

ДИНАМІКА СТАТЕВИХ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ, КОРТИЗОЛУ ТА ТРИЙОДТИРОНИНУ У СОБАК ЗА ЕСТРАЛЬНОГО ЦИКЛУ

В. Кириченко, М. Брошков

Одеський державний аграрний університет

У статті наведено дані результатів дослідження взаємозв'язку в динаміці вмісту естрадіолу, прогестерону, кортизолу та трийодтироніну в сироватці крові за естрального циклу у сук. Для дослідження використовували сироватку крові, у всіх тварин проводили відбір крові з латеральної підшкірної вени передпліччя на 1-, 5-, 10-, 15-, 20-, 25 доби естрального циклу. Аналіз концентрації прогестерону в сироватці крові сук мав закономірні зміни протягом еструсу. Збільшення концентрації кортизолу в сироватці крові протягом перших 10 днів еструсу вказує на те, що зміни які відбуваються в організмі за циклу є стресорними. Отримані дані щодо динаміки естрадіолу протягом еструсу кореспондуються з іншими дослідженнями. А саме вказують, що під час еструсу вміст естрогену падає, а рівень прогестерону починає зростати.

Ключові слова: прогестерон, естрадіол, кортизол, трийодтиронін, еструс, суки.

Постановка проблеми. В сучасному світі розведення собак вимагає змістовного, науково обґрунтованого підходу. Висока племінна цінність, унікальність окремих особин є обов'язковою умовою для ретельного обстеження статевої системи сук не тільки для виключення інфекційних захворювань, але і для виявлення термінів овуляції для використання їх у відтворенні [1]. У ссавців стероїдні гормони, включаючи естрогени, відіграють фундаментальну роль у регуляції функції ендометрія під час естрального циклу та вагітності. Через ліпофільний характер стероїдів ці гормони можуть проникати в клітини шляхом дифузії. Внутрішньоклітинно, щоб ініціювати свою специфічну дію, стероїдні гормони зв'язуються зі своїми рецепторами та індують синтез інформаційної рибонуклеїнової кислоти (мРНК) у ядрі клітини [2]. Таким чином, дії стероїдних гормонів під час естрального циклу та вагітності залежать від присутності їх рецепторів в ендометрії. Рецептор прогестерону присутній у стромі протягом усього естрального циклу. Однак в епітелії він втрачається на 12 день естрального циклу внаслідок тривалої дії прогестерону [3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Статевий цикл у сук фізіологічно проявляється значними змінами, які можна сприймати як патологію. Зустрічаються випадки, коли під час фізіологічної тички у сук не відбувається вагітність (запліднення), що може бути серйозною проблемою. Насправді понад 40% проблем, пов'язаних із плідністю племінних сук, пов'язані з неточністю у визначенні часу запліднення [4]. Тобто сам еструс

розглядається як стрес для організму, а відповідно і спричинює певні метаболічні та гормональні зміни інших систем. Фізіологічний стрес зазвичай характеризується у хребетних концентрацією глюкокортикоїдних (ГК) гормонів (кортизолу та/або кортикостерону), які виробляються корою надниркових залоз уздовж гіпоталамо-гіпофізарно-адреналового зв'язку [5, 6]. Ці гормони відіграють важливу роль у відповіді на стрес у всіх основних класах хребетних [7], сигналізуючи про активізацію або зниження регуляції відповідних фізіологічних систем (імунної, метаболічної тощо) [8, 9].

Нещодавні молекулярні аналізи показали, що локальна активація гормонів щитовидної залози в гіпоталамусі відіграє вирішальну роль у регуляції нейроендокринної осі, яка бере участь у сезонному розмноженні як у птахів, так і у ссавців [10].

Отже дослідження щодо встановлення взаємозв'язку між концентрацією статевих стероїдів та інших гормонів, які регулюють метаболічні процеси в організмі, особливо за естрального циклу, є достатньо актуальними.

Метою досліджень стало визначення взаємозв'язку в динаміці вмісту естрадіолу, прогестерону, кортизолу та трийодтироніну в сироватці крові за естрального циклу у сук.

Матеріали та методи досліджень. Дослід проведено на 4 суках породи золотистий ретривер віком від 3 до 5 років. Для дослідження використовували сироватку крові, у всіх тварин проводили відбір крові з латеральної підшкірної вени передпліччя на 1-, 5-, 10-, 15-, 20-, 25 доби естрального циклу. В сироватці крові визначали вміст естрадіолу, прогестерону та кортизолу методом імуноферментного аналізу на тест системах фірми «Хема» Україна. Одиниці виміру вмісту гормонів у сироватці крові - *нмоль/л*. Фізіологічні межі вмісту прогестерону у сук в анеструсі становлять < 0,5-6,0; в лютеїнову фазу - 10,0-80,0; у фолікулярну фазу – 25,0-60,0. Фізіологічні межі вмісту естрадіолу у сук в анеструсі становлять < 0,073; лютеїнову фазу – 0,073-0,22; фолікулярну фазу становлять > 0,22. Фізіологічні межі вмісту кортизолу у сук становлять 25-250, вмісту трийодтироніну – 0,5-2,8. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично: визначали середньоарифметичну величину (M); її похибку (m). Ймовірність різниць середніх значень встановлювали за критерієм Стьюдента.

Результати власних досліджень. Першим днем спостереження за еструсом вважався початок кров'янистих виділень з піхви у собак. Також при цьому спостерігали набряк зовнішніх статевих губ. Маса тіла дослідних тварин коливалася від 35 до 45 кг.

Аналіз динаміки концентрації прогестерону в сироватці крові протягом еструсу. Аналіз концентрації прогестерону в сироватці крові сук мав закономірні зміни протягом еструсу (Рис. 1.). Так на 1-й день циклу в середньому його концентрація становила $2,13 \pm 0,11$, що є характерним для анеструсу. Протягом наступних п'яти днів відмічалось незначне збільшення вмісту прогестерону – до $3,27 \pm 0,69$.

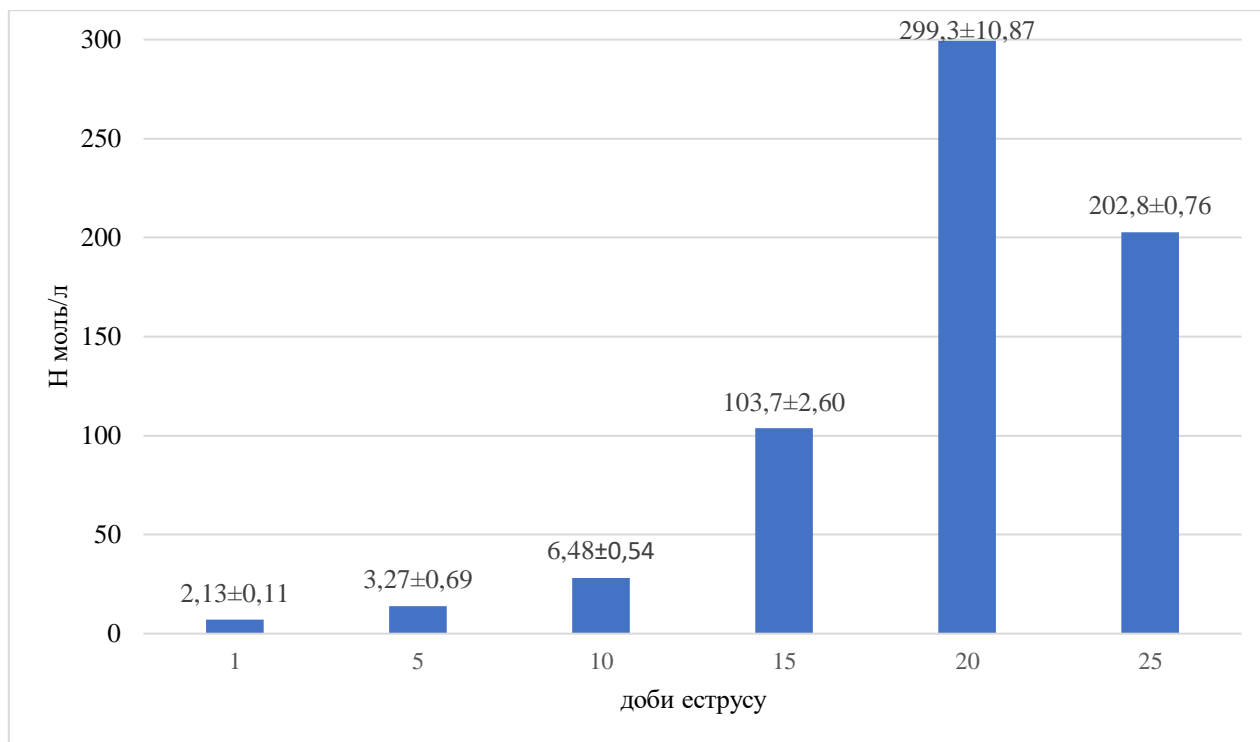


Рис. 1. Динаміка вмісту прогестерону в сироватці крові протягом еструсу.

На 10-ту добу еструсу вміст гормону достовірно збільшився ($P \leq 0.05$) до $6,48 \pm 0,54$, така концентрація характерна для початкової стадії лютеїнової фази еструсу. Визначення концентрації прогестерону в сироватці крові на 15 добу еструсу показало його значне (в 16 разів) достовірне ($P \leq 0.05$) збільшення в порівнянні з 10 добою. Тенденція до збільшення концентрації зберіглася і в наступні п'ять днів спостереження, і вже на 20-ту добу цей показник становив $299,3 \pm 10,87$ ($P \leq 0.05$). Після 20-ї доби еструсу відмічено зниження концентрації в сироватці крові прогестерону і вже на 25-ту зменшення відбулося до $202,8 \pm 0,76$.

Аналіз динаміки концентрації естрадіолу в сироватці крові протягом еструсу. Естрадіол - це нейроактивний гормон, оскільки ліпофільні стероїдні молекули легко проходять через гематоенцефалічний бар'єр, його концентрація в плазмі супроводжується паралельними змінами концентрації в мозку, який впливає на поведінкову реакцію у тварин під час еструсу. Визначення концентрації естрадіолу в сироватці крові суцільно за еструсу показало наступні його зміни (Рис. 2).

Так в першу добу вміст гормону становив $0,587 \pm 0,108$, що характерно для фолікулярної фази статевого циклу. На 5-ту добу відмічена недостовірною тенденцією збільшення концентрації до $0,61 \pm 0,18$, а на 10-ту – зменшення до $0,543 \pm 0,117$. В подальшому за різкого збільшення концентрації прогестерону, вміст естрадіолу продовжував знижуватися і на 15-ту добу знизився до $0,463 \pm 0,074$ на 20-ту – до $0,44 \pm 0,09$ і на 25-ту – до $0,427 \pm 0,058$.

Аналіз динаміки концентрації кортизолу в сироватці крові протягом еструсу. Глюкокортикоїди, також відомі як гормони стресу, є ключовим фізіологічним інструментом в екологічних дослідженнях, що допомагає в

оцінці стану здоров'я організму [11]. Їх первинна роль полягає в основній регуляції енергії (утворення, депонування, мобілізація), і лише на високих рівнях вони організують зміни, пов'язані зі стресом [11].

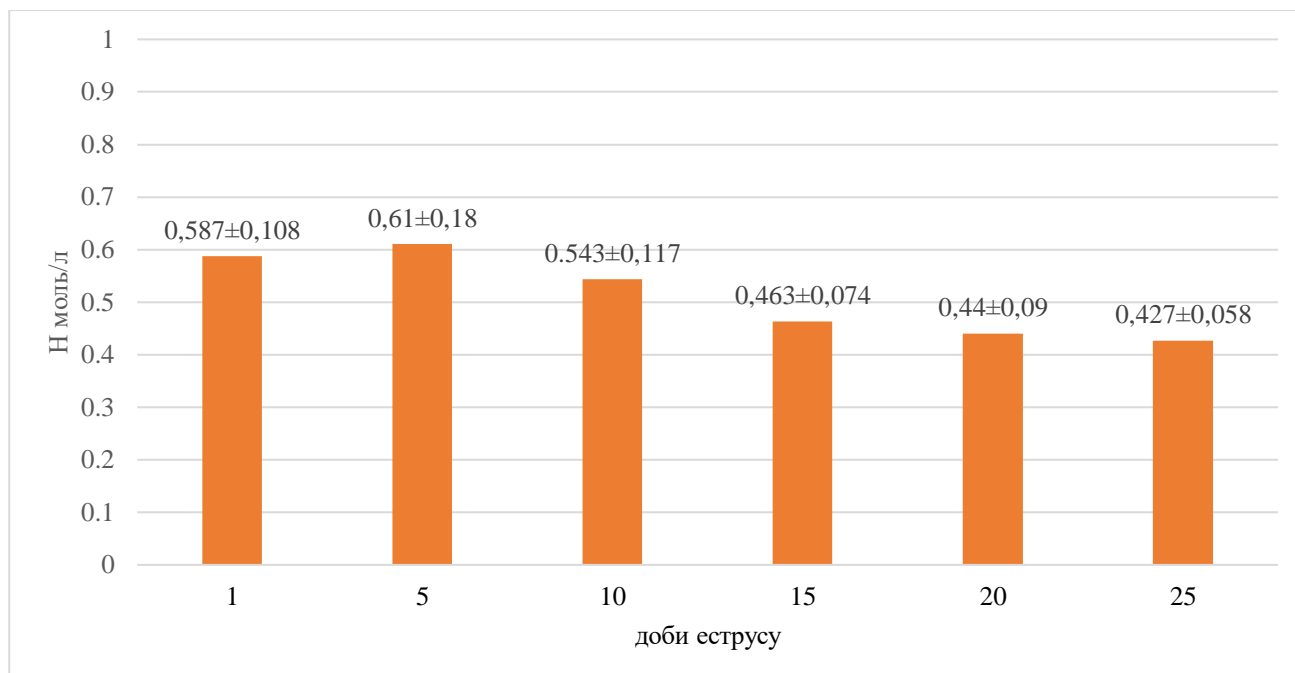


Рис. 2. Динаміка вмісту естрадіолу в сироватці крові протягом еструсу.

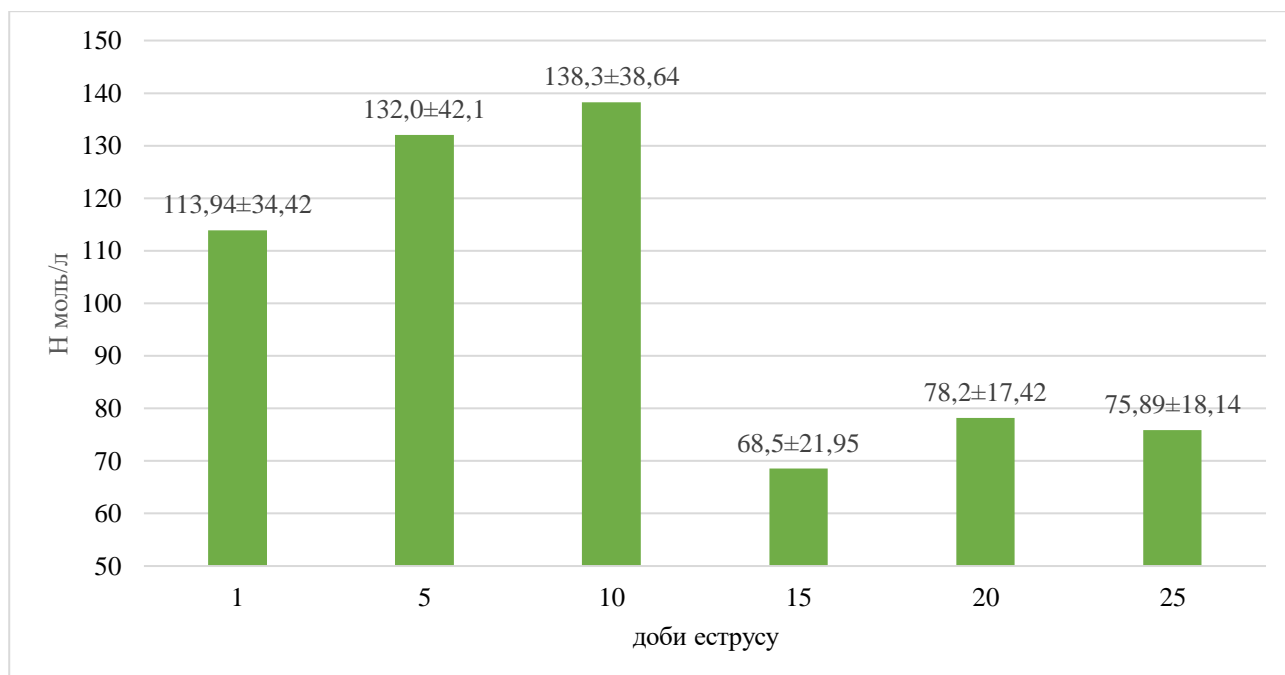


Рис. 3. Динаміка вмісту кортизолу в сироватці крові протягом еструсу.

Аналіз динаміки концентрації кортизолу в сироватці крові протягом еструсу показав, що цей показник був у фізіологічних межах. Так з 1-ї по 10-ту добу встановлено збільшення концентрації з 113,94±34,42 до 138,3±38,64. Починаючи з 15-ї доби спостерігається суттєве зниження концентрації цього

гормону в сироватці крові до $68,5 \pm 21,95$. З 15 до 25-ї доби вміст кортизолу мав тенденцію до збільшення, але в межах 10 МО.

Аналіз динаміки концентрації трийодтироніну (Т3) в сироватці крові протягом еструсу. Гормони щитовидної залози також мають документально підтвержену дію на секрецію гормонів, які беруть участь у відтворенні та підтримці вагітності. Дія тиреоїдних гормонів пояснюється наявністю рецепторів тиреотропного гормону та тироксину в тканині яєчників у людей [12].

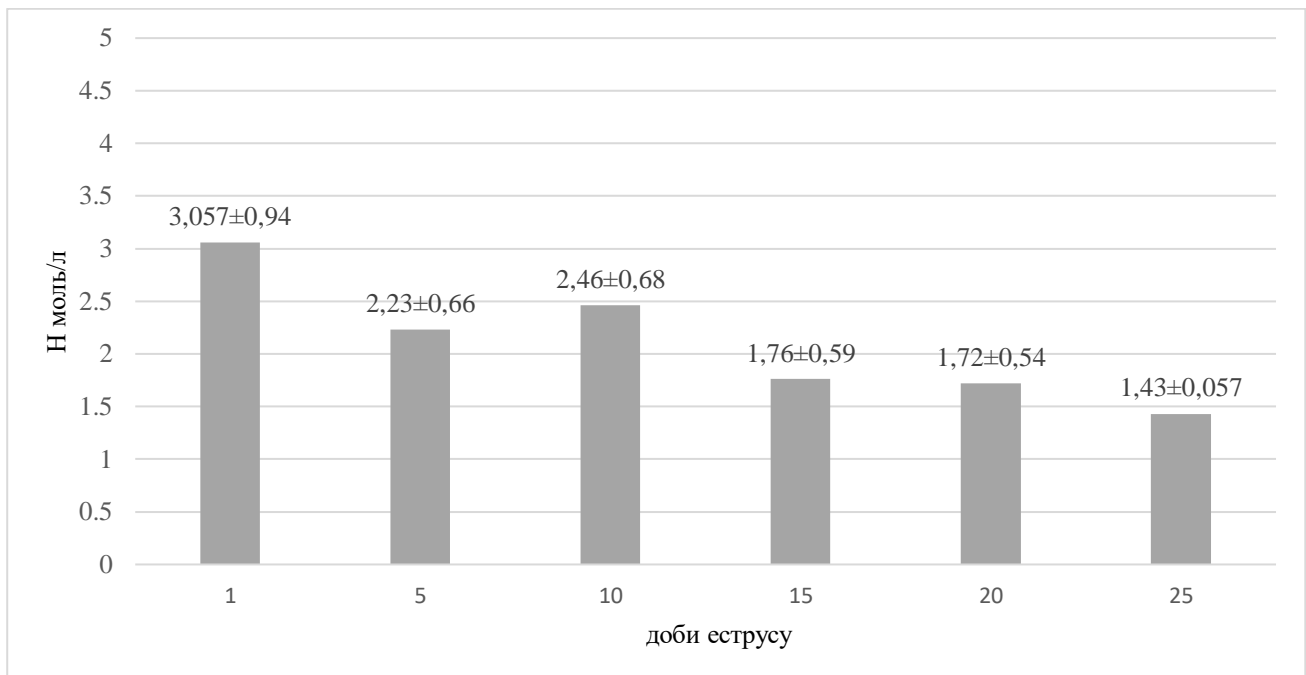


Рис. 4. Динаміка вмісту трийодтироніну в сироватці крові протягом еструсу.

В першу добу еструсу концентрація Т3 в сироватці крові становила $3,057 \pm 0,94$, що є дещо більшим показником за фізіологічні межі. При подальшому визначенні спостерігається поступова тенденція до зниження цього гормону в сироватці крові протягом еструсу. Відмічається незначне збільшення концентрації гормону на 10-ту добу циклу.

Обговорення результатів. Дослідження мало на меті встановити залежність концентрації статевих стероїдних гормонів у сук за еструсу від вмісту кортизолу та трийодтироніну. В науковій літературі достатньо даних щодо динаміки концентрації прогестерону та естрадіолу протягом еструсу та вагітності у сук [13, 14, 15, 16], але публікацій щодо залежності їх вмісту від інших гормонів – обмаль. Досягнення високих показників народжуваності та гарних розмірів посліду вимагає визначення оптимального часу для осіменіння з огляду на наявність життєздатних ооцитів, особливо у випадку використання замороженої та розмороженої сперми. Крім того, розуміння динаміки вмісту гормонів дозволить встановити критичні періоди за яких можливий розвиток запальних процесів після еструсу.

Сука унікальна тим, що концентрація прогестерону починає зростати безпосередньо перед або на початку сплеску ЛГ, що пов'язано з лютеїнізацією фолікулів перед овуляцією та включає метаплазію гранульозних клітин у великі та малі лютеїнові клітини [17]. В авторських дослідженнях встановлено, що викид ЛГ відбувся з 10 до 15-ї доби, про що свідчить значне збільшення вмісту прогестерону в сироватці крові. Саме в цей період еструсу зазвичай суки допускають кобелів до спарювання. Навіть за відсутності статевого акту, що рефлекторно активує процес овуляції, відмічається достовірне збільшення концентрації прогестерону.

Отримані дані щодо динаміки естрадіолу протягом еструсу кореспондуються з іншими дослідженнями. А саме вказують, що під час еструсу вміст естрогену падає, а рівень прогестерону починає зростати. Пік естрогену досягає максимуму орієнтовно за 2-3 дні до еструсу, після чого відбувається швидке зниження безпосередньо перед сплеском лютеїнізуючого гормону [17, 18, 19].

Збільшення концентрації кортизолу в сироватці крові протягом перших 10 днів еструсу вказує на те, що зміни які відбуваються в організмі за циклу є стресорними. Але з точки зору тривалості підвищення концентрації кортизолу в динаміці, допускається та підтримується думка, що цей стрес є фізіологічним і має адаптивні функції. Щодо відсутності негативного впливу короточасного стресу на організм собак показано в працях інших дослідників [20].

Авторські дані не визначають чіткої залежності між концентрацією статевих стероїдів (особливо прогестерону) та вмістом в сироватці крові ТЗ через те, що протягом дослідного періоду його концентрація динамічно знижувалася. За даними [21] базальні та стимульовані концентрації ТЗ були найвищими лише під час діеструсу. Можливо, оскільки функціональна активність цього гормону пов'язана з метаболічною регуляцією в організмі, його активність необхідна під час фолікулогенезу або вже безпосередньо за вагітності.

Висновки.

1. Встановлено, що з 10 до 15 доби еструсу в організмі сук концентрація прогестерону в сироватці крові збільшується в 16 разів при цьому концентрація іншого статевого стероїда-естрадіолу має тенденцію до зменшення протягом статевого циклу.

2. Показано, що протягом перших 10 тижнів концентрація кортизолу в сироватці крові сук за еструсу збільшується. Таке збільшення вказує на те, що фізіологічне явище «еструс» є стресорним для організму і за його тривалості може спричинювати патологічний перебіг.

Список використаних джерел

1. Freshman Joni L. (2001). Clinical Management of the Subfertile Stud Dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31 (2). 259-269. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(01\)50204-1](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(01)50204-1).
2. Cho, S. J., Ning, M., Zhang, Y., Rubin, L. H., & Jeong, H. (2016). 17 β -Estradiol up-regulates UDP-glucuronosyltransferase 1A9 expression via estrogen receptor α .

- Acta pharmaceutica Sinica. B, 6(5), 504–509.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.04.005>
3. Collier, A. C., Ganley, N. A., Tingle, M. D., Blumenstein, M., Marvin, K. W., Paxton, J. W., Mitchell, M. D., & Keelan, J. A. (2002). UDP-glucuronosyltransferase activity, expression and cellular localization in human placenta at term. *Biochemical pharmacology*, 63(3), 409–419. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(01\)00890-5](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(01)00890-5)
 4. Zoldag, L., Kecskemethyl, S., & Nagy, P. (1993). Heat progesterone profiles of bitches with ovulation failure. *Journal of Reproduction and Fertility*, 47, 562–563.
 5. Wingfield, J.C., & Romero, L.M. (2011). Adrenocortical Responses to Stress and Their Modulation in Free-Living Vertebrates. *Comprehensive Physiology*, 211-234.
 6. Cohen, A. A., Martin, L. B., Wingfield, J. C., McWilliams, S. R., & Dunne, J. A. (2012). Physiological regulatory networks: ecological roles and evolutionary constraints. *Trends in ecology & evolution*, 27(8), 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.04.008>
 7. Hau, M., Ricklefs, R. E., Wikelski, M., Lee, K. A., & Brawn, J. D. (2010). Corticosterone, testosterone and life-history strategies of birds. *Proceedings. Biological sciences*, 277(1697), 3203–3212. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0673>
 8. Romero L. M. (2004). Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in ecology & evolution*, 19(5), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.008>
 9. Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine reviews*, 21(1), 55–89. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>
 10. Nakao, N., Ono, H., & Yoshimura, T. (2008). Thyroid hormones and seasonal reproductive neuroendocrine interactions. *Reproduction (Cambridge, England)*, 136(1), 1–8. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0041>
 11. Lovick, T. A., & Zangrossi, H., Jr (2021). Effect of Estrous Cycle on Behavior of Females in Rodent Tests of Anxiety. *Frontiers in psychiatry*, 12, 711065. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.711065>
 12. Thuróczy, J., Müller, L., Kollár, E., & Balogh, L. (2016). Thyroxin and progesterone concentrations in pregnant, nonpregnant bitches, and bitches during abortion. *Theriogenology*, 85(6), 1186–1191. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.035>
 13. Marinelli, L., Rota, A., Carnier, P., Da Dalt, L., & Gabai, G. (2009). Factors affecting progesterone production in corpora lutea from pregnant and diestrous bitches. *Animal reproduction science*, 114(1-3), 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.10.001>
 14. Groppetti, D., Aralla, M., Bronzo, V., Bosi, G., Pecile, A., & Arrighi, S. (2015). Perioovulatory time in the bitch: what's new to know?: Comparison between ovarian histology and clinical features. *Animal reproduction science*, 152, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.11.008>
 15. Steckler, D., Nöthling, J. O., & Harper, C. (2013). Prediction of the optimal time for insemination using frozen-thawed semen in a multi-sire insemination trial in

- bitches. *Animal reproduction science*, 142(3-4), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.09.013>
16. Thomassen, R., Sanson, G., Krogenaes, A., Fougner, J. A., Berg, K. A., & Farstad, W. (2006). Artificial insemination with frozen semen in dogs: a retrospective study of 10 years using a non-surgical approach. *Theriogenology*, 66(6-7), 1645–1650. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.022>
17. de Gier, J., Kooistra, H. S., Djajadiningrat-Laanen, S. C., Dieleman, S. J., & Okkens, A. C. (2006). Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17beta, progesterone, prolactin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology*, 65(7), 1346–1359. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.010>
18. Concannon PW, Hansel W, McEntee K. (1977). Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Biol. Reprod.* 17: 604-613.
19. Bordjugov KS, Bordjugova SS, Kot VS. (2013). Rizni metody vyznachennja ovuljacji' u sobak [Different methods for determining ovulation in dogs]. *Visnyk Poltavs'koi' Derzhavnoi' Agrarnoi' Akademii'* 1: 116-119 (in Ukrainian).
20. Haase, C. G., Long, A. K., & Gillooly, J. F. (2016). Energetics of stress: linking plasma cortisol levels to metabolic rate in mammals. *Biology letters*, 12(1), 20150867. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2015.0867>
21. Reimers, T & Mummery, L & Mccann, Joseph & Cowan, R & Concannon, Patrick. (1984). Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine and cortisol in serum of dogs. *Biology of reproduction*, 31. 148-54.

DYNAMICS OF SEX STEROID HORMONES, CORTISOL AND TRIIODOTHYRONINE IN DOGS DURING THE ESTROUS CYCLE

V. Kyrychenko, M. Broshkov

The article presents the resulting data of study the relationship of estradiol, progesterone, cortisol and triiodothyronine in blood serum in the dynamics of their content during the estrous cycle in female dogs. Blood serum was used for the study, blood was collected from the lateral subcutaneous vein of the forearm on 1, 5, 10, 15, 20, 25 days of the estrous cycle. The analysis of the concentration of progesterone in the blood serum of bitches had regular changes during estrus. An increase in the concentration of cortisol in the blood serum during the first 10 days of estrus indicates that the changes occurring in the body during the cycle are stressful. The obtained data on the dynamics of estradiol during estrus correspond to other studies. Specifically, they indicate that during estrus, the estrogen content drops, and the progesterone level begins to rise.

Key words: progesterone, estradiol, cortisol, triiodothyronine, estrus, female dogs.