

УДК 612.621.31:612.646

И. П. Петрова, А. Г. Резников, В. М. Колповский, В. Н. Демченко

СОДЕРЖАНИЕ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ В КРОВИ
БЕРЕМЕННОЙ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ

Процессы размножения протекают при непосредственном участии половых гормонов. В частности, они необходимы для имплантации зародыша и сохранения беременности. Однако динамика изменений содержания гормонов в материнском организме в различные периоды эмбриогенеза у ряда животных исследована недостаточно.

Научные и народнохозяйственные интересы определяют внимание, которое уделяется изучению физиологии репродукции американской норки. Однако литературные данные о содержании половых стероидов у беременных норок [3, 12] не позволяют достаточно полно охарактеризовать продукцию этих гормонов, особенно в начале беременности, и ее связь с особенностями эмбриогенеза. Не ясен вопрос о причинах эмбриональной диапаузы (задержки имплантации blastocysta). Многие исследователи считают, что она обусловлена неадекватным состоянием желтого тела [1, 2, 4, 10, 11]. С другой стороны, морфологические данные [8] указывают на возможность функциональной активности желтых тел у американской норки во время эмбриональной диапаузы.

Мы изучали содержание эстрадиола и прогестерона в плазме крови американских норок в течение беременности и проанализировали связь этих показателей с периодами эмбриогенеза.

Методика исследований

Исследование проведено на 30 самках американской норки, впервые участвовавших в размножении. Зверей содержали в Черкасском зверохозяйстве. В марте 20 самок, отобранных по принципу аналогов, были покрыты дважды с интервалом 7 сут, остальные 10 интактных норок составили контрольную группу. Кровь для исследования брали в гепаринизированные пробирки из сосудов хвоста утром до кормления через — 15, 30, 35, 45 сут после второго покрытия.

В плазме крови определяли содержание эстрадиола и прогестерона радиоиммунным методом с использованием наборов ESTRK и PROGK фирмы «International CIS» (Франция). Радиоактивность проб измеряли в жидкостном сцинтилляционном счетчике «Mark III» (Nuclear Chicago, США) с применением жидкости ЖС-8.

Уровень эмбрионального развития определяли посредством обратного отсчета возраста зародышей в сутках до родов (с. д. р.) [5]. Достоверность различий вычисляли по критерию Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Из 20 покрытых норок ошенились 15 самок. Результаты определения концентрации половых гормонов в плазме крови беременных и интактных животных приведены в таблице.

У неспаривавшихся норок, которые использовались для контроля, эстральный период завершается образованием желтых тел, которые по морфологическим признакам не отличаются от гравидарных. Наличие в яичниках интактных самок желтых тел характерно для диэструса. Содержание половых стероидов у контрольных самок колебалось в широком диапазоне: эстрадиола — от 45 до 115 пг/мл, прогестерона — от 0,29 до 14 нг/мл в начале диэструса. В последующие сроки исследования концентрация овариальных гормонов в плазме крови заметно понизилась и составила для эстрадиола 0,15—72,0 пг/мл, для прогестерона — 0,11—8,8 нг/мл.

В первой трети как у беременных из таблицы, конценных в начале диэструса перед имплантационными изменениями в структуре сли...

Соотношение концентраций (П/Э) в плазме крови норок. Черные столбики — беременные, белые — эмбриогенеза: а — зародышевые, б — желтые тела.

чески одинаковом соотношении (контроль). У беременных норок резко возрастала. У зародышевых норок обнаружены в плазме крови обнаружены (25—104 нг/мл), а эстрадиол (1850 пг/мл), по сравнению с 45—115 пг/мл).

Этот факт указывает на деление половых стероидов в течение беременности у норок бесплодных самок стада бесплодных самок стада экономическом...

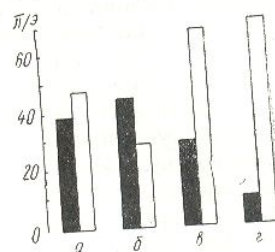
Содержание прогестерона

Периоды эмбриогенеза	Группы животных	Конт. ж.
Зародышевый	интактные беременные	
Флексии	интактные беременные	
Предплодный	интактные беременные	1
Плодный	интактные беременные	1

Примечание. р — по сравнению с контрольным периодом.

Для выяснения задержки от уровня половых гормонов эмбриогенеза американской норки в принципах [6, 7]. В течение оплодотворения до 26 суток цитовой оболочки — прозрачной.

В первой трети диэструса рельеф эндометрия изменяется так же, как у беременных самок перед имплантацией [6]. Хотя, как видно из таблицы, концентрация прогестерона в крови контрольных животных в начале диэстрального периода в десятки раз меньше, чем у беременных перед имплантацией, она все же в состоянии вызвать сходные изменения в строении эндометрия. Такие однообразные изменения в структуре слизистой оболочки матки наблюдаются при практи-



Соотношение концентраций прогестерона и эстрадиола (П/Э) в плазме крови норок.

Черные столбики — беременные норки, белые — интактные. Периоды эмбриогенеза: а — зародышевый, б — флексии, в — предплодный, г — плодный.

чески одинаковом соотношении уровней прогестерона и эстрадиола у неспарившихся (контрольных) и беременных норок (см. рисунок).

У беременных норок концентрация половых гормонов в крови резко возрастала. Уже через 15 сут после последнего спаривания в плазме крови обнаружено большое количество прогестерона у 10 (25—104 нг/мл), а эстрадиола — у всех 15 ощенившихся самок (240—1850 пг/мл), по сравнению с контролем (соответственно 0,3—14 нг/мл и 45—115 пг/мл).

Этот факт указывает на высокую информативную ценность определения половых стероидов, особенно эстрадиола, в ранней диагностике беременности у американской норки. Своевременное удаление из стада бесплодных самок, количество которых достигает 20 %, перспективно в экономическом отношении.

Содержание прогестерона (нг/мл) и эстрадиола (пг/мл) в плазме крови беременных норок по периодам эмбриогенеза

Периоды эмбриогенеза	Группы животных	Количество животных	Прогестерон		Эстрадиол	
			$M \pm m$	P_1	$M \pm m$	P_1
Зародышевый	интактные	10	$3,47 \pm 1,65$	—	$72,2 \pm 8,3$	—
	беременные	14	$44,70 \pm 2,43$ $p < 0,001$	—	$1140,0 \pm 157,0$ $p < 0,001$	—
Флексии	интактные	6	$2,39 \pm 1,03$	$> 0,05$	$83,4 \pm 11,4$	$> 0,05$
	беременные	6	$54,64 \pm 20,34$ $p < 0,05$	$> 0,05$	$1270,0 \pm 217,0$ $p < 0,001$	$> 0,05$
Предплодный	интактные	7	$2,7 \pm 1,31$	$> 0,05$	$42,0 \pm 6,64$	$< 0,05$
	беременные	18	$55,44 \pm 6,59$ $p < 0,001$	$> 0,05$	$1908,0 \pm 209,0$ $p < 0,001$	$< 0,05$
Плодный	интактные	7	$2,58 \pm 1,14$	$> 0,05$	$36,1 \pm 8,1$	$> 0,05$
	беременные	10	$29,71 \pm 5,86$ $p < 0,001$	$< 0,05$	$2978,0 \pm 284,0$ $p < 0,001$	$< 0,01$

Примечание. p — по сравнению с интактными, p_1 — по сравнению с предшествующим периодом.

Для выяснения зависимости нормального течения беременности от уровня половых гормонов нами использована периодизация эмбриогенеза американской норки, основывающаяся на морфо-экологических принципах [6, 7]. В течение зародышевого периода эмбриогенеза (от оплодотворения до 26 с. д. р.) зародыши находятся под защитой яйцевой оболочки — прозрачной зоны, и их питание осуществляется за

счет трофобласта. На стадии бластоцисты возникает и функционирует первый внезародышевый орган — трофобласт. В связи с задержкой развития зародышей на стадии бластоцисты — эмбриональной диапаузой — продолжительность этого периода непостоянна, в наших исследованиях она составила от 11 до 23 суток.

Объяснение механизма задержки имплантации низким содержанием или отсутствием прогестерона [10] в нашем опыте подтверждения не нашло. Количество стероидов, выявленное в зародышевом периоде, характеризует именно эмбриональную диапаузу. Уровень прогестерона во время эмбриональной диапаузы ($44,7 \pm 2,43$ нм/мл) указывает на активное состояние желтых тел.

Не подтвердилось и утверждение о том, что эмбриональная диапауза обусловлена высокой эстрогенной активностью яйцевых фолликулов [1]. Во время эмбриональной диапаузы в крови содержится меньше эстрадиола, чем в последующие сроки беременности (см. таблицу). Приведенные результаты позволяют высказать мнение, что механизм задержки имплантации более сложный, чем предполагалось раньше. Продукция прогестерона нужна для обеспечения беременности и сохранения жизни зародышей американской норки во время эмбриональной диапаузы.

В период имплантации (25—22 с. д. р.) зародыши локализуются в плодных камерах и освобождаются от прозрачной зоны, происходит гастрюляция, образуется желточный мешок и возникает десмохориальная желточная плацента, обеспечивающая гистiotрофное питание, развивается складчатый амнион. Этот период завершается обособлением амниона от трофобласта. Как выяснилось при анализе полученных результатов, этот период, к сожалению, выпал из наших наблюдений. Тем не менее имеющиеся сведения о содержании половых стероидов в последующие сроки эмбриогенеза в какой-то мере восполняют этот пробел. Потребность в прогестероне заметно возрастает при развитии плацентарной связи и снижается при достижении плацентой структурной зрелости.

Периоду флексии (21—17 с. д. р.) свойственна характерная поза зародышей, их тело согнуто в виток спирали. В этот период происходят многоходовые регламентированные перемещения зародышей в плодных камерах. При функционирующей желточной плаценте в антимезометральной стороне плодных камер возникает пузырь аллантоиса, пристеночная часть которого формирует десмохориальную плаценту, и одновременно с ним развивается плацентарная «гематома». Плацентарная связь десмохориального типа осуществляется желточным мешком и аллантоисом, а в области плацентарной «гематомы» устанавливаются гемохориальные отношения. В последние сутки этого периода завершается редукция висцерального кровообращения.

В предплодный период (16—11 с. д. р.) аллантоис постепенно вытесняет желточный мешок от связи с трофобластом (хорионом), в основной плаценте возникают признаки эндотелиохориальной связи. В желточном мешке усиливается секреторная деятельность энтодермального эпителия.

Плодный период (10 с. д. р. — щенение) — функционирует поясковая аллантоидная плацента эндотелиохориального типа, плацентарная «гематома» обеспечивает гемохориальную связь. Желточный мешок находится в экзоцеломе, его энтодермальный эпителий активно секретует по апокринному типу.

Сопоставление содержания половых гормонов с физиологическими особенностями конкретных периодов послеимплантационного эмбриогенеза (см. таблицу) позволяет высказать ряд соображений. О непосредственной зависимости процессов эмбриогенеза от гормонального фона свидетельствует различная концентрация половых стероидов в течение беременности. В плодном периоде содержание прогестерона

в крови матери в 1,5 ми периодами эмбриональности нарастают изменения связаны с происходящего организма,

Интересным фактом является то, что в начале беременности образующийся комплекс, могли бы при морфологически реальных норках блок развиваются до поиска продуцентов однократно привлекает электронно-микроскопический Меллер [11] и на причастность интерпретации всей беременности однообразна [7]. что в начале беременности не только яичники активный его источник тела беременности, в эстрогены [12].

Считаем также не менее интересной эстрадиола же функции которого при развитии эстрадиола у беременных функции желточного органа кровянистого становится секреторного мешка становящегося эмбриогенеза и усиливается. Для подтверждения этого эстрогены требуются исследования.

1. Содержание прогестерона в крови норки значительно сохраняется высоким по мере развития эндотелиохориальной связи (од), достигая наименьших значений.

2. Концентрация эстрогенов в крови превышает контрольные значения в плодном и предплодном периодах.

3. Начиная с предплодного периода, соотношение концентрации эстрогенов в крови матери и норки увеличивается в конце беременности.

4. Радиомунохимический метод определения прогестерона в плазме крови является ранней диагностикой беременности.

в крови матери в 1,5—2 раза меньше, по сравнению с предшествующими периодами эмбриогенеза. Концентрация эстрадиола в течение беременности нарастает, достигая максимума в конце ее. Очевидно, эти изменения связаны не только со своеобразием потребностей развивающегося организма, но и с подготовкой организма матери к родам.

Интересным фактом является возрастание концентрации эстрадиола в начале беременности. Продукцию эстрадиола в период, предшествующий образованию фето-плацентарного стероидсинтезирующего комплекса, могли бы осуществлять овариальные фолликулы. Однако при морфологических исследованиях установлено, что овогенез у беременных норек блокирован, и лишь небольшое количество яйцеклеток развивается до начальных стадий третичных фолликулов [7]. В поиске продуцентов половых гормонов внимание исследователей неоднократно привлекала интерстициальная ткань яичника. Но при электронно-микроскопическом исследовании яичников беременных норек Меллер [11] не обнаружил признаков, которые бы указывали на причастность интерстициальных клеток к продукции стероидов. В течение всей беременности структура интерстициальных клеток весьма однообразна [7]. Основываясь на этих сведениях, можно полагать, что в начале беременности американской норки эстрадиол продуцируют не только яичниковые фолликулы, но существует другой весьма активный его источник. Возможно, этим источником являются желтые тела беременности, которые, как известно, способны синтезировать эстрогены [12].

Считаем также нужным обратить внимание на возможность секреции эстрадиола желточным мешком, о неизвестной эндокринной функции которого предполагал Светлов [8]. Резкое повышение уровня эстрадиола у беременных норек по времени совпадает со сменой функции желточного мешка, который вместо временного внеэмбрионального органа кроветворения, кровообращения и плацентарной связи становится секреторным органом. Секреторная деятельность желточного мешка становится заметной в начале предплодного периода эмбриогенеза и усиливается по мере его обособления от хориона [6]. Для подтверждения способности желточного мешка синтезировать эстрогены требуются специальные биохимические и гистологические исследования.

Выводы

1. Содержание прогестерона в организме беременной американской норки значительно повышено во время эмбриональной диапаузы, сохраняется высоким при плацентации (период флексии) и снижается по мере развития эндотелиохориальной плаценты (предплодный период), достигая наименьшей величины в плодный период эмбриогенеза.

2. Концентрация эстрадиола у беременных норек в десятки раз превышает контрольную величину. Она резко возрастает в предплодный и плодный периоды эмбриогенеза.

3. Начиная с предплодного периода развития американской норки, соотношение концентраций прогестерона и эстрадиола в плазме крови материнского организма уменьшается, достигая минимальной величины в конце беременности.

4. Радиоиммунологическое определение содержания эстрадиола и прогестерона в плазме крови норек может быть использовано для ранней диагностики беременности.

I. P. Petrova, A. G. Reznikov, V. M. Kolpakovsky, V. N. Demchenko

SEX STEROIDS LEVELS IN BLOOD
OF PREGNANT AMERICAN MINK

Summary

Estradiol and progesterone levels in pregnant American mink blood plasma were studied by the radioimmunological method. Results were analyzed in accordance with embryogenesis periods. In the embryonic period progesterone concentration grew on the average 13 times as high, that on estradiol—16 times. By the end of pregnancy progesterone levels decreased, that of estradiol increased. It is supposed that the increased production of sex steroids is necessary to preserve pregnancy during the embryonic diapause. Determination of sex hormones, especially estradiol, in blood may be used for early pregnancy diagnosis.

All-Union Institute of Hunting and
Fur-Farming, Kirov;
Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

Список литературы

1. Абрамов М. Д. Норководство. — М.: Колос, 1974.—208 с.
2. Баевский Ю. Б. Эмбриональная диапауза млекопитающих и ее эволюционно-биологическое значение. — В кн.: Темп индивидуального развития животных и его изменение в ходе эволюции. М.: Наука, 1968, с. 129—175.
3. Буянов А. А., Лютинский С. И., Коган М. Е. Эндокринная функция яичников у норки в постимплантационный период. — В кн.: Биология и патология пушных зверей: Тез. докл. к III Всесоюз. науч. конф. (23—26 июня 1981 г., г. Петрозаводск). Петрозаводск, 1981, 393 с.
4. Ильина Е. Д. Звероводство — 2-ое изд. — М.: Колос, 1975.—288 с.
5. Колповский В. М. Определение возраста эмбрионов американской норки (*Mustela vison* Br.) — Сб. науч.-техн. информ.: Охота, пушнина и дичь / ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова. 1971, вып. 33, с. 54—62.
6. Колповский В. М. К периодизации эмбриогенеза американской норки (*Mustela vison* Br.). — В кн.: Биология и патология клеточных пушных зверей: Тез. докл. ко II Всесоюз. науч. конф. (15—18 апр. 1977 г., Киров). Киров, 1977, с. 65—66.
7. Колповский В. М. Морфология яичников беременной американской норки — *Mustela vison*. — Зоол. журн., 1978, 57, № 12, с. 1860—1869.
8. Светлов П. Г. Примечания к переводу книги К. М. Бэра (1837) «История развития животных». — Л.: Изд. АН СССР, 1953, 515 с.
9. Enders R. K. Reproduction in the mink (*Mustela vison*). — Proc. Amer. Phil. Soc., 1952, 96, N 6, p. 1—191.
10. Hansson A. The physiology of reproduction in mink (*Mustela vison* Schreb.) with special reference to delayed implantation. — Acta Zool., 1947, 1, N 28, p. 1—317.
11. Meller O. The fine structure of the ovarian interstitial gland cells in the mink (*Mustela vison*). — J. Reprod. and Fert., 1973, 34, N 1, p. 171—174.
12. Ryan R. Y. Цит. по: Л. В. Тимошенко, Т. Д. Травянко, М. Р. Глац. Акушерская эндокринология. Киев: Здоров'я, 1981, с. 22.

Всесоюзный институт
охотничьего хозяйства и звероводства, г. Киров;
Киевский институт эндокринологии
и обмена веществ

Поступила в редакцию
23.04.82

ВЛИЯНИЕ КРОВ
ЛИЗОСОМАЛЬНЫ
А

При воздействии
неинфекционной прир
творения, сопровожда
ческой крови [1, 2, 3
ции на чрезвычайные
Известна способн
тации, так и к вазок
ется свойством ферме
Хагемана калликреин
живающее действие, о
мальным ферментам ре
ментами, обладающим
лагать, что способ
кининообразующей, та
посредственно с этими
Изложенные данн
лизосом в различных
допустить возможности
ных лейкоцитов в регу.

Эксперименты поставле
делены на две серии: I — к
ставляющей 15 % общей мас
животные с аналогичной кро
вотные I серии были разделе
рии в периферической крови
коцитарную и лизосомально
нейтрофильных лейкоцитов в
миелокариоцитов в единице о
вычисляли абсолютное количе
го и созревающего пулов в е
цитов и миелокариоцитов в
крови и костного мозга окра
коцитов — красителем Мая—
тельной фиксации метанолом;
ли). Катионные белки окраш
нашей лаборатории: фиксиров
15 мин в спиртовой раствор
быстро ополаскивали дистилли
вали 0,25 % -ным водным рас
ной водой и высушивали мазки
вали: у животных первой гру
4, 5 и 6 сут после кровопотери
зосомальных мембран, на 3 сут
вопотери, и через 1, 2, 3 сут по
Кровопотерю, равную 15
водили под местным обезболив
Стабилизацию мембран л
введением 10 % раствора сали
тор вводили в течение 6 дней, и