



**BARBARA BŁASZCZYK**

**OKREŚLENIE ROCZNEGO RYTMU  
ZMIAN STĘŻENIA TYROKSYNY I OCENA WPŁYWU  
INDUKOWANEJ HIPOTYREOZY NA PRZEBIEG  
SEZONU ROZRODCZEGO  
U KÓZ (*CAPRA HIRCUS*)**

Szczecin 2011



ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY  
W SZCZECINIE

BARBARA BŁASZCZYK

**Określenie rocznego rytmu zmian stężenia tyroksyny  
i ocena wpływu indukowanej hipotyreozy na przebieg  
sezonu rozrodczego u kóz (*Capra hircus*)**

Biblioteka Główna  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny  
Księgozbiór Przyrodniczy

CP. 1175



530-000001249

SZCZECIN 2011

Recenzenci  
ZDZISŁAW BORYCZKO  
ADAM ZIĘCIK

Opracowanie redakcyjne  
ALINA BERNER

CP. 1175



530-1175

WYDANO ZA ZGODĄ  
REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIWERSYTETU TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE

ISBN 978-83-7663-073-1

Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie  
70-311 Szczecin, al. Piastów 50, tel. 91 449-47-60, e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl  
Druk PPH Zapol, Dmochowski, Sobczyk Sp.j., 71-062 Szczecin, al. Piastów 42, tel. 91 434-10-21  
e-mail: zarzad@zapol.com.pl

20M/D/25/1

## Spis treści

1. Wstęp .....	5
1.1. Sezonowy rytm w rozrodzie zwierząt „dnia krótkiego” .....	5
1.2. Synteza i metabolizm hormonów tarczycy .....	8
1.3. Fizjologiczna rola hormonów tarczycy .....	11
1.4. Udział hormonów tarczycy w kontroli sezonowości rozrodu .....	12
1.5. Indukcja hipotyreozy u przeżuwaczy .....	15
1.6. Cel pracy .....	16
2. Materiał i metody .....	17
2.1. Harmonogram badań .....	17
2.2. Doświadczenie 1. Określenie rocznego rytmu uwalniania tyroksyny i długości sezonu rozrodczego .....	17
2.3. Doświadczenie 2. Indukcja hipotyreozy .....	19
2.4. Badanie parametrów krwi .....	20
2.5. Analiza statystyczna .....	21
3. Wyniki .....	23
3.1. Doświadczenie 1. Określenie rocznego rytmu uwalniania tyroksyny i długości sezonu rozrodczego .....	23
3.2. Doświadczenie 2. Indukcja hipotyreozy .....	29
4. Dyskusja wyników .....	35
5. Wnioski .....	43
Piśmiennictwo .....	45
Abstract .....	53
Zusammenfassung .....	55



# 1. WSTĘP

## 1.1. Sezonowy rytm w rozrodzie zwierząt „dnia krótkiego”

W toku ewolucji zwierzęta wykształciły różnorodne mechanizmy pozwalające na dostosowanie się do zmian w środowisku. Dzięki tym mechanizmom procesy życiowe przebiegają w optymalnych warunkach, a u zwierząt zachodzą właściwe reakcje w odpowiednim czasie. Przykładem jest zdolność dostosowania aktywności płciowej do takiej pory roku, by narodzenie się potomstwa nastąpiło w okresie dającym mu największe szanse na przeżycie, co ma istotne znaczenie dla zachowania gatunku. W klimacie umiarkowanym ten optymalny okres to wiosna lub wczesne lato (Rosa i Bryant 2003, Chemineau i in. 2008). Wśród wielu środowiskowych czynników zmiany w długości dnia świetlnego (fotoperiod) są najistotniejszym źródłem informacji o nadchodzącej porze roku, gdyż – niezależnie od wahań temperatury, wilgotności czy opadów – występują stale z tą samą regularnością (Yasuo i Yoshimura 2009). Również pozostałe czynniki środowiskowe w większym lub mniejszym stopniu oddziałują na sezonowe procesy rozrodcze (Gebbie i in. 1999, Zeron i in. 2001, Rosa i Bryant 2003).

Gatunki, które wykorzystują fotoperiod do synchronizacji procesów rozrodczych z porą roku, dzielą się na zwierzęta „dnia długiego” i „dnia krótkiego”. Do pierwszej grupy należą zwierzęta o długim okresie ciąży, np. koń (*Equus caballus L.*), w przypadku którego ciąża trwa 320–350 dni, jak również te, u których ciąża trwa krótko i które mogą rodzić wielokrotnie podczas wiosny i lata. Wchodzą one w sezon rozrodczy w okresie wydłużania się dnia świetlnego (Nakao i in. 2008, Yasuo i Yoshimura 2009). Gatunki z drugiej grupy, takie jak owca (*Ovis aries*), koza (*Capra hircus*), jeleń szlachetny (*Cervus elaphus*) czy daniel (*Dama dama*), u których ciąża trwa od 5 do 8 miesięcy, rozpoczynają aktywność płciową wraz ze skracającą się długością dnia świetlnego (Anderson i Barrell 1998 a, Udała i Błaszczuk 1999, Rosa i Bryant 2003, Nakao i in. 2008). Należy podkreślić, iż sezonowe strategie rozrodcze występujące w bardzo licznej grupie zwierząt w największym stopniu dotyczą zwierząt wolno żyjących (Concannon i in. 1999, Kozdrowski i Dubiel 2004), w mniejszym stopniu natomiast zwierząt udomowionych (Udała i Błaszczuk 1999, Stankiewicz i in. 2007, Stankiewicz i in. 2008). Wśród zwierząt udomowionych kozy i owce, mimo że zostały udomowione znacznie wcześniej niż bydło (*Bos Taurus*), świnię (*Sus scrofa f. domestica*), osły (*Equus africanus f. asinus*), wielbłądy (*Camelus*) czy konie (*Equus caballus L.*), charakteryzują się najwyraźniejszymi sezonowymi zmianami w reprodukcji, szczególnie rasy zamieszkujące obszary na wyższych szerokościach geograficznych. W związku z tym kozy i owce są przedmiotem licznych badań mających na celu poznanie i wyjaśnienie złożonych mechanizmów kierujących sezonowym rytmem rozrodu w świecie zwierząt, zwłaszcza że prowadzenie badań dotyczące zwierząt wolno żyjących jest utrudnione z uwagi na ich życie w warunkach naturalnych.

Sezon rozrodczy u kóz i owiec rozpoczyna się w miesiącach letnio-jesiennych, a kończy późną zimą albo na początku wiosny (Chemineau i in. 1991, Amoah i in. 1996). W okresie tym u samic występuje kilka cykli rujowych, przy czym u ras prymitywnych sezon aktyw-

ności płciowej trwa krócej niż u ras szlachetnych (Vosniakou i in. 1989, Thiéry i in. 2002). W pozostałym okresie roku, zwanym sezonowym *anestrus*, aktywność cykliczna jajników zostaje zahamowana (Menegatos i in. 2006). W okresach przejściowych, czyli od sezonu rozrodczego do *anestrus* i odwrotnie, aktywność wydzielnicza jajników i długość cykli rujowych różni się od ich długości w środkowej fazie sezonu rozrodczego (Bartlewski i in. 1999, Rivera i in. 2003, Rosa i Bryant 2003). Zjawisko sezonowości rozrodu dotyczy również samców, ale w przeciwieństwie do samic sezonowe zmiany w przebiegu procesów rozrodczych są u nich mniej wyraźne. Jednak również u nich obserwuje się zależne od sezonu zmiany w wielkości i czynności gametotwórczej jąder, zmiany w sekrecji testosteronu i nasileniu libido (Lincoln i in. 1990, Parkinson i Follett 1995, Gerlach i Aurich 2000, Yasuo i in. 2006).

Stwierdzono, że u zwierząt „dnia krótkiego” wydłużenie dnia na wiosnę nie tylko hamuje aktywność płciową, ale także uwrażliwia je na krótki dzień. Rola „dnia krótkiego” polega natomiast na podtrzymaniu zakodowanej genetycznie długości sezonu rozrodczego. Jest to związane ze zjawiskiem fotorefrakcji, czyli stopniowej adaptacji do skracającego się lub wydłużającego się dnia (Malpoux i Karsch 1990, Watanabe i in. 2007, Nakao i in. 2008).

Głównym narządem pośredniczącym w odbiorze informacji świetlnej ze środowiska i przetwarzaniu jej na sygnał biochemiczny, w postaci rytmicznej syntezy i uwalniania związku o charakterze neurohormonu – melatoniny, jest szyszynka (Arendt i in. 1983). Droga, jaką dociera informacja świetlna ze środowiska do szyszynki, rozpoczyna się w siatkówce oka, skąd transmitowana jest nerwem wzrokowym do jąder nadskrzyżowaniowych podwzgórza SCN (ang. *suprachiasmatic nuclei*); następnie impuls w formie potencjałów aktywności dociera szlakiem wieloneuronalnym, poprzez zwój szyjny, do zazwojowych włókien współczulnych unerwiających pinealocyty. W fazie ciemności dochodzi do aktywacji elektrycznej tych włókien i wzrasta wydzielanie z jej zakończeń noradrenaliny, która po związaniu się w błonach pinealocytów z własnymi receptorami uruchamia sekwencję zdarzeń prowadzących do wzrostu aktywności wewnątrzkomórkowego cyklicznego AMP (cAMP). W efekcie dochodzi do aktywacji N-acetylotransferazy (NAT) – kluczowego enzymu w syntezie melatoniny. Czas trwania wzmoczonej syntezy melatoniny jest proporcjonalny do czasu trwania okresu ciemności i przez to informuje organizm o porze doby, a stopniowe wydłużanie się lub skracanie tego okresu, informuje o zmianie pór roku. Pozwala to na synchronizację endogenego rytmu okołorocznego z warunkami zewnętrznymi (Udała i Błaszczuk 1999). O powyższej roli tego hormonu świadczą badania przeprowadzone na owcach, u których eliminacja okołodobowego rytmu uwalniania melatoniny w wyniku usunięcia szyszynki (pinealektomii) powodowała zaburzenia rytmów rocznych (Woodfill i in. 1994).

Melatonina nie jest magazynowana w pinealocytach, ale natychmiast uwalniana do krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego – tą drogą dociera do różnorodnych komórek organizmu zdolnych do odbioru sygnału melatoninowego. Obecność receptorów melatoninowych identyfikowano na każdym poziomie osi podwzgórze–przysadka–gonady, ale główne działanie melatoniny wiąże się z różnymi obszarami centralnego systemu nerwowego. Najwięcej receptorów melatoninowych znajduje się w części guzowatej przysadki (*pars tuberalis*) i jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza. Uważa się, że SCN pełni funkcję nadrzędnego zegara biologicznego, natomiast *pars tuberalis* odgrywa istotną rolę w regulacji procesów za-



leżnych od pór roku. Obecność receptorów melatoninowych stwierdzono także w obszarze przedsuteczkowym PMR (ang. *premamillary region*) i środkowo-podstawnym podwzgórza MBH (ang. *mediobasal hypothalamus*) i to właśnie te miejsca łączy się z udziałem melatoniny w kontroli sezonowej reprodukcji (Malpaux i in. 1996, Thiery i in. 2002, Rosa i Bryant 2003, Migaud i in. 2005).

Według modelu przedstawionego przez Karscha (1980) sezonowe zmiany w rozrodzie związane są ze zmianami wrażliwości generatora pulsów uwalniania gonadoliberyny GnRH (ang. *gonadotropin releasing hormone*) na hamujący wpływ  $17\beta$ -estradiolu ( $E_2$ ). W sezonie rozrodczym ujemne oddziaływanie  $17\beta$ -estradiolu jest niewielkie i powoduje zwiększoną częstotliwość uwalniania GnRH, a tym samym hormonu luteinizującego LH (ang. *luteinizing hormone*) z części gruczołowej przysadki. Zapewnia to utrzymanie wysokiego stężenia LH we krwi i warunkuje cykliczność zmian w jajniku. Pod koniec sezonu rozrodczego, podczas regresji ostatniego ciała żółtego, wzrasta ujemny wpływ  $17\beta$ -estradiolu na sekrecję GnRH i LH, co w konsekwencji ogranicza uwalnianie LH. Hormon ten nie osiąga właściwego progu, nie dochodzi też do przedowulacyjnego wzrostu uwalniania  $17\beta$ -estradiolu inicjującego przedowulacyjny wyrzut LH, w związku z czym nie może wystąpić owulacja. Przejście z sezonu rozrodczego do *anestrus* wynika więc z przerwy w regulacji procesów prowadzących do owulacji. Powoduje to zakończenie cyklicznych zmian w jajniku i warunkuje przejście do *anestrus* (Udała i Błaszczuk 1999). Podczas tego okresu stężenie progesteronu we krwi ( $P_4$ ) pozostaje niskie, a pulsacyjne uwalnianie LH ograniczone. Ponadto w okresie tym, jak wskazują Bartlewski i in. (1999), jajnikowa wrażliwość na gonadotropowe bodźce również jest obniżona. Nie oznacza to jednak, że podczas trwania *anestrus* nie dochodzi do wzrostu pęcherzyków jajnikowych i że system generujący pulsy LH jest zupełnie beczny (Barrell i in. 1992, Anderson i Barrell 1998 b, Rosa i Bryant 2003). Dlatego najbardziej wiarygodną wskazówką o rozpoczęciu, trwaniu i zakończeniu sezonowego *anestrus* jest ocena stężenia hormonu luteinizującego lub/i progesteronu (Arendt i in. 1983, Dahl i in. 1995, Papachristoforu i in. 2000, Anderson i in. 2003, Hernandez i in. 2003, Maurenbrecher i Barrell 2003, Menegatos i in. 2006).

Uważa się, iż zmiany wrażliwości generatora pulsów GnRH zależą przede wszystkim od fotoperiodu. Interesujący jest zatem mechanizm oddziaływania rytmu wydzielania melatoniny na zmiany wrażliwości generatora pulsów GnRH. Jednak, mimo wielu prac opisujących modyfikujący wpływ melatoniny na sekrecję GnRH w czasie skracającego się dnia (Zygoiannis i in. 1993, Thiéry i in. 2002), dokładny mechanizm działania tej indolaminy nie został dotychczas wyjaśniony. Przyjmuje się, że w aktywacji podwzgórzowych neuronów GnRH przez melatoninę biorą udział różne układy neurotransmisyjne (Malpaux i in. 1996, Anderson i Barrell 1998 b). Melatonina działa bowiem na neurony GnRH nie bezpośrednio, lecz przez pobudzenie obszaru przedsuteczkowego podwzgórza. W obszarze tym stwierdzono dobowy rytm ekspresji genu melatoninowego, z jej najwyższym nasileniem pod koniec nocy (Migaud i in. 2005). Niewykluczone, iż w procesach związanych z sezonowymi zmianami aktywności generatora pulsu GnRH uczestniczy kisspeptyna. Badania z ostatnich lat wykazały stymulujący wpływ tego peptydu na wydzielanie GnRH, przy czym – co jest ważne – neurony kisspeptyny lub ich zakończenia znajdują się blisko neuronów GnRH i mają recep-

tory estrogenowe  $\alpha$  i  $\beta$  (Klocek-Górka i Zięba 2008). Według Ohkura i in. (2009) istotne znaczenie w wewnętrznym generowaniu pulsów GnRH u kóz mogą mieć neurony kisspeptyny zlokalizowane w jądrze łukowatym podwzgórza ARC (ang. *arcuate nucleus*).

W kontroli aktywności generatora pulsów GnRH uwzględnia się również działanie hormonów tarczycy (Karsch i in. 1995, Anderson i Barrell 1998 b). Jedną z hipotez zakłada, że hormony te działając w obszarze mózgu, mogą wpływać na zmiany plastyczności neuronalnej, a tym samym na sezonowe zmiany morfologiczne w systemie neurosekrecyjnym GnRH (Anderson i in. 2003, Nakao i in. 2008, Yasuo i Yoshimura 2009).

## 1.2. Synteza i metabolizm hormonów tarczycy

Tarczyca jest nieparzystym gruczołem endokrynnym, bogato unaczynionym i unerwionym. Zbudowana jest z dwóch płatów połączonych cieśnią. U kóz i owiec płaty te mają kształt migdałowaty; każdy z nich umiejscowiony jest na grzbietowo-bocznej stronie tchawicy – poniżej krtani (Bhardwaj i in. 2006).

Jednostką strukturalną tarczycy są pęcherzyki zbudowane z komórek nabłonkowych sześciennych zwanych tyreocytami. Wnętrze pęcherzyków wypełnia koloid, a głównym jego składnikiem jest tyreoglobulina. Rozmiar pęcherzyków i wysokość tyreocytów zmieniają się w zależności od stanu funkcjonalnego tarczycy (Ozmen i Haligur 2005). Pęcherzyki tarczycy są miejscem syntezy jodotyronin: tyroksyny  $T_4$  (3,5,3',5'-tetrajodotyroniny), trójiodotyroniny  $T_3$  (3,5,3'-trijodotyroniny), odwróconej trójiodotyroniny rT3 (3'5'3-rewers-trijodotyroniny) i dwujodotyroniny  $T_2$  (3,3'-dijodotyroniny) – Hulbert (2000). Tarczyca produkuje również kalcytoninę, serotoninę i somatostatynę; miejscem syntezy tych związków są komórki przypęcherzykowe – tzw. komórki C (Kameda i in. 1982, Zabel 1984, Barasch i in. 1987, Ozmen i Haligur 2005).

Pierwszym etapem syntezy jodotyronin jest gromadzenie jodków, które dzięki szczególnym właściwościom komórek tarczycy są przez nie wychwytywane i magazynowane. W drugim etapie dochodzi do utleniania jodków, a przy udziale tyreoperoksydazy następuje jodowanie reszt tyrozynowych tyreoglobuliny. Produktami jodowania są monojodotyrozyna (MIT) i dwujodotyrozyna (DIT). Trzeci etap syntezy polega na sprzęganiu powstałych cząsteczek jodotyrozyn. W wyniku połączenia dwóch cząsteczek DIT powstaje tyroksyna, a efektem połączenia jednej cząsteczki MIT z cząsteczką DIT jest trójiodotyronina. Powstałe  $T_3$  i  $T_4$ , połączone z tyreoglobuliną, wydzielane są do światła pęcherzyków tarczycy, a następnie w wyniku proteolizy uwalniane do układu krążenia. Tyroksyna jest syntetyzowana wyłącznie w tarczycy i jest jej głównym produktem (Gereben i in. 2008). Z jednej cząsteczki tyreoglobuliny uwalniane są 3–4 cząsteczki  $T_4$  i tylko 1–2 cząsteczki  $T_3$ . Ponadto okres półtrwania  $T_4$  jest znacznie dłuższy niż  $T_3$ . U owiec okres półtrwania  $T_3$  wynosi ok. 9 godzin, natomiast  $T_4$  od 33 do 47 godzin (Falconer 1966, Maurenbrecher i Barrell 2003).

Tyroksyna charakteryzuje się też większą zdolnością wiązania z białkami nośnikowymi, do których należą globulina wiążąca tyroksynę TBG (ang. *thyroxine binding globulin*), prealbumina wiążąca tyroksynę TBPA (ang. *tyroxine binding prealbumin*), zwana też transtyretyną TTR (ang. *transtiretin*), i albuminy (Vijlder de i in. 1992, Ball 2006). Spośród

białek transportujących tyroksynę należy wymienić białko transportujące aniony organiczne OATP1c1 (ang. *organic anion transporting polypeptide*), dzięki któremu  $T_4$  może przenikać barierę krew–mózg (Ball 2006, Gereben i in. 2008, Yasuo i Yoshimura 2009). Z kolei w procesach związanych z transportem międzykomórkowym  $T_3$ , zwłaszcza w obszarze mózgu, uczestniczą transportery błonowe MCT10 i MCT8 (ang. *monocarboxylate transporters*) – Gereben i in. (2008).

Zadaniem białek nośnikowych jest nie tylko transport hormonów, ale także poprzez tworzenie swoistego rodzaju magazynu zabezpieczenie przed nagłym wzrostem lub spadkiem aktywności tarczycy. U owcy w formie związanej z białkami występuje 99,9%  $T_4$  i 99,5%  $T_3$ , które są nieaktywne hormonalnie, gdyż tylko wolne frakcje hormonów ( $FT_4$ ,  $FT_3$ ) mogą przenikać do wnętrza komórek i wywoływać efekt biologiczny (Villar i in. 2002, Todini 2007).

Jeśli chodzi o biologiczną aktywność hormonów tarczycy, tyroksyna jest znacznie mniej aktywna od  $T_3$  i jest uważana za jej prohormon (Yasuo i in. 2006, Gereben i in. 2008). Ponadto trójjodotyronina wykazuje znacznie większe powinowactwo do receptorów hormonów tarczycy ( $TR\alpha-1$ ,  $TR\alpha-2$ ,  $TR\beta-1$ ,  $TR\beta$ ) i jest głównym hormonem działającym na poziomie komórek efektorowych (Jansen i in. 1997, Oppenheimer i Schwartz 1997, Cheng i in. 2010). W obrębie tych komórek hormony tarczycy działają głównie przez receptory jądrowe, ale również przez receptor mitochondrialny i cytozolowy (Cheng i in. 2010). Receptor jądrowy indukuje biosyntezę matrycowego RNA (mRNA – *messenger RNA*) i rybosomalnego RNA (rRNA – *ribosomal RNA*) na potrzeby syntezy wielu białek enzymatycznych, a w mitochondriach aktywuje  $Na^+/K^+$ -ATP-azę niezbędną do prawidłowego funkcjonowania pompy sodowo-potasowej. Przypuszcza się, iż receptor cytozolowy jest głównym regulatorem konwersji  $T_4$  do  $T_3$  lub do  $rT_3$ . Takie wewnątrzkomórkowe mechanizmy obrotu  $T_4$  i  $T_3$  chronią komórki przed niedoborem i nadmiernym skutkiem działania  $T_3$ . Inaktywacja hormonów tarczycy, związana z ich enzymatyczną przebudową lub degradacją, zachodzi głównie poprzez odjodowanie tyronin (Villar i in. 2002).

Tarczyca pozostaje pod ścisłą kontrolą podwzgórza i przysadki mózgowej. Podwzgórze wydziela tyreoliberynę TRH (ang. *thyreotropin releasing hormone*), która stymuluje komórki tyreotropowe przysadki do syntezy i uwalniania tyreotropiny TSH (ang. *thyroid stimulating hormone*). Ta z kolei wpływa na wszystkie etapy syntezy hormonów, a także na wydzielenie ich do układu krążenia (Huszenicza i in. 2002). Mechanizm ten podlega ujemnym sprzężeniom zwrotnym pomiędzy tarczycą a przysadką i podwzgórzem (Dahl i in. 1994 b, Bechtold i Loudon 2007). Podwzgórze kontroluje uwalnianie TSH również poprzez czynniki hamujące, takie jak somatostatyna i dopamina (Michalkiewicz i in. 1987). Leptyna – hormon syntetyzowany przez tkankę tłuszczową, hamujący czynność drogi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej, może odgrywać także ważną rolę w regulacji neuroendokrynej układu podwzgórze–przysadka–tarczyca (Huszenicza i in. 2002, Jantas 2009, Gereben i in. 2008). Sekrecja hormonów tarczycy zależy również od wielu czynników oddziałujących na syntezę białek nośnikowych, transport i wewnątrzkomórkową degradację hormonów tarczycy, a zwłaszcza od procesów związanych z obwodową przemianą tyroksyny, polegającą na jej częściowym enzymatycznym odjodowaniu do  $T_3$  (Villari i in. 2002, Todini 2007). W procesach tych uczestniczą trzy dejodynazy należące do rodziny selenoprotein. Są to: dejodynaza

typu I (5'-monodejodynaza – D1), typu II (5'-mnodejodynaza – D2) i typu III (5-monodejodynaza – D3); D1 i D3 zlokalizowane są w błonie plazmatycznej, a D2 w retikulum endoplazmatycznym (Gereben i in. 2008). Dzięki temu systemowi enzymatycznemu możliwa jest lokalna kontrola stężeń hormonów tarczycy (Rudas i in. 2005, Yasuo i in. 2006, Yasuo i Yoshimura 2009).

Dejodynaza typu I jest enzymem wielofunkcyjnym – jako jedyna spośród dejodynaz katalizuje zarówno reakcję odjodowania  $T_4$  z wytworzeniem  $T_3$ , jak i reakcje prowadzące do powstania  $T_2$  i  $rT_3$ . Wykazuje najwyższe powinowactwo do  $rT_3$ , mniejsze do  $T_4$  i  $T_3$ . Odpowiada za 30–40% syntezy obwodowej  $T_3$ ; działa głównie w wątrobie, nerce, przysadce mózgowej, płucach, gruczole mlecznym (Villar i in. 1998, Pezzi i in. 2003). Występuje również w tarczycy, ale u przeżuwaczy, w przeciwieństwie do ludzi i gryzoni, jej aktywność w tym gruczole jest bardzo niska (Villari i in. 2002).

Dejodynaza typu II, podobnie jak D1, katalizuje reakcję odjodowania zewnętrznego pierścienia  $T_4$ , w wyniku której powstaje bioaktywna cząsteczka  $T_3$  (Gereben i in. 2008). Ponadto wpływa na wielkość wysycenia receptorów tarczycowych i z tego względu uważana jest za główny enzym odpowiedzialny za wewnątrzkomórkowe stężenie  $T_3$  (Rudas i in. 2005, Gereben i in. 2008). Miejscami działania tego enzymu są: skóra, mięśnie szkieletowe, brunatna tkanka tłuszczowa, gruczoł mleczny, serce, przysadka mózgowa, a przede wszystkim mózg (Villar i in. 1998, Ślebodziński i in. 1999, Villar i in. 2000, Diano i in. 2003, Todini 2007). W prawdopodobnej roli dejodynazy typu II w sezonowości rozrodu ważna jest jej obecność w środkowo-podstawnym podwzgórzu, którą potwierdzono zarówno u zwierząt należących do gatunków „dnia długiego”, jak i „dnia krótkiego” (Revel i in. 2006, Yasuo i Yoshimura 2009). Badania Yasuo i in. (2006) nad ekspresją genu *D2* w różnych obszarach MBH u kozłów wskazują na lokalizację tej dejodynazy w jądrze łukowatym i zewnętrznej strefie wyniosłości pośrodkowej ME (ang. *median eminence*). Autorzy ci podkreślają, że nasilenie ekspresji genu *D2* w MBH kontrolowane jest przez fotoperiod. U kozłów wykazano hamujący wpływ bodźca „dnia długiego” na ekspresję *D2*, natomiast u chomika syryjskiego efekt „dnia długiego” był odwrotny (Revel i in. 2006, Yasuo i in. 2006). Nie stwierdzono jednak zależności między długością dnia świetlnego a ekspresją *D2* u szczura laboratoryjnego, którego rozród nie zależy od zmian w fotoperiodzie (Revel i in. 2006). Badania nad metabolizmem hormonów tarczycy w obszarze podwzgórza wykazały, iż miejscem działania dejodynazy typu II są wyspecjalizowane komórki glejowe – tanocyty i astrocyty (Diano i in. 2003).

Dejodynaza typu III jest odpowiedzialna za wewnątrzkomórkową degradację  $T_4$  i  $T_3$ . W wyniku odjodowania wewnętrznego pierścienia  $T_3$  powstaje  $T_2$ , a efektem odjodowania wewnętrznego pierścienia  $T_4$  jest  $rT_3$  (Rudas i in. 2005, Watanabe i in. 2007). Uważa się, iż *D3* dzięki swojej inaktywacyjnej funkcji może chronić komórki przed nadmiarem  $T_3$ . Należy podkreślić, iż  $rT_3$  zmniejsza zużycie tlenu. Stosunek ATP/ADP jest też silnym inhibitorem dejodynazy typu II (Bobek 2006, Todini 2007). Dejodynaza typu III występuje głównie w łożysku, ciężarnej macicy, tkankach embrionalnych, ośrodkowym układzie nerwowym. Yasuo i Yoshimura (2009) wskazują na jej możliwy udział w sezonowości rozrodu, gdyż – podobnie jak dejodynaza typu II – występuje ona w środkowo-podstawnym podwzgórzu; przy czym – jak podają ww. autorzy – ekspresja genów kodujących *D2* i *D3* zależy od melatoniny. Zależ-

ność tę podkreślają także badania przeprowadzone na chomiku syryjskim (Revel i in. 2006). Nie wiadomo jednak, w jaki sposób melatonina wpływa na ekspresję genów *D2* i *D3* w obszarze jądra łukowatego i wyniosłości pośrodkowej podwzgórza. Przypuszcza się, iż jednym z potencjalnych pośredników w tym szlaku sygnałowym jest TSH, na co zwracają uwagę Nakao i in. (2008).

Według ww. autorów zmiany w aktywności jodotyroninowych dejodynaz mają kluczowe znaczenie w procesach związanych z plastycznością neuronów GnRH. Watanabe i in. (2007) sugerują ponadto ich udział w fotoindukcji i fotorefrakcji u ptaków i ssaków.

Istnienie systemu enzymatycznego w różnych częściach organizmu wskazuje, że źródłem hormonów tarczycy, a w szczególności aktywnej trójjodotyroniny, jest nie tylko tarczyca, ale przede wszystkim tkanki obwodowe (Rudas i in. 2005).

### 1.3. Fizjologiczna rola hormonów tarczycy

Hormony tarczycy są potrzebne do prawidłowej kontroli podstawowych procesów komórkowych, takich jak proliferacja i różnicowanie (Cheng i in. 2010). Hormony te przyspieszają przemianę tlenową, regulują metabolizm białek, węglowodanów, tłuszczów i azotu, a także gospodarkę wodno-elektrolitową i przemianę witamin. Wpływają na aktywność wielu enzymów, w tym odpowiedzialnych za obronę antyoksydacyjną (Pereira i in. 1994, Das i Chainy 2001). To wielokierunkowe działanie hormonów tarczycy powoduje, że w stężeniu fizjologicznym są one niezbędne do prawidłowego funkcjonowania komórki, tkanki i całego organizmu (Matamoros i in. 2003). Natomiast w dawkach ponadfizjologicznych nasilają katabolizm (Moraes i in. 1998). Wszystkie te procesy zależne są więc od stężenia i biodostępności hormonów tarczycy, a także od obecności innych czynników, z którymi oddziałują na poziomie molekularnym (Gereben i in. 2008).

Zmiany w ich bioaktywności umożliwiają zwierzętom zachowanie równowagi metabolicznej w zmieniających się warunkach środowiskowych oraz w różnych stanach fizjologicznych (Bekeová i in. 1991, Bitman i in. 1994, Concannon i in. 1999, Ślebodziński i in. 1999, Rhind i in. 2002, Pezzi i in. 2003, Todini i in. 2007). Hormony tarczycy wpływają na rozwój, dojrzewanie i wzrost młodego organizmu. Ich działanie rozpoczyna się już w życiu płodowym (Ozmen i Haligur 2005). W okresie rozwoju regulują wzrost tkanek, syntezę niektórych enzymów komórkowych, a także pobudzają dojrzewanie centralnego układu nerwowego i układu kostnego. Hormony tarczycy, oddziałując na przemiany metaboliczne w gruczole mlecznym, warunkują produkcję mleka, a tym samym gwarantują wykarmienie potomstwa (Ślebodziński i in. 1999). Uczestniczą w procesie termostabilizacji po urodzeniu (Symonds i in. 1996 a, Rock i in. 2001, Dwyer 2008), a dzięki funkcji termoregulacyjnej umożliwiają przystosowanie się dorosłych zwierząt do zmiennych warunków otoczenia (Al-Tamimi 2007, Todini 2007, Zarei i in. 2009). Ich działanie termoregulacyjne polega na zwiększeniu produkcji ciepła przez organizm oraz pobudzeniu procesu utleniania w tkankach (Concannon i in. 1999, Gereben i in. 2008). Do głównych mechanizmów tej funkcji należy stymulacja syntezy białek rozprzęgających (tzw. termogenin) w błonie mitochondrialnej, które uczestniczą w fosforylacji oksydacyjnej ATP do ADP, a także indukcja aktywności  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-azy (Todini 2007).



Adaptacyjna rola hormonów tarczycy u zwierząt polega nie tylko na zmianach w metabolizmie czy termoregulacji, ale również na wielu innych procesach zmieniających się sezonowo, takich jak zmiana okrywy włosowej, wzrost poroża czy rozród (Lincoln i in. 1980, Shi i Barrell 1992, Kloren i in. 1993, Rhind i in. 2002, Abecia i in. 2005).

Obecne we krwi obwodowej hormony tarczycy mogą dostarczać jednolity sygnał do wszystkich tkanek organizmu, ale ich biologiczny efekt nie jest jednorodny. Wśród tych tkanek mózg jest szczególnym miejscem metabolizmu i działania hormonów tarczycy (Jansen i in. 1997). Uważa się, iż miejscem konwersji  $T_4$  do  $T_3$  są tanocyty i astrocyty, a docelowym miejscem działania  $T_3$  są neurony. Reakcje odjodowania w komórkach glejowych katalizowane są przez  $D2$ ; w neuronach występuje  $D3$  (Diano i in. 2003).

W lokalnej kontroli stężeń hormonów tarczycy w obszarze mózgu uwzględnia się nie tylko system dejodynaz, ale wymienione wyżej specyficzne transportery, takie jak OATP1c1 i MCT8 (Ball 2006). Dzięki temu hormony tarczycy mogą przenikać barierę krew-mózg, a neurony są chronione przed niedoborem bądź nadmiarem  $T_3$  (Gereben i in. 2008).

Ta regulacja jest niezbędna, gdyż hormony tarczycy, a zwłaszcza  $T_3$  odgrywają decydującą rolę w rozwoju, dojrzewaniu i funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego (Rudas i in. 2005, Bechtold i Loudon 2007). Jedną z ważniejszych funkcji hormonów tarczycy jest ich wpływ na neuroplastyczność, która w życiu płodowym charakteryzuje się proliferacją i migracją neuronów, a w życiu postnatalnym zdolnością do wzrostu aksonów i dendrytów, reorganizacją połączeń synaptycznych między neuronami, a także proliferacją komórek glejowych (Bechtold i Loudon 2007, Cheng i in. 2010). U ludzi hormony tarczycy zapobiegają degeneracji neuronów i hamują powstawanie blaszek starczych (Ostrowski i in. 2005).

W obszarze podwzgórza trójiodotyronina jest ważnym czynnikiem wpływającym na wiele ośrodków nerwowych, np. na ośrodek łaknienia i sytości, a w świetle nowszych badań również na ośrodki kontrolujące procesy rozrodcze.

#### 1.4. Udział hormonów tarczycy w kontroli sezonowości rozrodu

Mimo że wiele fizjologicznych procesów u przeżuwaczy wymaga prawidłowej czynności tarczycy, szczególna rola hormonów tarczycy została przedstawiona głównie w badaniach dotyczących funkcji rozrodczych. Wyniki badań *in vivo* oraz *in vitro* wskazują, że hormony tarczycy modyfikują czynności rozrodcze zarówno na poziomie jajnika, jak również na poziomie osi podwzgórzowo-przysadkowej (Moraes i in. 1998, Spicer i in. 2001, Billings i in. 2002, Chadio i in. 2002, Błaszczyk i in. 2004, Błaszczyk i in. 2006, Zarei i in. 2009).

Przypuszcza się, iż hormony tarczycy są ważnym sygnałem biochemicznym inicjującym jeden z etapów rocznego rytmu w rozrodzie. Świadczą o tym badania przeprowadzone na owcach, u których indukowana niedoczynność tarczycy (hipotyreoza) przedłużała sezon rozrodczy (Follett i Potts 1990, Hernandez i in. 2003), a chirurgiczne usunięcie tarczycy (tyreidektomia) blokowało neuroendokryne zmiany prowadzące do sezonowego *anestrus* (Webster i in. 1991).

Wielu informacji na temat wpływu hormonów tarczycy na sezonową aktywność rozrodczą dostarczyły długoletnie badania na owcach rasy suffolk prowadzone przez zespół ba-

daczy University of Michigan w Ann Arbor, USA (Moenter i in. 1991, Webster i in. 1991, Dahl i in. 1994 a, Thrun i in. 1997, Billings i in. 2002). W badaniach tych podawanie egzogennej tyroksyny zwierzętom poddanych tyreidektomii przywracało, a nawet przyspieszało przejście w *anestrus*. Dahl i in. (1995) uściślili działanie hormonów tarczycy jako umożliwiające zmiany neuroendokrynne prowadzące do sezonowego zahamowania aktywności płciowej. Autorzy ww. podając tyroksynę i stosując zmienne warunki świetlne, stwierdzili, że interakcja tarczycy i neuroendokrynnej osi reprodukcyjnej nie jest jednakowa we wszystkich porach roku i ograniczona jest do pewnego okresu. Jak podają Thrun i in. (1997), hormony tarczycy są niezbędne od końca grudnia przez co najmniej 60–90 dni. Billings i in. (2002) sugerują jednak, że rola tych hormonów związana jest nie tylko z okresem przejściowym do *anestrus*, ale również z utrzymaniem i/lub uruchomieniem rocznego rytmu w rozrodzie w taki sposób, by sezon rozrodczy zaczął się we właściwym czasie. Według cytowanych autorów „okno” wrażliwości na T<sub>4</sub> otwiera się w późnym sezonie rozrodczym i stopniowo zamyka od połowy do późnego *anestrus*. Anderson i Barrell (1998 a) sugerują, że u łani jelenia szlachetnego okres ten może trwać jeszcze dłużej. Jednakże w innych badaniach stwierdzono, że u owiec tyreidektomia w końcowym okresie *anestrus* wpływa na czas rozpoczęcia jajnikowej cykliczności w sezonie rozrodczym (Nicholls i in. 1988). Billings i in. (2002) uważają, że nie wszystkie neuroendokrynne procesy sezonowe zależą od hormonów tarczycy, ponieważ usunięcie tarczycy nie spowodowało zmian w rocznym rytmie uwalniania prolaktyny.

Badania ww. autorów, a także innych zespołów badawczych (Anderson i Barrell 1998 a, b, Anderson i in. 2002, 2003), prowadzone na owcy lub jeleniu szlachetnym, stworzyły podstawy do wnioskowania, że rola hormonów tarczycy w sezonowości rozrodu związana jest ze zmianą wrażliwości generatora pulsów GnRH, warunkującą zakończenie sezonu rozrodczego. W mechanizmie tym uwzględnić można dwie możliwości. Z jednej strony, hormony tarczycy działając obwodowo poprzez regulację wielu metabolicznych i fizjologicznych funkcji, mogłyby zmieniać wydzielanie GnRH (Shi i Barrell 1992, Souza i in. 2002, Al-Tamimi 2007, Todini i in. 2007). Z drugiej zaś strony, mogłyby wpływać na zmiany generatora pulsów GnRH, działając w różnych obszarach podwzgórza (Anderson i in. 2002).

Dowody wskazujące na centralne umiejscowienie działania hormonów tarczycy pochodzą z cytowanej pracy Yasuo i in. (2006) na temat obecności dejodynaz w śródkowo-podstawnym podwzgórzu u kozłów, która przedstawia sezonowe zmiany w ekspresji genów kodujących te enzymy. Badania wskazujące na możliwość bezpośredniego wpływu hormonów tarczycy na system generowania pulsów GnRH dotyczą także rozmieszczenia receptorów TR $\alpha$  w mózgu owiec. Ekspresję tych receptorów stwierdzono w 46% neuronów GnRH, w tym 40–60% w obszarze przedwzrokowym podwzgórza POA (ang. *preoptic area*), a także w neuronach dopaminergicznych (Jansen i in. 1997). Uwagę zwraca sezonowa aktywność układu dopaminergicznego przejawiająca się zwiększonym wydzielaniem dopaminy w czasie wydłużającego się dnia świetlnego (Thiéry i in. 2002).

Kolejne dowody wskazujące na centralne działanie hormonów tarczycy uzyskano w badaniach efektu infuzji tyroksyny z mikroimplantów umieszczanych w różnych obszarach podwzgórza u owiec poddanych tyreidektomii (Anderson i in. 2003). W tym doświadczeniu wszystkie owce mające mikroimplanty w brzuszno-przyśrodkowym obszarze przedwzroko-

wym vmPOA (ang. *ventromedial preoptic area*) i w obszarze przedsuteczkowym wchodziły w *anestrus*. Według ww. autorów działanie hormonów tarczycy w tych dwóch obszarach umożliwia rozpoczęcie sezonowego *anestrus*. Interesujące jest to, że neurony GnRH zlokalizowane są głównie w POA (Jansen i in. 1997) i że to właśnie w tych neuronach wykazano zależną od sezonu ekspresję receptorów estrogenowych (Stefanovic i in. 2000). Obszar przedsuteczkowy włączony jest natomiast w przetwarzanie informacji kodowanej przez rytm uwalniania melatoniny niezbędnej do kontroli sezonowej reprodukcji (Malpoux i in. 1996, Thiery i in. 2002, Rosa i Bryant 2003, Migaud i in. 2005). Dlatego przypuszcza się, iż szlak działania hormonów tarczycy może być związany z transdukcją sygnału melatoninowego do neurosekrecyjnego systemu GnRH (Anderson i in. 2003).

Nie wiadomo jednak, czy hormony tarczycy działają jako neuroprzekaźniki czy raczej wpływają na plastyczność neuronalną. Ta ostatnia sugestia uwzględnia możliwe oddziaływanie hormonów tarczycy na reorganizację połączeń synaptycznych między neuronami GnRH i neuronami dopaminergicznymi. W rezultacie tych zmian dopamina mogłaby hamująco wpływać na uwalnianie GnRH (Anderson i in. 2003). Nie można również wykluczyć, że indukowana przez hormony tarczycy plastyczność neuronalna obejmuje inne interakcyjne oddziaływanie neuronów w obszarze mózgu (Anderson i in. 2003).

Chociaż dokładne działanie hormonów tarczycy w mechanizmach kontrolujących sezonowość rozrodu nie zostało jeszcze wyjaśnione, to prawdopodobnie ich aktywność w obszarze mózgu może mieć istotne znaczenie w zmianach generatora pulsów GnRH (Bechtold i Loudon, 2007). Jednak w tym ogólnym hipotetycznym modelu udziału hormonów tarczycy w kontroli sezonowości rozrodu jest jeszcze wiele luk i niejasności. Nie zostało do końca wyjaśnione, czy wielkość stężenia hormonów tarczycy we krwi ma decydujący wpływ na sezonowe przejście w *anestrus* czy może w procesie tym większe znaczenie mają zmiany w ich bioaktywności czy biodostępności.

Jak podają Hernandez i in. (2003), stężenie tyroksyny we krwi, niezbędne do blokowania *anestrus* u owiec, nie może przekraczać 20 ng/ml. Z kolei infuzja tyroksyny do mózgu zmniejsza wydzielanie GnRH, natomiast ta sama dawka hormonu w postaci iniekcji nie wywoływała takiego efektu (Viguié i in. 1999). Kontrowersyjne są także wyniki dotyczące indukowanej hipotyreozy. W niektórych badaniach obniżanie stężenia tyroksyny we krwi obwodowej wydłużało sezon rozrodczy (Follett i Potts 1990, Hernandez i in. 2003), w innych natomiast nie miało takiego wpływu (Reddy i in. 1996, Maurenbrecher i Barrell 2003, Al-Busadah 2004). Różna jest też interpretacja znaczenia sezonowych zmian stężenia hormonów tarczycy w procesach rozrodczych (Bekeová i in. 1995).

Zagadnieniem spornym pozostaje również udział hormonów tarczycy w sezonowości rozrodu u kóz. Większość wniosków, dotyczących roli hormonów tarczycy w sezonowości rozrodu u zwierząt „dnia krótkiego”, wyciąganych jest na podstawie badań przeprowadzonych na owcach. Część wniosków dostarczają też badania wykonane na jeleniach szlachetnych; zaledwie kilka prac opisuje to zagadnienie u kóz. Wyniki tych prac jednak nie zawsze są jednoznaczne z wynikami badań przeprowadzonych na owcach czy jeleniach (Reddy i in. 1996, Walkden-Brown i in. 1996, Al-Busadah 2004).



## 1.5. Indukcja hipotyreozy u przeżuwaczy

W modelach doświadczalnych w celu zbadania wielorakich funkcji tarczycy u przeżuwaczy często przeprowadza się tyreidektomię i stosuje się różne warianty podawania jodotyronin (Moenter i in. 1991, Webster i in. 1991, Dahl i in. 1994 a, Thrun i in. 1997, Billings i in. 2002, Anderson i in. 2003). Pozwala to na uzyskanie wielu wartościowych wyników, dzięki którym poczyniono ważne kroki w kierunku poznania funkcji hormonów tarczycy w sezonowej reprodukcji. Zdaniem Villar i in. (2002) tyreidektomia jest bardzo efektywną techniką eliminacji hamującego wpływu hormonów tarczycy na reprodukcję, nie przewiduje jednak możliwości wywołania subtelných zmian w stężeniu tych hormonów lub w aktywności dejodynaz. Tyreidektomia nie pozwala też na zbadanie roli tych enzymów w stosunkowo normalnych fizjologicznych warunkach. Należy podkreślić, że stosowanie tej techniki ma znaczne ograniczenia. Jest ona nieodwracalna, przy czym zaprzestanie zastępczej terapii hormonalnej powoduje śmierć. Poza tym terapia ta nie uwzględnia innych hormonów tarczycy. Przykładem może być kalcytonina, która odgrywa istotną rolę w regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej (Chao i in. 1984). Powikłaniem tyreidektomii może być całkowite bądź częściowe usunięcie przytarczyc. Wewnętrzna część przytarczyc u owiec i kóz znajduje się bardzo blisko tarczycy (Causlar i Clair 1974). Efektem zastosowania tyreidektomii byłyby nie tylko zaburzona homeostaza, ale także możliwość uzyskania niejednoznacznych wyników badań.

Znacznie mniej radykalne metody uwzględniają stosowanie preparatów przeciwtarczycowych – tzw. tyreostatyków. Hamują one wewnątrztrzewniczą syntezę tyroksyny i trój-jodotyroniny, ich uwalnianie lub obwodowy metabolizm. Hamujący wpływ tyreostatyków jest odwracalny, trzeba je jednak systematycznie podawać; przy zbyt dużych dawkach ich działanie może być szkodliwe.

Najczęściej stosowanymi tyreostatykami u przeżuwaczy są: metylotiouracyl MTU (ang. *methylthiouracilum*), propyltiouracyl PTU (ang. *propylthiouracil*) i tiomocznik (ang. *thiourea*), które należą do tionamidów (Villar i in. 2002).

Propyltiouracyl jest znanym chemicznym inhibitorem funkcji tarczycy u wielu gatunków i często jest stosowany w doświadczeniach, by indukować stan hipotyreozy u przeżuwaczy (Achmadi i Terashima 1995, Moraes i in. 1998, Hernandez i in. 2003, Wells i in. 2003, Al-Tamimi 2007). Jego działanie opiera się na hamowaniu wbudowywania się jodu do tyreoglobuliny i blokowaniu łączenia się jodowanych tyrozyn w jodotyroniny. Hamuje on też aktywność dejodynazy typu I, konsekwencją czego jest zmniejszona pozatarczycowa konwersja  $T_4$  do  $T_3$  (Achmadi i Terashima 1995). U owiec efekt ten uzyskuje się już przy małych dawkach, natomiast większe dawki działają bezpośrednio na tarczycę, zmniejszając uwalnianie  $T_4$  do krwioobiegu (Villar i in. 1998). Wrażliwość na działanie PTU zależy nie tylko od dawki, ale również od gatunku i wieku zwierząt (Villar i in. 2002). Przypuszcza się, że owca jest bardziej oporna na jego wpływ niż krowa i koza (Achmadi i Terashima 1995, Moraes i in. 1998, Hernandez i in. 2003). Ważną zaletą tego preparatu jest stosunkowo szybki powrót do prawidłowej czynności tarczycy po zaprzestaniu jego podawania (Hernandez i in. 2003). Preparat ten należy do najmniej toksycznych tyreostatyków, ale mimo rzadkiego występowania reakcji niepożądanych w trakcie jego podawania powinno się monitorować parametry morfologiczne krwi oraz funkcję wątroby (Villar i in. 1998, Łącka i Czyżyk 2008).

Podobne działanie do propyltiouracylu ma metylotiouracyl; nie hamuje jednak konwersji  $T_4$  do  $T_3$ . Skuteczność stosowania tego preparatu w indukowaniu hipotyreozy stwierdzono u kóz (Gupta i in. 1990) i owiec (Follett i Potts 1990, Saleh i in. 1998).

Efektywnym preparatem obniżającym stężenie hormonów tarczycy jest tiomocznik (Gupta i in. 1990, Reddy i in. 1996). Jest on jednak o wiele bardziej toksyczny niż inne tyreostatyki, w związku z czym jego stosowanie nie jest zalecane (Sharma i in. 2004, Mostaghni i in. 2008).

Do pochodnych tionamidów należą także metimazol i karbimazol. Nie wpływają one na aktywność dejodynaz, a ich supresyjny wpływ na stężenie hormonów tarczycy oparty jest na hamowaniu syntezy monojodotyrozyny i dwujodotyrozyny (Villar i in. 2002). Stosowany jest głównie w leczeniu nadczynności tarczycy u ludzi i kotów (Trepanier 2007, Łącka i Czyżyk 2008). Preparaty te stosowano także w badaniach krów i owiec, ale ich wpływ na indukowanie hipotyreozy u tych gatunków nie jest jednoznaczny (Premachandra i in. 1960, Sutiaková i in. 1995, Bekeová i in. 1996). W dostępnym piśmiennictwie brakuje danych wskazujących na ich skuteczność w przypadku kóz. Badania z tego zakresu uzupełniłyby wiedzę nt. możliwości zastosowania tych preparatów w modelach doświadczalnych związanych ze stanem niedoczynności tarczycy u przeżuwaczy.

Interesujące wyniki dotyczące omawianego zagadnienia przedstawili Saleh i in. (1998) oraz Maurenbrecher i Barrell (2003). Autorzy ci, stosując codzienną iniekcję egzogennej trójiodotyroniny u owiec, uzyskali znaczne obniżenie stężenia tyroksyny w osoczu krwi. W badaniu tym wykorzystali hamujący wpływ  $T_3$  na oś podwzgórzowo-przysadkową.

## 1.6. CEL PRACY

Celem pracy była analiza rocznego rytmu aktywności sekrecyjnej tarczycy u kóz w różnym wieku oraz ocena wpływu indukowanej hipotyreozy na termin rozpoczęcia sezonowego *anestrus* u tego gatunku zwierząt. W związku z tym określono długość trwania sezonu rozrodczego i zbadano możliwości wywołania efektu tyreostatycznego u kóz.

## **2. MATERIAŁ I METODY**

### **2.1. Harmonogram badań**

Badania wykonano na 14 kozach rasy niemieckiej białej uszlachetnionej, utrzymywanych w Szczecinie (szer. geograficzna 53°23'N) na terenie Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Od wiosny do późnej jesieni w ciągu dnia kozy korzystały z wybiegu, a w godzinach nocnych przebywały w koziarni, w boksach bez uwięzi, na głębokiej ściółce. Zwierzęta były w dobrej kondycji zdrowotnej. Poddawano je rutynowym zabiegom, takim jak korekta racic, odrobaczanie, czyszczenie sierści. Oprócz opieki zootechnicznej zwierzęta objęte były opieką weterynaryjną. Żywienie oparte było na mieszance treściwej (wysłodki buraczane, owies, otręby pszenne) uzupełnianej dobrej jakości sianem łąkowym, słomą jęczmienno-owsianą i mieszanką mineralno-witaminową. Zwierzęta miały stały dostęp do wody i lizawek solnych, a dwa razy w roku otrzymywały Evetsel (preparat zawierający selen i witaminę E). Wiosenna zmiana okrywy włosowej następowała w marcu, a jesienna w okresie od września do października. Badane stado kóz utrzymywane było bez obecności kozłów; w trakcie badań kozy nie były w okresie laktacji i w okresie ciąży.

Wszystkie doświadczenia uzyskały zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt w Szczecinie (Opinia Lokalnej Komisji Etycznej nr 2/02 z 12.02.2002 r., nr 37/02 z 9.12.2002 r.)

Badania rozpoczęto na trzymiesięcznych kozach i kontynuowano je przez cztery lata. Doświadczenie podzielono na dwa etapy.

### **2.2. Doświadczenie 1.**

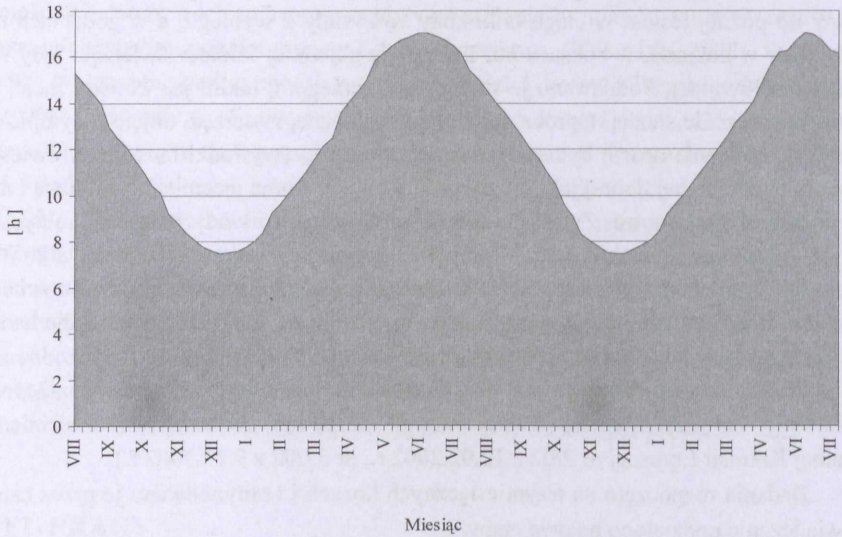
#### **Określenie rocznego rytmu uwalniania tyroksyny i długości sezonu rozrodczego**

W tym etapie badań realizowano dwa zadania. Pierwszym zadaniem było zbadanie rocznych rytmów zmian stężeń tyroksyny we krwi kóz w wieku od 3. do 26. miesiąca życia, a drugim – określenie długości trwania sezonu rozrodczego.

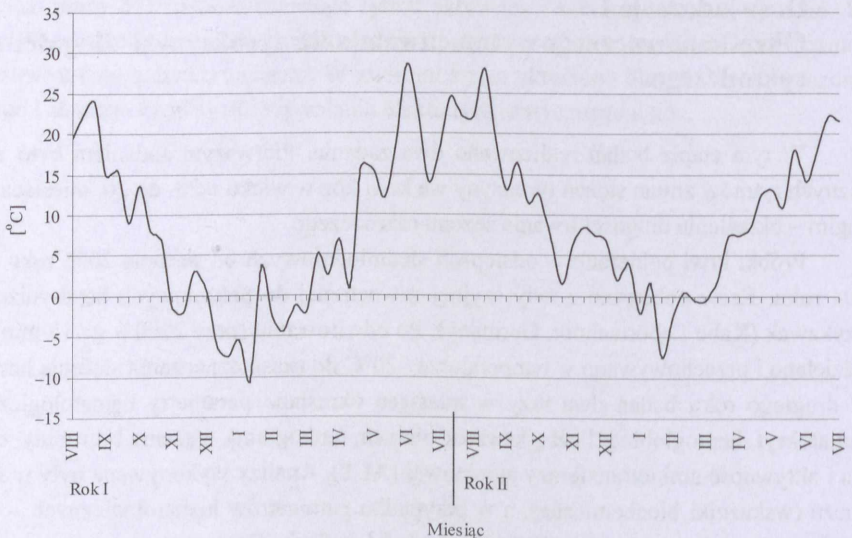
Próbki krwi pobierano w odstępach siedmiodniowych od sierpnia 2002 roku do lipca 2004 roku. Krew pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej do próżniowych heparynizowanych strzykawek (Kabe Labortechnik, Germany). Po odwirowaniu (przy  $2000 \times g / 15 \text{ min}$ ) osocze oddzielano i przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$  do czasu oznaczania stężenia hormonów. Od drugiego roku badań dwa razy w miesiącu określano parametry hematologiczne krwi (hematokryt, hemoglobinę, liczbę krwinek białych, leukogram), stężenie bilirubiny, cholesterolu i aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT). Analizy wykonywane były w świeżym osoczu (wskaźniki biochemiczne), a w przypadku parametrów hematologicznych – we krwi pełnej pobranej do probówek z EDTA (Kabe Labortechnik, Germany).

We wszystkich próbkach osocza, pozyskanego w pierwszym i drugim roku badań, oznaczono stężenie tyroksyny całkowitej ( $T_4$ ). Tyroksyna wolna ( $FT_4$ ) oznaczana była od początku pierwszego do połowy drugiego roku badań.

W celu eliminacji możliwych różnic, wynikających z wpływu młodego wieku na rozpoczęcie sezonu rozrodczego (Papachristoforu i in. 2000), drugą część doświadczenia realizowano u starszych zwierząt, tj. od końca lipca 2003 do końca kwietnia 2004 roku. W próbkach pobranych w tym okresie oznaczano stężenie progesteronu ( $P_4$ ). Równocześnie obserwowano, czy u zwierząt wystąpiły objawy rujowe (Błaszczyk i in. 2004, 2009).



Rys. 1. Długość dnia w kolejnych miesiącach badań



Rys. 2. Temperatura powietrza w kolejnych miesiącach badań

Na rysunkach 1–2 przedstawiono długość dnia i średnie wartości temperatury dziennej w kolejnych miesiącach prowadzonego doświadczenia. Dane meteorologiczne pochodziły z pomiarów Stacji Meteorologicznej i Biura Prognoz IMGW w Szczecinie-Dąbiu. W trakcie doświadczenia rejestrowano także wielkość ciśnienia atmosferycznego.

### 2.3. Doświadczenie 2. Indukcja hipotyreozy

Celem tego doświadczenia było potwierdzenie hipotezy, że obniżenie wzrastającego stężenia tyroksyny we krwi pod koniec sezonu rozrodczego wpływa na termin rozpoczęcia sezonowego *anestrus* u kóz. Aby zrealizować ten cel, określono możliwość obniżenia aktywności sekrecyjnej tarczycy u kóz za pomocą preparatów tyreostatycznych.

Doświadczenie prowadzono od listopada 2004 do końca kwietnia 2005 roku i w analogicznym okresie w latach 2005 i 2006. Terminy te zostały przyjęte po uwzględnieniu wyników doświadczenia 1. i badań innych autorów (Thrun i in. 1997).

W pierwszym etapie, w indukcji hipotyreozy u kóz, badano skuteczność podawania preparatu Methimazole (1-methyl-2-imidazolethiol; Sigma-Aldrich, Polska) i jego ewentualny wpływ na aktywność cykliczną jajnika. Zwierzęta podzielono na dwie grupy. Grupę kontrolną ( $n = 7$ ) stanowiły kozy, które nie otrzymywały preparatu, natomiast grupę doświadczalną ( $n = 7$ ) – kozy, którym od połowy listopada przez 60 dni podawano preparat Methimazole. Wielkość dawki określono, analizując wyniki badań innych autorów, przeprowadzonych na krowach i owcach (Trenkle i Buroughs 1959, Premachandra i in. 1960, Raun i in. 1960), którzy stosując ten preparat (w dawkach od ok. 0,13 ok. 7,0 mg/kg mc./dzień) i wykonując test jodochwytności oraz badania poubojowe tarczycy u krów i jagniąt, stwierdzili, że począwszy od dawki 1,17 mg/kg mc./dzień, zachodzą zmiany w czynności tarczycy i że większe dawki wpływają na zmiany metaboliczne w organizmie. Według Trenkle i Buroughs (1959) obniżenie aktywności sekrecyjnej tarczycy u krów uzyskuje się już przy dawkach od 0,75 do 1,64 mg/kg mc./dzień. Premachandra i in. (1960) podają natomiast, iż graniczna dawka blokująca czynność tarczycy wynosi 6 mg/kg mc./dzień. Celem niniejszej pracy było jednak nie całkowite zablokowanie wydzielania hormonów tarczycy, ale spowodowanie umiarkowanej hipotyreozy bez ujemnego wpływu na stan zdrowia zwierząt. Dlatego podawanie preparatu rozpoczęto od dawki 0,5 mg/kg mc./dzień, a w przypadku braku efektu dawkę zwiększano do 1,0 mg/kg mc./dzień.

U wszystkich zwierząt (w grupach doświadczalnej i kontrolnej) monitorowano aktywność sekrecyjną tarczycy, określając stężenie  $T_4$  w próbkach pobieranych w odstępach co 6–8 dni (średnio co tydzień). Preparat podawano doustnie po uprzednim rozpuszczeniu go w wodzie, zawsze o tej samej porze dnia – w godzinach porannych, przed podaniem paszy treściwej. W trakcie podawania preparatu codziennie mierzono temperaturę ciała, co dwa tygodnie kontrolowano masę ciała i badano parametry hematologiczne krwi, stężenie bilirubiny i cholesterolu oraz aktywność ALT.

Stężenie  $T_4$  oznaczano do końca lutego (miesiąc po zakończeniu podawania Methimazolu). Aktywność cykliczną jajnika określano na podstawie cotygodniowych zmian stężenia  $P_4$  w okresie od końca grudnia do końca kwietnia (jak w doświadczeniu 1.).

W drugim etapie badano skuteczność preparatu Propylthiouracil (PTU, 6-propyl-2-thiouracil; Sigma-Aldrich, Polska). Przed przystąpieniem do badań u jednej kozy stwierdzono cysty jajnikowe i odsunięto ją od doświadczenia. Wyniki badań tej kozy przedstawiono w innej pracy (Błaszczuk i in. 2009). W celu wyrównania liczby zwierząt w grupach kontrolnej ( $n=6$ ) i doświadczalnej ( $n=6$ ) zmniejszono ją do 12 kóz.

Preparat podawano doustnie po uprzednim rozpuszczeniu go w glikolu propylenowym (glikol propylenowy-1,2; Sigma-Aldrich, Polska) – w dawce 6 mg/kg mc./dzień przez 80 dni, od połowy listopada. Do określenia wielkości dawki preparatu i jego przygotowania wykorzystano wyniki badań Villar i in. (1998).

Podobnie jak w poprzednim roku preparat podawano rano, zawsze o tej samej porze dnia; u wszystkich kóz monitorowano temperaturę i masę ciała, parametry hematologiczne i biochemiczne.

Stężenie  $T_4$  określano w próbkach pobieranych co 6–8 dni (średnio co tydzień) od momentu rozpoczęcia podawania preparatu do 7 kwietnia; stężenie  $P_4$  oznaczano miesiąc dłużej.

## 2.4. Badanie parametrów krwi

W osoczu krwi oznaczano stężenie cholesterolu całkowitego, bilirubiny całkowitej i aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT). Badania te wykonywano, używając zestawów odczynnikowych (Alpha Diagnostic, Polska). Absorbancję mierzono na spektrofotometrze Epoll-20. Cholesterol oznaczano metodą enzymatyczną; absorbancję mierzono przy długości fali 500 nm. Bilirubinę oznaczano metodą kolorymetryczną; odczyt absorbancji wykonywano przy długości fali 553 nm. Aktywność ALT określano metodą kinetyczną; absorbancję mierzono przy długości fali 340 nm.

Stężenie hemoglobiny (Hb) oznaczano we krwi pełnej, metodą kolorymetryczną, z zastosowaniem odczynnika Drabkina (Alpha Diagnostic, Polska); absorbancję mierzono przy długości fali 540 nm.

Liczbę leukocytów określano metodą komorową z zastosowaniem płynu Türka i komory Bürkera. Hematokryt oznaczano metodą tradycyjną, wykorzystując kapilary hematokrytowe heparynowane i wirówkę hematokrytową. Oznaczano też odsetkowy wzór krwinek białych (leukogram) – rozmazy krwi barwiono metodą Pappenheima – barwnikami May-Grunwalda i Giemsa (Alpha Diagnostic, Polska).

Stężenie progesteronu ( $P_4$ ), tyroksyny całkowitej ( $T_4$ ) i tyroksyny wolnej ( $FT_4$ ) oznaczano metodą immunofluorescencyjną (TR-FIA), używając komercyjnych zestawów Delfia (PerkinElmer, Wallac Oy; Turku, Finland) – Błaszczuk i in. (2004, 2006, 2009).

Metoda ta oparta jest na konkurencji między hormonem znakowanym europem ( $Eu^{3+}$ ) a hormonem nieznakowanym zawartym w próbce o ograniczoną ilość miejsc wiążących na cząsteczce przeciwciała. Fluorescencję mierzono na fluorometrze Wallac 1420 Victor2 (Wallac Oy; Turku, Finland). Błąd międzyseryjny i błąd wewnątrzseryjny dla  $P_4$  wyniósł odpowiednio 4,9% i 6,9%, dla  $T_4$  – odpowiednio 4,2% i 6,2%, a dla  $FT_4$  – odpowiednio 3,3% i 4,7%. Czulość metody dla  $P_4$ ,  $T_4$  i  $FT_4$  wyniosła odpowiednio 0,25 ng/ml, 3,89 ng/ml i 1,56 pg/ml.

## 2.5. Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przeprowadzonej za pomocą programu komputerowego Statistica 7.1, Statsoft Polska. Do opracowania wyników doświadczenia 1. zastosowano analizę wariancji (Anova – Analysis of variance) z powtarzanymi pomiarami, gdzie zmienną zależną były badane hormony, a czynnikami grupującymi – wiek zwierząt, przedziały czasowe, temperatura powietrza, długość dnia świetlnego i ciśnienie atmosferyczne. Istotność różnic między średnimi określono testem Tukeya. W doświadczeniu 2. w celu porównania grupy doświadczalnej z grupą kontrolną użyto testu t-Studenta dla grup niezależnych.

Istotność różnic określano przy poziomie  $P < 0,01$  i  $P < 0,05$ , a wyniki zamieszczono na wykresach lub w tabelach w postaci średnich i odchyłeń standardowych (SD). Parametry hematologiczne i biochemiczne przedstawiono w postaci średnich odchyłeń standardowych, median, wartości maksymalnych i minimalnych. W badaniach wykorzystano również współczynniki korelacji liniowej Pearsona.

Czas trwania sezonu rozrodczego analizowano na podstawie zmian stężeń progesteronu u każdej kozy. Za rozpoczęcie sezonu rozrodczego uznano termin rozpoczęcia aktywności lutealnej na podstawie stwierdzenia w jednym lub dwóch kolejnych pobraniach krwi podwyższonego stężenia progesteronu (powyżej 1 ng/ml), które następowało po stężeniu niższym niż 1 ng/ml w poprzednim pobraniu (Arendt i in. 1983, Papachristoforou i in. 2000). Za koniec sezonu rozrodczego uznano natomiast termin zahamowania aktywności lutealnej, który określano na podstawie pierwszego obniżonego stężenia progesteronu (poniżej 1 ng/ml), po którym w co najmniej dwóch kolejnych pobraniach stężenie progesteronu nie przekraczało tej wartości (Arendt i in. 1983, Hernandez i in. 2003).



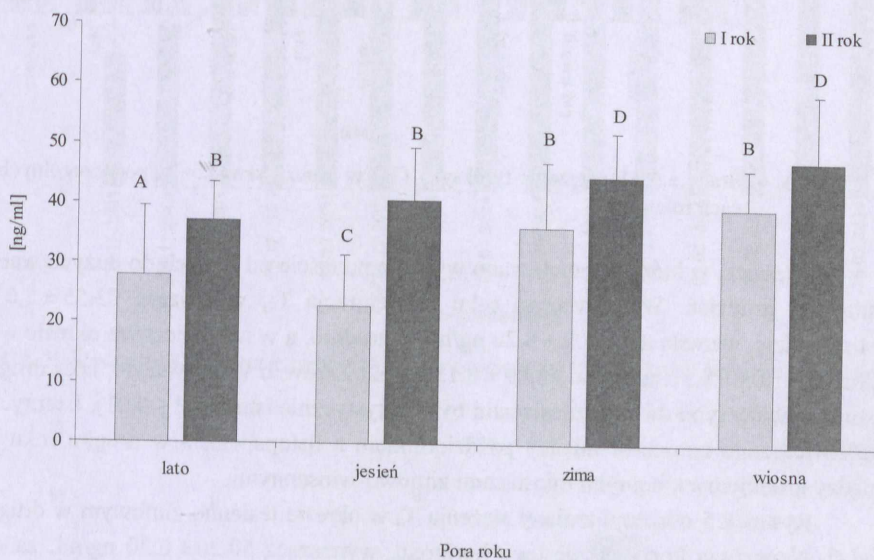


### 3. WYNIKI

#### 3.1. Doświadczenie 1.

#### Określenie rocznego rytmu uwalniania tyroksyny i długości sezonu rozrodczego

Średnia koncentracja  $T_4$  w pierwszym roku badań wynosiła  $32,10 \pm 11,61$  ng/ml i była istotnie ( $P < 0,01$ ) niższa niż w drugim roku ( $42,22 \pm 9,03$  ng/ml). Różnice między pierwszym a drugim rokiem występowały w każdej porze roku (rys. 3).

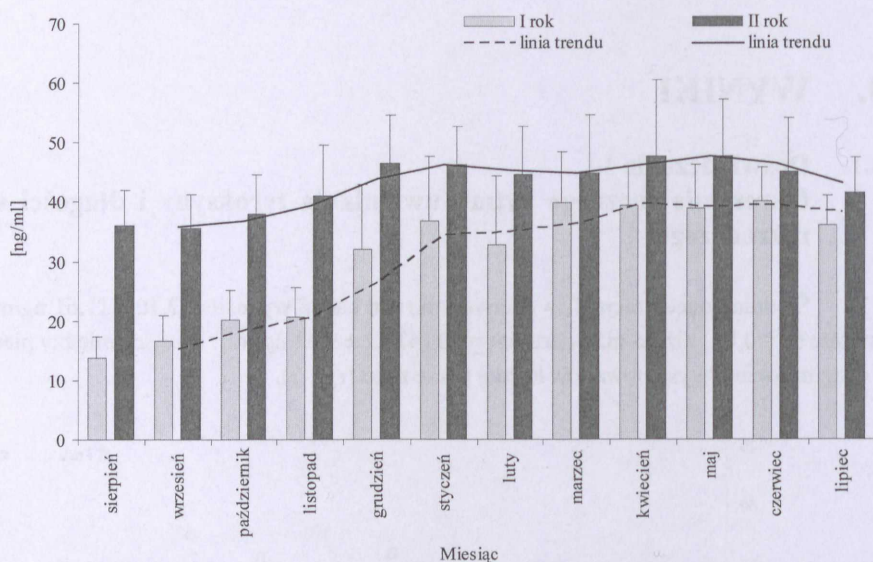


Rys. 3. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny ( $T_4$ ) w osoczu krwi kóz w poszczególnych porach roku. Średnie zaznaczone różnymi literami różnią się przy  $P < 0,01$

Najwyższe stężenie zanotowano w okresie wiosennym – w pierwszym roku badań wynosiło  $39,43 \pm 6,68$  ng/ml, a w drugim roku  $47,56 \pm 11,06$  ng/ml, aczkolwiek nie różniło się statystycznie od stężenia w okresach zimowych, w których wynosiło odpowiednio  $36,23 \pm 10,91$  i  $44,78 \pm 7,34$  ng/ml. W okresach letnim i jesiennym koncentracja  $T_4$  wynosiła w pierwszym roku badań odpowiednio  $27,80 \pm 11,73$  i  $24,92 \pm 8,51$  ng/ml, a w drugim roku –  $37,14 \pm 6,31$  i  $40,69 \pm 8,74$  ng/ml.

Na rysunku 4 przedstawiono średnie miesięczne stężenie tyroksyny w pierwszym i drugim roku badań.

Roczny rytm zmian stężeń  $T_4$  w pierwszym i drugim roku wykazywał podobną dynamikę, z najmniejszymi wartościami w miesiącach letnio-jesiennych i największymi w miesiącach zimowo-wiosennych.



Rys. 4. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny ( $T_4$ ) w osoczu krwi kóz w poszczególnych miesiącach roku

Miesiące, w których zanotowano wyraźne przejście od małych do dużych wartości, to listopad i grudzień. W pierwszym roku koncentracja  $T_4$ , wynosząca  $23,55 \pm 5,03$  ng/ml w listopadzie, wzrosła do  $32,09 \pm 8,20$  ng/ml w grudniu, a w analogicznym okresie w drugim roku – z  $41,08 \pm 8,51$  ng/ml do  $46,49 \pm 8,13$  ng/ml. Zarówno w pierwszym, jak i drugim roku różnice między tymi dwoma miesiącami były statystycznie istotne ( $P < 0,01$ ). Istotnych różnic nie stwierdzono natomiast między październikiem a listopadem, a w drugim roku również między grudniem a kolejnymi miesiącami zimowo-wiosennymi.

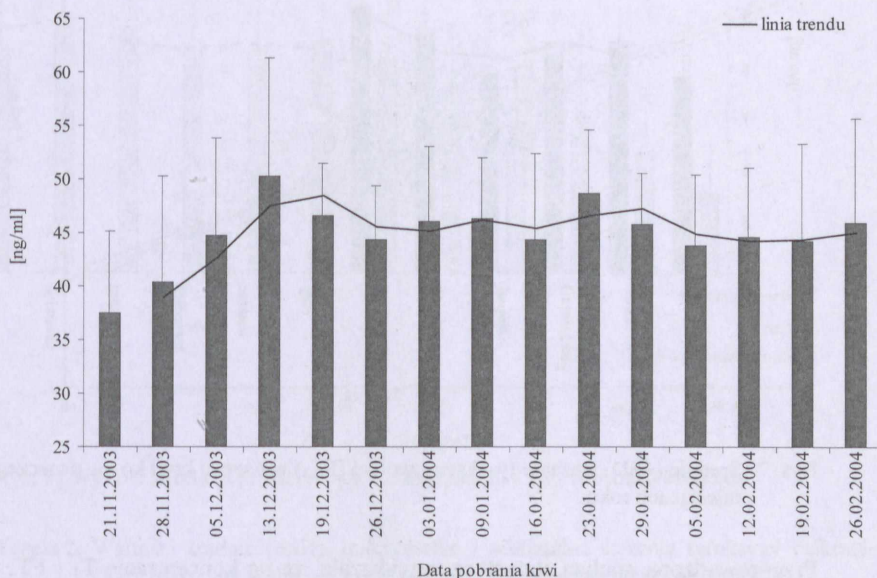
Rysunek 5 obrazuje zmiany stężenia  $T_4$  w okresie jesienno-zimowym w drugim roku badań. Najwyższą koncentrację tego hormonu, wynoszącą  $50,20 \pm 6,20$  ng/ml, zanotowano w połowie grudnia; różniła się ona istotnie ( $P < 0,01$ ) od stężenia, jakie stwierdzono pod koniec listopada ( $40,44 \pm 6,79$  ng/ml).

Podobnie jak w przypadku stężenia  $T_4$  między pierwszym i drugim rokiem badań stwierdzono różnice w koncentracji tyroksyny wolnej ( $FT_4$ ); dotyczyły one każdego badanego sezonu. Jej średnie stężenie w poszczególnych porach roku przedstawiono na rys. 6.

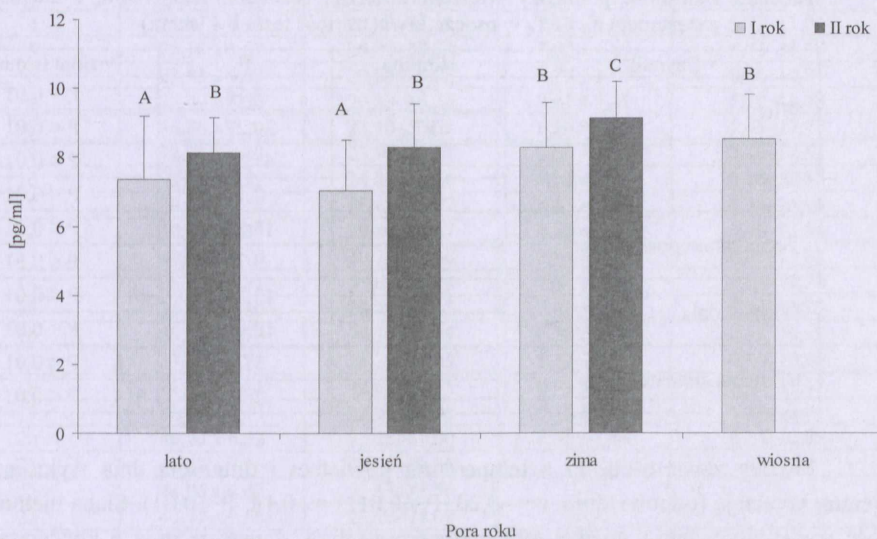
W pierwszym roku badań stężenie  $FT_4$  wynosiło średnio  $7,85 \pm 1,59$  pg/ml i było istotnie niższe ( $P > 0,01$ ) niż w drugim roku ( $8,41 \pm 1,23$  pg/ml). Koncentracja  $FT_4$  podczas pierwszej zimy ( $8,29 \pm 1,31$  pg/ml) i wiosny ( $8,55 \pm 1,28$  pg/ml) była istotnie wyższa niż w okresach letnim ( $7,36 \pm 1,82$  pg/ml) i jesiennym ( $7,03 \pm 1,48$  pg/ml). Podobnie kształtowały się różnice w drugim roku, w którym zimą stężenie  $FT_4$  ( $9,31 \pm 1,08$  pg/ml) było istotnie wyższe niż latem ( $8,11 \pm 1,05$  ng/ml) i jesienią ( $8,30 \pm 1,26$  pg/ml).

Rysunek 7 obrazuje dynamikę zmian stężenia  $FT_4$  w kolejnych miesiącach roku. Przejście od małych do większych wartości odnotowano w listopadzie i grudniu. W listopa-

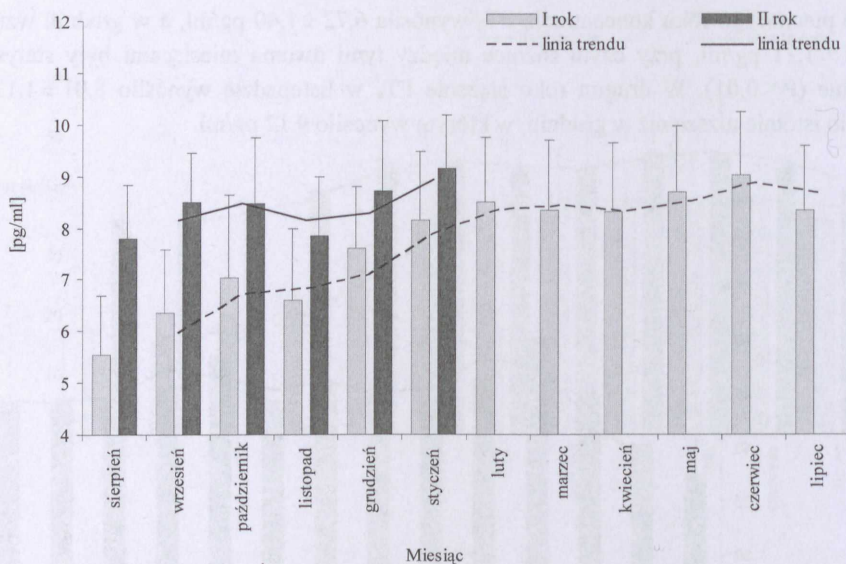
dzie pierwszego roku koncentracja FT<sub>4</sub> wynosiła  $6,72 \pm 1,40$  pg/ml, a w grudniu wzrosła do  $7,61 \pm 1,21$  pg/ml, przy czym różnice między tymi dwoma miesiącami były statystycznie istotne ( $P < 0,01$ ). W drugim roku stężenie FT<sub>4</sub> w listopadzie wynosiło  $8,01 \pm 1,13$  pg/ml i było istotnie niższe niż w grudniu, w którym wynosiło  $9,12$  pg/ml.



Rys. 5. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny (T<sub>4</sub>) w osoczu krwi kóz w okresie jesienno-zimowym



Rys. 6. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny wolnej (FT<sub>4</sub>) w osoczu krwi kóz w poszczególnych porach roku. Średnie zaznaczone różnymi literami różnią się przy  $P < 0,01$



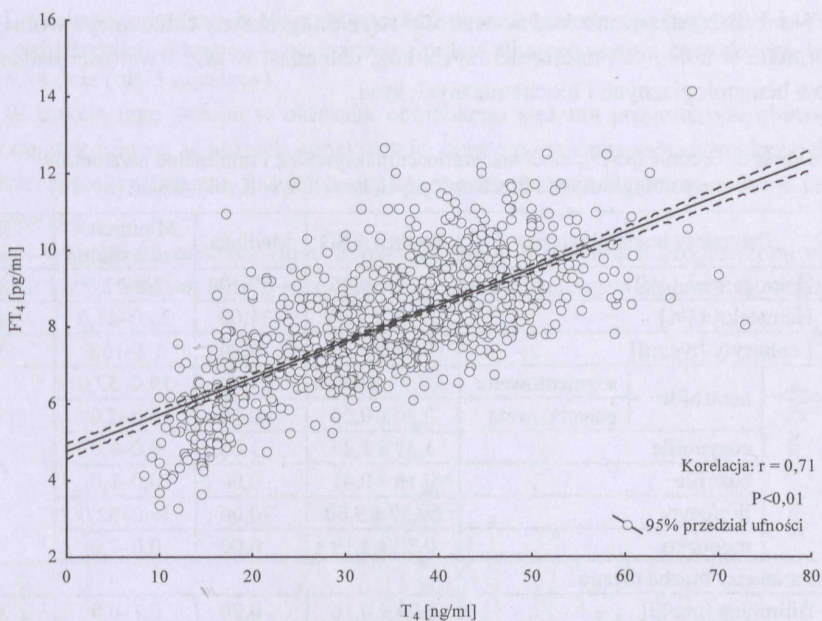
Rys. 7. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny wolnej (FT<sub>4</sub>) w osoczu krwi kóz w poszczególnych miesiącach roku

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że na koncentrację T<sub>4</sub> i FT<sub>4</sub> wpływa wiek zwierząt, sezon, temperatura powietrza i długość dnia (tab. 1).

Tabela 1. Zależność pomiędzy wiekiem zwierząt, sezonem, temperaturą i długością dnia a stężeniem T<sub>4</sub> i FT<sub>4</sub> w osoczu krwi (wartość testu F-Fishera)

Czynnik	Hormon	F	Poziom istotności
Wiek	T <sub>4</sub>	8,14	P < 0,01
	FT <sub>4</sub>	20,27	P < 0,01
Sezon	T <sub>4</sub>	47,71	P < 0,01
	FT <sub>4</sub>	7,17	P < 0,01
Temperatura powietrza	T <sub>4</sub>	15,88	P < 0,01
	FT <sub>4</sub>	5,34	P < 0,01
Długość dnia	T <sub>4</sub>	13,89	P < 0,01
	FT <sub>4</sub>	10,06	P < 0,01
Ciśnienie atmosferyczne	T <sub>4</sub>	3,76	P < 0,01
	FT <sub>4</sub>	2,26	P < 0,05

Między zawartością T<sub>4</sub> a temperaturą powietrza i długością dnia wykazano słabą ujemną korelację (odpowiednio:  $r = -0,20$ ,  $P < 0,01$ ;  $r = -0,18$ ,  $P < 0,01$ ). Słabą ujemną zależność stwierdzono także między temperaturą powietrza, długością dnia a koncentracją FT<sub>4</sub> (odpowiednio:  $r = -0,17$ ,  $P < 0,01$ ;  $r = -0,07$ ,  $P < 0,05$ ). Na rysunku 8 przedstawiono zależność między stężeniem T<sub>4</sub> a FT<sub>4</sub>.



Rys. 8. Wykres korelacji prostej między stężeniem T<sub>4</sub> a FT<sub>4</sub> w osoczu krwi kóz

Tabela 2. Wartości średnie ( $\pm$ SD), maksymalne i minimalne stężenia tyroksyny całkowitej (T<sub>4</sub>) i tyroksyny wolnej (FT<sub>4</sub>) w kolejnych miesiącach życia kóz (n = 14)

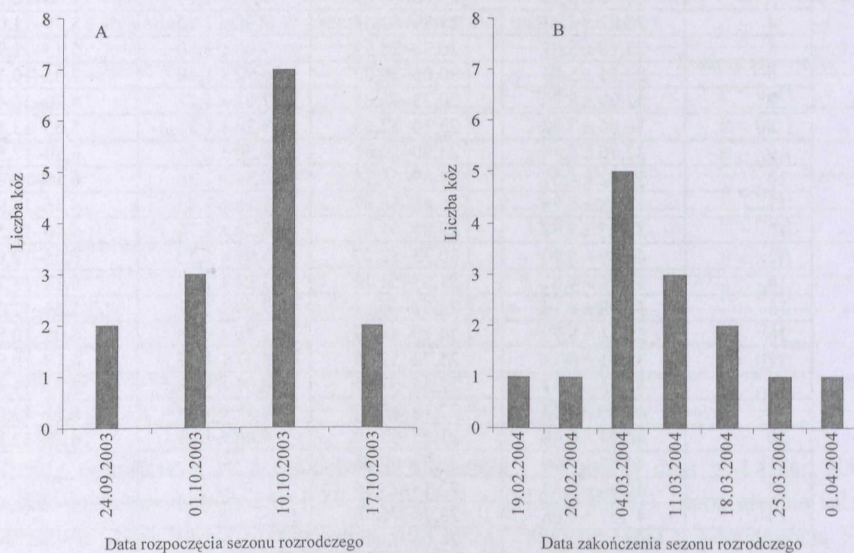
Wiek [miesiące]	T <sub>4</sub> [ng/ml]		FT <sub>4</sub> [ng/ml]	
	średnia $\pm$ SD	min.–maks.	średnia $\pm$ SD	min.–maks.
3	27,90 $\pm$ 3,45	25,68–30,45	7,35 $\pm$ 1,13	4,98–10,08
4	26,82 $\pm$ 4,33	23,89–31,45	7,28 $\pm$ 1,22	5,79–11,03
5	23,18 $\pm$ 5,07	20,90–28,88	7,00 $\pm$ 1,60	5,45–11,98
6	23,55 $\pm$ 5,03	20,05–29,08	6,72 $\pm$ 1,40	5,06–10,34
7	32,09 $\pm$ 8,20	20,33–48,25	7,61 $\pm$ 1,21	5,20–11,48
8	36,86 $\pm$ 7,20	23,10–52,68	8,26 $\pm$ 1,31	5,65–13,57
9	32,76 $\pm$ 8,10	23,90–59,87	8,50 $\pm$ 1,24	6,80–12,53
10	39,82 $\pm$ 8,57	24,89–58,34	8,34 $\pm$ 1,36	6,15–12,87
11	39,48 $\pm$ 6,58	26,48–55,87	8,15 $\pm$ 1,33	4,36–14,96
12	38,87 $\pm$ 7,37	29,80–51,67	8,20 $\pm$ 1,26	6,40–12,54
13	40,09 $\pm$ 5,70	30,75–52,30	8,01 $\pm$ 1,22	6,06–12,88
14	36,18 $\pm$ 4,81	31,65–54,78	7,94 $\pm$ 1,26	6,14–11,70
15	35,98 $\pm$ 6,10	26,72–46,12	7,80 $\pm$ 1,02	5,84–11,23
16	35,51 $\pm$ 5,70	24,10–48,59	8,30 $\pm$ 0,96	6,05–10,87
17	37,91 $\pm$ 6,78	25,72–51,05	8,37 $\pm$ 1,27	6,19–10,89
18	41,08 $\pm$ 8,51	22,64–57,75	8,01 $\pm$ 1,13	6,29–11,47
19	46,49 $\pm$ 8,13	22,18–62,06	9,12 $\pm$ 1,37	6,11–13,01
20	46,24 $\pm$ 6,38	21,25–67,00	9,46 $\pm$ 1,04	6,58–12,89
21	44,63 $\pm$ 7,96	21,08–69,06	–	–
22	44,96 $\pm$ 9,62	22,15–73,56	–	–
23	47,77 $\pm$ 9,66	23,78–74,08	–	–
24	47,79 $\pm$ 9,43	24,06–73,16	–	–
25	45,00 $\pm$ 9,11	26,23–70,53	–	–
26	41,44 $\pm$ 5,99	26,03–68,43	–	–

W tabeli 2 zestawiono średnie wartości stężenia tyroksyny całkowitej i wolnej frakcji tego hormonu w kolejnych miesiącach życia kóz, natomiast w tab. 3 wartości badanych parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi.

Tabela 3. Średnie ( $\pm$ SD), mediana, wartości maksymalne i minimalne parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi kóz w II roku badań (n = 14)

Parametry hematologiczne			Średnia $\pm$ SD	Mediana	Minimum–maksimum	N (liczba prób)
Hemoglobina [g/dl]			9,84 $\pm$ 0,95	9,70	7,8–12,7	362
Hematokryt [%]			31,46 $\pm$ 2,99	31,00	23,0–41,0	377
Leukocyty [tys./ $\mu$ l]			9,07 $\pm$ 2,22	8,80	5,2–16,0	377
Leukogram [%]	neutrofile	segmentowane	27,93 $\pm$ 6,60	27,00	19,0–57,0	361
		pałeczkowate	0,30 $\pm$ 0,20	0,00	0,0–2,0	
	eozynofile		1,59 $\pm$ 1,45	1,00	0,0–8,0	
	bazofile		0,16 $\pm$ 0,41	0,00	0,0–3,0	
	limfocyty		69,50 $\pm$ 9,60	70,00	36,0–82,0	
	monocyty		0,87 $\pm$ 1,19	0,00	0,0–7,0	
Parametry biochemiczne						
Bilirubina [mg/dl]			0,24 $\pm$ 0,16	0,20	0,1–0,9	325
Cholesterol [mg/dl]			79,98 $\pm$ 12,50	81,15	58,0–106,4	325
ALT [U/l]			15,46 $\pm$ 3,29	15,00	5,0–25,0	325

Na rysunku 9 przedstawiono terminy rozpoczęcia i zakończenia sezonu rozrodczego, które określono na podstawie zmian w koncentracji progesteronu.

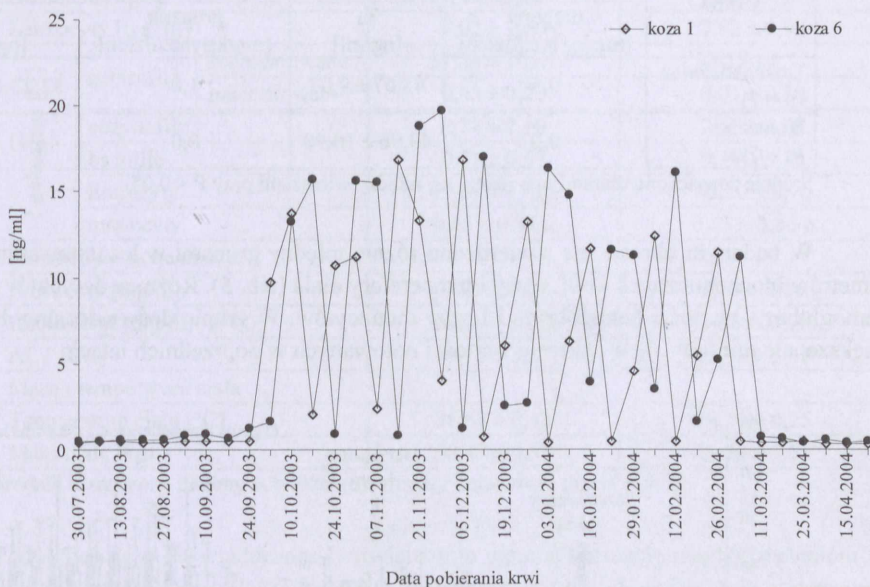


Rys. 9. Terminy rozpoczęcia (A) i zakończenia (B) sezonu rozrodczego u kóz (n = 14)

U większości badanych zwierząt początek sezonu rozrodczego przypadał na pierwszą połowę października, a koniec – na marzec. Średnia długość sezonu rozrodczego wynosiła  $155 \pm 15,84$  dnia (ok. 5 miesięcy).

W trakcie tego sezonu w okresach obniżonego stężenia progesteronu obserwowano typowe objawy rujowe, w których pobekiwanie, częste oddawanie moczu, mokry ogon były najbardziej charakterystyczne. U większości kóz w sezonie rozrodczym zanotowano od 7 do 8 cykli rujowych.

Na rysunku 10 przedstawiono dynamikę zmian koncentracji progesteronu u dwóch wybranych kóz, u których termin rozpoczęcia i termin zakończenia sezonu rozrodczego były zbliżone.



Rys. 10. Dynamika zmian stężenia progesteronu ( $P_4$ ) w osoczu krwi kóz ( $n = 2$ ) w okresie od końca lipca do końca kwietnia

### 3.2. Doświadczenie 2. Indukcja hipotyreozy

Uwzględniając wyniki uzyskane w doświadczeniu 1., podawanie preparatu Methimazole rozpoczęto od połowy listopada. Średnia koncentracja  $T_4$  w okresie pierwszych 30 dni nie różniła się istotnie między grupą otrzymującą preparat (dawka 0,5 mg/kg mc./dzień) a grupą kontrolną (tab. 4) i była zbliżona do stężenia, jakie zanotowano w poprzednim roku badań.

Przez kolejne 30 dni preparat stosowano w dawce 1,0 mg/kg mc./dzień. W tym okresie średnie stężenie  $T_4$  w grupie doświadczalnej było istotnie niższe niż w grupie kontrolnej, ale wyższe ( $P < 0,05$ ) niż w analogicznym okresie poprzedniego sezonu rozrodczego.

Od zakończenia podawania preparatu do połowy lutego koncentracja  $T_4$  w grupie doświadczalnej i grupie kontrolnej utrzymywała się na zbliżonym poziomie i wynosiła odpowiednio  $60,60 \pm 13,99$  i  $61,16 \pm 10,51$  ng/ml; w porównaniu z poprzednim rokiem była istotnie wyższa ( $P < 0,01$ ).

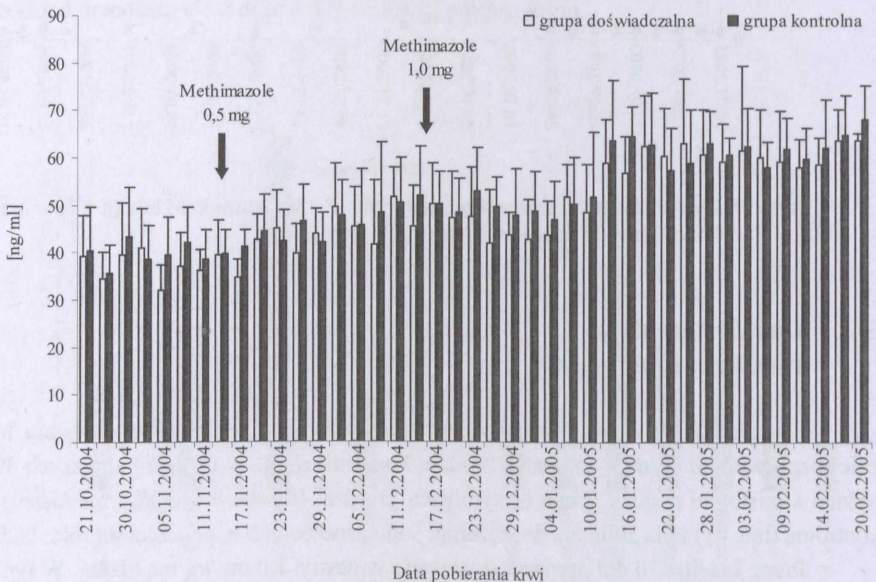
Rysunek 11 przedstawia dynamikę zmian stężenia  $T_4$  podczas prowadzonego doświadczenia w grupach kontrolnej i doświadczalnej.

Tabela 4. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny ( $T_4$ ) w osoczu krwi kóz w okresach podawania preparatu Methimazole

Grupa	Okres od 14 listopada do 14 grudnia		Okres od 15 grudnia do 14 stycznia	
	preparat [mg/kg mc./dzień]	$T_4$ [ng/ml]	preparat [mg/kg mc./dzień]	$T_4$ [ng/ml]
Doświadczalna (n = 7)	0,5	$45,07 \pm 9,07$	1,0	$52,22 \pm 10,40$ a
Kontrolna (n = 7)	0,0	$43,96 \pm 10,90$	0,0	$48,41 \pm 9,70$ b

Średnie zaznaczone literami a, b różnią się między wierszami przy  $P < 0,05$ .

W badanym okresie nie stwierdzono różnic między grupami w kształtowaniu się parametrów biochemicznych krwi, masy i temperatury ciała (tab. 5). Różnice dotyczyły stężenia hemoglobiny, wartości hematokrytu i liczby monocytów. W grupie doświadczalnej były one większe, ale mieściły się w zakresie wartości notowanych w poprzednich latach.



Rys. 11. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny ( $T_4$ ) w osoczu krwi kóz w grupie kontrolnej (n = 7) i w grupie otrzymującej preparat Methimazole (n = 7). Strzałkami zaznaczono daty rozpoczęcia podawania preparatu



Średnia masa ciała przed rozpoczęciem doświadczenia wynosiła w grupie doświadczalnej  $50,00 \pm 6,45$  kg, a w grupie kontrolnej  $51,00 \pm 7,45$  kg. W trakcie podawania preparatu nie stwierdzono istotnych różnic w kształtowaniu się masy ciała między grupami (tab. 5). Nie stwierdzono też odchyleń w temperaturze ciała.

Tabela 5. Średnie ( $\pm$ SD) wartości parametrów hematologicznych i biochemicznych, masy ciała, temperatury ciała kóz w okresie podawania preparatu Methimazole

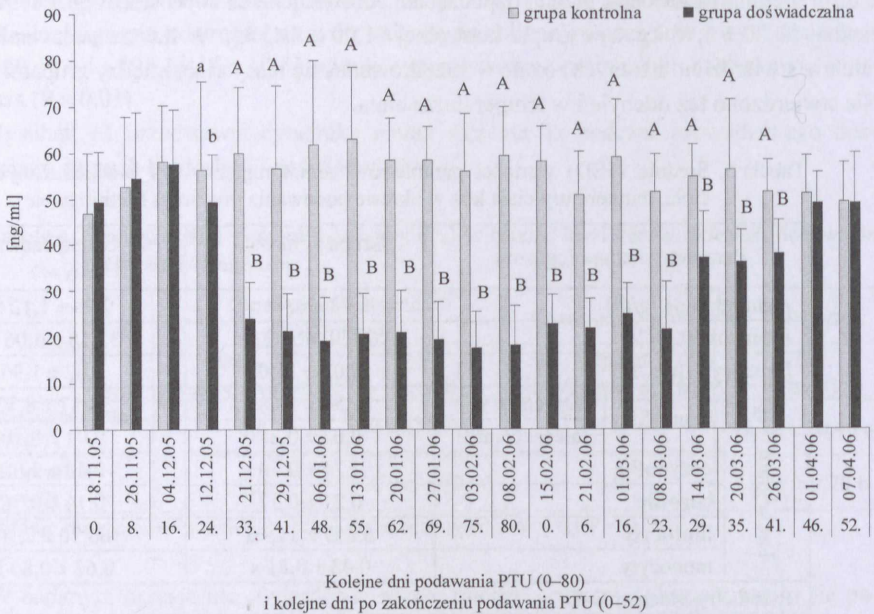
Parametry hematologiczne		Grupa kontrolna n = 7	Grupa badana n = 7
Hemoglobina [g/dl]		8,73 $\pm$ 0,97 a	9,50 $\pm$ 1,12 b
Hematokryt [%]		29,36 $\pm$ 3,42 a	31,18 $\pm$ 3,06 b
Leukocyty [tys./ $\mu$ l]		7,02 $\pm$ 1,60	7,02 $\pm$ 1,96
Leukogram [%]	neutrofile	segmentowane	31,54 $\pm$ 10,81
		pałeczkowate	0,03 $\pm$ 0,22
	eozynofile		2,24 $\pm$ 2,10
	bazofile		0,21 $\pm$ 0,57
	limfocyty		65,57 $\pm$ 11,16
	monocyty		0,43 $\pm$ 0,81 a
Parametry biochemiczne			
Bilirubina [mg/dl]		0,23 $\pm$ 0,16	0,23 $\pm$ 0,15
Cholesterol [mg/dl]		82,25 $\pm$ 11,60	81,88 $\pm$ 10,40
ALT [U/l]		15,15 $\pm$ 3,37	15,15 $\pm$ 3,37
Masa i temperatura ciała			
Temperatura ciała [°C]		38,63 $\pm$ 0,33	38,56 $\pm$ 0,25
Masa ciała [kg]		50,47 $\pm$ 6,37	51,23 $\pm$ 5,51

Średnie zaznaczone literami a, b różnią się między kolumnami przy  $P < 0,05$ .

Podobnie jak w doświadczeniu 1. stwierdzono ujemną korelację między stężeniem  $T_4$  a temperaturą powietrza ( $r = -0,51$ ;  $P < 0,01$ ). Zależność między długością dnia a stężeniem badanego hormonu była nieistotna.

Analizując zmiany koncentracji progesteronu, stwierdzono, że sezon rozrodczy w grupie doświadczalnej kończył się w okresie od 25 lutego do 14 kwietnia, a w grupie kontrolnej od 1 marca do 21 kwietnia. W grupie doświadczalnej *anestrus* rozpoczął się później, ale różnice między grupami nie były statystycznie istotne. Średnia liczba dni od 25 lutego do końca sezonu rozrodczego u kóz z grupy doświadczalnej wynosiła  $35,50 \pm 15,66$  i nie różniła się istotnie od długości tego okresu u zwierząt z grupy kontrolnej ( $29,50 \pm 16,94$  dnia). Średnie stężenie progesteronu w okresie od końca grudnia do końca kwietnia w grupie doświadczalnej wynosiło  $5,71 \pm 5,22$  ng/ml i nie różniło się statystycznie istotnie od stężenia w grupie kontrolnej, w której wynosiło  $5,23 \pm 4,46$  ng/ml.

W kolejnym okresie jesienno-zimowym kozom podawano preparat Propylthiouracil (PTU) w dawce 6 mg/kg mc./dzień. Zmiany w stężeniu  $T_4$  podczas tego doświadczenia przedstawiono na rys. 12.



Rys. 12. Średnie ( $\pm$ SD) stężenie tyroksyny ( $T_4$ ) w osoczu krwi kóz w grupie kontrolnej ( $n = 6$ ) i w grupie otrzymującej PTU ( $n = 6$ ). Różnice między grupami w kolejnych dniach zaznaczono różnymi literami – A, B przy  $P < 0,01$ ; a, b przy  $P < 0,05$

Średnia koncentracja  $T_4$  w całym 80-dniowym okresie, w którym podawano PTU, wynosiła w grupie doświadczalnej  $31,99 \pm 10,26$  ng/ml i była istotnie niższa niż w grupie kontrolnej ( $57,28 \pm 11,19$  ng/ml). U kóz z grupy doświadczalnej w 24. dniu stosowania preparatu stwierdzono istotny spadek ( $P < 0,01$ ) stężenia  $T_4$ , które obniżało się do 41. dnia. Od tego czasu do 80. dnia zawartość  $T_4$  utrzymywała się na zbliżonym poziomie, wynoszącym  $19,05 \pm 6,32$  ng/ml. Tak niską koncentrację hormonu obserwowano przez 23 dni po odstawieniu PTU. W 29. dniu po zakończeniu podawania PTU stężenie  $T_4$  wzrosło z  $21,60 \pm 10,19$  ng/ml do  $37,87 \pm 10,01$  ng/ml ( $P < 0,01$ ), ale nadal było istotnie niższe niż w grupie doświadczalnej. Kolejny wyraźny wzrost nastąpił w 46. dniu, gdy koncentracja hormonu ( $48,89 \pm 6,89$  ng/ml) osiągnęła zbliżony poziom do zanotowanego w grupie kontrolnej ( $49,14 \pm 8,72$  ng/ml).

W tabeli 6 zestawiono średnie wartości parametrów hematologicznych w kolejnych dniach doświadczenia. W kształtowaniu się powyższych wskaźników krwi, z wyjątkiem liczby eozynofiliów w pierwszym dniu podawania preparatu, nie stwierdzono istotnych różnic między grupami.

Jeśli chodzi o parametry biochemiczne, stwierdzono istotne różnice w stężeniu cholesterolu, które było istotnie wyższe w grupie doświadczalnej (tab. 7). Podczas podawania PTU nie stwierdzono odchylenia w temperaturze i masie ciała.

Tabela 6. Średnie ( $\pm$ SD) wartości parametrów hematologicznych kóz w trakcie i po zakończeniu podawania preparatu Propylthiouracil

Parametry hematologiczne		Kolejny dzień doświadczenia	Grupa kontrolna n = 6	Grupa doświadczalna n = 6
Hemoglobina [g/dl]		0.	9,14 $\pm$ 1,30	8,98 $\pm$ 0,93
		33.	10,76 $\pm$ 1,61	10,80 $\pm$ 1,19
		80.	9,09 $\pm$ 1,27	9,15 $\pm$ 0,92
		126. (46. po podaniu PTU)	10,76 $\pm$ 1,43	10,80 $\pm$ 1,26
Hematokryt [%]		0.	31,25 $\pm$ 3,88	29,83 $\pm$ 3,19
		33.	33,13 $\pm$ 4,52	34,00 $\pm$ 4,05
		80.	32,88 $\pm$ 5,08	31,33 $\pm$ 3,67
		126. (46. po podaniu PTU)	34,38 $\pm$ 3,66	33,67 $\pm$ 3,61
Leukocyty [tys./ $\mu$ l]		0.	7,20 $\pm$ 1,26	7,70 $\pm$ 1,56
		33.	6,98 $\pm$ 1,11	7,67 $\pm$ 1,76
		80.	6,99 $\pm$ 1,14	6,88 $\pm$ 2,24
		126. (46. po podaniu PTU)	5,96 $\pm$ 0,83	6,10 $\pm$ 1,16
Leukogram [%]	neutrofile segmentowane	0.	39,50 $\pm$ 14,25	36,50 $\pm$ 6,22
		33.	35,38 $\pm$ 10,17	42,50 $\pm$ 10,93
		80.	29,63 $\pm$ 16,13	30,50 $\pm$ 7,02
		126. (46. po podaniu PTU)	35,75 $\pm$ 12,79	31,83 $\pm$ 4,64
	neutrofile pałeczkowate	0.–126.	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
	eozynofile	0.	2,75 $\pm$ 1,16 a	1,17 $\pm$ 0,75 b
		33.	3,00 $\pm$ 1,90	2,86 $\pm$ 1,79
		80.	2,88 $\pm$ 2,03	3,17 $\pm$ 3,19
		126. (46. po podaniu PTU)	2,50 $\pm$ 1,60	3,17 $\pm$ 1,17
	bazofile	0.	0,25 $\pm$ 0,71	0,50 $\pm$ 0,84
		33.	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
		80.	0,38 $\pm$ 0,74	0,17 $\pm$ 0,41
		126. (46. po podaniu PTU)	0,25 $\pm$ 8,00	0,50 $\pm$ 6,00
	limfocyty	0.	56,50 $\pm$ 13,68	61,17 $\pm$ 6,68
		33.	61,25 $\pm$ 9,68	54,17 $\pm$ 11,98
		80.	66,50 $\pm$ 15,88	66,00 $\pm$ 2,28
		126. (46. po podaniu PTU)	59,98 $\pm$ 12,98	64,17 $\pm$ 2,64
	monocyty	0.	1,00 $\pm$ 0,93	0,67 $\pm$ 0,82
		33.	0,63 $\pm$ 0,92	0,33 $\pm$ 0,52
		80.	0,88 $\pm$ 1,13	0,33 $\pm$ 0,82
132. (52. po podaniu PTU)		1,13 $\pm$ 0,99	0,33 $\pm$ 0,52	

Średnie zaznaczone literami a, b różnią się między kolumnami przy  $P < 0,05$ .

U zwierząt z grupy doświadczalnej sezon rozrodczy kończył się w okresie od 17 lutego do 23 kwietnia, a w grupie kontrolnej od 3 marca do 13 kwietnia.

Tabela 7. Średnie ( $\pm$ SD) wartości parametrów hematologicznych u kóz w trakcie i po zakończeniu podawania preparatu Propylthiouracil

Parametry biochemiczne	Kolejny dzień doświadczenia	Grupa kontrolna n = 6	Grupa doświadczalna n = 6
Bilirubina [mg/dl]	0.	0,19 $\pm$ 0,09	0,21 $\pm$ 0,08
	33.	0,23 $\pm$ 0,11	0,24 $\pm$ 0,19
	80.	0,21 $\pm$ 0,17	0,20 $\pm$ 0,09
	126. (46. po podaniu PTU)	0,22 $\pm$ 0,10	0,24 $\pm$ 0,16
Cholesterol [mg/dl]	0.	81,35 $\pm$ 13,78	82,82 $\pm$ 13,18
	33.	78,13 $\pm$ 11,22 a	87,05 $\pm$ 14,02 b
	80.	82,89 $\pm$ 8,06 A	92,44 $\pm$ 9,42 B
	126. (46. po podaniu PTU)	81,37 $\pm$ 13,66	84,68 $\pm$ 9,52
ALT [U/l]	0.	16,13 $\pm$ 2,90	18,50 $\pm$ 2,43
	33.	12,63 $\pm$ 3,66	15,00 $\pm$ 3,03
	80.	14,50 $\pm$ 3,42	15,50 $\pm$ 2,59
	126. (46. po podaniu PTU)	13,63 $\pm$ 3,58	15,00 $\pm$ 2,10
Masa ciała [kg]	0.	54,56 $\pm$ 10,95	51,80 $\pm$ 3,98
	80.	55,13 $\pm$ 9,91	53,05 $\pm$ 6,21
	130. (50. po podaniu PTU)	53,13 $\pm$ 8,79	52,05 $\pm$ 6,21

Średnie zaznaczone literami A, B i a, b różnią się między kolumnami odpowiednio przy  $P < 0,01$  i  $P < 0,05$ .

Średnia liczba dni od 17 lutego do zakończenia sezonu rozrodczego w grupie doświadczalnej wynosiła  $38,0 \pm 21,73$  dnia i nie różniła się statystycznie istotnie od liczby dni w grupie kontrolnej ( $40,5 \pm 14,42$  dnia). Średnie stężenie progesteronu w okresie od końca grudnia do początku maja w grupie doświadczalnej wynosiło  $3,85 \pm 4,25$  ng/ml i nie różniło się statystycznie istotnie od stężenia w grupie kontrolnej ( $3,28 \pm 3,24$  ng/ml).

## 4. DYSKUSJA WYNIKÓW

Analiza zmian stężenia tyroksyny w kolejnych latach życia kóz wskazuje na okołoroczny rytm sekrecyjny tarczycy, niezależny od wieku i dojrzałości płciowej zwierząt. Wyniki te uzupełniają badania wykonane na owcach, u których roczny rytm uwalniania hormonów tarczycy był zachowany także podczas ciąży i laktacji (Menegatos i in. 2006). W wielu pracach opisano występowanie tego rytmu u dorosłych kóz i owiec, a jego istnienie stwierdzono u zwierząt zamieszkujących obszary na różnych szerokościach geograficznych (Webster i in. 1991, Souza i in. 2002, Udała i in. 2004, Zarei i in. 2009). W rejonach przyrównikowych najwyższą koncentrację hormonów tarczycy notowano w okresie jesienno-zimowym (Souza i in. 2002, Zarei i in. 2009), natomiast w klimacie umiarkowanym okres ten przypada na miesiące zimowo-wiosenne (Webster i in. 1991). Ponadto w naszej szerokości geograficznej najniższą aktywność sekrecyjną tarczycy notuje się w okresie letnio-jesiennym i taki rytm zmian stężenia tyroksyny wykazano w prezentowanej pracy. Dotyczył on zarówno tyroksyny całkowitej, jak i frakcji wolnej tego hormonu, przy czym stwierdzona wysoka zależność między  $T_4$  i  $FT_4$  sugeruje, że również synteza białek wiążących tyroksynę podlega sezonowym zmianom. Za sugestią tą przemawia fakt, że koncentracja wolnej tyroksyny jest nie tylko wprost proporcjonalna do stężenia molarnego hormonu związanego z białkiem, ale także odwrotnie proporcjonalna do stężenia molarnego niezwiązanych z hormonem białek nośnikowych (Nauman i Nauman 1997). Na stan równowagi między koncentracją wolnej i związanej tyroksyny wskazują również badania przeprowadzone na krowach w okresie okołoporodowym (Gerloff i in. 1986). Ponadto u owcy roczny rytm uwalniania wolnej tyroksyny przebiega równocześnie ze zmianami stężenia tyroksyny całkowitej (Dahl i in. 1995).

Roczne zmiany aktywności tarczycy niewątpliwie związane są z adaptacyjną funkcją jodotyronin, które umożliwiają zwierzętom dostosowanie wielu procesów życiowych do otaczającego środowiska. Wydaje się, że warunki klimatyczne są istotnymi czynnikami, od których zależy czynność tego gruczołu. W niniejszej pracy stwierdzono, że czynniki środowiskowe mogą wpływać na zmiany stężenia tyroksyny.

Z pewnością jedną z przyczyn wzrastającej aktywności sekrecyjnej tarczycy podczas zimy jest obniżanie się temperatury środowiska. W strefach klimatu umiarkowanego zima charakteryzuje się dużym spadkiem temperatury, co ogranicza dostępność pożywienia, zwłaszcza dla zwierząt wolno żyjących (Paul i in. 2008). Zwiększone stężenie hormonów tarczycy może wynikać więc z potrzeby dostosowania procesów metabolicznych do zimy (np. mobilizacja rezerw energetycznych, nasilenie procesów termoregulacyjnych), co umożliwia zwierzętom przetrwanie tej pory roku. Znany jest też wpływ wysokiej temperatury powietrza na obniżenie aktywności wydzielniczej tarczycy (Valtorta i in. 1982, Al-Busadah 2004, Todini i in. 2007). Wyjaśnia to odnotowane w prezentowanej pracy niższe stężenie tyroksyny w okresie lata.

Należy zaznaczyć, że wiele sezonowych zmian zachodzi z odpowiednim wyprzedzeniem, np. zmiana okrywy włosowej czy magazynowanie energii. Gdyby rozpoczęcie tych

procesów następowało zbyt późno i tylko w odpowiedzi na zmiany temperatury, zwierzęta nie byłyby w stanie sprostać surowym warunkom zimowym (Paul i in. 2008). Tym można tłumaczyć wykazaną w niniejszej pracy zależność między stężeniem tyroksyny a długością dnia, na co zwracają uwagę również inni autorzy (Webster i in. 1991, Souza i in. 2002, Błaszczuk i in. 2004, Todini i in. 2006, Zarei i in. 2009). Przykładem hormonu, którego stężenie (podobnie jak stężenie tyroksyny) zmienia się w zależności od pory roku, jest prolaktyna (Celi i in. 2003, Błaszczuk i in. 2004). Także funkcja tego hormonu łączona jest z sezonowymi procesami adaptacyjnymi organizmu do warunków środowiskowych, a jego uwalnianie zależy od temperatury otoczenia i długości dnia. Badania przeprowadzone na kozach wykazały, że temperatura modyfikuje wpływ długości dnia na wydzielanie prolaktyny i wzrost torebek włosowych poprzez mechanizmy niezależne od melatoniny (Gebbie i in. 1999). Z badań, dotyczących zależności między czynnikami klimatycznymi a regulacją hormonalną, warto przytoczyć wyniki badań Sawhney i Malhotra (1990), w których w warunkach obniżonego ciśnienia i niewielkiej dostępności tlenu zanotowano znaczny spadek stężenia trójiodotyroniny i tyroksyny u królików.

Kolejnym czynnikiem, którego wpływ na aktywność wydzielniczą tarczycy wykazano w niniejszej pracy, był wiek zwierząt. U kóz w pierwszym roku życia dynamika zmian stężenia tyroksyny w ciągu roku była zbliżona do rocznego rytmu u starszych zwierząt, ale stężenie tyroksyny całkowitej było znacznie niższe. Różnice w stężeniu wolnej frakcji tyroksyny były także istotne, ale mniejsze niż w przypadku koncentracji tyroksyny całkowitej. Mimo istotnego znaczenia hormonów tarczycy w rozwoju organizmu niewiele jest badań dotyczących stężenia tych hormonów w okresie wzrostu i dojrzewania młodych kóz. Z nielicznych danych przedstawionych przez innych autorów można wywnioskować, iż stężenie tyroksyny u młodych zwierząt jest wyższe albo zbliżone do stężenia występującego u dorosłych zwierząt (Lucaroni i Todini 1989). W niniejszej pracy natomiast wyższe stężenie tyroksyny odnotowano u starszych kóz. Mogło to być spowodowane osiągnięciem przez nie dojrzałości płciowej. U młodych kóz podczas pierwszego sezonu jesiennego przez dłuższy czas nie obserwowano typowych okresowych zmian w zachowaniu i wyglądzie zewnętrznych narządów płciowych, świadczących o regularnych cyklach rujowych. Objawy rujowe występowały u tych zwierząt nieregularnie i pojawiały się dopiero pod koniec jesieni. Regularność związana z występowaniem rui pojawiła się dopiero w drugim roku badań. Z aktywnością płciową wiąże się natomiast dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych. Produkowany przez nie  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ), oprócz wielu innych funkcji, wpływa na syntezę globuliny wiążącej tyroksynę (TBG), a tym samym na wzrost stężenia tyroksyny całkowitej (Ain i in. 1987). Potwierdzeniem takich zależności jest zanotowane przez Todini i in. (1992) wyższe stężenie tyroksyny u kóz niż u kozłów. Warto zaznaczyć, iż w badaniach tych autorów stężenie  $T_4$  u kozłów było nawet dwukrotnie niższe niż u samic. Interesujące wyniki przedstawili też Perez-Martinez i in. (1999), którzy stwierdzili, że dominującym estrogenem produkowanym przez jajniki młodych kóz jest nie  $17\beta$ -estradiol, ale estron ( $E_1$ ).

Niniejsze badania nad określeniem stężenia tyroksyny rozpoczęto u trzymiesięcznych kóz. Wiadomo, że w pierwszych miesiącach życia hormony tarczycy odgrywają istotną rolę w procesie termoregulacji. W tym okresie dominuje termogeneza bezdrzeniowa, polegająca

na wytwarzaniu ciepła podczas metabolizmu brunatnej tkanki tłuszczowej (Dwyer 2008). U różnych gatunków zwierząt czas trwania nadczynności pourodzeniowej tarczycy jest różny. Na przykład u lam wysokie stężenie tyroksyny utrzymuje się do 90 dni, po czym spada ponad 4-krotnie w odniesieniu do wartości notowanych w pierwszych dniach życia (McLaughlin i in. 1993). Z kolei u jałówek okres wzmożonej aktywności sekrecyjnej tarczycy utrzymuje się do 22. tygodnia życia (Lachu-Mengido i in. 2000). Ponadto, jak podają Cabello i Wrutniak (1990), postnatalny wzrost stężenia wolnej frakcji tyroksyny jest większy i utrzymuje się dłużej niż wzrost koncentracji tyroksyny całkowitej. Na podstawie przeprowadzonych badań można przypuszczać, że u kóz nadczynność pourodzeniowa nie trwa dłużej niż dwa miesiące.

Z kolei niższe stężenie hormonów tarczycy w pierwszym roku życia przypuszczalnie związane było z niższą aktywnością jajnikową. Kozy osiągają dojrzałość płciową w wieku od czwartego do dziesiątego miesiąca życia (Greyling 2000, Bukar i in. 2006). W przeprowadzonym doświadczeniu badane kozy urodziły się w maju i najprawdopodobniej były za młode, aby mogły rozpocząć regularną aktywność płciową już podczas pierwszej jesieni. Przyczyną mógł być niewystarczający wpływ „dnia długiego” podczas ich pierwszej wiosny i lata, na co wskazują Foster i in. (1988). Ponadto Papachristoforou i in. (2000) podają, że sezon rozrodczy u dojrzewających kóz może być znacznie krótszy niż u zwierząt dorosłych. Niewykluczone, że na osiągnięcie dojrzałości płciowej mogła wpływać nieobecność starszych zwierząt. Badane stadko nie było utrzymywane ani z dojrzałymi kozami, ani z kozłami. W pracy Bartlewskiego i in. (2002) wykazano natomiast istotny wpływ tryków na czas uzyskania pełnej dojrzałości u jarek. Wpływ ten podkreślają także inni autorzy (Amoah i Bryant 1984, Greyling 2000, Papachristoforou i in. 2000). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono bezpośredniego potwierdzenia wpływu dojrzałych samic na czas uzyskania dojrzałości płciowej przez przebywające z nimi młode samice. Badania Alvareza i in. (2003) sugerują jednak oddziaływanie dominujących kóz w rui na inne samice w stadzie.

Uzyskanie dojrzałości płciowej zależy także od szerokości geograficznej. Kozy hodowane na obszarach na niższej szerokości geograficznej często mają wydłużony sezon rozrodczy, w związku z czym pora roku nie jest u nich takim ograniczeniem w uzyskaniu dojrzałości płciowej jak u kóz utrzymywanych w klimacie umiarkowanym (Bukar i in. 2006, Moaeen-ud-Din i in. 2008). Występują też dość duże różnice związane z rasą. Na przykład chińskie kozy rasy mau-tou osiągają dojrzałość płciową już w trzecim miesiącu życia, karłowate afrykańskie w czwartym miesiącu, kozy rasy sahel w piątym miesiącu, kozy bengalskie w szóstym miesiącu, saaneńskie w siódmym miesiącu, burskie od miesiąca siódmego do dziesiątego, a angorskie nawet w dwunastym miesiącu życia (Amoah i Bryant 1984, Greyling 2000, Yuan i in. 2000, Bukar i in. 2006, Moaeen-ud-Din i in. 2008). Notowane są także duże rozbieżności w obrębie tej samej rasy, czego przykładem mogą być kozy rasy mau-tou, u których czas uzyskania dojrzałości waha się od dwóch do siedmiu miesięcy (Moaeen-ud-Din i in. 2008).

U badanych kóz regularne cykle płciowe pojawiły się podczas drugiego sezonu jeziennego, co potwierdziły zarówno objawy rujowe, jak i zmiany w stężeniu progesteronu. Ogólnie przyjmuje się, że w klimacie umiarkowanym sezon rozrodczy u kóz trwa od końca lata do początku wiosny (Chemineau i in. 1992, Amoah i in. 1996), co potwierdza niniejsza praca. Badane kozy rozpoczęły sezon rozrodczy na początku jesieni, a zakończyły na przeło-

mie zimy i wiosny. Na długość sezonu rozrodczego mają też wpływ pewne różnice rasowe i obszar zamieszkiwany przez zwierzęta (Papachristoforou i in. 2000, Rivera i in. 2003, Gurjar i in. 2007).

W trakcie trwania sezonu rozrodczego odnotowano 7–8 cykli jajnikowych; zbliżoną liczbę podają inni autorzy (Papachristoforou i in. 2000).

W mechanizmach kontrolujących rozpoczęcie sezonu rozrodczego fotoperiod i związany z nim rytm uwalniania melatoniny mają decydujące znaczenie (Malpaux i in. 1996, Barrell i in. 2000, Thiéry i in. 2002, Chemineau i in. 2008). Z kolei w procesach związanych z zakończeniem sezonu rozrodczego i rozpoczęciem sezonowego *anestrus* uwzględnia się udział hormonów tarczycy. W badaniach na owcach i jeleniach tyreidoktomia pod koniec sezonu rozrodczego blokowała przejście zwierząt w *anestrus* (Moenter i in. 1991, Webster i in. 1991, Dahl i in. 1994 a, Thrun i in. 1997, Anderson i Barrell 1998 a, Billings i in. 2002), a indukowana hipotyreoza wydłużała sezon rozrodczy (Follett i Potts 1990, Hernandez i in. 2003). Badania te stały się podstawą do wnioskowania, że przejście w *anestrus* następuje pod wpływem wzrostu stężenia tyroksyny we krwi obwodowej pod koniec sezonu rozrodczego.

W przeprowadzonych badaniach znaczny wzrost uwalniania tyroksyny zanotowano w pierwszej połowie grudnia; utrzymywał się on w kolejnych miesiącach. Podobne zmiany w uwalnianiu tego hormonu zaobserwowali u owcy Thrun i in. (1997). Według nich sezonowy *anestrus* rozpoczyna się przy podwyższonym stężeniu tyroksyny, utrzymującym się od końca grudnia przez co najmniej 60–90 dni. Dlatego w badaniach własnych dążono do tego, by właśnie w tym okresie doprowadzić do obniżenia stężenia aktywności sekrecyjnej tarczycy. Pierwszym stosowanym preparatem tyreostatycznym był metimazol. Uwzględniając wyniki badań cytowanych autorów, dotyczących tyreidoktomii, w wyborze preparatu starano się uwzględnić jego bezpośredni wpływ na syntezę hormonów tarczycy bez wpływu na aktywność dejodynaz (Villar i in. 2002).

Jego podawanie rozpoczęto w połowie listopada, zakładając, że po miesiącu stosowania powinno dojść do spadku koncentracji tyroksyny w osoczu krwi (Symonds i in. 1996 b, Villar i in. 2002). Niestety, po tym okresie nie odnotowano obniżenia stężenia tyroksyny. W związku z tym przez kolejny miesiąc podawano większą dawkę preparatu, która również okazała się nieskuteczna. Wyjaśnieniem braku efektu tyreostatycznego może być oporność kóz na metimazol lub zbyt mała jego dawka. Wyniki badań, dotyczące skuteczności tego preparatu u innych gatunków przeżuwaczy, są niejednoznaczne. Wcześniejsze badania wykazały, że podobna ilość podawanego preparatu była wystarczająca do obniżenia aktywności tarczycy u krów i jagniąt (Trenkle i in. 1959, Premachandra i in. 1960, Raun i in. 1960). Efekt tyreostatyczny u jagniąt zanotowano także w nowszych badaniach, w których stosowano jednak znacznie większą dawkę preparatu (Symonds i in. 1996 a, b). Drastyczne obniżenie stężenia hormonów tarczycy w tych doświadczeniach miało jednak negatywny wpływ na zdrowie młodych zwierząt. Natomiast podobne wyniki badań do niniejszych przedstawili Foilet i Potts (1990). Autorzy ci, stosując dzienną iniekcję metimazolu w dawce 1,4 mg/kg mc., nie stwierdzili stanu hipotyreozy u owiec. Niejednoznaczne są też dane dotyczące stosowania karbimazolu, który – podobnie jak metimazol – należy do pochodnych imidazolu. Charakteryzuje się on takim samym mechanizmem działania, ale jest preparatem dwukrotnie silniejszym i jego



stosowanie powoduje więcej efektów ubocznych (Premachandra i in. 1960, Villar i in. 2002). Przykładem mogą być badania AL-Busadah (2004) wskazujące na obniżoną aktywność lutealną jajników pod wpływem indukowanego przez karbimazol (3 mg/kg mc./dzień) stanu hipotyreozy u kóz. Autor ten nie oceniał jednak stężenia hormonów tarczycy, więc trudno stwierdzić, czy osłabiona czynność jajników spowodowana była niedoczynnością tarczycy czy raczej samym preparatem. Niewielkie obniżenie stężenia tyroksyny w wyniku podawania karbimazolu, przy jednoczesnym obniżeniu aktywności wydzielniczej jajników w okresie poporodowym u owiec, odnotowali natomiast Bekeová i in. (1996). Na tej podstawie stwierdzili, że hormony tarczycy mogą uczestniczyć w regulacji procesów związanych z poporodowym *anestrus*.

W przeprowadzonym doświadczeniu metimazol w zastosowanej dawce nie wywołał efektu tyreostatycznego i nie wpłynął na aktywność jajnikową zwierząt. U wszystkich kóz obserwowano cykle rujowe, a stężenie progesteronu i czas rozpoczęcia sezonowego *anestrus* były zbliżone.

Stosowanie preparatów tyreostatycznych, mimo że jest znacznie mniej inwazyjne od tyreidektomii, może wywołać działania niepożądane. Do poważniejszych objawów ubocznych należą hipogranulocytoza, podwyższona temperatura i żółtaczka mechaniczna (Villar i in. 2002, Łącka i Czyżyk 2008). Podczas stosowania metamizolu u badanych zwierząt nie stwierdzono odchyłeń mogących świadczyć o występowaniu objawów ubocznych. Zarówno temperatura, jak i masa ciała, aktywność aminotransferazy alaninowej, stężenie bilirubiny, liczba leukocytów i procentowy udział granulocytów były zbliżone w obu grupach zwierząt, a wartości pozostałych parametrów mieściły się w zakresie, jaki zarejestrowano przed rozpoczęciem podawania preparatu. Wartości parametrów biochemicznych i hematologicznych krwi wszystkich kóz w większości były zgodne z wartościami referencyjnymi dla tego gatunku podanymi przez Winnicką (2008). Zanotowano pewne odchylenia dotyczące aktywności ALT, która u badanych kóz była niższa. W porównaniu z wynikami przedstawionymi przez innych autorów te rozbieżności w kształtowaniu się niektórych parametrów były większe (Stevens i in. 1994, Schumacher-Henrique i in. 2003, Taiwo i Ogunsanmi 2003). Niewątpliwie na te różnice wpływają rasa, warunki klimatyczne, płeć i metody oznaczeń. Dlatego w tego typu doświadczeniach najlepiej odnosić się do wyników wcześniejszych badań dotyczących określonej grupy zwierząt, stosując te same metody analityczne.

Drugim preparatem, który zastosowano u kóz podczas kolejnego sezonu rozrodczego, był propyltiouracyl. Podobnie jak w przypadku metimazolu jego podawanie rozpoczęło w połowie listopada. Preparat ten (w dawce 6 mg/kg mc./dzień) okazał się skuteczny w indukowaniu stanu hipotyreozy u badanych kóz. Skuteczność tego preparatu stwierdzono także w przypadku kastrowanych kozłów rasy kaszmirowskiej, u których badano wpływ różnych dawek propyltiouracylu (od 1,1 do 35 mg mg/kg mc./dzień) na sekrecję hormonów tarczycy (Villar i in. 1998). W wyniku podawania preparatu w dawce 4,4 i 8,8 mg /kg mc./dzień ww. autorzy obserwowali spadek stężenia tyroksyny do wartości w zakresie od 20 nmol/l (15,40 ng/ml) do 30 nmol/l (19,25 ng/ml). Podobne wartości i zbliżony czas, w którym nastąpiło obniżenie stężenia tyroksyny, odnotowano również w niniejszej pracy. W porównaniu z wynikami ww. autorów stężenie wyjściowe u badanych kóz było niższe. Skuteczność pro-

pyliouracylu w indukowaniu hipotyreozy wykazano także w innych badaniach przeprowadzonych na kozach (Al-Tamimi 2007) oraz na innych gatunkach przeżuwaczy (Achmadi i Terashima 1995, De Moraes i in. 1998, Hernandez i in. 2003).

W niniejszych badaniach niskie stężenie tyroksyny utrzymywało się przez co najmniej 41 dni po odstawieniu preparatu, co może być ważną wskazówką przy planowaniu założeń doświadczeń wymagających stanu niedoczynności tarczycy u kóz. Zaletą efektu hipotyreozy, wywołanego przez preparaty tyreostatyczne, jest jego odwracalność (Al-Tamimi 2007); w przeprowadzonym doświadczeniu stężenie tyroksyny ustabilizowało się na poziomie zbliżonym do stężenia w grupie kontrolnej w 46. dniu po odstawieniu preparatu. W przypadku propylotiouracylu ważna jest również jego najniższa wśród innych preparatów toksyczność (Villar i in. 1998, Łącka i Czyżyk 2008). Potwierdza to przeprowadzone doświadczenie, jak również badania innych autorów (Hernandez i in. 2003). U badanych kóz nie odnotowano większych odchyłeń w kształtowaniu się wskaźników hematologicznych, biochemicznych, masy i temperatury ciała. W trakcie podawania preparatu obserwowano natomiast wzrost liczby eozynofiliów. Mogło to być związane z ewentualną reakcją alergiczną, ale liczba tych krwinek nie różniła się istotnie od odnotowanej w grupie kontrolnej. Istotne różnice między grupami dotyczyły natomiast stężenia cholesterolu. Najprawdopodobniej spowodowane one były obniżoną aktywnością sekrecyjną tarczycy, niemniej odnotowane w tej pracy stężenie cholesterolu mieściło się w zakresie wartości notowanych w poprzednich latach doświadczenia. Oczywiście jest natomiast to, że podczas stanów niedoczynności tarczycy stężenie cholesterolu wzrasta, a podczas nadczynności się obniża (Ibrahim i in. 1984, O'Shea i Williams 2002, Mostaghni i in. 2008). Hormony tarczycy wpływają bowiem na katabolizm cholesterolu w wątrobie, przez co obniżają jego stężenie we krwi (Nazifi i in. 2007). Warto w tym miejscu zaznaczyć, iż preparaty tyreostatyczne stosowano też w celu zwiększenia produktywności zwierząt (Premachandra i in. 1960, Villar i in. 2002).

Celem badań, w których doprowadza się do stanu hipotyreozy, jest również stworzenie modelu doświadczalnego na potrzeby oceny wielorakich funkcji tarczycy oraz jej nieprawidłowości (Sokkar i in. 2000). U przeżuwaczy najczęstszym zaburzeniem tarczycy jest hipotyreoza (Mostaghni i in. 2008). W warunkach naturalnych może być ona spowodowana niedoborem bądź brakiem jodu i/lub selenu, które są niezbędne do syntezy i metabolizmu hormonów tarczycy (Wichtel i in. 1996, Jovanovic i in. 2007). Zaburzenia funkcji tarczycy wynikające z ich niedoboru występują na terenach ubogich w te pierwiastki, co w przypadku jodu dotyczy przede wszystkim okolic podgórskich (Jovanovic i in. 2007, Mostaghni i in. 2008). Z kolei spośród obszarów Polski, które są „deficytowe” w selen, wymienia się między innymi Pomorze Zachodnie, o czym świadczą wyniki Pilarczyk i in. (2010). Hamujący wpływ na wydzielanie hormonów tarczycy mają również niektóre rośliny, zwłaszcza należące do rodziny kapustowatych, takie jak rzepa i kapusta (Villar i in. 2002).

W przeprowadzonym doświadczeniu, oprócz określenia skuteczności propylotiouracylu w indukowaniu hipotyreozy, oceniano też wpływ uzyskanego efektu tyreostatycznego na czas rozpoczęcia sezonowego *anestrus* u kóz. W przypadku owiec stężenie tyroksyny hamujące *anestrus* nie może przekraczać 20 ng/ml (Dahl i in. 1995, Hernandez i in. 2003). W niniejszych badaniach zbliżone stężenie tyroksyny u większości kóz utrzymywało się przez

około 70 dni, a mimo to zwierzęta doświadczalne kończyły sezon rozrodczy w tym samym terminie co grupa kontrolna, w której stężenie tyroksyny było kilkakrotnie wyższe. Nie stwierdzono też różnic w stężeniu progesteronu.

Należy uwzględnić co najmniej kilka przyczyn braku wpływu efektu tyreostatycznego na wydłużenie sezonu rozrodczego u badanych kóz, przede wszystkim mechanizm działania propylotiouracylu, polegający na hamowaniu aktywności dejodynazy typu I bez wpływu na dejodynazę typu II (Villar i in. 2002, Pezzi i in. 2003). Badania, ukierunkowane na zależną od fotoperiodu ekspresję genu *D2* w różnych obszarach środkowo-podstawnego podwzgórza u zwierząt „dnia krótkiego” i „dnia długiego”, sugerują udział dejodynazy II w sezonowych zmianach plastyczności neuronów GnRH (Diano i in. 2003, Revel i in. 2006, Yasuo i in. 2006, Yasuo i Yoshimura 2009). Wyniki niniejszych badań częściowo więc potwierdzają to, że sezonowe zmiany w biodostępności i bioaktywności hormonów tarczycy w obszarze mózgu odgrywają istotną rolę w zmianach aktywności generatora pulsów GnRH.

Nie można też wykluczyć, iż obniżenie stężenia tyroksyny we krwi obwodowej nie było na tyle duże, by hormon ten nie mógł wpłynąć hamująco na uwalnianie GnRH. Potwierdzeniem tej sugestii są badania Dahl i in. (1995), którzy w trakcie doświadczenia z owcą z niecałkowicie usuniętą tarczycą odnotowali typowy dla okresu anestrального spadek stężenia LH. Ponadto dokomorowa infuzja tyroksyny u owiec poddanych tyreidektomii zmniejszała uwalnianie GnRH. Natomiast taka sama dawka hormonu w postaci iniekcji nie wywołała takiego efektu (Viguié i in. 1999). Badania te dowodzą, że stężenie tyroksyny powodujące rozpoczęcie *anestrus*, może być znacznie niższe w obszarze mózgu niż we krwi obwodowej. Na taką możliwość wskazują również Maurenbrecher i Barrell (2003).

Należy uwzględnić też istnienie mechanizmów zabezpieczających ośrodkowy układ nerwowy przed niedoborem hormonów tarczycy. Rudas i in. (2005) podkreślają zdolność utrzymania „normalnego” stężenia trójiodotyroniny w mózgu podczas stanu niedoczynności tarczycy trwającego nawet przez dłuższy czas. Wykazano, że wychwyty znakowanych hormonów tarczycy w mózgu był dużo większy u zwierząt poddanych tyreidektomii niż u zwierząt kontrolnych. Jak podają cytowani autorzy, w stanach niedoczynności nasila się konwersja tyroksyny do trójiodotyroniny, a jednym z najważniejszych elementów tego procesu jest wzrost ekspresji i aktywności dejodynazy typu II w mózgu. Oprócz przedstawionych wyżej danych może to tłumaczyć uzyskane wyniki badań własnych.

Przy założeniu, że tyreidektomia blokuje wejście w *anestrus*, a indukowana hipotyreza nie jest w stanie zahamować rozpoczęcia sezonowego *anestrus*, należałoby rozpatrzyć również możliwość wpływu innych czynników związanych z oddziaływaniem tarczycy lub przytarczyc. Na przykład zmiany stężenia parathormonu i kalcytoniny również podlegają rocznym rytmom (Chao i in. 1984). Sugeruje to potrzebę rozważenia możliwości wpływu innych hormonów produkowanych w tarczycy i/lub w przytarczycach jako ewentualnych czynników biorących udział w regulacji rocznych rytmów reprodukcyjnych.

W przeciwieństwie do uzyskanych wyników wydłużenie sezonu rozrodczego w rezultacie niepełnej supresji wydzielania tarczycy stwierdzono u walijskich górskich owiec, którym podawano metylotiouracyl (Follett i Potts 1990). Wspomniani autorzy uzyskali to, obniżając stężenie tyroksyny do ok. 33% poziomu notowanego u owiec z grupy kontrolnej; zbliżony spa-

dek stężenia tego hormonu notowano w niniejszych badaniach. Podobne rezultaty u owiec uzyskali Hernandez i in. (2003), którzy z kolei do indukowania hipotyreozy stosowali propylo-tiouracyl.

Mogą zatem istnieć różnice gatunkowe dotyczące znaczenia hormonów tarczycy w sezonowych procesach rozrodczych, gdyż w dwóch niezależnych doświadczeniach tyreidektomia lub supresja aktywności tarczycy nie powodowała wydłużenia sezonu rozrodczego, a nawet zaburzała funkcję jajników u kóz (Reddy i in. 1996, Walkden-Brown i in. 1996). Należy zaznaczyć, iż w przebiegu czynności rozrodczych u zwierząt „dnia krótkiego” istnieją pewne różnice gatunkowe. Przykładem mogą być sezonowe zmiany wrażliwości generatora pulsów GnRH, które u owcy zależą od hamującego wpływu estradiolu; u jelenia szlachetnego zmiany te są niezależne od wpływu steroidów (Anderson i Barrell 1998 b). Być może różnice obejmują również mechanizmy kontrolujące zakończenie sezonu rozrodczego, a niniejsza praca jest kolejną pracą, w której nie potwierdzono udziału hormonów tarczycy w procesach rozrodczych związanych z sezonowością rozrodo u kóz.

Bardzo trudno jednoznacznie interpretować uzyskane wyniki. Z jednej strony, wyniki tych badań nie potwierdzają udziału hormonów tarczycy w procesach powodujących przejście do sezonowego *anestrus* u kóz, ale nie upoważniają też do wykluczenia ich udziału w kontroli sezonowości rozrodo u tego gatunku zwierząt. Należy jednak przyjąć możliwość występowania pewnych odrębności gatunkowych w mechanizmach kontrolujących zakończenie sezonu rozrodczego u zwierząt „dnia krótkiego”. Najprawdopodobniej wysokie stężenie tyroksyny może hamować sezon rozrodczy kóz, ale niskie stężenie tyroksyny we krwi obwodowej w okresie przejściowym sezonu rozrodczego nie wydłuża.

## 6. WNIOSKI

1. Zbliżona dynamika zmian stężenia tyroksyny w pierwszym i drugim roku życia kóz wskazuje, że niezależnie od wieku i dojrzałości płciowej występuje okołoroczny rytm aktywności sekrecyjnej tarczycy, charakteryzujący się najwyższymi stężeniami w okresie zimowo-wiosennym i najniższymi w miesiącach letnio-jesiennych.

2. Stwierdzone różnice w wielkości stężenia tyroksyny całkowitej i frakcji wolnej między pierwszym a drugim rokiem życia sugerują istnienie związku między dojrzałością płciową a aktywnością wydzielniczą tarczycy u kóz.

3. Wykazany związek między temperaturą, długością dnia a stężeniem tyroksyny całkowitej i tyroksyny wolnej potwierdza oddziaływanie czynników klimatycznych na aktywność wydzielniczą tarczycy, a także adaptacyjną funkcję jodotyronin.

4. Brak efektu tyreostatycznego w wyniku podawania metimazolu wskazuje, że preparat ten w dawce 1 mg/kg mc./dzień nie wywołuje stanu hipotyreozy u kóz.

5. Obniżone stężenie tyroksyny w osoczu krwi, przy prawidłowo kształtujących się wskaźnikach biochemicznych i hematologicznych krwi, oraz brak odchyień w masie i temperaturze ciała w trakcie i po zakończeniu podawania propyltiouracylu wskazuje, że preparat ten w dawce 6 mg /kg mc./dzień może być stosowany w indukcji hipotyreozy u kóz.

6. Brak wpływu indukowanej niedoczynności tarczycy na długość sezonu rozrodczego wskazuje, że niskie stężenie tyroksyny we krwi obwodowej nie może wydłużyć sezonu rozrodczego u kóz. Wyniki te sugerują jednocześnie istnienie różnic gatunkowych w regulacji procesów związanych z zakończeniem sezonu rozrodczego u zwierząt „dnia krótkiego”.



## PIŚMIENNICTWO

1. ABECIA J.A., VALARES J.A., FORCADA F. 2005. The effect of melatonin treatment on wool growth and thyroxine secretion in sheep. *Small Rumin. Res.* 56 (1–3), 265–270.
2. ACHMADI J., TERASHIMA Y. 1995. The effect of propylthiouracyl-induced low thyroid function on secretion response and action of insulin in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12 (2), 157–166.
3. AIN K.B., MORI Y., REFETOFF S. 1987. Reduced clearance rate of thyroxine-binding globulin (TBG) with increased sialylation: a mechanism for estrogen-induced elevation of serum TBG concentration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 65 (4), 689–696.
4. AL-BUSADAH K.A. 2004. The effect of induced hypothyroidism on fertility of goats during summer season. *Scientific J. King Faisal Univ. Basic and Applied Sci.* 5 (1), 1425.
5. AL-TAMIMI H.J. 2007. Responses of simultaneously recorded intraperitoneal and subcutaneous temperatures of *Black Bedouin* goats to transient thyrosuppression during cold stress. *Livest. Sci.* 106 (2–3), 254–260.
6. ALVAREZ L., MARTIN G.B., GALINDO F., ZARCO L.A. 2003. Social dominance of female goats affects their response to the male effect. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 84 (2), 119–126.
7. AMOAH E.A., BRYANT M. 1984. Effect of pattern of lighting and time of birth on occurrence of puberty in female goat kids. *Anim. Prod.* 38 (1), 83–89.
8. AMOAH E.S., GELAYE S., GUTHRIE P., REXROAD C.E. 1996. Breeding season and aspects of reproduction of female goats. *J. Anim. Sci.* 74 (4), 723–728.
9. ANDERSON G.M., BARRELL G.K. 1998 a. Effects of thyroidectomy and thyroxine replacement on seasonal reproduction in the red deer hind. *J. Reprod. Fertil.* 113 (2), 239–2501.
10. ANDERSON G.M., BARRELL G.K. 1998 b. Pulsatile luteinizing hormone secretion in the ovariectomized, thyroidectomized red deer hind following treatment with dopaminergic and opioidergic agonists and antagonists. *Biol. Reprod.* 59 (4), 960–968.
11. ANDERSON G.M., CONNORS J.M., HARDY S.L., VALENT M., GOODMAN R.L. 2002. Thyroid hormones mediate steroid-independent seasonal changes in luteinizing hormone pulsatility in the ewe. *Biol. Reprod.* 66 (3), 701–706.
12. ANDERSON G.M., HARDY S.L., VALENT M., BILLINGS H.J., CONNORS J.M., GOODMAN R.L. 2003. Evidence that thyroid Hormones act in the ventromedial preoptic area and the premammillary region of the brain to allow the termination of the breeding season in the ewe. *Endocrinology* 144 (7), 2892–2901.
13. ARENDT J., SYMONS A.M., LAUD C.A., PRYDE S.J. 1983. Melatonin can induce early onset of the breeding season in ewes. *J. Endocrinol.* 97 (3), 395–400.
14. BALL G.F. 2006. Thyroid hormone transport and photoperiodism: feeling one's oats. *Endocrinology* 147 (3), 1065–1066.
15. BARASCH J.M., TAMIR H., NUNEZ E.A., GERSHON M.D. 1987. Serotonin-storing secretory granules from thyroid parafollicular cells. *J. Neurosci.* 7, 4017–4033.
16. BARRELL G.K., MOENTER S.M., CARATY A., KARSCH F.J. 1992. Seasonal changes of gonadotrophin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biol. Reprod.* 46 (6), 1130–1135.
17. BARRELL G.K., THRUN L.A., BROWN M.E., VIGUIE K., KARSCH F.J. 2000. Importance of photoperiodic signal quality to entrainment of the circannual reproductive rhythm of the ewe. *Biol. Reprod.* 63 (3), 769–774.
18. BARTLEWSKI P.M., BEARD A.P., COOK S.J., RAWLINGS N.C. 2002. Ovarian activity during sexual maturation and following introduction of the ram to ewe lambs. *Small Rumin. Res.* 43 (1), 37–44.
19. BARTLEWSKI P.M., BEARD A.P., RAWLINGS N.C. 1999. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 57 (1–2), 51–66.
20. BECHTOLD D.A., LOUDON A.S.I. 2007. Hypothalamic thyroid hormones: mediators of seasonal physiology. *Endocrinology* 148 (8), 3605–3607.

21. BEKEOVÁ E., ELECKO J., KRAJNÍČÁKOVÁ M., HENDRICHOVSKÝ V., MARAČEK I. 1991. Dynamics of changes in concentrations of cholesterol and thyroid and ovarian hormones in blood serum during postparturient period of ewes. *Vet. Med. (Praha)* 36 (11), 673–684.
22. BEKEOVÁ E., KRAJNÍČÁKOVÁ M., HENDRICHOVSKÝ V., MARAČEK I. 1996. Oestradiol 17-beta, progesterone, thyroxin and tri-iodothyronine levels in the puerperium of carbimazol-treated ewes. *Folia Vet.* 40 (3–4), 75–79.
23. BEKEOVÁ E., KRAJNÍČÁKOVÁ M., HENDRICHOVSKÝ V., MARAČEK I. 1995. Thyroid and ovarian hormones in ewes treated with gestagen and PMSG in spring season. *Vet. Med. (Praha)*, 40 (11), 345–352.
24. BHARDWAJ R.L., RAJPUT R., PATHAK V., THAKUR K. 2006. Comparative anatomy of the thyroid gland of small ruminants. *Indian J. Anim. Sci.* 76 (1), 46–47.
25. BILLINGS H.J., VIGUIE C., KARSCH F.J., GOODMAN R.L., CONNORS J.M., ANDERSON G.M. 2002. Temporal requirements of thyroid hormones for seasonal changes in LH secretion. *Endocrinology* 143 (7), 2618–2625.
26. BITMAN J., KAHL S., WOOD D.L., LEFCOURT A.M. 1994. Circadian and ultradian rhythms of plasma thyroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 266 (6), 1797–1803.
27. BŁASZCZYK B., STANKIEWICZ T., UDAŁA J., GAĆZARZEWICZ D., LASOTA B., BŁASZCZYK P., SZYMAŃSKA A., SZYMAŃSKA-PASTERNAK J. 2006. Free thyroid hormones and cholesterol in follicular fluid of bovine ovaries. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 50 (2), 189–193.
28. BŁASZCZYK B., STANKIEWICZ T., UDAŁA J., GAĆZARZEWICZ D. 2009. Plasma progesterone analysis by a time-resolved fluorescent antibody test to monitor estrous cycles in goats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21 (1), 80–87.
29. BŁASZCZYK B., UDAŁA J., GAĆZARZEWICZ D. 2004. Changes in estradiol, progesterone, melatonin, prolactin and thyroxine concentrations in blood plasma of goats following induced estrus in and outside the natural breeding season. *Small Rumin. Res.* 51 (3), 209–219.
30. BOBEK S. Rewers trójiodotyronina – synteza i rola. *Medycyna Wet.* 62 (12).
31. BUKAR M.M., AMIN J.D., SIVACHELVAN M.N., RIBADU A.Y. 2006. Postnatal histological development of the ovaries and uterus and the attainment of puberty in female kid goats. *Small Rumin. Res.* 65 (3), 200–208.
32. CABELLO G., WRUTNIAK C. 1990. Thyroid function in the newborn lamb. Physiological approach of the mechanisms inducing the changes in plasma thyroxine, free thyroxine and triiodothyronine concentrations. *J. Dev. Physiol.* 13 (1), 25–32.
33. CAUSLAR T., CLAIR L.E. ST. 1974. Parathyroid gland of domesticated ruminants. *J. Dairy Sci.* 57 (10), 1263–1266.
34. CELI P., SEREN E., CELI R., PARMEGGIANI A., DI TRANA A. 2003. Relationships between blood hormonal concentrations and secondary fibre shedding in young cashmere-bearing goats at their first moult. *Anim. Sci.* 77 (3), 371–381.
35. CHADIO S.E., MENEGATOS J., ZERVAS G., GOULAS C., DELIGEORGIS S., KALOGIANNIS D. 2002. Pituitary responsiveness to gonadotropin- and thyrotropin-releasing hormones in goats treated with recombinant bovine somatotropin. *Small Rumin. Res.* 46 (2–3), 149–157.
36. CHAO C.C., BROWN R.D., DEFTOS L.J. 1984. Seasonal levels of serum parathyroid hormone, calcitonin and alkaline phosphatase in relation to antler cycles in white-tailed deer. *Acta Endocrinol.* 106 (2), 234–240.
37. CHEMINEAU P., DAVEAU A., MARICE F., DELGADILLO J.A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rumin. Res.* 8, 299–312.
38. CHEMINEAU P., GUILLAUME D., MIGAUD M., THIÉRY J.C., PELLICER-RUBIO M.T., MALPAUX B. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reprod. Domest. Anim.* 43 (Suppl. 2), 40–47.
39. CHEMINEAU P., VANDAELE E., BRICE G., JARDON C. 1991. Use of the implants of the melatonin for the improvement of the performances of reproduction in the ewe. *Rec. Med. Vet.* 167, 227–239.



40. CHENG S.Y., LEONARD J.L., DAVIS P.J. 2010. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr. Rev.* 31 (2), 139–170.
41. CONCANNON P.W., CASTRACANE V.D., RAWSON R.E., TENNANT B.C. 1999. Circannual changes in free thyroxine, prolactin, testes, and relative food intake in woodchucks, *Marmota monax*. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compar. Physiol.* 277 (5), 1401–1409.
42. DAHL G.E., EVANS N.P., MOENTERT S.M., KARSCH F.J. 1994 a. The thyroid gland is required for reproductive neuroendocrine responses to photoperiod in the ewe. *Endocrinology* 135 (1), 10–15.
43. DAHL G.E., EVANS N.P., THRUN L.A., KARSCH F.J. 1994 b. A central negative feedback action of thyroid hormones on thyrotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 136 (6), 2392–2397.
44. DAHL G.E., EVANS N.P., THRUN L.A., KARSCH F.J. 1995. Thyroxine is permissive to seasonal transitions in reproductive neuroendocrine activity in the ewe. *Biol. Reprod.* 52 (3), 690–696.
45. DAS K., CHAINY G.B. 2001. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochim. Biophys. Acta* 1537 (1), 1–13.
46. DIANO S., LEONARD J.L., MELIC R., ESPOSITO E., SCHIAVO L. 2003. Hypothalamic type II iodothyronine deiodinase: a light and electron microscopic study. *Brain Res.* 976 (1), 130–134.
47. DWYER C.M. 2008. The welfare of the neonatal lamb. *Small Rumin. Res.* 76 (1), 31–41.
48. FALCONER I.R. 1966. Studies of the congenitally goitrous sheep. The iodinated compounds of serum, and circulating thyroid-stimulating hormone. *Biochem. J.* 100 (1), 190–196.
49. FOLLETT B.K., POTTS C. 1990. Hypothyroidism affects reproductive refractoriness and the seasonal oestrous period in Welsh Mountain ewes. *J. Endocrinol.* 127 (1), 103–109.
50. FOSTER D.L., YELLON S.M., EBLING F.J.P., CLAYPOOL L.E. 1988. Are ambient short-day cues necessary for puberty in a short-day breeder? *Biol. Reprod.* 38 (4), 821–829.
51. GEBBIE F.E., FORSYTH I.A., ARENDT J. 1999. Effects of maintaining solstice light and temperature on reproductive activity, coat growth, plasma prolactin and melatonin in goats. *J. Reprod. Fertil.* 116 (1), 25–33.
52. GEREBEN B., ZAVACKI A.M., RIBICH S., KIM B.W., HUANG S.A., SIMONIDES W.S., ZEÖLD A., BIANCO A.C. 2008. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr. Rev.* 29 (7), 898–938.
53. GERLACH T., AURICH J.E. 2000. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim. Reprod. Sci.* 58 (3–4), 197–213.
54. GERLOFF B.J., HERDT T.H., WELLS W.W., NACHREINER R.F., EMERY R.S. 1986. Inositol and hepatic lipidosis. II. Effect of inositol supplementation and time from parturition on serum insulin, thyroxine and triiodothyronine and their relationship to serum and liver lipids in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 62 (6), 1693–1702.
55. GREYLING J.P.C. 2000. Reproduction traits in the Boer goat doe. *Small Rumin. Res.* 36 (2), 171–177.
56. GUPTA P.S.P., SANWAL P.C., VARSHNEY V.P. 1990. Induction of hypothyroidism in goats by parenteral administration of antithyroid drugs. *Small Rumin. Res.* 3 (2), 179–186.
57. GURJAR M.L., PATHODIYA O.P., SHARMA M.C., MISHRA S. 2007. Breeding practices of goat rearers in Mewar region of Southern Rajasthan. *Indian J. Small Rumin.* 13 (2), 141–143.
58. HERNANDEZ J.A., HALLFORD D.M., WELLS N.H. 2003. Ovarian cyclicity in thyroid-suppressed ewes treated with propylthiouracil immediately before onset of seasonal anestrus. *J. Anim. Sci.* 81 (1), 29–34.
59. HULBERT J. 200. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. *Biol. Rev.* 75 (4), 519–631.
60. HUSZENICZA G.Y., KULCSAR M., RUDAS P. 2002. Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Vet. Med.-Czech.* 47 (7), 199–210.
61. IBRAHIM R.E., MAGLAD M.A., ADAM S.E.I., MIRGHANI T.E., WASFI I.A. 1984. The effect of altered thyroid status on lipid metabolism in Nubian goats. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 77 (3), 507–512.
62. JANSEN H.T., LUBBERS L.S., MACCHIA E., DEGROOT L.J., LEHMAN M.N. 1997. Thyroid hormone receptor ( $\alpha$ ) distribution in hamster and sheep brain: colocalization in gonadotropin-releasing hormone and other identified neurons. *Endocrinology* 138 (11), 5039–5047.
63. JANTAS D. 2009. Tyreoliberyna (TRH) – neuropeptyd regulujący homeostazę w ośrodkowym układzie nerwowym. *Post. Biol. Kom.* 36 (3), 483–496.

64. JOVANOVIC I., PESUT O., GVOZDIC. D., STOJIC V., SAMANC H., FRATRIC N., KIROVSKI D., VUJANAC I., DIMITRIJEVIC B. 2007. Selenium and iodine status relationship in calves and heifers from selenium and iodine deficient areas in Serbia. *Lucr. St. Med. Vet.Timisoara* 40, 75–82.
65. KAMEDA Y., OYAMA H., ENDOH M., HORINO M. 1982. Somatostatin immunoreactive C cells in thyroid glands from various mammalia species. *Anat. Rec.* 204 (2), 161–170.
66. KARSCH F.J., DAHL G.E., HACHIGIAN T.M., THRUN L.A. 1995. Involvement of thyroid hormones in seasonal reproduction. *J. Reprod. Fertil.* 49 (Suppl.), 409–422.
67. KARSCH F.J. 1980. Twenty-fifth Annual Bowditch Lecture. Seasonal reproduction: a sage of reversible fertility. *Physiologist* 23 (6), 29–38.
68. KLOCEK-GÓRKA B., ZIĘBA D. 2008. Kisspeptyna – neurohormon o kluczowej roli w rozrodzie. *Medycyna Wet.* 64 (9), 1087–1090.
69. KLOREN W.R.L., NORTON B.W., WATERS M.J. 1993. Fleece growth in Australian cashmere goats. III. The seasonal patterns of cashmere and hair growth, and association with growth hormone, prolactin and thyroxine in blood. *Aust. J. Agric. Res.* 44 (5), 1035–1050.
70. KOZDROWSKI R., DUBIEL A. 2004. Biologia rozrodu dzika. *Medycyna Wet.* 60 (12), 1251–1253.
71. LACAU-MENGIDO I.M., MEJIA M.E., DIAZ-TORGA G.S., GONZALEZ IGLESIAS A., FORMIA N., LIBERTUN C., BECU-VILLALOBOS D. 2000. Endocrine studies in ivermectin-treated heifers from birth to puberty. *J Anim. Sci.* 78 (4), 817–824.
72. ŁĄCKA K., CZYŻYK A. 2008. Leczenie nadczynności tarczycy. *Farm. Wspól.* 1, 69–78.
73. LINCOLN G.A., KLANDORF H., ANDERSON N. 1980. Photoperiodic control of thyroid function and wool and horn growth in rams and the effect of cranial sympathectomy. *Endocrinology* 107 (5), 1543–1548.
74. LINCOLN G.A., LINCOLN C.E., POWERS J.B. 1990. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *J. Reprod. Fertil.* 88 (2), 623–633.
75. LUCARONI A., TODINI L. 1989. Thyroid hormones blood concentration during pregnancy, delivery and lactation by the goat. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.* 43, 473–477.
76. MALPAUX B., KARSCH F.J. 1990. A role for short days in sustaining seasonal reproductive activity in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 90 (2), 555–562.
77. MALPAUX B., VIGUIE C., SKINNER D.C., THIERY J.C., PELLETIER J., CHEMINEAU P. 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 42 (1), 109–117.
78. MATAMOROS R., CONTRERAS P.A., WITTEWER F., MAYORGA M.I. 2003. Hypothyroidism in Ruminants. *Arch. Med.* 35 (1), 1–11.
79. MAURENBRECHER S., BARRELL G.K. 2003. Suppression of thyroid gland function and its effects on the breeding season of Coopworth ewes. *New Zeal. J. Agr. Res.* 46 (1), 1–7.
80. MCLAUGHLIN B.G., NORMAN EVANS C., COLTON R.L. 1993. Serum triiodothyronine and thyroxine concentrations in neonatal llamas. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5 (2), 208–211.
81. MENEGATOS J., GOULAS C., KALOGIANNIS D. 2006. The productivity, ovarian and thyroid activity of ewes in an accelerated lambing system in Greece. *Small Rumin. Res.* 65 (3), 209–216.
82. MICHALKIEWICZ M., SUZUKI M., KATO M. 1987. Evidence for a synergistic effect of somatostatin on vasoactive intestinal polypeptide-induced prolactin release in the rat: comparison with its effect on thyrotropin (TSH)-releasing hormone-stimulated TSH release. *Endocrinology* 121 (1), 371–377.
83. MIGAUD M., DAVEAU A., MALPAUX B. 2005. MTNR1A melatonin receptors in the ovine pre-mammillary hypothalamus: day-night variation in the expression of the transcripts. *Biol. Reprod.* 72 (2), 393–398.
84. MOAEEN-UD-DIN M., YANG L.G., CHEN S.L., ZHANG Z.R., XIAO J.Z., WEN Q.Y., DAI M. 2008. Reproductive performance of Matou goat under sub-tropical monsoonal climate of Central China. *Trop. Anim. Health Prod.* 40 (1), 17–23.
85. MOENTER S.M., WOODFILL C.J.I., KARSCH F.J. 1991. Role of the Thyroid gland in seasonal reproduction: thyroidectomy blocks seasonal suppression of reproductive neuroendocrine activity in ewes. *Endocrinology* 128 (3), 1337–1344.

86. MORAES G.V. DE, VERA-AVILA H.R., LEWIS A.W., KOCH J.W., NEUENDORFF D.A., HALLFORD D.M., REEVES J.J., RANDEL R.D. 1998. Influence of hypo- or hyperthyroidism on ovarian function in Brahman cows. *J. Anim. Sci.* 76 (3), 871–879.
87. MOSTAGHNI K., BADIEI K., KHODAKARAM-TAFTI A., MAAFI A.B. 2008. Pathological and biochemical studies of experimental hypothyroidism in sheep. *Vet. Arhiv.* 78 (3), 209–216.
88. NAKAO N., ONO H., YOSHIMURA T. 2008. Thyroid hormones and seasonal reproductive neuroendocrine interactions. *Reproduction* 136 (1), 1–8.
89. NAUMAN J., NAUMAN A. 1997. Wpływ ciąży na tarczycę. *Medipress Gin.* 3 (2), 2–4.
90. NAZIFI S., SAEB M., ROWGHANI E., HASANKHANI M., HASANSHAHI F., GHAFARI N. 2007. Studies on the physiological relationship between thyroid hormones, serum lipid profile and erythrocyte antioxidant enzymes in clinically healthy iranian fat-tailed sheep. *Bulg. J. Vet. Med.* 10 (3), 161–167.
91. NICHOLLS T.J., FOLLETT B.K., GOLDSMITH A.R., PEARSON H. 1988. Possible homologies between photorefractoriness in sheep and birds: the effect of thyroidectomy on the length of the ewe's breeding season. *Reprod. Nutr. Dev.* 28 (2B), 375–385.
92. O'SHEA P.J., WILLIAMS G.R. 2002. Insight into the physiological actions of thyroid hormone receptors from genetically modified mice. *J. Endocrinol.* 175 (3), 553–570.
93. OHKURA S., TAKASE K., MATSUYAMA S., MOGI K., ICHIMARU T., WAKABAYASHI Y., UENOYAMA Y., MORI Y., STEINER R.A., TSUKAMURA H., MAEDA K.I., OKAMURA H. 2009. Gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat. *J. Neuroendocrinol.* 21 (10), 813–821.
94. *Opinia Lokalnej Komisji Etycznej nr 2/02 z 12.02.2002 r.*, Szczecin, Lokalna Komisja Etyczna.
95. *Opinia Lokalnej Komisji Etycznej nr 37/02 z 09.12.2002 r.*, Szczecin, Lokalna Komisja Etyczna.
96. OPPENHEIMER J.H., SCHWARTZ H.L. 1997. Molecular basis of thyroid hormone dependent brain development. *Endocrinol. Rev.* 18 (4), 462–475.
97. OSTROWSKI M., GRZANKA A., IZDEBSKA M. 2005. Rola aktywny w chorobie Alzheimerera. *Post. Hig. Med. Dośw.* 59, 224–228.
98. OZMEN O., HALIGUR M. 2005. Immunohistochemical observations on TSH secreting cells in pituitary glands of goat kids with congenital goitre. *J. Vet. Med., Ser. A – Physiol. Pathol. Clin. Med.* 52 (9), 454–459.
99. PAPACHRISTOFOROU C., KOUMAS A., PHOTIOU C. 2000. Seasonal effects on puberty and reproductive characteristics of female Chios sheep and Damascus goats born in autumn or in February. *Small Rumin. Res.* 38 (1), 9–15.
100. PARKINSON T.J., FOLLETT B.K. 1995. Thyroidectomy abolishes seasonal testicular cycles of soay rams. *Proc. Biol. Sci.* 259 (1354), 1–6.
101. PAUL M.J., ZUCKER I., SCHWARTZ W.J. 2008. Tracking the seasons: the internal calendars of vertebrates. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363 (1490), 341–361.
102. PEREIRA B., ROSA L.F., SAFI D.A., BECHARA E.J., CURI R. 1994. Control of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat lymphoid organs by thyroid hormones. *J. Endocrinol.* 140 (1), 73–77.
103. PEREZ-MARTINEZ M., MENDOZA M.E., ROMANO M.C. 1999. Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol-17 $\beta$  in young and adult goats. *Small Rumin. Res.* 33 (2), 153–158.
104. PEZZI C., ACCORSI P.A., VIGO D., GOVONI N., GAIANI R. 2003. 5'-deiodinase activity and circulating thyronines in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 86 (1), 152–158.
105. PILARCZYK B., HENDZEL D., PILARCZYK R., TOMZA-MARCINIAK A., BŁASZCZYK B., DĄBROWSKA-WIECZOREK M., BĄKOWSKA M., ADAMOWICZ E., BUJAK T. 2010. Liver and kidney concentrations of selenium in wild boars (*Sus scrofa*) from northwestern Poland. *Eur. J. Wildl. Res.* 55 (5), 797–802.
106. PREMACHANDRA B.N., PIPES G.W., TURNER C.W. 1960. Comparative goitrogenic activity of tapazole and carbimazole in cattle. *J. Anim. Sci.* 19 (2), 553–559.
107. RAUN A.P., CHENG E.W., BURROUGHS W. 1960. Effects of orally administered goitrogens upon thyroid activity and metabolic rate in ruminants. *J. Anim. Sci.* 19 (3), 678–686.

108. REDDY I.J., VARSHNEY V.P., SANWAL P.C., AGARWAL N., PANDE J.K. 1996. Peripheral plasma oestradiol-17 $\beta$  and progesterone levels in female goats induced to hypothyroidism. *Small Rumin. Res.* 22 (2), 149–154.
109. REVEL F.G., SABOUREAU M., PÉVET P., MIKKELSEN J.D., SIMONNEAUX V. 2006. Melatonin regulates type 2 deiodinase gene expression in the syrian hamster. *Endocrinology* 147 (10), 4680–4687.
110. RHIND S.M., ARCHER Z.A., ADAM C.L. 2002. Seasonality of food intake in ruminants: recent developments in understanding. *Nutr. Res. Rev.* 15 (1), 43–65.
111. RIVERA G.M., ALANIS G.A., CHAVES M.A., FERRERO S.B., MORELLO H.H. 2003. Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Rumin. Res.* 48 (2), 109–117.
112. ROCK M.J., KINCAID R.L., CARSTENS G.E. 2001. Effects of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism of newborn lambs. *Small Rumin. Res.* 40 (2), 129–138.
113. ROSA H.J.D., BRYANT M.J. 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rumin. Res.* 48 (3), 155–171.
114. RUDAS P., RONAI Z., BARTHA T. 2005. Thyroid hormone metabolism in the brain of domestic animals. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29 (1), 88–96.
115. SALEH D.M., BARRELL G.K., BAILEY C.I., FRAMPTON C.M.A. 1998. Effects of exogenous triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and a goitrogen, methylthiouracil (MTU), on thyroid gland function in sheep. *Small Rumin. Res.* 30 (1), 49–56.
116. SAWHNEY R.C., MALHOTRA A.S. 1990. Thyroid function during intermittent exposure to hypobaric hypoxia. *Int. J. Biometeorol.* 34 (3), 161–163.
117. SCHUMACHER-HENRIQUE B., GÓRNIAK S.L., DAGLI M.L.Z., SPINOSA H.S. 2003. The clinical, biochemical, haematological and pathological effects of long-term administration of *Ipomea Carnea* to growing goats. *Vet. Res. Commun.* 27 (4), 311–319.
118. SHARMA R., CHAUHAN R.S., RASTOGI S.K., SINGH D.D. 2004. Cell mediated immunity during induced hypothyroidism. *J. Immunol. Immunopathol.* 6 (suppl. 1), [www.indiajournals.com/ijor](http://www.indiajournals.com/ijor), dostęp 15 września 2010 r.
119. SHI Z.D., BARRELL G.K. 1992. Requirement of thyroid function for the expression of seasonal reproductive and related changes in red deer (*Cervus elaphus*) stags. *J. Reprod. Fert.* 94 (1), 251–259.
120. ŚLEBODZIŃSKI A.B., BRZEZIŃSKA-ŚLEBODZIŃSKA E., STYCZYŃSKA E., SZEJNOGA M. 1999. Presence of thyroxine deiodinases in mammary gland: possible modulation of the enzyme-deiodinating activity by somatotropin. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17 (2–3), 161–169.
121. SOKKAR S.M., SOROR A.H., AHMED Y.F., EZZO O.H., HAMOUDA M.A. 2000. Pathology and biochemical studies on experimental hypothyroidism in growing lambs. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 47 (9), 639–652.
122. SOUZA M.I.L., BICUDO S.D., URIBE-VELÁSQUEZ L.F., RAMOS A.A. 2002. Circadian and circannual rhythms of T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> secretions in Polwarth–Ideal rams. *Small Rumin. Res.* 46 (1), 1–5.
123. SPICER L.J., ALONSO J., CHAMBERLAIN C.S. 2001. Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins. *J. Dairy Sci.* 84 (5), 1069–1076.
124. STANKIEWICZ T., BŁASZCZYK B., LASOTA B., GAJCZARZEWICZ D., UDALA J. 2008. Saisonabhängige Veränderungen der Ovargröße sowie Konzentration von Steroidhormonen und Thyroxin in der Follikelflüssigkeit beim Schwein. *Tierarztl. Prax.* 36 (2), 99–103.
125. STANKIEWICZ T., BŁASZCZYK B., UDALA J., GAJCZARZEWICZ D., LASOTA B. 2007. Sezonowe uwarunkowania rozrodczości świń. *Weterynaria w Terenie* 1 (2), 17–20.
126. STEFANOVIC I., ADRIAN B., JANSEN H.T., LEHMAN M.N., GOODMAN R.L. 2000. The ability of estradiol to induce Fos expression in a subset of estrogen receptor-alpha-containing neurons in the preoptic area of the ewe depends on reproductive status. *Endocrinology* 141 (1), 190–196.
127. STEVENS J.B., ANDERSON K.L., CORREA M.T., STEWART T., BRASELTON W.E. JR. 1994. Hematologic, blood gas, blood chemistry and serum mineral values for a sample of clinically healthy adult goats. *Vet. Clin. Pathol.* 23 (1), 19–24.

128. SUTIAKOVÁ I., BEKEOVÁ E., SUTIAK V. 1995. The effect of carbimazole on lactate dehydrogenase isoenzymes and thyroid hormone levels in sheep. *Vet. Med. (Praha)* 40 (11), 341–344.
129. SYMONDS M.E., ANDREWS D.C., BUSS D.S., CLARKE L., DARBY C.J., LOMAX M.A. 1996 a. Effect of rearing temperature on perirenal adipose tissue development and thermoregulation following methimazole treatment of postnatal lambs. *Exp. Physiol.* 81 (6), 995–1006.
130. SYMONDS M.E., ANDREWS D.C., BUSS D.S., CLARKE L., LOMAX M.A. 1996 b. Influence of rearing temperature on lung development following methimazole treatment of postnatal lambs. *Exp. Physiol.* 81, 673–683.
131. TAIWO V.O., OGUNSANMI A.O. 2003. Haematology, plasma, whole blood and erythrocyte biochemical values of clinically healthy captive-reared grey duiker (*sylvicapra grimmia*) and west african dwarf sheep and goats in Ibadan, Nigeria. *Israel Vet. Med. Assoc.* 58 (1), [www.isrvma.org/article/58\\_2\\_3.htm](http://www.isrvma.org/article/58_2_3.htm), dostęp 15 września 2010 r.
132. THIÉRY J.C., CHEMINEAU P., HERNANDEZ X., MIGAUD M., MALRAUX B. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23 (1–2), 87–100.
133. THRUN L.A., DAHL G.E., EVANS N.P., KARSCH F.J. 1997. A critical period for thyroid hormone action on seasonal changes in reproductive neuroendocrine function in the ewe. *Endocrinology* 138 (8), 3402–3409.
134. TODINI L., DELGADILLO J.A., DEBENEDETTI A., CHEMINEAU P. 2006. Plasma total T3 and T4 concentrations in bucks as affected by photoperiod. *Small Rumin. Res.* 65 (1), 8–13.
135. TODINI L., LUCARONI A., MALFATTI A., DEBENEDETTI A., COSTARELLI S. 1992. Andamento ormonale della concentrazione ematica degli ormoni tiroidei nella capra. Differenze fra maschi e femmine (male–female differences in the annual profiles of the thyroid hormones blood level by the goat). *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.* 46, 169–173.
136. TODINI L., MALFATTI A., VALBONESI A., TRABALZA-MARINUCCI M., DEBENEDETTI A. 2007. Plasma total T3 and T4 concentrations in goats at different physiological stages, as affected by the energy intake. *Small Rumin. Res.* 68 (3), 285–290.
137. TODINI L. 2007. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal* 1 (7), 997–1008.
138. TRENKLE A., BURROUGHS W. 1959. Liveweight gain stimulation in beef cattle with methimazole administration with observations upon growth hormone secretion. *J. Anim. Sci.* 18, 1545.
139. TREPANIER L.A. 2007. Pharmacologic management of feline hyperthyroidism. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 37 (4), 775–788.
140. UDALA J., BŁASZCZYK B., GĄCZARZEWICZ D., STANKIEWICZ T. 2004. Seasonal changes in thyroid gland and gonad function in billy goats. *Reprod. Dom. Anim.* 39 (4), 271.
141. UDALA J., BŁASZCZYK B. 1999. Wybrane mechanizmy regulujące sezonowy przebieg procesów rozrodczych u owiec i kóz. *Medycyna Wet.* 55 (11), 733–736.
142. VALTORTA S., HAHN L., JOHNSON H.D. 1982. Effect of high ambient temperature (35°), and feed intake on plasma T4 levels in sheep. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 169 (2), 260–265.
143. VIGUÉ C., BATTAGLIA D.F., KRASA H.B., THRUN L.A., KARSCH F.J. 1999. Thyroid hormones act primarily within the brain to promote the seasonal inhibition of luteinizing hormone secretion in the ewe. *Endocrinology* 140 (3), 1111–1117.
144. VIJLDER J.J.M. DE, VEENBOER G.J.M., DIJK J.E. VAN 1992. Thyroid albumin originates from blood. *Endocrinology* 131 (2), 578–584.
145. VILLAR D., NICOL F., ARTHUR J.R., DICKS P., CANNAPAN A., KENNEDY D.G., RHIND S.M. 2000. Type II and type III monodeiodinase activities in the skin of untreated and propylthiouracil-treated cashmere goats. *Res. Vet. Sci.* 68 (2), 119–123.
146. VILLAR D., RHIND S.M., ARTHUR J.R., GODDARD P.J. 2002. Manipulation of thyroid hormones in ruminants – a tool to understand their physiological role and identify their potential for increasing production efficiency. *Aust. J. Agric. Res.* 53 (3), 259–270.
147. VILLAR D., RHIND S.M., DICKS P., MCMILLEN S.R., NICOL F., ARTHUR J.R. 1998. Effect of propylthiouracil-induced hypothyroidism on thyroid hormone profiles and tissue deiodinase activity in cashmere goats. *Small Rumin. Res.* 29 (3), 317–324.

148. VOSNIAKOU A.G., DONEY J.M., TSAKALOF P. 1989. A note on the seasonal oestrus period in three breeds of Greek dairy sheep. *Anim. Prod.* 49 (1), 147–150.
149. WALKDEN-BROWN S.W., DAVIDSON R.H., MILTON J.T.B., MARTIN G.B. 1996. Thyroidectomy late in the breeding season advances the onset of seasonal anovulation in cashmere goats, in: 13th International Congress on Animal Reproduction, Sydney June 30–July 4, 1996, Sydney, University of Sydney, P1–19.
150. WATANABE T., YAMAMURA T., WATANABE M., YASUO S., NAKAO N., DAWSON A., EBIHARA S., YOSHIMURA T. 2007. Hypothalamic expression of thyroid hormone-activating and – inactivating enzyme genes in relation to photorefractoriness in birds and mammals. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292 (1), 568–572.
151. WEBSTER J.R., MOENTER S.M., WOODFILL C.J., KARSCH F.J. 1991. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thyroxine allows a season-specific suppression of gonadotropin secretion in sheep. *Endocrinology* 129 (1), 176–183.
152. WELLS N.H., HALLFORD D.M., HERNANDEZ J. 2003. Serum thyroid hormones and reproductive characteristics of Rambouillet ewe lambs treated with propylthiouracil before puberty. *Theriogenology* 59 (5–6), 1403–1413.
153. WICHTEL J.J., CRAIGIE A.L., FREEMAN D.A., VARELA-ALVAREZ H., WILLIAMSON N.B. 1996. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotrophic function in dairy calves at pasture. *J. Dairy Sci.* 79 (10), 1865–1872.
154. WINNCKA A. Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii, Warszawa 2008, SGGW.
155. WOODFILL C.J.I., WAYNE N.L., MOENTER S.M., KARSCH F.J. 1994. Photoperiodic synchronization of a circannual reproductive rhythm in sheep: identification of season-specific time cues. *Biol. Reprod.* 50 (4), 965–976.
156. YASUO S., NAKAO N., OHKURA S., IIGO M., HAGIWARA S., GOTO A., ANDO H., YAMAMURA T., WATANABE M., WATANABE T., ODA S., MAEDA K., LINCOLN G.A., OKAMURA H., EBIHARA S., YOSHIMURA T. 2006. Long-day suppressed expression of type 2 deiodinase gene in the mediobasal hypothalamus of the Saanen goat, a short-day breeder: implication for seasonal window of thyroid hormone action on reproductive neuroendocrine axis. *Endocrinology* 147 (1), 432–440.
157. YASUO S., YOSHIMURA T. 2009. Comparative analysis of the molecular basis of photoperiodic signal transduction in vertebrates. *Integr. Comp. Biol.* 49 (5), 507–518.
158. YUAN X.F., YIN H.K., LI P., YAN J. 2000. Reproductive performance of the Boer goat. *J. Anim. Sci. Vet. Med.* 19, 13–17.
159. ZABEL M. 1984. Ultrastructural localization of calcitonin, somatostatin and serotonin in parafollicular cells of rat thyroid. *Histochem. J.* 16 (12), 1265–1272.
160. ZAREI M.A., FARSHAD A., AKHONDZADEH S. 2009. Variations in thyroidal activity during estrous cycle and natural breeding season in markhoz goat breeds. *Pak. J. Biol. Sci.* 12 (21), 1420–1424.
161. ZERON Y., OCHERETNY A., KEDAR O., BOROCHOV A., SKLAN D., ARAV A. 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction* 121 (3), 447–454.
162. ZYGOYIANNIS D., DAVIES P.H., DONEY J.M. 1993. The effect of melatonin on seasonal reproduction of indigenous and crossbred dairy goats in Greece. *Anim. Prod.* 57 (2), 273–279.



## Abstract

### **The determination of an annual rhythm of changes in thyroxine concentration and the assessment of the effect of induced hypothyreosis on the course of breeding season in goats (*Capra hircus*)**

The research carried out on sheep and deer became a basis to conclude that the increase in the concentration of thyroxine in circulating blood at the end of breeding season has an impact on the transition into *anestrus*. However, the role of thyroid hormones in the seasonality of reproduction in goats remains a disputable issue. Therefore, the annual rhythm of thyroid secreting activity in goats of various ages was analysed, and the impact of induced hypothyreosis on the starting period of seasonal *anestrus* was evaluated in this species. The length of the breeding season was determined and the potential to induce thyreostatic effect in goats was researched. The experiments were carried out on 14 goats of German Improved White breed which at the beginning of the research were in the third month of life, and at the end at the age of four years. In the first years, the dynamics of changes in the concentrations of thyroxine were evaluated within the seasons and the length of the breeding season was determined. In the next years, the efficiency of methamizole and propylthiouracil for induced hypothyreosis was researched and the impact of hypothyreosis on the elongation of breeding season was evaluated. The mean  $T_4$  and  $FT_4$  concentration in the first year of life was lower than in the second year ( $P < 0,01$ ), but the dynamics in the  $T_4$  and  $FT_4$  concentration changes were similar and characterized by higher values in the winter-spring period and lower ones in the summer-autumn period. The relation between the concentration of thyroxine and the air temperature together with the length of daylight was proved. For most animals, the breeding season started on the turn of September and October and ended in March. Between two applied thyreostatic preparations, propylthiouracil proved to be efficient in inducing hypothyreosis, however, it was not ascertained that a lowering in the growing concentration of thyroxine in the circulating blood at the end of the breeding season had any impact on the time when the *anestrus* started in goats. The results suggest the existence of species differences in the mechanisms which control the end of the breeding season in „short-day” animals.





## Zusammenfassung

### **Bestimmung des Jahresrhythmus von Änderungen des Thyroxinspiegels und Beurteilung des Einflusses der induzierten Hypothyreose auf den Verlauf der Fortpflanzungsperiode bei Ziegen (*Capra hircus*)**

Untersuchungen an Schafen und Hirschen legen die Schlussfolgerung nahe, dass der Übergang in die *Anestrus*-Periode durch die Steigerung des Thyroxinspiegels im peripheren Blut am Ende der Fortpflanzungsperiode bewirkt wird. Die Rolle der Schilddrüsenhormone in der Saisonalität der Fortpflanzung von Ziegen bleibt jedoch weiterhin umstritten. Es werden hier deshalb der Jahresrhythmus der Sekretionsaktivität der Schilddrüse bei Ziegen im unterschiedlichen Alter sowie der Einfluss der induzierten Hypothyreose auf den Übergang in die *Anestrus*-Periode bei dieser Tierart analysiert und erforscht. Bestimmt wird auch die Dauer der Fortpflanzungsperiode und Möglichkeit, den thyreostatischen Effekt bei Ziegen herbeizuführen. Die Studie wurde an 14 deutschen weißen Edelziegen durchgeführt, die am Anfang der Untersuchungen in ihrem 3. Lebensmonat waren und am Ende – ihr 4. Lebensjahr erreicht haben. In den ersten Jahren wurden die Dynamik der Änderungen des Thyroxinspiegels im Laufe des Jahres sowie Dauer der Fortpflanzungsperiode beobachtet. In der späteren Phase der Studie bewertete man die Wirksamkeit des Metimazols und Propylthiouracils für die Induktion der Unterfunktion der Schilddrüse und den Einfluss der Hypothyreose auf die Verlängerung der Fortpflanzungsperiode. Die Mittelwerte der  $T_4$ - und  $FT_4$ -Konzentration fielen im ersten Lebensjahr niedriger als im zweiten ( $P < 0,01$ ) aus, die Dynamik der Änderung der  $T_4$ - und  $FT_4$ -Konzentrationen gestaltete sich jedoch ähnlich und kennzeichnete durch höhere Werte in der Winter- und Frühlingszeit und niedrigere – im Sommer und Herbst. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Thyroxinkonzentration und der Lufttemperatur bzw. Tageslichtdauer nachgewiesen werden. Bei den meisten Tieren begann die Fortpflanzungsperiode Ende September bzw. Anfang Oktober und endete im März. Von den zwei angewandten Thyreostatika wies das Propylthiouracil die entsprechende Wirksamkeit auf, um die Hypothyreose zu induzieren. Es wurde jedoch keine Auswirkung der Reduzierung des steigenden Thyroxinspiegels im peripheren Blut am Ende der Fortpflanzungsperiode auf den Übergang in die *Anestrus*-Periode bei Ziegen festgestellt. Die Ergebnisse legen das Vorhandensein von artenspezifischen Unterschieden in den Mechanismen nahe, die für die Kontrolle der Beendigung der Fortpflanzung von „Kurztagtieren“ verantwortlich sind.





Biblioteka Główna  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny  
Księgozbiór Przyrodniczy

CP. 1175



530-000001249

ISBN 978-83-7663-073-1