

REGULACJA FUNKCJI SEKRECYJNEJ KOMÓREK JAJNIKA ŚWIŃ
W CZASIE CYKLU ESTRALNEGO, CIĄŻY I CIĄŻY RZEKOMEJ

Jadwiga Przała

Instytut Fizjologii Zwierząt
Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn-Kortowo

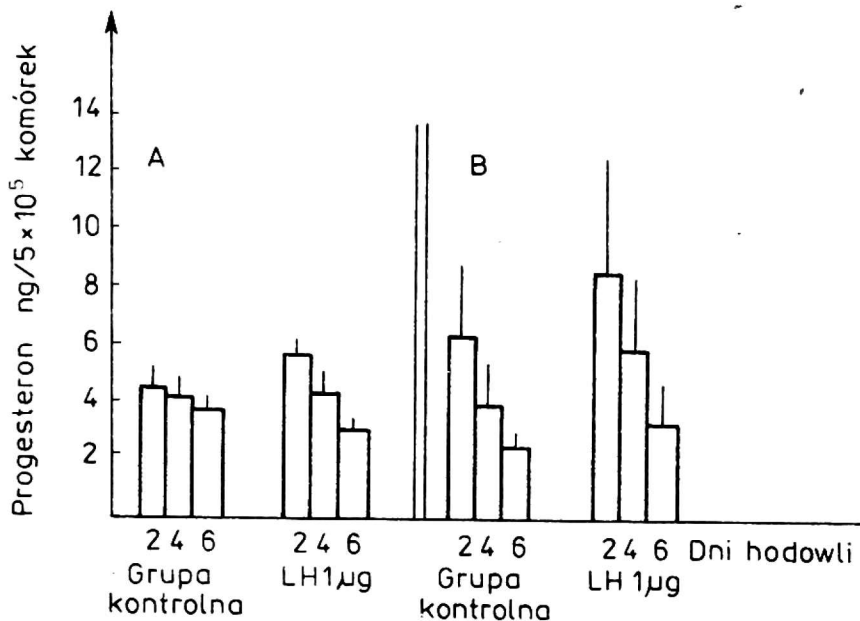
Praca ma na celu przedstawienie, na podstawie badań wykonanych wspólnie z zespołem współpracowników oraz danych z piśmiennictwa, funkcji sekrecyjnej komórek lutealnych i komórek warstwy ziarnistej /granulozy/ oraz ich reaktywności na neurohormony i hormony gonadotropowe w różnych dniach cyklu estralnego, wczesnej ciąży i ciąży rzekomej.

W przedstawionych badaniach posługiwano się metodami izolacji komórek warstwy ziarnistej i lutealnych z jajnika świń, następnie ich hodowli lub inkubacji w odpowiednich pożywkach.

WPŁYW HORMONU LUTEINIZUJĄCEGO /LH/ I PROLAKTYNY /PRL/
NA SEKREJCJĘ PROGESTERONU /P₄/ PRZEZ KOMÓRKI WARSTWY ZIARNISTEJ

Przysadkowe gonadotropiny FSH, LH i PRL regulują follikularny rozwój i inicjują morfologiczne i funkcjonalne zmiany komórek warstwy ziarnistej do komórek lutealnych [29, 37]. FSH jest niezbędny dla wywołania morfologicznych zmian w komórkach ziarnistych oraz indukuje aromatazy, przekształcające androgeny w estrogeny. Już pęcherzyki preantralne, zawierające wiele warstw komórek ziarnistych, posiadają receptory dla FSH i wewnątrzkomórkowe receptory dla estrogenów, androgenów i innych sterydów [56, 62, 63]. Nakano i wsp. [42] wykazali, że komórki warstwy ziarnistej otrzymane z małych pęcherzyków wiążą więcej znakowanego J¹²⁵ FSH niż komórki ze średnich i dużych pęcherzyków, z kolei komórki ziarniste z dużych pęcherzyków wiążą więcej znakowanego J¹²⁵ LH niż te z małych i średnich. Wyniki doświadczeń, w których określano koncentrację FSH i LH we krwi [4, 70] oraz poziom receptorów LH [77] w jajniku świń, wskazują, jak bardzo zmieniają się ich ilości w zależności od dnia cyklu estralnego. Sugerowało to, że reaktywność komórek jajnika będzie podlegała zmianom w różnych dniach cyklu bądź ciąży.

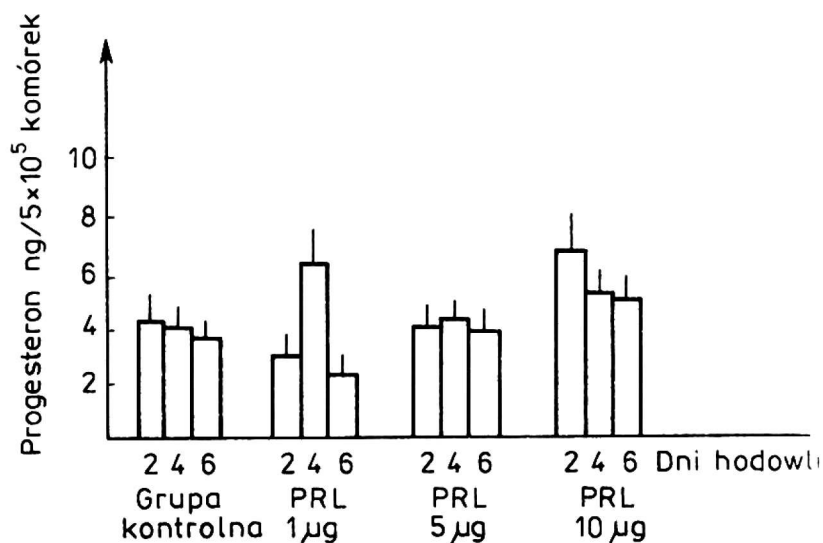
W celu sprawdzenia tej sugestii podjęto badania na świnich, od których komórki ziarniste bądź lutealne pobierano w ściśle określonym dniu cyklu estralnego, ciąży oraz ciąży rzekomej. W czasie cyklu estralnego komórki warstwy ziarnistej pobierano z jajników świń w 17 i 20 dniu. Grażul [16, 18] wykazała, że LH nie ma istotnego wpływu na sekrecję progesteronu przez komórki warstwy ziarnistej zarówno z 17 jak i 20 dnia cyklu /rys. 1/. Wcześniej brak



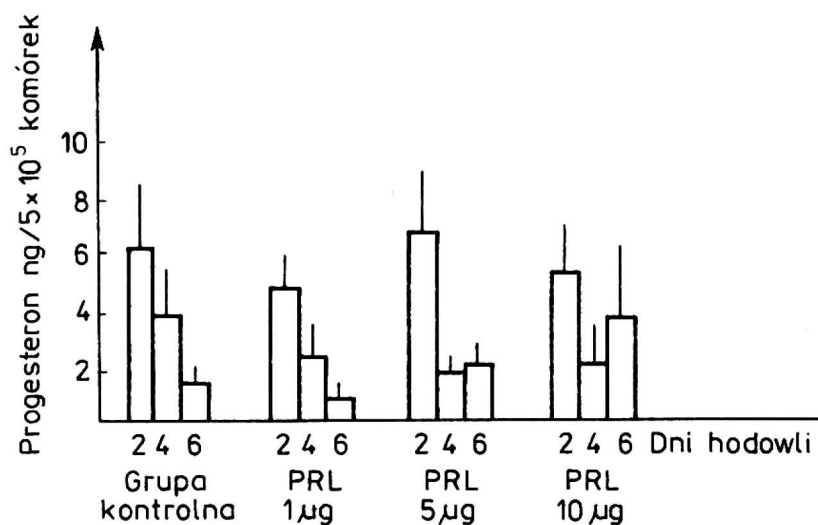
Rys. 1. Wpływ LH na sekrecję progesteronu przez komórki ziarniste: A - z 17 dnia i B - z 20 dnia cyklu estralnego /n = 6/

wpływu LH na sekrecję P_4 przez komórki warstwy ziarnistej został opisany przez Channing [5] i Loebera [35]. Jednakże autorzy ci obserwowali zanik reaktywności komórek ziarnistych na LH tylko w niektórych eksperymentach, w innych natomiast wykazali pobudzające działanie tego hormonu na sekrecję P_4 . Podobnie, pobudzające działanie wykazali Rodway i wsp. [58], Stokłosowa i wsp. [64], Veldhuis i wsp. [71] oraz Gregoraszczyk [22]. Wydaje się, że brak wpływu LH na sekrecję P_4 przez komórki warstwy ziarnistej, uzyskany przez niektórych autorów oraz w naszej pracowni, był związany z wysoką zawartością estradiolu w tych komórkach, który wywierał lokalny wpływ autoregulacyjny. Za taką interpretacją przemawiają także badania, w których stosowano egzogenny estradiol oraz testosteron i wykazano ograniczenie sekrecji P_4 przez komórki warstwy ziarnistej z przedowulacyjnych pęcherzyków świń [27, 34, 71]. Wyniki badań uzyskane przez Grażul [16] zgadzają się z badaniami przeprowadzonymi przez Van de Wiela i wsp. [70], którzy wykazali, że w fazie pęcherzykowej u świń następuje wzrost zawartości estradiolu we krwi, który prawdopodobnie hamuje wydzielanie LH i powoduje zanik wzrostu pulsacyjnych wyrzutów tego hormonu [78]. Przy bardzo niskim poziomie LH we krwi wydaje się zrozumiały brak jego wpływu na komórki warstwy ziarnistej.

Podobnie Grażul [16] nie wykazała wpływu PRL na sekrecję P_4 przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 17 i 20 dniu cyklu estralnego /rys. 2, 3/, mimo występującego in vivo w 16-17 dniu cyklu wyrzutu PRL [13]. Channing [5], Stokłosowa i Gregoraszczyk [65] tak-



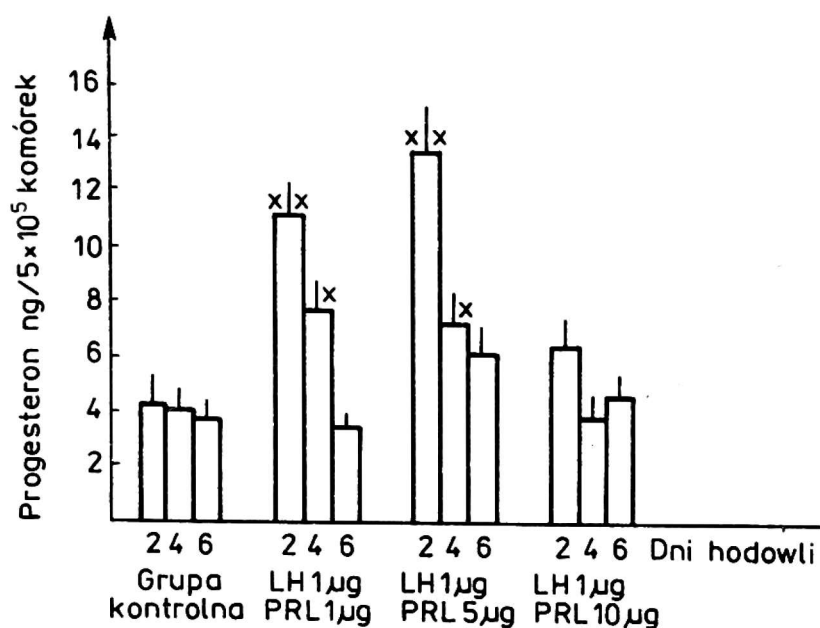
Rys. 2. Wpływ różnych dawek prolaktyny na sekrecję progesteronu przez komórki ziarniste z 17 dnia cyklu estralnego /n = 6/



Rys. 3. Wpływ różnych dawek prolaktyny na sekrecję progesteronu przez komórki ziarniste z 20 dnia cyklu estralnego /n = 6/

że nie stwierdziły wpływu PRL na komórki warstwy ziarnistej, natomiast Veldhuis i wsp. [71] wykazali, że wyższe dawki PRL powodują wzrost sekrecji P_4 przez komórki ziarniste z pęcherzyków dojrzałych, a obniżenie przez komórki ziarniste z pęcherzyków małych.

Grażul [16], stosując łącznie LH i PRL w hodowli komórek warstwy ziarnistej z 17 dnia cyklu estralnego, wykazała wysoce istotny wzrost sekrecji P_4 po 2 dniach hodowli i istotny po 4 dniach /rys. 4/. Nie stwierdziła natomiast wpływu łącznego podawania tych hormonów na komórki ziarniste z 20 dnia cyklu. Otrzymane wyniki wskazują na występowanie krótkotrwałego współdziałania między LH i PRL w oddziaływaniu na jajnik. Biorąc pod uwagę, że ma

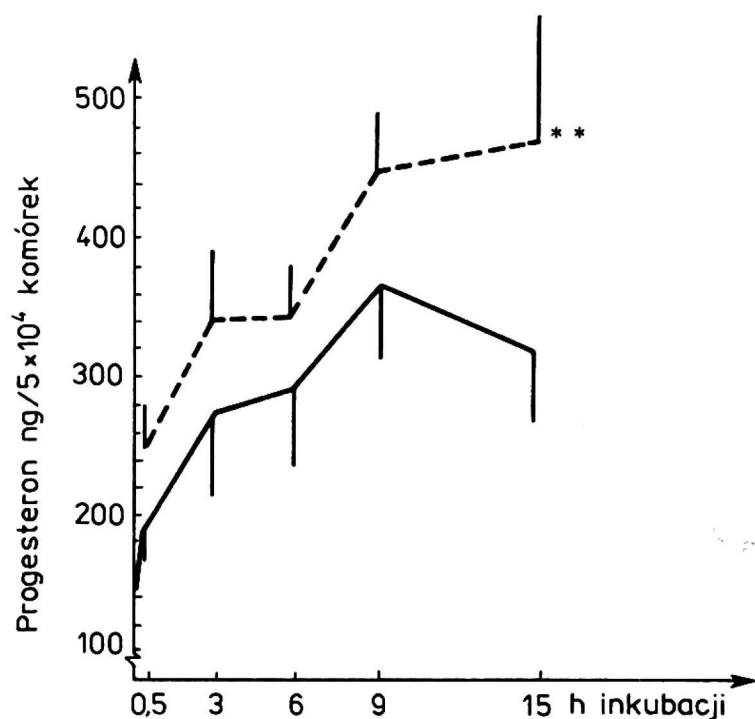


Rys. 4. Wpływ LH i PRL na sekrecję progesteronu przez komórki ziarniste z 17 dnia cyklu estralnego /n = 6/: $P < 0,05$ w stosunku do grupy kontrolnej, $P < 0,01$ w stosunku do grupy kontrolnej (**)

to miejsce tylko w 17, a zanika w 20 dniu cyklu, można przypuszczać, że może to mieć związek z występującym w tym czasie wyrzutem prolaktyny.

WPŁYW LH I PRL NA SEKRECJĘ PROGESTERONU PRZEZ KOMÓRKI LUTEALNE

Komórki lutealne pobierano do badań w 5, 8, 13, 14-16 i 17 dniu cyklu estralnego [16]. Podczas inkubacji komórek z LH wykazano, że hormon ten nie powoduje zmian w sekrecji progesteronu przez komórki lutealne z 5 i 8 dnia cyklu estralnego. W 13 dniu cyklu występuje wyraźna reakcja komórek lutealnych na LH /rys. 5/. W 14-16 dniu cyklu działanie LH na komórki lutealne ulega osłabieniu, ale utrzymuje jeszcze niewielki wpływ pobudzający. Brak reakcji komórek lutealnych na LH w początkowym okresie fazy lutealnej ma przypuszczalnie związek z występowaniem mniejszej ilości receptorów LH dla tego hormonu. Wzrost wolnych i zajętych receptorów LH występuje dopiero w środkowej fazie lutealnej, 10-12 dnia cyklu [77]. Podobnie poziom LH w osoczu do 8 dnia cyklu jest bardzo niski i wynosi około 1,4 ng/ml. Wzrost tego hormonu występuje dopiero w środkowej fazie lutealnej i ma wyraźny charakter pulsacyjny [78]. Wykazano, że hypofizektomia u świń także nie ma wpływu na rozwój ciałek żółtych do 10 dnia cyklu i dopiero po tym okresie wywołuje ich luteolizę [1, 12]. Przedstawione wyniki badań in vitro potwierdzają zatem badania in vivo, że w początkowym okresie fazy lutealnej wpływ LH na ciało żółte jest nieznaczny. Luteotropowy efekt tego hormonu występuje dopiero w fazie środkowo-lutealnej cyklu.



Rys. 5. Wpływ LH na sekrecję progesteronu przez komórki lutealne z 13 dnia cyklu estralnego /n = 4/: grupa kontrolna, LH 1 ug/ml; P < 0,01 w stosunku do grupy kontrolnej

Z kolei prolaktyna hamuje sekrecję progesteronu przez komórki lutealne świń [47]. Największy wpływ hamujący tego hormonu uwidocznił się w 13 dniu /tab. 1/ i uległ zanikowi w 17 dniu cyklu estralnego. Z badań Cooka i wsp. [10] wynika, że PRL nie ma wpływu na sekrecję P_4 przez ciała żółte świń z 8 i 10 dnia cyklu, podczas gdy Gregoraszczyk [22] stwierdziła, że hormon ten stymuluje sekrecję P_4 przez ciała żółte /CL/ świń pobrane w fazie wczesnolutealnej, ale nie ma wpływu na CL z fazy środkowolutealnej. Jednocześnie wykazano, że PRL zwiększa aktywność enzymu $\Delta^5, 3\beta$ -hydroksysteroidowej dehydrogenazy w ciałku żółtym będącym w fazie wczesnolutealnej, a hamuje tenże enzym w CL z fazy środkowolutealnej [23]. Enzym ten jest odpowiedzialny za transformację pregnenolonu do Δ^5 -pregnan-3,20 dione, który następnie ulega przekształceniu do progesteronu. A zatem zmniejszenie jego aktywności przez PRL może prowadzić do obniżenia poziomu P_4 w dojrzałym ciałku żółtym. Stokłosowa i Gregoraszczyk [65] sugerują, że PRL u świń ma wpływ luteotropowy tak długo, dopóki obecne są w tworzącym się ciałku żółtym komórki osłonki wewnętrznej /teki/. Z chwilą ich przekształcenia w komórki lutealne zmienia się rola prolaktyny. Podobnie wykazano hamujący wpływ PRL na sekrecję P_4 przez komórki lutealne, uzyskane z ciałek żółtych krów [76] i kobiet [11]. Prolaktyna hamuje także sekrecję estradiolu 17β oraz 5α -dihydrotestosteronu i testosteronu przez komórki lutealne świń z 13 dnia cyklu [46].

Na podstawie powyższych wyników sugerujemy, że hormon ten uczestniczy w procesie luteolizy ciała żółtego u świni.

Tabela 1

Wpływ prolaktyny na sekrecję progesteronu przez komórki lutealne świń z 13 dnia cyklu estralnego /ng/ml \pm SD/

Dawka PRL μ g/ml	n	Czas inkubacji /h/			Średnie wartości P ₄ dla różnych dawek PRL
		0,5	3	6	
Grupa kontrolna	6	72,04 \pm 10,02	68,00 \pm 9,84	72,11 \pm 8,83	70,72 ^A \pm 9,21
0,01	6	48,15 \pm 7,08	51,24 \pm 9,18	52,85 \pm 9,94	50,75 ^B \pm 8,52
0,1	6	45,05 \pm 4,48	43,75 \pm 6,82	50,81 \pm 8,52	46,54 ^{BC} \pm 7,13
1	6	46,58 \pm 6,96	39,12 \pm 6,28	44,21 \pm 5,81	43,30 ^C \pm 6,78
10	6	46,34 \pm 7,39	39,14 \pm 6,30	39,14 \pm 6,57	41,68 ^C \pm 7,21
Średnie wartości P ₄ dla czasu inkubacji		51,63 \pm 12,48	48,25 \pm 13,19	51,91 \pm 13,59	-

Różnymi literami oznaczono różnice statystycznie wysoce istotne /P < 0,01/.

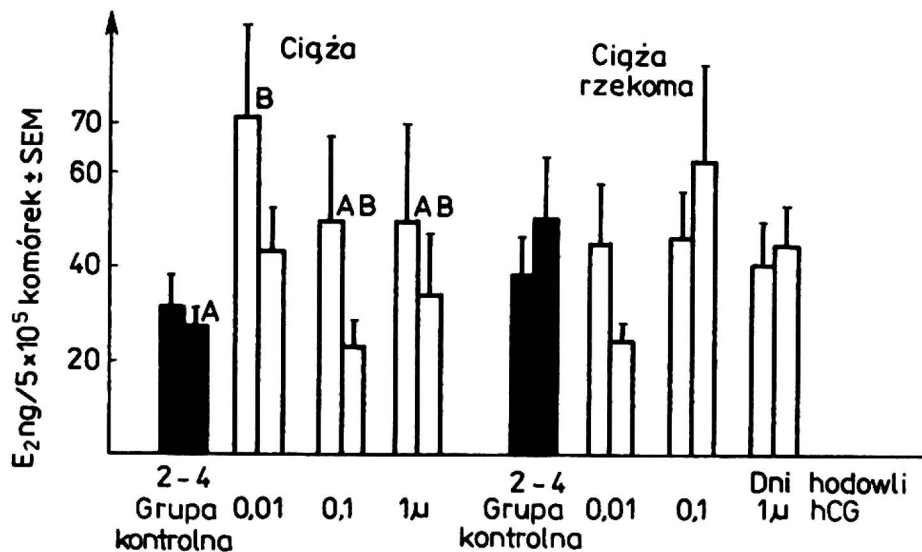
WPŁYW LH, hCG I PRL NA SEKRECJĘ STERYDÓW PRZEZ KOMÓRKI WARSTWY ZIARNISTEJ UZYSKANE OD ŚWIN CIĘŻARNYCH I RZEKOMOCIĘŻARNYCH

Badania Rexroad i Casida [55] wykazały rozwój pęcherzyków jajnikowych u krów, owiec i świń w ciąży. Z drugiej strony wiadomo, że u loch można sztucznie przedłużyć funkcjonowanie ciałek żółtych, podając im domięśniowo estrogeny w postaci np. benzoesanu estradiolu/BE/, bądź 1000 IU hCG w jednej iniekcji domięśniowej. Stan, jaki utrzymuje się u tych zwierząt, nosi nazwę ciąży rzekomej. U loch w ciąży rzekomej, podobnie jak u ciężarnych, obok funkcjonujących ciałek żółtych dojrzewają także pęcherzyki jajnikowe. Podjęliśmy badania nad sekrecją hormonów sterydowych przez komórki warstwy ziarnistej, uzyskane z jajników świń ciężarnych i rzekomociężarnych.

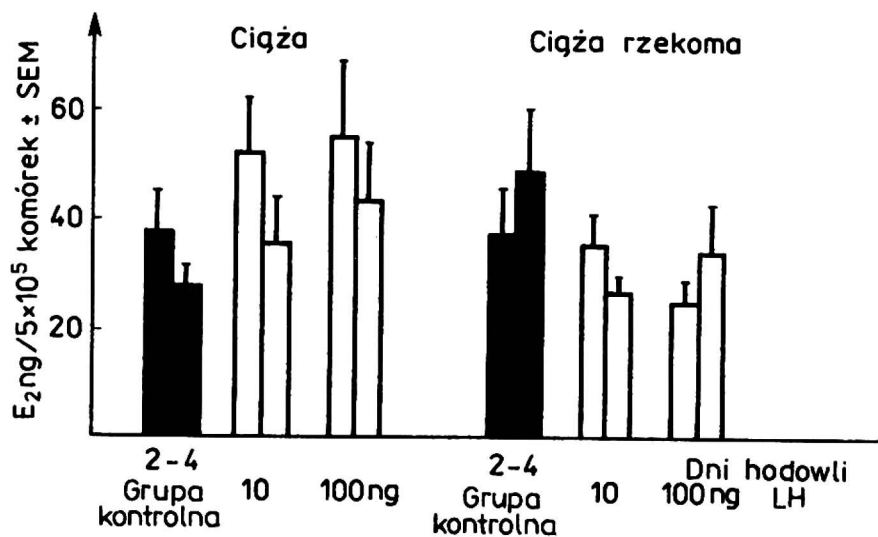
Pęcherzyki jajnikowe uzyskaliśmy od świń w 18 dniu ciąży, bądź w ciąży rzekomej wywołanej podawaniem BE. W tym okresie u świń ciężarnych wytwarzane przez blastocysty estrogeny zaczynają oddziaływać na układ rozrodczy matki.

Wykazaliśmy, że komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń ciężarnych zwiększały sekrecję estradiolu pod wpływem hCG w dawce 0,01 IU [51]. Natomiast po BE zarówno hCG, LH

jak i PRL nie miały wpływu na sekrecję tego hormonu /rys. 6, 7, 8/. Z kolei wydzielanie progesteronu przez komórki warstwy ziarnistej świń po BE było około 2-krotnie wyższe niż u świń ciężarnych. Komórki te były także bardziej wrażliwe na stosowane hormony egzogenne.

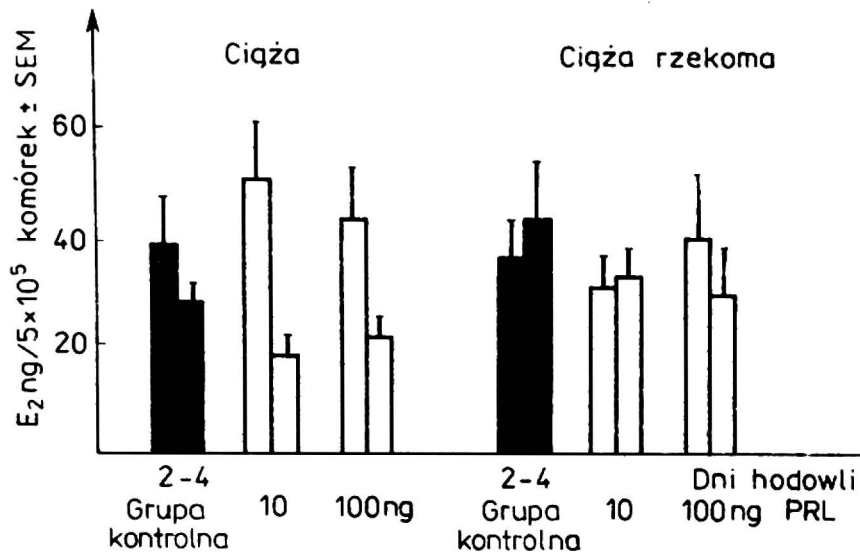


Rys. 6. Wpływ hCG na sekrecję estradiolu 17β przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 18 dniu ciąży i ciąży rzekomej. Różnymi literami dużymi oznaczono różnice statystycznie -wysoko istotne / $P < 0,01$ /

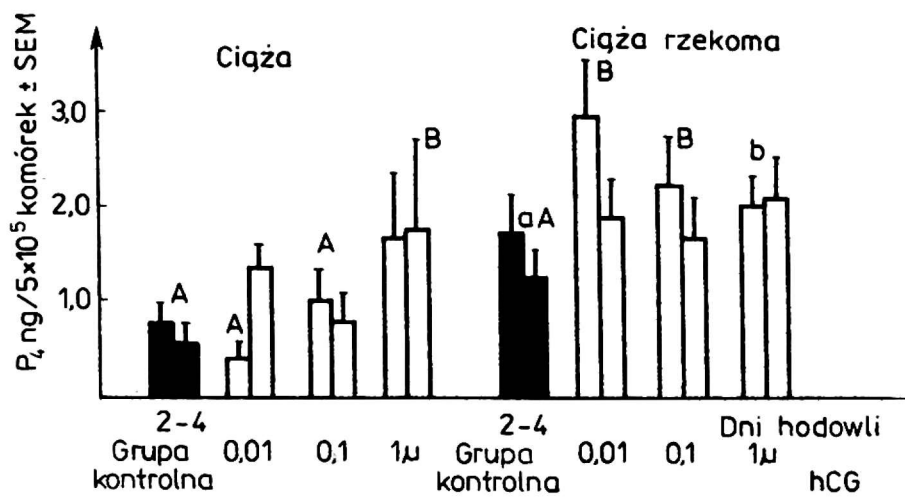


Rys. 7. Wpływ LH na sekrecję estradiolu 17β przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 18 dniu ciąży i ciąży rzekomej

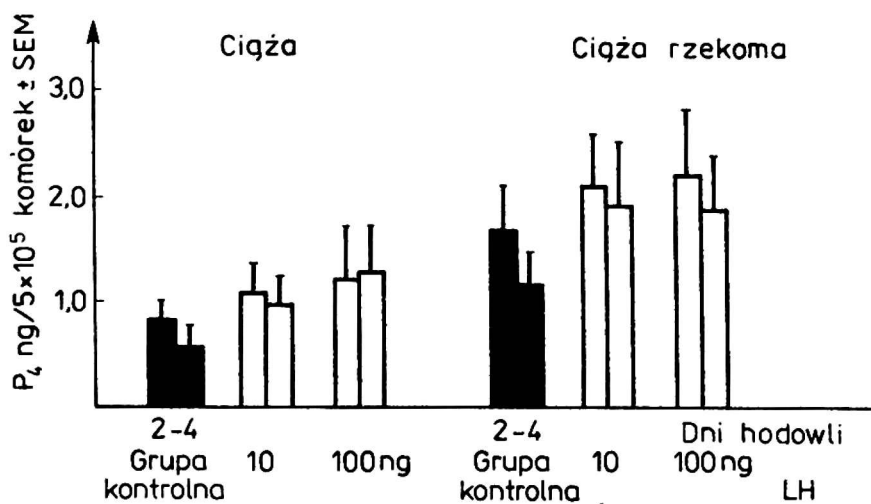
Hormon hCG podwyższał sekrecję P_4 , podobnie PRL w dawce 100 ng. Natomiast komórki warstwy ziarnistej, uzyskane z jajników świń ciężarnych, zwiększały sekrecję P_4 tylko pod wpływem 1 IU hCG /rys. 9, 10, 11/. Biorąc pod uwagę, że po iniekcjach BE występuje około 20-krotny wzrost PRL [78], stwierdzona w naszych badaniach stymulacja sekrecji P_4 przez ko-



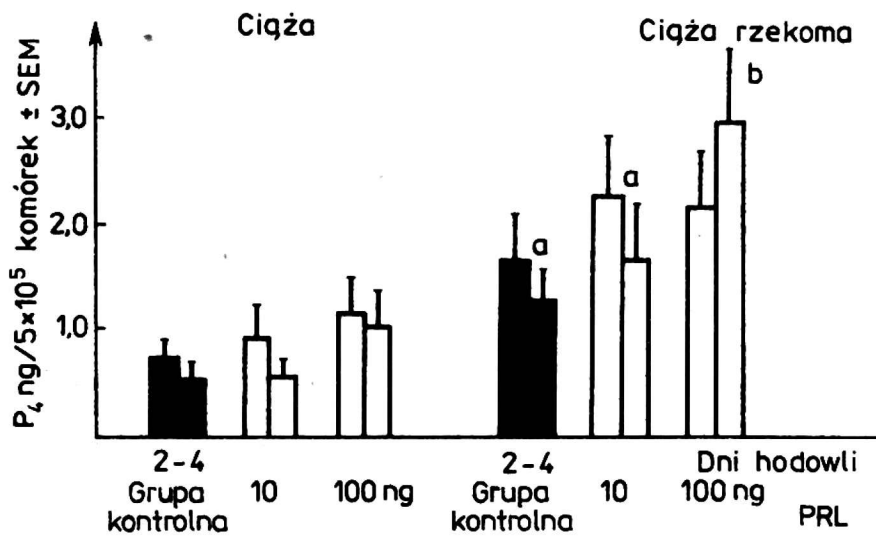
Rys. 8. Wpływ PRL na sekrecję estradiolu 17β przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 18 dniu ciąży i ciąży rzekomej



Rys. 9. Wpływ hCG na sekrecję progesteronu przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 18 dniu ciąży i ciąży rzekomej. Literami dużymi oznaczono różnice statystycznie wysoce istotne [$P < 0,01$]. Różnymi literami małymi oznaczono różnice istotne [$P < 0,05$]



Rys. 10. Wpływ LH na sekrecję progesteronu przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 18 dniu ciąży i ciąży rzekomej



Rys. 11. Wpływ PRL na sekrecję progesteronu przez komórki warstwy ziarnistej uzyskane od świń w 18 dniu ciąży i ciąży rzekomej. Różnymi małymi literami oznaczono różnice istotne / $P < 0,05$ /

mórki warstwy ziarnistej tylko tej grupy świń sugeruje, że występujący wzrost PRL oraz odpowiednie środowisko estrogeniczne uwrażliwiają komórki warstwy ziarnistej na działanie tego hormonu.

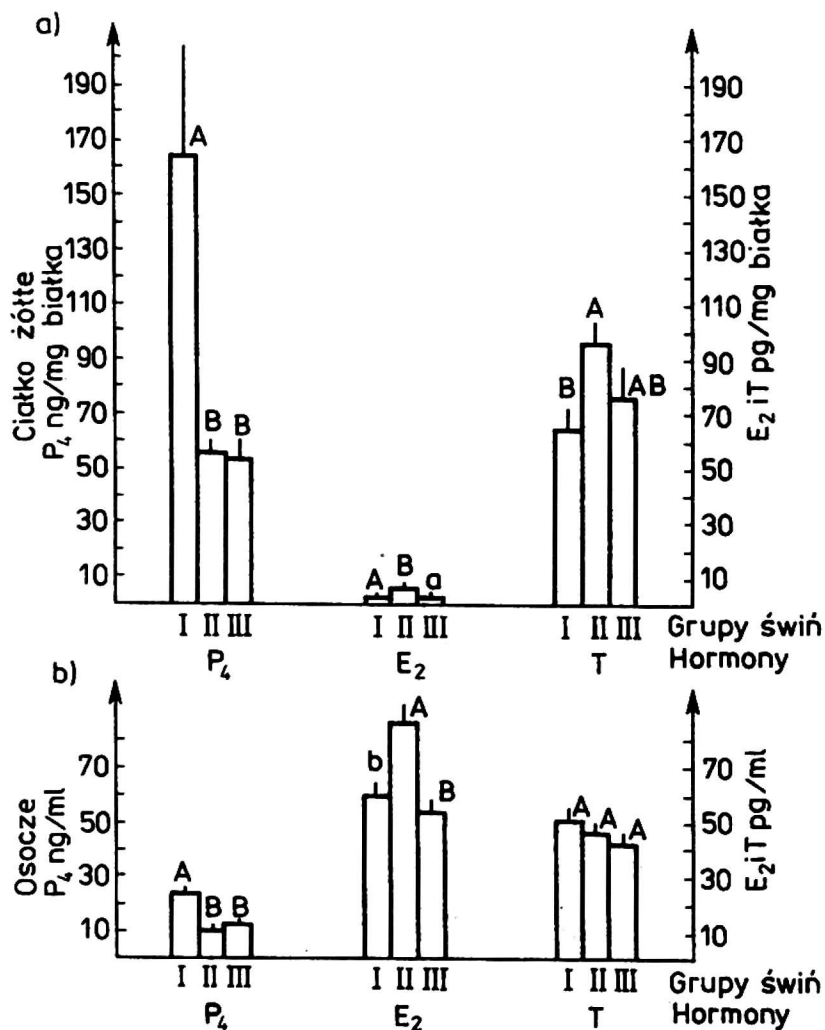
Sekrecja estradiolu i progesteronu przez komórki warstwy ziarnistej w czasie ciąży i ciąży rzekomej była nieznaczna, co wynikało prawdopodobnie z wielkości pęcherzyków jajnikowych i ich receptywności. W czasie ciąży stwierdziliśmy obecność głównie pęcherzyków średnich /3-6 mm/, natomiast u świń rzekomociężarnych występowały tylko pęcherzyki małe o średnicy 1-2 mm [51]. Wykazana zróżnicowana odpowiedź komórek warstwy ziarnistej na hormony egzogene miała niewątpliwie związek ze stadium rozwojowym pęcherzyka. Zagadnienie to wydaje się nam bardzo interesujące, ale brak danych na ten temat w piśmiennictwie światowym nie pozwala na wyczerpującą dyskusję.

WPŁYW LH, hCG I PRL NA SEKREJCJĘ STERYDÓW PRZEZ KOMÓRKI LUTEALNE UZYSKANE OD ŚWIŃ CIĘŻARNYCH I RZKOMOCIĘŻARNYCH

Badania Guthiego i Rexroada [25] dowodzą, że u świń, którym podano hCG w celu przedłużenia funkcji ciała żółtego, poziom P₄ w osoczu jest wyższy w porównaniu ze świnią, której podawano benzoesan estradiolu lub ze świnią ciężarną. Najniższy poziom P₄ wykazano w osoczu świń otrzymujących iniekcje BE. Uwzględniając zróżnicowany poziom progesteronu w osoczu świń ciężarnych i rzekomociężarnych wydało się interesujące sprawdzenie zawartości hormonów sterydowych w ciałkach żółtych świń ciężarnych i rzekomociężarnych /u których ciążę rzekomą wywołano podawaniem benzoesanu estradiolu lub hCG/, ustalenie procentowego udziału komórek lutealnych małych i dużych w ciałku żółtym świń ciężarnych i świń

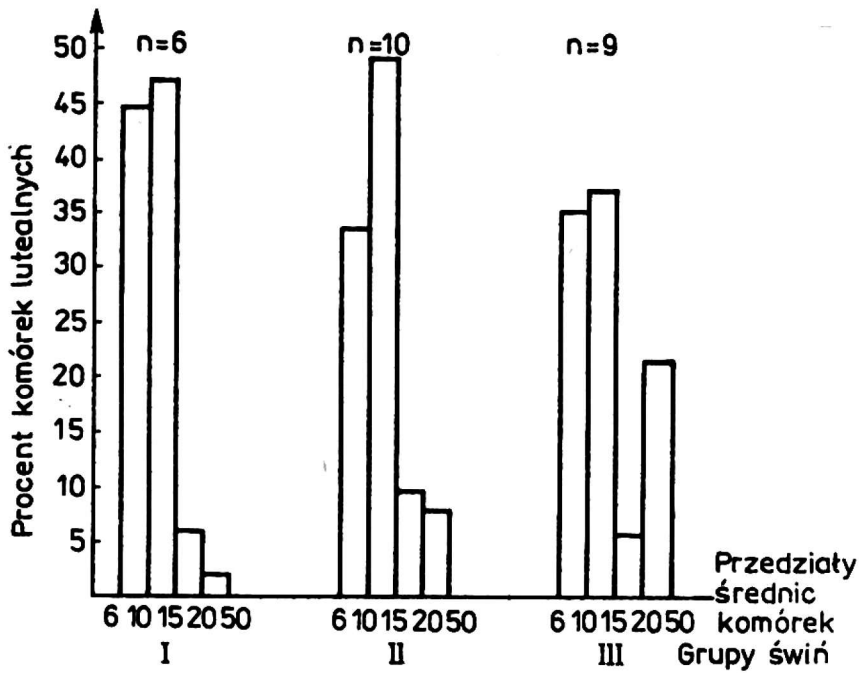
ze sztucznie podtrzymaną funkcją ciałek żółtych oraz zbadanie reaktywności tych komórek na LH, hCG, i PRL.

Badania prowadzone przez Więsak [75] wykazały, że w ciałkach żółtych świń ciężarnych zawartość progesteronu jest około 3 razy wyższa niż u świń rzekomo ciężarnych po BE i hCG. Natomiast sekrecja progesteronu przez komórki lutealne świń ciężarnych i rzekomociężarnych wykazywała podobne zróżnicowanie, jak w warunkach *in vivo* /rys. 12/. Wskazuje to na dużą zdolność akumulowania progesteronu przez komórki lutealne świń ciężarnych. Prawdopodobnie nagromadzenie w tych komórkach P_4 ma ważne znaczenie w regulacji wewnątrzkomórkowej. Hormon ten może być także wykorzystywany jako związek wyjściowy do syntezy androgenów i estrogenów. Ponadto, w ciałkach żółtych świń ciężarnych i rzekomociężarnych w porównaniu z osoczem stwierdzono 10 razy więcej testosteronu niż estradiolu /rys. 12/. Podobne zależności zostały wcześniej wykazane u krów [36] i królików [28]. Wskazuje to także na gromadzenie testosteronu w komórkach lutealnych i wykorzystanie go jako substratu do syntezy estrogenów.

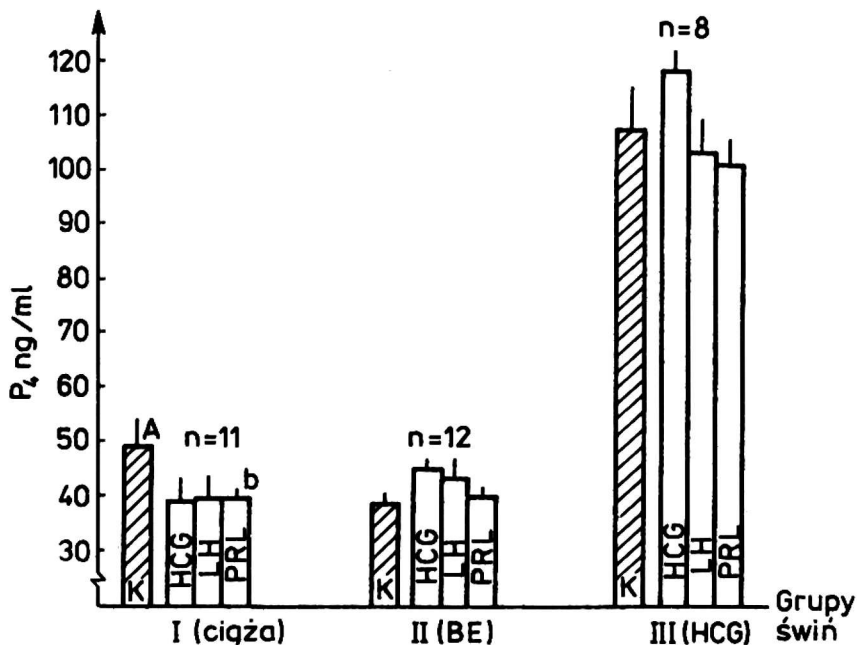


Rys. 12. Ilość hormonów sterydowych w tkance lutealnej /a/ i osoczu /b/ świń ciężarnych /grupa I/ oraz rzekomociężarnych otrzymujących w iniekcjach BE /grupa II/ i hCG /grupa III/. Liczba osobników I gr. - 20, II gr. - 21, III gr. - 13. Różnymi literami dużymi oznaczono różnice statystycznie wysoce istotne / $P < 0,01$ %, małymi - istotne / $P < 0,05$

Przeprowadzone pomiary komórek lutealnych małych i dużych u świń ciężarnych i rzekomociężarnych wykazały znaczne różnice w procentowym udziale tych komórek. U świń ciężarnych stwierdzono zaledwie 2% dużych komórek lutealnych, które charakteryzują się małą wrażliwością na hormony egzogenne [72]. U świń po BE komórki duże stanowiły 6% ogólnej populacji. Natomiast u świń rzekomociężarnych, u których funkcja ciałek żółtych była podtrzymywana przez hCG, komórki duże stanowiły aż 22% całej populacji /rys. 13/. Już te wartości wskazują, że odpowiedź komórek lutealnych, pochodzących od świń ciężarnych i rzekomociężarnych, na hormony egzogenne może być zróżnicowana.

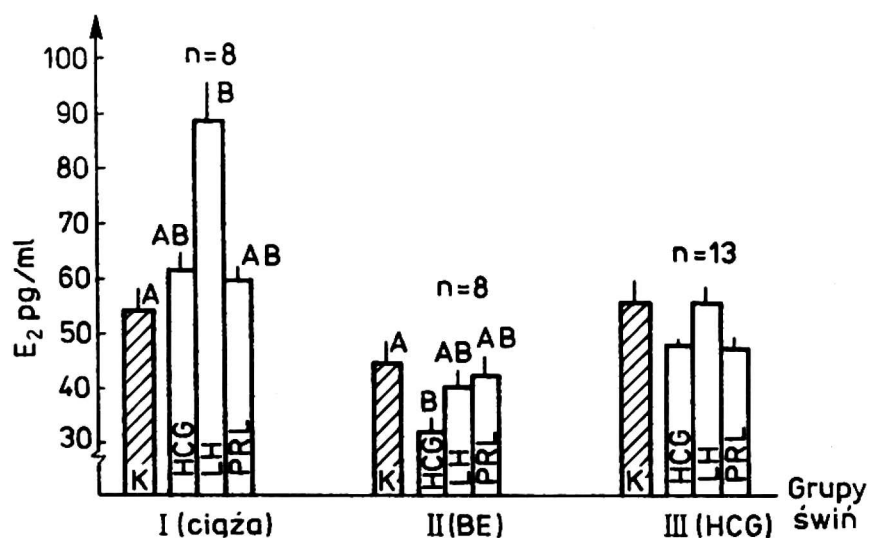


Rys. 13. Procentowy udział różnej wielkości komórek lutealnych w ciałkach żółtych świń ciężarnych /I/, otrzymujących BE /II/ i hCG /III/

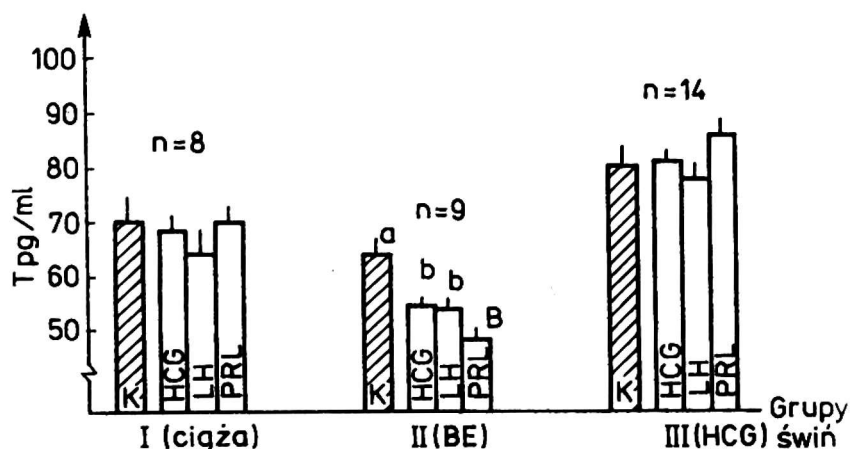


Rys. 14. Wpływ hCG, LH i PRL na sekrecję P_4 przez komórki lutealne świń ciężarnych i rzekomociężarnych. Różnymi literami małymi oznaczono różnice statystycznie istotne / $P < 0,05$ /, dużymi - wysoce istotne / $P < 0,01$ /

Jak stwierdzono, prolaktyna hamuje sekrecję progesteronu przez komórki lutealne uzyskane od świń ciężarnych /rys. 14/. Wyniki uzyskane dla wczesnego okresu ciąży są podobne do tych, które uzyskaliśmy w środkowej fazie lutealnej cyklu, kiedy stwierdziliśmy hamowanie sekrecji progesteronu przez prolaktynę. Hormon ten nie miał wpływu na sekrecję P_4 przez komórki lutealne świń rzeKOMOCIĘŻARNYCH. Jak dotąd, jedynie u szczurów istnieją przekonujące dowody, że PRL i LH stanowią tzw. kompleks luteotropowy. U zwierząt domowych rola prolaktyny nadal nie jest w pełni wyjaśniona. Hormon ten hamował także sekrecję testosteronu przez komórki lutealne świń, które wcześniej otrzymały benzoesan estradiolu. Podobnie LH i hCG nie spowodowały zmian w sekrecji P_4 u żadnej z badanych grup świń. Wykazano natomiast wysoce istotny wzrost sekrecji estradiolu po inkubacji komórek lutealnych od świń ciężarnych z LH /rys. 15, 16/. Wyniki te potwierdzają nasze wcześniejsze sugestie, że LH w ciałku żółtym świń stymuluje proces aromatyzacji testosteronu do estradiolu [48]. U świń rzeKOMOCIĘŻARNYCH hormon ten nie spowodował istotnych zmian w sekrecji progesteronu.



Rys. 15. Wpływ hCG, LH i PRL na sekrecję E_2 przez komórki lutealne świń ciężarnych i rzeKOMOCIĘŻARNYCH. Różnymi literami dużymi oznaczono różnice statystycznie wysoce istotne / $P < 0,01$ /



Rys. 16. Wpływ hCG, LH i PRL na sekrecję testosteronu przez komórki lutealne świń ciężarnych i rzeKOMOCIĘŻARNYCH. Różnymi literami małymi oznaczono różnice istotne / $P < 0,05$ / dużymi wysoce istotne / $P < 0,01$ /

Dane z piśmiennictwa na temat wpływu LH na komórki lutealne sów ciężarnych nie są jednoznaczne. Niektórzy autorzy wykazali luteotropowe działanie LH [72], inni obserwowali wzrost sekrecji $P_{4\beta}$, ale tylko wówczas, kiedy do pożywki dodano lipoproteiny, które są źródłem dostarczonego z zewnątrz substratu do produkcji hormonów sterydowych. Brak luteotropowego działania LH w badaniach wykonanych przez Więsak [75] wynika prawdopodobnie z małej ilości receptorów dla tego hormonu we wczesnym okresie ciąży u sów [77]. W miarę upływu ciąży liczba receptorów LH w ciałku żółtym wzrasta i stąd niektórzy autorzy, prowadząc badania na komórkach uzyskanych od sów w środkowym okresie ciąży, wykazali luteotropowe działanie tego hormonu. Nasze badania dowiodły, że LH hamuje sekrecję testosteronu przez komórki sów otrzymujących benzoesan estradiolu [21, 75]. Wydaje się, że istotną rolę w tym procesie odgrywał podany w postaci iniekcji domięśniowej benzoesan estradiolu, który ograniczał luteotropowy wpływ LH. Podobną zależność wykazaliśmy wcześniej, stosując łączne podawanie E i LH [17, 20].

Wykazano, że hCG nie ma istotnego wpływu na sekrecję P_4 przez komórki lutealne sów ciężarnych i rzeKOMOCIĘŻARNYCH, ale hamuje sekrecję estradiolu i testosteronu u sów otrzymujących benzoesan estradiolu /rys. 15, 16/. Niewykluczone, że w tym także przypadku podany w postaci iniekcji benzoesan estradiolu ograniczał wpływ hCG na sterydogenezę jajnikową.

Wcześniej stwierdziliśmy, że egzogeny estradiol w dawce 5000 ng/ml pożywki stymuluje sekrecję testosteronu przez komórki lutealne sów ciężarnych, ale nie ma takiego działania u sów rzeKOMOCIĘŻARNYCH [21]. Wysoka koncentracja testosteronu w tkance lutealnej sów ciężarnych i rzeKOMOCIĘŻARNYCH [75] oraz stymulacyjne działanie niektórych dawek estradiolu na sekrecję sugerują, że wytwarzane u sów ciężarnych zwiększone ilości estrogenów mają wpływ na akumulację tego hormonu w tkance lutealnej in vivo i na zwiększoną sekrecję in vitro. Rola testosteronu u samic jest bardzo mało poznana i wszelkie informacje na ten temat są cenne, ponieważ pozwalają na wyjaśnienie jego udziału w procesie sterydogenezy. Estradiol u sów uważany jest za hormon o działaniu luteostatycznym [3]. Z badań in vitro wynika, że nie ma on wpływu na sekrecję P_4 przez komórki lutealne sów z wczesnego okresu ciąży [72], ale podnosi sekrecję progesteronu przez komórki lutealne sów w cyklu [22].

W naszych badaniach dowiedliśmy, że egzogeny estradiol także nie ma wpływu na sekrecję P_4 przez komórki lutealne sów ciężarnych oraz rzeKOMOCIĘŻARNYCH, z wyjątkiem jednej dawki 100 ng/ml pożywki, która stymulowała sekrecję progesteronu u sów ciężarnych [17]. Ponadto zaobserwowaliśmy, że egzogeny estradiol ogranicza luteotropowy efekt LH na sekrecję P_4 . Wyniki nasze potwierdzają sugestie Bazera i wsp. [3] o luteostatycznym działaniu estradiolu w czasie wczesnej ciąży. Uwzględniając jednak badania Gregoraszczyk [22], w których wykazano stymulacyjne działanie estradiolu na sekrecję P_4 przez komórki lutealne cyklu, wydaje się, że rola tego hormonu może być różna, w zależności od okresu aktywności płciowej sowy.

WPLYW Gn RH, OKSYTOCYNY I WAZOTOCYNY NA SEKREJCJĘ STERYDÓW
PRZEZ KOMÓRKI LUTEALNE Z CYKLU I CIĄŻY

Gn RH

Od czasu izolacji i syntezy GnRH, przedstawionej przez Schally i wsp. [60], dokonano syntezy ponad 1000 jego pochodnych. Analogi GnRH mają większą aktywność biologiczną niż naturalny GnRH, co jest prawdopodobnie związane z ich wolniejszym rozkładem enzymatycznym [8]. Początkowo sądzono, że GnRH i jego analogi mogą działać jedynie na przysadkę, warunkując uwalnianie hormonu LH i FSH. Jednakże dalsze badania wykazały, że ich działanie jest bardziej złożone. Stwierdzono bezpośrednie hamujące działanie GnRH i jego agonistów na sterydogenezę jajnikową, owulację, transport i implantację zygoty [9, 30, 31]. GnRH u samic szczura powoduje obniżenie poziomu progesteronu w surowicy, spadek ilości receptorów LH i FSH w tkance jajnikowej oraz zmniejszenie ciężaru macicy. Najwyraźniejsze działanie GnRH występuje w okresie kołoimplantacyjnym. Podanie neurohormonu w pierwszych 4 dniach ciąży opóźnia przejście zapłodnionego jaja z jajowodu do macicy i opóźnia implantację [31].

Mechanizm antyrozrodczego działania GnRH i jego agonistów nie został wyjaśniony.

Celem naszych badań było sprawdzenie wpływu GnRH na syntezę sterydów przez komórki lutealne, uzyskane od świń w 13 dniu cyklu estralnego, czyli w okresie największej ich wrażliwości na hormony egzogenne [46, 47] oraz w końcowym okresie implantacji, który u świń przypada na 18 dzień ciąży.

Tabela 2

Wpływ oksytocyny na produkcję estradiolu-17 β przez komórki lutealne otrzymane od świń w 18 dniu ciąży

Grupa	Zawartość estradiolu 17 β /pg/ml/ w badanych godzinach inkubacji		
	1	3	6
Kontrolna	53,4 \pm 14,6	45,0 \pm 13,8	39,1 \pm 7,8
Z oksytocyną mi.u/ml			
4	133,0 \pm 56,0	71,5 \pm 23,6	129,8 \pm 50,7 ^a
40	157,0 \pm 30,2 ^a	152,1 \pm 27,6 ^a	127,6 \pm 37,9
400	93,2 \pm 3,7	102,9 \pm 28,5	120,4 \pm 19,1

Wszystkie wartości reprezentują średnią \pm SEM z pięciu doświadczeń.

^a/P < 0,05/ w porównaniu z grupą kontrolną.

Wykazaliśmy, że ^{125}I GnRH nie ma wpływu na sterydogenezę w komórkach lutealnych świń w cyklu /tab. 3/. Natomiast u świń ciężarnych istotnie zmniejsza sekrecję estradiolu 17β , jeżeli stosować go w dawce 10 ng/ml pożywki oraz sekrecję testosteronu przy podaniu 1 ng [19]. Obserwowano także tendencję do obniżenia poziomu progesteronu pod wpływem stosowanych dawek ^{125}I GnRH /tab. 4/.

Tabela 3

Poziom P_4 /ng/ml/, E_2 i testosteronu /pg/ml/ po inkubacji komórek lutealnych z 13 dnia cyklu estralnego z różnymi ilościami GnRH $\bar{x} \pm \text{SEM}$ /

Grupa	P_4		E_2		T	
	n = 9		n = 7		n = 6	
Kontrolna	182,7	$\pm 24,1^a$	31,0	$\pm 8,0$	86,2	$\pm 5,6$
0,1 ng GnRH	161,4	$\pm 28,0^a$	19,1	$\pm 3,4$	91,2	$\pm 9,1$
1 ng GnRH	193,4	$\pm 39,4^{ab}$	20,0	$\pm 3,2$	74,4	$\pm 13,1$
10 ng GnRH	181,8	$\pm 27,6^a$	27,5	$\pm 5,2$	84,2	$\pm 10,2$
100 ng GnRH	173,7	$\pm 27,1^a$	52,7	$\pm 8,2$	102,0	$\pm 18,6$
1 μg LH	240,5	$\pm 32,9^b$	-	-	-	-
50 IU hCG	245,9	$\pm 44,6^b$	-	-	-	-

Małymi literami różnymi oznaczono różnice istotne /P < 0,05/.

Tabela 4

Poziom P_4 /ng/ml/, E_2 i testosteronu /pg/ml/ po inkubacji komórek lutealnych z 18 dnia ciąży z różnymi ilościami GnRH $\bar{x} \pm \text{SEM}$ /

Grupa	Hormony					
	P_4		E_2		T	
	n = 8		n = 9		n = 9	
Kontrolna	184,2	$\pm 21,2$	33,7	$\pm 3,5^a$	83,1	$\pm 6,3^a$
0,1 ng GnRH	168,3	$\pm 24,8$	23,5	$\pm 4,2^{ab}$	72,6	$\pm 8,7^{ab}$
1 ng GnRH	145,7	$\pm 15,4$	25,5	$\pm 4,3^{ab}$	56,7	$\pm 7,1^b$
10 ng GnRH	155,4	$\pm 12,9$	19,1	$\pm 3,5^b$	76,2	$\pm 7,9^{ab}$
100 ng GnRH	132,2	$\pm 12,9$	24,3	$\pm 3,1^{ab}$	59,5	$\pm 5,9^{ab}$

Małymi literami różnymi oznaczono różnice istotne /P < 0,05/.

Prawdopodobnie brak wpływu ^{125}I GnRH na komórki lutealne cyklu wynika z braku receptorów dla tego neurohormonu w tkance lutealnej świń. Z drugiej strony Massicotte i wsp. [38] oraz Otani i wsp. [43] wykazali hamujące działanie ^{125}I GnRH na liczbę receptorów LH, sekrecję progesteronu, akumulację cAMP stymulowaną przez FSH i hCG w komórkach warstwy ziarnistej u świń. Brak reaktywności komórek lutealnych na GnRH w cyklu oraz ujawnienie się ich reakcji u świń ciężarnych, a także podczas hodowli komórek warstwy ziarnistej [38] wskazuje na występowanie okresowego wychwytu ^{125}I GnRH przez błony komórek jajnika, co sugeruje że receptory dla tego neurohormonu mogą pojawiać się i znikać, w zależności od okresu aktywności płciowej świni. Wykazano, że podawanie GnRH samicom szczura powoduje spadek ilości receptorów LH i FSH w tkankach jajnika oraz obniżenie poziomu P_4 w surowicy krwi [9]. Wyniki te pozwalają na częściowe wyjaśnienie antyrozrodczego działania GnRH.

OKSYTOCYNĄ I WAZOTOCYNĄ

Oksytocyna jest neuropeptydem produkowanym przez podwzgórze, ale także przez jajnik kobiet [32, 74], owiec [14, 73], krów [24, 61] i świń [45]. Arginino-wazotocyna jest strukturalnie podobna do oksytocyny i została zidentyfikowana u ssaków w gruczole szyszynkowym. W szyszynce świń wykazano obecność lizyno-wazotocyny [44]. Stwierdzono, że arginino-wazotocyna opóźnia u myszy wzrost macicy i jajników stymulowany przez hCG oraz rozwój pęcherzyków jajnikowych i owulację u szczurów [6, 7]. Natomiast egzogenna oksytocyna skraca cykl estralny u małp i krów [2, 26], a wysoka koncentracja tego hormonu hamuje także produkcję P_4 przez rozproszone komórki lutealne, otrzymane z ciałek żółtych kobiet i krów [66-68], lecz nie ma wpływu na proces sterydogenezy w komórkach lutealnych szczura [41].

Wykonaliśmy doświadczenie mające na celu zbadanie wpływu oksytocyny i wazotocyny na sekrecję sterydów przez komórki lutealne świń w 13 dniu cyklu oraz wczesnej ciąży [49, 52, 53]. Wybór trzynastego dnia cyklu wynikał z naszych wcześniejszych doświadczeń, w których wykazaliśmy, że komórki lutealne z tego okresu są najbardziej wrażliwe, zarówno na czynniki stymulujące, jak i pobudzające proces sterydogenezy [46, 47]. Wykazaliśmy, że niskie dawki oksytocyny i wazotocyny hamują sekrecję P_4 przez komórki lutealne cyklu /tab. 5/. Zaobserwowano także hamowanie sekrecji estradiolu pod wpływem oksytocyny w porównaniu z komórkami lutealnymi, inkubowanymi w obecności hCG. Powyższe wyniki wskazują na luteolityczne działanie oksytocyny u świń.

Wcześniej Forsling i wsp. [15] w badaniach przeprowadzonych na świniach miniaturowych w późnej ciąży oraz podczas porodu i laktacji wykazali, że uwalnianie oksytocyny jest zbieżne z obniżeniem koncentracji progesteronu i wzrostem estrogenów. Także Pitzel i wsp. [45] stwierdzili, że wysokie koncentracje oksytocyny występują w ciałku żółtym z 5 dnia cyklu,

kiedy poziom P_4 jest niski, natomiast w 12 dniu cyklu, gdy sekrecja progesteronu była wysoka, zawartość oksytocyny w ciałku żółtym była niska. Z badań przeprowadzonych przez Kotwicę i wsp. [33] wynika, że infuzje oksytocyny lochom po odsadzeniu prosiąt nie miały wpływu na wydzielanie LH i PRL, dopiero równoczesne podanie prolaktyny i oksytocyny hamowały owulację.

Tabela 5

Wpływ oksytocyny /OT/, wazotocyny /AVT/, LH i hCG na produkcję progesteronu, testosteronu i estradiolu 17β przez komórki lutealne świń z 13 dnia cyklu

Grupa	Progesteron /ng/ml/ x ± SEM		Testosteron /pg/ml/ x ± SEM		Estradiol- 17β /pg/ml/ x ± SEM	
	Kontrolna	182,67	±34,03 ^a	86,16	±7,86	31,02
OT 4 mi.u/ml	159,02	±32,70 ^b	62,83	±14,22	17,47	±3,39
OT 40 mi.u/ml	222,78	±46,05	87,91	±14,90	14,34	±2,93
AVT 10 ng/ml	152,73	±33,96 ^b	72,71	±11,42	28,71	±11,56
AVT 100 ng/ml	205,43	±48,85	79,06	±9,13	45,04	±13,98
LH 1 µg	240,52	±46,58 ^b	61,26	±14,19	53,45	±19,11
hCG 50 IU	245,95	±63,03	54,41	±8,92	30,41	±7,20

Małymi różnymi literami oznaczono różnice istotne /P < 0,05/.

Tabela 6

Wpływ oksytocyny i wazotocyny na sekrecję progesteronu /ng/ml/ i testosteronu /pg/ml/ przez komórki lutealne świń z 18 dnia ciąży

Grupa	Progesteron średnia ± SD n = 8		Testosteron średnia ± SD n = 8	
	Kontrolna	184,85	±21,22	79,47
Oksytocyna 4mi.u/ml	187,05	±29,42	68,45	±4,89 ^{ab}
Oksytocyna 40 mi.u/ml	180,90	±24,17	64,65	±8,10 ^{ab}
Wazotocyna 10 ng/ml	141,77	±15,49	57,02	±7,85 ^b
Wazotocyna 100 ng/ml	145,51	±11,84	68,84	±7,22

Różnymi literami małymi oznaczono różnice istotne /P < 0,05/.

W naszych badaniach komórki lutealne, uzyskane od świń ciężarnych, inkubowane z oksytocyną i wazotocyną nie zmieniały sekrecji P_4 [53]. Natomiast wykazano pod wpływem oksytocyny wzrost sekrecji estradiolu [49] oraz hamowanie uwalniania testosteronu /tab. 6/.

Powyższe wyniki wyraźnie wskazują, że działanie oksytocyny na ciałko żółte cykliczne może się różnić od jej oddziaływania na ciałko ciążowe. Prawdopodobnie w procesie tym istotną rolę odgrywa specjalny mechanizm, ochraniający ciałko żółte ciążowe świni przed działaniem czynników luteolitycznych [40]. Wzrost poziomu estradiolu i obniżenie poziomu testosteronu podczas inkubacji komórek lutealnych z oksytocyną sugeruje, że oksytocyna wpływa na metabolizm testosteronu, powodując jego przekształcenie w estradiol. Ponadto oksytocyna i arginino-wazotocyna mogą hamować biosyntezę pregnenolonu, zmniejszając aktywność enzymów powodujących przejście pregnenolonu w progesteron.

KONCENTRACJA HORMONÓW STERYDOWYCH I PROLAKTYNY W PŁYNIE PĘCHERZYKOWYM ŚWIŃ W CYKLU I CIĄŻY

Z dotychczasowego przeglądu piśmiennictwa wynika, że zawartość sterydów w płynie pęcherzykowym świń w cyklu była przedmiotem zainteresowania wielu badaczy, jednakże dotychczas nie oznaczano zawartości prolaktyny w płynie pęcherzykowym, tak jak nie zajmowano się płynem pęcherzykowym, pochodzącym z pęcherzyków jajnikowych świń ciężarnych.

Dysponując pęcherzykami jajnikowymi świń w różnych okresach cyklu oraz ciąży podjęto badania mające na celu porównanie zawartości hormonów sterydowych i prolaktyny w płynie pęcherzykowym w 5, 8, 13, 17 i 20 dniu cyklu estralnego oraz 18 i 28 dniu ciąży. Wykazano wysoce istotny wzrost P_4 i E_2 w płynie pęcherzykowym świń z 20 dnia cyklu w porównaniu z 5, 8 i 17 dniem. W czasie wczesnej ciąży /18 i 28 dzień/ poziom P_4 był zbliżony do tych wartości, które uzyskano w 17 dniu cyklu [50]. Najniższy poziom estradiolu wykazano w 13 dniu cyklu oraz w czasie ciąży. Koncentracja testosteronu w płynie pęcherzykowym nie wykazała tak dużych wahań, jak P_4 i E_2 . Najwyższy poziom tego hormonu wykazano w 17 dniu cyklu, a najniższy w 13 dniu cyklu i 28 dniu ciąży /tab. 7/. Poziom PRL w płynie pęcherzykowym był najniższy w 5 dniu cyklu. Wykazano także istotne różnice między 18 i 28 dniem ciąży /tab. 8/.

Tak duże nagromadzenie sterydów w płynie pęcherzykowym świń z 20 dnia cyklu wskazuje na ich udział w przygotowaniu pęcherzyka do owulacji. Rondell sugerował, że P_4 indukuje syntezę specyficznych białek lub enzymów odpowiedzialnych za pęknięcie ściany pęcherzyka podczas owulacji [59]. W badaniach *in vitro* wykazano, że E_2 i P_4 obecne w płynie pęcherzykowym pełnią funkcje regulacyjne w dojrzewaniu oocytów świń [59].

Tabela 7

Koncentracja P_4 , E_2 i T /ng/ml/ w płynie pęcherzykowym świń z cyklu i ciąży

Grupa	Dni cyklu /c/ lub ciąży /p/	P_4 x \pm S.D.	E_2 x \pm S.D.	T x \pm S.D.
1	5 c	70,47 \pm 33,12	3,52 \pm 3,43	4,85 \pm 4,05
2	8 c	166,53 \pm 44,87	7,79 \pm 5,76	4,57 \pm 2,74
3	13 c	90,04 \pm 61,18	1,68 \pm 1,46	2,89 \pm 1,98
4	17 c	67,08 \pm 21,70	5,29 \pm 5,09	6,99 \pm 3,71
5	20 c	216,48 \pm 173,58	15,10 \pm 7,15	4,36 \pm 2,19
6	18 p	58,38 \pm 23,92	2,21 \pm 1,81	3,34 \pm 2,64
7	28 p	66,69 \pm 54,82	0,76 \pm 0,21	2,55 \pm 1,27

Różnice statystycznie istotne /P < 0,05/ dla P_4 wykazano między grupami 1, 3, 4 a 5 i grupami 5 a 6 i 7.

Różnice statystycznie istotne /P < 0,05/ dla E_2 wykazano między grupami 1, 2, 3, 4 a 5.

Tabela 8

Koncentracja PRL /ng/ml/ w płynie pęcherzykowym świń z cyklu i ciąży

Grupa	Dni cyklu /c/ lub ciąży /p/	PRL x \pm S.D.
1	5 c	1,84 \pm 0,45
2	8 c	3,64 \pm 0,75
3	13 c	2,20 \pm 0,60
4	17 c	2,56 \pm 0,75
5	20 c	3,14 \pm 1,39
6	18 p	3,93 \pm 1,79
7	28 p	2,26 \pm 0,88

Różnice statystycznie istotne /P < 0,05/ wykazano między grupą 1 i 2; grupą 6 i 7; grupą 1 i 6; grupą 3 i 6.

Stwierdzony spadek zawartości P_4 i E_2 w płynie pęcherzykowym u świń ciężarnych może mieć związek z podjętą produkcją estrogenów przez blastocysty, które mogą modyfikować syntezę tych hormonów przez komórki pęcherzyka.

LITERATURA

1. Anderson L.L., Dyck G.W., Mori H., Henricks D.M., Malampy R.H.: Ovarian function in pigs following hypophysial stalk transection or hypophysectomy. *Am. J. Physiol.* 1967, 212, 1188-1194.
2. Auletta F.J., Paradis D.K., Wesley M., DUBY R.T.: Oxytocin is luteolytic in the rhesus monkey */Macaca mulatta/*. *J. Reprod. Fert.* 1984, 72, 401-406.
3. Bazer F.W., Geisert R.D., Thatcher W.W., Roberts R.M.: The establishment and maintenance of pregnancy. In *Control of pig reproduction*. Cole D.J.A. Foxcroft G.R., Eds., London, Butterworths 1982, 227-252.
4. Brinkley H.J.: Endocrine signaling and female reproduction. *Biol. Reprod.* 1981, 24, 22-43.
5. Channing C.P.: Effect of stage of the estrous cycle and gonadotropins upon luteinization of porcine granulosa cells in culture. *Endocrinology*. 1970, 87, 156-164.
6. Cheesman D.W.: Structural elucidation of a gonadotropin-inhibiting substance from the bovine pineal gland. *Biochim. Biophys. Acta* 1970, 207, 247-253.
7. Cheesman D.W., Osland R.B., Forsham P.H.: Suppression of the preovulatory surge of luteinizing hormone and subsequent ovulation in the rat by arginine-vasotocin. *Endocrinology* 1977, 101, 1194-1202.
8. Clayton R.N., Shakespear R.A., Duncan J.A., Marshall J.C., Munson P.J., Rodbard D.: Radioiodinated nondegradable gonadotropin-releasing hormone analogs: new probes for the investigation of pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocrinology* 1979, 105, 1369.
9. Clayton R.N., Harwood J.P., Catt K.J.: Gonadotropin-releasing hormone analogue binds to luteal cells and inhibits progesterone production. *Nature* 1979, 282, 90-92.
10. Cook B., Kaltenbach C.C., Norton H.W., Nalbandov A.V.: Synthesis of progesterone in vitro by porcine corpora lutea. *Endocrinology* 1967, 81, 573-584.
11. Demura R., Ono H., Demura H., Shizume K., Oouchi H.: Prolactin directly inhibits basal as well as gonadotropin-stimulated secretion of progesterone and 17β -estradiol in the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1982, 54, 1246-1250.
12. Du Mensil du Buisson F., Leglise P.C.: Effect de l'hypophysectomie sur les corps jaunes de la truie. *Resultats preliminaires c.r. hebd. Acad. Sci., Paris D* 1963, 257, 257-261.

13. Dusza L., Krzymowska H.: Plasma prolactin concentrations during the oestrous cycle of sows. *J. Reprod. Fert.* 1979, 57, 511-514.
14. Flint A.P.F., Shelaric E.L.: Ovarian secretion of oxytocin in the sheep. *J. Physiol., Lond.* 1982, 330, 61P-62P.
15. Forsling M.L., Taverne M.A.M., Parvizi N., Elsaesser E., Smidt D., Ellendorff F.: Plasma oxytocin and steroid concentrations during late pregnancy, parturition and lactation in the miniature pig. *J. Endocr.* 1979, 82, 61-69.
16. Grażul A.: Wpływ hormonu luteinizującego /LH/, prolaktyny /PRL/ i prostaglandyny $F_{2\alpha}$ /PGF $_{2\alpha}$ / na sekrecję progesteronu przez komórki jajnika świń in vitro. Praca doktorska ART Olsztyn 1982, 1-91.
17. Grażul A., Przała J., Więsak T.: Wpływ estradiolu 17β /E $_2$ / i hormonu luteinizującego LH na sekrecję progesteronu /P $_4$ / przez komórki lutealne pochodzące od loch w ciąży i w ciąży rzekomej in vitro. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1984, 309, 123-132.
18. Grażul A.: Release of progesterone by porcine luteal cells from different days of estrous cycle: Effect of LH, PRL and PGF $_{2\alpha}$. *Endocrinol. Exp.* 1985, 19, 117-128.
19. Grażul., Przała J., Więsak T., Muszyńska A., Zięcik A.: Action of Gn RH on steroid secretion by luteal cells from cyclic and early pregnant sows in vitro. *Acta Physiol. Hung.* 1986 /w druku/.
20. Grażul A., Przała J., Więsak T., Muszyńska A.: Effect of estradiol 17β and luteinizing hormone on progesterone secretion by luteal cells from early pregnant, estradiol benzoate - treated and human chorionic gonadotropin - treated sows. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1986 /w druku/.
21. Grażul A., Przała J., Więsak T., Muszyńska A.: Estradiol- 17β influence on testosterone secretion by luteal cells from early pregnant, estradiol benzoate - treated and human chorionic gonadotropin - treated sows in vitro. *Acta Vet. Hung.* /w druku/.
22. Gregoraszczyk E.: Steroid hormone release in cultures of pig corpus luteum and granulosa cells.: Effect of LH, hCG, PRL and estradiol. *Endocrinol. Exp.* 1983, 17, 59-68.
23. Gregoraszczyk E., Wojtusiak A.: Histochemical evaluation of $\Delta^5, 3\beta$ -OHSD activity in two types of porcine corpora lutea and granulosa cells in tissue culture. *Acta histochem.* 1982, 70, 22-30.
24. Guldenaar S.E.F., Wathes D.C., Pickering B.T.: Immunocytochemical evidence for the presence of oxytocin and neurophysin in the large cells of the bovine corpus luteum. *Cell Tissue Res.* 1984, 237, 341-352.
25. Guthrie H.D., Rexroad Jr. C.E.: Endometrial prostaglandin F release in vitro and plasma 13, 14-dihydro-15-ketoprostaglandin $F_{2\alpha}$ in pigs with luteolysis blocked by pregnancy,

- estradiol benzoate or human chorionic gonadotropin. *J. Anim. Sci.* 1981, 52, 330-339.
26. Hansel W., Wagner W.G.: Luteal inhibition in the bovine as a result of oxytocin injections, uterine dilatation and intrauterine infusions of seminal and preputial fluids. *J. Dairy Sci.* 1960, 43, 796-805.
27. Haney A.F., Schomberg D.W.: Steroidal modulation of progesterone secretion by granulosa cells from large porcine follicles: a role for androgens and estrogens in controlling steroidogenesis. *Biol. Reprod.* 1978, 19, 242-248.
28. Hilliard J., Scaramuzzi R.J., Pang C.N., Penardi R., Sawyer C.H.: Testosterone secretion by rabbit ovary in vivo. *Endocrinology.* 1974, 94, 267-271.
29. Hsueh A.J.W., Jones P.B.C., Adashi E.I., Wang Ch., Zhuang L.Z., Welsh J.T.H.: Intraovarian mechanisms in the hormonal control of granulosa cell differentiation in rats. *J. Reprod. Fert.* 1983, 69, 325-342.
30. Hsueh A.J.W., Erickson G.E.: Extrapituitary action of gonadotropin - releasing hormone: Direct inhibition of ovarian steroidogenesis. *Science* 1979, 204, 854.
31. Humphrey R.R., Windsor B.L., Jones D.C., Reel J.R., Edgren R.A.: The effect of luteinizing hormone releasing hormone /LH-RH/ in pregnant rats. 2. Prenidatory effects and delayed parturition. *Biol. Reprod.* 1978, 19, 84.
32. Khan - Dawood F.S., Dawood M.Y.: Human ovaries contain immunoreactive oxytocin. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1983, 57, 1129-1132.
33. Kotwica G., Dusza L., Szafrńska B., Ciereszko, Krzymowska H., Doboszyńska T., Zięcik A., Kotwica J.: Wpływ egzogennej oksytocyny oraz łącznego podawania oksytocyny i prolaktyny na hormonalną czynność jajnika u macior po odsadzeniu prosiąt. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1984, 309, 133-142.
34. Lischinsky A., Evans G., Armstrong D.T.: Site of androgen inhibition of follicle - stimulating hormone - stimulated progesterone production in porcine cells. *Endocrinology* 1983, 113, 1999-2003.
35. Loeber J.G.: Human luteinizing hormone. Structure and function of some preparation. *Acta Endocr., Suppl.* 1977, 210, 57-68.
36. Łukaszewska J., Hansel W.: Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fert.* 1980, 59, 485-493.
37. Marian J., Conn P.M.: Subcellular localization of the receptor for the gonadotropin - releasing hormone in the pituitary ovarian tissue. *Endocrinology* 1983, 112, 104-112.
38. Massicotte J., Veilleux R., Lavoie M., Labrie F.: An LHRH agonist inhibits FSH - induced cyclic AMP accumulation and steroidogenesis in porcine granulosa cells in culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980, 94, 1362-1366.

39. McGaughey R.W.: The culture of pig oocyte in minimal media and the influence of progesterone and estradiol-17 β on meiotic maturation. *Endocrinology* 1977, 100, 39-45.
40. Moeljano M.P.E., Thatcher W.W., Bazer F.W., Frank, Owens L.J., Wilcox C.J.: A study of prostaglandin F₂ alfa as a luteolysin in swine. II. Characterization and comparison of prostaglandin F, estrogens and progestin concentrations in uteroovarian vein plasma of nonpregnant and pregnant gilts. *Prostaglandins* 1977, 14, 543-553.
41. Mukhopadhyay A.K., Kumar A., Tams R., Bohnet H.G., Leidenberger F.A.: Oxytocin and vasopressin have no effect on progesterone production and cyclic AMP accumulation by rat luteal cells in vitro. *J. Reprod. Fert.* 1984, 72, 137-141.
42. Nakano R., Sasaki K., Shima K., Kitayama: Follicle - stimulating hormone and luteinizing hormone receptors on porcine granulosa cells during follicular maturation: An autoradiographic study. *Exper. Clin. Endocrinol.* 1983, 81, 17-23.
43. Otani T., Maruo T., Ashitaka Y., Tojo S.: Multiple inhibitory effects of a luteinizing hormone - releasing hormone agonist on hCG dependent steroidogenesis and on FSH - dependent responses in ovarian cells in vivo and in vitro. *Endocrinol. Japon* 1982, 29, 597-605.
44. Pavel S.: Evidence for the presence of lysine vasotocin in the pig pineal gland. *Endocrinology* 1965, 77, 812-817.
45. Pitzel L., Welp K., Holtz W., Konig A.: Neurohypophyseal hormone in the corpus luteum of the pig. *Neuroendocrinol. Lett.* 1984, 6, 1-5.
46. Przała J., Więsak T., Grażul A. and Cieplińska: The effect of prolactin on estradiol-17 β and testosterone plus 5 α -dihydrotestosterone secretion by porcine luteal cells in vitro. *Clin. Exp. Endocr.* 1984, 83, 343-348.
47. Przała J., Grażul A., Więsak T.: The influence of prolactin /PRL/ on progesterone secretion by porcine luteal cells in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 1984, 7, 351-362.
48. Przała J., Więsak T., Grażul A.: Wpływ hormonu luteinizującego /LH/, prolaktyny /PRL/ i hCG na sekrecję estradiolu 17 β przez komórki lutealne świń z wczesnego okresu ciąży. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1984, 309, 165-173.
49. Przała J., Grażul A., Więsak T.: Wpływ oksytocyny na komórki lutealne świń z wczesnego okresu ciąży. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1984, 309, 157-164.
50. Przała J., Grażul A., Więsak T., Muszyńska A, Dusza L.: Steroid hormones and prolactin in porcine follicular fluid in estrous cycle and early pregnancy. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1985, 85, 000-000.
51. Przała J., Więsak T., Grażul A.: Influence of LH, hCG and PRL on steroid release by granulosa cells of early pregnant and pseudopregnant sows. *Endocrinol. Exp.* 1985, 19, 304-311.

52. Przała J., Grażul A., Więsak T., Muszyńska A., Rząsa J.: The effect of oxytocin and vasotocin upon progesterone, testosterone and estradiol 17β secretion by luteal cells from cyclic pigs. *Exper. Clin. Endocr.* 1986 /w druku/.
53. Przała J., Grażul A., Więsak T., Muszyńska A., Rząsa J.: The effect of oxytocin and vasotocin on the steroid secretion by porcine luteal cells in early pregnancy. *Endokrynologia Polska* 1986, 3 /w druku/.
54. Przała J., Więsak T., Grażul A.: Wpływ hormonu luteinizującego /LH/, prolaktyny /PRL/ i hCG na sekrecję estradiolu 17β przez komórki lutealne świń z wczesnego okresu ciąży. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1984, 309, 165-173.
55. Rexroad C.E., Casida L.E.: Ovarian follicular development in cows, sows and ewes in different stages of pregnancy as affected by number of corpora lutea in the same ovary. *J. Anim. Sci.* 1975, 41, 1090-1097.
56. Richards J.S.: Estradiol receptor content in rat granulosa cells during follicular development: modification by estradiol and gonadotropins. *Endocrinology* 1975, 97, 1174-1184.
57. Richards J.S., Midgley A.R., Jr.: Protein hormone action: a key to understanding ovarian follicular and luteal cell development. *Biol. Reprod.* 1976, 14, 82-94.
58. Rodway R.G., Dodson K., Watson J.: Steroid secretion by superfused porcine ovarian cells. *Acta Endocr., Suppl. abst.* 1975, 199, 159.
59. Rondell P.: Role of steroid synthesis in the process of ovulation. *Biol. Reprod.* 1974, 10, 199-215.
60. Schally A.V., Arimura A., Baby Y., Nair R.M.G., Matsuo H., Redling T.W., Debeljuk L., White W.F.: Isolation and properties of the FSH and LH - releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1971, 43, 393.
61. Schams D., Walter D.L., Schallenberger E., Bullermann B., Karg H.: Ovarian oxytocin in the cow. *Acta Endocr. Copenh., Suppl.* 1983, 252, 147 Abstr. 164.
62. Schreiber J.R., Hsueh A.J.W.: Progesterone "receptor" in rat ovary. *Endocrinology* 1979, 105, 915-919.
63. Schreiber J.R., Ross G.T.: Further characterization of a rat ovarian testosterone receptor with evidence for nuclear translocation. *Endocrinology* 1976, 99, 590-596.
64. Stokłosowa S., Gregoraszczyk E., Channing C.P.: Estrogen and progesterone secretion by isolated cultured porcine thecal and granulosa cells. *Biol. Reprod.* 1982, 26, 943-952.
65. Stokłosowa S., Gregoraszczyk E.: Interakcja komórek osłonki wewnętrznej i warstwy ziarnistej pęcherzyka jajnikowego oraz komórek małych i dużych ciała żółtego na sekrecję hormonów sterydowych i ich odpowiedź na egzogenne hormony gonadotropowe. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1984, 309, 49-70.

66. Tan G.J.S., Tweedale R., Biggs J.S.G.: Oxytocin may play a role in the control of the human corpus luteum. *J. Endocr.* 1982, 95, 65-70.
67. Tan G.J.S., Tweedale R., Biggs J.S.G.: Effect of oxytocin on the bovine corpus luteum of early pregnancy. *J. Reprod. Fert.* 1982, 66, 75-78.
68. Tan G.J.S., Biggs J.S.G.: Progesterone production by dispersed luteal cells of nonpregnant cows: Effect of oxytocin and oestradiol. *Anim. Reprod. Sci.* 1984, 7, 441-445.
69. Thanaki K.H., Channing C.P.: Effect of follicle - stimulating hormone and estradiol upon progesterone secretion by porcine granulosa cells in tissue culture. *Endocrinol.* 1978, 103, 74-80.
70. Van de Wiel D.F.M., Erkens J., Koops W., Vos E., van Landeghem A.S.J.: Periostrous and midluteal time courses of circulating LH, FSH, prolactin, estradiol-17 β and progesterone in the domestic pig. *Biol. Reprod.* 1981, 24, 223-233.
71. Veldhuis J.D., Klase P.A., Strauss III J.F., Hammond J.M.: Facilitative interaction between estradiol and luteinizing hormone in the regulation of progesterone production by cultured swine granulosa cells: relation to cellular cholesterol metabolism. *Endocrinology* 1982, 111, 441-447.
72. Watson J., Walker F.M.H.: Progesterone secretion by the corpus luteum of the early pregnant pig during superfusion in vitro with PGF_{2 α} , LH and estradiol. *J. Reprod. Fert.* 1978, 52, 209-212.
73. Wathes D.C., Swann R.: Is oxytocin an ovarian hormone? *Nature Lond.* 1982, 297, 225-227.
74. Wathes D.C., Swann R.W., Pickering B.T., Porter O.G., Hall M.G.R., Drife J.O.: Neurohypophysial hormones in the human ovary. *Lancet* 1982, 21, 400-412.
75. Więsak T.: Wpływ hCG, LH i PRL na sekrecję progesteronu /P₄/, estradiolu 17 β /E₂/ i testosteronu /T/ przez komórki lutealne świń ciężarnych i w ciąży rzekomej. Praca doktorska ART Olsztyn 1985, 1-88.
76. Yoshida K.: In vitro study of bovine and human corpora lutea cell culture. *Jap. J. Fert. Steril.* 1980, 25, 13-22.
77. Zięcik A., Shaw H.J., Flint A.P.F.: Luteal LH receptors during the oestrous cycle and early pregnancy in the pig. *J. Reprod. Fert.* 1980, 60, 129-137.
78. Zięcik A.: Wydzielanie hormonu luteinizującego w różnych okresach aktywności płciowej świni. *Zesz. Nauk. ART* 1983, 25, 3-36.

J. Przała

SECRETORY FUNCTION OF PORCINE OVARIAN CELLS
IN THE ESTROUS CYCLE, PREGNANCY AND PSEUDOPREGNANCY

Summary

The aim of this summary is to present on the base of own, carried out up to now studies and literature data, secretory function of ovarian cells and their susceptibility to neurohormones and gonadotropins in the different periods of sexual activity in the pig.

Below listed problems will be discussed:

1. LH and PRL influences on progesterone secretion by granulosa and luteal cells obtained from porcine ovaries in different days of the estrous cycle.
2. LH, hCG and PRL influences on steroid secretion by granulosa and luteal cells obtained from pregnant and pseudopregnant pigs.
3. GnRH, oxytocin and vasotocin influences on steroid secretion by porcine luteal cells from the estrous cycle and pregnancy.
4. Concentration of steroid hormones and prolactin in the follicular fluid of the pigs in different days of the estrous cycle and pregnancy.

Я. Пшала

СЕКРЕТОРНАЯ ФУНКЦИЯ КЛЕТОК ЯИЧНИКА СВИНЕЙ
ВО ВРЕМЯ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА, БЕРЕМЕННОСТИ
И МНИМОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Р е з ю м е

Целью статьи является представление, на основании проведенных до настоящего времени собственных исследований и литературы, секреторной функции клеток яичника, а также их реактивности на неврогормоны и гонадотропные гормоны в разные периоды активности свиней.

Итак, будет рассмотрено:

1. Влияние LH и PRL на секрецию прогестерона клетками гранулезы и лютеальными клетками, взятыми из яичников свиней в разные дни эстрального цикла.

2. Влияние LH, hCG и PRL на секрецию стероидов клетками гранулезы и лютеальными клетками, взятыми от беременных свиней и от свиней с мнимой беременностью.

3. Влияние GnRH окситоцина и вазотоцина на секрецию стероидов лютеальными клетками свиней во время цикла и беременности.

4. Концентрация стероидных гормонов и пролактина в фолликулярной жидкости свиней в разные дни цикла и беременности.