

УДК 636.22/28.082.454

Л. Л. ЛЕТКЕВИЧ, А. И. ГАНДЖА, Л. В. ГОЛУБЕЦ

ЭНДОКРИННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ Фолликулогенеза у коров — доноров эмбрионов

*Институт животноводства НАН Беларуси
Гродненский государственный аграрный университет*

(Поступила в редакцию 25.01.2005)

Достигнутый к настоящему времени прогресс в изучении воспроизводительной функции, физиологии оогенеза и раннего эмбриогенеза крупного рогатого скота позволил создать ряд современных биотехнологий по использованию женских половых клеток и эмбрионов для ускоренного размножения высокоценных генотипов животных, таких, как трансплантация эмбрионов, оплодотворение ооцитов вне организма, получение трансгенных животных, клонирование и др. Однако практически все известные способы интенсификации использования репродуктивного и генетического потенциала животных сталкиваются с необходимостью гормональной регуляции фолликулогенеза и раннего эмбриогенеза [1; 3]. Результаты исследований, проводимых в области трансплантации эмбрионов, показали, что стимуляция множественного роста фолликулов с применением экзогенных гонадотропных препаратов не всегда достаточно эффективна: она вызывает значительную вариабельность реакции яичников и не дает стабильных положительных результатов. Основной причиной этого явления, по мнению некоторых исследователей, можно считать изменение гормональных взаимодействий в организме животных на всех стадиях формирования полиовуляции [2, 4, 5].

Новизна предлагаемых исследований заключалась в том, что впервые были изучены корреляционные взаимосвязи между эндогенными гормонами и изучаемыми показателями. Существование или отсутствие корреляционных связей позволит уточнить эндокринные механизмы формирования суперовуляторной реакции в организме, устранить причины высокой вариабельности уровня полиовуляции и выхода жизнеспособных эмбрионов, что крайне важно для повышения эффективности воспроизводства высокопродуктивных животных.

Объекты и методы исследования. Исследования проведены в РУП «Институт животноводства НАН Беларуси», РСУП «Племзаводе Кореличи» Гродненской и колхозе СПК «Рассвет» им. К. П. Орловского Могилевской областей. В качестве доноров эмбрионов использованы спонтанно циклирующие, клинически здоровые коровы черно-пестрой породы ($n = 34$) 4–6-летнего возраста от 60 до 90 дней после отела живой массой 500–550 кг. Для анализа количества гормонов у коров — доноров эмбрионов брали кровь из яремной вены. Гормоны в плазме крови определяли радиоиммунологическим методом в Институте биоорганической химии НАН Беларуси.

Результаты и их обсуждение. На основании проведенных исследований общего характера секреции гормонов яичников, гипофиза, надпочечников у коров-доноров в естественном половом цикле (0, 6, 7 и 10-й дни цикла), в период введения фолликулостимулирующего препарата ФСГ-П (10, 11, 12 и 13-й дни), в период формирования суперовуляторной реакции яичников (0, 6 и 7-й дни) изучена связь между гормонами в крови опытных животных на протяжении всего периода исследований по коэффициенту корреляций (табл. 1).

В наших исследованиях обнаружена отрицательная корреляционная зависимость реакции яичников на экзогенные гонадотропины и количества жизнеспособных эмбрионов от уровня секреции эстрадиола на 6-й день спонтанного полового цикла ($r = -0,49$; $P < 0,05$). По-видимому, повышенный эстрогеновый фон, созданный активными фолликулами в организме животных в этот период, оказывает неблагоприятное влияние на формирование полиовуляции последующего полового цикла под действием гонадотропинов. Такие животные, как правило, обладают низкой ответной реакцией яичников на гонадотропины, а если и дают реакцию, то выход

пригодных к пересадке зародышей низок. Увеличение уровня тестостерона в крови подопытных коров в соответствии с подъемами эстрадиола, положительная корреляционная зависимость между уровнями тестостерона и эстрадиола на протяжении всего периода исследований ($r = 0,42$; $P < 0,01$), а также зависимость реакции яичников коров от уровня тестостерона в день спонтанной охоты ($r = 0,52$; $P < 0,01$) свидетельствует о том, что тестостерон играет значительную роль в механизме гормональной регуляции фолликулогенеза у коров и подтверждает предположение о превращении андрогенов в организме самки в эстрогены.

Т а б л и ц а 1. Корреляционная связь между изучаемыми показателями по дням полового цикла

Сочетаемые признаки	Период полового цикла	r	P
Реакция яичников — эстрадиол	6-й день спонтанного цикла	-0,49	0,05
Реакция яичников — тестостерон	0-й день спонтанного цикла	0,52	0,01
Реакция яичников — кортизол	весь период исследований	-0,14	0,05
	6-й день стимулированного цикла	-0,48	0,05
Тестостерон — эстрадиол	весь период исследований	0,42	0,01
Прогестерон — кортизол	0-й день спонтанного цикла	0,52	0,05
ЛГ — ФСГ	11-й день полового цикла	-0,78	0,01
Пролактин — ЛГ	7-й день стимулированного цикла	-0,65	0,05
Эстрадиол — ФСГ	7-й день стимулированного цикла	-0,59	0,05

Установленная низкая отрицательная корреляционная зависимость реакции яичников коров на экзогенные гонадотропины от концентрации кортизола в крови доноров ($r = -0,14$; $P < 0,05$) в течение всего периода исследований и на 6-й день стимулированного полового цикла ($r = -0,48$; $P < 0,05$), а также прямая корреляционная взаимосвязь уровней секреции прогестерона и кортизола в день спонтанной охоты ($r = 0,52$; $P < 0,05$) свидетельствуют о согласованности действия яичников и коры надпочечников в регуляции воспроизводительной функции в день эструса. Однако высокие уровни кортизола в спонтанном цикле и в дни индукции полиовуляции оказывают негативное влияние на множественный рост фолликулов и выход качественных зародышей.

Наблюдалась высокая обратная корреляция ($r = -0,78$; $P < 0,01$) между уровнями секреции ЛГ и ФСГ на 11-й день полового цикла, что характерно для этого периода в естественном половом цикле. В наших исследованиях взятие крови подопытных животных проводилось утром до 3-й инъекции экзогенного гонадотропина. По-видимому, две предыдущие инъекции не внесли существенных изменений в эндокринный фон организма и механизм запрограммированного естественного фолликулогенеза. Наличие отрицательной связи между уровнем секреции пролактина и ЛГ ($r = -0,65$; $P < 0,05$), эстрадиола и ФСГ ($r = -0,59$; $P < 0,05$) на 7-й день стимулированного полового цикла свидетельствует о нарушении эндокринных взаимодействий в гипоталамо-яичниковой системе организма коров в результате суперовуляции, так как у спонтанно циркулирующих самок обычно отмечается синергичное взаимодействие пролактина и ЛГ, эстрадиола и ФСГ.

Таким образом, наличие стойкой положительной корреляции ($r = 0,42$; $P < 0,01$) между уровнями секреции тестостерона и эстрадиола за весь период исследований, прямой зависимости количества овуляций от содержания тестостерона на 0-й день спонтанного цикла ($r = 0,52$; $P < 0,01$) свидетельствуют о значительном влиянии тестостерона на фолликулогенез у коров. Корреляционные взаимосвязи между эстрадиолом и тироксином ($r = -0,17$; $P < 0,05$) в крови, а также зависимость уровня ответной реакции яичников коров на экзогенные гонадотропины от содержания кортизола ($r = -0,14$; $P < 0,05$), эстрадиола ($r = -0,49$; $P < 0,05$) свидетельствуют о согласованности действия эндокринных желез яичников, щитовидной железы и надпочечников.

Проведены исследования на наличие корреляционных связей между уровнями эндогенных гормонов в крови коров—доноров эмбрионов, обработанных различными типами фолликулостимулирующих препаратов (ФСГ-П, фолликотропин, ФСГ-Б и фоллитропин). Характер связи определяли на протяжении всего периода исследований по величине коэффициента корреляции (табл. 2).

Анализ корреляционной зависимости между секрецией эстрадиола за весь период исследований и реакцией яичников на экзогенные гонадотропины показал наличие отрицательной корреляции между этими показателями у животных, обработанных ФСГ-Б ($r = -0,42$; $P < 0,01$)

и фоллитропином ($r = -0,52$; $P < 0,01$), что может свидетельствовать о нарушении секреторной активности яичников у коров этих групп в связи с введением данных типов фолликулостимулирующих гормонов.

Т а б л и ц а 2. Корреляция между гормонами при использовании разных фолликулостимулирующих препаратов

Сочетаемые признаки	Препарат	r	P
Реакция яичников — эстрадиол	ФСГ-Б	-0,42	0,01
	Фоллитропин	-0,52	0,01
Тестостерон — эстрадиол	ФСГ-П	0,35	0,01
	Фолликулотропин	0,38	0,01
	ФСГ-Б	0,46	0,01
	Фоллитропин	0,53	0,01
Тестостерон — прогестерон	ФСГ-Б	0,3	0,05
Эстрадиол — прогестерон	Фоллитропин	0,36	0,05
Кортизол — реакция яичников	ФСГ-П	-0,29	0,01
Кортизол — ЛГ	ФСГ-П	0,38	0,05
Эстрадиол — тироксин	ФСГ-Б	-0,31	0,05
ФСГ — эстрадиол	ФСГ-Б	0,46	0,05
ФСГ — ЛГ	ФСГ-П	-0,44	0,05
Пролактин — эстрадиол	Фолликулотропин	-0,52	0,05

Изучение связи между уровнями секреции исследуемых гормонов в зависимости от типа экзогенного гонадотропина позволило выявить наличие стойкой положительной корреляции между количеством тестостерона и эстрадиола в крови опытных коров за весь период исследований при обработке каждым из четырех применяемых гормональных препаратов: ФСГ-П, ФСГ-Б, фолликулотропином и фоллитропином ($r = 0,35$; $r = 0,46$; $r = 0,38$; $r = 0,53$; $P < 0,01$, соответственно). Это еще раз указывает на то, что в организме самок андрогены являются субстратом ароматизации в клетках гранулезы в эстрогены. Кроме того, обнаружена положительная корреляция между уровнями тестостерона и прогестерона ($r = 0,3$; $P < 0,05$) в крови коров, обработанных ФСГ-Б, что может свидетельствовать о преобладании секреторной активности желтых тел над фолликулярной секрецией у этих животных в течение всего периода исследований, как и у коров, обработанных фоллитропином, у которых обнаружена положительная корреляционная зависимость секреции эстрадиола от количества прогестерона в крови ($r = 0,36$; $P < 0,05$). По-видимому, эти явления в динамике эндокринного фона отражают определенные нарушения механизма регуляции множественного роста фолликулов под действием ФСГ-Б и фоллитропина, что в конечном счете отрицательно сказывается на эффективности метода.

В наших исследованиях отмечалось выраженное увеличение количества кортизола у коров, обработанных ФСГ-Б в периоды, соответствующие предовуляторным пикам эстрадиола и ЛГ, что также негативно сказалось на реакции яичников и выходе жизнеспособных эмбрионов. С другой стороны, более низкие уровни кортизола свидетельствуют о лучшей адаптационной способности организма к стрессовым воздействиям, к которым относится и экзогенное введение гормональных препаратов.

Наличие отрицательной корреляции между количеством кортизола в крови коров, обработанных ФСГ-П, за весь период исследований и реакцией яичников ($r = -0,29$; $P < 0,01$) характеризует ФСГ-П, как препарат высокой степени очистки, со щадящим для организма фолликулостимулирующим действием, не нарушающим гормональный дисбаланс. Согласованная функция гонад и коры надпочечников позволила получить более высокие уровни супероуляции и количество пригодных для пересадки эмбрионов, как при использовании ФСГ-П и фолликулотропина. При недостаточной секреторной активности яичников стимулирующее влияние на кору надпочечников оказывают гипофизарные гормоны, как в случае с ФСГ-Б. Под его действием наблюдалось повышенное содержание тироксина в крови, а также отрицательная корреляция между уровнями секреции эстрадиола и тироксина ($r = -0,31$; $P < 0,05$), что указывает на усиление секреторной активности щитовидной железы при недостаточной секреции эстрадиола. У животных этой же группы обнаружена положительная корреляция между уровнями содержания ФСГ и эстрадиола ($r = 0,46$; $P < 0,05$) в течение всего периода исследований.

Отрицательная зависимость между содержанием ФСГ и ЛГ ($r = -0,44$; $P < 0,05$) у коров, обработанных ФСГ-П, за весь период исследований свидетельствует об оптимальном эндокринном фоне в организме самок, обеспечивающем регуляцию фолликулярного роста. Данная тенденция характерна для нормально циркулирующих животных, когда высокие уровни ФСГ соответствуют низким уровням ЛГ, и наоборот, в различные стадии полового цикла. По-видимому, качество фолликулостимулирующего препарата должно определяться соблюдением этой тенденции, гарантирующей высокий выход жизнеспособных эмбрионов. При использовании фолликулотропина отмечено наличие стойкой отрицательной корреляции между уровнями секреции пролактина и эстрадиола ($r = -0,52$; $P < 0,05$) за весь период проведения исследований. Снижение интенсивности синтеза пролактина у этих животных происходит под влиянием высоких концентраций эстрадиола в период стимулирующего действия гонадотропинов.

Таким образом, высокий уровень полиовуляции и выход пригодных к трансплантации эмбрионов коррелирует с низким содержанием эстрадиола и кортизола в организме потенциальных доноров в течение всего периода после спонтанного эструса. Наличие положительной корреляции между тестостероном и эстрадиолом за весь период свидетельствует о значительном влиянии тестостерона на фолликулогенез. Обратная зависимость между кортизолом и ЛГ в период, предшествующий полиовуляции, способствует получению достаточного количества полноценных зародышей.

Уровню ответной реакции яичников коров соответствует определенный гормональный фон в организме животного во все фазы формирования суперовуляции. В связи с чем нами проведены исследования на наличие корреляционных связей между секрецией эндогенных гормонов и уровнем ответной реакции яичников коров-доноров (табл. 3). Животные были разделены на три группы: I — не реагирующие на обработку (до 2-х желтых тел); II — животные с числом желтых тел от 3-х до 8-ми; III — животные с высокой степенью суперовуляции (от 9 до 12 желтых тел).

Животные I группы, не реагирующие на гормональную обработку, отличались снижением чувствительности яичников к гонадотропинам при недостаточности функции щитовидной железы, что подтверждает наличие положительной связи между уровнем секреции тироксина и ФСГ ($r = 0,35$; $P < 0,05$). Положительная зависимость между ЛГ и эстрадиолом за весь период исследований для этих животных ($r = 0,38$; $P < 0,05$) свидетельствует о преобладании ЛГ-зависимого роста фолликулов, что у нормально циркулирующих самок обнаруживается на поздних стадиях фолликулогенеза.

Т а б л и ц а 3. Корреляционная связь между гормонами у животных с разным уровнем суперовуляции

Сочетаемые признаки	Число желтых тел	r	P
Тестостерон — эстрадиол	3—8	0,53	0,01
	9—12	0,46	0,01
Тестостерон — реакция яичников	до 2	0,26	0,05
Кортизол — ФСГ	9—12	0,22	0,05
Тироксин — ФСГ	до 2	0,35	0,05
Тироксин — эстрадиол	3—8	-0,32	0,01
ЛГ — эстрадиол	до 2	0,38	0,05
	3—8	-0,59	0,01
Пролактин — эстрадиол	3—8	-0,22	0,05

Установлена положительная корреляция между уровнями секреции тестостерона и эстрадиола в крови коров II и III групп за весь период исследований ($r = 0,53$ и $r = 0,46$; $P < 0,01$). Для животных, не реагировавших на обработку, характерно наличие положительной корреляции ($r = 0,26$; $P < 0,05$) между уровнем секреции тестостерона и реакцией яичников, что свидетельствует о нарушении стероидопродуцирующей активности яичников коров этой группы. Положительная корреляционная зависимость между уровнем секреции кортизола и ФСГ ($r = 0,22$; $P < 0,05$) у животных III группы характеризует увеличение секретной активности коры надпочечников под влиянием растущих концентраций ФСГ в крови коров с высокой степенью суперовуляции. У животных II группы обнаружена отрицательная корреляционная зависимость между содержанием тироксина и эстрадиола ($r = -0,32$; $P < 0,01$); ЛГ и эстрадиола ($r = -0,59$; $P < 0,01$); пролактина и эстрадиола ($r = -0,22$; $P < 0,05$), что говорит о значительных нарушениях гормональной регуляции фолликулярного роста.

Таким образом, наличие стойкой положительной корреляционной зависимости между тестостероном и эстрадиолом в период формирования суперовуляторной реакции, создает благоприятный фон в организме, обеспечивающий высокий уровень полиовуляции.

Выводы

1. Наличие стойкой положительной корреляции ($r = 0,42$; $P < 0,01$) между уровнями секреции тестостерона и эстрадиола за весь период исследований, прямой зависимости количества овуляций от содержания тестостерона на 0-й день спонтанного цикла ($r = 0,52$; $P < 0,01$) создает в организме потенциальных доноров благоприятный гормональный фон, обеспечивающий высокий уровень полиовуляции.

2. Высокий уровень полиовуляции и выход пригодных к трансплантации эмбрионов коррелирует с низким содержанием эстрадиола и кортизола в организме потенциальных доноров в течение всего периода после спонтанного эструса.

Литература

1. Дегай В. Эндокринные аспекты физиологии и патологии размножения крупного рогатого скота. Владивосток, 1994.
2. Розен В. Б. Основы эндокринологии. М., 1984.
3. Хилькевич С. Н., Тяпугин Е. А., Самоделкин А. Г., Шириев В. М. // Докл. Рос. акад. с.-х. наук. 1995. № 3. С. 38—39.
4. Bevers M. M., Dieleman S. J. // Anim. Reprod. Sci. 1987. N 15. P. 37—52.
5. Blodow G., Kanitz E. // Reprod. Dom. Anim. 1983. N 28. P. 97—107.

LETKEVICH L. L., GANDJA A. I., GOLUBETS L. V.

ENDOCRINE REGULARITIES OF FORMATION OF FOLLICLEGENESIS OF DONOR-COWS EMBRYOS

Summary

Correlation analysis of hormones secretion of hypophysis, ovaries, adrenal gland and thyroid in spontaneous and superovulating cycles of donor cows and between hormones and superovulating level depending on follicle stimulating type of a preparation has been made. It has been found that a high level of polyvulation is connected with testosterone and estradiol positive correlation ($r = 0.42$) and a low level of estradiol and cortisol ($r = -0.14$; $r = -0.49$) in blood serum during the observation period.