

ANDRZEJ BIELAŃSKI, EDWARD WIERZCHOŚ, BARBARA GAJDA

Koncentracja kortyzolu i progesteronu u bydła w czasie pozyskiwania i transplantacji zarodków

Z Zakładu Fizjologii Zwierząt oraz z Zakładu Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt Instytutu Zootechniki w Balicach k. Krakowa

Zabiegi związane z pozyskiwaniem i transplantacją zarodków łączą się z wykonywaniem szeregu manipulacji na narządzie rodnym samicy. Czynniki te w zależności od stosowanej metody mogą powodować większy lub mniejszy stres zwierzęcia i wpłynąć niekorzystnie na rozwój zarodka i dalsze utrzymanie ciąży. Dlatego też celem pracy było prześledzenie koncentracji progesteronu jako hormonu regulującego czynność ciała żółtego z jednej strony oraz kortyzolu jako wskaźnika nasilenia stresu w czasie operacyjnego pozyskiwania i transplantacji zarodków.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 13 jałówek rasy nizinnej czarno-białej oraz polskiej czerwonej w wieku około 14 miesięcy i wadze od 250 do 300 kg. Jałówki dawczyni przygotowywano do transplantacji podając w 9, 10 lub 11 dniu cyklu 2000 j. m. PMSG oraz w 48 h później 500 µg cloprostenolu (9). Inseminację lub krycie przeprowadzano w 2 dni po podaniu prostaglandyny dwukrotnie w odstępach 12 h.

Pozyskiwanie i transplantację zarodków przeprowadzano przy użyciu metody chirurgicznej w 7 dniu cyklu rujowego (10). Zwierzęta operowano w linii białej, w znieczuleniu ogólnym uzyskiwanym poprzez frakcjonowane podawanie barbituranów (Thiopental), po uprzedniej ich premedytacji preparatem Combelen i Relanium (1). Po wyeksponowaniu macicy na powierzchnię powłok brzusznych zarodki wyplukiwano 150 ml płynu Dulbecco. W przypadku zaś transplantacji zarodek deponowano do jednego z rogów macicy po stronie ciała żółtego. Zwierzęta przed przystąpieniem do zabiegów operacyjnych, poddawano kaucji żyły jarczowej dla wielokrotnego pobierania krwi. Krew pobierano w czasie operacji w odstępach około 10-minutowych. Progesteron i kortyzol oznaczano w osoczu krwi metodą radioimmunologiczną (2). Przy oznaczaniu kortyzolu osocze uprzednio ekstrahowano chlorkiem metylenu. Zastosowane przeciwiało rabbit-anticortisol-21-thyroglobulin (Miles-Yeda, USA) wykazywało krzyżową reakcję w 100% z kortyzolem, 12% z kortykosteronem, w 2% z progesteronem, 0,5% z androstendionem, 0,1% z testosteronem i poniżej 0,01% z estradiolem.

Pomiary aktywności przeprowadzano w liczniku scyntylicyjnym Beckman, model LS 7000. Wyniki obliczano w programowanym układzie log-logitowym przy użyciu maszyny cyfrowej Hawlett Packard model 9815A.

Wyniki i omówienie

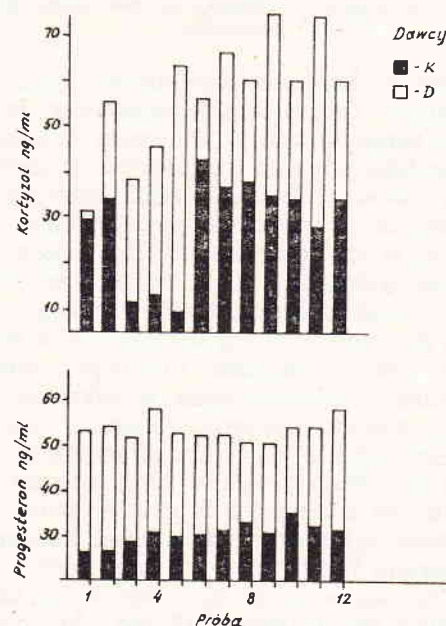
W tab. 1 przedstawiono średnią koncentrację progesteronu i kortyzolu w poszczególnych grupach, wyliczoną za cały okres doświadczenia. Zmiany w zakresie koncentracji progesteronu w czasie wykonywania zabiegów transplantacji u poszczególnych zwierząt wahały się od 16 do 29% i były zbliżone do obserwowanych w grupie kontrolnej 19—32%. Wzrost koncentracji

progesteronu i kortyzolu widoczny był pod koniec wykonywania zabiegów transplantacji, jednakże nieistotny statystycznie ($p > 0,5$). Koncentracja progesteronu w grupie dawczyń była wyższa w porównaniu do grupy biorczyń $p < 0,001$ i wykazywała mniejsze zmiany w czasie wykonywania zabiegów (9—12%). Natomiast stężenie kortyzolu zarówno w grupie dawczyń, jak i biorczyń, wykazywało znaczne różnico-

Tab. 1. Średnia koncentracja kortyzolu i progesteronu w ng/ml u jałówek podczas zabiegów operacyjnych

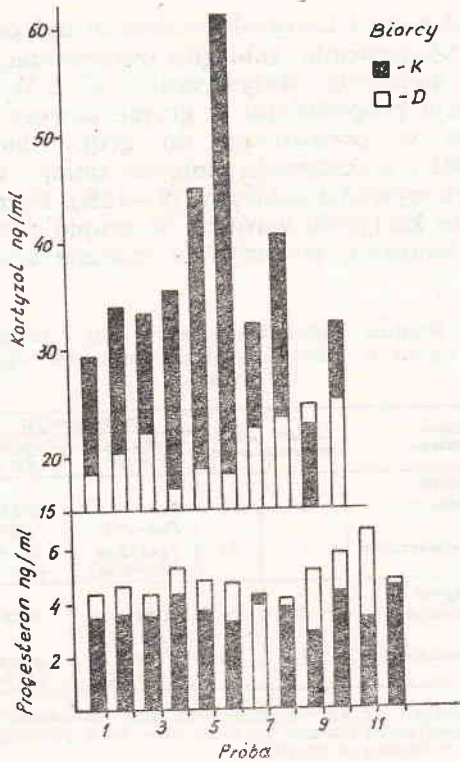
Grupa jałówek	Liczba zwierząt	Liczba prób	Koncentracja	
			kortyzolu $\bar{x} \pm SE$	progesteronu $\bar{x} \pm SE$
Biorczynie kontrolna	3	54	33,36 ± 4,0	3,70 ± 0,17
			(4,5-67,3)	(3,20-4,66)
doświadczalna	4	45	23,45 ± 2,59	4,66 ± 0,39
			(5,0-38,66)	(3,64-5,58)
Dawczynie kontrolna	2	24	30,08 ± 5,12	33,25 ± 0,22
			(11,3-49,3)	(16,5-51,0)
doświadczalna	4	46	59,26 ± 4,14	53,23 ± 2,76
			(42,8-98,9)	(33,7-77,4)

Objaśnienia: $\bar{x} \pm SE$ = średnia oraz błąd standardowy średniej; w nawiasach podano wartości od — do u poszczególnych zwierząt w badanych grupach.



Ryc. 1. Koncentracja progesteronu i kortyzolu we krwi jałówek w czasie wykonywania zabiegów pozyskiwania zarodków. D-grupa doświadczalna, K-grupa kontrolna.

wanie w obrębie grup doświadczalnych (tab. 1), jak też podlegało dużej fluktuacji (od 11 do 86%) w czasie wykonywania zabiegów u poszczególnych zwierząt (ryc. 1). Dwukrotnie wyższą koncentrację kortyzolu notowano w grupie dawczyń niż w grupach kontrolnych jałówek nieoperowanych, poddanych superowulacji.



Ryc. 2. Koncentracja progesteronu i kortyzolu we krwi jałówek w czasie wykonywania zabiegów transplantacji zarodków. D-grupa doświadczalna, K-grupa kontrolna

Jednym z głównych czynników obniżających efektywność transplantacji zarodków jest ich wczesna zamieralność (6, 8). Próby tłumaczenia tego zjawiska poprzez zwiększenie kurczliwości mięśnia macicy lub uwalniania czynników luteolitycznych w wyniku podrażnienia szyjki macicznej w czasie wykonywania zabiegów nie zostały potwierdzone (3, 4). Ponadto nie stwierdza się różnic w koncentracji progesteronu do 14 dnia po transplantacji u biorczyń, u których nastąpił rozwój zarodka lub jego obumarcie (5). Z obserwacji własnych wynika, że zastosowana metoda przeprowadzania zabiegów chirurgicznych nie powodowała istotnego wzrostu lub obniżenia poziomu progesteronu tak u dawczyń, jak i biorczyń w czasie operacji. Obserwowany zaś nieznaczny wzrost koncentracji progesteronu i kortyzolu we krwi biorczyń pod koniec zabiegów mógł być wynikiem użytych do narkozy barbituranów. Green i Moor (4) bowiem, w ściśle kontrolowanych warunkach stwierdzili istotny wpływ tych związków na wzrost koncentracji obu hormonów we krwi operowanych zwierząt.

W zakresie kortyzolu we wszystkich grupach jałówek rejestrowano bardzo wysoką koncentrację, przekraczającą w większości przypadków kilkakrotnie fizjologiczne normy. Sugeruje to, że użyty do badań materiał zwierzęcy wykazywał wzmoczoną podatność na stres, co mogło być też jedną z przyczyn niezacielenia się 4 biorczyń (1). Na uwagę zasługuje trudny do interpretacji fakt zarejestrowania wyższej koncentracji kortyzolu u dawczyń podczas zabiegów operacyjnych w porównaniu z biorczyniami poddawanych takiemu samemu zabiegowi. Należy jednak zaznaczyć, że w wyniku superowulacji u dawczyń zarodków koncentracja progesteronu była kilkakrotnie wyższa niż u pozostałych zwierząt (tab. 1, ryc. 1).

Pismienictwo

1. Bacura R., Modrakowski A., Utzig J.: *Medycyna Wet.* 26, 541, 1970.
2. Bielański A.: *Theriogenology* 10, 241, 1978.
3. Brand A., Tacerne M., Van der Weyden G., Aarts M., Dieleman S., Fontjune P., Drost M., De Bois C.: *Egg transfer in cattle—seminar C&C-Luxemburg* s. 41, 1976.
4. Green D., Moor R.: *Res. vet. Sci.* 22, 122, 1977.
5. Haster J., Bowen K., Nelson L., Seidel R.: *J. Reprod. Fert.* 58, 71, 1980.
6. Manns J., Newcomb R.: *Vet. Rec.* 38, 8, 1975.
7. Obst J., Deland M.: *Proc. 6 Conf. Austr. Soc. Reprod. Biol. Melbourne*, 1971.
8. Rowson L., Mc Neilly A., O'Brien C.: *J. Reprod. Fert.* 30, 287, 1972.
9. Wierzchoś E., Smorąg Z., Wierzbowski S., Gajda B.: *Mat. VI Zjazdu PTNW Wrocław* 104, 1978.

Adres autora: doc. dr hab. Andrzej Bielański, ul. Szopkarszy 6/60, 31-228 Kraków.

Белянский А., Вежхось Э., Гайда В. — Концентрация кортизола и прогестерона у крупного рогатого скота во время получения и трансплантации зародышей.

Определили концентрацию кортизола и прогестерона методом RIA в крови 13 телок во время выполнения операций получения и трансплантации зародышей на 7 день цикла охоты. Средняя концентрация прогестерона и кортизола, подсчитанная за весь период выполнения операций в группе реципиентов зародышей составляла 4,66 нг/мл и 23,45 нг/мл, в группе же доноров зародышей после суперовуляции 53,23 и 59,26 нг/мл плазмы крови ($p < 0,001$). Изменения концентрации прогестерона во время выполнения трансплантации и получения зародышей у отдельных животных составляли 9—29%, у кортизола же 11—86%. Наблюдали статистически несущественное стремление к росту концентрации прогестерона и кортизола в конце операций трансплантации по сравнению с контрольной группой, не подверженной операциям.

Bielański A., Wierzchoś E., Gajda B. — Plasma level concentration of cortisol and progesterone during embryo collection and transplantation.

On the 7th day of the estrus cycle the level of cortisol and progesterone were determined at RIA at 10 min. intervals in the blood of 13 heifers during surgical embryo collection and transplantation. The average concentration of progesterone and cortisol for the entire surgical procedure in the recipient heifers was 4,66 ng/ml and 23,45 ng/ml of blood plasma, whereas in superovulated animals 53,23 ng/ml and 59,26 ng/ml of blood plasma. Deviation from the average progesterone level during surgery varied from 9,0% to 29,0% between heifers and from 11,0% to 86,0% for cortisol. A nonsignificant tendency of the level of progesterone and cortisol to increase at the end of the transplantation procedure was noted in contrast to the unoperated control group.