

ЛЬВІВСЬКА АКАДЕМІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
ім. С.З. ГЖИЦЬКОГО

На правах рукопису

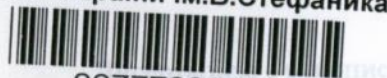
ДРОНИК
Григорій Васильович

**ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЧНОЇ
АКТИВНОСТІ
МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У ЖУЙНИХ**

03.00.13 - фізіологія людини і тварин

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

ЛЬВІВ - 1994



00777329 (Z)

Робота виконана в лабораторії білка і амінокислот Інституту фізіології і біохімії тварин УААН та в лабораторії фізіології лактації Інституту фізіології і генетики (м. Прага - Чехія) про тягом 1982-1994 років.

Науковий консультант - академік УААН, заслужений діяч науки і техніки України, доктор біологічних наук, професор

Лагодюк Петро Захарович

Офіційні опоненти: академік УААН, доктор біологічних наук, професор
Палфій Федір Юрійович.

доктор медичних наук, професор
Шостаковська Ірина Василівна

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник
Третевич Володимир Іванович.

Провідна організація - Чернівецький державний університет ім. Ю. Федьковича, кафедра зоології та фізіології людини і тварин.

Захист відбудеться "23.12" 1994 р. о "13⁰⁰" годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 04. 08.02 при Львівській академії ветеринарної медицини ім С.З.Гжицького (290010, м. Львів, вул Пекарська, 50).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці академії.

Автореферат розісланий "21" "11" 1994 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доцент

П.І.Головач.

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми: Дослідження фізіолого-біохімічних механізмів, що лежать в основі функції молочної залози, відносяться до актуальних проблем біологічної науки. Одним з важливих аспектів цієї проблеми є дослідження гормональних механізмів регуляції лактації у жуйних, оскільки з дією гормонів пов'язані ріст і розвиток молочної залози, ініціація секреторних процесів і підтримання лактації (Базанова, Дюсембин, 1973; Третевич, 1973; Лагодюк, 1975; Лагодюк і др., 1975; 1988; Медведєв, 1978; 1986; Кусень, 1980; Tucker, 1981; Delouis et al., 1982; Kindwell et al., 1982; Skarda et al., 1982; 1984; 1985; Forster et al., 1982; Vyatt, 1983; Collier et al., 1984; Vonderhaar et al., 1986; Gilbert, 1987; Сапунов, Медведєв, 1985; Палфій, 1986; Федорук, Третевич, 1986; Чаркин і др., 1986; Протасов, 1987; Клос, 1991., Chalupa et al., 1993; Vauman et al., 1994) а механізми дії окремих гормонів і, особливо, їх інтегральний вплив на вказані процеси з'ясовані недостатньо. Однією із актуальних проблем, яка потребує подальшого вивчення, є дослідження ролі окремих гормонів у регуляції процесів проліферації та диференціації в молочної залозі жуйних, тому що згадані процеси лежать в основі мамо- і лактогенезу (Skarda et al., 1984, 1990.), а фізіолого-біохімічні і цитоморфологічні аспекти цих процесів досліджені недостатньо.

Результати вивчення зазначених питань служать теоретичною основою вдосконалення розробленого Смітом і Шенбахером (Smith, Sehanbacher, 1973) методу гормональної індукції лактації у статевозрілих телиць і нелактуючих корів, застосування якого разом з методом культури тканин дає можливість створити високоєфективну модель дослідження метаболізму в молочної залозі і механізмів його регуляції.

В основі методу лежить введення тваринам в оптимальному співвідношенні прогестерону, 17 β -естрадіолу дипропіонату і резерпіну. Однак запропонована вказаними авторами схема потребує вдосконалення: необхідно визначити оптимальні дози і термін введення тваринам зазначених гормонів. У зв'язку з цим інтерес становлять порівняльні дослідження особливостей біосинтезу і секретії окремих компонентів молозива і молока в молочної залозі корів з природною та індукованою гормонами лактацією.

Пріоритетним питанням лактації, яке потребує всебічного вивчення, є дослідження впливу рекомбінантного гормону росту на обмін речовин і функцію молочної залози у корів при тривалому його введенні з метою інтенсифікації процесів молокоутворення (Bauman et al., 1983, 1988; Burton, 1987; Chaluga et al., 1987, 1988; Peel, Botes, 1990; Бублик, 1980; Соловьева 1990.). Тому важливе значення мають дослідження впливу цього гормону на обмінні процеси у молочної залозі корів.

Науковий інтерес становить вивчення впливу ліберинів гіпоталамусу на фізіолого-біохімічні процеси в молочної залозі корів, що зумовлено їх стимулюючою дією на функцію аденогіпофізу, який відіграє головну роль в системі гормональної регуляції лактації (Angyal, Strban, 1986; Gerscengon, 1987; Протасов, 1987). Важливість цього питання зумовлена тим, що тироліберин впливає на інтенсивність синтезу і секрецію в гіпофізі тиреотропного гормону, пролактину і соматотропіну.

В цілому проблема гормональної регуляції процесів проліферації і диференціації залозистих клітин, метаболізму, біосинтезу і секреції компонентів молока у молочної залозі жуйних потребує дальшого вивчення шляхом інтегрального застосування методів фізіологічних, біохімічних і цитологічних досліджень.

Мета і завдання досліджень. Виходячи з вищевказаного, метою нашої роботи було вивчення фізіолого-біохімічними методами досліджень впливу ряду гормонів і їх комбінацій на структурно-функціональні зміни в залозистій тканині молочної залози, біохімічні показники крові і молока жуйних на різних стадіях лактогенезу і лактопоезу, а також дії гормонів і гормональних препаратів на інтенсивність синтезу компонентів молока та їх секрецію.

Завданнями роботи було дослідити:

- особливості процесів проліферації і диференціації залозистих клітин молочної залози у оваріоектомованих кіз при індукованому гормонами лактогенезі;
- взаємозв'язок між формуванням міжклітинних контактів і метаболічною активністю залозистих клітин молочної залози корів і телиць під час індукованого гормонами і природного лактогенезу та лактопоезу;

- фізіолого-біохімічні і цитоморфологічні процеси в тканинах молочної залози телиць і корів при гормональній індукції лактації;

- вплив синтетичного тироліберину (рифатироїну) на біосинтез і секрецію білкових і ліпідних компонентів молока, біохімічний склад тканини молочної залози, гісто- і субмікроскопічну структуру залозистого епітелію молочної і щитовидної залоз;

- вплив деяких йодовмісних сполук на активність щитовидної залози, інтенсивність синтезу і секретії компонентів молока у корів;

- вплив нативного і рекомбінантного соматотропіну на ряд біохімічних показників у корів і склад молока у кіз;

- вплив рекомбінантного соматотропіну на процеси мамогенезу у телиць і їх подальшу молочну продуктивність;

- вплив рекомбінантного гормону росту на ультраструктуру молочної залози і процеси молокоутворення у корів при різних рівнях енергетичного і протеїнового живлення.

Наукова новизна роботи. Встановлено, що процеси проліферації молочної залози жуйних *in vitro* стимулюються гормонами прогестероном, естрадіолом, інсуліном та пролактином, а диференціація епітеліальних клітин ініціюється шляхом інтегрального впливу гормонів підшлункової (інсулін) та наднирникових залоз (кортизол), гіпофізу (пролактин). Дія цих гормонів краще проявляється після попередньої обробки тварин прогестероном та 17β -естрадіолом дипропіонатом.

Вперше одержано цитоморфологічні дані, що свідчать про особливості формування ультраструктури епітелію молочної залози оваріоектомованих кіз під впливом гормонів.

Вдосконалено схему гормональної індукції лактації у корів і телиць шляхом введення їм оптимальних доз і в оптимальні строки прогестерону, 17β -естрадіолу дипропіонату і резерпіну.

Встановлено взаємозв'язок між біохімічними і цитологічними змінами в залозистому епітелії молочної залози корів при індукованому гормонами лактогенезі і лактопоезі, в основі якого лежить стимуляція процесів проліферації і диференціації залозистих клітин, що проявляється в розвитку внутрішньоклітинних структур, посиленні синтетичних і секреторних процесів.

Вперше показаний стимулюючий вплив тироліберину (рифатироїну) і нових синтетичних органічних йодвмісних сполук на активність щитовидної залози, біосинтез компонентів молока у корів. Під впливом нейрогормону в епітеліальних клітинах молочної залози підвищується функціональна активність ядерних і цитоплазматичних структур; посилюється синтез ліпідних компонентів молока.

Вперше проведено дослідження впливу рекомбінантного соматотропіну на морфофункціональний розвиток молочної залози у корів і телиць та їх молочну продуктивність. Показано стимулюючу дію соматотропіну на мобілізацію триацилгліцеролів з жирової тканини і амінокислот з м²язевих білків корів при недостатньому вмісті поживних речовин в їх раціоні. Обґрунтовано необхідність забезпечення оптимального рівня протеїну і енергії в раціоні корів при тривалому введенні їм рекомбінантного соматотропіну пролонгованої дії з метою інтенсифікації процесів молокоутворення.

Науково-практична цінність роботи.

1. Обґрунтовано використання методу гормональної індукції лактації у корів і телиць з метою вивчення фізіолого-біохімічних і цитоморфологічних аспектів лактогенезу і лактопоезу.

2. Рекомендується застосовувати метод гормональної індукції лактації високопродуктивних ялових корів з метою відновлення у них відтворювальної функції.

3. Пропонується довготривале застосування рекомбінантного соматотропіну з метою підвищення молочної продуктивності у корів.

4. Обґрунтовано використання йодованого фенілаланіну як джерела йоду в раціонах корів для підвищення їх молочної продуктивності і жирномолочності.

5. Застосовані нові та вдосконалені загальноприйняті електронно-мікроскопічні, електронно-гістохімічні та гістоавторадіографічні методи дослідження тканини молочної залози дають можливість підвищити ефективність вивчення її функцій на клітинному і субклітинному рівнях, що дозволяє широко використовувати ці методи в біологічних дослідженнях.

Положення, які виносяться на захист.

1. В основі мамо-лактогенезу і лактопоезу жуйних лежать процеси проліферації і диференціації залозистого епітелію молочної залози, які перебувають під інтегральним контролем нейроендокринної системи і характеризуються високою інтенсивністю синтетичних та енергетичних процесів.

Процеси проліферації і диференціації епітеліальних клітин молочної залози оваріоектомованих кіз в умовах *in vitro* індукуються естрадіолом, прогестероном, пролактином, кортизолом та інсуліном, що свідчить про участь цих гормонів у морфо-функціональному розвитку молочної залози.

2. Екзогенний прогестерон, 17 β -естрадіол дипропіонат і резерпін стимулюють морфофункціональний розвиток молочної залози. Процеси проліферації і диференціації залозистого епітелію, інтенсивність синтетичних і секреторних процесів в епітеліальних клітинах молочної залози щелець і корів при дії зазначених гормонів знаходяться майже на такому ж рівні, як у тварин з природною лактацією.

Гормональна індукція лактації у нелактуючих корів з порушеною функцією відтворення відновлює не лише лактаційну функцію, а й відтворювальну.

3. Синтетичний тироліберин стимулює функцію щитовидної залози і процеси молокоутворення в молочній залозі корів.

4. Йодований фенілаланін підвищує функцію щитовидної залози і синтетичні процеси в молочній залозі корів більшою мірою, ніж йодид калію.

5. Введення телицям, коровам і козам рекомбінантного соматотропіну стимулює різні ланки обміну речовин в їх організмі і підвищує інтенсивність синтезу та секреції компонентів молока. Вплив цього гормону на процеси молокоутворення залежить від вмісту поживних речовин в раціоні тварин.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідались: на IV, V, VI Українських біохімічних з'їздах (Дніпропетровськ, 1982; Івано-Франківськ, 1987; Київ, 1992), V Всесоюзному з'їзді фізіологічного товариства ім. Павлова (Баку, 1983), XIX, XX і XXI з'їздах Українського фізіологічного товариства ім. Павлова (Дніпропетровськ, 1982; Львів, 1986; Київ, 1992), Всесоюзній конференції молодих вчених по с.-г. радіології (Обнінськ, 1983), Всесоюзній конференції по структурі ядра і цитоплазми (Пушіно, 1984), VI і VII конференціях молодих вчених-біологів (Рига, 1984, 1987), XIV конференції по фізіології с.-г. тварин

структурі ядра і цитоплазми (Пушіно, 1984), VI і VII конференціях молодих вчених-біологів (Рига, 1984, 1987), XIV конференції по фізіології с.-г. тварин (ЧССР, Лібліце, 1988), Республіканській конференції "Біотехнологічні дослідження і перспективи їх розвитку" (Львів, 1990), VI, VII, VIII Всесоюзних симпозиумах по фізіології і біохімії лактації (Львів, 1982; Алма-Ата, 1986, Баку, 1990), Всесоюзному симпозиумі "Біохімія с.-г. тварин і Продовольча програма" (Київ, 1989), IV міжнародному симпозиумі по фізіології жуйних тварин (ЧССР, Кошціа, 1987), та II міжнародному симпозиумі по ендокринології с.-г. тварин (ЧССР, Смоляніца, 1982), на засіданні Львівського відділення Українського біохімічного товариства (Львів, 1994). Основний зміст дисертації викладено в 42 наукових працях.

Структура і об'єм роботи. Дисертація (306 ст.) складається з вступу, огляду літератури, власних досліджень, обговорення результатів досліджень, висновків, практичних пропозицій, списку літератури, ілюстрована 38 табл. і 49 рисунками.

Декларація конкретного внеску. Всі матеріали по дослідях, їх обґрунтування та висновки виконані дисертантом особисто.

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводились на телицях і коровах чорно-рябій, голштинізованої симентальської породи та на козах білої чеської породи.

В першій серії дослідів вивчали вплив різних гормонів на проліферацію і диференціацію клітин у молочній залозі оваріоектомованих кіз. Дослідним тваринам протягом 5-ти днів вводили олійний розчин 17β - естрадіолу дипропіонату (0.1 мг/кг) і прогестерону (0.25 мг/кг). Контрольним тваринам при цьому вводили оливкову олію. Експлантати молочної залози тварин, взяті після їх забою, інкубували в середовищі Ваймуута в чашках Петрі на металевих сітках при температурі 30°C в атмосфері $\text{O}_2 + \text{CO}_2$ (95:5). Перед використанням до середовища додавали 5,44 мг/мл ацетату натрію, 3,5 мг/мл глютаміну і 2 мг/мл глюкози. Для підтримання відповідного рН середовища додавали 45 мкл/мл Na_2CO_3 або ГЕПЕСу в кількості 20 ммоль/л. Стерильність культурального середовища забезпечували шляхом додавання до нього 0.1 мг/мл калієвої солі пеніциліну, 0.5 мг/мл стрептоміцину сульфату і 0.02 мг/мл мікостатину. До культурального середовища додавали інсулін, пролактин, 17β естрадіол дипропіонат, прогестерон та гідрокортизон. Після культивування експлантати використовували для гістологічних і електронно-мікроскопічних досліджень.

В другій серії дослідів вивчали структурно-функціональні і біохімічні зміни в тканині молочної залози телиць і корів при індукованому гормонами лактогенезі та лактопоезі.

Перший дослід проводили на 12-ти статевозрілих телицях віком 18-22 місяці. Тварини були поділені на 3 групи, по 4 тварини в кожній. До першої групи входили інтактні телиці, до другої і третьої - тварини з викликаною гормонами лактацією.

Метою другого досліду було вивчення впливу статевих гормонів на біохімічні і цитоморфологічні зміни молочної залози корів. Дослідження проводили на 16-ти коровах-первістках живою масою 480-540 кг, розділених на 4 групи. До першої групи (контроль 1) ввійшли нелактуючі корови, до другої (контроль 2) - лактуючі корови з природною лактацією (5-тий день лактації), до третьої і четвертої груп - корови з індукованою лактацією на 5-й (лактогенез) і 60-й (лактопоез) дні лактації.

У піддослідних телиць і корів лактацію викликали шляхом підшкірного введення їм прогестерону (відповідно 95 і 150 мг) і 17β естрадіолу дипропіонату (відповідно 25 і 30 мг) у вигляді спиртового розчину, двічі на день протягом 7-ми днів. На 10-, 12-, 14-, 17-, 19- і 21-й дні тваринам підшкірно вводили по 2,5 мг водного розчину резерпіну. Доїти тварин починали на 18-21-й дні від початку введення гормонів.

В третьому досліді, проведеному на 8-ми лактуючих коровах (4 контрольні і 4 дослідні), вивчали динаміку концентрації екзогенного естрадіолу в плазмі крові і молоці після підшкірного введення їм дигітолу, який містить естрадіол (50%).

Третю серію дослідів ставили з метою вивчення впливу тироліберину на функціональну активність щитовидної залози і процеси молокоутворення в молочної залозі лактуючих корів. Для цього було проведено два досліді на коровах, які були відповідно на четвертому і шостому місяцях лактації. Для кожного досліду підібрали по шість корів (3 контрольні і 3 дослідні), аналоги за молочною продуктивністю і періодом лактації. Дослідним коровам тироліберин вводили внутрішньозачеревною дозою 5 мг, двічі на добу протягом 15-ти днів.

В четвертій серії дослідів ставилося завдання порівняти вплив введених до раціону корів йодованого фенілатаніну і йодиду калію як джерела йоду на функціональний стан щитовидної і молочної залоз. Проведено два досліді з

середнім та високим рівнем молочної продуктивності корів у першу половину лактації. В першому досліді були використані дві групи корів по 4 голови в кожній, з добовим надоем 15 кг молока, а в другому - дві групи корів по 4 голови, з добовим надоем понад 25 кг молока. Коровам контрольних груп протягом 30-ти днів згодовували йодид калію у вигляді добавок до комбікорму в кількості 15 мг на добу (в розрахунку на йод), а коровам дослідних груп - йодований фенілаланін.

В п'ятій серії дослідів вивчався вплив паратиреоїдину на процеси молокоутворення в молочній залозі жуйних.

В першому досліді на 4-х групах лактуючих корів, однакових за віком і рівнем молочної продуктивності, по 4 голови в кожній, вивчали вплив паратгормону на деякі біохімічні показники крові і склад молока. Перша група служила контролем. Тваринам дослідних груп протягом семи днів вводили паратиреоїдин дозою 120 МО при згодовуванні кормів згідно раціону з нормованим (2-а група) і підвищеним (3-я група) рівнем кальцію, а також раціону з підвищеним рівнем кальцію і вітаміну D₃ (4 група).

В другому досліді, проведеному на козах із середнім і високим рівнем молочної продуктивності, досліджували вплив екзогенного паратгормону на деякі біохімічні показники крові і склад молока при згодовуванні їм кормів згідно раціону з високим вмістом кальцію і вітаміну D₃.

Шоста серія дослідів проведена з метою вивчення впливу нативного і рекомбінантного соматотропіну на процеси молокоутворення у кіз, телиць і корів. Було проведено три досліді. У першому порівнювався вплив гіпофізарного і рекомбінантного соматотропіну на біохімічні показники крові кіз і їх молочну продуктивність. Дослід проведено на двох групах кіз, по 3 голови в кожній. Гіпофізарний і рекомбінантний СТГ (фірма Еланко, США) вводили тваринам підшкірно, двічі на добу, протягом 15-ти днів, в дозі 10 мг на добу.

У другому досліді вивчали вплив рекомбінантного гормону росту на ріст і розвиток молочної залози телиць і їх молочну продуктивність при індукованій гормонами лактації. Дослід проведено на 9-ти парах голштинізованих телиць-однойцевих блисковок, які були розділені на 3 групи. Телицям 1-, 2-, і 3-ї групи підшкірно двічі на добу вводили рекомбінантний соматотропін добової дії (фірма Еланко, США) в кількості 20 мг на голову, відповідно протягом 56, 72 і 90 днів. 3

57-го дня досліду всім тваринам вводили прогестерон, 17 β -естрадіол дипропіонат і резерпін згідно з наведеною вище схемою індукції лактації. На 76-й день розпочали доїння тварин, яке тривало 4 місяці.

Третій дослід був спрямований на вивчення впливу рекомбінантного соматотропіну пролонгованої (14 днів) дії на процеси молокоутворення у корів при нормованому і пониженому рівнях поживних речовин у раціоні. Дослід проведений на 24 коровах-аналогах по тривалості лактації і молочної продуктивності. Було сформовано 6 груп корів по 4 голови в кожній. Тварини перших двох груп (контрольної і дослідної) отримували збалансований раціон. Коровам дослідної групи, починаючи з кінця першого місяця лактації, кожні 14 днів протягом трьох місяців вводили підшкірно 500 мг соматотропіну пролонгованої дії (фірма Монсанто, США). Корови третьої і четвертої груп отримували раціон із зниженим на 30% вмістом протеїну, а корови п'ятої і шостої груп - раціон із зниженим на 30% вмістом енергії. Матеріалом для досліджень служили сироватка і плазма венозної крові, молозиво, молоко, залозиста тканина молочної залози. Останню брали після забою тварин або методом біопсії (Швабе, Соловьева, 1960).

Нижче наводяться біохімічні і цитологічні методи, які використовувались в дослідженнях.

Концентрацію загального білка в сироватці крові визначали рефрактометричним методом (Кондрахин и др., 1985).

Білкові фракції розділяли шляхом електрофорезу в гелі агар-агару (Илков, Николаев, 1959; Грабар, Буртен, 1963).

Вміст азоту вільних амінокислот у плазмі крові визначали за допомогою кольорової реакції з нінгідриновим реактивом (Muting, Keiser, 1963).

Вміст йоду, зв'язаного з білками крові, визначали нітритно-роданідовим методом (Еремін и др., 1975), активність амінотрансфераз - методом Капетенакі (1962).

Концентрацію іммуноглобулінів у молоці досліджували методом радіальної імунодифузії (Mancini et al., 1965).

Екстракцію ліпідів плазми крові проводили із застосуванням хлороформ-метанолу в співвідношенні 2:1 (Folch et al., 1957).

Загальну кількість ліпідів у плазмі крові визначали методом Банга (Петрунькіна, 1961), концентрацію неестерифікованих жирних кислот - методом Прохорова і співавторів (1977). Нейтральні ліпіди розділяли на класи шляхом тонкошарової хроматографії на силікагелі (Кейніс, 1975).

Концентрацію естрадіолу в плазмі крові і молоці визначали радіоімунологічним методом за допомогою стандартних наборів "Стерон -Е2".

Сухий залишок молозива і молока визначали шляхом їх висушування в алюмінієвих бюксах при температурі 102-105⁰ С з паралельним триразовим зважуванням.

Вміст молочного жиру визначали за допомогою методу Гербера з використанням жиромірів, а концентрацію лактози - рефрактометрично.

Кількість соматичних клітин у молоці досліджували шляхом прямої мікроскопії (Duitschaeffer, Asthon, 1968).

Для електронномікроскопічних досліджень проби тканин фіксували в 1%-ному розчині осмію і заливали сумішшю епонових смол (Palade, 1952).

Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікротомі УМТП-2М, контрастували їх в ураніацетаті і цитраті свинцю (Reunolds, 1963), переглядали і фотографували на електронному мікроскопі ЕММА-2.

Проводили електронногістохімічні дослідження активності лужної фосфатази (Hayahara et al, 1967) і сукцинатдегідрогенази (Kerpel-Fronig, Hajosch, 1968).

Для гістохімічних досліджень вмісту нуклеїнових кислот, амінокислот, сульфгідрильних груп, глікогену, загальних ліпідів проби тканин фіксували протягом двох годин у рідині Карнуа (Пирс, 1962; Кононский, 1976) і після обезводнення в спиртах і хлороформі заливали парафіном. Зрізи товщиною 6-10 мкм отримували на санному мікротомі МС-2.

Нуклеїнові кислоти виявляли за допомогою реакції Ейнарсона із застосуванням галоціаніну і хромових галунів, а внутрішньоклітинну локалізацію ДНК - за допомогою реакції Фольгена з використанням реактиву ШИФ і фуксину основного, РНК - методом Браше, в основі якого лежить забарвлення зрізів метиловим зеленим-піроніном (Gomori, 1958; Пирс, 1964). Для визначення вмісту білків використовували реакцію Яшума та Ітчикава, сульфгідрильних груп -

метод Барнета і Зелігмана, глікогену - реакцію шиф-йодної кислоти (Пирс, 1962; Кононский, 1976).

Активність лужної фосфатази визначали методом Гоморі (Пирс, 1962).

Оглядові гістохімічні препарати забарвлювали гематоксином і созином, переглядали під світловим мікроскопом "Біолам-7" і фотографували за допомогою приладу МФН-2.

В тканині молочної залози визначали вміст загального білка (Louri et al., 1961), в ядрах клітин - вміст окремих фракцій РНК (рН 7,0; 8,0) (Георгієв, 1970; Kan et al., 1972).

При авторадіографічному дослідженні інтенсивності синтезу нуклеїнових кислот гомогенати тканини молочної залози інкубували в фосфатному буфері (Кребс-Рінгера (рН 7,4)) з міченими попередниками. Для визначення питомої радіоактивності використовували рідинний сцинтиляційний лічильник СБС-2.

Для гістоавторадіографічних досліджень експлантати залозистої тканини інкубували з міченими попередниками нуклеїнових кислот і білків після фіксації в суміші Карнуа і обезводнення заливали їх у парафін. Депарафіновані зрізи покривали фотоемulsion'ю фірми "Ilford", експонували протягом 3-х тижнів. Після проявлення в проявнику Кодак-19 і закріплення в гіпосульфаті гістоавторадіограми фарбували гематоксином і созином.

ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЗАЛОЗИСТОГО ЕПІТЕЛІУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ КІЗ

1.1. Вплив гормонів на проліферацію залозистого епітелію молочної залози еваріоектомованих кіз

В дослідженнях, що проведені за допомогою світлового та електронного скануючого мікроскопів, використовувались експлантати молочної залози контрольних і дослідних кіз, яким вводили прогестерон і 17 β -естрадіол дипропіонат, а після культивування їх в середовищі, до якого додавали інсулін, гідрокортизон і пролактин. Такий методичний підхід зумовлений тим, що

естрогени викликають ріст протоків, а прогестини, особливо в комбінації з естрогенами, стимулюють розвиток лобуло-альвеолярної системи (Edery et al., 1985; Katzenettenbogen, 1986; McCarthy, 1989).

Встановлено, що після введення оваріоектомованим козам прогестерону і 17 β естрадіолу дипропіонату епітеліальна тканина в експлантатах молочної залози розвинута краще, ніж у контрольних кіз. Вона має вигляд розгалужених протоків і кінцевих секретуючих відділів. Залозисті клітини збільшені в об'ємі. Ці дані вказують на те, що прогестерон і естрадіол є пусковими факторами проліферативних процесів залозистого епітелію молочної залози, про що свідчать результати, одержані при культивуванні експлантатів при додаванні до середовища різних гормонів і їх комбінацій.

Так, введення до середовища інсуліну приводить до посилення проліферації залозистих клітин в експлантатах молочної залози оваріоектомованих кіз. При цьому збільшується кількість протоків і кінцевих секретуючих відділів, частина яких має одношарову будову. В епітеліальних клітинах секретуючих відділів спостерігається формування жирових глобул, що пов'язують із стимулюючим впливом інсуліну на синтетичні і енергетичні процеси в тканині молочної залози (Forsyth, 1971; Skarda et al., 1986).

Додавання до середовища інсуліну і гідрокортизону не значно стимулює ріст епітеліальних клітин протоків в експлантатах молочної залози дослідних кіз. Кінцеві секретуючі відділи відрізняються тільки за розміром і мають заокруглену і гладку поверхню, здебільшого вони одношарової будови, в цитоплазмі клітин і в просвіті секретуючих відділів виявляються числені жирові глобули.

В процесі проліферації залозистого епітелію молочної залози кіз важливу роль відіграють гормони аденогіпофізу, оскільки після введення пролактину, соматотропіну і адренкортикотропіну спостерігається аналогічна картина у молочної залози кіз, як і в середині вагітності (Skarda et al., 1986). Проведені нами дослідження показали, що при культивуванні експлантатів молочної залози інтактних кіз у середовищі, до якого додавали ще і пролактин, інтенсивно розростається залозиста тканина; протоки і кінцеві секретуючі відділи, які мають одношарову будову і нагадують альвеоли. У піддослідних кіз у порівнянні з контрольними, інтенсивніше проходить формування альвеолярної паренхіми -

просвіту. Останній досить широкий, містить відторгнені клітини і жирові кульки. Отримані результати узгоджуються з даними деяких авторів (Nagyaya et al., 1982; Itagawa, 1985) про стимулюючий вплив даної тріади - інсуліну, гідрокортизону і пролактину на проліферативні процеси в молочній залозі.

При інкубації експлантатів молочної залози дослідних кіз в середовищі з інсуліном, гідрокортизоном, естрадіолом і прогестероном, а потім в середовищі з інсуліном, гідрокортизоном і пролактином інтенсивність проліферативних процесів значно вища, ніж при культивуванні їх у середовищі з попередніми комбінаціями гормонів. При цьому альвеоли з одношаровою будовою є округлої форми, і разом з протоками піднімаються над сполучною тканиною. В цитоплазмі клітин, які значно вищі, ніж в інших варіантах досліду, видно кульові вакуолі, значна кількість яких знаходиться в широкому альвеолярному просторі.

Проведені цитологічні дослідження показали, що процеси проліферації в молочній залозі кіз в умовах *in vitro* посилюються при збільшенні набору гормонів у середовищі. Їх результати свідчать про те, що процеси проліферації в молочній залозі під час природного лактогенезу ініціюються інтегральною дією гормонів різних залоз внутрішньої секреції.

1.2. Вплив гормонів на диференціацію залозистого епітелію

молочної залози оваріоектомованих кіз

Дослідження проведені за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії на тих самих тваринах і за тією ж схемою, що й при вивченні впливу гормонів на процеси проліферації.

Встановлено, що в молочній залозі інтактних (контрольних) кіз кінцеві секретуючі відділи представлені скупченнями малодиференційованих клітин, розташованих в кінці вузьких протоків і в апікальній частині з'єднані замикаючою пластинкою і десмосомами. У ділянці простого з'єднання виявляються міжклітинні простори різних розмірів. Ядро займає більшу частину клітин, хроматин в конденсованому стані знаходиться по периферії ядра. Ядерце маленьке, з гомогенним фібрилярним матеріалом. Ендоплазматичний ретикулум має вигляд поодиноких везикул, мітохондрії (8-10 шт.) розкидані по всій цитоплазмі.

У підослідних кіз виявлені зміни в ультраструктурі ядра: в ньому спостерігається розмежування між фібрилярним компонентом і гранулярним. Цитоплазма містить більшу кількість елементів гранулярного ендоплазматичного ретикулуму у вигляді везикул і коротких каналців, поблизу яких зосереджені мітохондрії.

Культивування експлантатів молочної залози дослідних кіз у середовищі без гормонів привело до незначних змін в ультраструктурі клітин. Додавання до середовища інсуліну стимулює утворення в альвеолярному епітелії експлантатів дочірніх клітин, які ультраструктурно не відрізняються від материнських, що узгоджується з результатами, одержаними раніше в дослідях на мишах (Turkington, 1986). При цьому в залозистих клітинах виявляються ендоплазматичний ретикулум, комплекс Гольджі, збільшена кількість мітохондрій, ядрце характеризується гіпертрофічними змінами, що свідчить про посилення синтезу РНК в ядрі, в якому синтезується 80-90% всієї клітинної РНК (Busch, Smetana, 1970; Ельская, 1982; Urbanova et al., 1982).

Культивування експлантатів молочної залози в середовищі після додавання інсуліну і гідрокортизону приводить до значних змін в ядерних і цитоплазматичних структурах епітеліальних клітин. Зокрема, в ядрі деспіралізується хроматин, зазнає гіпертрофічних змін ядрце, утворюючи електроннопрозорі зони, а в цитоплазмі збільшується кількість каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму і гіпертрофованих комплексів Гольджі. Ці зміни більш виражені у підослідних кіз.

Триада гормонів - інсулін, гідрокортизон, пролактин - при додаванні їх до середовища при культивуванні експлантатів молочної залози ще більшою мірою впливає на диференціацію епітеліальних клітин. Ультраструктура останніх не відрізняється від такої ж епітеліальних клітин молочної залози кіз у період природного лактогенезу. При цьому спостерігається виразна полярність органелів завдяки апікальному розміщенню 2-3 комплексів Гольджі, базальному розміщенню ядра та ендоплазматичної сітки. Ці результати узгоджуються з даними (Mills, Torper, 1970) про синергічну дію інсуліну, гідрокортизону і пролактину на розвиток ультраструктури секреторної клітини молочної залози самок в середині періоду вагітності. Результати досліджень, проведених *in vitro*, свідчать про

важливе значення цих гормонів для регуляції розвитку ультраструктури залозистих клітин молочної залози, які беруть участь в синтезі і секретії синтезованого продукту, але сам процес транспорту з'ясований ще недостатньо.

Результати наших досліджень свідчать про те, що забезпечення оптимального рівня естрадіолу і прогестерону в організмі оваріоектомованих кіз, а також оптимальної кількості інсуліну, гідрокортизону і пролактину в середовищі при інкубації експлантатів молочної залози сприяє високому рівню диференціації залозистих клітин. Після введення козам підшкірно прогестерону і 17β -естрадіолу дипропіонату епітеліальні клітини молочної залози майже не відрізняються від епітеліальних клітин молочної залози вагітних кіз. Додавання до середовища зазначеної тріади гормонів приводить до більш вираженої диференціації епітеліальних клітин в експлантатах молочної залози дослідних кіз.

Отже, поява розвинутої лобуло-альвеолярної системи в молочній залозі самок після введення екзогенних прогестерону і 17β -естрадіолу дипропіонату є необхідною передумовою повноцінного лактогенезу.

2. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧНІ ТА ЦИТО-УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В МОЛОЧНІЙ ЗАЛОЗІ ТЕЛИЦЬ І КОРІВ ПРИ ІНДУКОВАНІЙ ГОРМОНАМИ ЛАКТАЦІЇ

2.1. Вміст білків, нуклеїнових кислот, глікогену, активність АТФ-ази, лужної фосфатази і сукцинатдегідрогенази в тканині молочної залози телиць і корів при індукованій гормонами лактації

Вміст білків у залозистій тканині молочної залози телиць і корів після введення прогестерону і 17β -естрадіолу дипропіонату різко зростає. Як показали гістологічні дослідження, це зумовлено стимуляцією процесів проліферації і диференціації епітеліальних клітин та посиленням синтезу структурних білків. При цьому виявлено також підвищення використання $[^{14}\text{C}]$ -амінокислот в синтезі білків у тканині молочної залози досліджуваних тварин в умовах *in vitro* (табл. 1).

Про здатність клітин молочної залози піддослідних тварин до проліферації свідчить вміст у залозистій тканині ДНК та інтенсивність її синтезу з мічених попередників.

Встановлено, що введення тваринам гормонів приводить до збільшення в тканині молочної залози вмісту ДНК, максимальний рівень якої виявляється в період лактогенезу і лактопоезу. При цьому зростає інтенсивність включення [^3H]-тимідину в ДНК епітеліальних клітин молочної залози в умовах *in vitro*.

Відомо, що при диференціації клітин посилюється синтез нуклеїнових кислот (Davidson, 1972). Як показали наші дослідження, після введення телицям і коровам гормонів концентрація РНК в тканині молочної залози значно зростає. Піронінофільні зерна, що характеризують локалізацію РНК, виявлені як у цитоплазмі, так і в ядрі залозистих клітин. При аналізі гістоавтордіаграм звертає на себе увагу різке підвищення ступеня використання [^{14}C]-уридину в синтезі РНК в залозистих клітинах молочної залози тварин з індукованою гормонами лактацією. Різко посилюється включення [^{14}C]-уридину в РНК також в клітинах молочної залози корів при природній лактації порівняно з нелактуючими коровами (табл. 2).

Концентрація сульфгідрильних груп у залозистому епітелії молочної залози телиць і корів з індукованою гормонами лактацією значно вища, ніж у корів з природною лактацією в молозивний період. Кількість загальних і вільних сульфгідрильних груп у тканині молочної залози корів зростає тільки в період лактогенезу, тоді як під час лактопоезу їх концентрація знижується. Гістохімічно сульфгідрильні групи виявляються в цитоплазмі альвеолярних клітин у вигляді дифузного забарвлення цегляного кольору, інтенсивність якого після введення гормонів і резерпіну, а також в період лактогенезу зростає.

Вміст глікогену в тканині молочної залози досліджуваних телиць і корів зазнає значних коливань, які свідчать про його залежність як від їх фізіологічного стану, так і від стадії лактації. Гістохімічно глікоген виявляється в сполучній тканині біля базальної мембрани альвеол. Ці дані вказують на те, що синтез глікогену в молочній залозі корів у період сухостою і на початкових стадіях лактації знаходиться на високому рівні, що забезпечує відносно постійну його концентрацію. Після введення тваринам гормонів у молочній залозі посилюються проліферативні процеси, які супроводжуються підвищенням інтенсивності енергетичних процесів, у яких використовується глюкоза, що вивільнюється в процесі розщеплення глікогену (Мельник, 1987).

Використання мічених попередників в синтезі нуклеїнових кислот і білків епітеліальними клітинами молочної залози інтактних телиць і телиць з індукованою гормонами лактацією в умовах *in vitro* ($M \pm m$, $n=4$).

Мічені попередники	Інтактні телиці	Телиці з індукованою гормонами лактацією		
		5-й день лактації	60-й день лактації	
		Гістоавторадіографічні дослідження (кількість автографів в 300 клітинах)		
ТНБ ім. В. Стефанів АН України	[³ H]-тимідин	2.0±0.41	8.2±0.63*	12.0±0.82*
	[¹⁴ C]-уридин	2.7±0.48	10.5±0.64*	15.5±0.64*
	[¹⁴ C]-амінокислоти	5.2±0.95	13.0±0.71*	20.0±1.68*
		Авторадіографічні дослідження (тис. імп./хв./100 мг сирової тканини)		
	[³ H]-тимідин	2.2±0.91	16.1±5.56	18.4±2.24*
[¹⁴ C]-уридин	2.9±0.41	18.4±3.73*	21.4±7.57*	
[U- ¹⁴ C]-амінокислоти	3.18±1.42	27.7±5.16*	38.7±2.00*	

Примітка: * - статистична вірогідність різниць у досліджуваних показниках телиць з індукованою гормонами лактацією порівняно до показників у інтактних телиць.

Таблиця 2.

користання мічених попередників в синтезі нуклеїнових кислот і білків епітеліальними клітинами молочної залози лактуючих і лактуючих корів з природною і індукованою гормонами лактацією в умовах *in vitro* ($M \pm m$, $n=4$).

Мічені попередники	Корови нелактуючі	Корови з природною лактацією	Корови з індукованою гормонами лактацією		
			18-й день від початку введення гормонів	5-й день лактації	60-й день лактації
Гістоавторадіографічні дослідження (кількість автографів в 300 клітинах)					
[³ H]-тимідин	5.0±0.71	9.5±0.64*	15.2±0.30*	12.8±0.95*	8.5±0.64*
[¹⁴ C]-уридин	2.2±0.48	11.5±0.64*	8.3±0.85*	11.8±0.85	12.5±0.96*
[U- ¹⁴ C]-амінокислоти	4.3±0.64	11.8±1.6*	11.0±1.73*	16.8±1.11*	17.8±0.48*
Авторадіографічні дослідження (тис. імп./хв./100 мг сирової тканини)					
[³ H]-тимідин	5.1±0.55	10.8±1.14*	16.4±1.53*	17.7±0.65*	15.5±1.40*
[¹⁴ C]-уридин	3.3±0.43	20.9±1.23*	16.3±1.82*	21.4±1.04*	22.8±1.61*
[U- ¹⁴ C]-амінокислоти	8.8±0.45	36.5±1.55*	32.7±1.95*	35.7±0.53*	47.0±1.22*

Примітка: * - статистична вірогідність різниць у досліджуваних показниках корів з природною і індукованою гормонами лактацією порівняно до показників нелактуючих корів.

В основі структурних і біохімічних змін в епітеліальних клітинах молочної залози телиць і корів при індукованій гормонами лактації лежать зміни активності ферментів, які каталізують процеси, що зумовлюють розвиток молочної залози та синтез компонентів молозива і молока. Нами вперше показано, що після введення коровам і телицям гормонів та резерпіну, які ініціюють лактацію, активність лужної фосфатази підвищується на складках базальної мембрани плазмолеми, а в період лактогенезу і лактопоезу на базальній і апікальній мембранах, в місцях межування епітеліальних і міоепітеліальних клітин молочної залози. Ці дані свідчать про неоднакову функцію цього ферменту в різних внутріклітинних структурах епітеліальних клітин.

В процесі досліджень нами виявлено локалізацію лужної фосфатази на оболонці жирових кульок молока (Дроник, 1981, 1988). Жирові клітини, які виявляються в цитоплазмі альвеолярних клітин, не мають оболонки. При екструзії частина апікальної мембрани клітин відривається і утворює оболонку жирової кульки, чим пояснюється наявність фосфатазної активності у молоці.

Електронногістохімічними дослідженнями встановлено, що більша активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) в епітеліальних клітинах молочної залози нелактуючих корів проявляється на внутрішній мембрані "молодих" форм мітохондрій. Після гормональної індукції лактації активність СДГ спостерігається в більшості не тільки "молодих", а й "старих" форм органел. Найбільше осаду (продукту реакції) відкладається на внутрішній мембрані і кристах "молодих" мітохондрій, особливо після їх поділу. З цих даних випливає, що статеві гормони і резерпін проявляють стимулюючий вплив на активність сукцинатдегідрогенази в епітеліальних клітинах молочної залози, що забезпечує більш інтенсивне окислення енергетичних субстратів у циклі трикарбонових кислот.

2.2. Цитологічні і ультраструктурні особливості залозистої тканини

молочної залози інтактних телиць

На даному етапі роботи досліджувались гісто-ультраструктурна будова клітин залозистого епітелію у молочної залозі інтактних телиць і корів.

Аналіз одержаних гістограм показав, що залозиста тканина молочної залози телиць має вигляд поодиноких скупчень кінцевих секретуючих відділів; зони

розташовані на кінці дрібних вивідних протоків, які складаються переважно з двох рядів епітеліальних клітин циліндричної форми.

Апікальна поверхня епітеліальних клітин формує 6-8 мікрворсинок, а латеральні мембрани з'єднані між собою в апікальній частині замикаючими пластинками і десмосомами. Міжклітинні мембрани по всій довжині від апікального до базального країв мають переважно просте з'єднання, а в деяких ділянках формуються міжклітинні простори різних розмірів.

Ядра епітеліальних клітин заповнюють більшу частину цитоплазми і в залежності від конфігурації клітин мають різну форму - від видовженої до овальної. Ядерна оболонка складається з двох мембран. На зовнішній мембрані, що межує з цитоплазмою, містяться поодинокі рибосоми. Хроматин конденсований по периферії ядра, що свідчить про його малу активність.

Ядерце округлої форми, щільне і розташоване переважно в центральній частині ядра. Мітохондрії мають невеликі розміри, з малочисельними кристами і електроннощільним матриксом, розташовані поблизу елементів ендоплазматичного ретикулуму і ядра, іноді контактують з ядерною оболонкою - каріолемою.

В цитоплазмі клітин виявлені міхурці і маленькі ланцюжки гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, а також значна кількість вільних і згрупованих у полісоми (по 5-6 шт.) рибосом.

У базальній або латеральній частинах поодиноких клітин формується комплекс Гольджі.

Наведені дані свідчать про те, що клітини кінцевих секретуючих відділів молочної залози статевозрілих телиць містять всі ультраструктурні елементи, які характеризуються низькою функціональною активністю. Зокрема, дуже слабо розвинутий синтезуючий комплекс - ендоплазматичний ретикулум і комплекс Гольджі, що характерно для ультраструктури епітеліальних клітин нефункціонуючої молочної залози.

2.3 Цито-ультраструктурні зміни залозистого епітелію молочної залози

телиць після введення їм прогестерону і 17 β -естрадіолу дипропіонату

Після введення телицям гормонів об'єм молочної залози збільшується в 2-3 рази. Як показали гістологічні дослідження, це зумовлено інтенсивною

проліферацією залозистого епітелію, внаслідок чого збільшується число залозистих дольок серед сполучної тканини. Кількість кінцевих секретуючих відділів при цьому різко зростає, проте в них не виявляється просвіт.

Клітини кінцевих секретуючих відділів стають вищими, їх мембрани мають просте з'єднання. При цьому зникають міжклітинні простори, з'являються невеличкі відрізки важливого для життєдіяльності клітин щілиноподібного з'єднання, що складається з каналів-конексонів. Виявлено залежність між площею базальної частини плазмолеми і функціональним станом окремих структур, метаболічною і секреторною активністю самої клітини.

Цитоплазма в апікальній частині епітеліальних клітин містить вакуоли електrolітного і ліпідного характеру, тоді як синтез казеїну при цьому відсутній.

В таких клітинах ядро округле, ядерце втрачає компактність і набуває неправильної форми. Збільшується кількість мітохондрій, деякі з них мають просвітлений матрикс. Зростає маса гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, а в латеральній частині цитоплазми формуються комплекси Гольджі.

Отже, введення телицям гормонів за розробленою нами схемою приводить до різкої інтенсифікації процесів проліферації і диференціації залозистих клітин. Поява міжклітинних комунікацій в зоні щілиноподібного з'єднання - конексонів свідчить про посилення інтеграції клітин і їх підготовку до синтезу компонентів молока.

2.4. Цито-ультраструктурні зміни залозистого епітелію молочної залози у телиць після введення їм прогестерону, 17 β -естрадіолу дигідрогену і резерпіну

Після введення телицям гормонів і резерпіну молочна залоза досягає такого об'єму, як у тварин у період перед природною лактацією.

На гістологічному зрізі видно добре розвинуту залозисту тканину, зменшення частки міждолькової жирової тканини. Кінцеві секретуючі відділи мають одношарову будову, частина клітин містить жирові включення. Просвіти кінцевих секретуючих відділів і вивідних протоків заповнені гомогенною масою, в якій вирізняються великі жирові кульки і соматичні клітини з пікнотичним ядром.

Субмікроскопічні дослідження показали, що латеральні мембрани клітин з'єднані замикаючими пластинками і однією десмосомою. Частина десмосом зникає, але появляються довгі відрізки щілиноподібних з'єднань, що забезпечує більш інтенсивний транспорт метаболітів з клітини в клітину. Базальна частина плазмолему утворює високі згини, завдяки чому збільшується площа для обміну метаболітами між секреторною клітиною і трофічними тканинами.

Ядра клітини округлої форми переміщуються в базальну частину цитоплазми. Хроматин рівномірно деспіралізований. У зв'язку зі збільшенням об'єму клітин ядерні мембрани напружені, зовнішня мембрана всяйна рибосомами, її згини і дивертикули, які виявлялись у ядрах епітеліальних клітин молочної залози у тварин попередніх груп відсутні. Зовнішня і внутрішня мембрани формують ядерні пори, кількість яких позитивно корелює з метаболічною активністю клітин: чим інтенсивніше проходять синтетичні процеси в клітинах, тим більше ядерних пор припадає на одиницю поверхні ядра. Так, у клітинах з великою метаболічною активністю ядерні мембрани утворюють 18-20 пор.

Кількість мітохондрій в клітині зростає - 14-18 штук, спостерігається їх поділ. Органели збільшені в розмірах, округлої форми, набрякли. Вони зосереджені біля ядра, ендоплазматичного ретикулуму і комплексу Гольджі, тобто в місцях локалізації енергозалежних процесів у клітині.

Гранулярний ендоплазматичний ретикулум добре розвинутий, кількість і ширина його ланцюжків залежить від функціональної активності клітин. Мембрани значно розширені в клітинах з інтенсивним синтезом.

В клітині виявляється 3-4 комплекси Гольджі, які розташовані над ядром. В окремих клітинах спостерігається гіпертрофія органел, в їх вакуолях формуються електроннощільні міцели казеїну.

В апікальній частині цитоплазми виявляються чисельні жирові і поодинокі білоковмісні вакуолі, які потім шляхом апокринового і мерокринового типів секретії переходять в просвіт альвеол.

Отже, введення телицям прогестерону, 17 β -естрадіолу дипропіонату і резерпіну викликає більш інтенсивну проліферацію і диференціацію епітеліальних клітин молочної залози, ніж це має місце при введенні їм тільки гормональних

препаратів. При цьому посилюється формування і функціонування синтезуючого комплексу, збільшується синтез компонентів молозива, особливо жиру.

2.5. Цитологічні і ультраструктурні особливості залозистого епітелію молочної залози у телиць під час експериментального лактогенезу

В період індукованого гормонами лактогенезу молочна залоза у телиць повністю сформована і за об'ємом істотно не відрізняється від молочної залози корів-первісток у період лактації.

Результати гістологічних досліджень свідчать про дальшу проліферацію залозистого епітелію молочної залози телиць на ранній стадії лактогенезу і одночасну атрофію жирових клітин. Альвеоли гіпертрофовані, в їх великих просвітах видно велику кількість жирових глобул та відторгнених соматичних клітин.

Методом електронної мікроскопії виявляються ультраструктурні зміни епітеліальних клітин, аналогічні до змін, що виявляються при природному лактогенезі. Зокрема, на латеральних мембранах контактуючих клітин збільшуються відрізки щілиноподібних з'єднань, кількість конексонів.

Цитоплазма стає електроннопрозорою і містить велику кількість довгих і розщеплених ланцюжків гранулярного ендоплазматичного ретикулуму. Гіпертрофовані 2-3 комплекси Гольджі розміщені над ядром, в вакуолях проходить інтенсивне формування міцел казеїну, а утворення жирових вакуолей, в основі якого лежить синтез триацилгліцеролів, спостерігається біля гранулярного ендоплазматичного ретикулуму. Ядро округлої форми з рівномірно деспіралізованим хроматином займає базальну частину цитоплазми, ядерце гіпертрофоване, має електроннопрозорої зони. Збільшується кількість мітохондрій, їх матрикс просвітлений.

Таким чином, в період індукованого гормонами лактогенезу залозисті клітини молочної залози телиць високодиференційовані, мають розвинутий синтезуючий комплекс.

2.6. Цитологічні і ультраструктурні особливості залозистого епітелію

молочної залози телиць під час експериментального лактопоезу

Відомо, що ріст молочної залози у телиць при індукованій гормонами лактації відбувається до 60-го дня лактації (Narendran et al., 1974). В цей час залозисті дольки займають весь об'єм молочної залози. Просвіти альвеол заповнені секретом.

Результати електронномікроскопічних досліджень тканини молочної залози телиць, проведених в період максимального розвитку лактації, індукованого гормонами, свідчать про високу інтенсивність біосинтетичних процесів в епітеліальних клітинах. Зокрема, збільшується висота згинів базальної частини плазмолем, від якої відбруньковується велика кількість мікротрубочок з метаболітами, зростає кількість і довжина відрізків міжклітинних щілинноподібних сполучень.

Ядро клітин округлої форми, двохарові мембрани утворюють 17-20 ядерних пор, ядрце гіпертрофоване, з електронноосвітленими зонами. Виявлена залежність між величиною ядрця, кількістю електронноосвітлених зон та інтенсивністю синтезу протеїновмісних вакуолей.

Як видно з наведених даних, на 60-й день викликаній гормонами лактації (лактопоезу), епітеліальні клітини молочної залози телиць мають високий ступінь диференціації і високий рівень функціональної та метаболічної активності. Синтезуючий комплекс в епітеліальних клітинах піддослідних телиць не відрізняється від такого у тварин в період природної лактації.

2.7. Цитологічні та ультраструктурні особливості

альвеолярного епітелію молочної залози нелактуючих корів

Досліджувались морфологічно-функціональні особливості молочної залози корів у період відносного спокою - сухостою.

Гістологічно в молочній залозі нелактуючих корів серед розростаючої сполучної тканини виявлені поодинокі альвеоли або їх скупчення, більшість яких перебуває в стадії атрофії. Міжклітинні мембрани в латеральній частині утворюють згини, часто значних розмірів, а інколи - міжклітинні щілини.

Припинення лактації супроводжується істотними ультраструктурними змінами епітеліальних клітин. В ядрах, які зменшуються в об'ємі, краї стають хвилястими, хроматин конденсується по периферії органели. Ядерця стають компактнішими, невизначеної форми, розташовані в різних частинах ядра. Мітохондрії зустрічаються рідко, спостерігається їх розпад. Ендоплазматичний ретикулум розпорошений по всій цитоплазмі у вигляді коротких ланцюжків. Збільшується в клітині і кількість гладких мембран. В деяких клітинах зустрічається комплекс Гольджі, який у більшості випадків перебуває у стані атрофії.

Отже, після завершення лактації в епітеліальних клітинах молочної залози корів переважають атрофічні процеси, що ілюструє положення про взаємозв'язок між структурою, функцією і метаболізмом.

2.8. Цитологічні і ультраструктурні особливості альвеолярного епітелію молочної залози корів під час природного лактонбезу

Вся площа гістологічного зрізу заповнена дольками залозистої тканини, оточеними тонкими сполучнотканинними прошарками. Слід зауважити, що не всі альвеоли в межах дольок проявляють однакову функціональну активність: одні дуже гіпертрофовані, мають добре виражений просвіт і гомогенний вміст, інші значно менші за об'ємом, мають вузький просвіт з декількома жировими кульками.

Апікальна мембрана містить до 10-12 довгих мікроворсинок, латеральні мембрани формують довгі відрізки щілиноподібного з'єднання, базальна частина плазмолемі має високі згини.

Очевидно, участь у транспорті попередників компонентів молока беруть також і міоепітеліальні клітини: коли альвеоли порожні і у плазмолемі цих клітин нагромаджується велика кількість піноцитозних міхурців.

Ядра клітин здебільшого округлі, з рівними контурами і сітчастим ядрцем, хроматин рівномірно розміщений по ядру. Зовнішня мембрана відокремлюється від внутрішньої і утворює невеликі міхурці, що свідчить про посилення ядерно-цитоплазматичного обміну (Грачов і ін., 1972).

Матрикс значно розріджений у порівнянні з цитоплазмою альвеолярних клітин нелактуючих тварин і містить декілька протеїнвмісних вакуолей. Останні

беруть свій початок з комплексу Гольджі. При підході до апікальної мембрани вакуолі збільшуються в об'ємі і виділяють секрет у просвіт альвеоли. Жирові включення відрізняються від білкових меншою осміофільністю, різноманітністю і здатністю зливатися у більші краплі. Виділення жиру в просвіт альвеол відбувається іншим шляхом, ніж гранул білка. При наближенні жирової кульки оболонка епітеліальних клітин розривається і обгортає її. З цього моменту апікальна мембрана служить оболонкою жирової кульки.

Мітохондрії залозистих клітин добре розвинуті і зосереджені біля ядра та ендоплазматичного ретикулуму, кількість їх збільшується. По всій цитоплазмі розміщено багато каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму; по ходу ретикулуму каналці неодноразово розширюються. В цитоплазмі виявляються 2-3 комплекси Гольджі.

З отриманих даних випливає, що під час активного функціонування молочної залози в секреторних клітинах збільшується кількість органел, особливо елементів синтезуючого комплексу.

2.9. Цитологічні та електронномікроскопічні зміни альвеолярного епітелію молочної залози корів після введення їм прогестерону, 17β -естрадіолу дипропіонату, резерпіну, під час експериментального лактогенезу та лактопоезу

Результати досліджень показали, що на 18-й день від початку введення нелактуючим коровам прогестерону, 17β -естрадіолу дипропіонату і резерпіну в молочній залозі підвищується інтенсивність проліферативних процесів, внаслідок чого об'єм органу збільшується до розмірів, які спостерігалися при попередній лактації.

Ультраструктура епітеліальних клітин і елементів синтезуючого комплексу аналогічні до тих, що були у тварин в перший лактогенний період природної лактації. Однак, на початку експериментального лактогенезу в цитоплазмі епітеліальних клітин і в альвеолярному просторі міститься значно більше жирових кульок і відторгнутих клітин з пікнотичним ядром.

Під час індукованого лактогенезу, залозиста тканина молочної залози корів представлена типовими альвеолами, які в одних випадках порожні, а в інших

заповнені секретом. Епітеліальні клітини мають кубічну або циліндричну форму. Вони містять кругле або овальне ядро, численні каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, 3-4 гіпертрофованих комплекси Гольджі, багато мітохондрій, жирові і білковімісні вакуолі.

У порівнянні з природним лактопоезом, базальна частина плазмолемні залозистих клітин молочної залози корів з індукованою гормонами лактацією формує високі згини, на яких багато брунькових міхурців в бік цитоплазми. В останній виявляється декілька, здебільшого 5-6 ліпідних вакуолей. Розвиток і стан ядерних і цитоплазматичних структур, і особливо синтезуючого комплексу є подібним як у тварин з природним лактопоезом.

2.10. Мікроциркуляція крові в тканині молочної залози телиць і корів під час та після гормональної індукції лактації

Морфологічний розвиток молочної залози телиць і корів у період лактогенезу і лактопоезу супроводжується посиленням циркуляції крові в залозистій тканині. У зв'язку з цим були проведені порівняльні дослідження капілярної системи в залозистій тканині молочної залози інтактних телиць і нелактуючих корів, а також у телиць і корів при індукованому гормонами лактогенезі та лактопоезі.

Результати досліджень показали, що в молочній залозі інтактних статевозрілих телиць поодинокі капіляри містяться в сполучнотканинних прошарках поблизу кінцевих секретуючих відділів, оточених базальною мембраною. Невеликі ендотеліальні клітини мають ядра різної форми, які займають більшу частину цитоплазми. Остання формує поодинокі мікрворсинки і незначні випинання в просвіт капілярів. Еритроцити, в залежності від форми просвіту, мають видовжену, сплюснену або серповидну форми.

Після введення телицям гормонів, що, як було показано вище, приводить до стимуляції процесів проліферації в молочній залозі, в міжальвеолярних прошарках збільшується кількість капілярів з ширшим просвітом, а ендотеліальні клітини стають видовженими. Їх цитоплазма формує численні мікрворсинки і містить значно більше мітохондрій. Ядро має овальну форму. Часто біля капілярів зустрічаються лейкоцити. В розлогах базальної мембрани знаходяться малодифе-

ренційовані клітини-періцити, які охоплюють капіляр своїми відростками і вигинами цитоплазми. Просвіт капілярів розширюється, в них виявляється вміст дрібнозернистої консистенції, а також еритроцити овальної форми.

Після введення телицям прогестерону, 17 β -естрадіолу дипропіонату і резерпіну, коли проліферативні процеси і диференціація альвеолярних клітин досягають найвищого ступеня, у вузьких сполучнотканинних прошарках спостерігається розростання капілярної сітки. Капіляри мають видовжену форму, епітеліальні клітини охоплені двома-трьома періцитами.

У нелактуючих корів капілярна система в залозистій тканині розвинута слабо. Ендотеліальні клітини вузькі, значно видовжені і містять мало цитоплазматичних структур. У просвіті капілярів виявляється дрібнозернистий вміст і еритроцити овальної форми.

Після введення коровам гормонів і резерпіну в залозистій тканині різко зростає кількість капілярів з широким просвітом. Цитоплазма і ядра епітеліальних клітин видовжуються.

З наведених даних випливає, що інтенсифікація процесів проліферації в молочній залозі телиць і корів при гормональній індукції лактації супроводжується посиленням васкуляризації залозистої тканини, що приводить до збільшення специфічних малодиференційованих клітин-періцитів.

2.11. Динаміка концентрації екзогенного естрадіолу в плазмі крові і молоці лактуючих корів

На даному етапі досліджень вивчалися зміни концентрації естрадіолу в плазмі крові і молоці корів при введенні їм естрогенного препарату дигітолу, який містить зазначений гормон, оскільки літературні дані щодо строків його виведення з молоком суперечливі (Erb et al., 1976; Jordan et al., 1981).

Виходячи з цього, досліджували концентрацію естрадіолу в крові і молоці корів через різні строки після введення їм дигітолу. З наведених у табл. 3 даних видно, що підвищення концентрації естрадіолу в плазмі крові і молоці корів спостерігається лише протягом перших трьох днів після введення препарату. Починаючи з 5-го дня від початку введення дигітолу рівень естрадіолу в плазмі крові і молоці був у межах фізіологічної норми.

Помітне збільшення концентрації естрадіолу в плазмі крові тварин на четвертому тижні досліджу, очевидно, пов'язане із статевою охотою окремих тварин.

Таблиця 3.

Концентрація естрадіолу в плазмі крові і молоці досліджуваних корів
($M \pm m$; $n=4$, нг/мл)

Строки дослідження	Контрольна група		Дослідна група	
	Плазма крові	Молоко	Плазма крові	Молоко
До введення гормону	0.38±0.04	0.06±0.02	0.30±0.03	0.09±0.01
Після введення гормону:				
перша доба	0.30±0.01	0.04±0.01	0.33±0.02	0.08±0.01
друга доба	0.24±0.02	0.08±0.01	0.86±0.02*	0.51±0.01*
третя доба	0.36±0.01	0.06±0.01	0.54±0.03*	0.24±0.01*
п'ята доба	0.15±0.06	0.06±0.01	0.26±0.03	0.10±0.03
дев'ята доба	0.16±0.02	0.06±0.01	0.12±0.06	0.10±0.03
два тижні	0.10±0.01	0.06±0.01	0.15±0.02	0.09±0.01
чотири тижні	0.19±0.02	0.07±0.01	0.46±0.03*	0.23±0.03*
п'ять тижнів	0.35±0.04	0.03±0.01	0.13±0.04	0.20±0.04
шість тижнів	0.07±0.01	0.05±0.01	0.14±0.06	0.10±0.03

Примітка: * - статистична вірогідність різниць у досліджуваних показниках контрольних і дослідних корів до введення їм препарату дигітолу.

Отримані дані певною мірою узгоджуються з даними фармакокінетичних досліджень, які показали, що в першу добу після введення тваринам естрадіолу в тканинах виявляється до 73% загальної концентрації гормону, а його метаболічні перетворення в менш активні сполуки (естрадіол, естріол) проходить досить швидко (Алексина, Селиченко, 1985), внаслідок чого виведення їх з молоком через три доби після введення є маловірогідним.

2.12. Рефлекс молоковіддачі і молочна продуктивність у телиць і корів при експериментальній і природній лактаціях

Швидкість молоковіддачі у телиць і корів з індукованою гормонами лактацією була дещо більша, ніж у тварин з природною лактацією, проте виявлені відмінності статистично недостовірні.

Введення телицям і коровам статевих гормонів та резерпіну забезпечило високий рівень молочної продуктивності у всіх піддослідних тварин, тривалість лактації становила 240-360 днів. Зокрема, молочна продуктивність корів з індукованою гормонами лактацією становила 70-110% від продуктивності у період природної лактації. Найвищий добовий надій у корів з індукованою гормонами лактацією виявився з п'ятої до сьомої декади. Лактаційна крива у корів з індукованою відповідними гормонами лактацією характеризується істотним її зростанням протягом перших семи-восьми декад. В наступний період у корів вона утримується тривалий час на високому рівні, а в останній місяць лактації падає. У телиць лактаційна крива після найвищого підйому протягом семи-восьми декад поступово знижується.

Жирність молока у індукованих тварин на всіх етапах дослідження була на 0.2-0.5% вища, ніж у контрольних тварин з природною лактацією.

3. ВПЛИВ СИНТЕТИЧНОГО ТИРОЛІБЕРИНУ (РИФАТИРОЇНУ) НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЩИТОВИДНОЇ І МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗ

3.1. Вплив синтетичного тироліберину на функціональну активність щитовидної та молочної залоз

Результати гістологічних та авторадіографічних досліджень свідчать про зміни структури фолікулів, різну інтенсивність проліферативних і синтетичних процесів у фолікулярному епітелії щитовидної залози корів в залежності від фізіологічного стану, а також при введенні їм тироліберину.

Так, у нелактуючих тварин фолікули щитовидної залози круглої або овальної форми і оточені базальною мембраною. В окремих фолікулах міститься колоїд, який являє собою безструктурну ацидофільну масу. Під час лактації фолікули збільшуються в об'ємі, а епітеліальні клітини набувають кубічної форми.

Більшість фолікулів заповнені колоїдом. У корів, яким вводили рифатироїн, об'єм фолікулів збільшується в незначній мірі, проте клітини стають плоскими, а в їх просвіті різко зменшується вміст колоїду.

Виявлено більш інтенсивне включення [^3H]-тимідину ДНК в фолікулярних клітинах щитовидної залози лактуючих корів, ніж у нелактуючих. При цьому спостерігається тенденція до збільшення включення в РНК [^{14}C]-уридину.

Гісто-електронномікроскопічними дослідженнями встановлено, що рифатироїн у лактуючих корів істотно не впливає на проліферацію залозистого епітелію молочної залози. Проте у підслідних тварин спостерігаються більш широкі просвіти альвеол, ніж у контрольних тварин, які заповнені жировими глобулами. Епітеліальні клітини збільшені в об'ємі. Змін зазнають також ядерні структури, зокрема ядерце, яке гіпертрофоване і в ньому виявляються електроннопрозорі зони. Комплекс Гольджі збільшений в об'ємі, мітохондрії переважно набухлі і розміщені в місцях накопичення елементів синтезуючого комплексу клітин. Ендоплазматичний ретикулум розширений /приблизно вдвічі і має вигляд довгих каналців. У цитоплазмі зменшується число вільних рибосом і полісом, виявляється 2-3 протеїновмісні і 3-4 жировмісні вакуолі. В цілому в епітеліальних клітинах молочної залози корів під впливом ліберину посилюється секреція жирових глобул та збільшується їх об'єм.

Про підвищення інтенсивності синтетичних процесів у залозистих клітинах молочної залози корів після введення тироліберину свідчить більш інтенсивне включення [^{14}C]-уридину в ядерцеву і цитоплазматичну фракції РНК (табл. 4). При цьому відмічається значно менша інтенсивність синтезу ДНК і РНК в щитовидній і молочній залозах нелактуючих корів у порівнянні з лактуючими.

Вміст РНК фракції рН 8.0 в ядерній фракції лактуючих корів, яким вводили тироліберин, значно вищий, ніж в інтактних лактуючих корів (табл. 5), що разом з приведеними в таблиці 6 даними свідчить про посилення синтезу РНК в залозистих клітинах молочної залози корів під впливом тироліберину.

Введення лактуючим коровам тироліберину приводить до значного зменшення вмісту глікогену в тканині молочної залози (табл. 6). Зокрема, вміст глікогену в тканині молочної залози інтактних лактуючих корів був у 1.5, а у дослідних корів - в 2.3 рази менший у порівнянні з його вмістом у нелактуючих

корів. Гістохімічно у піддослідних корів глікоген виявляється тільки у вигляді тонкої смужки біля базальної мембрани альвеол.

Таблиця 4.

Використання попередників нуклеїнових кислот епітеліальними клітинами щитовидної і молочної залоз нелактуючих і лактуючих корів, а також лактуючих корів при введенні їм тироліберину в умовах *in vitro* (тис. імп./хв./100мг сирової тканини, $M \pm m; n=3$).

Субстрати	Групи тварин		
	нелактуючі корови	лактуючі інтактні корови	лактуючі корови + тироліберин
	Щитовидна залоза		
[³ H]-тимідин	16.4±1.24	24.9±2.30	28.9±2.56*
[¹⁴ C]-уридин	12.9±1.06	37.9±2.01	42.9±1.70*
	Молочна залоза		
[³ H]-тимідин	15.0±1.06	19.3±2.3	18.9±1.01
[¹⁴ C]-уридин	16.92±1.42	28.1±2.28*	38.9±1.10*

Примітка: * в таблицях 4, 5, 6 статистична вірогідність різниць в показниках до нелактуючих (контрольних) тварин.

Таблиця 5.

Вміст нуклеїнових кислот в ізольованих ядрах залозистих клітин молочної залози корів ($M \pm m$; мкг/г сирової тканини, $n=3$).

Нуклеїнові кислоти	Фракції	Групи тварин		
		нелактуючі корови	лактуючі (інтактні) корови	лактуючі корови + тироліберин
РНК	pH 7.8	83.22±11.95	137.96±5.95*	143.06±19.55
	pH 8.0	28.20±0.54	37.21±4.13	50.30±6.29*
	залишкова	117.25± 4.24	174.85±14.7	183.45±21.18*
ДНК	залишкова	55.54±2.01	82.84±6.99	86.91±10.03*

Вміст нуклеїнових кислот, розчинних білків, сульфгідрильних груп і глікогену в тканині молочної залози нелактуючих і лактуючих корів, а також лактуючих корів при введенні їм тироліберину ($M \pm m$; $n=3$).

Досліджувані компоненти	Групи тварин		
	нелактуючі корови	лактуючі інтактні корови	лактуючі корови + тироліберин
ДНК, мг%	8.6+0.40	22.7+0.37	24.6+0.52*
РНК, мг%	11.0+3.32	24.0+1.62	34.6+2.43*
Розчинні білки, %	6.24+0.55	5.76+0.50	6.72+0.95
SH-групи загальні	25.44+0.51	23.06+1.49	18.29+0.99*
SH-групи вільні	13.67+1.19	12.63+0.36*	10.18+0.79
Глікоген, мг%	280,00+11.3	191,00+6.47*	124,40+16.12*
Суха маса, %	19.6+0.05	20.9+0.12	19.40+0.18

Різде зменшення концентрації глікогену в залозистій тканині молочної залози корів при дії тироліберину зумовлене посиленням використання його в метаболічних процесах і пов'язане із синтезом компонентів молока (лактози, молочного жиру) і субстратним забезпеченням енергетичних процесів.

3.2. Вплив йодованого фенілаланіну і йодиду калію на концентрацію тиреоїдних гормонів, зв'язаного з білками йоду та процеси молокоутворення

З наведених у табл. 7 даних видно, що додавання до раціону корів йодованого фенілаланіну і йодиду калію приводить до підвищення концентрації тиреоїдних гормонів (трийодтироніну і тироксину) в плазмі крові. Підвищення концентрації цих гормонів виражене приблизно однаковою мірою, а його ступінь залежить від тривалості згодовування досліджуваних сполук. Проте в заключний період високий рівень тиреоїдних гормонів виявляється лише після застосування йодованого фенілаланіну.

В дослідний період у крові піддослідних корів достовірно зростає концентрація йодоз"язаних білків. Як відомо, з вмістом тироглобулінів пов"язують функцію щитовидної залози, що пояснюється важливим значенням цих білків у транспортуванні і метаболізмі йоду.

Разом з тим, у сироватці крові середньопродуктивних корів після згодування їм йодованого фенілаланіну і йодиду калію підвищується концентрація азоту вільних амінокислот як у дослідний, так і в заключний період. Оскільки вільні амінокислоти сироватки крові беруть участь в субстратному забезпеченні синтезу компонентів молока, ці дані дозволяють певною мірою пояснити стимулюючий вплив сполук йоду на процеси молокоутворення.

Йодований фенілаланін більш позитивно діє на процеси молокоутворення. Отже, згодування тваринам йодвмісних сполук впливає на різні сторони обміну речовин в молочній залозі. Пояснення цих змін слід шукати у підвищенні функціональної активності щитовидної залози при підвищенні вмісту йоду в раціоні тварин.

4. ВПЛИВ СОМАТОТРОПІНУ НА ПРОЦЕСИ МОЛОКОУТВОРЕННЯ У ЖУЙНИХ

4.1. Вплив гіпофізарного і рекомбінантного соматотропіну на біохімічні показники в крові кіз, їх молочну продуктивність і склад молока

При введенні козам гіпофізарного і рекомбінантного соматотропіну їх молочна продуктивність підвищується на 35 і 10%, вміст молочного жиру - на 17,1 і 31,8% відповідно. Вміст білка в молоці кіз, яким вводили нативний і рекомбінантний соматотропін, в дослідний період був відповідно на 24,9 і 7,5% більший. Підвищений рівень жиру і білка в молоці кіз виявляється і в заключний період. Разом з тим вміст лактози в молоці кіз у дослідний та заключний періоди лиш в незначній мірі перевищував цей показник в молоці тварин до введення гормонів.

Показник	Гіпофізарний соматотропін	Рекомбінантний соматотропін	Контроль
Молочна продуктивність, кг/сут.	117,25 ± 4,3	174,85 ± 14,7	86,9 ± 10,2*
Вміст жиру, %	35,44 ± 2,01	82,84 ± 5,59	36,91 ± 10,2*
Вміст білка, %	24,9	7,5	

Таблиця 7.

Концентрація тиреоїдних гормонів у плазмі крові лактуючих корів, до раціону яких додавали йодований фенілаланін і йодид калію (нг/мл, $M \pm m, n=4$).

Групи тварин, варіанти досліду	Підготовчий період	Дослідний період		Заключний період
		10-й день	30-й день	
Трийодтиронін				
Високопродуктивні корови: йодований фенілаланін	1.28+0.06	1.48+0.21	2.18+0.24*	1.57+0.08*
йодид калію	1.35+0.04	1.56+0.10	2.41+0.10*	1.35+0.06
Середньопродуктивні корови йодований фенілаланін	1.28+0.06	1.69+0.08*	2.36+0.09*	1.82+0.05*
йодид калію	1.41+0.01	1.74+0.06*	2.40+0.09*	1.52+0.09
Тироксин				
Високопродуктивні корови: йодований фенілаланін	33.8+3.8	50.5+6.8*	68.0+2.5*	54.5+4.2*
йодид калію	36.0+4.5	40.5+5.9	72.0+0.9*	35.3+2.4
Середньопродуктивні корови йодований фенілаланін	38.0+5.2	46.3+3.5	74.0+3.7*	53.3+2.9
йодид калію	44.0+3.9	65.0+1.9*	69.8+2.3*	36.0+1.9

Примітка: * статистична вірогідність показників дослідного і заключного періодів до показників підготовчого періоду.

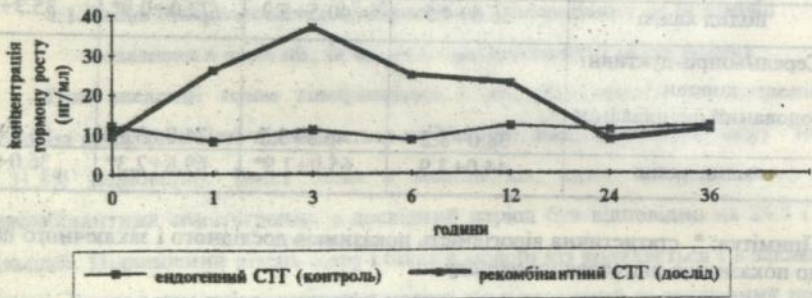
У сироватці крові кіз, яким вводили гіпофізарний і рекомбінантний соматотропін, вірогідно підвищується концентрація загального білка, аміного азоту, вільних амінокислот, сульфгідрильних груп, загальних ліпідів, причому порівняно більша концентрація цих метаболітів, ніж у підготовчий період, спостерігається і в заключний період досліду.

Рекомбінантний соматотропін на більшість досліджуваних показників сироватки крові кіз і їх молочну продуктивність впливає меншою мірою, ніж гіпофізарний соматотропін. Однак, враховуючи те, що рекомбінантний соматотропін значно дешевший, а регуляторний вплив його на окремі ланки обміну речовин майже аналогічний впливу гіпофізарного соматотропіну, перспектива його використання більш доцільна як з біологічної, так і з економічної точок зору.

4.2. Вплив рекомбінантного соматотропіну на біохімічні показники крові телиць і індуковану молочну продуктивність

Дослід проведений на телицях-однойцевих близнятах. На першому етапі досліджували вплив ін'єкцій рекомбінантного соматотропіну на добову динаміку гормону в плазмі крові тварин. З рис. 1 видно, що при одноразовому введенні тваринам гормону його концентрація в плазмі крові різко зростає протягом 3-х годин, а в наступний період поступово знижується і досягає вихідного рівня через 24 години. У інтактних тварин незначне підвищення концентрації соматотропіну спостерігається на 3-, 12- і 24-ту годину дослід, тобто перед годівлею.

Рис. 1. Концентрація гормону росту у плазмі крові телиць при введенні їм рекомбінантного соматотропіну.



Вміст білка в сироватці крові телиць під дією гормону поступово підвищується і досягає найвищого рівня на 24-у годину дослід. При цьому протягом всього дослідження виявляються істотні зміни у співвідношенні білкових фракцій. Так, через годину після введення гормону вірогідно зростає концентрація сироваткового альбуміну і β_1 -глобуліну і знижується концентрація γ -глобуліну.

годин, концентрації β_1 -глобуліну - протягом 6-ти годин. На 12- і 24-у годину досліді у сироватці крові телиць різко збільшується частка α_1 -глобуліну. Низький рівень γ -глобулінів у сироватці крові телиць зберігається протягом 24-х годин після введення гормону. На 3-, 6-, 12-у годину після його введення в сироватці крові телиць підвищується концентрація амінного азоту, вільних амінокислот і активності аланінамінотрансферази.

Значно більший вміст загальних ліпідів у сироватці крові телиць дослідної групи у порівнянні з контрольною виявляється через 6, 12 і 24 години після введення гормону. Дослідження фракцій ліпідів показали, що на більшості досліджуваних етапів у сироватці крові телиць дослідної групи виявляється вірогідно більший вміст вільних жирних кислот, моноацилгліцеролів та ефірів холестеролу і менший вміст триацилгліцеролів. Ці дані свідчать про широкий спектр дії рекомбінантного соматотропіну на обмін ліпідів в організмі телиць. Підвищення рівня НЕЖК у плазмі крові телиць під впливом гормону зумовлене посиленням інтенсивності процесів ліполізу у жировій тканині (Чаркін і інші, 1968, 1981, 1990).

Про кількісні зміни цього процесу можна судити за даними, що характеризують динаміку концентрації НЕЖК (табл. 8). Протягом 12-и годин концентрація НЕЖК у сироватці крові піддослідних тварин була значно вищою, ніж у тварин контрольної групи. Зміни концентрації НЕЖК у сироватці останніх за час досліджень, очевидно, можна пояснити впливом факторів годівлі і циркадного ритму організму.

Другий дослід ставили з метою вивчити вплив тривалого (56-, 72- і 96-ти днів) введення рекомбінантного соматотропіну на ріст молочної залози і подальшу індуковану гормонами лактацію у телиць.

Встановлено, що ступінь підвищення рівня молочної продуктивності телиць під впливом рекомбінантного соматотропіну при індукованій гормонами лактації залежить від тривалості його введення. Найменш впливає на молочну продуктивність телиць тривалість введення гормону протягом 56-ти днів. При цьому надої від телиць у 1-й та 2-й місяці лактації були відповідно на 7.4 і 4.7% більші, ніж у тварин контрольної групи. В наступні місяці молочна продуктивність тварин дослідних і контрольної груп була однаковою. Надої від піддослідних телиць, яким протягом 72 днів вводили гормон на 1-, 2-, 3- і 4-му місяцях лактації, були

Концентрація неестерифікованих жирних кислот у сироватці крові телиць до і після введення їм рекомбінантного гормону росту (мкМ/л, М+м, n=6).

Час взяття крові	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
До введення гормону	36.75+8.10	44.25+9.45
Після введення гормону, години:		
1	38.66+6.17	62.50+8.38
3	84.50+2.92	109.25+9.62*
6	48.50+6.80	80.66+2.19*
12	58.50+5.00	76.25+2.00*
24	33.75+1.63	43.25+7.37
36	27.5+6.26	27.00+6.44

Примітка* - статистична вірогідність показників дослідних тварин до показників контрольних корів.

відповідно на 25.3; 13.6; 6.0 і 5.4% вищими ніж у контролі. У піддослідних телиць, яким соматотропін вводили протягом 96 днів, на 1-, 2-, 3-, 4- і 5-му місяцях лактації рівень молочної продуктивності був вищий відповідно на 26.6; 46.2; 24.2; 19.0; 7.3%. За п'ять місяців лактації від піддослідних тварин 1-, 2- і 3-ї групи було отримано в середньому на 6.9; 8.7 і 17.7% більше молока, ніж від контрольних тварин.

У молозивний період жирність молока у телиць всіх дослідних груп була значно більша, ніж у контрольних. При цьому виявлена пряма залежність між тривалістю введення телицям рекомбінантного соматотропіну і вмістом жиру в молоці.

4.3. Вплив рекомбінантного соматотропіну на гістоультраструктуру

клітин секреторного епітелію молочної залози у лактуючих корів при згодовуванні різних за поживністю раціонів

Введення коровам рекомбінантного соматотропіну з метою стимуляції біосинтезу і секреції компонентів молока при згодовуванні їм збалансованого за

всіма елементами живлення раціону викликає зростання надоїв молока на 22%. Підвищення функціонального стану молочної залози корів під впливом вказаного гормону зумовлено змінами гістоультраструктури клітин секреторного епітелію, об'єм якого значно збільшується порівняно до такого у контрольних тварин. Просвіт альвеол молочної залози в дослідних тварин розширений і містить велику кількість протеїнових граул і жирових глобул. Апікальна мембрана клітин нерівна і містить велику кількість подовжених і потончених мікрроворсинок. Міжклітинні мембрани випрямлені, складки, що спостерігалися до введення гормону, вирівнені. Видно довгі відрізки щілиноподібного з'єднання. В основі клітин кількість складок плазмолемі і їх висота збільшуються. В результаті збільшення об'єму альвеоли базальна мембрана стає напруженою, а наявні незначні хвилеподібні складки зникають.

Цитоплазма епітеліальних клітин у молочної залозі дослідних корів порівняно з контрольними просвітлена. В її апікальній частині видно жирові вакуолі, які не оточені оболонкою, а також багаточисельні вакуолі з 2-3-ма електроннощільними протеїновими гранулами. В епітеліальних клітинах дослідних корів зустрічаються і гігантські вакуолі, що містять 15-20 казеїноподібних гранул.

В ядрі, яке має найчастіше овальну форму, хроматин рівномірно розсіяний по каріоплазмі, що свідчить про високий ступінь його деспіралізації. Ядерця в ядрі контрольних тварин різної форми. В більшості випадків вони розташовані в центрі ядра. В дослідних корів ядерце не має чіткої форми, в ньому видно гранулярну речовину і електронносвітлі зони. Під впливом гормону в ньому зникають складки і вирости зовнішньої мембрани каріотеки. Остання всяйна більшою кількістю рибосом, ніж у контрольних тварин.

Мітохондрії в епітеліальних клітинах дослідних корів порівняно до контрольних збільшені в розмірі, набухлі, з короткими кристами і просвітленим матриксом. Вони розміщені поблизу ядра, в місцях накопичення ендоплазматичного ретикулуму і комплексу Гольджі. При цьому збільшується кількість ланцюжків гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, мембрани якого розширені в середньому в 2-3 рази, кількість вільних рибосом у цій оплазмі

зменшується. Комплекс Гольджі гіпертрофується, навколо нього формуються електронносвітлі міхурці з протеїновими гранулами.

Отже, введення коровам соматотропіну обумовлює кількісні і якісні зміни ультраструктури епітеліальних клітин, і в першу чергу ультраструктури синтезуючого апарату, що свідчить про інтенсифікацію в них метаболічних процесів і біосинтезу компонентів молока.

При 30%-ному дефіциті енергії в раціоні корів під впливом соматотропіну рівень молочної продуктивності збільшується на 9%. При цьому виявляється часткова гіпертрофія залозистого епітелію, розвиток синтезуючого апарату клітин виражений меншою мірою. В сильно збільшених альвеолах клітини містять довгі ланцюжки розширеного ендоплазматичного ретикулуму, гіпертрофованій комплекс Гольджі, в вакуолях якого формуються міцели казеїну. В цитоплазмі видно 2-3 жирові та 3-4 протеїновмісні вакуолі, тоді як в контрольних тварин в клітині переважно виявляється одна жирова і 2-3 протеїновмісні вакуолі. В клітинах, у яких альвеоли менш розширені, стан ультраструктури подібний до такої у інтактних контрольних тварин.

При 30%-ному дефіциті протеїну в раціоні корів введення соматотропіну приводить до збільшення продуктивності на 17%. Це обумовлено значним розширенням альвеол, просвіт яких містить масу жирових глобул і білкових гранул. У просвітленій цитоплазмі краще розвинутий синтезуючий апарат. Однак, порівняно до епітеліальних клітин у корів при нормальній годівлі ланцюжки гранулярного ендоплазматичного ретикулуму і діктіосоми комплексу Гольджі при цьому менш розширені. В клітинах виявляється менша кількість жирових крапель, а також зменшені в об'ємі 2-3 протеїновмісні вакуолі.

Отже, 30% дефіцит енергії і протеїну в раціоні корів є причиною меншого впливу рекомбінантного соматотропіну на процеси молокоутворення та гістоультраструктуру епітеліальних клітин молочної залози, зниження інтенсивності біосинтезу компонентів молока.

5. ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ

З метою експериментального виклику лактогенезу та лактопоезу обґрунтоване використання методу індукції лактації. Для цього рекомендується розроблена нова схема методу, яка полягає в підшкірному введенні протягом семи днів спиртового розчину прогестерону (телицям 105 мг, коровам 150 мг) і 17 β -естрадіолу дипропіонату (телицям 25 мг і коровам 30 мг) з наступним введенням тваринам на 10-, 12-, 14-, 17-, 19-, 21-й дні внутрішньом'язево по 2.5 мг водного розчину резерпіну.

Стимуляцію процесів мамогенезу у телиць пропонується проводити довготривалим введенням рекомбінантного соматотропіну в дозі 20 мг на добу.

Для отримання більшої молочної продуктивності, покращення її якості шляхом повної реалізації генетичного потенціалу молочності корів рекомендується довготривале введення рекомбінантного соматотропіну пролонгованої дії в дозі 500 мг/2 тижні після досягнення тваринами найвищої продуктивності /піку лактації/. Гормон потрібно використовувати при повному забезпеченні тварин поживними речовинами.

Отримані результати по гормональній регуляції процесів проліферації і диференціації молочозалозистих клітин, особливостями їх ультраструктури, внутрішньоклітинної локалізації лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази можна використати в навчальному процесі для студентів учбових закладів біологічного профілю.

6. ВИСНОВКИ

1. Проліферація залозистого епітелію молочної залози оваріоектомованих кіз за умов культивування відбувається лише при додаванні в середовище гормонів інсуліну і пролактину. Стимулююча дія комбінації цих гормонів на проліферацію в тканині молочної залози оваріоектомованих кіз істотно зростає після попереднього введення їм прогестерону і 17 β -естрадіолу дипропіонату. При цьому кінцеві секретуючі відділи епітеліальних клітин молочної залози мають одношарову будову, їх поверхня гладка, а вивідні протоки видовжені.

2. Диференціація епітеліальних клітин молочної залози оваріоектомованих кіз в культурі стимулюється інсуліном, гідрокортизоном і пролактином. Внесення

в середовище тріади цих гормонів ініціює розвиток синтетичного апарату епітеліальних клітин, стимулює синтез казеїну, ліпідів і лактози. Ультраструктурні зміни епітеліальних клітин молочної залози при дії зазначених гормонів пов'язані зі змінами ферментативних констеляцій, посиленням метаболічних процесів і синтезу складових компонентів молока.

3. У забезпеченні функції епітеліальних клітин молочної залози важливу роль відіграють міжклітинні контакти, утворення яких перебуває під гормональним контролем, забезпечуючи адгезію клітин і їх фіксацію в період мамо- і лактогенезу. Гормони інсулін, гідрокортизол та пролактин, особливо при одночасному їх введенні, ініціюють формування на латеральних мембранах епітеліальних клітин довгих відрізків щилиноподібних з'єднань, які забезпечують їх метаболічну кооперацію.

4. Внутрішньом'язеве введення статевозрілим телицям і нелактуючим коровам протягом семи днів 105–150 мг прогестерону і 25–30 мг 17 β -естрадіолу дипропіонату з наступним введенням їм на 10-, 12-, 14-, 17-, 19- і 21-й дні по 2,5 мг резерпіну викликає повноцінну лактацію з усіма властивостями, які характерні природному мамо-, лактогенезу і лактопоезу.

5. При індукованому гормонами лактогенезі в молочній залозі телиць і корів посилюються процеси проліферації, які супроводжуються диференціацією епітеліальних клітин і формуванням альвеол. В молочнозалозистих клітинах виявляються добре розвинені внутрішньоклітинні структури, в тому числі синтезуючий апарат, що забезпечує біосинтез компонентів молозива і молока. Введення телицям статевих гормонів ініціює проліферацію залозистого епітелію в молочній залозі, а додаткове введення резерпіну стимулює диференціацію епітеліальних клітин.

6. При індукованому гормонами лактогенезі в молочній залозі телиць і корів в умовах *in vitro* посилюється синтез нуклеїнових кислот (ДНК, РНК) з мічених попередників. Під час лактопоезу в тканині молочної залози телиць і корів посилюється синтез РНК і білків, підвищується активність лужної фосфатази і АТФ-ази, зменшується вміст глікогену.

7. В секреторних клітинах молочної залози телиць і корів при індукованому гормонами лактогенезі виявлено високий ступінь їх диференціації, функціональ-

ної і метаболічної активності, інтенсифікацію синтетичних процесів, які знаходяться на тому ж рівні в епітеліальних клітинах як у тварин при природній лактації.

8. Посилення проліферативних процесів у молочній залозі телиць і корів при індукованому гормонами мамо- і лактогенезі супроводжується васкуляризацією залозистої тканини, збільшенням кількості капілярів у міжальвеолярних сполучнотканинних прошарках.

9. При введенні коровам дигітолу, який містить естрадіол, концентрація останнього в плазмі крові протягом перших 3-х днів зростає, а на 5-й день знижується до вихідного рівня.

10. Введення лактуючим коровам синтетичного тироліберину (рифатироїну) приводить до підвищення функціональної активності щитовидної залози, що характеризується збільшенням об'єму фолікулів і зменшенням в них вмісту колоїду. Інтенсифікація процесів молокоутворення супроводжується підвищенням надоев і вмісту жиру в молоці. У молочній залозі збільшується об'єм альвеол, а в епітеліальних клітинах зростає кількість мітохондрій і каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, гіпертрофується комплекс Гольджі.

11. Використання як джерела йоду в раціоні корів йодованого фенілаланіну підвищує продуктивність і жирність молока більшою мірою, ніж при використанні йодиду калію. Під впливом йодованого фенілаланіну в крові корів підвищується концентрація трийодтироніну, тироксину і йодз'язаного білка, що свідчить про посилення функції щитовидної залози.

12. Паратиреоїдин стимулює синтетичні процеси в молочній залозі, підвищує надой, вміст жиру і білку в молоці корів. У сироватці крові при цьому збільшується концентрація ліпідів, вільних амінокислот і активність амінотрансфераз.

У лактуючих кіз паратгормон проявляє стимулюючу дію на процеси молокоутворення, що особливо виражене у тварин з високим рівнем молочної продуктивності.

13. Стимулююча дія рекомбінантного соматотропіну на молочну продуктивність корів при довготривалому застосуванні залежить від рівня енергії протеїну в їх раціоні. Дефіцит енергії більшою мірою впливає на синтетичні

процеси в молочній залозі корів при введенні їм зазначеного гормону, ніж дефіцит протеїну. Жирність молока під впливом соматотропіну найбільше зростає при оптимальному забезпеченні організму поживними речовинами.

14. Введення рекомбінантного соматотропіну лактуючим коровам сприяє гіпертрофії ядерних і цитоплазматичних структур, збільшенню кількості комплексів Гольджі, каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулулу, жирових і протеїнівмісних вакуолей у цитоплазмі секреторних клітин молочної залози.

15. Рекомбінантний соматотропін проявляє таку ж дію на ліпідний, білковий та вуглеводний обмін в організмі корів і телиць, як і нативний гормон, виділений з гіпофізу великої рогатої худоби. Одноразове введення рекомбінантного соматотропіну телицям супроводжується збільшенням у сироватці крові концентрації гормону, яка в 4-5 разів перевищує вихідний рівень. У сироватці крові при цьому збільшується вміст білку, вільних амінокислот, SH-груп, неестерифікованих жирних кислот, зростає активність амінотрансфераз.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ.

1. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Клос Ю.С., Дроник Г.В., Кисиль И.О. Секрeция молока в протоковой системе молочной железы у коров./ В сб. "Физиолого-биохимические основы высокой продуктивности сельскохозяйственных животных", Л., 1983, с. 165-168.

2. Dronik G., Skarda J., Urbanova E., Lagodjuk P.Z., Kulackovsky A., Jukl A. The ultrastructure of mammary explants from virgin ovariectomized goats during hormone-induced lactogenesis. *Physiologia Bohemoslovaca*, 1984, 33, p. 495-500.

3. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Клос Ю.С., Дроник Г.В. и др. Индукция лактации у телок и коров с помощью половых органов./ Научно-техн. бюлл. Укр. НИИФиБ с-х животных, Львов, 1984, вып. 6(2), с.3-5.

4. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Клос Ю.С., Дроник Г.В. и др. Обмен веществ в ткани молочной железы жвачных при естественной и индуцированной лактации./Сб. докл. IV Международного симпозиума "Физиология жвачных", Чехословакия, Высокие Татры - Штребске Плесо, Кошице, 1987, 453-458.

5. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Дроник Г.В. и др. Молочная продуктивность и белковый состав молока у коров с индуцированной лактацией./Вестник с-х. науки, 1988, № 8 (384), с. 127-134.

6. Лагодюк П.З., Дроник Г.В., Солонинко И.И. Изменение содержания гликогена в молочной железе крупного рогатого скота при разном физиологическом состоянии./ Научно-техн. бюлл. Укр. НИИФиБ с-х животных, Львов, 1988, 10(3), с.3-8.

7. Дроник Г.В., Лагодюк П.З. Влияние экзогенных гормонов на интенсивность пролиферации железистого эпителия эксплантатов молочной железы овариэктомированных коз./ Научно-техн. бюл. Укр. НИИФиб с-х. животных, Львов, 1988, 10(3), с.39-44.
8. Алесина М.Ю., Дроник Г.В., Натаров В.В., Лагодюк П.З. Содержание дигитола в молоке лактирующих коров при стимуляции им половой охоты./Сельскохозяйственная биология, 1990, 6, с. 193-196.
9. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Солонинко І.І. Гісто-електронномікроскопічне вивчення тканини молочної залози корів до і після індукції лактації./ Наук. техн. бюл. Укр.НДІ ФіБ с-г. тварин, Львів, 1990, 12(1), с. 3-7.
10. Дроник Г.В., Солонинко І.І., Лагодюк П.З. Тканинний розподіл кислих і нейтральних протеїназ та їх активність в молочної залозі в різні періоди лактації./ Наук. техн. бюл. ІФБТ, Львів, 1993, 15(1), с. 70-73.
11. Дроник Г.В., Солонинко І.І., Лагодюк П.З. Вплив деяких інгібіторів і активаторів на ферментативну активність протеїназ молочної залози./Наук. техн. бюл. ІФБТ, Львів, 1994, 16(1), с.7-11.
- 12.Чаркін В.А., Дроник Г.В., Корінець Ю.Я. та інші. Вплив йодованого фенілаланіну на функцію шитовидної залози і обмін речовин у корів./ Наук. техн. бюл. ІФБТ, Львів, 1994, 16(2), с.15-18.
- 13.Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Клос Ю.С.,Дроник Г.В., Кисиль І.О. Влияние гормонов на процессы молокообразования у коров. Всесоюзный симпозиум по биохимии сельскохозяйственных животных., Тез. докл., М., 1982, с.14-15.
14. Лагодюк П.З., Чаркін В.А., Дроник Г.В. та інші. Гіпоталамічна регуляція синтезу білків і ліпідів молока у корів./ IV Український біохімічний з'їзд, тез. допов., Київ, 1982, ч.1, с. 80.
15. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Кулачковський О.Р. та інші. Вивчення активності лужної фосфатази в тканинах молочної залози телиць і нетелів./ IV Український біохімічний з'їзд, тез. допов., Київ, 1982, ч.1, с. 256.
16. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Клос Ю.С., Дроник В.Г., Кисиль И.О. Биохимические механизмы гормональной регуляции процессов молокообразования у коров./ XXXIII ежегодная конференция Европейской Ассоциации по животноводству. Л., 1982, 120-126.
17. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Солонинко И.И., Дроник Г.В., Дмитриева Н.Б. Изучение активности щелочной фосфатазы в клетках эпителия разных отделов молочной железы телок, нетелей и коров./IV Всесоюзный симпозиум по физиологии и биохимии лактации, тез. докл., М., 1982, с.52-54.
18. Лагодюк П.З., Дроник Г.В., Кулачковський О.Р. Вплив гормонів на структуру і функцію секреторних клітин молочної залози лактуючих корів./ XI з'їзд Українського фізіологічного товариства, тез. доп., Київ, 1982, с. 242-243.
19. Lagodyuk P.Z., Dronik G.V., Skarda J., Urbanova E., Bilek J.,Kulackovsky A.R. The effect of hormones on ultrastructure of epithelial cells of goat mammary explants 3 in Czech/Cs. fysiол., 1982, 31, p. 468.
20. Дроник Г.В., Кисиль И.О., Солонинко И.И. Гистоавтографическое изучение включения меченых предшественников нуклеиновых кислот в ткани молочной железы половозрелых телок и коров до и после индукции лактации / Всесоюзная конференция молодых ученых по с-х радиобиологии,.... 1983, с.96-97.

21. Дроник Г.В., Федорук Р.С. Электронномикроскопическое изучение биосинтеза и секреции компонентов молока в протоковой системе молочной железы лактирующих коров до и после введения галактопоэтических гормонов. /Биологические аспекты повышения продуктивности животных и растений, Рига, 1984, с.69.

22. Дроник Г.В. Гисто-электронномикроскопическое изучение железистого эпителия молочной железы у телок и яловых коров до и после индукции лактации. Вклад молодых ученых и специалистов в интенсификацию сельскохозяйственного производства., тез. докл., Львов, 1984, с. 161-162.

23. Лагодюк П.З., Дроник Г.В., Чаркин В.А. и др. Электронномикроскопическое исследование ядерных и цитоплазматических структур в секреторных клетках молочной железы коров до и после индукции лактации. /Всесоюзная конференция по структуре ядра и цитоплазмы, Пушкино, 1984, с.84-85.

24. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Дроник Г.В. и др. Интенсивность биосинтеза ингридиентов молока у коров и телок с индуцированной лактацией. / Биохимия с-х животных "Продовольственная программа", тез. докл., Ташкент, 1986, с.7-8.

25. Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Клос Ю.С., Дроник Г.В., Кисиль І.О. Індукція лактації статевими гормонами у корів і телиць / XXI з"їзд Українського фізіол. тов. ім. І.П.Павлова, тез. допов., 1986, с.219-220.

26. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Чаркин В.А., Солонинко І.І. Изучение активности щелочной фосфатазы и сукцинатдегидрогеназы в клетках молочной железы коров до и после лактации. / VII Всес. симп. по физиол. и биохим. лактации, тез. докл., М., 1986, с.118-120.

27. Дроник Г.В., Солонинко І.І., Федорук Р.С. и др. Влияние синтетического тиролиберина на молочную продуктивность и структурно-функциональные изменения альвеолярного эпителия молочной железы коров. "Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов": тез. докл., 7-й конф. молодых ученых-биологов, Рига, 1987, с.161-162.

28. Солонинко І.І., Дроник Г.В. Гисто-биохимическая характеристика железистой ткани молочной железы половозрелых телок и коров до и после индукции лактации. / "Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов": тез. докл., 7-й конф. молодых ученых-биологов, Рига, 1987, с.198-199.

29. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Чаркин В.А. та інш. Особливості вмісту нуклеїнових кислот у тканині молочної залози статевозрілих телиць до і після індукції лактації. / Український біохімічний з"їзд, тез. доп., 1987, ч.1, с.299-300.

30. Dronik G.V., Lagodjuk P.Z., Soloninko I.I., Skarda J., Urbanova E. Jmeny submikroskopicke stavby epitelialnich bunek zlazy nebreznych dojnec po hormonalni indukci lactace. / Ceskoslovenska fisiologie, 1989, 38, p. 352.

31. Soloninko I.I., Lagodjuk P.Z., Dronik G.V. Aktivita kyselých a neutralních proteas ve tkani mléčné zlázy dojnec v průběhu laktace. / Ceskoslovenska fisiologie, 1989, 38, p. 360.

32. Lagodjuk P.Z., Charkin V.A., Klos Ju.S., Dronik G.V., Kisel I.O. Vliv thyro-liberinu (TRH) na strukturu epitelu mléčné zlázy, na dojvost a na složení mléka a krve u laktujících dojnec. / Ceskoslovenska fisiologie, 1989, 38, p. 356.

33. Charkin V.A., Lagodjuk P.Z., Klos Ju.S., Dronik G.V., Kisel I.O. Hypothalamo-hypophyseal regulation of lipid synthesis with lactating cows. / II Internat. symp. on farm animal endocrin., Smolenice castle, Czechoslovakia, 1989, p.7.

34. Dronik G.V., Lagodjuk P.Z., Soloniňko I.I., Charkin V.A., Klos Ju.S. Parathroides role in the regulation of lactation in the cow. /II Internat. symp. on farm animal endocrin., Smolenice castle, Czechoslovakia, 1989, p.10

35. Ganushak N.I., Lagodjuk P.Z., Dronik G.V., Polischuk O.M., Bushak M.D., Soloninko I.I., Charkin V.A., Klos Y.S. Stimulation of functional activity of thyroid gland and intensity of milk synthesis in cows by iodinated preparatiou.: / II Internat. symp. on farm animal endocrin., Smolenice castle, Czechoslovakia, 1989, p.49.

36. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Солонинко И.И. и др. Гормонзависимые особенности пролиферации и формирование поверхности концевых секретирующих отделов эксплантантов молочной железы овариэктомированных коз./Физиология прод. животн. - решению Продовольственной программы СССР, матер. Всесоюз. конф., Таллин, 1990, ч.1, с.25-26.

37. Дроник Г.В., Шкарда И., Солонинко И.И. и др. Влияние рекомбинантного гормона роста на индукцию лактации у половозрелых телок./Всесоюз. конференция "Биохимия сельскохозяйственных животных и продовольственная программа, тез. докл., Киев, 1989, с. 174-175.

38. Лагодюк П.З., Дроник Г.В., Чаркін В.А. та інш. Вплив рекомбінантного соматотропіну на ріст і розвиток молочної залози і лактацію, викликану статевими гормонами у телиць /I республ. наук. конф. "Біотехнологічні дослідження і перспективи їх розвитку". тез. допов., Львів, 1990, с. 24-25.

39. Лагодюк П.З., Дроник Г.В., Чаркин В.А., Klos Ю.С. Роль гормонов в регуляции лактогенеза и секреции молока у жвачных./ Межд. конф. "Биол. основы высокой продуктивности с-х животных" Боровск, 1990, с.64-65.

40. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Ганушак М.І. и др. Влияние кодированного фенилаланина и йодида калия на функциональную активность щитовидной железы и интенсивность молокообразования у коров./VII Всесоюзный симпозиум по физиологии и биохимии лактации, тез. докл., М., 1990, с. 55-56.

41. Дроник Г.В., Лагодюк П.З., Дроник М.К. та інш. Вплив паратиреоїдину на інтенсивність обмінних процесів та біосинтез компонентів молока у лактуючих корів./VI Український біохімічний з'їзд, Київ, 1992, ч.ІІ, с. 29.

42. Лагодюк П.З., Чаркін В.А., Дроник Г.В., Klos Ю.С. Роль гормону росту в регуляції синтезу молока у корів./ VI Український біохімічний з'їзд, Київ, 1992, ч.ІІ, с. 50.

J. G. H.

H.V. Dronyk
**HORMONAL REGULATION OF METABOLIC ACTIVITY
OF MAMMARY GLAND IN RUMINANTS**

Thesis paper (manuscript) for the degree of Doctor of Biological Sciences,
Speciality 03.00.13, Human and Animal Physiology
The Hzhitysky Academy of Veterinary Medicine, Lviv.

In the model experiments conducted in the *in vitro* conditions, the proliferation and differentiation processes in mammary epithelial cells as affected by various hormones have been studied. It has been shown that the lobular and alveolar development of mammary gland is stimulated by progesterone, estradiol and prolactin, whereas cell differentiation seems to be initiated by an integral action of pituitary, pancreatic and adrenal hormones. Prolactin, insulin and hydrocortisone appear to induce the formation of a junction on lateral membranes providing for metabolic cooperation of cells. The pattern of hormonal induction of lactation in cows and heifers has been improved, due to the administration of optimum doses of progesterone, 17 β -estradiol dipropionate and reserpine. Experimentally induced mammo- and lactogenesis and lactopoesis seem to correspond to the respective periods of the natural development of mammary function. The positive influence of tyroliberine on the functional activity of thyroid and mammary glands as well as the intensification of synthesis of nuclear and cytoplasmic RNA fractions, have been demonstrated. Recombinant somatotropin has been shown to stimulate the proliferation processes in the mammary tissue of heifers.

Г.В. Дроник
**ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖВАЧНЫХ**

Диссертация (рукопись) на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 03.00.13 физиология человека и животных
Львовская академия ветеринарной медицины им. С.З.Гжицкого, Львов.

На модельных опытах *in vitro* изучено влияние гормонов на процессы пролиферации и дифференциации эпителиальных клеток. Показано, что лобуло-альвеолярное развитие молочной железы стимулируется прогестероном, эстрадиолом, инсулином и пролактином, а дифференциация клеток инициируется интегральным влиянием гормонов гипофиза, поджелудочной и надпочечных желез. Пролактин, инсулин и гидрокортизон инициируют формирование на латеральных мембранах щелевидного соединения, которое обеспечивает метаболическую кооперацию клеток. Усовершенствовано схему гормонального вызова лактации у телок и коров введением оптимальных доз прогестерона, 17 β -эстрадиола дипропионата и резерпина. Экспериментально вызванные мамолактогенез и лактопоз идентичны соответственным периодам естественного развития и функции молочной железы. Установлено положительное влияние тиролиберина на функциональную активность щитовидной и молочной желез, интенсификацию синтеза в эпителиальных клетках ядрышковой и цитоплазматической фракции РНК. Рекombинантный соматотропин стимулирует пролиферацию молочноклеточных клеток.

Ключові слова:

гормони, лактация, мамогенез, лактогенез, ультраструктура, гістохімія, молочна залоза.

Підписано до друку 17.ІІ.94р. Формат 60x84^{1/16}
Друк офсетний. Ум. др. арк. 2,0. Тираж 100.Зам. 2100
Друк.ПТУ-58. 290008. Львів, вв. Федорова, 9

4155676

AB 31.432

AB 31.432