

## Vežba br. 11 | Određivanje faze polnog ciklusa kuje

Polni (estralni) ciklus domaćih životinja predstavlja razdoblje između dva estrusa (polna žara) u toku kojih ženka pokazuje spremnost za parenje. Polni ciklus je praćen nizom morfoloških, histoloških i fizioloških promena na ženskim polnim organima (jajnici, jajovodi, materica i cerviks, vagina i vulva) koji su uslovljeni efektima polnih hormona (GnRH, FSH, LH, estrogeni, progesteron) i dešavaju se ciklično u pravilnim vremenskim razmacima.

Navedena dešavanja na polnim organima u sklopu polnog ciklusa javljaju se tek ulaskom ženki domaćih životinja u pubertet. Pubertet obuhvata niz morfoloških i fizioloških dešavanja kojima ženka postaje reproduktivno (polno) zrela za gametogenezu i sintezu polnih hormona. Vreme ulaska u pubertet zavisi od vrste, rase, načina držanja, ishrane, godišnjeg doba, blizine mužjaka, itd. Iz navedenih razloga u daljem tekstu će biti naveden širi starosni opseg u okviru koga ženke pojedinih vrsta, u zavisnosti od svih navedenih faktora, mogu ući u pubertet.

**Tabela 1.** Starosna dob i ulazak u pubertet ženki različitih vrsta domaćih životinja.

Vrsta	Omica	Junica	Ovca	Koza	Nazimica	Kuja	Mačka
Starost (meseci)	12 – 24	7 – 18	6 – 15	4 – 8	6 – 8	6 – 20	7 – 12

Polni ciklus domaćih životinja sastoji se od četiri faze: **proestrus**, **estrus**, **metestrus**, **diestrus**. S obzirom da su nabrojane faze polnog ciklusa predstavljene prisustvom dominantnog hormona u cirkulaciji, podela može biti izvršena i na: **folikularnu** (estrogensku, proliferativnu) i **lutealnu** (progesteronsku, sekrecionu) fazu.

Polni ciklus se javlja više puta tokom godine kod krave, krmače i mačke bez obzira na godišnje doba (sezonu), zbog čega se ove vrste označavaju kao *nesezonski poliestrične*. Za razliku od njih, kobile, ovce i koze su *sezonski poliestrične*, što znači da se i kod njih javlja veći broj ciklusa ali tokom određenog perioda godine. Naime, tokom zimskog godišnjeg doba, kada je period noći (mraka) duži od obdanice, postoji stimulus za povećanu aktivnost epifize i povećanu sekreciju hormona melatonina. Visoke koncentracije melatonina kod kobilica inhibiraju oslobađanje GnRH i aktivnost hipotalamus-hipofiza-jajnici osovine, zbog čega kobile tokom zimskog perioda nalaze u fazi anestrije, kada je praktično polna aktivnost svedena na minimum. Kod ovaca, situacija je obrnuta i kod njih visoke koncentracije melatonina stimulišu oslobađanje GnRH i ulazak u polni ciklus.

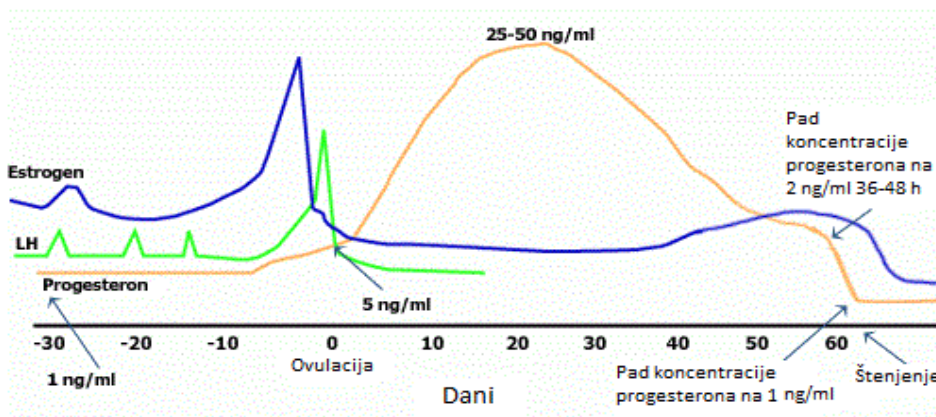
**Tabela 2.** Trajanje polnog ciklusa kod domaćih životinja.

Vrsta	Kobila	Krava	Ovca	Koza	Krmača
Trajanje (dani)	18 – 28	19 – 21	14-19 (~16,5)	19 – 21	18-24 (~21)

S obzirom na činjenicu da se polni ciklus kuja u izvesnoj meri razlikuje u poređenju sa ostalim vrstama, biće posebno opisan.

## Polni ciklus kuja

Kuje su monoestrične ili diestrične životinje, što znači da se polni ciklus kod njih javlja jednom do dva puta godišnje. Polni ciklus kuja obuhvata četiri faze: *proestrus*, *estrus*, *metestrus* i *anestrus*.



**Slika 1.** Prikaz nivoa progesterona, LH i estrogena tokom proestrusa i estrusa, kao i tokom graviditeta koji, u endokrinološkom smislu, odgovara fazi metestrusa kod kuja.

**Proestrus** je faza polnog ciklusa koja traje 5-20 dana, sa prosečnom dužinom trajanja **od 9 dana**. Smatra se da proestrus počinje sa pojavom krvavog vaginalnog iscedka. Tokom ove faze kuje privlače mužjaka ali ne dozvoljavaju parenje. Vulva i vagina su edematozne i hiperemične, što nastaje kao rezultat porasta koncentracije estrogena, dok su koncentracije progesterona još uvek na bazalnom nivou (oko 1 ng/mL) (Slika 1).

**Estrus** predstavlja fazu koja u proseku takođe traje oko **9 dana** kod kuja. Ovu fazu karakteriše edem vulve koja je mekane konzistencije. Tokom najvećeg dela estrusa kuja prihvata mužjaka (dozvoljava parenje), ali pred kraj estrusa i početak metestrusa prestaje sa prihvatanjem mužjaka. Tokom ove faze koncentracija progesterona raste, dok postepeno koncentracija estrogena opada. Ovulacija nastupa za 48 – 72 časa od LH pika, što se može desiti pred sam kraj proestrusa ili sam početak estrusa. Ovulacijom se iz folikula oslobađa primarna oocita koja u jajovodu sazreva za 48 – 60 časova. Koncentracija progesterona u momentu ovulacije uglavnom iznosi 4 – 10 ng/mL. Zbog toga, ako pošaljemo krv u laboratoriju i vidimo da je koncentracija progesterona npr. 4 ng/mL (ovulacija samo što nije nastupila), kuju ćemo pripustiti ili veštački osemeniti tek za 2 dana. To bi bilo optimalno vreme jer je i oocitima potrebno 48 – 60 časova da maturiraju u jajovodu. Očekivano vreme štenjenja bi bilo za 62-64 dana. Kod veštačkog osemenjavanja ili prirodnog pripuštanja kuja, treba imati u vidu da spermatozoidi mužjaka mogu **ostati fertilno sposobni i 5 do 7 dana** u genitalnom traktu kuja.

**Metestrus** kod kuja traje od 50 – 80 dana, u proseku je to oko **60 dana** kod najvećeg broja kuja. Tokom metestrusa kuja ne prihvata mužjaka, a nije prisutan ni krvavi iscedak. Karakteristična za ovu fazu je visoka koncentracija progesterona u krvi koja se kreće i od 25 – 50 ng/mL.

Tokom graviditeta, koncentracija progesterona je takođe u okviru ovih vrednosti što ograničava validnost ovog parametra u dijagnostici graviditeta kod kuja.

**Anestrus** traje od 80-240 dana, a najčešće je to u proseku **120 dana** (4 meseca). Tokom ove faze koncentracije progesterona padaju na bazalne vrednosti (oko 1 ng/mL). Period anestrusa je predstavljen mirovanjem polnih organa i reproduktivnom neaktivnošću.

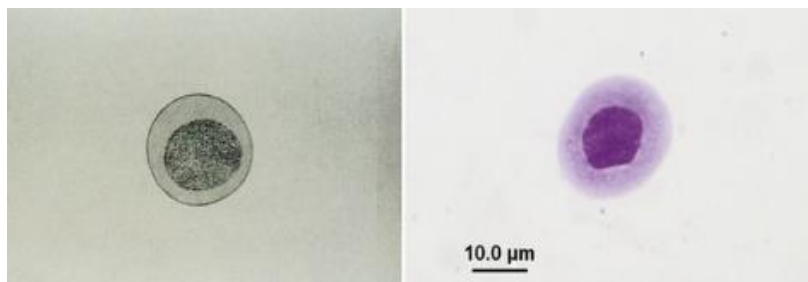
U reprodukciji kuja od velikog značaja je utvrđivanje faze polnog ciklusa, i to prvenstveno proestrusa i estrusa u cilju određivanja optimalnog vremena parenja ili veštačkog osemenjavanja.

Metode za određivanje faze polnog ciklusa obuhvataju:

1. **Klinički pregled uz adekvatno uzetu anamnezu od vlasnika** – edemizacija i hiperemizacija vulve i vagine uz pojavu krvavog iscetka uz odbijanje mužjaka ukazuje na to da se radi o proestrusu. Prihvatanje mužjaka i edem vulve koja je mekane konzistencije ukazuje na to da se radi o estrusu.
2. **Draminski test** – predstavlja test merenja otpora vaginalne sluzi. Tokom estrusa cervikalne žlezde sekretuju tečnost koja je bogatija elektrolitima, zbog toga raste provodljivost ovog medijuma, odnosno pada otpornost. Optimalno vreme za parenje bi bilo za 24 – 36 časova od početka opadanja provodljivosti sa maksimalnih vrednosti koje su uzastopnim merenjem bile utvrđene (nekad i 550).
3. **Vaginalna eksfolijativna citologija** – nešto senzitivniji metod za utvrđivanje faze polnog ciklusa. Zasniva se na identifikaciji ćelija vaginalnog epitela obojenom razmazu vaginalne sluzi zbog činjenice da se zastupljenost pojedinih ćelija u razmazu vaginalne sluzi menja u zavisnosti od faze polnog ciklusa. Za izvođenje ove metode, neophodno je najpre štapićem uzeti uzorak sa zida vagine, tako što se labije vulve razmaknu prstima jedne ruke kako bi se drugom rukom štapić uveo najpre u kraniodorzalnom (da se izbegne *fossa clitoridis* i *orificium urethrae*), a potom u longitudinalnom pravcu i kružnim pokretima uzeo uzorak sa vaginalnog zida. Nakon toga se štapićem pravi razmaz na predmetnom staklu da bi se po sušenju obojio Diff-Quick metodom i tako pripremljen posmatrao pod mikroskopom. Pod mikroskopom se može zapaziti nekoliko vrsta ćelija: bazalne, parabazalne, intermedijarne i superficijalne ćelije.

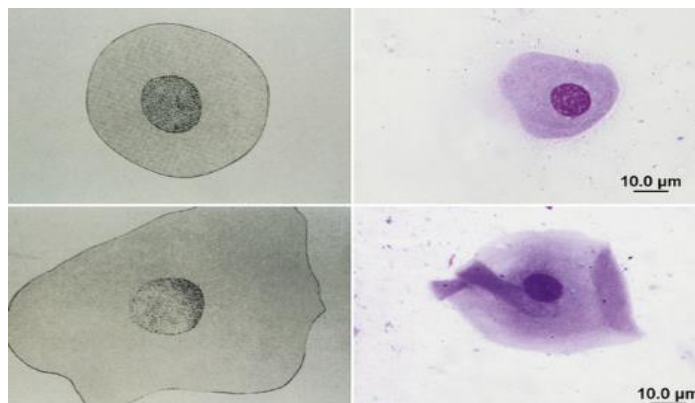
**Bazalne ćelije** predstavljaju grupu ćelija od kojih nastaju svi ostali tipovi ćelija koji se zapažaju u vaginalnom razmazu. Imaju jasno ograničeno i okruglo jedro, a jedro-citoplazma odnos je visok. Retko se mogu zapaziti u vaginalnom razmazu.

**Parabazalne ćelije** su male okrugle ćelije sa okruglim jedrom i uskim pojasom citoplazme. Obično su u razmazima uniformne po veličini i obliku. U velikom broju se mogu naći u razmazu vaginalne sluzi kod ženki koje još nisu ušle u pubertet.



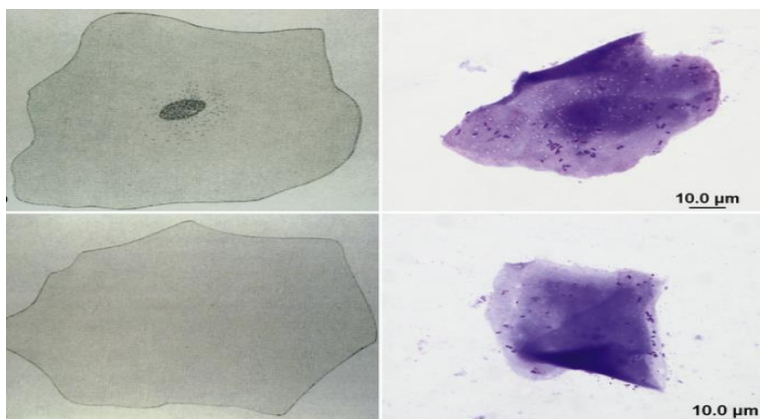
**Slika 2.** Parabazalna ćelija prikazana šematski (levo) i u obojenom razmazu vaginalne sluzi (desno).

**Intermedijarne ćelije** dosta variraju u veličini u zavisnosti od toga da li su u pitanju male ili velike intermedijarne ćelije. Razlike u veličini jedra između malih i velikih intermedijarnih ćelija nisu toliko značajne koliko su značajne razlike u količini citoplazme koje ima više kod velikih intermedijarnih ćelija. Takođe, jedro malih intermedijarnih ćelija je po veličini slično jedru parabazalnih ćelija. Razlika između parabazalnih i malih intermedijarnih je u tome što male intermedijarne ćelije imaju nešto veću količinu citoplazme i manje pravilan okrugao oblik, dok velike intermedijarne ćelije imaju još više citoplazme, a po obliku još više odstupaju od okruglog oblika i često imaju nepravilan ili angularan oblik. Velike intermedijarne ćelije nekad po obliku podsećaju na superficijalne ćelije, pa se još nazivaju i superficijalnim intermedijarnim ćelijama ili tranzicionim intermedijarnim ćelijama.



**Slika 3.** Gornja leva i desna slika daju prikaz male intermedijarne ćelije. Na donje dve slike se može videti izgled velike intermedijarne ćelije kako šematski (levo), tako i u obojenom razmazu vaginalne sluzi.

**Superficijalne ćelije** su najveće ćelije u razmazu vaginalne sluzi. Njihovo jedro najpre postaje piknotično (smanjuje se ali zadržava oblik), potom sve više blede, dok ćelija ne dobije anuklearni oblik kada je potpuno bez jedra. Ove ćelije su često nepravilnog ili angularnog oblika, a od intermedijarnih se razlikuju po tome što imaju morfološki izmenjeno jedro. Takođe, nekada se u citoplazmi superficijalnih ćelija nalaze sitne vakuole. Proces kojim nastaju ćelije sa piknotičnim jedrom i anuklearni ćelijski oblici označava se kao **kornifikacija**, dok se ćelije označavaju kao **kornifikovane**. Do kornifikacije epitela dolazi sa porastom koncentracije estrogena.



**Slika 4.** Na gornje dve slike se vidi da superficijalna ćelija još uvek ima jedro koje je piknotično. Donje dve slike pokazuju anuklearan ćelijski oblik nepravilnih kontura.

Osim nabrojanih, mogu se naći i druge ćelije u vaginalnom razmazu, a to su uglavnom neutrofilni granulociti i eritrociti (naročito u proestrusu).

4. **Koncentracija progesterona** – može značajno pomoći u određivanju faze polnog ciklusa. U tabeli 3 je prikazano kretanje koncentracije progesterona tokom različitih faza polnog ciklusa.

5. **Koncentracija LH** – ne radi se u kliničkoj praksi jer zahteva uzorkovanje krvi u kraćim vremenskim intervalima i nosi veće novčane izdatke za vlasnika. Inače predstavlja najprecizniji metod za određivanje optimalnog vremena parenja.

**Tabela 3.** Trajanje pojedinih faza polnog ciklusa i karakteristike nalaza vaginalne citologije sa koncentracijama progesterona.

Faze	Trajanje (dani)	Progesteron (ng/mL)	Vaginalno-citološki nalaz
Anestrus	80-240 (~120)	< 0,5	Parabazalne i male intermedijarne ćelije.
Proestrus	5-20 (~9)	0,5-2,0	Povećanje broja kornifikovanih ćelija; mali broj neutrofila uz obavezno prisustvo eritrocita.
Estrus	1-15 (~9)	2,0-25,0	>80% kornifikovanih ćelija.
Metestrus	50-80 (~60)	> 20,0 (25,0)	Velike intermedijarne ćelije; veći broj neutrofila.

## **Literatura**

1. Allison R (2007) Vaginal Cytology
2. Concannon PW (2011) Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal reproduction science* 124.3-4: 200-210.
3. Karadžole T (2011), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinika za porodništvo i reprodukciju, Spolni ciklus kuja i mačaka
4. Marti J (2002) WSAVA 2002 Congres: Vaginal Cytology in the Bitch and Queen.