

ПРИРОДНИЙ ТА ІНДУКОВАНИЙ ЛЮТЕОЛІЗ У КОРІВ

Рецензенти: доктор біол. наук, професор, академік УААН Осташко Ф.І.; канд.с.-г.наук Тихона Г.С.

Ю.Ю. Шахова, О.Д. Бугров, С.О. Шаповалов

Інститут тваринництва УААН

О.А. Кретов

Луганський національний аграрний університет

У статті розглянуто процеси лютеогенезу та лютеолізу. Встановлено, що лютеогенез спостерігається з 3-ї до 13-ї доби циклу, а лютеоліз можна реєструвати до 2-ї доби наступного статевого циклу. Наведено зміни рівня прогестерону, діаметра жовтого тіла, кількості та якості лютеоцитів у ньому упродовж спонтанного статевого циклу та під час індукції статевої охоти препаратом естрофан. Уведення препарату естрофан на 10-у добу спонтанного статевого циклу спричинює зниження рівня прогестерону з $42,36 \pm 13,98$ нмоль/л до $7,14 \pm 2,74$ нмоль/л; зменшення діаметра жовтого тіла з $1,35 \pm 0,5$ см до $0,55 \pm 0,2$ см; зменшення кількості лютеоцитів на 150 мкм^2 з $62 \pm 8,5$ шт до $25 \pm 6,2$ шт, а їх співвідношення з 1,2 до 0,6, тобто, вміст великих лютеоцитів зростає з 45,2 % до 60,0 %.

Ключові слова: корова, яєчник, діаметр жовтого тіла, прогестерон, лютеоцити.

Відтворення тварин ґрунтується на фізіології репродуктивної системи [1]. Відомо, що статевий цикл корови триває від 18-ї до 22-ї доби, за цей період дозріває переважно одна яйцеклітина [2]. Тому, відтворення великої рогатої худоби процес тривалий та клопіткий. А інтенсивні форми господарського використання тварин створюють необхідність прискорення цього процесу. Отже ефективне управління відтворювальною функцією самиць, а саме синхронізація статевої охоти корів та телиць, є актуальним завданням сьогодення [3].

Вважається, що кращим способом для синхронізації є використання препаратів $\text{PgF}_{2\alpha}$. Особливість гормону полягає у тому, що його дія проявляється лише в фазу активного жовтого тіла (8-13-а доба статевого циклу). А для того щоб синхронізувати охоту групи тварин незалежно від їх дійсної статевої циклічності рекомендовано вводити $\text{PgF}_{2\alpha}$ дворазово з інтервалом 10-12 діб.

Відомо, що при синхронізації статевого циклу в самиць за допомогою $\text{PgF}_{2\alpha}$ і його синтетичних аналогів виявлені складнощі: простагландини не надають лютеолітичної дії, охота настає в нечітко визначений час і розтягується на період від 2-х до 4-х діб, у дійних корів реакція не завжди передбачена, ефективність вище в телиць [4].

Проте застосування $\text{PgF}_{2\alpha}$ на фоні активного жовтого тіла дає позитивні результати у 96,2 % випадків [5]. Отже для ефективного застосування $\text{PgF}_{2\alpha}$ необхідно визначити активність жовтого тіла, і самого ректального дослідження тут замало. Із літературних джерел відомо, і наші попередні дослідження це доводять, що під час лютеальної фази спонтанного статевого циклу у яєчнику відбувається лютеогенез і лютеоліз. Ці періоди обумовлюють і рівень прогестерону. Проте дослідники не виказують єдиної думки щодо межі переходу розвитку жовтого тіла в регресію. Рівень прогестерону упродовж спонтанного статевого циклу в літературі має великі розбіжності. Відомо, що прогестерон продукують клітини жовтого тіла - великі та малі лютеоцити. Упродовж циклу змінюються не тільки розміри жовтого тіла, а й кількісний та якісний його

клітинний склад [6]. Отже рівень прогестерону має залежати від розмірів жовтого тіла, а саме від якісного та кількісного складу його лютеоцитів.

З метою вивчення активності жовтого тіла шляхом визначення рівня прогестерону, діаметра жовтого тіла, кількості та якості лютеоцитів у ньому на 150 мкм^2 стало необхідним вирішення наступних завдань.

1. Визначити рівень прогестерону упродовж спонтанного статевих циклу та під час індукції статевої охоти препаратом естрофан.
2. Визначити діаметр жовтого тіла упродовж спонтанного статевих циклу та під час індукції статевої охоти препаратом естрофан.
3. Визначити кількість та якість лютеоцитів у жовтому тілі на 150 мкм^2 упродовж спонтанного статевих циклу та під час індукції статевої охоти препаратом естрофан.

Матеріали і методи досліджень. У наших дослідах були використані корови живою масою 450–600 кг, віком від 3 до 6 років, чорно-рябої та української червоно-рябої молочної порід. Корів із відновленими статевими циклами відбирали не раніше як через 60 діб після отелення.

Були сформовані дві групи корів. У першій дослідній групі ($n=58$) досліджували рівень прогестерону, діаметр жовтого тіла, кількісний та якісний склад лютеоцитів у ньому упродовж спонтанного статевих циклу. У другій ($n=9$) – відповідно під час індукції статевої охоти препаратом естрофан.

Кров для дослідження рівня прогестерону відбирали з яремної вени у корів першої групи щодоби о 7.00 години. У другій групі - перед уведенням препарату естрофан і після - через кожні 4 години. Підготовлення зразків для дослідження проводили за методикою (Іванська Н.В., Кислих О.Н., 2003) та зберігали при температурі -20°C до моменту дослідження. Визначення концентрації гормонів проводили методом ІФА з використанням наборів виробництва ТОВ НЛВ «Гранум» (вироблених за технологією та з компонентів фірми Хема-Медіка, Москва); вимірювання оптичної щільності проводили на одноканальному фотометрі виробництва Labsystems and Flow laboratories.

Корови першої групи були забиті на кожну добу статевих циклу, а другої - через 48 год після уведення препарату естрофан. Після чого було визначено діаметр жовтого тіла яєчника. Фіксацію та приготування гістозрізів проводили за загальноприйнятою методикою. На гістозрізах жовтого тіла визначали кількісний та якісний склад лютеоцитів 150 мкм^2 .

Результати досліджень. Згідно з нашими дослідями (рис. 1) під час спонтанного статевих циклу жовте тіло утворюється після овуляції - на 3-ю добу циклу. І розпочинається лютеогенез, що супроводжується зростанням діаметра жовтого тіла, збільшенням у ньому кількості лютеоцитів на 150 мкм^2 та зростанням рівня прогестерону. Така закономірність спостерігається до 13-ї доби циклу. Потім розпочинається зворотній процес – лютеоліз. Його можна фіксувати до появи жовтого тіла нового циклу.

Як свідчать (див. рис. 1) дані досліджень, лютеальна фаза починається на 3-ю добу циклу. При цьому рівень прогестерону не залежить від розташування жовтого тіла в лівому чи правому яєчнику, тому на рисунку зображені середні розміри жовтого тіла.

Отже новоутворене жовте тіло на 3-ю добу статевих циклу становить $0,8 \pm 0,5 \text{ см}$ у діаметрі, рівень прогестерону збільшується майже удвічі з $7,9 \pm 4,35 \text{ нмоль/л}$ до $15,3 \pm 6,42 \text{ нмоль/л}$, а загальна кількість лютеоцитів – $20,0 \pm 2,5$ шт на 150 мкм^2 .

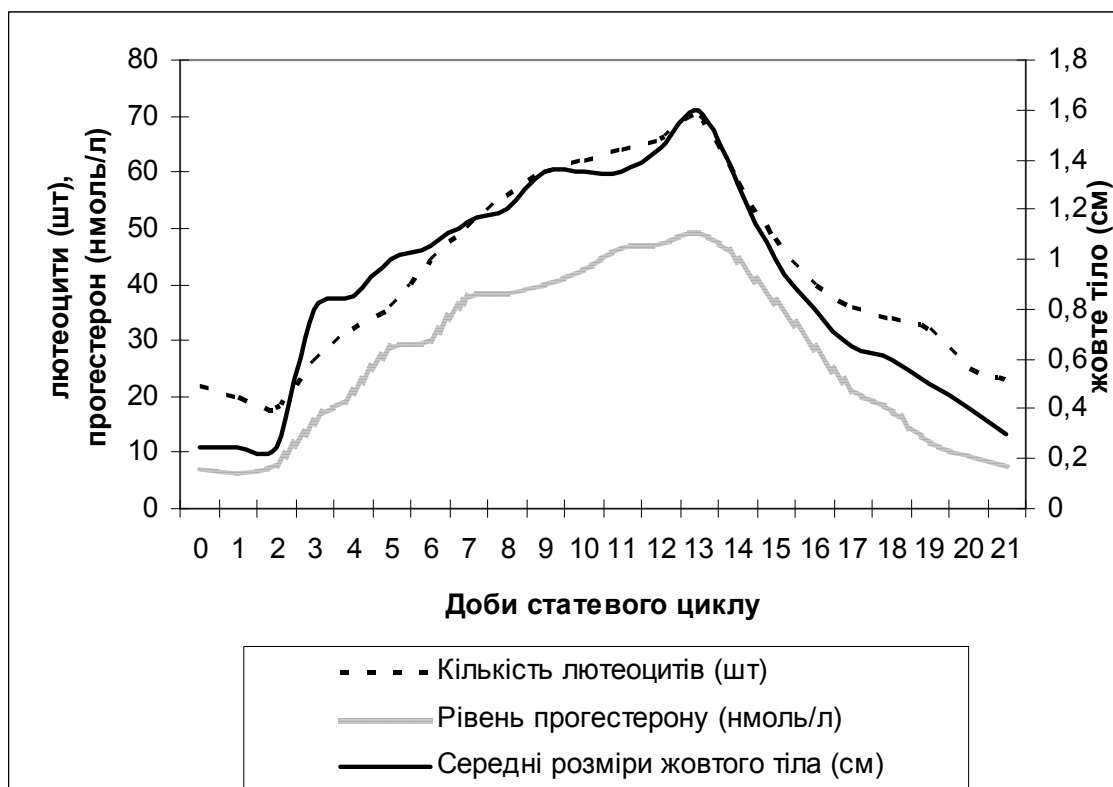


Рис. 1. Діаметр жовтого тіла, кількість у ньому лютеоцитів на 150 мкм² та рівень прогестерону упродовж спонтанного статевих циклу.

До 13-ї доби циклу діаметр жовтого тіла збільшується на достовірну величину ($P>0,90$) – 0,8 см і становить $1,6\pm0,2$ см. З рисунку видно, що зростання відбувається плавно, тобто щодоби на 0,08 см.

Кількість лютеоцитів на 150 мкм² зростає на достовірну величину ($P>0,90$) – 50,0 шт і становить $70,0\pm5,2$ шт, а щодоби – на 5,0 шт.

Лютеогенез характеризується також збільшенням концентрації прогестерону на достовірну ($P>0,90$) величину – 34,0 нмоль/л і становить $49,3\pm8,23$ нмоль/л, а щодоби – на 3,4 нмоль/л.

За нашими дослідженнями встановлено, що з 14-ї доби циклу починається лутеоліз. На гормональному рівні його можна реєструвати до появи жовтого тіла нового циклу – тобто до 2-ї доби наступного циклу. Виходячи з цього візуальні та гістологічні дослідження жовтого тіла циклу проводили паралельно з дослідженнями рівня прогестерону.

Діаметр жовтого тіла зменшується на достовірну величину ($P>0,90$) – 1,35 см і становить $0,25\pm0,5$ см, а щодоби – на 0,1 см.

Кількість лютеоцитів на 150 мкм² зменшується на достовірну величину ($P>0,90$) – 52,0 шт і становить $18,0\pm3,4$ шт, а щодоби – на 4,8 шт.

Концентрація прогестерону зменшується на достовірну величину ($P>0,90$) – 42,9 нмоль/л до базального рівня і становить $6,4\pm3,58$ нмоль/л, а щодоби – на 3,9 нмоль/л.

Наші дослідження підтверджують відомості про неоднорідність клітинного складу жовтого тіла (рис. 2).

Представлені результати досліджень (див. рис. 2) вказують, що з 3-ї до 19-ї доби в жовтому тілі розрізняється два види лутеоцитів ВЛЦ (великі лутеоцити

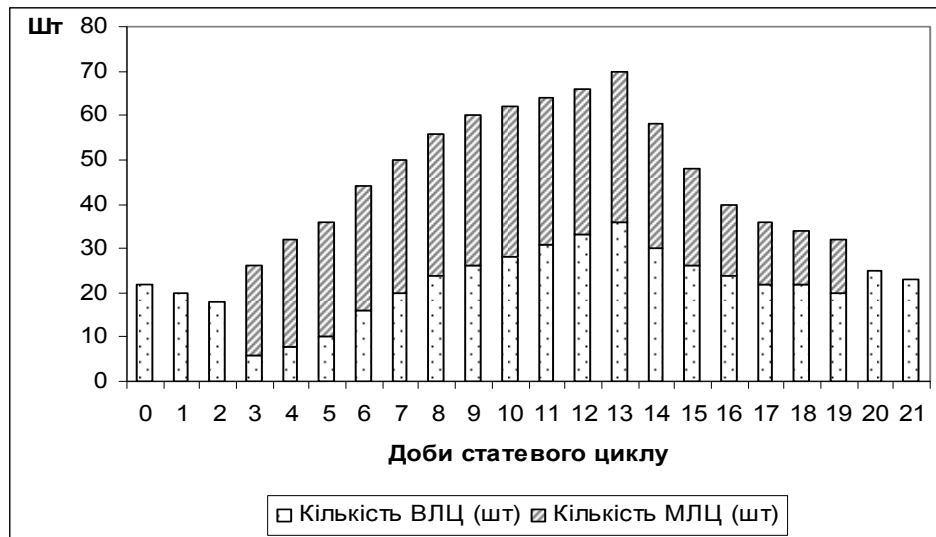


Рис. 2. Дослідження кількості та якості лютеоцитів у жовтому тілі упродовж спонтанного статевого циклу.

12,5 мкм) та МЛЦ (малі лютеоцити 7,5 мкм). З 3-ї до 13-ї доби кількість ВЛЦ зростає з $6,0 \pm 3,4$ шт до $36,0 \pm 5,1$ шт тобто на 3,0 шт щодоби, а МЛЦ з $20,0 \pm 2,4$ шт до $34,0 \pm 6,5$ шт тобто на 1,4 шт щодоби. Потім до 19-ї доби їх кількість зменшується відповідно на 2,7 шт та 4,0 шт щодоби. На 19-у добу їх кількість становить: ВЛЦ – $20,0 \pm 2,3$ шт, а МЛЦ – $10,0 \pm 4,6$ шт.

У відсотках до загальної кількості лютеоцитів кількість ВЛЦ постійно зростає з 23,1 % до 66,7 % тобто, на 2,7 % щодоби, а МЛЦ зменшується з 76,9 % до 33,3 % або на 2,7 % щодоби. Слід відмітити, що з 10-ї до 14-ї доби співвідношення лютеоцитів близьке до 50х50.

Співвідношення ВЛЦ : МЛЦ упродовж лютеальної фази постійно зменшується: на 3-ю добу - на 3,3, а на 19-у добу - на 0,6.

Відомо та наші дослідження доводять, що введення естрофану на 10-у добу статевого циклу зумовлює лютеоліз, індукує охоту і овуляцію. Ми дослідили ці процеси на гормональному, гістологічному рівні та візуально.

Із таблиці видно, що рівень прогестерону стрімко знижується на 21,82 нмоль/л ($P > 0,95$) у перші 4 години після введення препарату естрофан. Подальше зниження проходить плавніше (у середньому на 1,2 нмоль/л за 4 год). Через 48 годин рівень прогестерону відповідає 21-0 добі спонтанного статевого циклу.

Діаметр жовтого тіла за 48 годин у середньому зменшується достовірно на 0,8 см ($P > 0,99$).

Через 48 годин після введення препарату "Естрофан" кількість лютеоцитів зменшується на достовірну величину ($P > 0,99$) – 37,0 шт, а саме кількість ВЛЦ на 150 мкм^2 зменшується на 13,0 шт, а МЛЦ - на 24,0 шт.

Отже змінюється і відсотковий склад лютеоцитів. На 10-у добу циклу відсоток ВЛЦ 45,2 %, а МЛЦ 54,8 %. Через 48 годин після введення препарату естрофан ВЛЦ 60,0 %, а МЛЦ – 40,0 %, що відповідає 16-й добі спонтанного статевого циклу.

Співвідношення ВЛЦ : МЛЦ на 10-у добу циклу становить 1,2, а через 48 годин після введення препарату естрофан 0,6, що відповідає 19-й добі спонтанного статевого циклу.

Рівень прогестерону, діаметр жовтого тіла, кількість та якість лютеоцитів у ньому на 150 мкм² (M±m)

Годин після введення препарату естрофан	Прогестерон, нмоль/л	Діаметр жовтого тіла, см	Лютеоцити (шт) на 150 мкм ²		
			всього	ВЛЦ (12,5 мкм)	МЛЦ (7,5 мкм)
0	42,36±13,98	1,35±0,5	62±8,5	28±2,5	34±5,1
4	20,54±10,18	-	-	-	-
8	16,80±8,81	-	-	-	-
12	16,59±7,03	-	-	-	-
16	14,75±6,24	-	-	-	-
20	10,54±5,43	-	-	-	-
24	10,13±5,45	-	-	-	-
28	9,95±3,87	-	-	-	-
32	8,88±5,15	-	-	-	-
36	8,63±5,01	-	-	-	-
40	7,65±4,83	-	-	-	-
44	7,28±4,69	-	-	-	-
48	7,14±2,74	0,55±0,2	25,0±6,2	15,0±2,2	10,0±3,9

Примітка. Діаметр жовтого тіла та його клітинний склад не визначали з причини заборони забою корів упродовж 48 год після введення препарату естрофан.

Висновки:

1. Встановлено, що процеси лютеогенезу відбуваються в яєчнику з 3-ї до 13-ї доби циклу та характеризуються достовірним збільшенням ($P>0,99$) діаметра жовтого тіла з 0,8 см до 1,6±0,2 см; зростанням у ньому кількості лютеоцитів на 150 мкм² з 20±2,5 шт до 70,0±5,2 шт і відповідно зростанням рівня прогестерону з 15,3±6,42 нмоль/л до 49,3±8,23 нмоль/л.

2. Спостерігаючи лютеоліз із 14-ї доби статевого циклу до 2-ї доби наступного статевого циклу, встановлене достовірне зменшення ($P>0,99$) діаметра жовтого тіла з 1,6±0,2 см до 0,25±0,5 см; кількості лютеоцитів на 150 мкм² з 70,0±5,2 шт до 18±3,4 шт і відповідно рівня прогестерону з 49,3±8,23 нмоль/л до 6,4±3,58 нмоль/л, а МЛЦ зменшується з 76,9 % до 33,3 % або на 2,7 % щодоби.

3. Встановлено, що розмір ВЛЦ (великі) у лютеальну фазу циклу становить 12,5 мкм, а МЛЦ (малі) - 7,5 мкм. Їх співвідношення на 150 мкм² зменшується з 3,3 на 3-ю добу до 0,6 на 19-у добу циклу. Кількість ВЛЦ постійно зростає з 23,1 % до 66,7 %, тобто, на 2,7 % щодоби.

4. Уведення препарату естрофан на 10-у добу спонтанного статевого циклу спричинює зниження рівня прогестерону з 42,36±13,98 нмоль/л до 7,14±2,74 нмоль/л; зменшення діаметра жовтого тіла з 1,35±0,5 см до 0,55±0,2 см; зменшення кількості лютеоцитів на 150 мкм² з 62±8,5 шт до 25±6,2 шт, а їх співвідношення з 1,2 до 0,6, тобто, відсоток ВЛЦ зростає з 45,2 % до 60,0 %.

Бібліографічний список

1. Дуванов О. Трансплантація ембріонів у контексті практичної селекції /О.Дуванов // Тваринництво України .- №5.- 2004- С. 16-19.
- 2.Симоненко В. П. Эффективность технологических приемов и методов получения эмбрионов крупного рогатого скота вне организма: автореф. дисс. на соиск. научн. ст. канд. с.-х. наук: 06.02.01/В.П.Симоненко /Жодио, 2005.–20 с.
- 3.Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных /А. Гордон. - Москва: Агропромиздат, 1988. - 415 с.

4. Смолянінов Б.В. Контроль та регуляція відтворювальної функції самиць сільськогосподарських тварин /Б.В.Смолянінов, М.О.Кротких. – Одеса: СМІЛ, 2004.– 197 с.

5. Пути повышения эффективности гормональной коррекции репродуктивной функции молочных коров: Российская академия сельскохозяйственных наук. Всероссийский государственный научно-исследовательский институт животноводства Россельхозакадемии. ОАО «Центральная станция искусственного осеменения». Российский учебный центр по экологически безопасным технологиям в животноводстве /[Нежданов А.Г., Дашукаева К.Г., Лободин К.А., Богданова Н.Е.].//Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии воспроизводства животных» (25-26 октября, 2007 г.). - Быково: Дубровицы, 2007. - С.241-246.

6. Шеремета В.І. Підвищення ефективності методу трансплантації ембріонів великої рогатої худоби / В.І. Шеремета. - К.: АртЕк, 2005. - 120 с.

ЕСТЕСТВЕННЫЙ И ИНДУЦИРОВАННЫЙ ЛЮТЕОЛИЗ У КОРОВ

Шахова Ю.Ю., Бугров А.Д., Шаповалов С.О., ИЖ УААН

Кретов А.А., Луганский НАУ

В статье рассмотрены процессы лютеогенеза и лютеолиза. Установлено, что лютеогенез наблюдается с 3-х до 13-х суток цикла, а лютеолиз можно регистрировать до 2-х суток следующего полового цикла. Приведены изменения уровня прогестерона, диаметра желтого тела, количества и качества лютеоцитов в нем на протяжении спонтанного полового цикла а также во время индукции половой охоты препаратом эстрофан. Введение препарата эстрофан на 10-е сутки спонтанного полового цикла вызывает снижение уровня прогестерона с $42,36 \pm 13,98$ нмоль/л до $7,14 \pm 2,74$ нмоль/л; уменьшение диаметра желтого тела с $1,35 \pm 0,5$ см до $0,55 \pm 0,2$ см; уменьшение количества лютеоцитов на 150 мкм^2 с $62 \pm 8,5$ шт до $25 \pm 6,2$ шт, а их соотношение с 1,2 до 0,6, то есть, содержание больших лютеоцитов возрастает с 45,2 % до 60,0 %.

Ключевые слова: корова, яичник, диаметр желтого тела, прогестерон, лютеоциты.

NATURAL & INDUCED LUTEOLYSE IN THE COWS

Shakhova Ju., Bugrov O., Shapovalov S. ; Institute of animal science, UAAS

Kretov O.; Lugansk national agrarian university

This article highlights the experimental research results on the yellow body formation & resolution processes during the spontaneous sexual cycle & heat induction by the 'Estrophan' preparation use. The yellow body proved to be formed from the third day till the thirteenth day of the sexual cycle. Luteolyse process was registered prior the second day of the next sexual cycle. Progesterone level, the yellow body diameter, luteocyte number & quality characteristic swap was observed by the 'Estrophan' preparation use during the spontaneous sexual cycle & heat induction.

The preparation administration procures progesterone level decrease from $42,3 \pm 13,98 \text{ nmol per liter}$ to $7,14 \pm 2,74 \text{ nmol per liter}$. The preparation was administered on the 10-th day of spontaneous sexual cycle. Yellow body diameter was impaired from $1,35 \pm 0,5 \text{ sm}$ to $0,55 \pm 0,2 \text{ sm}$. Luteocyte number decrease was registered from $62 \pm 8,5$ pieces to $25 \pm 0,2$ pieces. Calculation was fulfilled per $150 \text{ mkm}^2 \text{ sq}$. Correlation ratio equals 1,2-0,6. The large luteocyte percentage boost was observed from 45,2% to 60,0%.

Key words: cow, ovary, yellow body diameter, progesterone, luteocyte, large-scale luteocytes, small-scale luteocytes.