

HALINA PIGONIOWA

Badania nad wydzielaniem hormonów gonadotropowych u źrebnych klaczy

Z Katedry Fizjologii Zwierząt WSR w Krakowie
Kierownik: prof. dr ZYGMUNT EWY

Obecność hormonów gonadotropowych w surowicy krwi klaczy źrebnych została po raz pierwszy wykazana w 1930 r. przez *Cole* i *Harta* (9). Odtąd hormon ten znajdowano w krwi klaczy rozmaitych ras (1, 6, 10), zawsze we wczesnych okresach ciąży, od około 40 dnia po pokryciu. Druga połowa ciąży nie wykazywała obecności gonadotropiny, podobnie jak nigdy nie znajdowano jej w moczu tych zwierząt.

Początkowo przypuszczano, że hormon gonadotropowy źrebnych klaczy jest pochodzenia przysadkowego. Wkrótce jednak, gdy okazało się, że gruczoł przysadkowy klaczy w czasie ciąży nie daje żadnych histologicznych ani fizjologicznych dowodów podwyższonej czynności gonadotropowej, przypuszczenie to odrzucono. Kolejną sugestią była wysunięta przez *Catchpole* i *Lyonsa* (4) w 1934 r. koncepcja łożyskowego pochodzenia gonadotropiny klaczy. Z szeregu biologicznych i histologicznych danych wywnioskowali oni, że najprawdopodobniej nabłonek kosmówkowy łożyska jest źródłem hormonu. Sprawę ostatecznie rozstrzygnął w 1943 r. *Cole* (8), dostarczając dowodów na maciczne pochodzenie gonadotropiny. *Cole* wykazał, że hormon ten produkowany jest przez specyficzne twory śluzówki macicy, przez tzw. kubki endometrialne („endometrial cups”).

Kubki endometrialne znane są histologom od szeregu lat. Zostały one opisane w 1912 r. przez *Schaudera* (14), jako „tworzące się nieodmiennie w miejscach zetknięcia się kosmówki i endometrium, w okolicy zagęszczenia naczyń pępkowych i omoczniovych”. *Cole* przypisał im w 1943 r. po raz pierwszy czynność fizjologiczną.

Obserwacje *Cole* o macicznym pochodzeniu gonadotropiny z surowicy źrebnej klaczy zostały potwierdzone całkowicie w 1954 r. przez *Clegg*, *Boda* i *Cole* (5), którzy używając biologicznej i histochemicznej techniki wykazali w kubkach endometrialnych obecność glikoproteidów (hormon gonadotropowy chemicznie uważany jest za glikoproteid, zawierający około 17% galaktozy). Kiedy kubki endometrialne barwiono odczynnikami Feulgena po utlenieniu kwasem nadjodowym, to sekrecja kubków i nabłonek gruczołowy barwiły się na kolor czerwony, charakteryistyczny dla glikoproteidów, wykazując tym samym, że komórki nabłonkowe kubków są rzeczywistym źródłem gonadotropiny.

Pogląd, że kubki endometrialne są miejscem wytwarzania gonadotropiny jest umacniany

także przez fakt, że rozwój kubków jest ściśle związany z pojawieniem się hormonu w krwi. Nie ma żadnych wykrywalnych ilości gonadotropiny w bardzo wczesnych i bardzo późnych stadiach ciąży, nie ma też wtedy kubków. Wydaje się, że we wczesnych okresach ciąży rozwijające się kubki działają głównie jako gruczoły wewnętrznego wydzielania przekazując wyprodukowany hormon wprost do krwiobiegu. W tych stadiach źrebności krew zawiera około 200 razy więcej hormonu aniżeli jest go w kubkach i ich sekrecji. Później, całkowicie rozwinięte kubki stają się także gruczołami o wydzielaniu wewnętrznym, wydzielając znaczne ilości hormonu do światła gruczołu, skąd przedostaje się on łatwo do przestrzeni pomiędzy kosmówką a endometrium. W tych późniejszych okresach ciąży krew zawiera tylko 3 razy więcej hormonu niż sekrecja kubków. Podawane przez *Clegga* i współpracowników wartości dla obu okresów ciąży wynoszą:

wczesne stadia ciąży — 600.000 J. Mn. gonadotropiny w krwi, 300 J. Mn. gonadotropiny w sekrecji kubków,

późniejsze stadia ciąży — 3 mil. J. Mn. gonadotropiny w krwi, 1 mil. J. Mn. gonadotropiny w sekrecji kubków.

Czasem nagromadzona sekrecja wypycha allantochorion tworząc zwisający woreczek, wypełniony złoto-zółtą wydzieliną hormonu, ale nie jest to regułą.

Kubki endometrialne zaczynają się rozwijać, gdy płód ma 2 cm długości (licząc od nasady ogona do czoła). Jest to także okres pojawiania się gonadotropiny w krwi klaczy. Odpowiada to 37—43 dniowi ciąży. Pełny rozwój osiągają kubki przy długości płodu 4—10 cm. Odpowiada to okresowi 50—80 dnia ciąży. Jest to także okres największej koncentracji gonadotropiny w krwi klaczy. Okres zanikania, złuszczenia się kubków i jednoczesne zmniejszanie się wydzielanej ilości hormonu gonadotropowego następuje około 80—100 dnia ciąży. W 150 dniu ciąży, przy długości płodu około 30 cm gonadotropiny nie znajduje się już zazwyczaj w surowicy klaczy, a kubki endometrialne są w stanie zaniku. Ilustrację powyższego stanowić mogą dane liczbowe zaczerpnięte z pracy *Clegga* i współprac. (5), odnoszące się do długości płodu i zawartości hormonu gonadotropowego w kubkach i surowicy krwi (Tabl. 1) oraz wykres z pracy *Bielańskiego*, *Ewy* i *Pigoniowej* (3), odnoszący się do poziomu gonadotropiny w surowicy krwi klaczy źrebnych tej samej rasy (Fig. 1).

Tab. 1. Gonadotropina w kubkach endometrialnych i w krwi w różnych stadiach ciąży

Długość płodu	Dni ciąży	Gonadotropina w kubkach w tysiącach J. Mn.	Gonadotropina w krwi w J. Mn./1 ml surowicy
2,0 — 4,9	40	21	0 — 160
5,0 — 9,9		308	6 — 296
10,0 — 14,9	80	245	< 1 — 98
15,0 — 19,9		911	0,5 — 106
20,0 — 24,9	100	231	0,2 — 155
25,0 — 29,9		121	0,2 — 155
30,0 — 34,9	150	30	< 0,1 — < 1

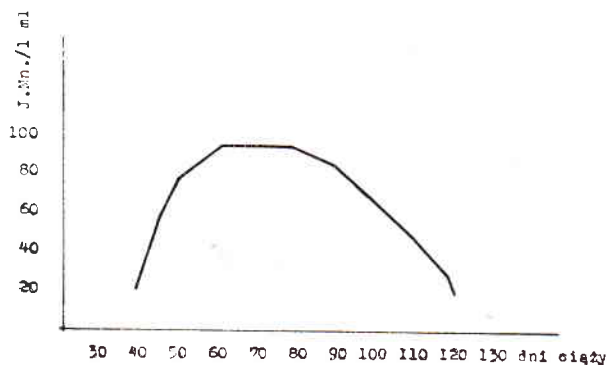


Fig. 1. Poziom hormonów gonadotropowych w surowicy żrebrnych klaczy

Zawartość hormonów gonadotropowych w surowicy żrebrnych klaczy w tym samym okresie ciąży zależy od szeregu czynników, wśród których własności osobnicze, indywidualne i rasowe wysuwają się jako najbardziej zasadnicze.

W 1938 r. *Cole* (8) zauważył, że koncentracja gonadotropiny w krwi żrebrnych pony jest dużo większa niż u dużych ras koni. Te spostrzeżenia zostały potwierdzone później w ośrodku krakowskim, w 1952 r. przez *Bieleńskiego* i współprac. (1). W badaniach tych wykazano, że różnice międzyrasowe w wydzielaniu hormonów gonadotropowych przez żrebrne klacze są dość znaczne. Podczas gdy klacze czystej krwi arabskiej wykazywały maksymalną koncentrację gonadotropiny 2 mil. J. Mn., to klacze ras ciężkich (Ardeny, Belgii) w tym samym okresie ciąży miały 5 razy mniej hormonu, bo zaledwie 400.000 J. Mn.

W czasie badań grupy krakowskiej nad poziomem hormonów gonadotropowych w krwi klaczy różnych ras do doświadczeń użyta została także krzyżówka międzygatunkowa, w której klacz była pokrywana osłem. Wyniki otrzymane z tej mieszanej ciąży okazały się dość zaskakujące, ponieważ surowice pochodzące z ciąży z mułem dawały stale negatywne wyniki próby wykonywanej na zawartość gonadotropin. Testy przeprowadzono na 4 klaczach, które w ciągu kolejnych 3 lat kryte były na przemian, raz koniem a raz osłem. Ponadto do badań

użyto 4 innych klaczy, które kryto tylko osłem. Szczegóły i schematycznie ujęte wyniki *Bieleńskiego*, *Erwy* i *Pigoniowej* (2) przedstawiono na tabl. 2. Jak widać z tablicy, w tych do-

Tab. 2. Wyniki testów surowicy klaczy krytych koniem i osłem

Nr klaczy	1951		1952		1953	
	ogier	wynik testu	ogier	wynik testu	ogier	wynik testu
1	koń	+	osioł	-	koń	+
2	osioł	-	koń	+	koń	+
3	osioł	-	osioł	-	koń	+
4	osioł	-	osioł	-	koń	+
5	osioł	-	jałowa		osioł	-
6	jałowa		jałowa		osioł	-
7	osioł	±	nie badana		osioł	-
8	jałowa		osioł	-	jałowa	

świadzeniach obecność hormonów gonadotropowych w surowicy krwi pochodzącej z ciąży z koniem wykazano we wszystkich przypadkach, od 47 do 106 dnia ciąży, natomiast testy wykonywane z surowicą klaczy krytych osłem były stale negatywne, pomimo, że krew pochodziła z okresów ciąży najbardziej charakterystycznych dla gonadotropiny, od 12 do 130 dnia po pokryciu. Spośród 12 przebadanych ciąży z mułem tylko 1 dawała wynik wątpliwy, raz pozytywny raz negatywny co w tablicy odnotowano jako ±. Niska czułość testu Galli Mainini, ograniczająca ilość wykrywanych gonadotropin do wyższych niż 20 J. Mn. utrudniła autorom wyciągnięcie ostatecznych wniosków. Pewnym potwierdzeniem uzyskanych wyników były doniesienia *Josepha* (11) i *Oliva* (12), którzy przy ciążach z osłem w próbie Galli Mainini'ego i Friedmanna otrzymywali również niezgodne lub wręcz negatywne wyniki. W ten sposób przez długi czas nie było jasne czy klacz kryta osłem nie wydziela w czasie ciąży gonadotropiny w ogóle czy też tylko poziom wydzielanego hormonu jest bardzo niski. Wyjaśnienie przyniosła wykonana w 1959—1960 r. wspólna praca ośrodka krakowskiego i kalifornijskiego (13), wykonana w pracowni endokrynologicznej *H. H. Cole*.

4 klacze, *Perszeron*, *American Saddlebred* i 2 pełnej krwi angielskiej, zostały w lecie 1959 r. pokryte osłem. Krew była pobierana przez okres 5—6 miesięcy ciąży, raz na tydzień. Dla porównania oznaczano także poziom hormonów gonadotropowych w krwi 2 innych klaczy pełnej krwi pokrytych koniem. Koncentrację hormonów w tych badaniach oznaczano wysoko specyficzną metodą *Cole* i *Erway'a* (7), używając młodych, 23-dniowych samic szczu-
ra szczepu Long Evans i opierając się na fakcie, że gonadotropina z surowicy żrebrnych klaczy pobudza przysadkę i może być wykazana

zmianami w wadze jajników użytych do testów zwierząt.

Jak widać z przedstawionych na rys. 2 wyników oznaczeń, okres pojawiania się gonadotropin w krwi klaczy krytych osłem przypada na 39—43 dzień ciąży, podobnie jak się to obserwuje u klaczy krytych koniem. Maksymalną koncentrację hormonu przy ciążach z mułem zanotowano: u 3 klaczy pomiędzy 55 a 60 dniem po pokryciu i u 1 klaczy (American Saddlebred) w 43 dniu, nieco wcześniej niż przy ciążach z koniem. Czas znikania hormonu z krwi przy ciążach z mułem określony na 110—111 dzień po pokryciu pokrywał się w zasadzie z czasem zaniku gonadotropin z krwi klaczy krytych koniem. Wyjątek stanowiła klacz American Saddlebred, u której hormony znikły w 59 dniu ciąży.

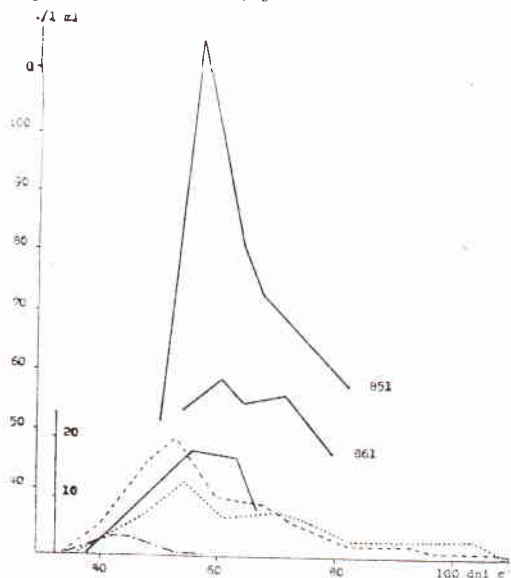


Fig. 2. Poziom gonadotropiny w surowicy krwi klaczy krytych koniem (851 i 361) i osłem

Zasadnicze różnice pomiędzy ciążą z mułem a ciążą z koniem wystąpiły jednak dopiero przy ilościowej ocenie wydzielanego do krwi hormonu. Uzyskane maksymalne stężenia gonadotropin w surowicy klaczy krytych osłem okazały się bardzo niskie, dużo niższe niż stężenia uzyskiwane normalnie w czasie ciąży z koniem. Podczas gdy koncentracje gonadotropiny dla ciąży z koniem wynosiły 56—112 J. Mn. (1 ml surowicy, to dla ciąży z mułem wynosiły one zaledwie 2,5—20 J. Mn.) 1 ml surowicy.

W czasie doświadczenia jedna z klaczy krytych osłem, Perszeron, została zabita w 69 dniu ciąży, gdy koncentracja hormonu w jej krwi wynosiła 8 J. Mn./1 ml surowicy. U tej klaczy znaleziono w macicy normalnie wykształcone kubki endometrialne, o koncentracji gonadotropiny 4 J. Mn./1 mg tkanki oraz skąpą wydzielinę hormonu o całkowitej aktywności 190 J. Mn.

Przytoczone powyżej badania zostały w 1960 r. przedstawione na I Międzynarodowym Kon-

gresie Endokrynologii w Kopenhadze. Wydaje się, że dostarczyły one oczywistego dowodu na to, że hormon gonadotropowy jest wydzielany przez klacze kryte osłem. Okres pojawiania się gonadotropin u tych klaczy, okres maksymalnej koncentracji i czas zaniku hormonów wydają się być podobne do tych jakie obserwuje się przy ciążach z koniem. Różnice jakie istnieją pomiędzy tymi dwoma rodzajami ciąży dotyczą przede wszystkim ilości wydzielanych hormonów, bardzo niskich u klaczy krytych osłem. Tym też zapewne należy tłumaczyć negatywne wyniki w doświadczeniu Bielańskiego i współpracowników, opierających oznaczenia ilościowe gonadotropin o mało czuły test jakim jest próba plemnikowa. Nie umniejsza to jednakże znaczenia tej pracy, która wspólnie z następną potwierdza pogląd, że różnice w wydzielaniu hormonów gonadotropowych do krwi w czasie ciąży u klaczy polegają na odmienności genotypów matki i płodu, i że rozwijający się płód wpływa zdecydowanie na czynność wewnętrzwydzielniczą organizmu matczynego.

Piśmiennictwo

1. Bielański W., Ewy Z., Pigińska H.: Roczn. N. Roln., 65, 245, 1930.
2. Bielański W., Ewy Z., Pigińska H.: Bull. Acad. Pol. Sci. 3, 189, 1955.
3. Bielański W., Ewy Z., Pigińska H.: III Internat. Congress on Animal Reproduction, Cambridge, 111, 1956.
4. Catchpole H. R., Lyons W. R.: Amer. J. Anat., 55, 167, 1934.
5. Clegg M. T., Boda J. M., Cole H. H.: Endocrinol., 54, 448, 1954.
6. Cole H. H.: Proc. Soc. Exper. Bio. & Med., 38, 193, 1933.
7. Cole H. H., Erway J.: Endocrinol., 29, 514, 1941.
8. Cole H. H., Goss H.: Essays in Biology, Univ. of Calif. Press, 1943.
9. Cole H. H., Hart G. H.: Amer. J. Physiol., 93, 57, 1930.
10. Day F. T., Rowlands I. W.: J. Endocrin., 5, 1, 1947.
11. Joseph H.: Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord, 43, 25, 1952.
12. Oliva G.: Clin. Vet., 77, 5, 1954.
13. Pigoń H., Howard Ch. B., Clegg M. T., Cole H. H.: I Internat. Congress on Endocrinology, Copenhagen, 679, 1960.

Adres autora: dr Halina Pigińska, Kraków, Rynek Główny 6/7a.

WYNOHRADNIK VL., CIRSTET I.: Wpływ mieszanych zakażeń i działania pewnych fizykalnych czynników na świnię szczepioną lapinizowanym wirusem pomoru świń. (Efectul intectiilor asociate si al actiunii unor factori fizici asupra porcilor supusi vaccinarii cu virus pestos lapinizat). Luct. Stiintifice Inst. Pat. Ig. Animala, t. X, 1960, Bukareszt.

Świnię doświadczalnie zakażone wirusem choroby Aujeszky, *S. cholerae suis*, *B. perfringens* lub *Pasteurella*, ciężiej znoszą szczepienie lapinizowanym wirusem aniżeli zwierzęta niezakażone. Straty wśród zwierząt szczepionych lapinizowanym wirusem i następnie poddanych działaniu pewnych czynników wywołujących zaburzenia w ich równowadze czynnościowej, są wyższe aniżeli u zwierząt nie poddanych działaniu tych czynników. U świń terenowych, u których często zdarza się ukryte zakażenie różnymi drobnoustrojami, straty po szczepieniu lapinizowanym wirusem mogą być wysokie. Celem zmniejszenia względnie zapobiegania stratom występującym wskutek stosowania lapinizowanej szczepionki u zwierząt z mieszanymi zakażeniami, wskazane jest, by szczepionkę stosować równocześnie z surowicą i antybiotykami o szerokim działaniu na drobnoustroje.

M. Bohosiewicz