



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# Effekter av flushing och dess potentiella användning för hund

*Erica Gumpert Herlofson*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014:79

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2014

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Effekter av flushing och dess potentiella användning för hund**

Effects of flushing and its' potential use on dogs

*Erica Gumpert Herlofson*

**Handledare:**

Elisabeth Persson, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

**Examinator:**

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2014

**Omslagsbild:** Anna-Karin Fahlvik

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014:79  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Flushing, tillskottsutfodring, reproduktion, får, nötkreatur, hund

**Key words:** Flushing, focus feeding, reproduction, sheep, cattle, dog



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturoversikt.....	4
Definitioner och begrepp.....	4
Grundförutsättningar .....	4
Folikelfasen .....	6
Tidig dräktighet .....	9
Lutealfasen .....	10
Konsekvenser vid undernäring.....	10
Moder .....	10
Foster.....	11
Effekter av flushingdiet.....	12
Fodermedel.....	12
Hormonella effekter .....	13
Lokala effekter .....	14
Genetiska effekter .....	15
Diskussion .....	15
Referenser.....	17



## **SAMMANFATTNING**

Flushing är samlingsnamnet för tillskottsutfodring med fodermedel med högt energiinnehåll i syfte att förbättra den reproduktiva förmågan hos djur.

Metoden används aktivt på flera av lantbrukets djur men fokus för det här arbetet är främst får och nötkreatur då de allra flesta studier gjorts på dessa djurslag. Därefter diskuteras den eventuella användbarheten av metoden för hund, där det vetenskapliga underlaget är begränsat.

I försök på får och nötkreatur används vanligen kolhydrater, fetter eller proteiner som flushingdiet och då ofta i form av glukos, palmitinsyra eller linolsyra samt lupiner.

Tillvägagångssättet är ofta, i försökssammanhang, att erbjuda djuren extra foder utöver det som täcker det basala näringsbehovet en eller två östralcykler före planerad betäckning. Fodergivan ökas olika mycket beroende på försöksutformning men en ökning med ca 1,5 % av kroppsvikten återkommer i flera försök.

Det man avser att påverka är östrusbeteende samt duration och intervall av detsamma, oocytmognad, blastocystutveckling, prenatal överlevnad, antal och livsduglighet hos avkomman samt även långsiktig påverkan på ett genetiskt plan.

För att utvärdera resultaten av metoden använder man sig av olika mätbara parametrar med vissa generellt återkommande i de flesta försök. Vanligt är att man uppskattar djurets näringsstatus vid början av försöket med utgångspunkt från Body Condition Score-skalan som går från 1-5 (från kraftigt undernärt till kraftigt överviktigt). Vikt används antingen istället för BCS eller som kompletterande information för att räkna ut en exakt fodergiva. Ytterligare bedömningspunkter är tidig embryoöverlevnad, antalet fullgångna dräktigheter och antalet avkommor. Mer specifika mätningar görs av ovulationshastigheten där man tittar på medelantalet gulkroppar per djur samt oocytkvaliteten, vilken avgör embryots förmåga att nå blastocyststadiet. Hög oocytkvalitet leder till ett ökat antal befruktade ägg som når blastocyststadiet hos djur som har fler än en avkomma åt gången. Oftast tittar man på flushingdietens påverkan på follikelstorleken. Det finns en generell tendens till att de stora, preovulatoriska folliklarna hamnar i fokus då de förväntas bilda större gulkroppar med högre progesteronproduktion, vilket i sin tur ger dräktighetsbevarande effekter. En annan parameter som studeras är embryokvaliteten. Strävan är att embryots form ska vara jämn och sfärisk med inbördes likvärdiga celler med avseende på storlek, färg och densitet.

Vid försök syns bäst effekt av tillskottsutfodringen på individer med underhull som göds till bättre hull. Bäst resultat ses på djur som göds från ett sämre BCS till ett på ca 3-3,5.

Slutsatsen är att flushing generellt är överflödigt på djur som hålls i jämgott hull men effektivt på djur som säsongvis har reducerad tillgång till föda och därför är i underhull.

Då effekten är minimal på djur i gott hull är metoden inte direkt tillämpbar för att öka den reproduktiva förmågan hos hundar då vi generellt snarare håller dem i överhull.

## **SUMMARY**

Flushing is the name for additional feeding with high energy feed with the purpose of improving the reproductive ability in animals.

The method is commonly used on several species of production animals, especially sheep and cattle often appear in studies and they will be the main focus in this work. Thereafter the potential use of this method on dogs is discussed, which is a topic where limited scientific evidence is available.

In studies on sheep and cattle the most frequently used flushing supplements are carbohydrates, fatty acids or proteins and they are typically given as glucose, palmitic acid, linoleic acid and lupin.

The experimental set-up is often to offer additional feed on top of the rations necessary to meet the animals' basic nutritional requirements, for about one-two estrous cycles before mating. The exact dose of additional feed differs between studies, but an addition of 1.5% of the animal's original bodyweight is often reoccurring.

Expected effects are on the duration of estrus behavior, the length of the estrus interval, maturation of oocytes, blastocyst development, prenatal survival, number and viability of the offspring and also a more long term effect on a genetic level.

To evaluate the results of flushing several measurable parameters are used and some are common in most studies. It is typical to estimate the animals nutritional status at the beginning of the study using the Body Condition Score index, ranging from 1-5 (severely undernourished - severely overweight). Weight is used either instead of BCS or as additional information to calculate the exact amount of extra feed. Apart from this, also early embryo survival, number of completed pregnancies and number of offspring are recorded. As specific measurements, ovulation rate (average number of corpora lutea per animal) is noted and also oocyte quality (determines the ability of the embryo to reach the blastocyst stage) is studied. High oocyte quality will lead to an increase in the number of fertilized eggs in pluriparous species. One of the most frequently studied features is the effect of the flushing diet on follicular size. There is an overall tendency to focus mainly on the large sized, pre-ovulatory follicles since they are expected to generate larger corpora lutea with a higher capacity of progesterone production, which in turn helps sustaining pregnancy. Another common feature is the quality of the embryo. Optimal is to have an evenly shaped, spherical embryo with uniform cells concerning size, color and density.

The best results from nutritional flushing are seen on undernourished individuals with their nutritional status being improved. The optimal response is seen in animals with lower BCS fed to a BCS of about 3-3.5.

The conclusion is that nutritional flushing is generally unnecessary for animals kept in a constant, good nutritional status but effective on animals with seasonally reduced access to good, nutritional feed and therefore undernourished.

Since the effects on animals kept in good body condition are minimal, the applicability on dogs to enhance their reproductive capacity is limited since they are generally more often overfed.



## **INLEDNING**

Att med välbalanserad, riktad samt tidsmässigt optimerad och ökad foderranson försöka påverka den reproduktiva förmågan hos våra produktionsdjur har studerats med ett flertal olika försöksutformningar och kallas generellt flushing (i.e. nutritional flushing). När det gäller hund omnämns det inom hundhållningen som en metod som tillämpades såväl för 30 år sedan som idag. Det saknas dock påtagliga bevis på både det praktiska bruket och vetenskapliga studier inom området.

Vid användning för produktionsdjur har avsikten varit att påverka oocytmognad, blastocystproduktion, prenatal överlevnad samt antal och livsduglighet hos fullgångna avkommor (Ashworth et al., 2009). Även uppvisande av östrusbeteende samt durationen och intervallen av detsamma kan kopplas till utfodringen (Naqvi et al., 2013). Man har också sett långsiktiga effekter hos djurens avkommor på en genetisk nivå (Hales & Barker, 2001).

En normal reproduktionscykel hos hondjuret präglas av ett samspel mellan nivåerna av fritt cirkulerande luteiniserande hormon, follikelstimulerande hormon, östrogen och progesteron.

Utgångspunkten för flushing är att söka påverka en negativ energibalans till att bli det motsatta.

Förutom den generellt goda effekten av en bra näringsstatus så sker även en direkt påverkan på ovarierna (äggstockarna). Den lokala påverkan sker med största sannolikhet via en eller flera av tre olika metabola vägar; insulin-glukosvägen, IGF-vägen samt leptinvägen (Scaramuzzi et al., 2006).

Då den grundläggande fysiologin hos många däggdjur är densamma (Ashworth et al., 2009) väcks frågan varför flushing endast tycks användas systematiskt på lantbrukets djur, då vi har påtagliga fertilitetsproblem även hos våra sällskapsdjur. Metoden är, till skillnad från många av de tekniker som idag används på t.ex. hund (Chastant-Maillard et al., 2010) varken hormonell eller invasiv och bör kunna ge positiva resultat, enligt sammanfattning av Hashem & El-Zarkouny, (2014).

Då tillgänglig forskning huvudsakligen är gjord på lantbrukets djur kommer jag att använda mig av beskrivningar samt resultat därifrån och har då valt att begränsa mig till att studera forskning gjord på framförallt får men även nötkreatur och i diskussionen kommer detta även att kopplas till användbarheten för hund.

## **MATERIAL OCH METODER**

Arbetet är en litteraturstudie och bygger således på ett sammanställande av fakta huvudsakligen från publicerade, vetenskapliga artiklar. De databaser som har används i sökandet efter artiklar är PubMed och ScienceDirect. Utifrån funna artiklar har ytterligare information hämtats från deras referenser. Sökorden som använts är flushing, nutritional flushing, focus feeding, sheep, cow och dog i olika kombinationer.

Begränsningar har gjorts i val av studerade djurslag där forskning på get samt svin har uteslutits. Vidare har miljöpåverkan och socioekonomiska perspektiv tagits bort. Då studiens huvudsakliga fokus är fodrets påverkan på fertilitet har även artiklar och information gällande fosterutveckling och missbildningar sällats bort.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Definitioner och begrepp

- Ovulationshastighet syftar på medelantalet gulkroppar (corpus luteum) per tacka (Hashem & El-Zarkouny, 2014).
- Oocytkvalitet definieras som förmågan att utvecklas till blastocyst vilket Ashworth et al. (2009) anammat från tidigare försök.
- Storleken på äggblåsor (folliklar) delas generellt in i tre kategorier, små, medelstora och stora beroende på diameter och har olika måttsintervall beroende på djurslag.
- Utvecklingen av dominant folliklar är fokus i flertalet flushingdieter vilka leder till att den dominant follikeln blir signifikant större än kontroller (Staples et al., 2007). Den direkta effekten för bibehållandet av dräktigheten är att ju större follikel som ovulerar, desto större corpus luteum bildas med följden att den progesteronproducerande kapaciteten ökar och bidrar till ökad chans till bibehållen dräktighet. Man kan tänka sig att en större dominant follikel är mer kvalitativ ur dräktighetsbevarande perspektiv.
- Definitionen av hög embryokvalitet är att det bör hålla en jämn sfärisk form med storleksmässigt likvärdiga celler som inbördes är nära identiska i färg och densitet (Staples et al., 2007).

### Grundförutsättningar

Body Condition Score (BCS), som används mycket på lantbrukets djur för att bedöma djurets allmänna näringsstatus, fungerar som ett lämpligt bedömningsverktyg när man vill studera resultatet av en flushingdiet (Admiak et al., 2005).

Effekten av det ökade näringsintaget kan därefter delas in i tre olika stadier; ”akut”, ”dynamiskt” samt ”statiskt”. För att vara relativt säker på att man studerar effekten av just det ökade näringsintaget är det att föredra att studera det ”akuta” stadiet, annars finns risken att eventuella resultat bygger på mer komplexa samspel mellan olika fysiologiska processer som följer av ett gott allmäntillstånd och resultaten blir då svåra att studera lokalt i olika delar av kroppen. Det akuta stadiet avgränsas av dietens början fram tills att man kan registrera en viktuppgång då det ”dynamiska” stadiet tar vid. Det som skiljer det ”dynamiska” stadiet från det ”statiska” är att det associeras med aktiv viktuppgång medan det ”statiska” snarare förknippas med en konstant god energibalans och gott näringstillstånd (Scaramuzzi et al., 2006).

I följande text kommer begreppen positiv och negativ energibalans att användas och definieras som ett högre nettointag än förbrukning versus ett lägre nettointag än förbrukning (Scaramuzzi et al., 2006).

I de försök där BCS har använts som mått har man dragit slutsatsen att flushing har bäst effekt på ett måttligt undernärt djur som då på en kort tid göds till ett högre BCS (West et al., 1991). Likartade slutsatser har dragits kring skillnaderna i effekt mellan olika (i det här fallet) fårraser. Hos en lättare, hårdigare ras som är anpassad för torra, tropiska klimat med begränsad tillgång på föda periodvis under året är effekten av flushing påtaglig (Naqvi et al., 2013). Raser som är mer anpassade till tempererade klimat och har relativt jämn tillgång till föda uppvisar ett mer begränsat resultat efter flushingdiet (Sormunen-Cristian & Jauhiainen, 2002).

Även inom raser finns variation i graden av resultat vilket kopplas till genuttryck av exempelvis "fecundity gene",  $Fec^B$ , som gör att individen lättare svarar på ett högre näringsintag med ökad reproduktiv förmåga, till exempel fler ovulatoriska folliklar, vilket potentiellt ger fler embryon och fler avkommor (Landau et al., 1995).

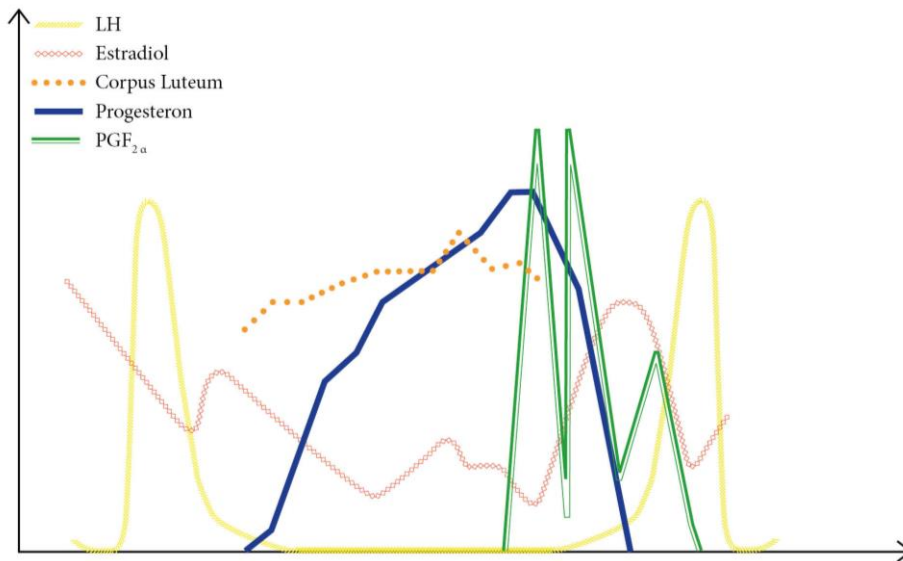
En annan grundförutsättning för maximalt resultat tycks vara djurets ålder med en större effekt på fullvuxna djur än på yngre/årsgamla individer (Sormunen-Cristian & Jauhiainen, 2002).

Förutom durationen av den ändrade foderstaten, dosen, samt sammansättningen av fodret som används för att "flusha" har även säsongen betydelse för i vilken grad man kan se resultat enligt flera studier sammanfattade av Naqvi et al. (2013). Reproduktionssäsongen har naturligt anpassat sig efter när det är som bäst tillgång på föda eftersom dräktighet och följande laktation är väldigt energikrävande (Wade & Jones, 2004). Bästa resultat av flushing erhålls därför vid lågsäsong under vinter- och högsommarmånaderna som präglas av naturligt sämre födotillgång framförallt i de torra, tropiska klimatzoner där djuren endast hålls på naturligt bete (Naqvi et al., 2013).

På nordligare breddgrader spelar ljuset en större roll för cykliciteten än på sydligare. Antal timmar med dagsljus är den viktigaste faktorn för att stimulera östrus hos får, vilket gör att foderpåverkan blir underordnad i betydelse, men dock fortfarande en viktig faktor (Sormunen-Cristian & Jauhiainen, 2002).

Olika näringskällor har undersökts som grund för flushingdieten där de huvudsakliga är protein (Scaramuzzi et al., 2006), fett (Hashem & El-Zarkouny, 2014) och glukos (Scaramuzzi et al., 2006).

En normal reproduktionscykel delas in i två huvudsakliga faser, follikelfasen samt lutealfasen, var och en med olika hormoner som dominerar.



Figur 1. Hormonprofil östralcykel . Fritt efter Beard et al. (1994) och Viñoles (2000).

### **Folikelfasen**

Proöstrus (äggmognad) och östrus (ägglossning) ingår i folikelfasen som domineras av förhöjda nivåer av follikelstimulerande hormon (FSH) och gradvis ökande östradiolnivåer (se Figur 1). I anslutning till östrus går nivåerna av luteiniserande hormon (LH) snabbt upp i vad man kallar för en LH-peak, för att sedan snabbt avta. Under hela folikelfasen är progesteronnivåerna låga.

Redan under fostertiden formas alla de folliklar, inklusive könsceller, som senare i honans liv eventuellt befruktas och leder till avkomma. Utvecklingen börjar genom att honliga urkönsceller, oogonier genomgår mitos och bildar oocyter (äggceller).

Under den första halvan av fostertiden formas de så kallade primordialfolliklarna som består av en oocyt omsluten av ett skikt med plattepitel och den framtida kvaliteten hos folliklarna grundläggs. Från och med att de primordiala folliklarna bildas fram till honans död utgör de primordiala folliklarna den, till antalet, dominerande follikeltypen i ovarierna.

Under sista delen av fostertiden inleds en första meios hos oocyten som pausas före steget då cytoplasman delas och den ligger därefter vilande fram tills könsmognad då meiosen fullbordas i samband med ägglossning och befruktning. Oocyten kallas i detta skede för en primär oocyt.

Före, eller vid puberteten, beroende på djurslag, fortsätter follikelutvecklingen hos ett antal folliklar åt gången under påverkan av FSH (Driancourt, 2000). Den primordiala follikeln utvecklas till en primär follikel vilken består av oocyten och det som ursprungligen var plattepitelet men som nu antagit en mer kubisk karaktär och kallas granulosaaceller. Dessa två tillsammans producerar ett lager av ickecellulärt material som omsluter och skiljer oocyten från granulosaacellerna och som kallas zona pellucida.

Från den primära follikeln utvecklas sedan en sekundär follikel då granulosa cellerna bildar flera skikt som omger oocyten och zona pellucida. Utanför granulosa cellerna finns en basallamina som skiljer granulosa cellerna från det nya cellaget som nu omger follikeln och som kallas thecaceller.

Granulosa cellerna har två huvudsakliga funktioner som bidrar till hormonregleringen, det är dels att syntetisera inhibin och dels att konvertera androgener till östrogen vilket stimuleras av FSH och möjliggörs av att aromatasa (enzym) produceras i granulosa cellerna.

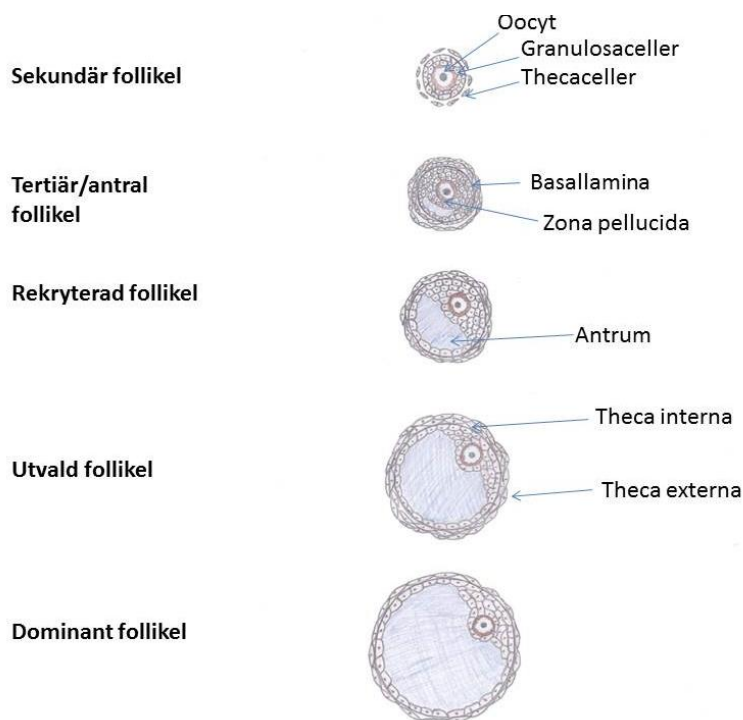
Östrogen tillsammans med inhibin bidrar, genom negativ feedback, till att sänka utsöndringen av FSH från hypofysens framlob under selektionsfasen. Sänkningen av FSH gör att tillväxten av nya folliklar stoppas och endast en till ett fåtal (beroende på djurslag) dominant/-a follikel/-lar kvarstår.

Androgenerna som konverteras till östrogen kommer från det innersta lagret av thecaceller som kallas theca interna där de bildas och sedan diffunderar över basallaminan till de anslutande granulosa cellerna.

Det är LH som stimulerar thecacellerna till att producera androgener som alltså är östrogenprekursorer. Stigande nivåer av LH i follikulär fas bidrar med andra ord till ökande östrogennivåer.

Efter den sekundära follikeln, bildas vid nästa steg i follikelutvecklingen ett hålrum, som kallas antrum, i lagren med granulosa celler kring oocyten. Follikeln kallas nu tertiär eller antral. Antrum är vätskefyllt och innehåller näring till oocyten och förutom det även parakrina tillväxtfaktorer som understödjer follikelutvecklingen, enzymer som behövs vid ovulation samt östrogen (se Figur 2).

Från poolen av antrala folliklar fortsätter somliga att utvecklas och de kallas rekryterade folliklar. Därefter sker ytterligare en selektion och de nu ”utvalda folliklarna” mognar vidare tills den sista selektionen sker då endast en eller ett fåtal folliklar (beroende på djurslag) fortsätter att utvecklas. Den/de kallas då för dominant/-a follikel/-lar (se Figur 2).



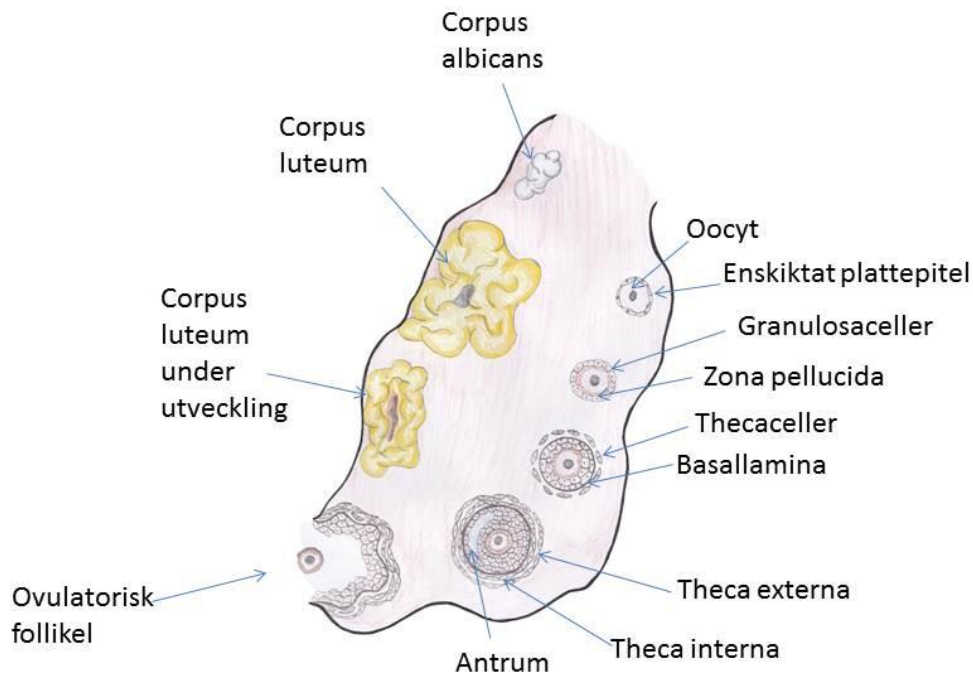
Figur 2. Follikelutveckling. Fritt efter Sjaastad et al.(2010).

Normalt sker ca en-två follikelvågor, som mognaden och rekryteringen av folliklarna kallas, innan kroppens hormonbalans är optimal för att ovulation (ägglossning) ska kunna ske (se Figur 3).

Strax före ovulationen ändras östrogenets påverkan på hypothalamus. När östrogennivåerna når ett visst tröskelvärde hävs den negativa feedbackmekanismen och ersätts av en positiv, som utövar sin effekt på hypothalamus s.k. 'surge center', där det resulterar i det som kallas en pre-ovulatorisk LH-surge.

Vid ägglossningen spricker follikeln och släpper ifrån sig oocyten med omgivande zona pellucida (se Figur 3) och dessa transporteras sedan genom ägglödaren där befruktningen sker.

Vid ägglossningen har även den pausade meiosen återupptagits och resultatet är en stor, sekundär, oocyt som fortsätter att utvecklas samt en första polkropp som återbildas. Efter ägglossning överlever oocyten ca 24 h.



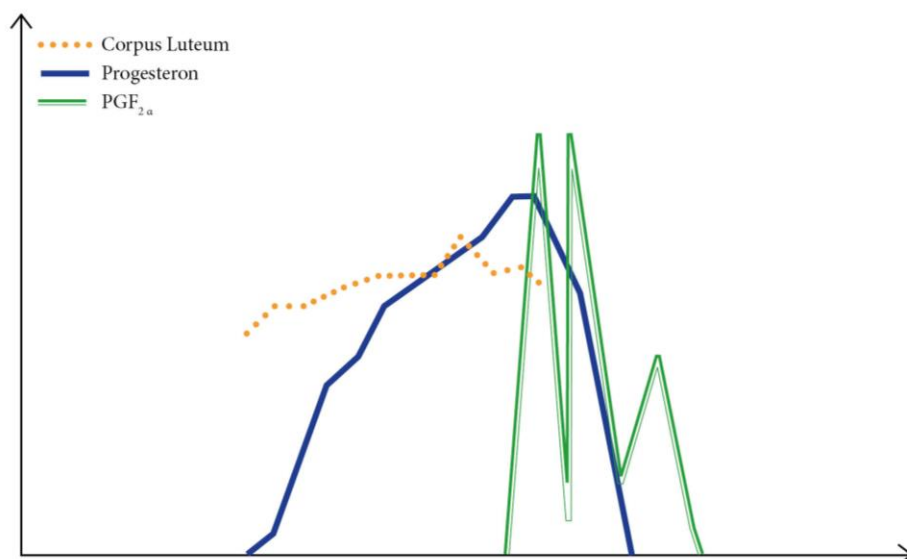
Figur 3. Follikel- och gulkroppsutveckling i äggstocken. Fritt efter Sjaastad et al. (2010).

Om befruktning sker blir meiosen fullständig och resulterar i ett stort ovum (ägg, haploid) som blir en honlig pronukleus samt en andra polkropp som återbildas.

### **Tidig dräktighet**

Efter befruktningen påbörjas celledelningen simultant med transporten från tuba uterina (äggladaren) till uterus (livmodern). Det befruktade ägget utvecklas till en cellboll som kallas morula och när en vätskeansamling har bildats i embryot är det en blastocyst, som frigörs från zona pellucida.

När embryot når uterus signalerar det sin närvaro innan det fäster till livmoderväggen. Signaleringen går lite olika till beroende på djurslag, hos idisslare sker detta genom att embryots trofoblastceller utsöndrar interferoner vilka decimerar antalet oxytocinreceptorer i uterus. Normalt skulle stimulering av dessa leda till att livmodern utsöndrar  $\text{PGF}_{2\alpha}$  vilket startar luteolys av gulkroppen och inleder en ny reproduktionscykel. Genom att begränsa antalet oxytocinreceptorer blir det en otillräcklig stimulans för att inducera luteolys vilket innebär att gulkroppen kvarstår och bidrar till att bibehålla dräktigheten genom utsöndringen av progesteron. Embryots närvaro stimulerar även körtlarna i livmodern till att utsöndra näring.



Figur 4. Lutealfashormoner i relation till aktivitet i corpus luteum. Fritt efter Beard et al. (1994) och Viñoles (2000).

### **Lutealfasen**

Metöstrus och diöstrus utgör lutealfasen vilken är perioden från ägglossningen till regressionen av corpus luteum, i avsaknad av dräktighet. Lutealfasen domineras av progesteron från corpus luteum och en ny follikelfas inleds först efter att luteolys häver progesterondominansen (se Figur 4).

I hypothalamus utövar progesteronet en negativ feedback på GnRH-utsöndring vilket resulterar i hämrad sekretion av FSH och LH under den här fasen.

### **Konsekvenser vid undernäring**

#### **Moder**

Vid grav undernäring kan den reproduktiva cykliciteten helt upphöra genom att hypothalamus GnRH-utsöndring hämmas vilket i sin tur leder till sänkt LH-puls-frisättning och utebliven eller otillräcklig LH-surge (Wade & Jones, 2004). Detta eftersom glukos är den primära energikällan för CNS och vid undernäring begränsas nivån av cirkulerande glukos (Naqvi et al., 2013).

Hos nötkreatur med dålig näringsstatus har man dels sett en tendens till ökat antal djur som genomgår tre follikelvågor vilket kan ses som ineffektivt jämfört med de normala en-två som leder till ovulation. Hos dessa djur är den dominanta follikeln mindre vid alla tre follikelvågorna och tycks vara mindre tålig vid den första av follikelvågorna enligt en sammanfattning av Driancourt (2000). Då tillväxtfaktorn insulin-like growth factor-1 (IGF-1) antas vara till viss del inblandat i uppkomsten av LH-receptoruttryck i granulosa celler, vilket i sin tur sammanfaller med det follikulära utvecklingsstadiet då en till ett fåtal folliklar blir dominanta, kan tänkas att bristande näringsstatus ger undermålig stimulans av IGF-1-systemet vilket ger ovanstående resultat.



I äggstocken ses konsekvenser i form av att färre primordialfolliklar utvecklas till primära folliklar vilket resulterar i färre potentiella ovulatoriska folliklar (Ashworth et al., 2009). Uppvisandet av östrus förkortas och fördröjs vilket kan bero på den fördröjda follikelmognaden samt nedsatt hormonrespons (Naqvi et al., 2013). Även oocyterna uppvisar en försämrad kvalitet och färre klarar att bilda funktionella blastocyster (Ashworth et al., 2009).

Man har sett att ett stort hormonmönster med en högre nivå östrogen jämfört med progesteron under lutealfasen kan associeras med tidig förlust av embryon då antalet oxytocinreceptorer inte nedregleras korrekt vilket leder till att embryots signal om närvaro inte går fram och luteolys inträder (Beard et al., 1994).

### **Foster**

Fruktos är den monosackarid som främst hittas i foster. Bristande näringsintag hos modern innebär att tillgången på energi även minskar för fostrets del. Energibristen kan potentiellt resultera i hämmad fosterutveckling vilket Campbell et al. (2010) konkluderat efter sina efterforskningar.

Konsekvenserna av maternell undernäring kan i tidigt fosterstadium ge konsekvenser för avkommans framtida reproduktionsförmåga genom att påverka det inbördes förhållandet mellan primordiala, primära och sekundära folliklar där man ser ett högre antal primordialfolliklar i förhållande till övriga.

Även meiosen i oogonierna påverkas med resultatet att den fördröjs.

Avkomman har visat sig få försämrad blastocystformation hos hondjuret och en sänkt steroidogen kapacitet hos handjuret. Den sänkta förmågan att bilda blastocyster med korrekt morfologi tycks vara kopplad till förändrad mitochondriedistribution samt ändrade  $Ca^{2+}$ -nivåer i oocyten. Detta leder till ökad produktion av reaktiva syremetaboliter som påverkar genom att försvåra utvecklingen till blastocyststadiet (Ashworth et al., 2009).

Genom att påverka uttrycket av vissa nyckelgener kopplat till fostrets utveckling kan undernäring hos modern ge konsekvensen att den postnatale tillväxten hos avkomman försämras. Under fostertiden syns metabolismstörningen genom att fostret tycks ha en ökad glukosförbrukning (Ashworth et al., 2009).

Hos avkomman har man även observerat ökat blodtryck samt förändringar i tjockleken på myokardiet vilken tycks öka (Ashworth et al., 2009). Levern i sin tur kan få större men färre lobber (Hales & Barker, 2001). Djuret tycks även uppvisa beteendeförändringar med högre stressnivåer, mindre utforskande beteenden samt längre tid som ägnas åt vila (Ashworth et al., 2009).

## **Effekter av flushingdiet**

### ***Fodermedel***

#### *Kolhydrater*

Förutom viktuppgång uppvisar fler djur som utfodrats med kolhydratrik kost östrusbeteende med snabbare initiering samt längre duration (Ashworth et al., 2009).

Antalet ovulationer per tacka samt antal tackor som ovulerar ökar signifikant (Naqvi et al., 2013). Mekanismen bakom bygger på att ökade blodglukos- samt insulinnivåer ger en ökad LH-frisättning vilket förbättrar ovarieresponden.

Även förhöjda IGF-1-nivåer har visats och IGF-1 är viktigt för follikulogesen eftersom den stimulerar granulosa- och thecacellsproliferation vilket i sin tur ökar steroidogesen. Även insulin har samma effekt på granulosa- och thecacellerna (Admiak et al., 2005).

Det har antytts att kolhydratrik kost inhiberar steroidogesen vilket sänker den negativa feedbacken och gör att extra folliklar rekryteras. Av de som rekryteras är ett större antal stora (Naqvi et al., 2013) vilket bidrar till högre östrogennivåer och återställd hormonell homeostas (Williams et al., 2001).

Leptin är ett hormon vilket utsöndras från kroppens fettvävnad och signalerar bland annat till hypothalamus där det kan påverka aptiten kortsiktigt. Leptin bidrar till att signalera inträde i pubertet hos hondjuren då höga nivåer ger signal om att kroppen har tillräckligt med lagrad energi för att klara av en dräktighet (Sjaastad et al., 2010). Leptinnivåerna studeras eftersom de snabbt svarar på förändringar i näringsintaget samt ger en bild av kroppens mer långvariga energireserver (nivåer av lagrade triglycerider) och signalerar på så vis både kort- och långsiktig näringsstatus till follikeln. Högre nivåer cirkulerande leptin samt en uppreglering av leptinreceptor-mRNA leder till sänkta östrogennivåer och ökad follikulogenes i den follikulära fasen (Scaramuzzi et al., 2006).

I flera försök med kolhydratrik diet har man uppmätt ökade plasmanivåer av insulin, IGF-1 och leptin och man har även observerat ett större antal stora och medelstora folliklar, en ökad tillväxthastighet samt ökad maximal diameter hos den dominanta follikeln och slutligen en högre andel blastocystbildning från avlossade oocyter än vid lägre kolhydratintag (Admiak et al., 2005). Antalet fullgångna dräktigheter ökar och hos avkomman ses en högre födelsevikt (Sabra & Hassan, 2008).

#### *Fetter*

Generellt om fetter kan sägas att de förbättrar follikelutvecklingen eftersom fettsyror bland annat utgör de viktigaste komponenterna i zona pellucida-strukturen i oocyten (McEvoy et al., 2000). En flushingdiet med fetter ökar därför antalet högkvalitativa oocyter genom sitt bidrag till zona pellucida strukturen. Det totala antalet preovulatoriska folliklar och follikeldiametern ökar av en fettrik diet (Hashem & El-Zarkouny, 2014). Det ökade antalet preovulatoriska

folliklar leder i sin tur till ökad ovulationsgrad och embryoproduktion (Sabra & Hassan, 2008).

Fettsyror förbättrar även den progesteronutsöndrande aktiviteten hos gulkroppen då de är prekursorer till steroidhormoner (Daghigh Kia et al., 2012).

Ett embryo av hög kvalitet har större chans till etablerad dräktighet och när man utfodrar med fettsyror ser man en tendens till ökat antal embryon klassade som högkvalitativa (Staples et al., 2007).

Vid embryodonation hade valet av fettsyra i tillskottsutfodringen hos donatorn större påverkan på embryots utveckling än mottagaren vilket talar för att kvaliteten på embryot står i direkt relation till kvaliteten på donatorns foder och att effekten är kvarstående även vid byte av uterin miljö (Staples et al., 2007).

### *Proteiner*

Utfodring av en proteinrik kost leder till ökade insulin- och leptinnivåer. Precis som var fallet med kolhydratrik kost så gör även proteinrik kost att leptinreceptor-mRNA uttrycks i fler oocyter och detta i kombination med de ökade plasmanivåerna av leptin leder till sänkta östrogennivåer och ökad follikulogenes. Resultatet är ett ökat antal medelstora folliklar samt ökad ovulationshastighet (Scaramuzzi et al., 2006).

Follikulogenesen stimuleras vid utfodring av glukoneogena aminosyror samt foder med högt galaktos-innehåll (ex. lupin) vilket Campbell et al. (2010) summerar från tidigare försök. Ett försök visade att fysiologiska mängder fruktos hade direkt påverkan på FSH-nivåerna i blodet genom en snabb sänkning under lutealfasen följt av en signifikant större ökning av detsamma vid follikelfasen jämfört med kontrollerna. Detta i sin tur ledde till högre östrogen- och androgenutsöndring strax före LH-surge. I samma försök sågs en tendens ( $P < 0,1$ ) till ökat antal antrala folliklar jämfört med hos kontroldjuren. I försöket konstaterade man att fruktos troligen antingen hade en direkt påverkan på hypofysutsöndringen av FSH i lutealfasen eller eventuellt påverkade genom insulinnivåerna i blodet, alternativt både och.

Specifikt tillskott av arginin ger ökad oocytkvalitet hos de antrala folliklarna och ger högre antal dräktigheter genom att förbättra den uterina miljön. Tillskott av glutamin och glutamat bidrar till en förbättrad metabolism hos såväl placenta som foster (Naqvi et al., 2013).

### ***Hormonella effekter***

*GnRH, FSH, LH, östrogen, progesteron, GH (Growth Hormone)*

Nivåerna av de viktigaste reproduktionshormonerna (exakt vilka varierar mellan studier) mäts generellt i studier av flushing men de visar varierande resultat och ofta erhålls inga värden av statistisk signifikans som visar på effekt av dieten på cirkulerande hormonnivåer.

Eftersom glukos är nervsystemets huvudsakliga energikälla så spelar glukosnivåerna stor roll för graden av utsöndring av hormon från hypothalamus. Vid negativ energibalans, som karakteriseras av just låga glukosnivåer, ser man också främst påverkan på hypothalamus-hypofyssystemet, vilket har stor betydelse i regleringen av reproduktionsfunktionerna (Wade & Jones, 2004).

När somliga hormonnivåer studeras, t.ex. FSH-nivåerna, vilka är strängt reglerade av ett negativt feedbacksystem till hypothalamus och hypofysen, är det svårt att dra relevanta slutsatser eftersom all eventuell påverkan från flushingdieten antas justeras relativt omgående via det negativa feedbacksystemet vilket osynliggör fluktuationer i nivåerna (Scaramuzzi et al., 2006).

Vid försök där GnRH har injicerats har man sett att det i sin tur kan leda till högre LH-nivåer vilket leder till högre progesteronnivåer. Progesteronet i sin tur anses vara viktigt vid ägglossning och embryoimplantationen/placentabildning.

### **Lokala effekter**

Då djuret är i positiv energibalans har främst lokala effekter på ovariet kunnat observeras. Det i sin tur ger systemiska effekter via sin påverkan på negativa feedbacksystem (Scaramuzzi et al., 2006) exempelvis östrogen-hypothalamus/hypofys-systemet.

De lokala effekterna på ovarierna kan struktureras genom indelning i de ovan nämnda, tre metabola vägarna: insulin-glukos-, IGF-1- och leptinvägarna.

Vid studier av membranbundna glukotransportörer hos får har det visats att både GLUT1 (glukos) och GLUT4 (insulin) uttrycks lokalt i ovarierna, vilket indikerar lokal påverkan från både glukos och insulin. GLUT1 fanns i högre koncentrationer i granulocellerna än i theacellerna medan GLUT4 tycks finnas i samma mängd i båda celltyperna (Williams et al., 2001).

Proportionerna mellan vissa receptoruttryck hos får tycks ändras vid underutfodring, och omvänt kan då tänkas gälla vid god näringsbalans. De receptorer som nedreglerades var glukotransportör 3 (SLC2A3), natrium/glukos co-transportör 1 (SLC5A1) samt att Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA nedreglerades. Nedregleringen skedde i oocyterna. De receptorer som istället uppregraderades var PTGS2, HAS2 samt leptinreceptorer och detta skedde istället i granulocellerna vilket sammanfattas från andra källor av Ashworth et al. (2009). Den direkta effekten på reproduktiviteten är okänd men man har sett att SLC3A3 (GLUT3) har relevans för utvecklingen av embryot efter implantation (Schmidt et al., 2009).

Nedregleringen av GLUT3 leder till tidig embryodöd med början kring dag 6,5 då embryot byter från puryvat och laktat som huvudsaklig näringskälla för att istället använda sig av glukos (Schmidt et al., 2009).

## **Genetiska effekter**

### *Kortsiktiga effekter*

Samma flushingdiet ger i vissa fall olika utslag beroende på om djuren är bärare av vissa gener. Den mest omtalade genen tycks vara det man kallar "fecundity gene" som beskrivs hos Merinofår och som gör att man på dessa djur får högre effekt av näringstillskottet än på ickebärare (Hashem & El-Zarkouny, 2014).

### *Långsiktiga effekter*

Observationer kring tackans kost under dräktigheten och dess påverkan på genuttrycket hos avkomman, bland annat avkommans muskelfiberkomposition, har börjat studeras med ökande intresse (Ashworth et al., 2009).

## **DISKUSSION**

De djurslag som alls dyker upp i forskningssammanhang vad gäller flushing är får, get, nötkreatur och svin (Ashworth et al., 2009). Omnämnt finns även bufflar (Sabra & Hassan, 2008). Vad gäller hund får man leta sig till mer populärvetenskapliga sidor för att det överhuvudtaget ska nämnas och då är informationen mycket knapphändig. Hur kan det komma sig?

Till att börja med bedrivs det mer extensiv forskning på lantbrukssidan eftersom det generellt är högre produktionskrav och alltså ett tydligare intresse för framsteg på forskningssidan som kan ge ökad avkastning i form av friskare djur, fler avkommor, bättre muskelsammansättning, snabbare tillväxt osv.

Utöver det finns en tendens att vi ser olika på våra produktionsdjur och våra sällskapsdjur vad gäller etik och moral. Då det kanske å ena sidan känns fullkomligt naturligt att tillämpa en strategi på lantbrukets djur, i det här fallet flushing, så anses det i högre grad vara oetiskt när det gäller våra sällskapsdjur. Argument som att det är bättre att tiken återgår till normalhull innan man överväger att para henne igen beskrivs som vanligt sunt förnuft (Debraekeleer et al., 2010).

Med utgångspunkten att alla djur har samma värde kan det, för mig personligen, kännas relevant att lyfta frågan kring vilka krav vi egentligen ställer på våra djur rent fysiskt.

Får och nötkreatur har relativt täta brunster, 13-21 dygns cykler (Mattsson, 2011; Schoenian, 2012), ff.a. under betäckningssäsong men ofta även under resten av året. Tittar man på hundar så löper de ungefär var 7:e månad (Mattsson, 2011). Man skulle kunna argumentera att det då kan kännas mer motiverat för en hunduppfödare att använda sig av flushing på en tik med underhull eftersom ett missat dräktighetstillfälle gör att tiken går tom betydligt längre tid än vad exempelvis en ko i liknande situation skulle göra.

Man skulle även kunna vända på det och säga att flushing på lantbrukssidan kanske borde begränsas till förmån för att djuren ska hinna återhämta sig mellan dräktigheterna. En stor skillnad mellan uppfödning av produktionsdjur och ex. hunduppfödning är dock att för

lantbrukare är ofta djuren den huvudsakliga inkomstkällan medan hunduppfödning generellt inte har samma ekonomiska tyngd för uppfödaren. Det man bör ta i beaktande är även att den tid som djuren utsätts för så pass höga produktionskrav är betydligt mer begränsad på lantbrukssidan då de generellt går till slakt relativt tidigt när de inte längre klarar av tempot.

Den slutsats jag har dragit efter att ha tittat på studier gjorda på flushing är att det bästa för djuren och resultatet vid avel (oavsett om det är lantbruksdjur eller hundar) är att hålla dem i jämn, god näringsstatus eftersom flushing endast delvis kan kompensera för undernäring och djuren presterar bäst vid ett jämnt, gott näringstillstånd (West et al., 1991).

Vid allvarlig undernäring upphör djurets cyklicitet helt men även vid för högt näringsintag och fetma ses reproduktionsstörningar vilket Campbell et al. (2010) sammanfattar från tidigare studier.

I vissa försök har man sett att högt näringsintag ökar oocytkvaliteten hos djur som legat på låga BCS men har motsatt effekt hos djur som ligger på relativt höga BCS (Admiak et al., 2005).

Att flusha ett djur i normalt hull ger inga tydliga fördelar (West et al., 1991), men är heller inte direkt skadligt för djuret då det rör sig om en begränsad tid med högt näringsintag, generellt en till två östralcykler. Att banta ett djur till underhull för att vid rätt tidpunkt flusha ger inte heller det bättre resultat än att helt enkelt hålla djuret i jämnt, lagom hull utan kan snarare ses som en fysiologisk stressfaktor.

När är det då lämpligt att använda sig av näringsflushing? Med undantag för om det föreligger särskilda skäl att tillämpa flushing i en annars optimal utfodringsregim, är det framför allt i utvecklingsländer som det kan ha stort värde. Där påverkar avelsframgången hos djuren i extremt hög grad levnadsstandarden hos djurägarna, och flushing kan kännas motiverat både för djurens skull, eftersom en stor andel säkerligen hade blivit dräktiga utan näringstillskottet och då tvingats igenom en dräktighet med sämre förutsättningar, och för ägarnas. Det mest effektiva kan då vara att söka påverka i den "akuta" fasen eftersom det endast innebär en kort, begränsad period av extra utgifter för foder men samtidigt ökar chansen för dräktighet och ger djuret ett bättre utgångsläge rent fysiskt att klara av dräktigheten.

## REFERENSER

- Admiak, S.J., Mackie, K., Watt, R.G., Webb, R. & Sinclair, K.D. (2005). Impact of nutrition on oocyte quality: Cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biology of Reproduction* vol. 73, ss. 918-926.
- Ashworth, C.J., Toma, L.M. & Hunter, M.G. (2009). Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, vol. 364, ss. 3351-3361
- Beard, A.P., Hunter, M.G. & Lamming, G.E. (1994). Quantitative control of oxytocin-induced PGF<sub>2</sub> $\alpha$  release by progesterone and oestradiol in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*, vol. 100, ss. 143-150.
- Campbell, B.K., Kendall, N.R., Onions, V. & Scaramuzzi, R.J. (2010). The effect of systemic and ovarian infusion of glucose, galactose and fructose on ovarian function in sheep. *Society for Reproduction and Fertility*, vol. 140, ss. 721-732.
- Chastant-Maillard, S., Chebrou, M., Thoumire, S., Saint-Dizier, M., Chodkiewicz, M. & Reynard, K. (2010). Embryo biotechnology in the dog: a review. *Reproduction, Fertility and Development*, vol. 22, ss. 1049-1056.
- Daghighi Kia, H., Mohamadi Chapdareh, W., Hossein Khani, A., Moghaddam, G., Rashidi, A., Sadri, H. & Alijani, S. (2012). Effects of flushing and hormonal treatment on reproductive performance of Iranian Markhoz goats. *Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 96, ss. 1157-1164.
- Debraekeleer, J.; Gross, K.L.; Zicker, S.C. Feeding reproducing dogs. In: Hand, M.S, Thatcher, C.D.; Remillard, R.L. et al. (Eds.). *Small animal clinical nutrition*. Topeka: Mark Morris Institute, 2010. p.281-294.  
Tillgänglig: <http://www.markmorrisinstitute.org/references/15-sacn5-ref.html>, [2014-04-05]
- Driancourt, M.A. (2000). Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, vol. 55, ss. 1211-1239.
- Hales, C.N. & Barker, D.J.P. (2001). The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin* vol. 60, ss. 5-20.
- Hashem, N.M. & El-Zarkouny, S.Z. (2014). Effect of short-term supplementation with rumen-protected fat during late luteal phase on reproduction and metabolism of ewes. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 98, ss. 65-71.
- Landau, S., Bor, A., Leibovich, H., Zoref, Z., Nitsan, Z. & Madar, Z. (1995). The effect of ruminal starch degradability in the diet of Booroola crossbred ewes on induced ovulation rate and prolificacy. *Animal Reproduction Science* vol. 38, ss. 97-108.
- Mattsson, P. (2011). Det kom en fråga... . Svenska Pig, nr 2. <http://www.svenskapig.se/> [2014-04-17].
- McEvoy, T.G., Coull, G.D., Broadbent, P. J., Hutchinson, J.S.M. & Speake, B.K. (2000). Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pellucida. *Journal of Reproduction and Fertility*, vol. 118, ss. 163-170.
- Naqvi, S.M., Sejian, V. & Karim, S.A. (2013). Effect of feed flushing during summer season on growth, reproductive performance and blood metabolites in Malpura ewes under semiarid tropical environment. *Tropical Animal Health*, vol. 45, ss. 143-148.
- Sabra, H.A. & Hassan, S.G. (2008). Effect of new regime of nutritional flushing on reproductive performances of Egyptian Barki Ewes. *Global Veterinaria*, vol. 2(1), ss. 28-31.

- Scaramuzzi, R.J., Campbell, B.K., Downing, J.A., Kendall, N.R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M. & Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction, Nutrition, Development*, vol. 46, ss. 339-354.
- Schmidt, S., Hommel, A., Gawlik, V., Augustin, R., Junicke, N., Florian, S., Richter, M., Walther, D.J., Montag, D., Joost, H-G. & Schürmann, A. (2009). Essential role of glucose transporter GLUT3 for post-implantation embryonic development. *Journal of Endocrinology*, vol. 200, ss. 23-33.
- Schoenian, S. (2012-10-21). *Sheep 201*. <http://www.sheep101.info/201/ewerepro.html>, [2014-04-17].
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of domestic animals*. 2nd edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press. 804 pp.
- Sormunen-Cristian, R. & Jauhiainen, L. (2002). Effect of nutritional flushing on the productivity of Finnish Landrace ewes. *Small Ruminant Research*, vol. 43, ss. 75-83.
- Staples, C.R., Amaral, B., De Vries, A. & Thatcher, W.W. (2007). *Using fat supplementation to improve the chances of pregnancy of lactating dairy cows*. Western Dairy Management Conference (March 7-9 Reno, NV) Tillgänglig: <http://www.wdmc.org/2007/staples.pdf> [2014-03-31]
- Viñoles Gil, C., (2000). *Some aspects on the effects of estrous synchronization treatments on ovarian dynamics in the cyclic ewe*. Licenciatavhandling. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Wade, G.N. & Jones, J.E. (2004). Neuroendocrinology of nutritional infertility. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, vol. 278, ss. 1277-1296.
- West, K.S., Meyer, H.H. & Nawaz, M. (1991). Effects of differential ewe condition at mating and early postmating nutrition on embryo survival. *Journal of Animal Science*, vol. 69, ss. 3931-3938.
- Williams, S.A., Blache, D., Martin, G.B., Foot, R., Blackberry, M.A. & Scaramuzzi, R.J. (2001). Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Society for Reproduction and Fertility*, vol. 122, ss. 947-956.