1mg) tai kahdella busereliini-injektiolla. Toinen busereliini-injektio annettiin 7 päivää ensimmäisen injektion jälkeen. Kaksi busereliini-pistosta saaneet lehmät todettiin maidon progesteronipitoisuuden perusteella vastanneet parhaiten hoitoon.

Hoidonantoajankohdan vaikutusta hoitotulokseen tutkivat Hooijer ym. (1999). GnRH todettiin tehokkaaksi hoitovaihtoehdoksi riippumatta diagnoosin tekemisen ja hoidon antamisen ajankohdasta. Tutkimuksessa ei määritelty erikseen eri rakkulatyyppejä. Osa lehmistä hoidettiin GnRH:lla, kun poikimisesta oli kulunut alle 60 vuorokautta. Loput saivat hoidon vasta tätä myöhemmin. Hoito todettiin tehonneeksi, jos munasarjoista löydettiin keltarauhanen ja/tai halkaisijaltaan alle 2,5 cm:n kokoinen follikkeli tai rakkula oli hävinnyt. Hoito todettiin myös onnistuneeksi, jos lehmä tiinehtyi ja poiki hoidon seurauksena. Ensimmäisen ryhmän hoitovaste oli 90,0 % ja toisen 93,3 %. Tuloksissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. Myöskään aikaväli hoidosta ensimmäiseen siemennykseen tai tiinehtymisen välille ei eronnut ryhmien välillä.

Ax ym. (1986) tutkivat kokeessaan myös GnRH-annoksen vaikutusta rakkulan hoitotulokseen. Lehmät hoidettiin satunnaisesti joko 0, 50, 100 tai 250 µg:lla GnRH:ta. Osa lehmistä hoidettiin ainoastaan 100 µg:lla GnRH:ta. Aikaväli hoidosta ensimmäiseen havaittuun kiimaan lyheni annoksen suurentuessa 100 µg:aan saakka.

GnRH:n tehosta munasarjarakkulan hoidossa on vaikea tehdä selkeää yhteenvetoa. Tämä johtuu siitä, että tutkimusprotokollat vaihtelevat laajasti erityisesti diagnoosin ja hoitojen ajoituksen sekä monitoroinnin suhteen. GnRH:lla saadaan usein aiheutettua uuden follikkelin ovulaatio tai luteinisaatio sekä rakkulan luteinisaatio, mutta hoidettujen lehmien hedelmällisyys säilyy tästä huolimatta heikkona. Munasarjarakkulasta tarvitaan lisää tietoa ennen kuin voidaan kehittää tehokkaampia hoitovaihtoehtoja (Peters, 2005).

### 3.2 hCG

Myös hCG:tä on käytetty rakkulan hoidossa 1970-luvulta lähtien suuren LH-aktiiviteetin vuoksi hyvin hoitovastein (Elmore ym, 1975). Munasarjarakkula reagoi hCG-hoitoon GnRH:n tapaan luteinisoitumalla (Kesler ym, 1981). Sekä GnRH:n että hCG:n hoitovaste ja hedelmällisyys hoidon jälkeen on todettu samankaltaisiksi (Peter, 1997). GnRH:n tulo markkinoille syrjäytti kuitenkin osittain hCG:n turvallisuutensa takia. Pienen molekyylikokonsa ansiosta GnRH ei stimuloi immuunijärjestelmää, eikä näin ollen aiheuta anafylaktisen reaktion riskiä kuten hCG (Bierschwal ym, 1975).

De Rensis ym. (2008) tutkivat lehmien tiinehtymistä hoitamalla munasarjarakkuloita Ovsynch-ohjelmalla (GnRH, +7 vrk PGF<sub>2α</sub>, +2 vrk GnRH), jossa viimeisen GnRH-injektion sijasta osalla eläimistä käytettiin hCG:tä. Hoitojen tehoa verrattiin erikseen sekä kuumana että viileänä vuodenaikana. Kuumana vuodenaikana tiinehtymisessä ei ollut eroa (22 % GnRH-ryhmä, 21 % hCG-ryhmä), mutta viileässä todettiin tilastollisesti merkitsevä ero (56 % GnRH-ryhmä, 78 % hCG-ryhmä).

### 3.3 Prostaglandiini F<sub>2α</sub>:n yhdistäminen GnRH-hoitoon

Tutkimuksissa on todettu hyödylliseksi hoitaa ne lehmät, joiden progesteronipitoisuus on pieni, GnRH:lla ja PGF<sub>2α</sub>:lla ne lehmät, joiden progesteronipitoisuus on suuri. Maidon progesteronipitoisuuden perusteella joko GnRH:lla tai PGF<sub>2α</sub>:lla hoidetut lehmät ovat reagoineet paremmin hoitoon kuin pelkästään GnRH:lla hoidetut lehmät (Sprecher ym, 1990). Progesteronipitoisuuksien määrittäminen ei kuitenkaan ole aina mahdollista, ja follikulaari- ja luteaalirakkuloiden erottaminen toisistaan ainoastaan rektaalaisesti suoritettuna tutkimuksena perusteella on vaikeaa (Bartolome ym, 2005). Monissa tutkimuksis-

sa onkin todettu tehokkaaksi ratkaisuksi hoitaa lehmät rakkulatyyppejä erottelematta ensin GnRH:lla ja 9–14 päivää GnRH-pistoksen jälkeen PGF<sub>2α</sub>-injektiolla (Garverick, 1997; Peter, 1997). PGF<sub>2α</sub>:aa käytetään GnRH-pistoksen jälkeen, koska se nopeuttaa kiimaan tuloa (Kesler ym, 1978).

PGF<sub>2α</sub>:n annostelu GnRH-hoidon jälkeen on parantanut tiinehtymistä (Fantini Filho ym, 2003; Oh KiSeok ym, 2003; Kang HyunGu ym, 2004). Eräissä tutkimuksissa GnRH:n ja PGF<sub>2α</sub>:n samanaikainen annostelu ei kuitenkaan parantanut tiinehtymistä pelkkään GnRH-hoitoon verrattuna (Dinsmore ym, 1990; Gillund ym, 1997; Erdem ym, 2002).

Oh KiSeok ym. (2003) hoitivat 1188 rakkulalehmää joko ainoastaan GnRH:lla, yhtä aikaa GnRH:lla ja dinoprostilla tai yhtä aikaa GnRH:lla ja kloprostenolilla. Aikaväli hoidosta siemennykseen käyttäen pelkästään GnRH:ta oli 28,1 vuorokautta, GnRH+dinoprosti-hoidolla 15,9 vuorokautta ja GnRH+kloprostenoli-hoidolla 15,1 vuorokautta. Tiinehtyminen 100 vuorokautta hoidon jälkeen oli 61 % (GnRH-ryhmä), 68 % (GnRH/dinoprost-ryhmä) ja 73 % (GnRH/kloprostenol-ryhmä). Kang HyunGu ym. (2004) saivat GnRH+PGF<sub>2α</sub>-yhdistelmähoidolla yhtä hyvän tiinehtymisen. Tiinehtymisprosentti 100 vuorokautta hoidon antamisen jälkeen oli 65. Kontrolliryhmän lehmistä, jotka oli hoidettu ainoastaan GnRH:lla, tiinehtyi 40 %. Myös aikaväli hoidosta tiinehtymiseen oli lyhyempi kuin kontrolliryhmällä.

Dinsmore ym. (1990) ja Erdem ym. (2002) vertasivat samanaikaisesti annosteltujen GnRH:n ja PGF<sub>2α</sub>:n tehoa rakkulahoidoissa pelkän GnRH:n tehoon. Erdem ym. (2002) totesivat aikavälin hoidosta ensimmäiseen kiimaan olleen GnRH-hoidolla 16,4 vuorokautta ja yhdistelmähoidolla 11,4 vuorokautta. Dinsmore ym. (1990) saivat puolestaan samaksi aikaväliksi GnRH-hoidolla 20 vuorokautta ja yhdistelmähoidolla 29 vuorokautta. Tiinehtymisaika GnRH-hoidon saaneilla oli 40 vuorokautta, yhdistelmähoidolla 42 vuorokautta. Kummassakaan tutkimuksessa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja.

### 3.4 Prostaglandiini F<sub>2α</sub>

Munasarjarakkulan hoitona on käytetty prostaglandiini F<sub>2α</sub>:aa agonistisine analogeineen (Lòpez-Gatius ja Lòpez-Bejar, 2002). PGF<sub>2α</sub> vaatii toimiakseen aktiivista luteaalikudos-

ta, koska  $\text{PGF}_{2\alpha}$ :n teho munasarjarakkulan hoidossa perustuu luteolyysin aiheuttamiseen. (Kesler ja Garverick, 1982; Nanda ym, 1988; Archbald ym, 1991).

$\text{PGF}_{2\alpha}$ :n on todettu useissa tutkimuksissa tehoavan hyvin luteaalirakkuloihin (Sprecher ym, 1990; Gillund ym, 1997; Oh KiSeok ym, 2003), mutta tehon follikulaarirakkuloihin on todettu olevan heikko (Leslie ja Bosu, 1983). Munasarjarakkulan hoidossa  $\text{PGF}_{2\alpha}$ :n hyödyllisyys perustuu siihen, että se lyhentää aikaväliä hoidosta seuraavaan kiimaan (Kesler ym, 1978).  $\text{PGF}_{2\alpha}$ :n on todettu vaikuttavan luteaalirakkulaan nopeammin kuin GnRH:n. Yli 90 % hoidetuista lehmistä tuli kiimaan 2–5 vuorokauden sisällä annetusta hoidosta (Dobson ym, 1977).

### 3.5 Ovsynch-ohjelma

Munasarjarakkulahoidon onnistuminen riippuu paljon lehmien kiimaoireiden voimakkuudesta sekä kiimantarkkailun tehokkuudesta. Jos hoidettujen lehmien kiimaoireita ei havaita, lehmät jäävät siementämättä. Poikimavälit pidentyvät monissa lypsykarjoissa pääasiassa juuri heikon kiimantarkkailun vuoksi (Senger 1994; Sturman ym, 2000). Tästä syystä huomiota ovatkin saaneet ajoitetun siemennyksen mahdollistavat kiimansynkronointiohjelmat (López-Gatius ja López-Bejar, 2002). Yksi tällainen on Ovsynch-ohjelma, jossa lehmä hoidetaan ensin GnRH-pistoksella ja seitsemän päivää tämän jälkeen  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -pistoksella. Toinen pistos GnRH:ta annetaan kaksi päivää  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -pistoksen jälkeen. Lehmä siennetään ajoitetusti 16–20 tuntia tämän jälkeen (Pursley, 1995; Bartolome ym, 2005).

Ovsynch-ohjelman tehosta munasarjarakkulan hoidossa on tehty useita tutkimuksia, joiden tulokset vaihtelevat paljon. Ovsynch-ohjelman tehoa on verrattu muun muassa GnRH+ $\text{PGF}_{2\alpha}$ -yhdistelmähoitoon (Bartolome ym, 2000; López-Gatius ja López-Bejar, 2002). Eräissä tutkimuksissa on verrattu progesteronin tehoa Ovsynch-ohjelmaan (Crane ym, 2005) ja toisessa GnRH:ta Ovsynch-ohjelmaan, johon on lisätty progesteroni (Kim SeungJoon ym, 2004; Iwakuma ym, 2008). Lisäksi Iwakuma ym. (2008) ovat tutkineet Ovsynch- ja Heatsynch-ohjelmiin yhdistettyä progesteronihoitoa.

Bartolome ym. (2000) totesivat, että Ovsynch-ohjelmalla hoidettujen rakkulalehmien tiinehtyminen (23,6 %) ei eronnut Ovsynch-ohjelman avulla siennettyjen sykloivien

lehmien tiinehtymisestä (31,5 %) eikä seitsemän päivän välein GnRH:lla ja PGF<sub>2α</sub>:llä hoidettujen rakkulalehmien tiinehtymisestä (18,0 %). Sen sijaan López-Gatius ja López-Bejar (2002) totesivat GnRH+PGF<sub>2α</sub>-yhdistelmähoidon (GnRH+PGF<sub>2α</sub>, +14 vrk PGF<sub>2α</sub> +32h GnRH, +24h siemennys) Ovsynch-ohjelmaa tehokkaammaksi hoidoksi. GnRH-PGF<sub>2α</sub>-yhdistelmähoidolla hoidetut lehmät ovuloivat (79,7 vs. 17,2 %) sekä tiinehtyivät (28,1 vs. 3,1 %) paremmin verrattuna Ovsynch-ohjelman mukaan hoidettuihin lemmiin.

Crane ym. (2005) vertasivat progesteronin tehoa Ovsynch-ohjelmaan. Lehmät hoidettiin joko noudattaen Ovsynch-ohjelmaa tai progesteronikierukalla seitsemän vuorokauden ajan. Seitsemäntenä päivänä kierukat poistettiin ja lehmät saivat vielä PGF<sub>2α</sub>-pistoksen. Ovsynch-ohjelman mukaan hoidetuista lehmistä tiinehtyi 14,4 % ja progesteronikierukalla hoidetuista 9,5 %. Tiinehtyminen ei eronnut merkitsevästi.

Kim SeungJoon ym. (2004) sekä Iwakuma ym. (2008) totesivat progesteronikierukan yhdistämisen Ovsynch-ohjelmaan olevan hyödyllistä rakkulalehmillä. Osa lehmistä hoidettiin GnRH-pistoksella ja siemennettiin 21 päivän sisällä hoidosta. Ovsynch-ohjelman lehmille asetettiin progesteronia vapauttava emätinkierukka (CIDR) ensimmäisen GnRH-injektion ja PGF<sub>2α</sub>-injektion väliseksi ajaksi. Progesteronikierukan yhdistämistä Ovsynch-ohjelmaan perusteltiin LH-pitoisuuden pienentämisellä, joka johtaa rakkulan atresiaan. Tämä johtaa puolestaan uuden follikkeliaallon kasvuun FSH:n vaikutuksesta huolimatta mahdollisesti muiden kypsien follikkeleiden läsnäolosta. Yksittäisellä GnRH-pistoksella hoidetuista lehmistä tiinehtyi 26,9 %, Ovsynch-ohjelmalla 52,3 %. Myös Iwakuma ym. (2008) yhdistivät Ovsynch-ohjelmaan progesteronikierukan. Heidän mukaansa Ovsynch-ohjelmaan yhdistetyllä progesteronikierukkahoidolla tiinehtyi 63,9 % lehmistä.

Ovsynch-ohjelman ja sen muunnoksien lisäksi on olemassa muitakin synkronointiohjelmaa, esimerkiksi kiimansynkronointiohjelma Heatsynch. Tässä lehmät saavat ensin GnRH:ta, seitsemän vuorokauden kuluttua PGF<sub>2α</sub>:aa sekä vuorokausi PGF<sub>2α</sub>-pistoksen jälkeen estradiolia. Iwakuma ym. (2008) vertasivat Ovsynch-ohjelmaa Heatsynch-ohjelmaan. Molempia ohjelmaa tutkittiin sekä sellaisenaan että yhdistämällä niihin progesteronikierukka (CIDR). Ovsynch-ohjelmaan yhdistetyssä progesteronikierukkahoidossa tiinehtyminen oli parempi kuin tavallisessa Ovsynch-ohjelmassa (68,2 vs. 22,7 %). Samaan tulokseen tultiin Heatsynch-ohjelmalla (57,1 vs. 18,8 %).

### 3.6 Progesteroni

Progesteronin käyttö munasarjarakkulan hoidossa perustuu sen LH:n pulsoivaa eritystä hidastavaan vaikutukseen. Normaalisti kiiman aikainen estradiolin runsastuminen saa aikaan LH-aallon erittymisen aivolisäkkeestä ja dominoivan follikkelin ovulaation. Rakkulalehmillä progesteronin aiheuttama negatiivinen feedback-vaikutus hypotalamukseen ei ole riittävää, joten LH-pulsaatio on nopeampaa kuin normaalissa luteaali-vaiheessa. Tämä edistää dominoivan follikkelin pitkittynyttä kasvua. Progesteronin lisääminen esimerkiksi hormonikierukan muodossa palauttaa LH:n erityksen normaaliksi. LH:n eritystä säätelevä feedback-systeemi palautuu ennalleen, munasarjarakkula regressoituu, ja uusi follikkeliäalto lähtee kasvuun (Stock ja Fortune, 1993). Myös uudemmat tutkimukset tukevat tätä käsitystä progesteronin vaikutuksesta munasarjarakkulaan (Calder ym, 1999; Todoroki ja Kaneko, 2006).

Useissa tutkimuksissa progesteronia vapauttavat hormonikierukat on todettu hyödylliseksi munasarjarakkulan hoitomuodoksi, tosin hoitovasteissa esiintyy vaihtelua (Dolezel ym, 1998; Todoroki ym, 2001; Kim SeungJoon ym, 2004; Ndossi ym, 2004). Hoitovaste on myös määritelty eri tavoin. Toiset katsovat hoidon onnistuneeksi ovulaation tapahduttua (Dolezel ym, 1998; Calder ym, 1999; Todoroki ym, 2001; Ndossi ym, 2004), ja toiset seuraavat lisäksi keltarauhasen muodostumista (Dolezel ym, 1998; Ndossi ym, 2004). Kim SeungJoon ym. (2004) totesivat hoidon onnistuneeksi kiimaoireiden perusteella. Yhdessä tutkimuksissa seurattiin rakkulan elinikää (Hatler, 2006).

Dolezel ym. (1998) hoitivat progesteronikierukalla (PRID) 25 munasarjarakkulasta kärsivää lehmää. Ovulaatio tapahtui 64 %:lla lehmistä viiden päivän sisällä kierukan poistamisesta. Keltarauhanen havaittiin puolestaan 72 %:lla lehmistä 13 päivän sisällä hoidon päättymisestä. Kim SeungJoon ym. (2004) puolestaan hoitivat eri hedelmällisyys-häiriöistä kärsiviä lehmiä estradiolikapselin sisältävällä progesteronikierukalla. Seitsemän päivän sisällä kierukan poistosta 46,7 % follikulaarirakkuloista kärsivistä lehmistä tuli kiimaan. Lehmistä, joilla oli luteaalirakkula tai onteloinen keltarauhanen, kiimaan tuli 28,6 %. Ndossi ym. (2004) mukaan follikulaarirakkuladiagnoosin saaneista lehmistä kiimaan tuli 2–6 vuorokauden sisällä kierukan (CIDR) poistamisen jälkeen 73,3 %. Nämä lehmät myös ovuloivat dominoivan follikkelin, mikä johti edelleen keltarauhasen

muodostumiseen. Tässä kokeessa kaikki lehmät tosin saivat vielä kierukan poistamisen jälkeen  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -pistoksen.

Hoidonantoajankohdan vaikutusta hoitotulokseen ovat tutkineet Todoroki ym. (2001). Tarkoituksena oli selvittää progesteronikierukkahoidon tehokkuutta lehmillä, jotka olivat kärsineet munasarjarakkuloista ja epänormaaleista kiimakierroista jo 40 päivän ajan. Kokeessa oli 15 lehmää, joilla oli persistoiva munasarjarakkula. Näistä lehmistä yhdeksän hoidettiin progesteronikierukalla 14 päivän ajan. Loput kuusi lehmää saivat kierukan, jossa ei ollut progesteronia. Progesteronikierukahoito todettiin tehokkaaksi normalisoimaan kiimakierrot myös pitkään rakkuloista kärsineillä lehmillä.

Progesteronikierukahoitojen pituudessa esiintyy vaihtelua. Keskimäärin hoitojen pituudet näyttävät asettuvan viikon ja kahden viikon välille (Dolezel ym, 1998; Calder ym, 1999; Todoroki ym, 2001; Kim SeungJoon ym, 2004; Ndossi ym, 2004; Todoroki ja Kaneko, 2006). Suurimmassa osassa tutkimuksista kierukkaa on pidetty yli kymmenen vuorokautta (Dolezel ym, 1998; Todoroki ym, 2001; Kim SeungJoon ym, 2004; Ndossi ym, 2004; Todoroki ja Kaneko, 2006), mutta osassa vain seitsemän (Ndossi ym, 2004) tai yhdeksän vuorokautta (Calder ym, 1999). Ndossi ym. (2004) vertasivat yhden ja kahden viikon pituisen kierukkahoidon tehoa toisiinsa. 29 lehmää hoidettiin progesteronikierukalla seitsemän vuorokauden ajan, 11 hoidettiin 14 vuorokauden ajan. Kierukan poistamisen jälkeen kaikki lehmät saivat vielä pistoksen  $\text{PGF}_{2\alpha}$ :aa. Hoito todettiin tehonneeksi kiimaan tulon, ovulaation ja keltarauhasen muodostumisen perusteella. Tilastollisesti merkitsevää eroa ei löydetty yhden ja kahden viikon pituisen kierukkahoitojen välille.

Kierukkahoitojen lisäksi on tutkittu yksittäisen progesteroni-injektion tehokkuutta munasarjarakkulan hoidossa (Hatler ym, 2006). Progesteroni-injektio vaikuttaa rakkuloihin lyhentämällä niiden elinaikaa ja aiheuttamalla joissain tapauksissa uuden follikkelin ovulaation. Follikulaarirakkuladiagnoosin saaneet lehmät hoidettiin keskimäärin 6,6 päivän kuluttua diagnoosista yksittäisellä progesteroni-injektiolla. Kontrolliryhmän lehmät hoidettiin maissiöljyllä. Verinäytteitä kerättiin progesteronimäärityksiä varten joka päivä ovulaatioon tai uuden follikulaarirakkulan muodostumiseen asti. Rakkulan elinaika oli merkittävästi lyhyempi progesteronihoidon saaneilla (17,2 päivää) kuin kontrolliryhmällä (29,8 päivää).



### 3.7 Muut hoidot

Perinteisten munasarjarakkulahoitojen, GnRH:n, PGF<sub>2α</sub>:n, progesteronin sekä näiden hoitojen erilaisten yhdistelmien, lisäksi on käytetty joitakin edellisistä poikkeavia hoitoja. Tällaisia ovat esimerkiksi rakkulan hajottaminen manuaalisesti, rakkulan sisäisesti injisoitavat lääkeaineet sekä rakkulan tyhjentäminen aspiraatiotekniikalla (Cruz ym, 2004). Myös naudan kasvuhormonin (Bartolome ym, 2003) ja naloksonin (Palomar ym, 2008) käytöstä rakkulan hoidossa on tehty tutkimuksia.

Munasarjarakkulan rikkomista manuaalisesti puristamalla ei suositella, koska rakkulan hajottaminen saattaa johtaa kiinnikkeiden muodostumiseen. Suositeltavana hoitomuotona ei myöskään ole pidetty rakkulan sisäisesti injisoituja lääkeaineita (Peter, 1997). Cruz ym. (2004) tutkivat sellaisten munasarjarakkuloiden tyhjentämistä aspiraatiotekniikalla, jotka eivät olleet reagoineet tavallisimpiin hormonihoitoihin. Aspiraatiotekniikka saattaisi olla vähemmän traumaattinen menetelmä kuin rakkulan manuaalinen puristaminen. Tosin tällaista hoitomuotoa tulisi käyttää vain erikoistapauksiin, joihin tavalliset farmakologiset menetelmät eivät ole tehonneet. Viisi lehmää, joihin tavalliset hormonihoitot eivät olleet tehonneet, hoidettiin aspiraatiotekniikalla. Toimenpide suoritettiin epiduraalianestesiassa. Toinen käsi vietiin emättimeen ja toinen peräsuoleen. Munasarja palpoitiin peräsuolen kautta ja ohjattiin vasten emättimen fornixia. Rakkulan aspiraatio suoritettiin emättimen kautta neulalla. Lisäksi kaikki viisi lehmää saivat GnRH-pistoksen. Tutkimuksessa tekniikka todettiin tehokkaaksi näillä viidellä hoidon saaneella lehmällä.

Bartolome ym. (2003) tutkivat puolestaan naudan kasvuhormonin tehokkuutta annosteltuna ennen Ovsynch-ohjelmaa. Follikkelien normaalin jatkuvan kehityksen on osoitettu vaativan gonadotropiinien ja kasvuhormonin vuorovaikutusta. Kokeessa oli 254 rakkuladiagnoosin saanutta lehmää, jotka jaettiin neljään ryhmään. Osa lehmistä sai seitsemän vuorokautta ennen Ovsynch-ohjelman aloittamista sekä naudan kasvuhormonia että GnRH:ta (tiinehtyminen 18 %), osa ainoastaan GnRH:ta (15 %) tai naudan kasvuhormonia (12 %). Loput eivät saaneet mitään esilääkitystä (27 %). Hieman yllättävänäkin tuloksena oli esilääkityksenä ennen Ovsynch-ohjelmaa annetun naudan kasvuhormonin sekä GnRH:n tiinehtymistä heikentävä vaikutus.

Palomar ym. (2008) tutkivat opioidiantagonisti naloksonin vaikutusta munasarjarakkulan hoidossa. Stressin uskotaan vaikuttavan munasarjarakkulan syntyyn endogeenisen kortisolin välityksellä, jonka lisääntynyt erityis vähentää LH:n eritystä. Aivot sekä aivo-lisäke tuottavat myös muita endogeenisiä opioidipeptidejä, jotka estävät estrogeenin indusoiman GnRH:n vapautumisen hypotalamuksesta. Naloksoni opioidiantagonistina aiheuttaa lisääntynyttä LH:n eritystä. 40 munasarjarakkuladiagnoosin saanutta lehmää hoidettiin kalsiumglukonaattiin liuotetulla naloksonilla sekä busereliinilla epiduraaliti-laan. Hoito todettiin onnistuneeksi, jos lehmät tulivat kiimaan 30 päivän sisällä hoidos-ta. Tutkimuksessa rakkula regressoitui tai munasarjatoiminta palasi normaaliksi kahden viikon kuluessa hoidosta 77,5 %:lla lehmistä. Hoitoon reagoineilla lehmällä aikaväli hoidosta kiimaan oli keskimäärin 24 päivää sekä aikaväli hoidosta tiinehtymiseen 61 päivää. Naloksonihoito todettiin tutkimuksessa tehokkaaksi munasarjarakkulan hoidos-sa, koska se aiheutti ovulaation sekä keltarauhasen muodostumisen.

### 3.8 Yhteenveto

Munasarjarakkulaa hoidetaan useilla erilaisilla hormonikäsittelyillä sekä näiden yhdis-telmillä. Hoitojen tehoista munasarjarakkulaan löytyy hyvin eriäviä tutkimustuloksia. Erityisesti GnRH:n tehosta on olemassa ristiriitaisia käsityksiä. GnRH:n todetaan useis-sa tutkimuksissa tehoavan hyvin follikulaarirakkuloihin, mutta tehosta luteaalirakkuloi-hin on vaihtelevia tuloksia. Ongelmana ovat erilaiset tutkimusasetelmat ja kriteerit diagnoosin ja hoitovasteen määrittelyn osalta sekä hoitojen ajoituksen suhteen.

Vertailevia tutkimuksia on runsaasti GnRH+PGF<sub>2α</sub>-yhdistelmähoidon tehosta verrattuna GnRH:n käyttöön yksinään. Monissa tutkimuksissa yhdistelmähoito todetaan tehok-kaaksi vaihtoehdoksi, koska se lyhentää GnRH-pistoksen ja kiimaantulon välistä aikaa. On kuitenkin tehty tutkimuksia, jossa GnRH:n ja PGF<sub>2α</sub>:n yhteiskäytöllä ei ole saavutet-tu parempaa tiinehtyvyyttä verrattuna GnRH:n käyttöön yksinään. Ovulaation synk-ronointi-ohjelmaa käyttämällä kiimantarkkailu voidaan välttää, koska lehmät siemenne-tään ajoitetusti. Tiinehtyvyys näissäkin tutkimuksissa vaihtelee laajasti. Progesteroni-kierukkahoidot on havaittu tehokkaaksi munasarjarakkulan hoitovaihtoehdoksi. Proges-teronikuurin on todettu palauttavan LH:n eritystä säätelevän feedback-systeemin ennal-leen sekä aiheuttavan uuden follikkeliaallon kasvuunlähdon.

## Osa II: Tutkimusosio

### Naudan munasarjarakkulan hoidot ja tiinehtyminen hoitojen jälkeen

#### 4. Aineisto ja menetelmät

##### 4.1 Aineisto

Tutkimuksessa käytettiin ELT Juhani Taposen hedelmällisyyskontrollikäynneiltä keräämää materiaalia. Hedelmällisyyskontrollikäyntien eli kuukausitarkastusten tarkoituksena on selvittää säännöllisin väliajoin koko karjan hedelmällisyystilanne. Tarkastuksista täytetään lomake, johon kaikista tutkitusta lehmistä kirjataan tunnistetiedot, edellinen poikimakerta ja päivämäärä, viimeisin siemennyskerta ja päivämäärä, mahdollisen tiineystarkastuksen tulos, kohdun ja munasarjojen rektaalipalpaation ja/tai ultraäänitutkimuksen löydökset sekä mahdollinen hedelmällisyshäiriö diagnoosikoodeineen ja lääketyksineen.

Aineisto sisältää Eläinlääketieteellisen tiedekunnan Ambulatorisen klinikan, nykyisen Tuotantoeläinsairaalan, toimialueella sijaitsevien 15 kuukausitarkastustilan hedelmällisyyskontrollikäyntien materiaalit vuosilta 2000–2008. Lomakkeilta poimittiin kaikki hedelmällisyshäiriödiagnoosin saaneet lehmät. Tiedot tallennettiin Exceltaulukkolaskentaohjelmaan. Jokaiselle poimitulle lehmälle tehtiin tietue, johon aluksi kirjattiin eläimen tunnistetiedot (tilatiedot, korvanumero ja EU-tunnus), hoitoa edeltävä poikimakerta ja -päivämäärä, mahdollinen edellisen poikimisen jälkeinen, hoitoa edeltävä siemennyskerta ja -päivämäärä, diagnoosikoodi ja hoitopäivämäärä. Tämän lisäksi kirjattiin, millä valmisteella kyseistä lehmää oli hoidettu sekä kuinka paljon lääkeainetta oli käytetty. Jos lehmä oli hoidettu progesteronikierukalla, taulukkoon tallennettiin tieto siitä, kuinka monta päivää kierukkaa oli suositeltu pidettäväksi. Lehmien myöhempien vaiheiden (siemennykset, hoidot, poikimiset, poistot) selvittämiseksi saatiin Maatalouden laskentakeskuksesta kyseisten tilojen eläinrekisterit tutkimusajanjaksolta tilojen myöntämällä luvilla. Näistä rekisteritiedoista kerättiin kullekin poimitulle eläimelle mahdollinen poistopäivämäärä sekä poiston syy, seuraava poikimapäivämäärä ja hoitoa seuraavat siemennyspäivämäärät.

Tähän tutkimukseen valittiin tallennetuista hedelmällisyshäiriötapauksista (yhteensä 2110 kpl) kaikki munasarjarakkuladiagnoosin (koodi 023) saaneet lehmät. Näitä lehmiä aineistossa oli 273. Jotkin lehmät oli hoidettu munasarjarakkulan vuoksi useamman kerran. Riippuen tarkasteltavasta parametristä osa tapauksista jouduttiin poistamaan puuttuvien tietojen vuoksi.

#### 4.2 Tarkasteltavat hedelmällisyysparametrit ja laskenta

Aineistosta laskettiin munasarjarakkulahoidon saaneiden lehmien keskimääräinen hoitoajankohta poikimisesta hoito- ja poikimapäivien erotuksena sekä poikimakerta. Poikimakertojen osalta tarkasteltiin erikseen tapausten jakautumista poikimakerroittain.

Lehmien kiimaan tuloa hoidon jälkeen tutkittiin laskemalla jokaiselle lehmälle hoidosta ensimmäiseen siemennykseen kulunut aika siemennyspäivämäärän ja hoitopäivämäärän erotuksena. Niiltä lehmiltä, jotka oli hoidettu toistamiseen rakkulan vuoksi, huomioitiin vain jälkimmäinen hoitopäivä. Lehmien hoidon jälkeistä tiinehtymistä tutkittiin laskemalla tiinehtyneiden osuus kaikista hoidetuista sekä aika hoidosta tiinehtymiseen. Tiinehtyneiksi katsottiin ne lehmät, joilta löytyi tietoa hoitoa seuraavasta poikimisesta. Tiinehtymisprosentti laskettiin prosenttiosuutena kaikista rakkulahoidetuista lehmistä lukuun ottamatta niitä lehmiä, joiden seuraava poikimapäivämäärä ei ollut löydettävissä. Näiltä lehmiltä ei löytynyt tietoa myöskään poistosta. Tiinehtymisaika määritettiin kaikilta lehmiltä viimeistä poikimista edeltävän viimeisen siemennyksen ja hoitopäivämäärän erotuksena. Niiden lehmien osalta, jotka eivät olleet tiinehtyneet hoidon seurauksena, laskettiin prosenttiosuus hedelmättömyyden vuoksi karjasta poistetuille.

Hoidonantoajankohdan vaikutusta hoidon jälkeisen siemennyksen ajankohtaan, tiinehtymisajankohtaan sekä tiinehtymisprosenttiin tarkasteltiin jakamalla eläimet kolmeen ryhmään. Ryhmään 1 kuuluivat lehmät, joille hoito oli annettu 60 vuorokauden sisällä poikimisesta, ryhmään 2 kuuluivat lehmät, jotka oli hoidettu 61–150 ja ryhmään 3 yli 150 vuorokautta poikimisesta hoidetut lehmät.

Poikimakerran vaikutusta hoidon jälkeisen siemennyksen ajankohtaan, tiinehtymisajankohtaan sekä tiinehtymisprosenttiin tarkasteltiin poikimakerroittain, mutta yli viisi kertaa poikineet lehmät käsiteltiin yhtenä ryhmänä tapausten vähälukuisuuden takia.

Lopuksi tarkasteltiin eri hormonihoitojen, GnRH:n ja progesteronikierukan, vaikutusta hoidon jälkeisen siemennyksen ajankohtaan, tiinehtymisajankohtaan sekä tiinehtymisprosenttiin.

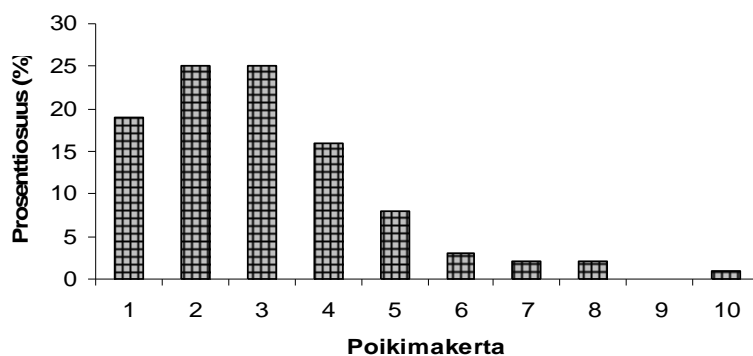
## 5. Tulokset

### 5.1 Hoitoajankohta

Hoitoajankohta voitiin laskea 263 lehmän tiedoista; 10 lehmältä puuttui hoitoa edeltävä poikimatieto, ja ne poistettiin. Aineiston lehmät olivat saaneet munasarjarakkuladiagnosin sekä hoidon keskimäärin  $76 \pm 57$  vrk poikimisesta.

### 5.2 Rakkulahoidettujen poikimakerta

17 lehmää poistettiin poikimakerta-aineistosta epäselvyyksien takia. Näin ollen rakkulahoidettujen poikimakerrat laskettiin 256 lehmän tiedoista. Kuvassa 1 on esitetty aineiston eläinten jakautuminen poikimakerroittain. Keskimäärin eläimet olivat poikineet 2,4 kertaa.



Kuva 1. Rakkulahoidettujen lehmien jakautuminen poikimakerroittain.

### 5.3 Siementäminen hoidon jälkeen

Kaikista rakkulahoidon saaneista lehmistä (273 kpl) jouduttiin poistamaan 56 lehmää puutteellisten siemennys- tai hoitopäivämäärätietojen vuoksi. Aika ensimmäiseen siemennykseen saatiin siis 217 lehmältä. Siementäminen tapahtui keskimäärin  $30\pm 20$  vuorokautta hoidosta. Hoitoajankohdan ja poikimakerran vaikutus siihen, kuinka nopeasti lehmät päästiin siementämään hoidon jälkeen, on esitetty taulukoissa 1 ja 2.

### 5.4 Tiinehtyminen

#### 5.4.1 Tiinehtymisprosentti ja karjasta poistetut

Munasarjarakkulahoidon saaneiden lehmien tiinehtymisprosentti laskettiin 213 hoidetun lehmän perusteella, sillä 60 lehmän tiedot olivat puutteellisia seuraavan poikimävämäärän osalta. Näiltä lehmiltä ei löytynyt Maatalouden laskentakeskuksen rekisteristä tietoja hoitoa seuraavasta poikimapäivämäärästä eikä kyseisiltä lehmiltä löytynyt tietoja myöskään poistopäivämäärästä. Osa hoidon saaneista lehmistä oli saanut hoitonsa niin vastikään, ettei seuraavaa poikimapäivämäärää ollut vielä tiedossa.

Taulukko 1. Rakkulahoidettujen lehmien hoitoajankohdan (vrk edellisestä poikimisesta) vaikutus siihen, milloin lehmät tulivat kiimaan ja siemennettiin hoidon jälkeen.

Hoitoajankohta, vrk	n	Aika hoidosta 1. siemennykseen, vrk
≤60	124	38±24
61-150	60	22±16
>150	24	14±4

Taulukko 2. Rakkulahoidettujen lehmien poikimakerran vaikutus siihen, milloin lehmät tulivat kiimaan ja siemennettiin hoidon jälkeen.

Poikimakerta	n	Aika hoidosta 1.siemennykseen, vrk
1	39	25±21
2	50	31±22
3	54	37±28
4	33	30±19
5	15	21±10
6-10	12	33±23

Tiinehtyminen munasarjarakkulan vuoksi hoidetuilla lehmillä oli 78 prosenttia (166/213). Hoidon saaneista lehmistä 47 ei tiinehtynyt, ja näiltä lehmiltä löytyi tieto poistosta sekä poistosyystä. Karjasta poistetuista lehmistä 21 prosenttia (10/47) oli poistettu huonon hedelmällisyyden takia. Hoitoajankohdan ja poikimakerran vaikutus lehmien tiinehtymisprosenttiin on esitetty taulukoissa 3 ja 4. Huomiotta jätettiin lehmät, joilla oli puutteellisia tietoja seuraavan poikimapäivämäärän kohdalla.

#### 5.4.2 Tiinehtymisaika

Tutkimukseen poimittujen lehmien tiinehtyvyyttä arvioitiin myös laskemalla aikaväli hoitopäivästä viimeiseen siemennyspäivään ennen seuraavaa poikimista. Tuloksissa ei otettu huomioon lehmiä, jotka eivät olleet poikineet hoidon jälkeen tai joiden siemennystiedot olivat puutteellisia. Tästä syystä 273 rakkulahoidetusta lehmästä hylättiin 112 lehmän tiedot. Lehmät (161 kpl) tiinehtyivät keskimäärin 65±60 vrk hoidosta. Hoitoajankohdan ja poikimakerran vaikutus lehmien tiinehtymisajankohtaan on esitetty taulukoissa 3 ja 4.

Taulukko 3. Rakkulahoidettujen lehmien hoitoajankohdan (vrk edellisestä poikimisesta) vaikutus tiinehtymiseen (hoidon jälkeen poikineiden osuus kaikista hoidetuista) ja tiinehtymisaikaan (aika hoidosta poikimista edeltävään viimeiseen siemennykseen).

Hoitoajankohta, vrk	Tiinehtyminen		Tiinehtymisaika, vrk	
	%	poikineet / n	n	vrk
≤60	82	101/123	97	72±66
61-150	72	42/58	42	55±48
>150	67	16/24	15	62±63

Taulukko 4. Rakkulahoidettujen lehmien poikimakerran vaikutus tiinehtymiseen (hoidon jälkeen poikineiden osuus kaikista hoidetuista) ja tiinehtymisaikaan (aika hoidosta poikimista edeltävään viimeiseen siemennykseen).

Poikimakerta	Tiinehtyminen		Tiinehtymisaika, vrk	
	%	poikineet / n	n	vrk
1	92	35/38	35	56±49
2	80	43/54	41	64±67
3	81	42/52	41	71±43
4	59	17/29	16	85±106
5	80	12/15	11	56±67
6-10	58	7/12	7	66±21

### 5.5 Hormonihoitojen vaikutus

Aineiston lehmistä 83 prosenttia (217/263) oli hoidettu GnRH:lla. Suurin osa, 207 lehmää, GnRH-hoidon saaneista oli hoidettu Receptal-valmisteella. Fertagyl-valmisteella hoidettuja lehmiä oli 6 ja Dalmarelin-valmisteella hoidettuja 4. Progesteronikierukkahoidon saaneita oli 14 prosenttia (38/263). Näistä 29 lehmään oli asetettu CIDR- ja yhdeksään PRID-hormonikierukka. Lehmistä 3 prosenttia (8/263) oli hoidettu hCG:llä. Lisäksi aineistossa oli 10 lehmää, jotka oli hoidettu erilaisilla yhdistelmähoidoilla. Näitä ei otettu laskelmissa huomioon.

Eri hoitojen vaikutusta lehmien tiinehtyvyyteen tarkasteltiin GnRH- ja progesteronikierukkahoidon saaneiden osalta. Tiinehtymisprosentti GnRH-hoidon saaneilla oli 84 % (137/164) ja hormonikierukalla hoidetuilla 55 % (18/33). Kierukkahoidon saaneet lehmät tiinehtyivät kuitenkin keskimäärin nopeammin kuin GnRH-hoidon saaneet lehmät. Aika hoidosta viimeiseen poikimista edeltävään siemennykseen oli kierukkaryhmällä 60±50 vuorokautta ja GnRH-hoidon saaneella ryhmällä 67±63 vuorokautta.

Hoitojen tehoa tarkasteltiin myös aikavälinä hoidosta ensimmäiseen siemennykseen. Kierukkahoidolla lehmät päästiin siementämään yli puolet nopeammin kuin GnRH-hoidolla. Lehmät siennettiin ensimmäisen kerran kierukkahoidon saaneessa ryhmässä keskimäärin 12±2 vrk hoidosta. GnRH-hoidetut lehmät päästiin siementämään keskimäärin 35±23 vrk hoidosta.



## 6. Pohdinta

Työn tarkoituksena oli selvittää munasarjarakkulahoidon saaneiden lehmien tiinehtymistä. Erityistä huomiota kiinnitettiin tiinehtymisaikaan sekä siihen, kuinka nopeasti lehmiä päästiin siementämään hoidon jälkeen. Tutkimuskohteena oli myös hoidonantoajankohdan, poikimakerran ja eri rakkulahoitojen vaikutus lehmien tiinehtyvyyteen.

Rakkulahoidon jälkeen lehmät siennettiin keskimäärin 30 vuorokauden kuluttua hoidosta. Tulos näyttää olevan hyvin samankaltainen kuin esimerkiksi Oh KiSeok ym. (2003) tutkimuksessa. He saivat GnRH:lla hoidetuilla lehmillä aikaväliksi hoidosta siennennykseen 28 vuorokautta. Myös meidän tutkimuksessamme suurin osa lehmistä oli saanut GnRH-hoidon.

Tiinehtymistä arvioitiin sekä tiinehtymisprosentin että tiinehtymisajan avulla. Munasarjarakkulan vuoksi hoidetuista lehmistä tiinehtyi 78 prosenttia. Eri tutkimuksissa hoidon tehoa on tarkasteltu monella tavalla. Hoito on katsottu onnistuneeksi esimerkiksi ovulaation tapahtuttua tai lehmän tiinehdyttyä. Tämän vuoksi tutkimusten vertaaminen keskenään on vaikeaa. Osassa tutkimuksista on kuitenkin saatu huonompia tiinehtymisprosentteja kuin tässä tutkimuksessa, vaikka tiinehtymisprosentti on laskettu tiineystarkastuksen perusteella eikä odotettu poikimistietoa (Osawa ym, 1996; Oh Kiseok ym, 2003; Kang HyunGu ym, 2004). Kun tiinehtymisprosentti lasketaan vasta poikimisen tapahtuttua, myös mahdolliset alkiokuolemat ja abortit tulevat huomioiduksi tuloksessa. Tiinehtymisajankohdasta eli siitä, kuinka nopeasti lehmät keskimäärin tiinehtyvät hoidon jälkeen, on olemassa melko vähän tutkimustuloksia. Tämän tutkimuksen perusteella munasarjarakkulahoidon saaneet lehmät tiinehtyivät keskimäärin 65 vuorokauden kuluttua annetuista hoidoista.

Rakkulan diagnosointi- ja hoitoajankohta näyttivät vaikuttavan jonkin verran tiinehtymiseen. Lehmät, jotka hoidettiin 60 päivän sisällä edellisestä poikimisesta, tiinehtyivät parhaiten. Tiinehtyminen heikkeni, mitä myöhemmin hoito annettiin. Erot eivät kuitenkaan olleet suuria. Hooijer ym. (1999) eivät saaneet tilastollisesti merkitsevää eroa GnRH:lla 60 päivän sisällä poikimisesta ja yli 60 päivää poikimisen jälkeen hoidettujen lehmien tiinehtymisten välille.

Tutkimuksen lehmistä, jotka eivät tiinehtyneet, vain 21 prosenttia oli poistettu huonon hedelmällisyyden vuoksi. Tähän saattaa olla syynä poistojen koodaussysteemi, jonka mukaan omistajan on valittava vain yksi syy lehmän poistolle. Usein lehmällä on tiinehtymättömyyden lisäksi myös muita vaivoja, joten koodilistasta valittu poistosyy riippuu omistajan tekemästä valinnasta.

Niin tässä kuin yleensäkin munasarjarakkuloiden hoitoja selvittävässä tutkimuksissa heikkoutena on kontrolliryhmän puuttuminen. Jos tuloksia pystyttäisiin vertaamaan esimerkiksi hoitamatta jätettyihin rakkulalehmiin, saataisiin luotettavampia tuloksia. Rakkulatauti on kuitenkin tunnetusti merkittäväällä osalla häiriön saaneista lehmistä pysyvään hedelmättömyyteen johtava tauti, jolloin hoitamatta jätetyn kontrolliryhmän luominen on erittäin vaikeaa. Tarkasteltavien ryhmien koot säilyivät kuitenkin useimmiten kohtuullisina, vaikka monesti jouduttiin kymmeniä lemiä jättämään laskelmien ulkopuolelle vajavaisten tietojen vuoksi. Suurempi otoskoko olisi ollut hyödyllinen progesteronikierukkahoidon saaneiden lehmien osalta hoitovaihtoehtojen tehoa verrattaessa.

Suurin osa tutkimuksen lehmistä oli hoidettu GnRH:lla. Progesteronikierukalla hoidettujen lehmien osuus oli 14 prosenttia. Tiinehtymisprosentti progesteronikierukalla hoidetuilla lehmillä oli huomattavasti pienempi kuin GnRH-hoidon saaneilla (55 vs. 84 %). Todennäköisesti tämä johtuu siitä, että lehmien ensisijaishoitona on käytetty GnRH:ta. Kierukkahoito on mahdollisesti valittu vasta sitten, kun poikimisesta on jo kulunut pitkä aika. Tulosten perusteella tiinehtymisprosentti laski hoitoajankohdan siirtyessä. Lisäksi vanhemmilla eläimillä saattaa olla jo muitakin sairauksia, jotka heikentävät hedelmällisyyttä. Lehmät kuitenkin tiinehtyivät nopeammin progesteronikierukkahoidolla (60 vrk) kuin GnRH-hoidolla (67 vrk). Siementämään kierukkahoidolla päästiin noin kolme kertaa nopeammin (12 vrk) kuin GnRH-hoidolla (35 vrk). Tähän on syynä se, että kierukkahoidolla lehmät tavallisestikin tulevat kiimaan GnRH-hoitoa nopeammin.

Tämän tutkimuksen perusteella GnRH:lla saavutetaan progesteronikierukkahoitoa parempi tiinehtymisprosentti, mutta kierukkahoitoa käyttämällä lehmät tiinehtyvät nopeammin. Tutkimuksen tuloksia voidaan käyttää valittaessa soveltuvinta rakkulahoitoa kussakin tapauksessa ja annettaessa hoitojen jatko-ohjeistusta.

## Kiitokset

Haluan kiittää ohjaajaani ELT Juhani Taposta asiantuntevasta ja motivoivasta ohjauksesta. Lisäksi kiitokset kuuluvat teknisestä avusta serkulleni Ari Miettiselle. Kannustuksesta ja positiivisen mielialan ylläpitämisestä kiitän vanhempiani Anna-Maija ja Veikko Lehtosta sekä puolisoani Ari Pekka Pasasta.

## Kirjallisuus

Archbald LF, Norman SN, Tran T, Lyle S, Thomas PGA. 1991. Does GnRH work as well as GnRH and PGF<sub>2</sub> alpha in the treatment of ovarian follicular cysts? *Vet Med* 86(10):1037-40.

Ashmawy AA, Vogt DW, Youngquist RS, Garverick HA. 1990. Heritability of liability to cystic ovary development in Holstein cattle. *J Hered* 81(2):165-7.

Ax RL, Bellin ME, Schneider DK, HaaseHardie JA, Mares SE. 1986. Reproductive performance of dairy cows with cystic ovaries following administration of Procystin. *J Dairy Sci* 69(2):542-5.

Baitlesov, EU, Nasibov, NF, Khil'kevich, SN, Titova, VA, Tyapugin EA. 2007. Aetiology and pathogenesis of ovarian cysts in cows and possibility of normalizing ovarian function. *Russian Agricultural Sciences* 33(4):260-263.

Bartolome JA, Archbald LF, Morresey P, Hernandez J, Tran T, Kelbert D, Long K, Risco CA, Thatcher WW. 2000. Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. *Theriogenology* 53(3):815-25.

Bartolome JA, Thatcher WW, Melendez P, Risco CA, Archbald LF. 2005. Strategies for the diagnosis and treatment of ovarian cysts in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 227(9):1409-14.

Bartolome J, Hernandez J, Sheerin P, Luznar S, Kelbert D, Thatcher WW, Archbald LF. 2003. Effect of pretreatment with bovine somatotropin (bST) and/or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on conception rate of dairy cows with ovarian cysts subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 59(9):1991-7.

Bierschwal CJ, Garverick HA, Martin CE, Youngquist RS, Cantley TC, Brown MD. 1975. Clinical response of dairy cows with ovarian cysts to GnRH. *J Anim Sci* 41(6):1660-5.

- Calder MD, Salfen BE, Bao B, Youngquist RS, Garverick HA. 1999. Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth. *J Anim Sci* 77(11):3037-42.
- Cook DL, Smith CA, Parfet JR, Youngquist RS, Brown EM, Garverick HA. 1990. Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J Reprod Fertil* 90(1):37-46.
- Crane MB, Melendez P, Risco CA, Vries Ad, Archbald LF. 2005. Comparison of the Ovsynch protocol and exogenous progesterone with insemination at an induced estrus as therapeutic strategies for ovarian cysts in lactating dairy cows. Proceedings of the Thirty-Eighth Annual Convention, American Association of Bovine Practitioners, Salt Lake City, 2005.
- Cruz CEF, Corbellini LG, Driemeier D. 2004. Simple procedure for emptying long-term ovarian cysts in cattle. *Vet Rec* 155(19):599-601.
- Dailey RA, Inskip EK, Washburn SPe. 1983. Use of prostaglandin F2 alpha or gonadotropin-releasing hormone in treating problem breeding cows. *J Dairy Sci* 66:1721-7.
- Day N. 1991. The diagnosis, differentiation, and pathogenesis of cystic ovarian disease. *Vet Med* 86(7):753-60.
- De Rensis F, Bottarelli E, Battioni F, Capelli T, Techakumphu M, Garcia-Ispuerto I, Lopez-Gatius F. 2008. Reproductive performance of dairy cows with ovarian cysts after synchronizing ovulation using GnRH or hCG during the warm or cool period of the year. *Theriogenology* 69(4):481-4.
- Dinsmore RP, White ME, English PB. 1990. An evaluation of simultaneous GnRH and cloprostenol treatment of dairy cattle with cystic ovaries. *Canadian Veterinary Journal* 31(4):280-4.
- Dobson H, Rankin JEF, Ward WR. 1977. Bovine cystic ovarian disease: plasma hormone concentrations and treatment. *Vet Rec* 101(23):459-61.
- Dolezel R, Cech S, Zajic J. 1998. Follicular development during the progesterone therapy of ovarian acyclicity and ovarian cysts in cows. *Vet Med* 43(5):145-51.

Douthwaite R, Dobson H. 2000. Comparison of different methods of diagnosis of cystic ovarian disease in cattle and an assessment of its treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *Vet Rec* 147(13):355-9.

Eissa HM, ElBeley MS. 1996. Gonadotrophin releasing hormone treatment of Holstein cows with follicular cysts monitored by skim milk progesterone determination. *Vet Med* 41(1):1-5.

Elmore RG, Bierschwal CJ, Youngquist RS, Cantley TC, Kesler DJ, Garverick HA. 1975. Clinical responses of dairy cows with ovarian cysts after treatment with 10,000 I.U. HCG or 100 mcg GnRH. *Veterinary Medicine & Small Animal Clinician* 70(11):1346-9.

Erdem H, Tekeli T, Ucar M, Yenice M. 2002. The effect of GnRH and simultaneous GnRH and PGF2 alpha treatment of dairy cows with ovarian cysts. *Veteriner Bilimleri Dergisi* 18(3/4):57-61.

Fantini Filho JC, Fronczak MA, Kozicki LE, Souza FP, Segui MS, Grebogi AM. 2003. Ovarian cysts in the puerperium dairy cows with high milk production. *Revista Brasileira de Reproducao Animal* 27(3):561-3.

Farin PW, Youngquist RS, Parfet JR, Garverick HA. 1992. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 200(8):1085-9.

Fernandes CAC, Figueiredo ACS, Oba E, Viana JHM. 2005. Factors predisposing for ovarian cysts in Holstein cows. *Ars Vet* 21(2):287-95.

Garverick HA. 1997. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci* 80(5):995-1004.

Gillund P, Ropstad E, Karlberg K. 1997. Treatment of cystic ovaries in cows. A field study. *Norsk Veterinaertidsskrift* 109(3):155-9.

Gröhn YT, Hertl JA, Harman JL. 1994. Effect of early lactation milk yield on reproductive disorders in dairy cows. *Am J Vet Res* 55(11):1521-8.

- Gumen A, Sartori R, Costa FMJ, Wiltbank MC. 2002. A GnRH/LH surge without subsequent progesterone exposure can induce development of follicular cysts. *J Dairy Sci* 85(1):43-50.
- Hamilton SA, Garverick HA, Keisler DH, Xu ZZ, Loos K, Youngquist RS, Salfen BE. 1995. Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol Reprod* 53(4):890-8.
- Hatler TB, Hayes SH, Anderson LH, Silvia WJ. 2006. Effect of a single injection of progesterone on ovarian follicular cysts in lactating dairy cows. *Vet J* 172(2):329-33.
- Hogeveen H, Schukken YH, Laporte HM, Noordhuizen JPTM. 1994. Cystic ovarian disease in Dutch dairy cattle, II. A simulation model for predicting the herd-level consequences under varying management factors. *Livest Prod Sci* 38(3):199-206.
- Hooijer GA, Frankena K, Valks MMH, Schuring M. 1999. Treatment of cystic ovarian disease in dairy cows with gonadotrophin-releasing hormone: a field study. *Vet Q* 21(1):33-7.
- Iwakuma A, Suzuki Y, Haneishi T, Kajisa M, Kamimura S. 2008a. Efficacy of intravaginal progesterone administration combined with prostaglandin f(2alpha) for cystic ovarian disease in Japanese Black cows. *J Vet Med Sci* 70(10):1077-83.
- Iwakuma A, Suzuki Y, Haneishi T, Kajisa M, Kamimura S. 2008b. Efficacy of intravaginal progesterone administration combined with prostaglandin f(2alpha) for cystic ovarian disease in Japanese Black cows. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science* 70(10):1077-83.
- Jou P, Buckrell BC, Liptrap RM, Summerlee AJS, Johnson WH. 1999. Evaluation of the effect of GnRH on follicular ovarian cysts in dairy cows using trans-rectal ultrasonography. *Theriogenology* 52(5):923-37.
- Kang HyunGu, Kim IllHwa, Son C. 2004. Response of ovaries and cysts to treatment with GnRH or combination of GnRH and PGF<sub>2</sub> alpha in dairy cows with follicular cysts. *Journal of Veterinary Clinics* 21(4):384-94.

- Kawate N, Inaba T, Mori J. 1990. A quantitative comparison in the bovine of steroids and gonadotropin receptors in normally developing follicles and in follicular and luteinized cysts. *Anim Reprod Sci* 23(4):273-81.
- Kesler DJ, Garverick HA. 1982. Ovarian cysts in dairy cattle: a review. *J Anim Sci* 55(5):1147-59.
- Kesler DJ, Garverick HA, Caudle AB, Bierschwal CJ, Elmore RG, Youngquist RS. 1978. Clinical and endocrine responses of dairy cows with ovarian cysts to GnRH and PGH2 alpha. *J Anim Sci* 46(3):719-25.
- Kesler DJ, Garverick HA, Caudle AB, Elmore RG, Youngquist RS, Bierschwal CJ. 1980. Reproductive hormone and ovarian changes in cows with ovarian cysts. *J Dairy Sci* 63(1):166-70.
- Kesler DJ, Elmore RG, Brown EM, Garverick HA. 1981. Gonadotropin releasing hormone treatment of dairy cows with ovarian cysts. I. Gross ovarian morphology and endocrinology. *Theriogenology* 16(2):207-17.
- Kim SeungJoon, Kengaku K, Tanaka T, Kamomae H. 2004. The therapeutic effects of a progesterone-releasing intravaginal device (PRID) with attached estradiol capsule on ovarian quiescence and cystic ovarian disease in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Development* 50(3):341-8.
- Leslie KE, Bosu WTK. 1983. Plasma progesterone concentrations in dairy cows with cystic ovaries and clinical responses following treatment with fenprostalene. *Canadian Veterinary Journal* 24(11):352-6.
- Lodhi LA, Qureshi ZI, Ahmad I, Nawaz A. 1996. Effect of parity and season on the incidence of cystic ovarian degeneration in cattle. *Pakistan Veterinary Journal* 16(1):7-10.
- Lòpez-Gatiús F, Lòpez-Bejar M. 2002. Reproductive performance of dairy cows with ovarian cysts after different GnRH and cloprostenol treatments. *Theriogenology* 58(7):1337-48.



Nanda AS, Ward WR, Williams PCW, Dobson H. 1988. Retrospective analysis of the efficacy of different hormone treatments of cystic ovarian disease in cattle. *Vet Rec* 122(7):155-8.

Ndossi D, Kamimura S, Ando T, Amrozi, Iwakuma A, Hamana K, Matsuzaki K, Matsushita T, Nojiri Y, Kaizo S. 2004. Efficacy of CIDR treatment against ovarian follicular cysts in cows. *Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University* 3945-56.

Oh KiSeok, Park SangGuk, Kim BangSil, Ko JinSung, Shin JongBong, Baek JongHwan, Hong KiGang, Moon KwangSik, Lim WonHo, Moon JinSan, Park InChul, Kim YoungHong, Son C. 2003. Reproductive monitoring and estrus induction using ultrasonography and hormone assay in dairy cows. II. Differential diagnosis and treatment of coexist of cysts and corpus luteum. *Journal of Veterinary Clinics* 20(3):376-83.

Osawa T, Nakao T, Moriyoshi M, Kawata K, Kimura M, Kaneko K, Takagi H. 1996. Response of serum LH and milk progesterone to two GnRH agonists fertirelin and buserelin in cows with ovarian follicular cysts. *Cattle Practice* 4(1):27-8.

Palomar MM, Acosta JC, Salvetti NR, Barberis F, Beldomenico PM, Garnero O, Ortega HH. 2008. Treatment of cystic ovarian disease with Naloxone in high production dairy cows. *J Vet Pharmacol Ther* 31(2):184-6.

Peter, A.T. Infertility due to abnormalities of the ovaries. Teoksessa: Youngquist, R.S. (ed). *Current therapy in large animal theriogenology*. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1997. S. 349-354

Peter AT. 2004. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 39(1):1-7.

Peters AR. 2005. Veterinary clinical application of GnRH--questions of efficacy. *Anim Reprod Sci* 88(1-2):155-67.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub><sub>alpha</sub> and GnRH. *Theriogenology* 44(7):915-23.

Roberge S, Brown JL, Reeves JJ. 1993. Elevated inhibin concentration in the follicular fluid of dairy cows with chronic cystic ovarian disease. *Theriogenology* 40(4):809-18.

Senger PL. 1994. The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *J Dairy Sci* 77(9):2745-53.

Sprecher DJ, Strelow LW, Nebel RL. 1990a. The response of cows with cystic ovarian degeneration to luteotropic or luteolytic therapy as assigned by latex agglutination milk progesterone assay. *Theriogenology* 34(6):1149-58.

Sprecher DJ, Strelow LW, Nebel RL. 1990b. The response of cows with cystic ovarian degeneration to luteotropic or luteolytic therapy as assigned by latex agglutination milk progesterone assay. *Theriogenology* 34(6):1149-58.

Stock AE, Fortune JE. 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 132(3):1108-14.

Sturman H, Oltenacu EAB, Foote RH. 2000. Importance of inseminating only cows in estrus. *Theriogenology* 53(8):1657-67.

Todoroki J, Yamakuchi H, Mizoshita K, Kubota N, Tabara N, Noguchi J, Kikuchi K, Watanabe G, Taya K, Kaneko H. 2001. Restoring ovulation in beef donor cows with ovarian cysts by progesterone-releasing intravaginal silastic devices. *Theriogenology* 55(9):1919-32.

Todoroki J, Kaneko H. 2006. Formation of follicular cysts in cattle and therapeutic effects of controlled internal drug release. *Journal of Reproduction and Development* 52(1):1-11.

Vanholder T, Opsomer G, de Kruif A. 2006. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev* 46(2):105-19.

Veronesi MC, Battocchio M, Cairoli F, Comin A, Isola M. 2003. Recovery rate and recovery time in cows with luteal and follicular ovarian cysts after treatment with buserelin. *Vet Res Commun* 27 Suppl 1631-3.

Vries Ad, Crane MB, Bartolome JA, Melendez P, Risco CA, Archbald LF. 2006. Economic comparison of timed artificial insemination and exogenous progesterone as treatments for ovarian cysts. *J Dairy Sci* 89(8):3028-37.

Whitmore HL, Tyler WJ, Casida LE. 1974. Incidence of cystic ovaries in Holstein-Friesian cows. *J Am Vet Med Assoc* 165(8):693-4.

Wiltbank MC, Gumen A, Sartori R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57(1):21-52.

Zulu VC, Penny C. 1998. Risk factor of cystic ovarian disease in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Development* 44(2):191-5.