

RENATA GROCHOWSKA, MAREK SNOCHOWSKI*, ZYGMUNT REKLEWSKI

Charakterystyka zmian stężeń hormonu wzrostu we krwi obwodowej bydła rasy czarno-białej*)

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec, 05-551 Mroków

*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, 05-110 Jabonna

Grochowska R., Snochowski M., Reklewski Z.

Characteristics of growth hormone changes in peripheral blood in Polish Friesian cattle

Summary

Five heifers and five bulls averaging 11 months of age were used to characterise plasma growth hormone (GH) pattern in Polish Friesian cattle. Animals were fed a diet of corn silage, hay and concentrates twice daily. They gained weight at a mean rate of 0.7 kg/d for heifers and 0.9 kg/d for bulls. Serial blood samples were collected through catheters at 15 min intervals over 4 hours. To estimate the pulse, characteristics of GH the computer program PULSAR was used. The results of the study confirm the pulsatile nature of growth hormone secretion in cattle. The following values for plasma GH parameters were obtained for heifers and bulls respectively: mean concentration, 17.8 and 18.7 ng/ml; smooth value, 9.5 and 9.6 ng/ml; peak amplitude, 15.7 and 20.8 ng/ml; peak frequency, 0.98 and 1.02 h⁻¹. The GH secretion particularly varied among animals for mean and smooth value. A correlation between basic GH concentration and peak amplitude was found. The obtained results suggest that the peak frequency is a biologically important parameter associated with the growth rate.

Hormon wzrostu (GH, somatotropina) działa anabolicznie, stymulując podział komórek, rozwój szkieletu i syntezę białek (23). Najbardziej charakterystycznym efektem działania tego hormonu jest pobudzenie wzrostu całego organizmu poprzez wpływ na liniowy wzrost kości długich. Anaboliczna aktywność somatotropiny realizowana jest za pośrednictwem insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1), produkowanego w wątrobie (26).

Hormon wzrostu wykazuje również aktywność lakto-geną, potwierdzoną badaniami u wielu gatunków ssaków (8, 15). Komercyjne wykorzystanie bydłowej rekombinowanej somatotropiny (bST) w celu stymulacji produkcji mleka u bydła zalecane jest przez znane firmy amerykańskie, np. Cornell-Monsanto. Badania Baumana i wsp. (4) przeprowadzone na krowach mlecznych, wykazały wzrost produkcji mleka od 23 do 41% w zależności od wielkości dziennej dawki bST (13,5, 27 lub 40,5 mg na krowę). Według Oldenbrokea i wsp. (21) jednorazowe podanie 640 mg bST w ciągu 28 dni u krów rasy czarno-białej wpłynęło na wzrost wydajności mleka o 3,3 kg, natomiast zawartości tłuszczu o 0,24%.

Zmienność stężenia endogennego hormonu wzrostu we krwi może odzwierciedlać genetyczne różnice między zwierzętami związane z cechami użytkowymi. Badania niektórych autorów (3, 14) wykazały, że wy-

soki poziom GH we krwi bydła mlecznego związany jest z selekcją w kierunku wzrostu produkcji mleka.

Wyniki dotychczasowych badań budzą jednak wiele kontrowersji i nie dostarczają oczekiwanej informacji o sekrecji hormonu wzrostu. Większość z nich opierała się na próbach krwi pobieranych w różnych odstępach czasu, bez uwzględniania pulsacyjnego charakteru wydzielania somatotropiny z przysadki do krwi. Obecnie dostępne są pakiety programowe, które pozwalają na komputerowe opracowanie charakterystyki impulsowych zmian stężeń hormonalnych, jak np. program PULSAR (16).

U wszystkich gatunków ssaków hormon wzrostu jest wydzielany w sposób pulsacyjny do krwi. Sekrecja GH uzależniona jest od działania dwóch systemów podwzgórzowych: czynnika pobudzającego wydzielanie – GRF oraz czynnika hamującego – somatostatyna (27). Pulsacyjny charakter sekrecji hormonu wzrostu został po raz pierwszy stwierdzony u buhajów i wołów przez Anfinsona i wsp. (1), natomiast u krów mlecznych przez Vasilatosa i Wangsessa (28).

Należy oczekiwać, że u jednego zwierzęcia występuje jednakowy profil sekrecji hormonu wzrostu. Duża zmienność rejestrowana jest między zwierzętami (17). Do tej pory nie stwierdzono jednoznacznie, na ile różnice te uwarunkowane są genetycznie, a na ile czynnikami środowiskowymi.

W wielu pracach podkreślane jest istotne znaczenie żywienia przy określaniu poziomu somatotropiny we krwi, szczególnie u przeżuwaczy (22). Badania Enrighta i wsp. (7) przeprowadzone na jałówkach

*) Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr 5 PO6D 01109 finansowanego przez KBN.

żywionych dawkami o zróżnicowanym poziomie energetycznym wykazały, że podczas zmniejszania się tempa wzrostu u rosnących zwierząt następuje wzrost stężenia GH oraz częstotliwości pulsów.

Stężenie hormonu wzrostu we krwi u bydła ulega znacznym zmianom wraz z wiekiem. Według Schamasa i wsp. (25) stężenie GH wynosi w pierwszych miesiącach życia 10-15 ng/ml, następnie spada do 2-8 ng/ml, wzrasta ponownie do 15-18 ng/ml w czasie dojrzewania i ostatecznie osiąga u dorosłej krowy mlecznej poziom 5-10 ng/ml. Yelich i wsp. (29) stwierdzili, badając jałówki między 9 a 11 miesiącem życia, szczególne wahania stężenia somatotropiny oraz amplitudy pulsów w okresie dojrzewania młodych zwierząt.

Ze względu na wpływ różnych czynników na sekrecję hormonu wzrostu, optymalną ilość informacji można uzyskać badając zwierzęta w ustalonych warunkach środowiskowych. W Polsce badania tego typu są szczególnie celowe w przypadku rasy czarno-białej (cb), która stanowi 93,30% populacji krajowej (5) i jest głównym źródłem zaopatrzenia konsumentów w mleko i wołowinę. Według wyników oficjalnej kontroli użytkowości średnia wydajność od krowy cb wynosi 4390 kg mleka o zawartości 4,07% tłuszczu i 3,27% białka (5). Z kolei badania Jasińskiego i wsp. (9) dotyczące wskaźników tempa wzrostu dla rasy cb wykazały, że jałówki z dolewem krwi holsztyńskiej przyrastają dziennie między urodzeniem a 12 miesiącem życia w polowych warunkach produkcyjnych 0,67 kg, natomiast buhaje w intensywnych warunkach żywienia 1,2 kg.

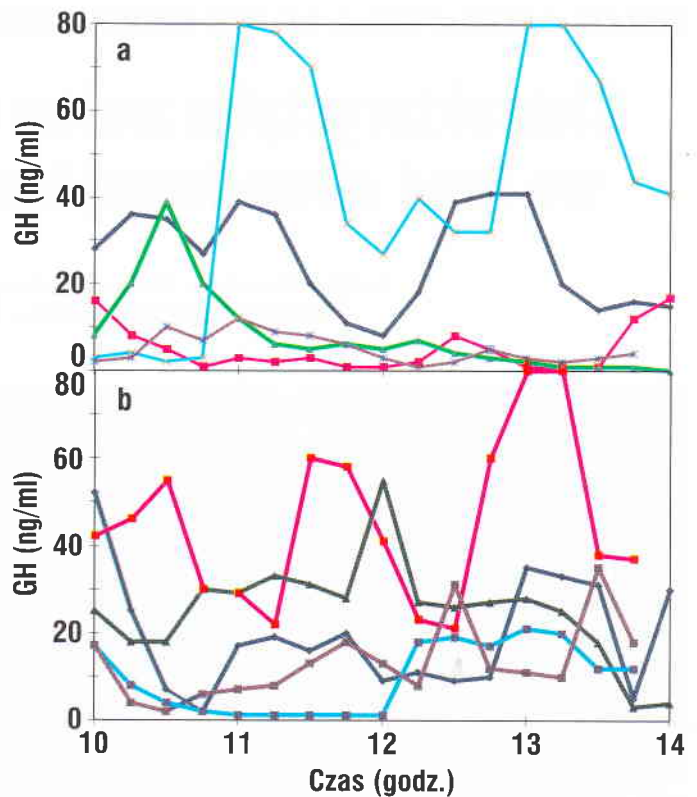
Poznanie fizjologicznych mechanizmów, kierujących sekrecją hormonu wzrostu, może mieć wpływ na wzrost produkcji mleka i mięsa dla rasy czarno-białej w Polsce. W literaturze polskiej brak jest opracowań dotyczących pulsacyjnych zmian hormonu wzrostu we krwi obwodowej bydła. Podjęcie takich badań ma szczególne uzasadnienie dla osobników w wieku 11-12 miesięcy życia, kiedy przeprowadzana jest selekcja decydująca o dalszej przydatności zwierzęcia dla hodowli.

Celem pracy była charakterystyka zmian stężeń hormonu wzrostu we krwi obwodowej jałówek i buhajów rasy czarno-białej w standardowych warunkach produkcyjnych.

Material i metody

Zwierzęta. W badaniach wykorzystano 5 jałówek i 5 buhajów z Zakładu Doświadczalnego IGiHZ PAN w Jastrzębcu. Zwierzęta pochodziły po 5 ojczym odmiennie holsztyńskiej oraz 10 matkach rasy polskiej czarno-białej. Wiek, masy ciała oraz średnie przyrosty dzienne badanych zwierząt przedstawiono w tab. 1.

Zywienie. Jałówki i buhaje żywiono kiszconką z kukurydzy, sianem łąkowym oraz paszami treściwymi normowanymi według płci i wieku (18). Kiszconka zawierała średnio 33,3 g białka ogólnego (CP) i 1,8 MJ energii metabolicznej (EM) w 1 kg paszy, siano 102,8 g CP i 3,0 MJ EM, natomiast pasza treściwa odpowiednio 189,7 g CP oraz 5,3 MJ EM. Zwierzęta otrzymywały dodatki mineralno-witaminowe w formie Polfamixu C oraz lizawek mineralnych (Polfarm, Grodzisk Mazowiecki). Odpasy odbywały się około godziny 6 rano i 16 po południu.



Ryc. 1. Zmiany stężeń hormonu wzrostu we krwi obwodowej 5 jałówek (a) oraz 5 buhajów (b) rasy czarno-białej utrzymywanych w standardowych warunkach produkcyjnych

Pobranie krwi. Próby krwi pobierano w marcu i maju 1995 r. Zwierzęta w wieku 11 miesięcy ważono, a następnego dnia poddawano kaniulacji na stanowiskach uwięziowych. Na 24 godziny przed pierwszym pobraniem krwi wprowadzano do żyły szyjnej kaniulę typu Viggo-Spectramed Secalon (Seldy, Anglia) o długości 42 cm. Zbiórka krwi odbywała się w ciągu 4 godzin w odstępach 15 minutowych, począwszy od godziny 9 rano. Krew zbierano do 9 ml probówek typu Vacuette z heparyną (Greiner Labortechnik, Niemcy). Osocze uzyskane przez wirowanie w temp. +4°C przy 2000×g przechowywano w -20°C do czasu wykonania analiz.

Analiza laboratoryjna. Poziom hormonu wzrostu we krwi obwodowej badanych zwierząt określano rutynową metodą radioimmunologiczną podwójnych przeciwciał (6). Oznaczenia wykonano w powtórzeniach w 50-100 µl osocza z zastosowaniem bydłowego rekombinowanego GH (Monsanto, USA) jako wzorca. Czułość metody wynosiła 1,6 ng/ml a wewnątrzseryjny i międzyseryjny współczynnik zmienności wynosił odpowiednio 10 i 14%.

Analiza statystyczna. Średni poziom hormonu wzrostu dla każdego zwierzęcia określono na podstawie powierzchni pola pod krzywą wyliczonego jako suma powierzchni trapezowych między krzywą a osią odciętych. Charakterystyka zmian stężeń GH została przeprowadzona przy wykorzystaniu programu komputerowego PULSAR, zmodyfikowanego przez Merriam i Wachter (16), a dostosowanego do potrzeb IBM-PC przez Gitzen i Ramirez (University of Illinois, Urbana, USA). Przyjęty poziom dyskryminacji parametrów G (n) wynosił 5% zmienności błędów przy założeniu normalnego rozkładu danych.

Tab. 1. Wiek, masa ciała oraz średni przyrost dzienny badanych zwierząt

Cechy	Jałówki n=5		Buhaje n=5		Ogółem n=10	
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
Wiek ^a	337,4	17,7	321,8	7,9	329,6	15,3
Masa ciała ^b	268,2	22,8	322,6	23,8	295,4	36,1
Przyrost ^c	0,691	0,05	0,876	0,06	0,784	0,11

Objaśnienia: ^a – wiek podczas pobrania prób krwi (dni), ^b – masa ciała w dniu przed kaniulacją (kg), ^c – średni przyrost dzienny między urodzeniem a 11 miesiącem życia (kg/dzień).

W celu przybliżonego określenia wpływu niektórych czynników na stężenie hormonu wzrostu we krwi badanych zwierząt przeprowadzono wstępną analizę wariancji, w której uwzględniono płeć, wiek pobrania prób krwi, masę ciała w dniu przed kaniulacją oraz średni przyrost dzienny liczony między urodzeniem a 11 mies. życia. Określono również korelację między parametrami stężenia hormonu wzrostu. Obliczenia wykonano w programie SAS (24).

Wyniki i omówienie

Wyniki badań potwierdziły, że sekrecja hormonu wzrostu u jałówek i buhajów występuje w postaci pulsów wydzielanych do krwi obwodowej. Charakterystykę parametrów stężenia GH przedstawiono w tab. 2.

Stwierdzono znaczne zróżnicowanie parametrów określających wydzielanie somatotropiny do krwi między badanymi zwierzętami pomimo ujednoliconych warunków środowiskowych. Szczególnie wysoką zmienność zaobserwowano w przypadku średniego stężenia i podstawowego poziomu GH. Wyniki te są zgodne z badaniami innych autorów, którzy także wykazali znaczną heterogenność indywidualnych oszacowań wydzielania hormonu wzrostu między osobnikami u bydła (1, 17).

Ogółem dla obu płci średnie stężenie somatotropiny wynosiło 18,2 ng/ml, natomiast podstawowy poziom GH – 9,5 ng/ml. Liczba pulsów mieściła się w zakresie od 2 do 6, przy czym wartość średnia była bliska 3,9. Amplituda pulsów wynosiła 18,3 ng/ml. Czas trwania pulsów zarejestrowano na poziomie 46,4 min. a odstęp między pulsami 77,3 min. Częstotliwość pulsów wahała się w przedziale między 0,53 a 1,49 n/godz., przy wartości średniej 1,0.

W doświadczeniu zarejestrowano 3 osobniki charakteryzujące się istotnie wyższym średnim stężeniem hormonu wzrostu ($38,1 \pm 10,8$ ng/ml) w porównaniu do pozostałych 7 zwierząt ($9,7 \pm 4,2$ ng/ml) (ryc. 1). Ze względu na małą liczbę obserwacji trudno jednak

stwierdzić, jakie czynniki były związane z tak znaczącym zróżnicowaniem w poziomach GH we krwi między zwierzętami.

Badane buhaje odznaczały się wyższym średnim stężeniem somatotropiny (18,68 ng/ml) oraz częstotliwością pulsów (1,02 n/godz.), w porównaniu do danych z piśmiennictwa. Kazmier i wsp. (10) stwierdzili podobne wartości dotyczące kształtu pulsu u buhajów holstejskich w wieku średnio 9 miesięcy. Wykazali jednak dwukrotnie mniejszą częstotliwość

pulsów i tym samym niższe średnie stężenie hormonu wzrostu u badanych zwierząt. Nie znaleziono w literaturze opracowań dotyczących charakterystyki pulsów somatotropiny we krwi obwodowej jałówek.

Należy podkreślić, że sekrecja hormonu wzrostu ulega znacznym wahaniom w zależności od wieku zwierzęcia. Yelich i wsp. (29) stwierdzili wzrost od 13 do 41 ng/ml poziomu GH we krwi w okresie dojrzewania jałówek. Mniejsze zróżnicowanie występuje u starszych zwierząt. Olbrich-Bludau i wsp. (20) wyka-

Tab. 2. Charakterystyka parametrów stężenia hormonu wzrostu we krwi badanych zwierząt

Cechy	Jałówki n=5		Buhaje n=5		Ogółem n=10	
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
ŚR	17,76	16,63	18,68	15,14	18,22	15,00
PP	9,50	9,25	9,59	10,55	9,54	9,35
LP	3,80	0,84	4,00	1,58	3,90	1,20
AP	15,72	11,22	20,81	9,22	18,26	10,04
TP	45,50	12,30	47,30	18,04	46,40	14,59
CP	0,98	0,20	1,02	0,40	1,00	0,30
OP	70,23	14,93	84,45	54,97	77,34	38,71

Objaśnienia: ŚR – średnie stężenie hormonu wzrostu liczone z pola pod krzywą (ng/ml), PP – poziom podstawowy stężenia GH (ng/ml), LP – liczba pulsów (w ciągu 4 godz.), AP – średnia amplituda pulsów (ng/ml), TP – czas trwania pulsów (min.), CP – częstotliwość pulsów (n/godz.), OP – odstęp między pulsami (min.).

zali spadek stężenia somatotropiny z 8,6 do 5,3 ng/ml odpowiednio u 1,5 i 7-letnich buhajów.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono występowanie zależności między różnymi parametrami stężenia hormonu wzrostu (tab. 3). Korelacja między poziomem podstawowym GH a amplitudą pulsów ($r=0,890$, $P<0,001$) przemawia za tym, że wzrost sekrecji somatotropiny wpływa pozytywnie na wysokość pulsów. Stwierdzono także zależność między liczbą a czasem trwania pulsów oraz odstępem między pulsami (odpowiednio $r = -0,937$ i $r = -0,783$, $P<0,001$).

Tab. 3. Korelacje między parametrami stężenia hormonu wzrostu

	LP	AP	TP	CP	OP	ŚR
PP	-0,285	0,890*	0,274	-0,344	-0,139	0,981*
LP		-0,120	-0,937*	0,994*	-0,783*	-0,208
AP			0,157	-0,189	-0,137	0,947*
TP				-0,938*	0,868*	0,216
CP					-0,773*	-0,268
OP						-0,169

Objaśnienia: jak w tab. 2, * $p < 0,001$.

Klindt (12) nie zaobserwował korelacji między poziomem podstawowym GH a amplitudą pulsów u starszych zwierząt.

Przedstawione wyniki dotyczące zmian stężeń hormonu wzrostu mają charakter reprezentatywny, ponieważ próby krwi zebrano między odpasami. Według Moseleya i wsp. (17) czynniki związane z trawieniem paszy mogą modulować sekrecję somatotropiny.

Nie zaobserwowano istotnych różnic między płciami w parametrach określających poziom GH we krwi. Opublikowane do tej pory badania, nie pozwalają na jednoznaczne sformułowanie wniosku, czy takie różnicowanie istnieje. Wyższe średnie stężenie somatotropiny we krwi u buhajków w wieku 5 miesięcy w porównaniu do jałówek w tym samym wieku znaleziono jedynie w pracy Keelera i wsp. (11).

Przeprowadzona wstępna analiza wariancji wykazała powiązanie średniego przyrostu dziennego z częstotliwością pulsów hormonu wzrostu. Obserwacja ta, gdyby została potwierdzona na większej liczbie zwierząt, mogłaby zmienić dotychczasowe przekonanie o szczególnym znaczeniu wartości stężenia GH jako istotnego parametru biologicznego.

Związek między przyrostem a indywidualnymi szcankami sekrecji somatotropiny jest szczególnie zastanawiający w kontekście wyników u dwóch jałówek, które odznaczały się wyjątkowo niskim średnim stężeniem GH, tj. 5,4 i 4,3 ng/ml (ryc. 1a). Jałówki te osiągały z kolei najwyższe średnie przyrosty dzienne rzędu 0,737 i 0,734 kg. Podobnej zależności nie wykazano u buhaja o najniższym poziomie GH, tj. 7,4 ng/ml (ryc. 1b).

Ohlson i wsp. (19) stwierdzili pozytywną korelację między średnim przyrostem dziennym a średnim stężeniem hormonu wzrostu u buhajków ras mięsnych hereford i simmental. Wyniki większości badań przemawiają jednak za występowaniem ujemnej zależności między wymienionymi cechami (26). Według niektórych autorów stężenie somatotropiny we krwi obwodowej powiązane jest raczej z odkładaniem białka w mięśniach, a nie z przyrostem masy ciała (13).

W wyjaśnieniu istniejących kontrowersji mogą okazać się pomocne badania prowadzone na poziomie molekularnym, które potwierdzają wpływ GH na zmiany aktywności enzymów, funkcji transportowych w komórce oraz ekspresji genów (2).

Przeprowadzone badania potwierdziły pulsacyjny charakter sekrecji somatotropiny u bydła rasy czarno-białej w wieku 11 miesięcy życia (okres selekcji dla dalszej hodowli). Określono typowe parametry pulsacji tego hormonu, tj. amplitudę pulsów, długość i odstęp między pulsami oraz ich częstotliwość. Zaobserwowano dużą zmienność osobniczą podstawowych stężeń GH, które były skorelowane z amplitudą pulsów. Wstępne opracowanie danych sugeruje, że częstotliwość pulsów GH być może jest parametrem o istotnym znaczeniu biologicznym, powiązany z tempem wzrostu.

Piśmiennictwo

1. Anfinson M. S., Davis S. L., Christian E., Everson D. O.: Proc. West Sect. Am. Soc. Anim. Sci. 26, 175, 1975.
2. Argersinger L. S., Carter Su C.: Physiol. Rev. 76, 1089, 1996.
3. Barnes M. A., Kazmer G. W., Akers R. M., Pearson R. E.: J. Anim. Sci. 60, 271, 1985.
4. Bauman D. E., Eppard P. J., De Geeter M. J., Lanza G. M.: J. Dairy Sci. 68, 1352, 1985.
5. CSHZ. Ocena wartości użytkowej krów oraz ocena i selekcja buhajów. Wyniki za 1996 rok. Centralna Stacja Hodowli Zwierząt, Warszawa, Marzec, 1997.
6. Dvorak P., Becka S., Krejci P., Chrpova M.: Biochem. Radioanal. Lett. 34, 155, 1978.
7. Enright W. J., Spicer L. J., prediville D. J., Murphy M. G., Cambell R. M.: Theriogenology 41, 1231, 1994.
8. Flint D. J., Gardner M.: Endocrinol. 135, 119, 1994.
9. Jasiorski H., Stolzmann M., Reklewski Z., Międzynarodowe badania nad porównaniem bydła fryzyskiego, FAO Rzym, Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa, 1993.
10. Kazmer G. W., Canfield R. W., Bean B.: J. Anim. Sci. 70, 503, 1992.
11. Keeler D. G., Smith V. G., Coulter G. H., King G. J.: Can. J. Anim. Sci. 59, 367, 1979.
12. Klindt J.: J. Anim. Sci. 66, 2784, 1988.
13. Klindt J., Jenkins T. G., Leymaster K. A.: Anim. Prod. 41, 103, 1985.
14. Mackenzie D. D. S., Wilson G. F., McCutcheon S. N., Peterson S. W.: Anim. Prod. 47, 1, 1988.
15. Mephram T. B., Lawrence S. E., Peters A. R., Hart I. C.: Horm. Metabol. Res. 16, 248, 1984.
16. Merriam G. R., Wachter K. W.: Amer. J. Physiol. 243, E310, 1982.
17. Moseley W. M., Alaniz G. R., Claflin W. H., Krabill L. F.: J. Endocrinol. 117, 253, 1988.
18. Normy Żywienia Zwierząt Gospodarskich. PWRiL, Warszawa, 1985.
19. Ohlson D. L., Davis S. L., Ferrell C. L., Jenkins T. G.: J. Anim. Sci. 53, 371, 1981.
20. Olbrich-Bludau A., Schams D., Schallenberger E., Graml R., Pirchner F.: J. Anim. Breed. Genet. 110, 171, 1993.
21. Oldenbroek J. K., Garssen G. J., Forbes A. B., Jonker L. J.: Livest. Prod. Sci. 21, 13, 1989.
22. Peel C. J., Bauman D. E.: J. Dairy Sci. 70, 474, 1987.
23. Russel S. M., Spencer E. M.: Endocrinol. 116, 2563, 1985.
24. SAS User's Guide, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1995.
25. Schams D., Winkler U., Theyerl-Abele M., Prokopp A., w: Sejrnsen K., Vestergaard M., Neimann-Sorensen A., Use of somatotropin in livestock production, Elsevier Appl. Sci., New York, 1989.
26. Spencer G. S. G.: Livest. Prod. Sci. 12, 31, 1985.
27. Tannenbaum G. S.: Acta Paediatr. Scand. S 372, 5, 1991.
28. Vasilatos R., Wangsness P. J.: Endocrinol. 108, 300, 1981.
29. Yelich J. V., Wettemann R. P., Marston T. T., Spicer L. J.: Domestic. Anim. Endocrinol. 13, 325, 1996.

Adres autora: dr Renata Grochowska, ul. Dickensa 29 m. 28, 02-382 Warszawa