
УДК 636.93.082.454.33

СЕЗОННО-ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ЯИЧНИКОВ ЛИСИЦ И ПЕСЦОВ НА ГОРМОНАЛЬНУЮ СТИМУЛЯЦИЮ

Шульгина Н.К.

Россельхозакадемия, Москва, Россия

Вопросами гормональной регуляции яичников у пушных зверей семейства собачьих занимались и занимаются до настоящего времени многие исследователи (Владимиров, 1976; Владимиров, Гладилов, 1977; Кротов, Кононов, 1984; Бурдель, Орлов, 1989; Шульгина и др., 1995; Шульгина, 2006). Однако до настоящего времени в существующей технологии разведения этих зверей нет каких-либо однозначных рекомендаций по использованию гормонов для профилактики или коррекции неблагополучий, имеющих место, как правило, в любом хозяйстве в период гона.

Материалы наших исследований, а также анализ литературных данных позволяют предположить, что более низкие результаты воспроизводства молодых самок, видимо, объясняются недостаточным уровнем функционирования верхних звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадальной системы. Поэтому одним из путей повышения репродуктивных качеств, по нашему мнению, может быть введение молодым самкам гормональных препаратов. Мы попытались, используя доступные препараты, подобрать такую схему их введения, которая бы в условиях указанного хозяйства давала положительный эффект.

Работа проведена в АОЗТ «Слободской» (Истринского района Московской области) на самках серебристо-черных лисиц и вуалевых песцов. Кормление и содержание животных осуществляли по общепринятой технологии. Кровь у самок брали из плантарной вены. Сыворотку готовили по общепринятой методике и хранили до анализа при -18°C . Эстрадиол, тестостерон, прогестерон, кортизол, трийодтиронин и тироксин в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом на счетчике «Риагамма» с помощью наборов реактивов, поставленных В/О «Изотоп» и В/О «Нуклон», которые содержали в качестве метки йод-125.

Гистологические исследования проводили на базе ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет» Росздрава РФ совместно с к.м.н. М.Д. Донсковой. При подборе методов исследования мы руководствовались фактической неизученностью гистоструктуры гонад этих видов и необходимостью получения объективной информации о функциональной морфологии органа, в частности, его эндокринного компартмента. Вышесказанное определило целесообразность применения общегистологических методов в сочетании с гистохимическими и электронномикроскопическими.

Для светооптического исследования материал фиксировали в растворе Буэна (формалин, уксусная и пикриновая кислоты). Для общеморфологического анализа парафиновые срезы яичника окрашивали гематоксилином и эозином и анализировали не менее 10 центральных срезов органа. Клеточные элементы подсчитывали с использованием стандартизированного для всех экспериментальных серий числа полей зрения, а размеры определяли с помощью окулярмикрометра.

В работе использовали препарат дигитал производства Харьковского НИИЭиХГ. Этот препарат является композицией половых стероидных гормонов и их солей в косточковом масле. Из препаратов гонадотропного действия использовали гонадотропин сывороточный (СЖК) и хориогонин (ХГ) производства Московского эндокринного завода.

Работа состояла из двух этапов. На первом (в ноябре) – забойным самкам была проведена индукция овуляции с помощью различных схем введения гормонов. Ноябрь был выбран не случайно: с одной стороны – это период массового забоя, а с другой – начало подготовки животных к гону, когда активизируется функция яичников (табл.1).

Таблица 1. Схема и сроки введения гормонов самкам лисиц и песцов

Вид и номер животного	Схема, сроки гормонотерапии	Дата забоя
<i>Песец вуалевый</i>		
3904 – 1; 3901 - 2	Интактные самки, контроль – инъекции физраствора (1мл)	17.11
4638 – 1, 8420; 4638 - 2	Однократно п/к 750 ед. СЖК (7.11)	17.11
3904 – 3; 4682 – 1; 4682 - 2	Двукратно п/к 750 ед. СЖК (2,7.11)	17.11
4638 – 3; 3904 – 4; 4638 - 4	Однократно, в/м дигитол 1 мл	17.11
<i>Серебристо-черная лисица</i>		
032; 1210; 042	Последовательное п/к введение 750 ед. СЖК (7.11) и в/м 420 ед. ХГ (11.11)	22.11

Примечание: п/к – подкожная, в/м – внутримышечная инъекция препарата.

Использованные дозы и временные интервалы между введением гормонов предложены нами на основе предыдущих исследований. Вариации схем экспериментов, включая введение различных препаратов, нашли отражение в неоднозначности реакции яичника у подопытных самок песцов. Вместе с тем, следует указать на определенную условность дифференциации реакции в группах, подвергнутых однократному и двукратному воздействию СЖК, что может быть связано с различной индивидуальной чувствительностью животных к его воздействию. Кроме того, в этих группах отмечена диссоциация в структурно-функциональном статусе правого и левого яичников (правый, как правило, более резистентен). Значительно стеротипнее (в том числе и с позиции билатеральной симметрии) выглядит реакция яичников на введение дигитола.

При двукратном введении СЖК только в одном случае фолликулы достигали значительных размеров и проявляли выраженную лютеинизацию зернистого слоя.

Яичники двух других животных этой группы содержали множественные полостные фолликулы меньшего диаметра: “здоровые” и атретические. Характерно отсутствие четкой сосудистой реакции и обилие растущих фолликулов более ранних стадий.

Однократная инъекция СЖК имела еще более переменный эффект. Яичники самки № 4638 демонстрировали относительную толерантность к воздействию, результатом которого явилось появление 2-4 некрупных (диам.<0,8 мм) антральных фолликулов. Одной из причин в этом случае может быть отставание овариального морфогенеза от возрастной нормы, в частности, соответствие структуры железистого интерстиция инфальтильному периоду.

Общая стимуляция фолликулогенеза с достоверным увеличением количества растущих фолликулов и с достижением отдельными из них стадии крупных полостных наблюдалась у самки № 4638. Большинство последних имело отчетливые признаки атрезии: десквамация фолликулярного эпителия, гипертрофия теки. Ассиметрия реакции правого и левого яичников у самки № 8420 была наиболее выраженной (рис. 1). Левый яичник содержит гигантские кисто-подобные фолликулы, преимущественно с сохранными овоцитами, активен рост антральных фолликулов меньших размеров; правый – демонстрирует обилие атретических тел, гипертрофию вторичного интерстиция.

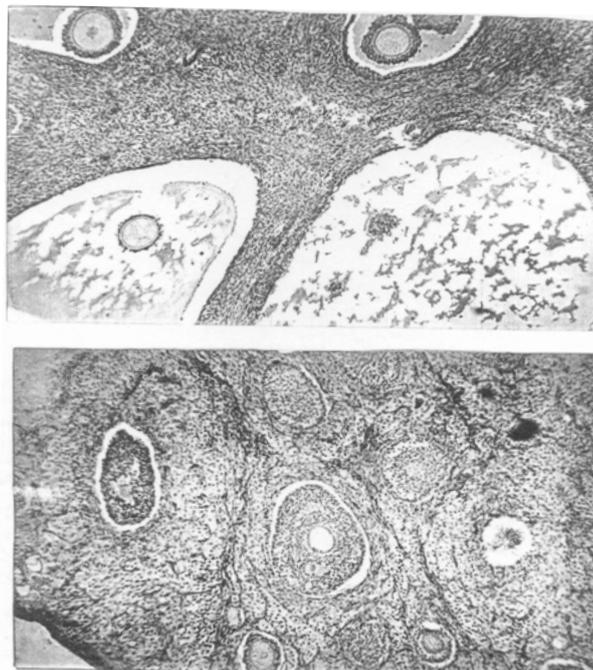


Рис. 1. Билатеральная асимметрия состояния яичников. Самка № 8420. Гематоксилин-эозин. Ок. 12,5, об. 10.

Заключая характеристику действия СЖК, следует констатировать, что однократная и тем более двукратная инъекция препарата резко изменяют функциональную морфологию яичника препубертатных животных, о чем свидетельствует сравнение гистоструктуры гонад интактных (рис. 2) и экспериментальных самок. Активизация морфогенетических процессов на этом этапе развития гонад может сыграть положительную роль при вступлении самок в репродуктивный период. Это предположение основывается на четких морфологических признаках изменения эндокринного компартамента органа, и, как следствие, – повышения уровня эстрадиола в периферической крови с 0,06 нмоль/л до 3,00 нмоль/л. С точки зрения индукции овуляции, несостоятельность данной схемы очевидна, равно как и невысокая воспроизводительность эффекта стимуляции фолликулогенеза, вероятно, обусловленная различиями в темпах созревания самок.

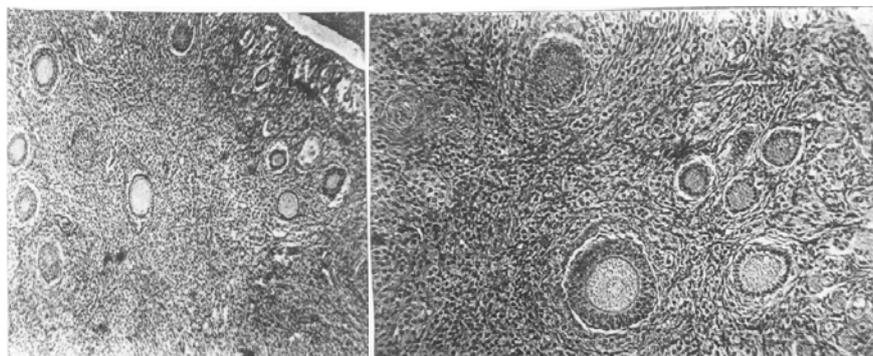


Рис. 2. Гистоструктура яичника в фазе анэструс. Гематоксилин-эозин. Ок. 12,5, об. 10.

Введение дигитола провоцирует в яичнике всех самок увеличение числа вступающих в рост фолликулов, не достигающих, однако, за данный временной интервал стадии крупных антральных (рис. 3). Вступающие в стадию полостных фолликулы подвергаются негативной селекции, пополняя материал вторичной интерстициальной стромы. Положительный аспект влияния дигитола на расширение пула растущих фолликулов может быть использован при комбинационной стимуляции овариальной функции.



Рис. 3. Активная стимуляция фолликулогенеза: растущие фолликулы различных пулов. Самка № 3904. Гематоксилин-эозин. Ок. 12,5, об. 10.

Результаты гистологического анализа подтверждают возможность активизации овариальной функции у анэстральных самок лисиц композиционным введением СЖК и ХГ, демонстрируя в то же время неравнозначность стимулирующего эффекта у отдельных особей. Последний выразился двумя типами реакции яичников: активизацией фолликулогенеза, не завершившегося овуляцией (№ 032, 042) и реализацией овуляторного стимула (№ 1210).

Так, морфологические параметры популяции фолликулов в яичниках самок № 032 и 042 указывают на выраженную прогрессию фолликулярного роста, по сравнению с контрольным состоянием. Отмечено, что у интактных анэстральных самок фолликулярный аппарат представлен преимущественно преантральными пулами, единичные некрупные полостные фолликулы подвергаются атрезии с текозом и последующей трансформацией в атретические тела, реже – мелкие кисты. Основной объем перенхимы занят активным специфическим (стероидпродуцирующим) интерстицием стромального типа. Введение гонадотропинов резко стимулирует фолликулогенез, что результируется появлением 10-18 крупных (до 5 мм в диаметре) фолликулов в каждом яичнике. Примечательно, что структура этих, условно квалифицируемых как доминантные, фолликулов гетероморфна. Яичник самки № 032 содержит более крупные фолликулы с выраженной лютеинизацией и васкуляризацией гранулезы в комбинации с мигрирующими в эпителий текальными клетками (рис. 4).

Соответственно наблюдается процесс, близкий ранним стадиям лютеогенеза, точнее, преовуляторной лютеинизации стенки фолликула. Сходство с картиной преовуляторного яичника в данном случае дополняет субтотальная атрезия более мелких полостных фолликулов, снижение представительства функционально активных интерстициальных гранулоцитов и активная сосудистая реакция. При интерпретации этого состояния в плане развития событий, очевидно, следует указать два варианта. Один – персистенция преовуляторного фолликула в условиях отсутствия адекватного уровня лютеинизирующего гормона. Второй, аргументируемый формированием подобия стигмы, сохранностью овоцита и характерной диссоциацией клеток кумулула, – выход в последующую овуляцию.

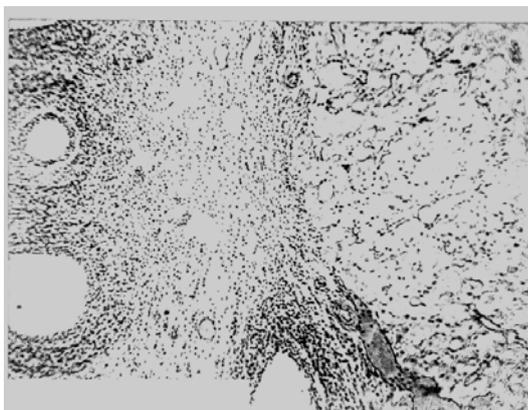


Рис. 4. Обилие полостных фолликулов, диам. <math>< 0,8 \text{ мм}</math> с признаками атрезии; лютеинизация стенки крупного антрального фолликула. Самка № 032. Гематоксин-эозин. Ок. 12,5, об. 10.

Таким образом, у двух самок из трех эффект гормонотерапии ограничился яркой прогрессией фолликулогенеза с появлением фолликулов типа течковых (рис. 5-7).

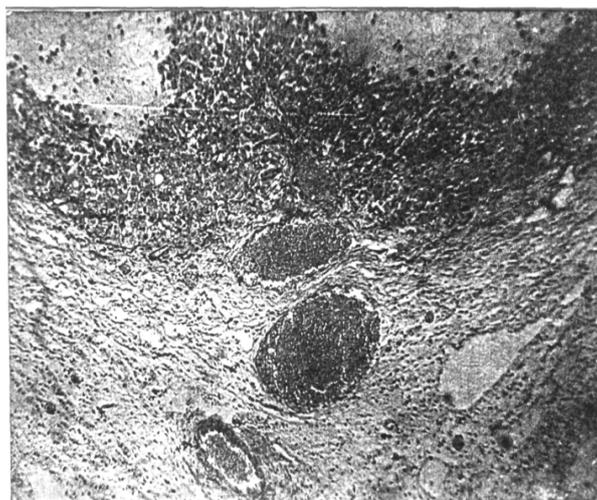


Рис. 5. Фрагмент крупного преовуляторного фолликула, лютеинизация и васкуляризация гранулезы. Самка № 032. Гематоксилин-эозин. Ок. 12,5, об. 20.

Наиболее убедительным доказательством эффективности гонадотропной стимуляции функции яичников в период анэструса служит факт индукции овуляции у самки № 1210. Яичник этой самки содержит 7 зрелых желтых тел теколютеиновой природы (рис. 6), разделенных тонкими прослойками рыхлой, волокнистой соединительной ткани и занимающих практически весь объем органа. Фолликулогенез подавлен, в паренхиме присутствуют единичные кистозные образования без явлений текоза.

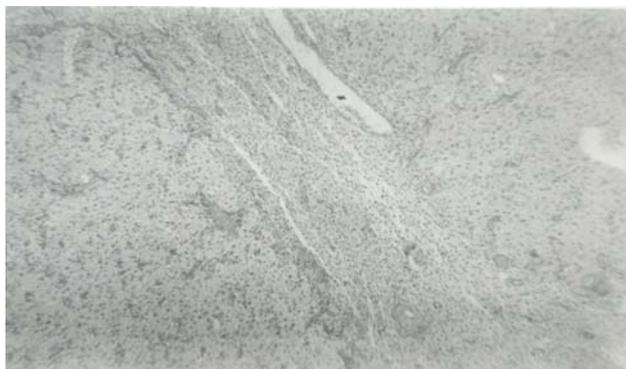


Рис. 6. Желтые тела в яичнике самки № 1210. Гематоксилин-эозин. Ок. 12,5, об. 10.

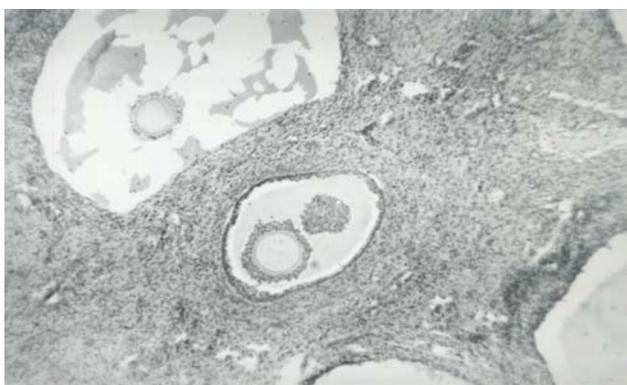


Рис. 7. Множественные полостные третичные фолликулы в яичнике самки № 042. Гематоксилин-эозин. Ок. 12,5, об. 10.

Определение уровня гормонов в сыворотке крови показало закономерное увеличение концентрации эстрадиола после введения СЖК и рост содержания прогестерона после введения ХГ (табл. 2).

Таблица 2. Содержание гормонов в крови лисиц (нмоль/л)

Номера самок	Дата взятия крови	Эстрадиол	Прогестерон
032; 1210; 042	7.11 до инъекции	0.1 ± 0.02	0.3 ± 0.17
032; 1210; 042	10.11	0.9 ± 0.35	1.3 ± 0.52
	17.11	0.1	51.6
1210	22.11	0.1	203.5
	17.11	0.2; 0.3	29.3; 17.0
032; 042	22.11	-	41.4; 40.4

Исходя из полученных материалов, мы предположили, что препараты СЖК и ХГ в дозах, указанных выше, могут быть использованы в период гона для стимуляции овуляции у молодых самок.

Второй этап - введение гормональных препаратов самкам в период размножения. В марте были комиссионно подобраны 4 самки серебристо-черных лисиц

без изменений наружных половых органов, которым вводили СЖК и ХГ по схеме (см. табл. 1). Результаты эксперимента представлены в табл. 3.

Таблица 3. Результаты введения гормонов самкам серебристо-черных лисиц

Номера самок	Дата покрытия	Дата щенения	Кол-во щенков
222	18.03	10.05	4
144	19.03	12.05	3
226	19.03	12.05	3
36	18.03	10.05	2

Таким образом, полученные нами в эксперименте данные о возможности индукции овуляции у молодых самок семейства собачьих с помощью СЖК и ХГ, подтвердились в условиях периода размножения. Тем самым наше предположение о том, что одна из причин низкой продуктивности сеголеток – недостаточная активность гипоталамо-гипофизного звена в регуляции половой функции подтвердилось в эксперименте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурдель Л.А., Орлов П.П. Влияние крезацина на репродуктивную способность серебристо-черных лисиц. Сб. науч. тр. НИИПЗК, 1989, 36: 103-107.
2. Владимиров А.В., Гладилов И.А. Опыт применения гравогормона для стимуляции репродуктивной функции у самок голубых песцов в период гона. Науч. тр. НИИПЗК, 1977, 16: 58-61.
3. Владимиров А.В. Опыт применения СЖК для стимуляции репродуктивной функции у самок голубых песцов в период гона. Сб. работ Чувашской респ. вет. лаб., 1976, 5: 147-149.
4. Кротов В.И., Кононов П.А. Стимуляция (гормональная) репродуктивной функции песцов. Кролиководство и звероводство, 1984, 1: 15.
5. Шульгина Н.К. О причине неполной реализации репродуктивного потенциала молодых самок вуалевого песца. Кролиководство и звероводство, 2006, 4: 9.
6. Shyl'gina N. K., Pomytko V. N., Donskova M. D., Volodin A. A., Atanasiev V. Endocrine and veterinary aspects of ovary function in sables and foxes. Fourth International Veterinary Immunology Symposium, July 16-21, 1995. University of California, Davis, 1995: 324.

Season and age dependent traits of ovary reaction to hormonal stimulation in foxes and polar foxes

N.C. Shulgina

Russian Agricultural Academy

With the aim to stimulate the induction of ovulation in young females of canine family (foxes and polar foxes) the gonadal steroid hormones composition Digitol, serum gonadotropin (SG) and choriogonin (CHG) were used with various sequences of time periods of injection. On the first phase of experiment performed in November the following treatments were used: control - physiological solution (slaughter: 17.11); I group – s/c 750 units SG at 7.11 (slaughter 17.11); II group – s/c 750 units SG at 2 and 7.11 (17.11); III group – i/m Digitol 1 ml (17.11); IV group – s/c 750 units SG at 7.11, 420

units CHG at 11.11 (22.11). Results of histological analysis have suggested that composite injections of GHG and SG can activate ovarian function in anestrus foxes, although the rate of stimulating effects were variable. After injection of SG concentration in blood estradiol was increased and after injection of CHG – the level of progesterone. On the second phase of experiment performed on run season the group of anestrus foxes was formed and hormonal treatment was performed using those scheme as in the first phase of experiment. All foxes became pregnant and were whelped. Results of experiment suggest that anestrus in this group of foxes was due to suboptimal activity of hypothalamo-hypophyseal chain in control of ovarian function.

Key words: foxes, polar foxes, gonadal steroid hormones, ovary, histology, blood hormones, fertility

Prob. Prod. Anim. Biol., 2007, 1: 81-88