

JAN KOTWICA, GRAŻYNA MISZKIEL

Wpływ stymulacji β -adrenergicznej na funkcję układu rodniego krwi podczas cyklu rujowego i ciąży

Oddział Endokrynologii i Patofizjologii Rozrodu Zwierząt,

Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, ul. Prawocheńskiego 5, 10-718 Olsztyn-Kortowo

Funkcja jajnika podlega centralnym regulacjom ale również zależy w dużym stopniu od lokalnych regulacji w jajniku oraz od stanu czynnościowego macicy. Z drugiej strony, jajnik poprzez uwalniane hormony i ciała czynne tworzy sprzyjające warunki środowiskowe w macicy dla przyszłej ciąży. Okres czynnościowej dominacji ciała żółtego (CL) utworzonego po owulacji, w miejscu pękniętego pęcherzyka jajnikowego, jest także czasem tworzenia w macicy warunków do zagnieżdżenia blastocysty, a następnie rozwoju płodu. Jednym z wymogów pomyślnej implantacji zarodka oraz dalszego przebiegu ciąży jest zmniejszenie aktywności motorycznej macicy. O ile bowiem aktywność skurczowa macicy i jajowodu warunkuje zapłodnienie, powodując przemieszczanie się plemników i oocytu w drogach rodnych samicy, o tyle ciąża może przebiegać jedynie w warunkach zupełnej atonii, tj. zniesienia aktywności ruchowej macicy. Stan ten, poprzez wielokierunkowe oddziaływanie, zapewnia progesteron (P_4) – hormon steroidowy wytwarzany w CL. Funkcje P_4 przedstawiono na ryc. 1. Z kolei istnienie CL zależy od stanu nierównowagi pomiędzy wpływem czynników luteotropowych, tj. wspierających czynność CL a wytwarzaną w macicy prostaglandyną $F_{2\alpha}$ (PGF), która niszczy CL, powodując jego funkcjonalną i morfologiczną regresję (ryc. 2). Układ β -adrenergiczny poprzez wpływ zarówno na jajnik jak i na macicę może odgrywać bardzo ważną rolę w procesach rozrodu.

Nerwy adrenergiczne występują w wielu strukturach jajnika i w ścianie naczyń krwionośnych ciała żółtego (CL) (42, 43). Jednakże nie stwierdzono bezpośredniego kontaktu zakończeń neuronów adrenergicznych z komórkami lutealnymi i komórkami warstwy ziarnistej (4, 43). Stężenie noradrenaliny (NA) w $\mu\text{g/g}$ tkanki jajnika, odzwierciedlające gęstość unerwienia tkanki jajnikowej (3, 42), wykazuje znaczną zmienność zakończeń nerwów adrenergicznych w jajniku u różnych gatunków ssaków. Jajniki krów posiadają ponad 10 razy więcej adrenergicznych włókien nerwowych w porównaniu do myszy, królików i chomików, co podkreśla ważność tego unerwienia u bydła. Jajnikowa zawartość NA wzrasta 10-krotnie u szczurów (8) i u świnek morskich (11) w miarę osiągnięcia dojrzałości

płciowej. Również w miarę osiągnięcia dojrzałości rodniczej zwierzęcia, wzrasta także unerwienie naczyń krwionośnych wewnątrz zrębu jajnikowego, co częściowo tłumaczy wzrost poziomu katecholamin w tkance jajnika (21).

W poszczególnych fazach cyklu rujowego widoczne są różnice w zawartości katecholamin w CL u bydła. Skorelowana ilość NA i jej prekursora dopaminy jest najwyższa w pierwszych dniach cyklu, po czym zmniejsza się w środkowej fazie cyklu, a następnie ponownie wzrasta przy końcu cyklu. Zatem ilość katecholamin w CL/jednostkę jego masy jest dodatnio skorelowana z ilością β -receptorów/mg białka CL, w okresie jego wzrostu oraz odwrotnie skorelowana z obwodowym stężeniem P_4 .

Dane te można interpretować następująco. Głównym hormonem luteotropowym u bydła jest LH. Receptory dla LH pojawiają się najpierw w komórkach granulocyty dojrzejących pęcherzyków, przy czym liczba ich znacznie wzrasta w przedowulacyjnym pęcherzyku (37). Na skutek gwałtownego uwolnienia LH z przysadki do krwi tuż przed owulacją, receptory LH w komórkach warstwy ziarnistej podlegają procesowi „down-regulation” (zmniejszenie gęstości lub liczby receptorów na powierzchni komórki) z powodu internalizacji zajętych przez LH receptorów (13, 37, 38) i zmniejszonej ekspresji genów kodujących białko receptora. Jednakże liczba receptorów dla LH w CL ponownie zaczyna wzrastać od 2 do 14 dnia cyklu, osiągając w tym dniu maksymalny poziom, natomiast od 16 dnia cyklu liczba ich gwałtownie obniża się (32). Z tego względu LH jako hormon luteotropowy u bydła odgrywa istotną rolę w już rozwiniętym CL (5). Dlatego sądzić należy, iż stymulacja β -adrenergiczna, jakkolwiek ważna w czasie całej fazy lutealnej, jest szczególnie istotna w nowo tworzącym się CL.

Z drugiej jednak strony wykazaliśmy (34), że długotrwały stres przedubojowy (transport, nowe i obce otoczenie, sposób traktowania, głodzenie itp.) sprawia, że błony komórek lutealnych nie wykazują żadnego powinowactwa do β -mimetyku (dihydroalprenolol). Równocześnie, zawartość NA we krwi uśmierconych zwierząt była ponad 30 razy, a zawartość adrenaliny ponad 100-krotnie wyższa niż u zwierząt trzymanyh



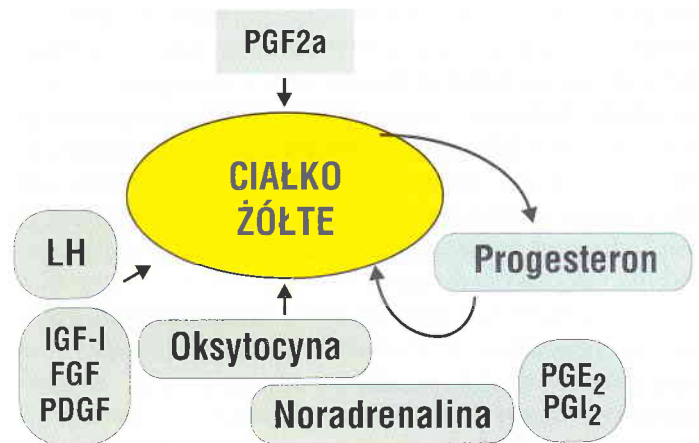
Ryc. 1. Funkcje progesteronu

na swoich stanowiskach w oborze, tj. w warunkach, które uznaliśmy za bezstresowe. Podobne zjawisko „down-regulation” wykazano u chomików. Stwierdzono, że podawanie izoprenaliny (β -mimetyk) przez 7 dni, powodowało redukcję gęstości β_2 -receptora oraz obniżenie jego syntezy *de novo* (12). Na tej podstawie uważamy, że długotrwały stres uwalniając katecholaminy sprawia, iż następuje desensytyzacja β_2 -receptora zarówno w macicy jak i w jajniku. Powoduje to zniesienie stymulującego wpływu układu β_2 -adrenergicznego na CL oraz na macicę co przywraca jej aktywność motoryczną. W konsekwencji może to doprowadzać do zakłóceń w implantacji zarodka lub do ronień.

Wpływ unerwienia na funkcję ciała żółtego

Synteza oraz sekrecja hormonów z CL jest niezbędna dla właściwej koordynacji cykliczności rozrodu u zwierząt. Biosynteza P_4 regulowana jest poprzez dostępność i wykorzystanie cholesterolu oraz ekspresję specyficznych enzymów uczestniczących w steroidogenezie. Nieodzowna w tym procesie jest także obecność w komórce tzw. białek StAR, odpowiedzialnych za wewnątrzkomórkowy transport steroidów. Pierwszym etapem syntezy P_4 jest przemiana cholesterolu do pregnenolonu. Reakcja ta przebiega w mitochondriach pod wpływem cytochromu P-450_{scc}. Powstały pregnenolon jest następnie transportowany do gładkiej siateczki śródplazmatycznej, gdzie pod wpływem enzymu 3β -dehydrogenazy hydroksysteroidowej (3β -HSD), w wyniku oksydacji i izomeryzacji, ulega on przekształceniu do P_4 .

Zakłócenia w czynności CL mogą powstawać pod wpływem zmian w unerwieniu adrenergicznym jajnika, a konsekwencją tych zmian są zaburzenia w prawidłowej syntezie P_4 . Brak stałej stymulacji β -adre-



Ryc. 2. Funkcja ciała żółtego (CL) jest stymulowana przez hormon luteinizujący (LH), wytwarzany w przednim płacie przysadki mózgowej oraz, szczególnie we wczesnej fazie rozwoju CL, przez czynniki i hormony wytwarzane w samym CL, tj. insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-I), epidermalny czynnik wzrostu (EGF), płytkowy czynnik wzrostu (PDGF), prostaglandyny (I_1 i E_2), oksytocynę i noradrenalinę. Ponadto progesteron jest ważnym stymulatorem własnej syntezy, wpływając na wzrost aktywności 3β -dehydrogenazy hydroksysteroidowej. Za regresję lutealną (luteolizę) odpowiedzialna jest prostaglandyna F_{2a} (PGF) wytwarzana głównie w macicy

nergicznej powoduje obniżenie podstawowej sekrecji P_4 (22, 44). Ponadto znaczenie unerwienia noradrenergicznego podkreślają doświadczenia z odnerwieniem jajnika u szczurów. Odnerwienie to wywoływało wiele morfologicznych i funkcjonalnych zmian w tym narządzie: obniżenie aktywności steroidogennej w CL, redukcję sekrecji i syntezy P_4 poprzez hamowanie 3β -HSD, zwiększenie ilości β -receptorów w jajniku (na zasadzie ujemnego sprzężenia z obniżoną ilością NA), opóźnienie rozwoju pęcherzyków, zakłócenia w cykliczności, opóźnienie wystąpienia pierwszej owulacji (1, 8, 11). Natomiast dodatkowa stymu-

lacja sympatykomimetyczna zwiększa syntezę, jak i sekrecję P_4 oraz oksytocyny (OT) jajnikowej (9, 10, 23, 24, 40). Zależna od tej stymulacji jest również aktywność β -HSD, uczestnicząca w przekształceniu pregnenolonu w P_4 (31). Ponadto katecholaminy poprzez α -adrenoreceptory naczyniowe wpływają na ciśnienie krwi, zwiększając jej przepływ przez CL (40, 48). Zmiany przepływu krwi przez jajnik pod wpływem regulacji adrenergicznej (40), wpływa na dostarczanie do jajnika lipoprotein jako źródła cholesterolu do syntezy P_4 (46). Wykazaliśmy, że wraz z wiekiem krów wrażliwość ich CL na stymulację noradrenergiczną znacznie zmniejsza się co także może być przyczyną zakłóceń w czynności tego gruczołu, a w konsekwencji zaburzeń płodności. Jest to w przyszłości możliwy obszar ważnych badań.

Przedstawione wyniki dowodzą, że NA wraz z prostaglandynami (PGE_2 , PGI_2) wytworzonymi w CL, komórkowymi czynnikami wzrostu (IGF-I, EGF, PDGF) oraz OT (39) stanowi ważny element lokalnych mechanizmów regulacyjnych w pierwszych dniach rozwoju CL u bydła. Dodatkowo, NA wspomaga funkcję CL poprzez zwiększenie przepływu krwi przez ten narząd. W połączeniu z bezpośrednim pobudzającym działaniem NA na steroidogenezę, stanowi to dodatkowy mechanizm chroniący CL podczas cyklu rujowego jak również w czasie ciąży w warunkach wysiłku i stresu samicy.

Rola receptorów adrenergicznych

Stymulujący wpływ katecholamin na funkcję分泌ną jajnika odbywa się poprzez β -receptory, których obecność wykazano w błonach komórek lutealnych (33). Obecnie β -adrenoreceptory dzieli się na trzy główne podklasy: β_1 , β_2 i β_3 . Podział ten oparty jest na kryteriach farmakologicznych oraz zdolności wiązania specyficznych ligandów. Receptory β_1 -adrenergiczne uczestniczą w regulacji procesów lipolitycznych oraz wpływają na siłę skurczu serca (29). Z kolei aktywacja β_2 -adrenoreceptorów wzmacnia szereg funkcji jajnika (1), a ponadto pobudza glikogenezę i metabolizm białek w mięśniach szkieletowych i wątrobie oraz wzmacnia relaksację mięśni gładkich macicy (30). W końcowych stadiach ciąży synteza białka β_2 -receptora w macicy gwałtownie maleje, co zwiększa wrażliwość macicy na czynniki wzmagające jej kurczliwość i ułatwiające poród (OT, PGF). Jednakże tuż po porodzie synteza białek β_2 -receptora ponownie wzrasta. Sądzi się, iż każdorazowe uwalnianie oksytocyny związane ze ssaniem lub dojmem, stymulowałoby kurczliwość macicy, nadmiernie i bez zasadnej konieczności. Jednakże fakt zwiększonej ilości β_2 -receptora w macicy w okresie poporodowym wykorzystywany jest w terapii w celu przyspieszenia involucji macicy, skrócenia okresu *puerperium*, ułatwieniu odejścia łożyska, itp. poprzez stosowanie np. Uterovet, zawierającego w swoim składzie β -bloker, bamestan. Podanie tego leku zwiększa aktywność motoryczną macicy.

Zarówno adrenalina jak i NA łączą się z α - i β -receptorami adrenergicznymi. Jednakże to aktywacja β_2 -receptorów w CL u większości gatunków zwierząt stymuluje steroidogenezę (30), mimo iż proporcje pomiędzy β_1 i β_2 -receptorami wahają się w czasie trwania cyklu rujowego, co wykazano u owiec (33). Sugeruje się, że we wczesnej fazie rozwoju CL u owiec obecne są obie podklasy β -receptora noradrenergicznego, jednakże w 10 dniu cyklu większa ilość β_2 -receptorów sugeruje, że to one odgrywają istotniejszą rolę w tej fazie cyklu.

W doświadczeniach *in vivo* u bydła NA stymuluje niemal równocześnie sekrecję jajnikowej OT i P_4 (19, 25). Natomiast u owiec wykazano, że aktywacja β_2 -receptora pobudza sekrecję progesteronu (45). Dla zrozumienia roli OT w jajniku ważne jest wykazanie, czy wydzielanie jej jest konsekwencją pobudzenia tego samego β_2 -receptora błonowego, który powoduje wydzielanie P_4 , a rozdzielenie wspólnego szlaku pobudzenia odbywa się na poziomie przekaźników wewnątrz komórki, czy też OT i P_4 są uwalniane w wyniku pobudzenia β -receptorów należących do różnych podklas. Uzyskane przez nas wyniki badań *in vitro* wykazały, że zarówno dobutamina, agonista β_1 -receptora jak i salbutamol, agonista β_2 -receptora stymulowały sekrecję P_4 . Ponadto zastosowanie antagonistów tych receptorów spowodowało istotne obniżenie uwalniania P_4 do medium. Wykazaliśmy także, iż stymulujący wpływ NA na sekrecję OT odbywa się w wyniku aktywacji receptora β_2 -adrenergicznego. Zatem stymulacja zarówno β_1 - i β_2 -receptorów wzmacnia syntezę i uwalnianie P_4 , podczas gdy OT jest uwalniana w następstwie pobudzenia błonowych β_2 -receptorów w CL. Należy jednak zaznaczyć, że oddziaływanie NA na CL odbywa się nie tylko poprzez β -receptory lecz również poprzez naczyniowe α -receptory (36, 40). Obecność obu klas receptorów w CL pozwala przypuszczać, że aktywacja układu noradrenergicznego zwiększa zarówno jajnikowy przepływ krwi, zaopatrując ten narząd w niezbędne substraty, głównie lipoproteiny jako źródło cholesterolu do steroidogenezy (46) oraz stymuluje β -receptory komórek lutealnych, a następnie enzymy uczestniczące w syntezie P_4 .

Wpływ katecholamin na steroidogenezę

W badaniach *in vivo* wykazano, że krótkotrwała infuzja NA do aorty brzusznej u jałówek w czasie trwania fazy lutealnej, powoduje wzrost sekrecji OT jajnikowej i P_4 już po upływie 5 min. od rozpoczęcia infuzji (21, 23, 25, 40). Dlatego układ noradrenergiczny odgrywa istotną rolę w stymulacji funkcji分泌nej CL, a reakcja CL na ten bodziec jest bardzo szybka. Zniesienie tej stymulacji poprzez zablokowanie β -receptorów przy użyciu propranololu, zmniejsza o 20-40% podstawową sekrecję P_4 (22). Można więc przyjąć, że stymulacja noradrenergiczna warunkuje podstawową sekrecję P_4 w 20-40%. Podobne obserwacje zanotowano także u owiec (44, 45). Natomiast infuzje

NA (0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) przez 30 min. naśladujące stan mobilizacji lub umiarkowany, krótkotrwały stres już po upływie kilku minut zwiększają niemal 2-krotnie sekrecję P_4 i wielokrotnie sekrecję OT jajnikowej podczas całego okresu fazy lutealnej (21, 24, 40)

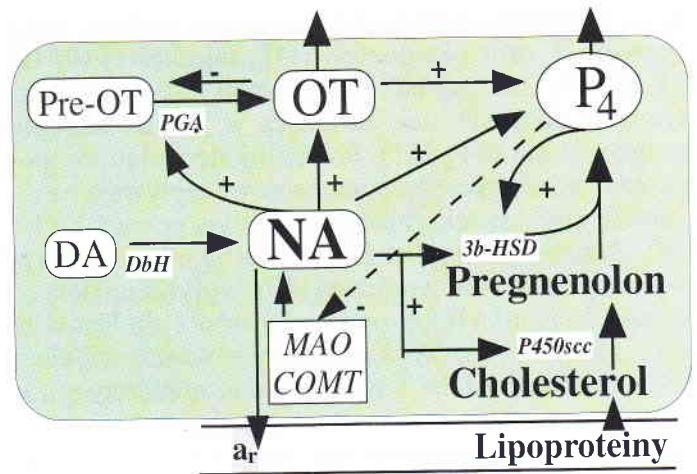
Pobudzenie układu noradrenergicznego, aktywując m.in. układ krążenia nie tylko nie upośledza, ale wręcz wspiera funkcję czynnościową CL z uwagi na unikalną budowę naczyń w tym narządzie (48). Zjawisko to można zinterpretować następująco. Krótkotrwałe pobudzenie układu nerwowego wzmacnia czynność CL, chroniąc ciążę u zwierząt. Natomiast chroniczny stres wywołuje szereg negatywnych zmian w organizmie samicy, upośledzając także funkcję CL m.in. poprzez redukcję ilości β -receptorów (9, 34) oraz niekorzystnie zmienia środowisko w macicy, wywołując szereg zakłóceń w rozrodcie.

Stymulujący wpływ katecholamin na steroidogenezę nie jest procesem jednokierunkowym. Wykazano, że implantacja 17β -estradiolu i progesteronu do świątla macicy sviniek morskich, wywołuje zwiększenie ilości β -receptorów oraz ich powinowactwa (K_d) do ligandu w tym narządzie (17). Zatem między ilością wytwarzanych hormonów steroidowych w jajniku a reprezentacją β -adrenergiczną w macicy i jajniku (co jest miarą wrażliwości tych narządów na stymulację adrenergiczną) istnieje ścisła i wzajemnie warunkująca się zależność. Wzrost ilości β -receptorów w jajniku oraz wzrost sekrecji P_4 pod wpływem stymulacji adrenergicznej po pierwszej owulacji u szczurów (1) potwierdza powyższą sugestię.

W badaniach *in vitro* NA stymulowała wzrost zawartości P_4 w komórkach lutealnych oraz w komórkach warstwy ziarnistej bydła (15). Wyniki innych autorów także wskazują na istotną rolę noradrenaliny, adrenaliny oraz β -agonistów (izoprenalina) w procesie regulacji steroidogenezy w komórkach ciała żółtego u krów (6, 7, 33). Ponadto badania na izolowanym CL krów dowodzą, że przeniesienie sygnału z β -receptorów na enzymy zaangażowane bezpośrednio w syntezę P_4 , tj. cytochrom P-450 scc (31) oraz 3β -HSD (10, 18) w komórce lutealnej odbywa się za pośrednictwem cAMP. Czy jednak cAMP jest jedynym tzw. drugim przekaźnikiem w tym procesie, w chwili obecnej nie wiadomo.

Zaznaczyć należy, że β -adrenomimetyki wywierają stymulujący wpływ na steroidogenezę w wyizolowanych komórkach jajnika po upływie kilku godzin, podczas gdy w warunkach *in vivo*, pobudzający wpływ NA lub β -mimetyku na sekrecję P_4 i OT był statystycznie istotny już po upływie kilku minut (21, 23, 40). Sądzić można na tej podstawie, że NA z uwagi na swoje ambireceptorowe właściwości, wpływa na sekrecję P_4 prawdopodobnie dwiema drogami:

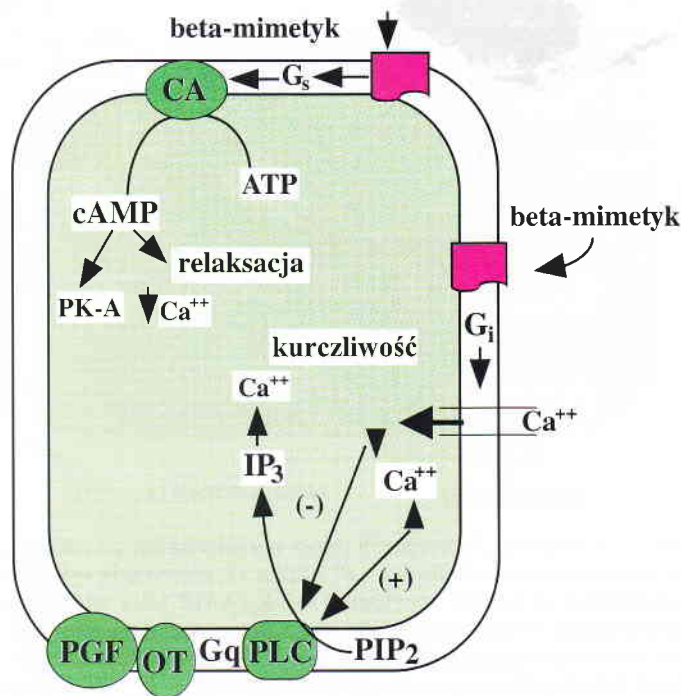
- bezpośrednio na komórki lutealne (stymulacja receptora β),
- poprzez komponent naczyniowy jajnika (stymulacja α -receptora) oraz wpływając na proces lipolizy.



Ryc. 3. Noradrenalina (NA) która może powstawać z dopaminy (DA) w ciałku żółtym, stymuluje uwalnianie z komórki lutealnej gotowej puli oksytocyny (OT) i progesteronu (P_4). We wczesnych stadiach rozwoju ciała żółtego, OT także stymuluje uwalnianie P_4 . Zatem NA aktywując monoooksygenazę peptydylo-glicylo- α -amidową (PGA) enzym uwalnający ostatecznie OT z formy pro-hormonu, wpływa tą drogą także na sekrecję P_4 . Dodatkowo stymulując jajnikowy przepływ krwi, NA zwiększa zaopatrzenie komórek lutealnych w lipoproteiny, jako źródło cholesterolu. NA wzmacnia także aktywność dwóch końcowych enzymów w szlaku syntezy P_4 , tj. cytochromu P-450 scc oraz 3β -dehydrogenazy hydroksysteroidowej (3β -HSD). Wytworzony P_4 wzmacnia ponadto aktywność 3β -HSD (krótka pętla regulacyjna) oraz hamuje aktywność monoaminooksydazy (MAO) oraz catechol-O-metylotransferazy (COMT) enzymów degradujących NA, przez co przedłuża stymulujący czas oddziaływania NA na syntezę P_4

W świetle przedstawionych danych związek pomiędzy układem noradrenergicznym a funkcją sekrecyjną CL bydła wyraża się następująco:

1. Stała β -adrenergiczna stymulacja warunkuje podstawową sekrecję/syntezę P_4 , gdyż brak tej stymulacji powoduje obniżenie stężenia P_4 we krwi o 20-40%.
2. Zmienna i zależna od fazy cyklu ilość β -receptorów w błonach komórek lutealnych u bydła jest miarą gotowości jajnika do odbierania stymulacji z układu adrenergicznego.
3. W kilka minut po podaniu NA do tętnicy brzusznej (naśladowanie pobudzenia układu noradrenergicznego) występuje istotnie statystyczny wzrost sekrecji P_4 i OT jajnikowej. Sugeruje to wysoką sprawność luteotropowego wpływu układu noradrenergicznego w sytuacjach stresowych np. podczas reakcji ucieczki u zwierząt gospodarskich, a szczególnie u zwierząt dziko żyjących.
4. Przepływ krwi przez jajnik, a następnie redystrybucja krwi w jajniku wynika z unikalnych morfologicznych przystosowań tego narządu, a w szczególności CL (48), i wskazuje na znaczenie ochrony tych struktur przed niedokrwieniem.
5. Wykorzystywanie cholesterolu ze źródeł poza komórkowych do syntezy P_4 , wiąże się ściśle z poprzednim punktem, wskazując na potrzebę lokalnej regulacji ukrwienia narządu rodnego samicy.



Ryc. 4. Noradrenalina lub β -mimetyk poprzez specyficzne β -receptory a następnie poprzez białka G (G_s) aktywuje cyklazę adenylową (CA), która wzmacnia syntezę cAMP, a ten przy niskim stężeniu komórkowego Ca^{++} powoduje relaksację mięśniówki macicy. W procesie tym uczestniczy także kinaza białkowa A (PK-A). Równocześnie aktywacja β -receptorów hamuje, za pośrednictwem izoformy G_i dokomórkową penetrację kationów Ca, co powoduje obniżenie aktywności fosfolipazy C (PLC). Jednakże wpływ PGF lub oksytocyny (OT) na mięśniówkę macicy aktywuje PLC. W wyniku hydrolizy fosfatydyloinozytolo-(4,5)-bifosforanu (PIP_2) powstaje trifosfoinozytol (IP_3) oraz diacyloglicerol (DAG). IP_3 uwalniając Ca^{++} z wewnątrzkomórkowych magazynów zapoczątkowuje skurcz komórki mięśniowej, wpływając równocześnie na otwarcie kanałów wapniowych, które aktywując PLC, potęgują kurczliwość komórki macicy. Zatem miejscem, o które konkurują czynniki kurczące lub relaksujące mięśniówkę macicy jest PLC

Na tej podstawie sugeruje się (24, 27), że aktywacja układu noradrenergicznego powoduje dwukierunkowe następstwa:

a) stymuluje lipolizę i wzmacnia przepływ krwi przez jajnik. Tym sposobem zaopatruje CL w lipoproteiny, jako źródło cholesterolu do syntezy P_4 ,

b) równocześnie NA pobudza błonowe β -receptory komórek lutealnych i poprzez aktywację przekaźników wewnątrzkomórkowych oraz szlaków przekazu, uczestniczy w syntezie P_4 .

Uwzględniając zgromadzone fakty przypuszczamy, że lokalny wpływ NA na CL odbywa się na kilku poziomach regulacyjnych.

1. Stymulacja sekrecji z CL gotowej puli hormonów, tj. P_4 i OT. Wskazuje na to wzrost ich stężenia we krwi obwodowej już po upływie kilku minut od chwili podania NA (22, 24) do tętnicy brzusznej (22).

2. NA syntetyzowana w CL z dopaminy (26) pobudza syntezę hormonów w CL poprzez wpływ na aktywność enzymów oddziałujących na powstawanie tych hormonów i ich prekursorów tj.:

a) monoooksygenazę peptydylo-glicylo- α -aminową (PGA), która odsłania C-terminalny fragment liniowy OT i powoduje oksydacyjną amidację reszty glicyny tworząc grupę karboksamidową (9). Proces ten określa się mianem post-translacyjnych przemian OT,

b) enzymów uczestniczących w steroidogenezie CL, tj.:

- cytochromu P_{450sc} syntetyzującego w mitochondriach pregnenolon z cholesterolu i,
- 3β -HSD, przetwarzającej pregnenolon do P_4 .

3. Progesteron z kolei wywiera hamujący wpływ na aktywność enzymów degradujących NA (MAO, COMT), przez co tym bardziej wydłuża jej pobudzający wpływ na CL. Dane te przedstawiono w zsumowany sposób na ryc. 3.

Rola katecholamin w funkcjonowaniu pętli regulacyjnej macica-jajnik

Funkcjonalna współzależność macicy i jajnika sprawia, że wiele czynników w uzupełniający się sposób reguluje ich czynność. W komórkach mięśniówki macicy cAMP i Ca^{++} są dwoma głównymi drugimi przekaźnikami, działającymi przeciwstawnie podczas skurczu i rozkurczu macicy. Ca^{++} powoduje skurcz komórki mięśniowej wywołany zarówno przez bodźce hormonalne jak i elektryczne. Natomiast cAMP uczestniczy w relaksacji mięśniówki macicy. Wykazano ścisłą zależność między powstawaniem fosforanu inozytoli, zdolnością trifosfoinozytoli (IP_3) do uwalniania Ca^{++} z wewnątrzkomórkowych magazynów oraz wzrostem macicznej kurczliwości. Natomiast relaksacja macicy jest efektem powstawania cAMP w wyniku aktywacji receptora np. β -adrenergicznego lub PGE_2 poprzez stymulację regulatorowej podjednostki białka G (G_s). Ten sam efekt uzyskuje się aktywując białko G_s toksyną cholery lub forskoliną, które bezpośrednio pobudzają cyklazę adenylową. Zależności te zestawiono na ryc. 4. Fosfolipaza C (PLC) jest celem działania różnych czynników wpływających tą drogą na kurczliwość macicy. Dlatego też PLC degradując fosfatydyloinozytolo (4,5) bifosforan (PIP_2) podlega hamującemu działaniu β -mimetyków, które w ten sposób zmniejszają napięcie macicy. Stąd zahamowanie komórkowej syntezy cAMP podczas porodu z jednej strony a pobudzenie aktywności PLC i następnie ułatwienie dokomórkowej penetracji Ca^{++} , z drugiej strony, zwiększa aktywność motoryczną macicy. Jest to poprzedzone szeregiem innych zmian w statusie hormonalnym samicy, obejmującym między innymi obniżenie syntezy P_4 oraz zmniejszenie receptywności β -adrenergicznej w macicy (14) jak i prawdopodobnie w jajniku.

Udział PGF w czynności ciała żółtego

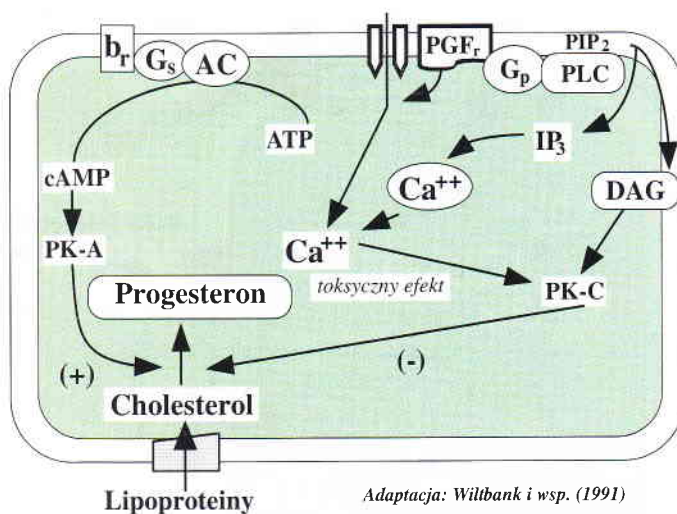
Ciało żółte jest centralnym gruczołem dokrewnym regulującym czas trwania cyklu rujowego jak i ciąży u większości gatunków zwierząt gospodarskich, w tym i u bydła. Dlatego oprócz zrozumienia mechanizmu

wpływu czynników wspierających jego funkcję tak ważne jest zrozumienie mechanizmu luteolizy. Główną funkcją prostaglandyny $F_{2\alpha}$ (PGF), syntetyzowanej w macicy jest indukowanie lutealnej regresji ciała żółtego tj. zmian morfologicznych i czynnościowych powodujących obniżenia syntezy P_4 . Uzyskanie licznych analogów PGF o przedłużonym okresie ich biologicznej czynności w organizmie sprawiło, że znalazły one szerokie zastosowanie w programie sterowania rozrodem, głównie u bydła. Jednakże szereg badań zarówno *in vivo* jak i *in vitro* wskazuje, że PGF może być syntetyzowana w CL (16, 49) oraz wywiera zarówno hamujący jak też i stymulujący wpływ na syntezę i sekrecję progesteronu oraz oksytocyny z komórek lutealnych w zależności od fazy cyklu rujowego (16, 28, 41).

Luteolityczny wpływ PGF odbywa się prawdopodobnie poprzez kinazę białkową C (PK-C), jako system drugiego przekaźnika. PGF w wyniku interakcji z własnym receptorem błonowym aktywuje fosfolipazę C (PLC), która powoduje hydrolizę fosfatydyloinozytolo 4,5-dwufosforanu do 1,4,5-trójfosforanu inozytoli (IP_3) i 1,2-dwuglicerolu (DAG). IP_3 uwalnia Ca^{++} z wewnątrzkomórkowych magazynów, powodując wzrost jego stężenia wewnątrz komórki, natomiast DAG zwiększa zdolność PK-C do wiązania Ca^{++} . Zaktywowana PK-C hamuje syntezę progesteronu, obniżając aktywność 3β -HSD i upośledzając wykorzystanie cholesterolu. Natomiast Ca^{++} dodatkowo wywołuje toksyczny efekt wewnątrz komórki, przyspieszając proces lizy ciała żółtego i prawdopodobnie apoptozy komórek lutealnych (16, 47) (ryc. 5). W badaniach *in vitro* wykazano, że PGF może obniżać luteotropowy wpływ katecholamin na w pełni ukształtowane CL, natomiast efekt ten nie był obserwowany w CL z początkowej fazy cyklu (2). Prawdopodobną tego przyczyną był wzrost syntezy PGF oraz wzrost ilości jej receptorów w starszych CL (35). Sugeruje się na tej podstawie, iż przewyciężanie luteotropowej funkcji katecholamin przez PGF może być jednym ze składowych elementów mechanizmu luteolizy. W badaniach własnych wykazano, że PGF obniża zarówno aktywność enzymu 3β -HSD oraz syntezę progesteronu w CL od krów będących w środkowej fazie lutealnej. PGF znosi też stymulujący wpływ NA na aktywność 3β -HSD.

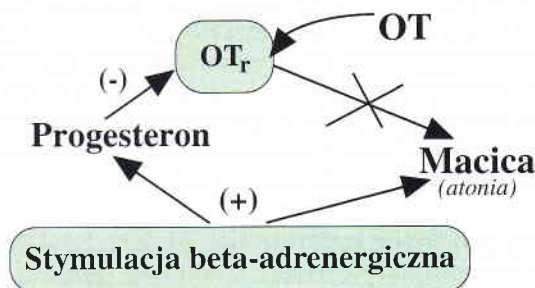
Podsumowanie

Sądzić można, że omówiony problem ma dwa aspekty. Krótkotrwałe pobudzenie układu nerwowego wzmacnia funkcję ciała żółtego. Jest to zatem mechanizm ochrony ciąży u zwierząt, a w szczególności u zwierząt dziko żyjących. Występowanie sytuacji stresowych jest tam bowiem bardzo częste; np. reakcja ucieczki na zagrożenie. Wynika z tego, że w każdej takiej sytuacji ciało żółte, a zatem i ciąża jest przedmiotem takiej samej troski jak troska o własne życie. Chociaż dzieje się to bez udziału świadomości. I od-



Adaptacja: Wiltbank i wsp. (1991)

Ryc. 5. Związanie β -receptora przez noradrenalinę powoduje, za pośrednictwem izoformy „s” białka G, aktywację cyklazy adenylowej (CA). To uruchamia szlak cAMP jako wtórnego przekaźnika wewnątrzkomórkowego, doprowadzając do wzrostu syntezy progesteronu. Z chwilą wykształcenia się w komórkach lutealnych receptorów dla prostaglandyny $F_{2\alpha}$ (PGF), los ciała żółtego (CL) zależy od ilości endogennej lub egzogennej PGF docierającej do CL. PGF aktywuje fosfolipazę C (PLC), która hydrolizując fosfatydyloinozytolo-(4,5)-bifosforan (PIP_2) uwalnia trifosfoinozytol (IP_3) oraz diacyloglicerol (DAG). DAG aktywuje kinazę białkową C (PK-C), która hamuje etapy przekształcania cholesterolu w progesteron. Natomiast IP_3 uwalnia Ca^{++} z wewnątrzkomórkowych magazynów, który z jednej strony pobudza aktywność PK-C, a z drugiej strony nasila procesy toksyczne w komórce. Ponadto PGF wzmacnia dokomórkową penetrację Ca^{++} .



Ryc. 6. Stymulacja β -adrenergiczna, wpływając dwiema drogami, przyczynia się do redukcji aktywności motorycznej mięśniówki macicy. Wpływ bezpośredni na macicę odbywa się poprzez specyficzne w niej receptory, natomiast pośredni, poprzez stymulujący wpływ na syntezę i sekrecję progesteronu z ciała żółtego. Progesteron blokując syntezę receptorów oksytocyny (OT) w mięśniówce macicy, znosi obkurczający wpływ OT na macicę. W okresie okołoporodowym wytwarzanie progesteronu gwałtownie się obniża, dzięki czemu następuje synteza receptorów OT, a to przywraca wrażliwość mięśniówki macicy na wypierające płód działanie OT.

wrotnie. Długotrwałe i silne pobudzenie układu nerwowego np. chroniczny stres, wywołuje szereg negatywnych zmian w organizmie samicy, przyczyniając się także do upośledzenia funkcji ciała żółtego, co w konsekwencji może wywołać poronienie. Czyli w sytuacji dużego zagrożenia, troska o własne życie jest nadrzędna z punktu widzenia biologii. Wszak ratując

własne życie, samica może w przyszłości, w bardziej sprzyjających warunkach, donosić następną ciążę. Natomiast ratując za wszelką cenę ciążę w warunkach zagrożenia, sama może zginąć. Zatem w ocenie biologii rozumniej jest poczekać na korzystniejsze okoliczności.

Najpewniej sytuacji tej nie można w bezpośredni sposób przenieść na ludzi, gdyż bogata sfera życia duchowego może, chociaż w niezrozumiały obecnie sposób, oddziaływać na przebieg omawianych procesów. Wszak nawet w warunkach pozbawionych jakiegokolwiek nadziei na pomyślną przyszłość, np. w warunkach obozów zagłady, dzieci rodziły się.

I to jest poznawcze spojrzenie na problem, wpływające z chęci poznania ogólnobiologicznych prawidłowości. Drugie spojrzenie jest czysto ekonomiczne. Szacuje się np., że opóźnienie zapłodnienia krowy o jeden cykl płciowy, tj. 21 dni, naraża hodowcę na stratę około 30-60 złotych w zależności od produktywności zwierzęcia. Straty w przypadku ronień są nieporównanie większe. Dlatego oprócz czynników środowiskowych, w tym żywieniowych, stałej opieki lekarskiej itp. poznanie hormonalnych i nerwowych regulacji, wspierających czynność ciała żółtego, może przyczynić się do uniknięcia tych strat.

Piśmiennictwo

- Aguado L. I., Petrovic S. L., Ojeda S. L.: *Endocrinology* 110, 1124, 1982.
- Ahren K., Norjavaara E., Rosberg S., Selstam G.: *Prostaglandins* 25, 839, 1983.
- Ansell G. B., Beeson M. F.: *Anal. Biochem.* 23, 196, 1968.
- Bahr J., Kao L., Nalbandov A. V.: *Biol. Reprod.* 10, 273, 1974.
- Baird D. T.: *Anim. Reprod. Sci.* 28, 95, 1992.
- Battista P. J., Condon W. A.: *J. Reprod. Fert.* 76, 231, 1986.
- Battista P. J., Rexroad C. E., Poff J. P., Condon W. A.: *Biol. Reprod.* 41, 807, 1989.
- Ben-Jonatan N., Arbogast L. A., Rhoades T. A., Bahr J. M.: *Endocrinology* 115, 1426, 1984.
- Bogacki M., Kotwica J.: *J. Reprod. Fert. Abstr. Ser.* 17, 130, 1996.
- Bogacki M., Skarżyński D., Starostka B., Kotwica J.: *J. Physiol. Pharmacol.* 46, (Suppl. 1), 50, 1995.
- Burden H. W., Lawrence I. E., Louis T. M.: *Acta Anat.* 122, 193, 1985.
- Chambers J., Park J., Cronk D. C., Chapman, Kennedy F. R., Wilson S., Milligan P. G.: *Biochem. J.* 303, 973, 1994.
- Conn P. M., Conti M., Harwood J. P., Dufau M. L., Catt K. J.: *Nature* 274, 598, 1978.
- Engstrom T., Bratholm P., Vilhardt H., Christensen N. J. J.: *Endocrinology* 153, 393, 1997.
- Godkin J. D., Black D. L., Duby R. T.: *Biol. Reprod.* 17, 514, 1977.
- Hansel W., Alila H. W., Dowd J. P., Milvae R. A. J.: *Reprod. Fert.* 43, 77, 1991.
- Hafjis Ch. G., Koritnik D. R., Grogan D. M.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* 160, 751, 1989.
- Hsueh A. J. W., Jones P. B. C., Adashi E. Y., Wang C., Zhuang L. Z., Welsh T. H.: *J. Reprod. Fert.* 69, 325, 1983.
- Jaroszewski J., Kotwica J.: *Reprod. Nutr. Develop.* 34, 174, 1994.
- Kamisto P., Ovnann Ch., Rosengren E., Walles B.: *Cell Tissue Res.* 238, 235, 1984.
- Kotwica J., Skarżyński D., Jaroszewski J.: *Vet. Rec.* 127, 33, 1990.
- Kotwica J., Skarżyński D., Jaroszewski J.: *Br. Vet. J.* 147, 189, 1991.
- Kotwica J., Skarżyński D., Jaroszewski J., Kotwica G.: *Animal Reprod. Sci.* 26, 179, 1991.
- Kotwica J., Skarżyński D.: *J. Reprod. Fert.* 97, 411, 1993.
- Kotwica J., Skarżyński D., Jaroszewski J., Bogacki M.: *Prostaglandins*, 48, 1, 1994.
- Kotwica J., Skarżyński D., Bogacki M., Miszkiewicz G.: *Br. J. Pharmacol.* 118, 1669, 1996.
- Kotwica J., Skarżyński D., Bogacki M., Miszkiewicz G.: *Reprod. Dom. Anim.* 31, 463, 1996.
- Kotwica J., Skarżyński D., Miszkiewicz G., Melin P.: *Prostaglandins* (złożona do druku).
- Lefkowitz R. J., Hoffman B. B., Taylor P.: *W: The Pharmacological Basis of Therapeutics.* Wyd. New York: Pergamon Press, 1990, 84-121.
- Luck M. R., Payne J. H.: *Bibl. Reprod.* 57, B1-B8, 1991.
- Miszkiewicz G., Kotwica J.: *J. Reprod. Fert. Abstract Series* 18, 79, 1996.
- Niswender G. D., Schwall R. H., Fitz T. A., Farin C. E., Sawyer H. R.: *Rec. Prog. Horm. Res.* 41, 101, 1985.
- Payne J. H., Cooke R. G.: *Anim. Reprod. Sci.* 35, 91, 1994.
- Pesta M., Muszyńska A., Kucharski J., Superata J., Kotwica J.: *Biol. Reprod.* 50, 215, 1994.
- Rao C. H. V., Estergreen V. L., Carman F. R. Jr, Moss G. E.: *Acta Endocrinol.* 91, 529, 1979.
- Reynolds L. P., Ford S. P.: *J. Reprod. Fert.* 71, 65, 1984.
- Richards J. S., Ireland J. J., Rao M. C., Bernath G. A., Midgley A. R., Reichert L. E.: *Endocrinology* 99, 1562, 1976.
- Richards J. S.: *Ovarian Follicular Development*, Raven Press, New York, 1979.
- Schams D., Liebermann J., Miyamoto A.: *W: Oxytocin, Cellular and Molecular Approaches in Medicine and Research.* Wyd. Ivell R., Russel J.A., Plenum Press, New York 1995, 543-544.
- Skarżyński D., Kotwica J.: *J. Reprod. Fert.* 97, 419, 1993.
- Skarżyński D., Bogacki M., Kotwica J.: *Theriogenology* 48, 733, 1997.
- Sorger T., Pittman R., Soderwall A. L.: *Biol. Reprod.* 28, 461, 1983.
- Stefenson A., Owmann Ch., Sjoberg N. O., Sporrang B., Walles B.: *Cell Tissue Res.* 215, 47, 1981.
- Wheeler A. G., Walker M., Lean J.: *J. Reprod. Fert.* 79, 195, 1987.
- Wheeler A. G., Lean J., Walker M.: *J. Endocrinol.* 116, 137, 1988.
- Williams G. L.: *J. Anim. Sci.* 67, 785, 1989.
- Wiltbank M. C., Knickerbrocker J. J., Niswender G. D.: *Biol. Reprod.* 40, 1194, 1989.
- Wiltbank M. C., Gallagher K. P., Christensen A. K., Brabec R. K., Keyes P. L.: *Biol. Reprod.* 42, 139, 1990.
- Tsai S. J., Wiltbank M. C.: *Biol. Reprod.* 57, 1016, 1997.

Adres autora: prof. dr hab. Jan Kotwica, ul. Pieczewska 6/7, 10-699 Olsztyn

NAVARRO M., CRISTOFOLD C., CARRETERO A., ARBOIX M., RUBERTE J.: Zaburzenia rozwojowe zarodków owiec indukowane lekiem przeciworobaczym – netobimin. (Anthelmintic induced congenital malformations in sheep embryos using netobimin). *Vet. Rec.* 142, 86-90, 1998 (4)

Netobimin podobnie jak i benzimidazol działa teratogennie u zwierząt doświadczalnych i gospodarskich. Netobimin w małych dawkach jest bardzo skutecznym lekiem w inwazjach wywołanych przez wiele gatunków pasożytów. W dawce 7,5 mg/kg masy ciała jest on zalecany do zwalczania robaków obłych, zaś w dawce 20 mg/kg jest stosowany w inwazji wywołanej przez motylicę wątrobową. Działanie teratogenne określono na 14 owcach w 17 dniu ciąży, którym podano netobimin (5% roztwór Hapasil) w dawce 20 mg/kg masy ciała. Ronienia oraz wrodzone wady rozwojowe pojawiły się u 15 (60%) z 25 jagniąt. Obejmowały one głównie kości i naczynia krwionośne (agenezja tętnicy nerkowej, duplikacja głównej tętnicy brzusznej).

G.

RAMSEY J.: Rozpoznawanie niedoczynności tarczycy u psów. (Diagnosing canine hypothyroidism). *In Practice* 19, 378-383, 1997 (7)

U psów niedoczynność tarczycy jest najczęściej chorobą z autoagresji lub ma to idiopatyczne. Rozpoznanie choroby jest możliwe w oparciu o postępowanie kompleksowe obejmujące wywiad, badanie kliniczne oraz dodatkowe badania laboratoryjne. Wśród tych badań ważną rolę odgrywa oznaczenie poziomu hormonów, zwłaszcza całkowitego poziomu tyroksyny (tT4) wolnej tyroksyny (fT4), trójiodotyroksyny (tT3), rT3 oraz hormonu stymulującego tarczycę (cTSH). Do stymulacji wydzielania hormonów stosuje się bydlęcą TSH, syntetyczny TRH. Określa się też miano przeciwciał dla T3, T4, bada się histologicznie wycinki tarczycy pobrane na drodze biopsji tego gruczołu. W obrazie klinicznym niedoczynności tarczycy następujące objawy często występują: senność, wzrost masy ciała, wyłysienie, ropne zapalenia skóry, łojotok. Rzadziej występują zaburzenia mięśniowo-nerwowe, u samic niepłodność, zaburzenia wzrokowe, kretynizm.

G.