

## BADANIA NAD PRZEMIANĄ HORMONÓW ESTROGENNYCH U PRZEŻUWACZY

JERZY MAZURCZAK

Zakład Fizjopatologii Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie

Kierownik: prof. dr E. Domański

Znaczny postęp badań nad estrogenami w ostatnim dziesięcioleciu pozwolił na dość dokładne poznanie roli tych związków w fizjologii i patologii człowieka. Badania eksperymentalne na zwierzętach laboratoryjnych wyjaśniły wiele zagadnień związanych z metabolizmem hormonów estrogennych. Medycyna weterynaryjna posiada dotychczas bardzo skromny dorobek w tej dziedzinie. Bez większego ryzyka można przyjąć, że przemiany estrogenów u zwierząt użytkowych są prawie nie znane. Praca niniejsza jest streszczeniem wyników badań nad estrogenami u przeżuwaczy i obejmuje wyniki uzyskane przy opracowywaniu odpowiedniej metody oznaczania estrogenów u przeżuwaczy, jak również badania nad zachowaniem się estrogenów w prawidłowym cyklu płciowym i w patologii (torbiele jajnikowe).

### Oznaczanie estrogenów w moczu owiec i krów

Przyjęte powszechnie w endokrynologii metody Browna (1—4) oznaczania estrogenów ze względu na skomplikowany charakter nie znalazły zastosowania w badaniach rutynowych. Oznaczanie estrogenów w moczu w ciągu całego cyklu wymaga odpowiednio uproszczonej metody, która pozwoliłaby w krótkim czasie w miarę dokładnie wykonać większą liczbę oznaczeń. Tym warunkom odpowiadała metoda opracowana przez Ittricha (5—8), przystosowana do oznaczania estrogenów w moczu w cyklu płciowym kobiet. Metoda ta nie znalazła zastosowania w badaniu moczu owiec i krów, ze względu na odmienne właściwości moczu badanych zwierząt, posłużyła jednak jako podstawa do opracowania odpowiedniej modyfikacji, za której pomocą stało się możliwe oznaczanie omawianych związków u badanych zwierząt. Przy opracowywaniu własnej modyfikacji wzięte zostały pod uwagę wyniki badań Browna (1—4), Nappa (9) i inn. Modyfikacja metody Ittricha polega głównie na zwiększeniu ilości

moczu w próbce wyjściowej (6-krotnie), zastosowaniu odmiennych warunków hydrolizy (6 vol% HCl) oraz zastosowaniu dodatkowych etapów oczyszczania próbki z nadmiaru chromogenów niespecyficznych.

Opracowana modyfikacja poddana została analizie krytycznej przy zastosowaniu odpowiednich metod sprawdzających. Przeprowadzone badania sprawdzające dały następujące wyniki: czułość metody wynosi 0,05 µg/10 ml moczu, dokładność — 73—99% w zależności od stosowanej próbki wyjściowej. Swoistość metody potwierdzono szeregiem testów biologicznych. Najważniejsze z nich to: test pochwoy wg Allen-Doisy, test pochwoy wg Martina z 2-3-5-trójfenyloctetrazolem (10), obraz cytologiczny wymazów pochwoy wykonany metodą Papanicolaou oraz próby *in vivo* z krystalicznymi estrogenami. Wszystkie testy biologiczne potwierdziły swoistość opracowanej modyfikacji.

### Rozmieszczenie ilościowe i jakościowe estrogenów w różnych środowiskach ustrojowych przeżuwaczy

Prowadzone badania miały na celu wykazanie jakie estrogeny występują u przeżuwaczy w moczu, kale, żółci, krwi obwodowej i krwi jajnikowej i w których z tych środowisk ulegają one najbardziej wyraźnym zmianom ilościowym i jakościowym w poszczególnych fazach cyklu. Badania te przeprowadzono na owcach. Oznaczanie estrogenów w żółci wykonano u owiec odpowiednio operowanych, u których przewód żółciowy został wyprowadzony ponad powłoki brzuszne (11). Krew jajnikową pobierano u owiec z żyły czczej tylnej bezpośrednio przy ujściu żyły jajnikowej (po założeniu odpowiedniego mankieta plastikowego na żyłę czczą). Materiał do badań pobierany był co drugą dobę w ciągu całego cyklu, od 6 owiec w ciągu 4 miesięcy jesienno-zimowych (wrzesień—grudzień). Otrzymano następujące wyniki (tabela 1).

Tabela 1

Poziom estrogenów i moczu w zależności od fazy cyklu płciowego (wartości średnie)

Badany materiał	Faza owulacyjna	Faza międzyowulacyjna
mocz	170 µg/24 godz	20—60 µg/24 godz
kał	3,4 µg%	4,5 µg%
żółć	1,5 µg%	0—1,0 µg%
krew obwodowa	0	0
krew jajnikowa	1,0 µg%	0

Badania te wykazały, że najbardziej reprezentatywne zmiany poziomu estrogenów w zależności od fazy cyklu występują w moczu.

Dla określenia bardziej dokładnego składu estrogenów w moczu zastosowano analizę chromatograficzną. Wyniki tej analizy, poparte testem biologicznym wykazały, że w moczu owiec i krów, poza znanym faktem występowania estronu i estradiolu znajdują się liczne epimery tych związków, jak również pochodne estriolu. Za pomocą testu biologicznego udowodniono aktywność estrogenową pochodnych estriolu występujących w moczu owiec i krów. Stwierdzono ponadto, że wykładnikiem funkcji dokrewnej jajnika jest poziom estradiolu w moczu. Z uwagi na kompleksowe występowanie omawianych związków i liczne ich epimery przyjęte zostały następujące określenia: frakcja estronu, frakcja estradiolu i frakcja estriolu.

### Estrogeny w prawidłowym cyklu płciowym u owiec i krów

Oznaczanie ilości poszczególnych frakcji estrogenowych wydalanych z moczem w ciągu cyklu płciowego u owiec i krów wykonywano w próbkach moczu pobieranych ze zbiórki dobowej moczu. Próbki takie pobierano w odstępach co 48 godz. u owiec i co 72 godz. u krów. Oznaczenia przeprowadzono u 4 owiec, u których śledzono kolejne cykle w dwóch sezonach jesienno-zimowych, oraz u 4 krów, u których również oznaczano kolejne cykle na przestrzeni jednego roku.

W wyniku tych badań stwierdzono, że faza owulacyjna cechuje się w każdym przypadku znacznym wzrostem frakcji estradiolu, i wzrost ten znacznie przekracza nawet maksymalne wydzielanie tej frakcji w okresie międzyestralnym. Natomiast frakcja estriolu wykazuje wzrost w okresach międzyestralnych, ale w samym okresie owulacji występuje wyraźny spadek tej frakcji w moczu. Ilość wydalanych estrogenów u osobników zdrowych wykazuje duże wahania osobnicze oraz czasowe. Wyraźnie to zjawisko występowało zwłaszcza u owiec, u których poziom wydalanych estrogenów w okresie jesiennym był znacznie wyższy od poziomu tych związków badanych w okresie zimy. Zamieszczone zestawienie podaje fragment wyników uzyskanych w czasie prowadzonych badań (tabela 2).

Oznaczanie poziomu estrogenów w ilości dobowej moczu jest badaniem bardzo uciążliwym i trudnym do interpretacji. Podany fragment badań wykazuje, że nawet u zdrowych owiec i krów występują tak duże różnice, że na tej podstawie nie można nawet w przybliżeniu określić norm fizjologicznych. Trudności związane z prowadzeniem zbiórki dobowej moczu, czynią te badania na tyle trudnymi, że nie może być mowy o ich prowadzeniu seryjnym.

Dla uzyskania właściwej oceny wydalanych z moczem estrogenów wprowadzono nową metodę interpretacji wyników. Metoda ta polega na porównywaniu procentowym składu poszczególnych frakcji estrogenowych w badanej próbce, przyjmując ilość globalną wydalanych estro-

T a b e l a 2

Poziom estrogenów w moczu w ilościach  $\mu\text{g}/24$  godz w zależności od okresu jajczkowania

Nr i rodzaj badanego zwierzęcia	Data badania owulacji	Frakcja estronu	Frakcja estradiolu	Frakcja estriolu
owca nr 1223	29.10.60	12,0	172,2	8,54
	14.11.60	17,4	164,9	48,12
	30.10.61	14,0	283,0	32,0
owca nr B-57	29.11.60	—	61,0	6,8
	13.12.60	1,8	67,2	24,0
	9.10.61	5,6	128,0	14,0
owca nr M-1	30.10.61	12,0	225,0	33,0
	14.11.61	10,2	171,6	8,3
owca nr M-II	27.10.61	12,7	112,4	61,3
krowa nr I	30.11.61	95,5	396,1	139,8
	19.12.61	34,5	452,2	146,3
krowa nr II	25.01.62	150,0	300,0	44,0
krowa nr 423	17.06.62	52,0	156,1	136,0
	9.07.62	540,0	784,0	412,0
krowa nr 426	30.07.62	53,2	305,9	109,0

genów za 100%. Po zastosowaniu tej metody, przeliczone wyniki dotychczasowych badań dały bardzo zbliżone wartości dla całej badanej populacji w poszczególnych fazach cyklu. Wartości średnie przedstawiają się następująco (tab. 3).

T a b e l a 3

Skład estrogenów w moczu owcy i krowy w zależności od fazy cyklu płciowego

Faza cyklu	Frakcja estrogenowa moczu	Mocz owcy	Mocz krowy
Owulacyjna	f. estradiolu	75—80%	55—65%
	f. estriolu	10—15%	20—25%
Międzyowulacyjna	f. estradiolu	25—35%	30—35%
	f. estriolu	35—40%	30—50%

Tęgo rodzaju interpretacja składu estrogenów w moczu daje szybko i prawidłową ocenę badanych związków bez względu na ich poziom w wartościach bezwzględnych; tym samym, staje się zbyteczne wykonywanie zbiórki dobowej moczu. Prowadzone badania w tym kierunku

wykazały, że krowy o prawidłowym cyklu płciowym, bez względu na fazę cyklu wydalają estrogeny, stale w określonym wzajemnym stosunku, który wynosi:

- 1) dla frakcji estronu i estradiolu łącznie —  $67,5\% \pm 13,4$
- 2) dla frakcji estriolu —  $32,5\% \pm 14,4$

Procentowa ocena składu estrogenów w moczu krów pozwala na seryjne wykonywanie tych badań, a średnie wartości z dwóch kolejnych próbek dają wystarczającą orientację do oceny czynności jajnika. Badania te potwierdzone analizą statystyczną wykazały, że u krów zdrowych, skład estrogenów w moczu mieści się stale w granicach podanych wyżej wartości procentowych.

### Badania nad przemianą estrogenów u krów z zaburzeniami cyklu płciowego wskutek obecności torbieli jajnikowych

Badaniem objętych zostało 22 krowy, u których stwierdzono torbiele jajnikowe. Zmiany chorobowe jajników stwierdzone badaniem przez prostnicę miały różnorodny charakter, tj. występujące torbiele były różnej wielkości, różny też był okres ich trwania, oraz czas rozwijania się procesu chorobowego. U 4 krów wykonano oznaczanie estrogenów w próbkach moczu zbieranego w ciągu 24 godzin, u pozostałych 18 krów mocz pobierano wielokrotnie do badań w celu określenia składu procentowego wydalanych estrogenów.

Oznaczenia ilości dobowej wydalanych estrogenów, z uwagi na duże różnice indywidualne zależne od nasilenia zmian chorobowych nie dały dostatecznych informacji o charakterze istniejących zaburzeń w przemianie estrogenów u krów chorych. Dopiero zastosowanie opisywanej metody oceny procentowej składu estrogenów w moczu doprowadziło do ustalenia istotnych różnic. Stwierdzono mianowicie, że we wszystkich przypadkach wystąpił wyraźny spadek zawartości procentowej w moczu frakcji estriolu, przy jednoczesnym wzroście frakcji estronu i estradiolu. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istnienie różnicy znaczniejszej w składzie badanych frakcji w porównaniu z moczem krów o normalnym cyklu. Porównanie cyfrowe zawiera załączona tabela 4.

Poza opisywanymi zmianami stwierdzono również, że w moczu krów u których występowały torbiele jajnikowe zaznacza się znaczna ilość tzw. estrogenów wolnych, czyli niezwiązanych z kwasem glukuronowym, wydalanych z moczem w formie aktywnej. Ilość wolnych estrogenów dochodziła w wielu przypadkach do 60% ogólnej ilości estrogenów wydalanych.

Tabela 4

Różnice w składzie frakcji estradiolu i estriolu w moczu krów

Pobranie próbek moczu	Frakcja estradiolu w %		Frakcja estriolu w %	
	krowy zdrowe	krowy chore	krowy zdrowe	krowy chore
Ze zbiórki dobowej	67,5 ±13,4	93,6 ±7,3	32,5 ±14,4	6,4 ±7,0
Z próbek pobranych doraźnie	64,2 ±16,7	94,4 ±8,1	35,0 ±16,8	5,5 ±8,1

Z przeprowadzonych badań wypływa wyraźnie wniosek, że w przebiegu torbieli jajnikowych dochodzi u krów do zaburzenia przemiany estrogenów, które cechuje się:

- 1) upośledzeniem procesów inaktywacji estrogenów w wątrobie,
- 2) zahamowaniem transwersji frakcji aktywnych biologicznie do form mało aktywnych (przejście estradiolu do estriolu).

Poczyniono również obserwacje, które wykazują, że w trwającym dłużej procesie chorobowym dochodzi do niskoczynności przysadki, a mianowicie u krów z długotrwałymi torbielami jajników poziom wydalanых estrogenów był znacznie niższy, niż występujący przeciętnie u krów zdrowych.

### Rola i znaczenie nieprawidłowej przemiany estrogenów w patogenezie torbieli jajnikowych

Stwierdzone zmiany w przemianie estrogenowej u krów z zaburzeniami cyklu na tle torbieli jajnikowych wymagały wyjaśnienia, który mianowicie ze wspomnianych procesów jest pierwotny. W tym celu przeprowadzono szereg badań, które miały na celu wyjaśnienie jakie są możliwości poprawy i unormowania przemiany estrogenów. W oparciu o badania autorów, którzy wykazali, że prawidłowa przemiana estrogenów w wątrobie jest uwarunkowana odpowiednim poziomem witamin z grupy B (12, 13) oraz obecnością metioniny (14—17), rozpoczęto podawanie krowom chorym odpowiednich dawek metioniny. Podanie 3,5 do 7,0 g i.m. metioniny powodowało unormowanie przemiany estrogenów w wątrobie. O unormowaniu przemiany wnioskowano na podstawie wyników otrzymanych przy analizie moczu:

- 1) przestały być wydalane z moczem wolne estrogeny, co wskazywało na poprawę estryfikacji i obniżenie poziomu aktywnych form tych związków krążących w organizmie,

2) pojawiła się w moczu w odpowiedniej ilości frakcja estriolu, pierwotnie nie występująca lub obecna tylko w ilościach śladowych. Wskazywało to na poprawę procesów przemiany estradiolu w estriol.

Równolegle z poprawą składu estrogenów występowały zmiany wskazujące na poprawę stanu w jajnikach. Torbiele ulegały zanikowi, jajnik wracał do prawidłowej wielkości i konsystencji. Ustępowały również trwające poprzednio stale objawy rujowe. Badania te były przeprowadzone u 10 krów zawsze z jednakowo dodatnim wynikiem.

Jeżeli proces chorobowy nie był daleko zaawansowany, to po leczeniu metioniną obserwowano występowanie prawidłowych cykli płciowych oraz skuteczny wynik unasiwienia. U krów, u których proces chorobowy trwał długo a na podstawie analizy wstępnej moczu stwierdzano znacznie obniżony poziom estrogenów, podanie metioniny powodowało okresowe zlikwidowanie torbieli, które po odstawieniu leku ponownie się pojawiły. Tego rodzaju przypadki zakwalifikowano jako wynik obniżenia czynności przysadki nie poddający się działaniu metioniny.

Na podstawie opisanych badań przyjęto następujący wniosek końcowy:

Zaburzenia cyklu rozwijające się w wyniku zmian chorobowych jajników (głównie torbiele jajnikowe) są wynikiem zaburzeń przemiany estrogenów w wątrobie. Zaburzenia te polegają głównie na upośledzeniu procesów inaktywacji i przemiany estrogenów spowodowanych niedoborami związków biologicznie czynnych tj. braku witaminy grupy B, lub aminokwasów egzogennych — np. metioniny. Zmiany w jajnikach są zjawiskiem wtórnym powstałym przez oddziaływanie wsteczne patologicznych metabolitów estrogennych na podwzgórze i przysadkę.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Brown J.B. (1955) — *Biochem J.* 60,185.
2. Brown J. B., Bulbrook R. B., Greenwood F. C. (1957) — *J. Endocrin.* 16,41.
3. Brown J. B., Bulbrook R. D., Greenwood F. C. (1957) — *ibid.* 16,49.
4. Brown J. B., Blair H. A. F. (1958) — *J. Endocrin.* 17, 411.
5. Itrrich G. (1958) — *Hoppe-Seylers Zeitscher. Phys. Chem.* 312,1.
6. Itrrich G. (1958) — *Dtsch. Gesundheitswesen* 13,159.
7. Itrrich G. (1960) — *Zbl. Gynäk.* 82, 429.
8. Itrrich G., Igal H. (1959) *Zbl. Gynäk.* 81,255.
9. Napp J. H., Kersten I. (1957) — *Archiv Gynäk.* 188, 279.
10. Martin L. (1959) — *J. Endocrin.* 18,334.
11. Mazurczak J., Sitarska E., Domański E. (w druku) — „Badania nad krążeniem wątrobowym estrogenów u owiec”.
12. Bieskind M. S., Biskind G. R. (1942) — *Endocrin* 31,108.

13. Biskind M. S., Shalesnyok M. C. (1942) — *Endocrin.* 30,819
14. Gyorgy P. (1935) — *Biochem J.* 29,741.
15. Gyorgy P. (1945) — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 60,244.
16. Gyorgy P., Rose C., Shipley R. H. (1949) — *Arch. Bioch.* 22,108.
17. Stepp W., Kunau J., Schroeder H. (1952) — „Die Vitamine und ihre klinische Anwendung” t. II cz. I — Stuttgart.

Я. Мазурчак

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОБМЕНУ ЭСТРОГЕННЫХ ГОРМОНОВ У ЖВАЧНЫХ

### Резюме

Проведенные исследования по обмену эстрогенов у жвачных охватывали следующие вопросы.

1. Методические разработки для приспособления существующих химических методов для анализа материала от овец и коров.

2. Количественное и качественное определение эстрогенов в половых циклах, в различных органических средах, т.е. в моче, в кале, желчи, периферической крови и яичниковой крови.

3. Количественные исследования эстрогенов, выделяемых с мочей в течение полового цикла в физиологических условиях у овец и коров.

4. Исследования по обмену эстрогенов у коров с расстройствами полового цикла в процессе нимфомании.

5. Исследования роли эстрогенов в патогенезе образования кист яичника.

Для анализа эстрогенов в биологическом материале была разработана собственная модификация метода Иттриха, который был приспособлен для рутинных исследований. Проверочные исследования разработанной модификацией показали, что чувствительность метода составляла 0,05  $\mu\text{g}/\text{мл}$  мочи. Точность метода колеблется в пределах 73—99%. Специфичность метода была подтверждена рядом дополнительных исследований (биологические тесты, хроматографический анализ).

Были проведены определения эстрогенов в кале, моче, желчи, периферической крови и яичниковой крови, в отдельных фазах полового цикла. Констатировано, что в овуляционной фазе уровень эстрогенов повышается в моче, желчи и яичниковой крови. Не повышается зато в кале, а в периферической крови появляются постоянно подпороговые величины.



Наиболее представительные результаты были получены при анализе мочи. С помощью хроматографического анализа доказано, что у жвачных появляются в моче эимеры эстрола, имеющие эстрогенные свойства.

Количественные исследования уровня эстрогенов, выделяемых с мочей, привели к установлению, что основным показателем овуляционной фазы является уровень фракции эстрадиола.

Количественные обозначения, выражаемых в микрограммах в сутки, проявляли значительные индивидуальные колебания в зависимости от особи и времени. Потому оценка деятельности яичников и правильного обмена эстрагенов была совсем недостаточной. Для полной оценки деятельности яичников и правильного обмена эстрогенов был введен новый метод интерпретации обозначений, который заключается в вычислении процентного отношения отдельных фракций, выделяемых с мочей, принимая общее количество за 100%. Дальнейшие исследования показали, что применение этого метода значительно облегчает определение эндокринной деятельности яичника.

Исследования по обмену эстрогенов у коров с кистами яичника доказали, что образование их в яичниках неразрывно связано с расстройством обмена эстрогенов в печени. Расстройства эти сводятся к ослаблению превращения эстрона и эстрадиола в эстриолоподобные соединения; кроме того отчетливому ослаблению подвергается процесс эстрификации, что выражается появлением в моче больных коров значительного количества биологически активных эстрогенов. У здоровых коров уровень эстрадиоловой фракции в течение целого цикла составляет в среднем  $67,5\% \pm 13,4$ ; у коров с кистами яичника уровень этой фракции составляет  $93,6\% \pm 7,3$ . Фракция эстриола у здоровых коров составляет  $32,5\% \pm 14,4$ ; у коров с кистами —  $6,4\% \pm 7,0$ . Кроме того, у коров с кистами яичника констатировано в моче около 60% (по отношению к общему количеству) не эстрифицированных эстрогенов.

Вышеприведенные результаты были получены путем статистического анализа, проведенного по отношению к качеству у 22 коров с кистами яичника и у 10 здоровых коров.

На основе вышеприведенных результатов признано доказанным, что в случаях кист яичника происходит расстройство обмена эстрогенов в печени и что оба эти процессы неразрывно связаны друг с другом.

Чтобы доказать описанные зависимости между обменом эстрогенов и образованием кист яичника, были проведены соответствующие исследования по регуляции обмена эстрогенов у больных коров. Дока-

зано отчетливое влияние метионина на обмен этих соединений. Применение соответствующих доз метионина улучшало решительным образом как эстрификацию, так и обмен эстрогенов в печени коров с кистами яичника. Одновременно с улучшением обмена эстрогенов наблюдалось улучшение клинического состояния исследуемых коров. Констатировано прекращение хронического полового влечения, а также исчезновение кист в яичниках.

Если болезненный процесс продолжался сравнительно недолго, то после лечения метионином появлялись нормальные овуляционные периоды. У коров с длительными изменениями в яичниках в результате возникновения хронической недостаточности гипофиза, несмотря на обратное развитие болезненных изменений, не доходило до появления правильных половых циклов.

На основе описанных исследований, можно прийти к выводу, что одной из существенных причин образования кист яичников является неправильный обмен эстрогенов в печени. Эти расстройства возникают вероятно в результате неправильного кормления, особенно при белковой недостаточности.

J. M a z u r c z a k

## INVESTIGATION ON TRANSMUTATION OF ESTROGENIC HORMONES IN RUMINANTS

### S u m m a r y

The investigations on transmutation of estrogens in ruminants comprised the following topics:

1. Methodical elaboration aiming at adaptation of chemical methods in operation for analyzing stuff from sheep and cow.
2. Quantitative and qualitative determination of estrogens in sexual cycles in different systemic media, viz. urine, feces, bile and blood both circulatory and ovarian.
3. Quantitative examinations of the estrogens excreted with urine during the sexual cycle under physiological conditions of sheep and cow.
4. Studies on transmutation of estrogens in cow suffering from disturbances of sexual cycle in the course of nymphomania.
5. Studies on the role of estrogens in the pathogenesis of the ovarian cysts formation.

For the purpose of estrogens analysis in animal the author has modified Ittrich's method which was adapted for routine test. Analyses performed proved its nicety to be 0,05 $\mu$ g per millilitre of urine. The accuracy of the method ranges from 73 to 99 per cent. The peculiarity of the method has been confirmed by several tests completing it (biological tests and chromatographic analysis).

Estrogens were determined in feces, urine, bile, as well as in the circulatory and ovarian blood at every stage of the sexual cycle. The estrogens content was found to increase in urine, bile and ovarian blood during the ovulation stage. However, it wasn't found to increase in feces, and in the circulatory blood subtransitional values were stated to occur constantly.

The most representative results were obtained when analyzing urine. It has been found by chromatographic analysis that estriol epimers occurring in urine of ruminants are of estrogenic character.

Quantitative analyses of the estrogens excreted with urine allow for stating that the rate of estradiol fraction is a substantial index of the ovulation stage.

Quantitative determinations expressed in terms of microgramms per 24 hrs. varied greatly with regard to time and animal tested. In this respect the estimation of the ovary activity was completely insufficient. To obtain a complete estimation of the ovary activity and of a correct transmutation of estrogens, a new method for interpretation of denotations has been introduced which consists in computing proportions of every fraction excreted in urine, denoting its total quantity as 100 per cent. Further investigations proved that application of the mentioned method makes easier to a great extent the determination of endocrinal function of the ovary.

Investigations of the estrogens transmutation in cows with ovarian cysts have proved that the cyst formation in ovary is strictly connected with the disturbances in transmutation of estrogens in the liver. The disturbances bring about to a handicap of estrone and estradiol transversion into estriollike constituents; moreover, the estrification process becomes feeble distinctly which manifests itself in the occurrence in a great quantity of biologically active estrogens found in urine of diseased cows. Mean estradiol fraction content found in healthy cows during the whole cycle was 67.5 per cent  $\pm 13.4$ , while in cows with ovarian cysts it was found to be 93.6 per cent  $\pm 7.3$ . Estrol fraction found in healthy cows was 32.5 per cent  $\pm 14.4$ , while in those cows with cysts it was 6.4 per cent  $\pm 7.0$ . Moreover, ca 60 per cent (in relation to the total quantity) of inestrified estrogens have been found in cows with ovarian cysts.

Above results have been obtained by statistical analysis performed in relation to the quantities from 22 cows with ovarian cysts and from 10 healthy cows.

Basing upon above findings, it has been assumed to be proved that in cases of ovarian cysts present, it comes to some disturbances in trans-

mutation of estrogens in the liver, and that both of the processes are strictly connected each other.

In order to prove the discussed relation between the transmutation of estrogens and ovarian cysts formation, correspondent investigations were performed on the control of estrogens transmutation in diseased cows. It was proved marked metionine effect on transmutation of the mentioned constituents. Administration of adequate metionine doses has markedly improved both estrification and transversion of estrogens in the liver of cows with ovarian cysts. Simultaneously with the improvement of estrogens transmutation a clinical improvement was observed among the investigated cows. It was stated the disappearance of permanent libido as well as of cyst atrophy in ovaries.

If the pathological process lasted for relatively short time, then, after metionine treatment, normal ovulation periods have occurred. Cows with long-lasting changes in ovaries due to persistent insufficiency of hypophysis, in spite of receding of pathological changes, were lacking regular sexual cycles.

Basing upon investigations discussed, the author concludes that an abnormal transmutation of estrogens in the liver is one of essential reasons of the ovarian cysts formation. The disturbances are likely to occur effect of abnormal feeding, especially when feeds are deficient in proteins.