Szent István Egyetem

HORMONÁLIS ÉS MORFOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK A HÁZI LÚD PETEFÉSZKÉBEN ÉS PETEVEZETŐJÉBEN A TÜSZŐÉRÉS ÉS AZ ATRÉZIA SORÁN

Doktori értekezés

Forgó Viktória

Gödöllő

2002

A doktori iskola

tudományága:

Állattenyésztés-tudományi doktori iskola

vezetője:

Dr. Horváth László

egyetemi tanár, tanszékvezető, MTA doktora

SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Halgazdálkodási Tanszék

témacsoportja:

Szaporodás és fejlődésbiológia

vezetője:

Dr. Péczely Péter

egyetemi tanár, tanszékvezető, a biológiatudomány doktora

SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Szaporodásbiológia Tanszék

Témavezető:

Dr. Péczely Péter

egyetemi tanár, tanszékvezető, a biológiatudomány doktora

SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Szaporodásbiológia Tanszék

…….……

…… ..…….

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS 4

1.1. A TÉMA JELENTŐSÉGE 4

2. CÉLKITŰZÉSEK 6

2.1. TOJÓ LUDAK PETEFÉSZEK-TÜSZŐINEK FUNKCIONÁLIS ÉS MORFOLÓGIAI VIZSGÁLATA A SZAPORODÁSI CIKLUS SORÁN 6

2.2. TOJÓ LUDAK PETEVEZETŐJÉNEK FUNKCIONÁLIS ÉS MORFOLÓGIAI VIZSGÁLATA A SZAPORODÁSI CIKLUS SORÁN 6

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 7

3.1. AZ IVARSZERVEK SZERKEZETE 7

3.1.1. A petefészek 7

3.1.1.1. Tüszők 8

3.1.1.1.1. A tüszőhám ultrastruktúrája 10

3.1.1.1.1.1. Specifikus sejtorganellumok a granulosa sejtekben 14

3.1.1.1.2. A fejlődő tüszők theca rétegének szövettani jellemzése 15

3.1.1.2. Calix 16

3.1.1.3. A tüszők atréziája 16

3.1.1.3.1. Az atretikus tüszők szövettani jellemzése 17

3.1.1.3.2. Enzimaktivitási változások az atretikus tüszőkben 19

3.1.2. A petevezető 20

3.1.2.1. Infundibulum (tölcsér) 21

3.1.2.2. Magnum (fő szakasz) 21

3.1.2.3. Isthmus (szűkület) 22

3.1.2.4. Uterus (héjmirigy) 23

3.1.2.5. Cervix (nyak) 23

3.1.2.6. Vagina (hüvely) 24

3.2. A PETEFÉSZEK ENDOKRIN MŰKÖDÉSE 25

3.2.1. A petefészek szteroid hormonjai 25

3.2.2. A szexuál szteroidok bioszintézise madarakban 26

3.2.2.1. A tüszőfejlődés útján elindult (hierarchikus) tüszők szteroid termelése 26

3.2.2.2. A prechierarchikus tüszők szteroid termelése 29

3.2.2.3. A calix és az atretikus tüszők szteroid termelése 30

3.2.3. A madár petefészek biológiailag aktív vegyületei 31

3.3. A PETEFÉSZEK MŰKÖDÉSÉNEK SZABÁLYOZÁSA 33

3.3.1. Hypothalamus-hypophysis komplexum 33

3.3.1.1. A luteinizáló hormon releasing hormon (LH-RH vagy Gn-RH) 34

3.3.1.1.1. Az LH-RH hormonok funkcionális szerepe 35

3.3.1.1.2. A cLH-RH I felszabadulás szabályozása 35

3.3.2. Hypophysis 36

3.3.2.1. Folliculus-stimuláló hormon (FSH) 36

3.3.2.1.1. Az FSH szabályozása (inhibin, activin, follistatin) 37

3.3.2.2. Luteinizáló hormon (LH) 38

3.3.2.3. Prolaktin (PRL) 38

3.4. MADARAK SZEXUÁLIS MATURÁCIÓJA 39

3.4.1. A gonádműködés hypothalamo-hypophyseális szabályozása 39

3.4.2. A petefészek endokrin működése a maturáció idején 41

3.4.2.1. Az ivarérést befolyásoló egyéb tényezők 42

3.4.3. A petevezető maturációja, fejlődésének hormonális háttere 43

3.5. AZ OVULÁCIÓS CIKLUS ENDOKRIN HÁTTERE 46

3.5.1. Az ovuláció 46

3.5.1.1. Az ovuláció neuro-endokrin szabályozása 48

3.6. AZ OVIPOZÍCIÓ SZABÁLYOZÁSA 50

3.7. AZ OVULÁCIÓS CIKLUS SZEZONALITÁSA 50
3.7.1. A szaporodási ciklus lezárása 52
3.7.1.1. Fotorefrakteritás 52

4. ANYAG ÉS MÓDSZER 54

4.1. ÁLLATOK ÉS TARTÁSI KÖRÜLMÉNYEK 54
4.2. FÉNYMIKROSZKÓPOS SZÖVETTANI VIZSGÁLATOK 54
4.2.1. Fejlődő tüszők 54
4.2.2. Degradálódó tüszők 55
4.2.3. Petevezető 55
4.3. TRANSZMISSZIÓS ELEKTRONMIKROSZKÓPOS VIZSGÁLAT 55
4.4. SZEXUÁL SZTEROIDOK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA H^3-RIA MÓDSZERREL 56
4.4.1. Meghatározás plazmából, mintavétel 56
4.4.2. Meghatározás tüszőkből (normál, atretikus), mintavétel 56
4.5. ENZIMBIOKÉMIA VIZSGÁLAT LIZOSZÓMÁLIS ENZIMEK KIMUTATÁSÁRA 58
4.6. PALPÁCIÓS MÓDSZER A PETEVEZETŐ TÁGASSÁGÁNAK MÉRÉSÉRE 59

5. EREDMÉNYEK 61

5.1. A NŐIVARÚ HÁZILÚD PETEFÉSZEK MŰKÖDÉSÉNEK MORFOLÓGIAI ÉS FUNKCIONÁLIS VÁLTOZÁSAI A SZAPORODÁSI CIKLUS SORÁN 61
5.1.1. Fénymikroszkópos morfológiai változások a petefészekben a tüszőérés során 61
5.1.2. Elektronmikroszkópos morfológiai változások a petefészekben a tüszőérés során 67
5.1.3. A funkcionális változások a fejlődő tüszők szexuál szteroid tartalmában 74
5.1.4. Fénymikroszkópos morfológiai változások a petefészekben a tüszőatrézia során 75
5.1.5. Elektronmikroszkópos morfológiai változások a tüsző granulosa sejtjeiben a tüszőatrézia során 85
5.1.6. Változások a degradálódó tüszők hormontartalmában 90
5.1.7. Lizoszómális enzimaktivitási vizsgálatok degradálódó tüszőkben, összehasonlítva a fejlődő tüszőkével 92
5.2. VÁLTOZÁSOK A PETEVEZETŐBEN A SZAPORODÁSI CIKLUS IDEJE ALATT 95
5.2.1. A petevezető tömegváltozása a petefészek tömegváltozásának összefüggésében 95
5.2.2. A petevezető maturációjának és leépülésének szövettana 100
5.2.3. Összefüggések a petevezető hüvelyméret változásai és a szexuál szteroid plazmaszintek között 115
5.3. ÚJ EREDMÉNYEK 123

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK 125

6.1. STRUKTURÁLIS ÉS HORMONÁLIS VÁLTOZÁSOK HÁZILÚD TÜSZŐFEJLŐDÉSE SORÁN 125
6.2. MORFOLÓGIAI ÉS HORMONÁLIS VÁLTOZÁSOK HÁZILÚD TÜSZŐIBEN AZ ATRÉZIA SORÁN 129
6.3. HÁZILÚD FEJLŐDŐ ÉS ATRETIKUS TÜSZŐINEK ENZIMBIOKÉMIAI VIZSGÁLATAI 131
6.4. A PETEVEZETŐ MORFOLÓGIAI ÉS FUNKCIONÁLIS VÁLTOZÁSAI A SZAPORODÁSI CIKLUS SORÁN HÁZILÚDBAN ÖSSZEFÜGGÉSBEN A SZEXUÁL SZTEROID SZINTEKKEL 132

7. IRODALOMJEGYZÉK 138

1. BEVEZETÉS

1.1. A téma jelentősége

Az állattenyésztők legfőbb célkitűzése, hogy olyan egyedeket állítsanak elő, amelyek szilárd konstitúciójúak, gyorsan növekednek és reprodukciós szempontból koránérők, szaporák.
Az intenzív tartás, szaporítás, a szelekciós módszerek alkalmazásának, valamint a tenyésztéstechnikai, biotechnológiai beavatkozások legfontosabb feltétele a szaporodásbiológiai folyamatok és azok endokrin hátterének minél alaposabb ismerete. Az emlős haszonállatokra, valamint a tyúkfélékre vonatkozóan gazdasági jelentőségüknek megfelelően rendkívül gazdag az ide vonatkozó szakirodalom, ugyanakkor a házilúd szaporodásbiológiája alig ismert, tanulmányozott.
Ezt magyarázhatja az élelmiszer-előállításban betöltött speciális helyzete. A tradicionális tartásnak megfelelően nem volt cél az extenzív lúdtartás intenzifikálása, hiszen a lúd igénytelensége jelentette a legfőbb értéket más értékmérő tulajdonságok rovására.
A szemléletváltozást a piac, a kereslet növekedése segítette elő. A lúdtermékek iránti fokozódó igény élénkítő hatást gyakorolt a lúdtenyésztésre és néhány országban – Franciaországban, Németországban, Dániában, Izraelben - magasszintű nemesítő munka vette kezdetét. Magyarország jelentős területe alkalmas legelőre alapozott lúdtartásra, de az igények növekedésével szaporább fajtákra, intenzív tartás-technológiák kidolgozására van szükség.

1. táblázat
A baromfi fajok részarányának változása hazánk baromfi állományában, 1998-2001.

	Tyúkfélék %	Liba %	Kacsa %	Pulyka %
1998	84	3	7	6
1999	83	4	7	6
2000	83	4	4	9
2001	79	5	7	9

Központi Statisztikai Hivatal, 2001. december 1.

Az adatok (1. táblázat) híven tükrözik a fogyasztói ízlésváltozás irányát a csirke- és tyúkhús fogyasztás rovására, valamint az export piacok növekvő felvevőképességét. A hazai növekvő lúd részarány a nyugat-európai állatvédő mozgalmak megerősödésének is a következménye, a Nyugat-Európában betiltott libatömés így a keleti országokba tevődött át. A lúd májexportja a baromfiipar legnehezebb éveiben is szinte változatlanul megőrizte előkelő pozícióját, sőt a libamáj kereslet folyamatosan növekvő.

A kedvező értékesítési lehetőségek kielégítésének gátat szab és egyben a lúdágazat egyik legnagyobb problémáját képezi, hogy a házilúd az egyik leggyengébb szaporodóképességű baromfifaj, ami egyrészt szaporodásának szezonalitásából, másrészt az egy cikluson belül megtojt alacsony tojásszámból adódik; átlagosan 50-60 db tojás, ami 40-45 naposlibát jelent (Bogenfürst, 1992).
A probléma a kutatásnak is irányt mutatott, mivel a téma kiemelt jelentőségű. A gyakorlati indíttatású tenyésztéstechnikai, technológiai kutatások egyre intenzívebbé váltak, de ezek kapcsán egyidejűleg igény merült fel a beavatkozások élettani, biológiai hátterének tisztázására is, annak érdekében, hogy a folyamatokat tudatosan és célzottan lehessen irányítani.
Magyarországon a házilúdtenyésztés és tartás tradicionális ágazat. A több évtizedes múltra visszatekintő nemesítő, keresztező munka eredményeképpen hazai előállítású árutermelő hibridekkel is rendelkezünk (babati májhibrid, hungavis combi) és a babati kutató bázis keretén belül működött Lúd Szaporodásbiológiai Laboratórium (jelenleg Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezet-tudományi Kar, Szaporodásbiológiai Tanszék, Gödöllő) is értékes eredményekkel járult hozzá ludak mesterséges termékenyítésének gyakorlati alkalmazásához, gunarak ivarműködésének megismeréséhez (Do Thi Dong X, 1988, 1989, 1990, 1993, 1995), valamint ludakban a vedlés és a fotorefrakteritás (Péczely, 1992, 1993) hormonális hátterének feltárásához.

Ezeket az eredményeket egészíti ki elsősorban alapkutatás jellegű doktori munkám, amely nőivarú házilúd maturációjának vizsgálatára irányult. Tojókban morfológiai és hormonális jellemzését adtam egyes élettani változásoknak, összefüggésben szaporodásukkal.

2. CÉLKITŰZÉSEK

2.1. Tojó ludak petefészek-tüszőinek funkcionális és morfológiai vizsgálata a szaporodási ciklus során

Vizsgálataim során választ kerestem arra a kérdésre, hogy a maturáció során milyen morfológiai változások kísérik a tüszőfejlődést házi lúdban, összefüggésben a fejlődő tüszők hormontermelésével, lizoszómális enzim aktivitásukkal. Hasonlóképpen megpróbáltam magyarázatot keresni a degradálódó tüszők funkciójára összefüggésben morfológiai változásukkal.

Az alkalmazott vizsgálati módszerek:
fénymikroszkópos szövettan,
transzmissziós elektronmikroszkópos szövettan,
hormon meghatározás (szexuál szteroidok) szteroid radioimmuno-assay-vel,
enzimbiokémiai vizsgálat lizoszómális marker enzimek kimutatására spektrofotometriás módszerrel.

2.2. Tojó ludak petevezetőjének funkcionális és morfológiai vizsgálata a szaporodási ciklus során

Vizsgálataimban mérésekkel követtem nyomon a maturáció időszakában az ivarszervek fejlődésének ütemét, a petevezető szakaszok differeneciálódásának főbb morfológiai mozzanatait, összefüggésben az aktuális szexuál szteroid plazma szintekkel. Igazolni kívántam azt, hogy a petevezető aktuális állapota a vagina kitapintása révén megbízható információt ad a tojó házi lúd szaporodásbiológiai állapotáról, az egyes termelési fázisok prognosztizálhatóságához.

Alkalmazott vizsgálati módszerek:
fénymikroszkópos szövettan,
tömegmérés,
palpáció.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A modern tojótyúkok teljesítménye szaporodásbiológiai szempontból messze felülmúlja az emlősökét, hiszen évi 340-350 tojás produkciójára is képesek, ivari ciklusuk 24-26 órába van összesűrítve. Madaraknál éppen ezért, az ovulációs cikluson belül nem tudunk tüszőt, illetve sárgatest fázist sem elkülöníteni, mint az emlősöknél, de a szaporodás szabályozása, a hypophysis és petefészek hormonok produkciója nagymértékben hasonló.

3.1. Az ivarszervek szerkezete

3.1.1. A petefészek

A madarakban, sajátos módon csak a baloldali petefészek és petevezető fejlődik ki és válik működőképessé az egyedfejlődés során, a jobboldali szervek még embrionális korban elsorvadnak. A petefészek a hasüregben dorsálisan, a gerincoszlop ventrális felületén, a cavum serosum genitale-ban helyezkedik el. Funkcióját tekintve a petefészek a nőivarú ivarsejteket termeli, valamint hormonokat és biológiailag aktív vegyületeket szintetizál.

A petefészekben szerkezetileg két állományt különböztethetünk meg; a centrálisan helyeződő medullát, vagy *zona vasculosa*-t (kötőszöveti - kollagén és elasztikus - rostokban, erekben, idegekben gazdag állomány) és az azt borító cortex-et, vagy *zona follicularist*, amely a tüszőket tartalmazza. A petefészek felületét egyrétegű köbhám, a tüszők felületét egyrétegű laphám borítja (Guzsal, 1967).
Keléskor a napos csirke petefészke körülbelül 480 000 petesejtet tartalmaz, amiből viszonylag csak nagyon kevés (250-500) kerül ovulációra.
Az aktív petefészek szőlőfürthöz hasonlító szerv, az eltérő nagyságú érő tüszők nyéllel kapcsolódnak a petefészekhez (Gilbert, 1971).

A beépült szikanyagok színe alapján fehér és sárga tüszőket különíthetünk el. A nagyobb petesejtek sárgák a szikanyagba beépült karotinoidoktól, ezek méretük, azaz fejlettségük alapján hierarchiát alkotnak, elnevezésük a legnagyobbtól a legkisebbig F_1, F_2, F_3 és így tovább. A hierarchia állandó, mert az ovulációra került F_1 tüsző helyét az F_2 foglalja el, a rangsorban szereplő tüszők mindegyike eggyel előbbre lép. A kisebb tüszőket méretük alapján nevezzük el: kis sárga tüszők, nagy fehér tüszők, kis fehér tüszők.

3.1.1.1. Tüszők

A madarak petesejtje nagymennyiségű sziket tartalmaz, macro-, illetve telolecitális jellegű, az animális pólus (sejtmag és a sejtszervecskék) kisméretű. A petesejt a tüszőben helyezkedik el, amely kötőszövetes struktúrája révén rugalmas mechanikai támaszt ad a kivételesen nagy méretekkel rendelkező petesejnek. Ez a sokoldalú képlet biztosítja a pete fejlődését, majd az érett pete ovulálását, valamint hormonokat és biológiailag aktív vegyületeket is szintetizál. A petesejt a tüszőben centrális elhelyezkedésű, ellentétben az emlősök Graaf-tüszőjében excentrikus helyzetű petesejtjével.
A tüsző falát több réteg alkotja koncentrikusan: a petesejtet sejthártya (membrana vitellina) határolja, amely két rétegből áll. Belső rétege az oolemma, a tulajdonképpeni sejthártya, amely mikrobolyhokat, pinocytotikus invaginációkat tartalmaz, a külső réteget (membrana perivitellina) a tüszőhámsejtek és a granulosa sejtek közötti résben kialakult mukopoliszacharidba ágyazott fehérjerostok alkotják, amelybe mind a granulosa réteg felől, mind az oolemma felől nyúlványok nyomulnak (zona radiata).
Az ezt követő réteg kifelé haladva a granulosa rétege és a lamina basalis, amely tyúkban kb. 1 mm vastag. A lamina basalist a granulosa és a theca rétegek szintetizálják és többek között kollagént, glikoproteineket, valamint fibronektint tartalmaz (Péczely, 1987).
Ezt veszi körül a theca, amelynek két rétege nem különül el egymástól, mint az emlősökben, a membrana basialis mentén található egy-két sejtsornyi vastagságú réteget nevezhetjük theca interna-nak. A theca externa belső rétege szerkezete alapján tömöttrostos kötőszövethez hasonlít, párhuzamosan rendeződött kollagén rostokból és lapos kötőszöveti sejtekből áll. Külső rétege laza szerkezetű, melyben tág vér- és nyirokerek és sok kötőszöveti sejt helyeződik. Elsődleges feladatuk a pete szikanyagainak transzportja, beépítése, mindemellett jelentős endokrin funkciókat is ellátnak. Ezeket a rétegeket egyrétegű laphám borítja (Guzsal, 1967).
A folliculusban simaizom kötegek csak a tüsző nyelében és alsó harmadában találhatók, amelyek több funkcióval is rendelkeznek. Függesztő apparátusként rugalmasan rögzítik az egyre súlyosabbá váló tüszőt és aktív szerepet játszanak az ovuláció során a petesejt „kilökésében”. A tüsző nyélben futó laza szerkezetű kötőszövetes és simaizom kötegeket lacunák (dilatált nyirokerek) veszik körül, amelyek teret biztosítanak a növekvő tüsző egyre vastagabb artériáinak és vénáinak, valamint a kontrakcióknak. Ez az úgynevezett chordolacunáris rendszer több rétegben veszi körbe és hálózza be az egész tüszőt is, a lacunák egymással is és a petefészek hílusán keresztül a hasüreggel is közlekednek, aminek nagy jelentősége van a hasüregbe ovulált petesejt, illetve az atrétikus tüszőkből a hasüregbe kifolyt szik eliminálásában (Callebaut, 1988a).

A tüsző vérerekben gazdag (a stigma területének kivételével, ahol az erezettség csak kismértékű, illetve a granulosa rétege, ahol nincs), a nyélben futó fő artériák mindig a fejlődő tüszők felé irányulnak, belőlük arteriolák ágaznak le, hogy kapillárisaikkal behálózzák a tüszőfalat és eljussanak a theca rétegein keresztül a lamina basalisig (Dahl, 1970).
A csírakorong (blastoderma) a granulosa sejtekhez közel, a csírakorong régióban helyezkedik el.

A tüszőfejlődés jól nyomon követhető a tüszők méretének és színének változásán keresztül. A tüszők növekedésében három szakaszt különíthetünk el:
Lassú növekedés, amely 60-100 μm-es méretű tüszőknél fordul elő és hónapokig, évekig is eltarthat,
Több hónapos növekedés, amely gyorsuló jelleget mutat a beépülő szik proteinek mennyiségének függvényében,
Gyors növekedés, amely az ovulációt megelőző 6-11. napon indul és ezalatt épül be a szik fehérje és lipid tartalmának nagy része.
Házityúk esetében a 3. fázisban a növekedési ráta elérheti a 3500-8000-szeres értéket is (Johnson, 2000a).
Átlagosan a maturáció kezdetétől számított két héten belül kerül ovulációra az első petesejt, ami azt jelenti, hogy a petesejtbe rendkívül gyors ütemben, rövid idő alatt nagy mennyiségű szikanyag épül be, amelynek előállítása a májban történik gonadotropin és szexuál szteroid hormonok hatására. Madarak esetében a májnak a szaporodásban betöltött kucsfontosságú szerepe miatt gyakran nevezik a májat másodlagos ivarszervnek is.
Már hetekkel a tojásrakás megindulása előtt, a petefészekben kezdetben csak kis mennyiségben keletkező ösztrogén hatására a májban beindul a két legfontosabb szik prekurzornak, a vitellogeninnek (VTG) és a VLD lipoproteineknek (VLDL) a szintézise. Az ösztrogén stimuláló hatására a máj kb. 8 g lipoprotein *de novo* szintézisére képes naponta, amely azonnal be is épül a fejlődő tüszőkbe. A beépülés folyamata a VTG és VLDL receptorok által mediált, amelyek a petesejt membránján expresszálódnak (Shen et al., 1993).
A petesejt a tüszőben fejlődik az ovulációig, amikor a tüszőfal a stigma mentén felreped és a petesejt a petevezetőbe jut.

A madár petefészekben endokrin sejtek a tüszőkön kívül, a stroma állományában is előfordulnak. Az interfolliculárisan helyeződő specifikus glanduláris jellegű sejtek, az úgynevezett interstitiális sejtek egyedül, vagy gyakran csoportokba rendeződve fordulnak elő és élesen elkülönülnek a környező kötőszövetes környezetüktől. Mennyiségük a szaporodási ciklus fázisaival összefüggésben fluktuáló, elsősorban azokban a fázisokban mutatnak fokozott szteroid szintetizáló aktivitást, amelyekben gyakoribb az atrézia jelensége. Sayler et al. (1970) szerint, rövidnappalos tartási körülmények között felnevelt japán fürjekben a fénystimulált csoporthoz képest lassabb és mérsékeltebb ivari maturáció volt megfigyelhető, amelyet a tüszők nagyobb számban kísértek degradációval. Ezekben a petefészkekben fokozott Δ^5–3β-hidroxiszteroid de-

hidrogenáz aktivitást mutatkozott az interstitiális sejtekben 25 napos korban és 45 napos korban pregnenolon, epiandroszteron és dehidroepiandroszteron szubsztrátot alkalmazva. A szerzők feltételezik, hogy az inaktív petefészekben a tüszőfejlődés beindulásáig az interstitiális sejtek jelentik a legfőbb szteroid forrást.
Az interstitiális glanduláris sejtek eredete ismeretlen, valószínű, hogy posztnatális korban (Dahl, 1972), vagy a szaporodási ciklus egyes fázisaiban a petefészek felszínét borító epitheliumból, a csírahám sejtjeiből alakulnak ki hormonális hatásra (Chalana et al., 1979). Narbaitz et al. (1968) kimutatták, hogy kétnapos csirke petefészkének velőállományában megjelenő mesenchyma eredetű interstitiális sejtek egy része a petefészek növekedését kísérő kéregállomány invaginációk révén áthelyeződik és beékelődik a theca interna sejtjei közé, ami azt jelenti, hogy az interfolliculáris interstitiális sejtek és a theca interna glanduláris sejtjei közös eredettel rendelkeznek. Hasonló eredményre jutott Gupta et al. (1987a) is, aki *Sturnus contra contra*-ban szintén vizsgálta a stromális glanduláris sejteket és megállapította, hogy ezek a sejtek a stroma kötőszövetes elemeiből származnak.
Marshall et al. (1957) feltételezik, hogy ezek a sejtek nőivarú madarakban a here Leydig-féle interstitiális sejtjeinek felelnek meg.

3.1.1.1.1. A tüszőhám ultrastruktúrája

A stromába ágyazott kortikális tüszők tüszőhámja egyrétegű, de már ennél a mikroszkópikus méretű petesejteknél (paranukleárisan Balbiani komplexum) is megfigyelhetők az anyag transzportra utaló jelek. Elektronmikroszkópos vizsgálattal japán fürjben 700 μm átmérő alatti petesejtek citoplazmájában egy keskeny rost réteg választja el az exooplazmát az endooplazmától, az exooplazmában lipid cseppek figyelhetők meg, amelyek egyértelműen a granulosa sejtekből, illetve a theca sejtekből származnak. A granulosa sejt és a petesejt közötti kapcsolat direkt, köztük „nyitott”, réseket tartalmazó membrán szakaszok figyelhetők meg, úgynevezett intercelluláris hidak, amelyek valószínűleg csak ebben a fejlődési állapotban funkcionálnak. A tüsző sejtek populációján belül már ennél a méretnél is elkülönülnek az úgynevezett „sötét” granulosa sejtek, amelyek széles alapon helyeződnek el a membrana basalison, citoplazmájuk sötéten festődő, számos nyúlvánnyal rendelkeznek, magjuk kifejezett, jól szembetűnő nucleolust tartalmaz. Mivel apikális nyúlványaik a petesejt cytoskeletonjának felszínén végződnek, ennek alapján feltételezhető, hogy ezek a „sötét” granulosa sejtek támasztó szerepet töltenek be (Callebaut, 1991a).
A tüszőfejlődés során elkülönítettek a „világos” granulosa sejtek és a „sötét” granulosa sejtek mellett egy harmadik típusú granulosa sejtet is, az úgynevezett „körte alakú” (pyriform-like) sejtet a kromoszóma lámpakefe stádiumának II. fázisában, amikor a tüszpőhám rétege maximális magasságot ér el és intenzíven osztódik (japán fürj esetében 500-1200 μm). Ezek a sejtek a bazális

membránhoz kapcsolódva helyezkednek el, citoplazmájuk világos színű, magjuk nagy, kerek, a nucleolusuk szintén nagy. A megfigyelések szerint egy átmeneti sejtformáról van szó, amely a későbbiekben degeneráció eredményeként eltűnik a tüszőhámból (Callebaut, 1991b). Feltételezik, hogy a felszívódó granulosa sejtek lebomló építő anyagaikkal a fejlődő petesejtet táplálják (Guraya, 1976).
Az intenzív osztódás időszakát igazolta ^{3}H-timidin beépülés kimutatásával Callebaut et al. (1990) japán fürjben, akik megállapították, hogy az 1 és 2 mm átmérőjű tüszőkben zajlik premitotikus DNS szintézis a legnagyobb mértékben, amit egy kisebb csúcs követ az 5 mm-es tüszőkben. Ettől a mérettől felfelé a granulosa rétegben a sejtek osztódásának intenzitása folyamatosan csökken. Ezt igazolta Gilbert et al. (1980) is, aki megállapította, hogy a granulosa réteg DNS tartalma progresszíven csökken a tüszőérés során.
A házi tyúk kis tüszőiben (5 mm) a granulosa sejtek több réteget alkotnak, a tüsző növekedésével a sejtek „szétterjednek”, a tüszőhám oszlophám, majd köbhám jelleggel egyrétegűvé válik. A sejtekre változó mennyiségű haránt-christás mitochondrium, szemcsés és sima endoplazmatikus retikulum, Golgi-apparátus, valamint nagy ovális mag, szembetűnő nucleolus-szal a jellemző. Ennél a méretnél gyakran a mitózis jeleit mutató sejtmagok figyelhetők meg, valamint lipid cseppek a citoplazmában (Rothwell et al., 1977).

A hierarchiába belépő tüszőben a granulosa rétegnek úgy kell kielégítenie minden igényt (transzport, hormontermelés, mechanikai támogatás), hogy közben folyamatosan idomulnia kell a rohamosan növekvő petesejthez, amellyel a fejlődés kezdeti szakaszában direkt kapcsolatban áll (granulosa membrán-oolemma), majd ez a direkt kapcsolat megszűnik, mert a fejlődés előrehaladtával közöttük a membrana perivitellina jelenik meg, amely a granulosa sejtek szekréciós terméke. Házi tyúkban ez a struktúra 7 mm-es tüszőnagyságnál jelenik meg először (Wyburn et al., 1965a), Rothwell et al., (1977) szerint korábban, 5-6 mm átmérő méretnél. Anyaga mukopoliszacharid, amelynek állományában a petesejt sejthártyájával párhuzamosan rendeződött fehérje rostok figyelhetők meg. A membrana perivitellinát a granulosa és a petesejt felől egymás felé közelítő nyúlványok szakítják meg, ez a sugaras struktúra a zona radiata, amely jól fejlett a fejlődő tüszőkben (Rothwell et al., 1977). A 25 mm átmérőjű tyúk tüszőben a granulosa makrobolyhai a membrana perivitellina rétegén áthaladva kiszélesednek és desmosomákkal kapcsolódnak a petesejt membránjához (Perry et al., 1978).
A tüsző növekedés utolsó fázisa viszonylag rövid ideig tart és a petesejt nagyon intenzív növekedése kíséri, körülbelül 7 nap alatt a 8 mm átmérőjű tüszőből 37 mm-es preovulációs tüsző fejlődik. A petesejt 15-szörös felszín növekedését a granulosa sejtek számának 5-szörös növekedése kíséri (Perry et al., 1978). Annak érdekében, hogy a granulosa réteg mérsékelt osztódás mellett követni tudja a petesejt felületnövekedését, a réteget alkotó sejtek ellaposodnak és szeparálódni kezdenek. Ebben az időszakban házi tyúkban a granulosa sejtek magassága 14 μm-ről 9 μm-re csökken. Ezt erősíti meg Bakst

(1979) is, aki megállapította, hogy tyúk preovulációs tüszőiben a granulosa sejtek köbhám sejtek az animális pólushoz közeleső terület kivételével, ahol oszlophámot képeznek.
A szeparálódott sejtek közötti kapcsolatot a sejtmembránok oldalirányú mikrobolyhai, illetve citoplazma nyúlványok biztosítják. Az intercelluláris rések 0,1-0,5 μm szélességűek és egynemű, elektron denz szemcsés anyag, a perivitellin réteg anyaga tölti ki őket. A granulosa sejtek szeparálódása nem tekinthető általános jelenségnek, a kontaktusban maradt sejteknél többféle sejtkapcsoló struktúrát is meg lehet figyelni; a plazma membránok fúzióját, illetve a macula adherenst (Perry et al., 1978).
A granulosa sejtek a sejtek közötti meglazult kapcsolatot fokozott fibronectin szintézissel is kompenzálják, amelynek mennyisége növekszik az intercelluláris résekben a fokozódó progeszteron szintézis intracrin hatására. Ezek a glikoproteinek az extracelluláris mátrix alkotói és fibrillumok formájában kapcsolatban állnak a sejtfelszínnel, ahol struktúrabiztosító szerepet játszanak (Conkright et al., 1995).
A gyors fejlődési fázisban az elektronmikroszkópos képet az anyag transzportra, valamint az intenzív szteroid (progeszteron) szintézisre utaló jelek uralják, a granulosa sejtek apikális részében több, csoportosan elhelyezkedő Golgi-apparátus, kiterjedt hálózatot alkotó endoplazmatikus retikulum ciszternák, valamint számos granulum figyelhető meg, illetve vezikulumok, amelyek megjelenésükben lizoszómákra hasonlítanak. A citoplazmában jellegzetes képletek az aggregálódott riboszómák, a transosoma vezikulumok, valamint a transosomák a sejt felszínén (Perry et al., 1978).
A szik anyagok nem csak a granulosa sejteken keresztül juthatnak el a petesejthez. Callebaut (1982) írta le a granulosa sejtek között zajló, intercelluláris transzportot kísérő morfológiai változásokat házityúk tüszőjében. A tüsző méretének növekedésével párhuzamosan a granulosa sejtek közötti csatornák egyre tágabbá válnak. A VLD lipoprotein részecskék (15-40 nm átmérő) a lamina basalison és a granulosa sejtek közötti csatornákon áthaladva érik el az oolemmát és kapcsolódnak a petesejt felszíni szik részecskéihez. A szikanyagok beépülése receptor-mediált endocitózis útján történik, a VLDL és vitellogenin receptorokat elektronmikroszkópos immunhisztokémiával mutatták ki házi tyúk petesejtjének plazma membránján (Barber et al., 1991).
Japán fürj F2 és F3 tüszőiben a tüsző több rétegében is igazolta Callebaut (1991c) az aktív lipid transzportot elektronmikroszkópos módszerrel. A lipid cseppek kimutathatók voltak a granulosa réteg világos és sötét sejtjeinek apikális részében, a sejtnyúlványokban membránnal körül véve, a membrana perivitellina rétegében és az ooplazma superficiális rétegében lipid massza formájában. A lipid cseppek megfigyelhetők voltak a theca interna sejtjeiben is, valamint a bazális membrán réseiben is. A makromolekulák és komplexeik transzportját teszik lehetővé a theca kapillárisainak endotheljében fellelhető intercelluláris csatornák, a lamina basalison található pórusok, amelyeken keresztül a granulosa sejtekbe jutnak be ezek a vegyületek (Callebaut, 1988b).

A teljes kifejlettségét elért petesejt az ovuláció során lökődik ki a tüszőből. Yoshimura et al. (1993a) 25 órával a várható ovuláció előtt tanulmányozták japán fürj preovulációs tüszőjében az ultrastrukturális változásokat. Ebben az időszakban a csírakorong közvetelenül a petesejt plazma membránjának közelében figyelhető meg, 6 órával az ovuláció előtt folyadékkal telt rések jelennek meg a petesejt és tüszőfal között. A granulosa sejtek citoplazma nyúlványaiban megjelenő elektron denz képletek a lizoszómális enzimek aktiválódására utalnak.
Japán fürj kísérletesen előidézett LH csúcsot követő elektronmikroszkópos változásokat írja le F1 tüszőkben Yoshimura et al. (1993b), amely szerint 2 órával az LH csúcs után a csírakorong körül membránnal körülvett vezikulumok jelentek meg nagy számban és a petesejt-granulocyta kapcsolat meglazulásának első jeleit lehetett észlelni. A perivitellin réteg intenzív duzzadás (folyadékfelvétel) jeleit mutatta. 6 órával az LH injekció után a sejtmagban a második osztódási orsó kialakulása, valamint az első sarki test megjelenése volt megfigyelhető.
Az ovulációt megelőző 20-30 percig az F1 tüsző falában magas proteolítikus enzim aktivitás mérhető, amely közvetlenül az ovuláció előtt lecsökken. Az alacsony szint a tüszőfal felrepedését megelőző enzimkiáramlást (depléció) tükrözi (Nakamura et al., 1980). Az enzimek közül kiemelt szerepet játszik a neutrális proteáz, amely a kötőszövetes sejt közötti alapállomány lebontásában játszik aktív szerepet és aktiválásában feltehetően a progeszteron hatás a meghatározó (Tojo et al., 1982). Az F1 tüszőn belül is a stigma régiójában a legmagasabb a proteolítikus enzimek – neutrális és savanyú proteáz, kollagenáz – aktivitása, amelyekre stimuláló hatással van az LH is (Ogawa et al., 1984).

A tüszőhám rétegét alkotó granulosa sejtek heterogenitást mutatnak házi tyúk preovulációs tüszőjében. A sejtpopuláción belül elkülöníthető egy viszonylag magasabb protein tartalmú sejt csoport, amelyben magasabb az RNS tartalom is. Ennek a szubpopulációnak a részaránya a maturáció során növekszik (35%-ról 74%-ra), míg az alacsony protein tartalmú sejtek részaránya 65%-ról 26%-ra csökken. A két eltérő típus szerepére ez idáig nem sikerült kielégítő magyarázatot adni (Press, 1964, Marrone et al., 1988).
A tüszőhám sejteken belül morfológiailag is észlelhető eltérés, a granulosa sejtek differenciálódásában meghatározó szerepet játszik a sejtek pozíciója a csírakoronghoz képest. A discus germinativus metabolikusan aktív, növekedési centrumnak is nevezik. Házi tyúkban a csírakorong a tüsző distális részében, a tüszőnyélhez közel helyeződik el. Ezen a területen a granulosa sejtek nyúlványai sokkal kifejezettebbek, gyorsabban proliferálódnak (kevésbé érettek), több plazminogén aktivátort szintetizálnak, alakjuk megnyúlt, oszlophámsejtek. Ezzel szemben az úgynevezett proximális granulosa sejtek differenciáltabbak, köbhámsejtek a preovulációs tüszőkben, kevesebb plazminogén aktivátort, de több progeszteront szintetizálnak (Tischkau et al., 1996, Tischkau et al., 1997). A különbségek a csírakorong által szekretált epidermal growth factor (EGF) paracrin hatásának tudható be, amely nagyobb mértékben

fejti ki proliferáció-stimuláló hatását a distális sejtekre (Yao et al., 2001). A csírakorong elengedhetetlen a tüsző fejlődéséhez, kísérletes destrukciója után 24 órával olyan degeneratív folyamatok indultak meg a tüszőben (apoptosis egyes granulosa és theca interna sejtekben, theca externa erek endotheljeiben), amelyek a tüsző atréziájához vezettek (Yao et al., 1998).

3.1.1.1.1.1. Specifikus sejtorganellumok a granulosa sejtekben

Transosomák

A házityúk granulosa sejtjeinek citoplazmájában, valamint a granulosa sejtek felszínéről induló nyúlványok végén speciális képleteket, transosomákat írt le Press (1964) és Paulson et al. (1972). A citoplazmában gömb alakú képletekként jelennek meg („lining bodies", „vesicular bodies"), falukat két rétegben elektron denz lemezek adják, a belső membránon szabályos sorban elektron denz granulumok ülnek, amelyek hasonlóan a riboszómákhoz ribonukleáz szenzitivitást mutatnak. A transosomák keletkezésük színhelyéről a perivitellin rétegen keresztül a petesejt citoplazmájába transzportálódnak pinocytotikus vezikulumokban inkorporálva, ahol a feltételezések szerint a lemezek felületén transzportált riboszómák révén a szik protein szintézisében, vagy a szik képzésben szerepet játszó lizoszómális enzimek szintézisében játszanak szerepet.
Wyburn et al. (1965b), megfigyelése szerint az apikális irányba mozgó transosomák a granulosa sejtek citoplazma membránját elérve, illetve a petesejt membránját elérve kinyílnak és félkör alakban a határoló membránhoz simulnak és ott egy ötrétegű terminális membránt hoznak létre. Közöttük membrán fúzió nem figyelhető meg. A tüsző növekedésével növekszik a membránok transosomákkal társult felülete, amely házi tyúkban 35 mm-es átmérőnél, szinte az egész ovum membránt beborítja.
A transosomákat leírta Scheijde et al. (1974, 1975), Gorbik (1976), valamint Rothwell et al. (1977) is. Jellegzetességük, hogy magasabb rendű gerincesekben nem, csak hüllőkben és madarakban fordulnak elő.

Gyűrűs lemezek (annulate lamellae)

Házityúkban a kortikális tüszők citoplazmájában, a maghártya közelében kialakuló Balbiani-féle testben a páros centriolumokat körülvevő Golgi-area és a mitochondriumok mellett olyan specifikus sejtszervecskék is kimutathatók, mint amilyen a párhuzamos elhelyeződésű, sima falú membránok alkotta lemezek komplexuma. A lemezeken szabályos távolságokban elektron denz gyűrűszerű behúzódások figyelhetők meg, a lemezek terminális részén gyakran vezikulumot formáló lefűződések vannak (Bellairs, 1967). Szerepük ismeretlen, általában a fejlődő ivarsejtek közelében figyelhetők meg. A struktúrát Deray (1979) is leírta kacsa kis fehér tüszőinek granulosa sejtjeiben.

3.1.1.1.2. A fejlődő tüszők theca rétegének szövettani jellemzése

A theca rétegét, amelyet kötőszöveti elemek – stroma sejtek, kollagén rostok – alkotnak idegek, vererek (véredények, kapillárisok) és lacunák szövik át. A kötőszövetes fal két rétegre osztható a nagyobb tüszőkben, a theca internát, amely a lamina basalist közvetelenül veszi körbe, valamint a theca internát, amely a theca interna és a csírahám között helyeződik el. A theca externában nyújtott alakú fibroblasztok, nagy mennyiségben kollagén rostok és elasztikus rostok, valamint desmin találhatók, amelyeknek fontos szerep jut a petesejt növekedését és az ovulációt kísérő változásokban. A theca sejtekben valószínűleg a kontraktilis elemek fehérje alkotórészeinek szintázise zajlik, erre utalnak az elektronmikroszkópos eredmények, amelyek szerint a differenciálatlan stroma sejtek és fibroblaszt-szerű sejtek szemcsés endoplazmatikus retikulumot, szabad riboszóma szemcséket, mitochondriumokat, mikrofilamentumokat és kis területre kiterjedő Golgi-areát tartalmaznak. A képződött kollagén rostok a theca sejtek között halmozódnak fel (Perry et al., 1978).
A kis fehér tüszőkben a theca interna egyes kötőszöveti sejtjei jellegükben eltérnek a környezetüktől. Ezek az interstitiális sejtek hatalmas méretűek és eozinnal csak halványan festődnek (Yoshimura et al., 1995a). A tüszőfejlődés során, úgynevezett glanduláris transzformációt követően a szteroidtermelő sejtek ultrastruktúrális jellegzetességeit mutatják. Ennek megfelelően első lépésben a megnyúlt alakú sejtek lekerekednek, citoplazmájuk mérete megnövekszik és bennük nagy mennyiségben lipid cseppek, sima endoplazmás retikulum, tubuláris mitochondriumok figyelhetők meg.
A transzformáció tényét Takahashi et al. (1979) igazolták elektronmikroszkópos szinten, megállapították, hogy a theca interna glanduláris hipertrófiát mutató sejtjei kötőszöveti, illetve stroma eredetűek.
Házi tyúkban Dahl (1970) szerint a theca externa és interna határán, illetve a theca externában is megfigyelhetők glanduláris sejtek, vagy interstitiális sejtek, amelyek kis tüszők falában elszórtan, a kötőszövetes rostok között bazális hártyával körülvéve csoportosan alkotnak úgynevezett theca mirigyeket (thecal glands). Ezt a struktúrát Perry et al. (1978) nagyobb méretű tüszők falában már nem tudta megfigyelni. Valószínű, hogy a növekedő tüszőkben, a tüszőfal kötőszöveti elemeinek proliferációja következtében a csoportokba rendeződött sejtek többé-kevésbé szétszóródnak, megnyúlnak és beolvadnak a környezetükbe.
Ezt a feltételezést támasztja alá Hernandez-Vertiz et al. (1993) megfigyelése, aki házi tyúk kis fehér tüszőinek theca externájában a szteroid szintetizáló sejteket szigetekben előforduló differenciálatlan sejteknek írta le, amelyekekre nagy ovális mag, kettő, vagy annál több nukleolusz, valamint lipid cseppek előfordulása a citoplazmában jellemző, de ezek a sejtek megjelenésükben alig megkülönböztethetők a környező fibroblasztoktól.

Yoshimura et al. (1995a) feltételezi, hogy ezeknek a theca externa interstitiális sejteknek az érése az ösztrogén receptorok megjelenése után, ösztrogén hatásra következik be és válnak „aromatáz” sejtekké kis sárga tüsző méretnél.

3.1.1.2. Calix

Az ovuláció után visszamaradt képlet a calix, amely az ovulációt követően kb. 6-10 napig még jól felismerhető. Granulosa sejteket és theca rétegeket tartalmaz, de ezek a sejtek már nem rendelkeznek jelentős aktivitással. Enzimatikus regressziós folyamatok eredményeként néhány napon belül visszafejlődnek, funkciójukat tekintve nem azonosak az emlősök sárgatestével.
A posztovulációs granulosa sejtek elektronmikroszkópos jellemzését adta Wyburn et al. (1966) házi tyúkban. A petesejt kilökődésével a tüsző fala összeesik, a bazális membrán hullámos, „gyűrött” lesz, a granulosa sejtek összetapadnak, csomókat alkotnak. 24 órával később a sejtek citoplazmáját szemcse nélküli retikulum hálózattal kapcsolatban álló membránnal körülvett különböző méretű és denzitású vezikulumok töltik ki. Egyes sejtekben a citoplazmában megfigyelhető granulumok egybefüggő elektron denz masszává egyesülnek. A terület átnézeti képét a fixálás után a kilúgozottság jellemzi a legjobban, a kioldódott lipidcseppek után a szövet csipkére emlékekztető.
48 órával az ovuláció után a granulosa sejtek kezdik elveszíteni kapcsolatukat egymással, a bennük megfigyelhető elektron denz anyagok mennyisége több, a lipid cseppek polimorfizmust mutatnak, gyakran egészen egybefüggő citoplazma területeket foglalnak el.
72 órával az ovuláció után a bazális membrán eltűnik, a granulosa sejtek felismerhetetlenné válnak, feltételezhető helyükön egynemű elektron denz anyagtömeg figyelhető meg a zsíros degeneráció egyértelmű jeleként. A calix szövetei csökkenő 3β-hidroxiszteroid dehidrogenáz aktivitást mutatnak 3-7 napig az ovulációt követően, aminek következtében többen is feltételezték, hogy a visszamaradt sejtek szexuál szteroid szintetizáló aktivitással rendelkeznek (Chieffi et al., 1965, Calvo et al., 1981).

3.1.1.3. A tüszők atréziája

Az atretikus tüszők a fejlődés során a differenciálódás különböző fázisaiban megrekedt tüszők, amelyek nem érik el az ovulációs stádiumot. A folyamatban az apoptosis játszik szerepet (Tilly et al., 1991). A szövettani képre jellemző, hogy a granulosa sejtek között gyakorivá válik a sejtmagok DNS állományának fragmentálódása (oligonukleoszómák keletkezése). A theca réteg sejtjeiben ezek a folyamatok csak ritkán figyelhetők meg.
Az atretikus tüszők sejtalkotóinak reabszorpciója a vérkeringésbe autolízist követően következik be, de a nagyobb tüszők esetében előfordul, hogy a degradálódott tüsző fala átszakad és tartalma a hasüregbe folyik. Ilyenkor a has-

hártyáról szívódik fel a szikanyag. Az atrézia kiváltó okai még nem teljesen ismertek, de vannak bizonyos tények, amelyeket figyelembe kell venni:
gyakoribb az atrézia előfordulása azok között a tüszők között, amelyek még nem léptek be a tüszők fejlődési hierarchiájába (házi tyúkban < 8-9 mm tüszőátmérő) és amelyeknek granulosa sejtejei *ab ovo* fokozottabb apoptosis-hajlamot mutattak (Witty et al., 1996.), valamint a szezonálisan költő madaraknál a szaporodási ciklus végén (Erpino, 1973),
az apoptosis folyamata evolúciós termék, amely sejtek szelektív eliminálására szolgál szövetek átépülése/átépítése során, illetve eszköze a normális megújulásnak, szöveti turnovernek, a vizsgálatok szerint nagyon sok faktor közvetítheti a sejtpusztulást elindító szignált, mint pl. Bcl-2 családhoz tartozó fehérjék, egyes protoonco

gének csoportja, tumor szupresszor gének, stb. (Van Nassauw et al., 1999),

- elgondolkoztató, hogy ezek a gének a fejlődő tüszőkben is expresszálódnak, expressziójuk szintje összefügg a granulosa sejtek „veleszületett” apoptosis hajlamával. Ugyancsak fontos figyelembe venni, hogy ezeket a géneket általánosságban ugyanazok az élettani tényezők szabályozzák, mint amelyek a többi fejlődő tüsző életképességet is szabályozzák (növekedési faktorok, gonadotrop hormonok, stb.).

3.1.1.3.1. Az atretikus tüszők szövettani jellemzése

Az előrehaladottan atretikus tüszők makroszkóposan is elkülöníthetők a fejlődő tüszőktől, alakjuk és színük rendkívül heterogén képet mutat, tapintatuk petyhüdt, hullámzó, felszínük ráncos, néha haemorrhagiás, színük a szürkétől a sárgáig változhat (Gilbert et al., 1983).

Általánosságban elmondható, hogy az atretikus tüszőkben két, ellentétes irányú folyamat figyelhető meg egyidejűleg, az egyes alkotóelemek proliferációja, amelyet más alkotó elemek leépülése kísér.
A kisebb méretű fehér tüszők atréziája inváziós jellegű, a sejtek származhatnak a tüszőhámból, vagy a thecából, vagy mindkettőből, a szik reabszorpciója pedig *in situ* történik. A granulosa sejtek dezintegrálódnak, a sejtek hipertrófikusak, magjuk piknotikus, citolpazmájuk vakuolizált, ami utalhat a kioldódott lipid cseppek jelenlétére is. A zona radiata szakadozottá válik, ami lehetővé teszi a granulosa sejtek beszaporodását, illetve különféle sejtek behatolását az ooplazmába, közöttük fagocitákét, vörös vérsejtekét is. Házi tyúkban, a degeneratív folyamatok végén lényeges csökkenés figyelhető meg kis fehér tüszők mitotikus aktivitásában (Kitamura et al., 2002).
A leépülés végső szakaszában kötőszövetes gyűrű demarkálja a centrálisan helyeződő masszát, ami a tüsző helyén alakult ki (Guraya, 1989).

Az atréziát olykor a theca rétegek glanduláris sejtjeinek hipertrófiája is kísérheti, amelyeknek több sejtsor vastagságú rétege egy külső gyűrűt alkot a leépülő tüsző körül. Guraya (1976) szerint ilyenkor a theca interna glanduláris hipertrófiájához azoknak az interfolliculáris interstitiális glanduláris sejteknek a hipertrofizált rétege társul, amelyeket a tüszőfalhoz közel eső stroma sejtek szeparálnak és zárnak rostjaik közé. A glanduláris gyűrűt kötőszövetes sövények szövik át sugarasan, amelyek a volt tüszőfalból származnak.
Az interstitiális glanduláris sejtek mennyisége több a kis fehér tüszők és a kis sárga tüszők fokozott degradációjának időszakában, vadmadarak esetében a költést megelőző időszakban (Chalana et al., 1977, Kern, 1972). Feltételezik, hogy ezek a sejtek az androgének szintézisében játszanak szerepet (Woods et al., 1966). A folyamat eredményeként az atretizálódott tüsző helyét teljes mértékben az interstitialis glanduláris sejtek tömege tölti ki, amelyek a későbbiek folyamán zsírosan degenerálódnak .
Ezek a glanduláris típusú sejtek 3β-hidroxiszteroid dehidrogenáz aktivitással rendelkeznek fürjek theca interna sejtjeiben (Shanbhag et al., 1985).
Marshall et al. (1957) holló petefészkében vizsgálták az atretikus tüszőket, amelyekben a fibroblasztok proliferációját figyelték meg. Egyes fibroblaszt sejtek glanduláris jellegűvé váltak, kifejezett, nagy, világos citoplazmával.
Kern (1972) az atrézia öt típusát különítette *el Zonotrichia leucophrys gambelii* tüszőiben.
a.) A tüszőfal átszakadásával járó atrézia szövettani képére a granulosa réteg hiperpláziája és proliferációja, néha töredezettsége, valamint a szik állományában vörös vérsejtek jelenléte jellemző. Ugyancsak ennél az atrézia típusnál figyelhető meg a tüszőfal egyes átszakadt rétegein keresztül kiömlő szik, amely elárasztja a degradálódó tüsző környező szöveteit.
b.) A lipoid típusú atréziánál nem szakad fel a tüszőfal és bármely tüszőméretnél előfordulhat. Azonosítását nehezíti, hogy nagyon hasonlít a fejlődő tüszőkre, amelyekbe szintén fokozott a lipidcseppek beépülése. Általában a szaporodási ciklus végén figyelhető meg.
c.) A lipoglanduláris atrézia során a tüsző lumene granulosa sejtekkel és lipid cseppekkel telített, a theca rétege kifejezett, kötőszövetes sövények által lebenyezett és glanduláris sejteket tartalmaz.
d.) A glanduláris típusú atrézia nagymértékben hasonlít az előző típushoz, azzal a különbséggel, hogy a lument csak degradálódó sejtek töltik ki, lipidcseppek nem figyelhetők meg a sejtek között. A theca glanduláris sejtjei szintén lipid cseppektől mentesek.
e.) Az elfolyósodással járó atrézia elsősorban a nagyobb méretű tüszőkben fordul elő (*Zonotrichia leucophrys gambelii*-ben 350-495 μm átmérőnél) és jellegében a tüszőfal felrepedésével járó átréziára hasonlít, de a lumenből nem szik kifolyása észlelhető, hanem habos jellegű zöld folyadéké, amely gyulladást kísérő sejteket tartalmaz nagy számban (heterofil granulocitákat, limfocitákat, hízósejteket).
Gupta et al. (1988) besorolása szerint alapvetően csak két atrézia típust lehet elkülöníteni házi tyúk petefészkében, a tüszőfal felszakadásával együtt járó

atréziát (bursting atresia), amely 1 mm átmérőnél nagyobb tüszőkben fordul elő, valamint a tüszőfalak átszakadása nélkül zajló atréziát, amely 1 mm-nél kisebb tüszőkre jellemző. Ez utóbbinál jellegzetes vonás a tüszőhám elválása a lamina basalistól.

3.1.1.3.2. Enzimaktivitási változások az atretikus tüszőkben

A lizoszómák membránnal körülvett intracelluláris sejtorganellumok, amelyek rendszerint hidrolázok csoportjába tartozó enzimeket tartalmaznak. A sejtek lizoszómális enzimjeik révén emésztik meg – hidrolízis révén bontják le - azokat a sejt fehérjéket, poliszacharidokat, lipideket, amelyre már nincsen szükségük (Albert, 1982).
Ezek az enzimek, a többi fehérjetermészetű anyaghoz hasonlóan, az endoplazmatikus retikulum riboszómáin szintetizálódnak, majd bejutnak a retikulum résrendszerébe, ahonnan a Golgi-apparátusba transzportálódnak. Az apparátus marginális részéről leváló vezikulumok mint enzimeket tartalmazó primér lizoszómák kerülnek a citoplazmába. A lizoszómákra jellemző savanyú foszfatáz kimutatható az endoplazmatikus retikulum ciszternáiban, valamint a Golgi vezikulumokban is (Guzsal, 1974).

A lizoszómális enzimek aktivitása nem csak a kifejezett atretikus folyamatokat kíséri, működésük folyamatos a szervezetben zajló állandó anyag turnover következtében. Aktivitásuk kimutatható differenciálódó szervekben is, amikor a fejlődés egyidejű, részleges szöveti leépüléssel jár együtt bizonyos struktúrák átépülése miatt (pl. angiogenezis) (Johnson et al., 1997).
Az enzimek nagyfokú szubsztrát specificitást mutatnak, például a β-galaktozidáz a sejtmembránokban található glikolipidek (pl. galaktocerebrozidok), a β-glukuronidáz a kötőszövetben előforduló glikoproteidek katabolizmusában játszik szerepet, a katepszinek cisztein-proteinázok, kivéve a katepszin D-t, amely aszpartát-proteináz (Gerhartz et al., 1997), a foszfatázok pedig a hidrolázok csoportjába tartozó észterázok, az organikus foszforsav-észterekből hasítanak le foszforsavat lúgos, vagy savas pH optimumnak megfelelően és minden működő sejtből kimutathatók (Szabolcsi, 1991).

A savanyú foszfatázt több más enzimmel együtt Chalana et al. (1979) mutatta ki primordiális tüszőkben a Balbiani-féle test metabolikus aktivitásának bizonyítékaként, amely egyre intenzívebbé vált a tüsző növekedésével. A vitellogenezis időszakában tapasztalható növekvő enzim aktivitás valószínűleg a tüszőhámban zajló hidrolítikus és transzport folyamatokat kíséri (Chalana et al., 1980).
Atretikus tüszőkben, az autolízissel együtt járó folyamatokban savanyú foszfatáz aktivitás növekedést észlelt Abe et al. (1962), ugyanakkor a lugos foszfatáz aktivitása csökkent. Mivel a lugos foszfatázról ismert, hogy a membránokon keresztül zajló transzport folymatokban játszik szerepet, ezért feltétele-

zik, hogy aktivitásának csökkenése a kapillárisok permeábilitásának csökkenését tükrözi a leépülés folyamatában.

A katepszin D proteolítikus enzim, madarakban a vitellogenezis időszakában tölt be kulcsfontosságú szerepet. Elkin et al. (1995) kimutatta, hogy japán fürjben a szik plazma prekurzoraiból a katepszin D hasít le beépíthető méretű polipeptideket, vizsgálata szerint a plazma VLD lipoproteinjéből és vitellogeninjéből phosvitint állít elő. Az enzimet kimutatták házi tyúk májából is (Retzek et al., 1992).
Házi tyúkban a csírakorong destrukciójával mesterségesen előállított atretikus tüszőben 20 órával a beavatkozás után degeneratív folyamatokat lehetett megfigyelni. A granulosa sejteken belüli folyamatok mellett a thecában, a fibroblaszt jellegű sejtekben a lizoszómális enzimek aktiválódásának eredményeként hidrolízis jeleit lehetett megfigyelni (Yoshimura et al., 1995b).

3.1.2. A petevezető

Madarakban a petevezető a bal oldali Müller-féle járatból fejlődik ki és hat szakaszra osztható: infundibulum, magnum, isthmus, uterus vagy héjmirigy, uterovaginális junctio, vagina. A petevezető felépítésére általánosságban elmondható, hogy fala a lumentől kifelé haladva nyálkahártyából, izomrétegből és savóshártyából áll. A petevezető nyálkahártyája a szerv egész hosszában redőzött, a redők nagysága, sűrűsége, színe szakaszonként változó, az uterusban szemölcsök alakultak ki (Guzsal, 1967). A nyálkahártya hámrétegét az alaphártya határolja el a nyálkahártya kötőszövetes rétegétől. Ez a rugalmas és kollagén rostok, valamint fibroblaszt jellegű sejtek alkotta réteg az, amely a differenciálódás időszakában magába foglalja a nyálkahártya mirigy állományát. A hámréteget csilló nélküli szekréciós sejtek (más néven kehely sejtek) és csillós sejtek alkotják. A csillós sejtek a nyálkahártya redők tetején a legsűrűbbek, a redők alján főleg szekréciós sejtek helyezkednek el. A lamina propriában ezen kívül más sejteket is meg lehet figyelni, limfocitákat, plazma sejteket, makrofágokat, hisztiocitákat, valamint hízósejteket. Ezeknek a sejteknek a nagy része IgG pozitivitást mutat (Kimijima et al., 1990). A petevezető falában körkörös és hosszanti lefutású simaizom rostok találhatók, amelyek összehúzódása révén jön létre a petevezető perisztaltikus mozgása. A petevezetőt legkívül savós hártya (serosa) borítja, amely lazarostos kötőszövetből és egyrétegű mesothel hámból áll (Guzsal, 1967).
A petevezető feladata az ovulált ovum befogadása, és a tojás alkotórészeinek szintézise, a kész tojás lerakása. Ugyancsak a petevezetőben történik meg a petesejt megtermékenyítése, valamint az embriófejlődés kezdeti szakasza 60.000 sejtes blastoderma állapotig (Bakst, 1994).

3.1.2.1. Infundibulum (tölcsér)

Az ovuláció során a tüszőből kilökődött petesejtet a tölcsér alakú infundibulum fogadja be, ezért az infundibulum elsősorban az ovuláció idején válik aktívvá. Egyes esetekben előfordul, hogy az infundibulum „elvéti" a petesejtet és az a hasüregbe ovulálódik, ahonnan kb. 24 óra alatt felszívódik (Johnson, 2000). Az infundibulum házi tyúkban átlagosan 8 cm hosszúságú szakasz, amely Bain (1969) szerint három részre osztható; fimbria rész, tölcsér rész és chalazaképző rész (disztális infundibulum).

A petesejt kb. 25-30 perc alatt halad át ezen a szakaszon és spermiumok jelenléte esetében itt történik a megtermékenyítés is. A spermiumok az infundibuláris ondósejttároló csövecskékben tartózkodnak a termékenyítésig, amelyek eltérően a többi mirigytől nem rendelkeznek exocrin funkcióval. Az ovumot körülvevő membránok közül az első (külső perivitellin réteg) itt alakul ki szorosan a szikhártyát körülvéve. A membrán anyagát mucin típusú proteinek alkotják és a magnum által szekretált hasonló típusú proteinekkel együtt részt vesznek (többszörösen megcsavarodva, ahogy az ovum spirálisan lefelé halad a petevezetőben) a chalazaréteg (membrana extravitellina) alkotásában. A kész tojásban a jégzsinór benyúlik a magnum által szintetizált vastag albumen rétegbe is, így biztosítva az ovum, majd esetleg a később fejlődő embrió centrális fixációját (Péczely, 1987).

A tölcsér szájadéka hártyaszerűen elvékonyodott, széles, nyúlványokat tartalmazó képlet, amelyekben hosszanti elhelyezkedésű simaizom kötegek vannak. A fimbriák valószínűleg a petesejtnek az infundibulumba történő irányításában játszanak szerepet. Kívülről a savóshártya borítja, amelynek köbhámsejtjei fokozatosan mennek át – alacsony, majd magas köbhám - a belső felszín hengerhámjába. Az infundibulum mirigy nélküli nyálkahártyájának hámrétege egyrétegű, csillós hengerhám, amely a fehérjetermelő rész felé fokozatosan többsorossá válik, s a sejtek között kehelysejtek jelennek meg (Guzsal, 1967). Mind a csillós, mind a szekréciós hámsejtek rendelkeznek mikrobolyhokkal (Aitken, 1971).

3.1.2.2. Magnum (fő szakasz)

Az infundibulum szakaszából továbbhaladó tojás a magnumba jut, ahol házi tyúkban kb. 3 óra alatt a petesejt köré rakódik a tojásfehérje, azaz az albumen. A nyálkahártyában ösztrogén hatásra három sejttípus differenciálódása figyelhető meg: csillós hengerhám, kehelysejtek, csöves mirigyek hámja. Egy-egy sejttípus a tojásfehérjét alkotó összetevők széles spektrumát szintetizálja, bizonyos specializáció azonban fennáll. A csöves mirigyekben történik az ovalbumin és egyes hígabban folyó fehérje-összetevők szintézise, míg a kehelysejtek ovomucint, ovomukoidokat és avidint termelnek. Az albumen több mint 40 különböző fehérjét tartalmaz, de ezekből 7 adja a tojásfehérje szárazanyagának több mint a 90%-át. A fehérjecseppek a képződő tojás áthaladásakor jelentkező mechanikai nyomás inger hatására ürülnek a lumenbe. A tojásfehérjén belül 3 réteg különíthető el, egy belső és egy külső híganfolyó réteg,

melyek között egy ovomucinban gazdag, sűrűnfolyó réteg helyezkedik el (Péczely, 1987).
A magnumban a nyálkahártya redők egyszerűek, másodlagos redők nélkül. A hámréteg többmagsoros csillós hengerhám, amely mucint (savanyú mukopoliszacharid) termelő kehelysejteket tartalmaz. A hámréteget alkotó sejtek magjai jellegzetes mintázatot adnak, a csillós hengerhámsejtek hosszú, keskeny elemek, melyek magva a felszínhez közel helyezkednek el, míg a kehelysejtek vaskosak, magvaik inkább bazálisan helyezkednek el. A propria mirigyeket alkotó hámsejteket az aktív magnumban teljesen kitöltik az acidofilan festődő, szekretált ovalbumin váladék szemcsék, amelyek a gömbölyű sejtmagot összenyomják és a sejt bázisához szorítják le. Hasonlóképpen nyomja össze a peritubuláris kötőszövetet a csöves mirigyekben felhalmozódott váladék, amely szinte eltűnik a szövettani metszetekről. A mirigyek hámsejtjeinek felülete mikrobolyhokkal fedett.
A kiürülést követően a mirigyhámsejtek magassága csökken, láthatóvá válik a mirigy lumene, valamint a propria kötőszövetes állománya is. A szomszédos mirigyek kiürülése nem összehangolt, valószínűleg a szakaszon áthaladó petesejt mechanikai hatására nyílnak meg a sejtek apikálisan. A kiürülést követően a regeneráció házi tyúk esetében 1-2 órát vesz igénybe.
A magnum és az isthmus szakasza között szabad szemmel is látható, kb. 1 mm széles határ szakasz figyelhető meg, amelyben hiányoznak a propriamirigyek (Aitken, 1971).

3.1.2.3. Isthmus (szűkület)

Házi tyúkban az isthmus 9-10 m cm hosszúságú és kifejezett körkörös simaizom réteggel rendelkezik. A tojásnak kb. 1,5 órára van szüksége az isthmuson történő áthaladáshoz, ahol két héjhártya rakódik a tojásfehérje rétegére. Mindkét héjhártyát kollagén rostok alkotják, amelyekhez a proteinek az isthmus csöves mirigyeiben keletkeznek. A feltételezések szerint a szekréció fokozásához a kulcsinger az az isthmus falra ható feszülést okozó nyomásinger, amelyet a spirálisan lefelé haladó, forgó tojás okoz. A belső és a külső héjhártya kb. 15 és 50 μm és mindkettőt rostok egymást fedő rétegei alkotják. A tojásrakás pillanatában a két membrán réteg szorosan egymáshoz illeszkedik, de a tojás lehűlését kísérve, a tojás tompa végén, a légkamra területén a két réteg elválik egymástól. Az isthmus alsó szakaszán megindul a kalcium karbonát kristályok lerakódása a külső héjhártya rostjainak kereszteződési pontjaiban, az organikus mamillamagokban. A kalcium karbonát kristályok növekedése innen folytatódik tovább az uterusban.
Az isthmusban a nyálkahártya propria mirigyei rövidebbek, a mirigyhámsejtek halványabban festődnek, kisebb szemcséket tartalmaznak, amelyek fúzióra kevésbé hajlamosak. A granulumok neutrális mukopoliszacharidot és kén tartalmú fehérjét tartalmaznak. A csöves mirigyek váladéka amorf anyagként ürül a mirigyek üregébe, ahol fibrillumokká kondenzálódik. Ezekre a rostokra, az isthmus ürege felé haladva rétegesen poliszacharid rakódik fel. Egyes néze-

tek szerint a csöves mirigyek a rostok központi fehérjerészét, a hámréteg a külső poliszacharid bevonat anyagát termeli.
Az isthmusban a hámréteget többmagsoros csillós hengerhám alkotja, amelyben az előző szakaszhoz hasonlóan csillós hámsejtek és szekréciós szemcsés sejtek váltakoznak, köztük elvétve regenerációs pótsejtek figyelhetők meg. Mindhárom sejttípus felszíne mikrobolyhokkal fedett (Péczely, 1987, Aitken, 1971).

3.1.2.4. Uterus (héjmirigy)

Házi tyúkban az uterus mintegy 10 cm hosszúságú, középső részén ampullaszerűen kitágult. A tojás kb. 6 órával az ovuláció után érkezik ide és itt tartózkodásának 18-20 órája alatt alakul ki körülötte a mészhéj. A meszesedés folyamata nagyon lassan indul meg a héjmirigyben, a kezdeti fázisban a tojásfehérje első lépésben sókat, majd ezt követően kb. 15 g folyadékot szív fel a membránokon keresztül. A kálciumbeépülés maximuma (300 mg/óra) az uterusban tartózkodás 14. órája körül észlelhető, majd az utolsó két órában rohamosan csökken. Ezzel egyidejűleg a pigmentált tojást tojó fajok esetében megindul a porfirinszármazékok beépülése a mészhéjba. A tojásképződés utolsó mozzanataként a mészhéjra egy kutikula réteg rakódik, amely szintén tartalmazhat pigmenteket. A kutikula valószínűleg a méh nyálkahártya hámsejtjeinek terméke, amely a tojást a nedvességtől és a kórokozóktól védi.
A héjmirigyben a nyálkahártya hámrétege többmagsoros csillós hengerhám, amelyben három sejttípus található. A csillós hámsejtek magvai magasabban, a csilló nélküli, szemcsés vagy bazális sejtek, valamint a ritkán megfigyelhető mitochondriumokban gazdag sejtek magvai alacsonyabban helyeződnek el. Ezek a sejtek valószínűleg azt a térhálózatot formáló szerves matrixot szintetizálják, amely a tojáshéj calcit kristályait cementálja össze.
A propria csöves mirigyei alacsonyabbak, mint a magnumban, a mirigyek hengerhám sejtjeinek végén sűrű, magas mikrobolyhok találhatók. A mirigyek híg, tejszerű váladékot termelnek, amely fehérjéket, glükózt, vízben oldott ásványi sókat, szénsav anhidrázt, savanyú foszfatázt, eszterázt, de főleg kálcium- és hidrogén-karbonát ionokat tartalmaz. Az itt termelt fehérje aminosav összetétele hasonló a tojásfehérjééhez. A propria mirigyek működése dinamikus, jellemző rájuk a gyors szekréció, az intenzív transzport és reabszorpciós tevékenység (Aitken, 1971, Péczely, 1987, Johnson, 2000a).

3.1.2.5. Cervix (nyak)

A méh és a hüvely határán helyezkedik el az utero-vaginális átmenet, vagy utero-vaginális junctio, amely tyúkban 1-2 cm hosszúságú szakasz. Nyálkahártyája jól fejlett, hosszanti redőzöttségű, a nyálkahártya hámja többmagsoros, csillós hengerhám, amely csillós és csilló nélküli szemcsés sejtekből áll. A redők mélyedéseiben helyezkednek el a spermium tároló csövecskék (sperm host tubules), amelyek fontos szerepet játszanak a tojások termé-

kenységének folyamatos biztosításában. A csövecskéket egyrétegű hengerhám borítja, a sejtek apikális felületén mikrobolyhok nem figyelhetők meg. Egyszeri inszeminálás után a csövecskékben tárolt spermiumok akár 3-10 hétig is megőrizhetik termékenyítő képességüket, bár a megfigyelések szerint tyúknál 5-7 nap után, pulykánál 14-21 nap után már csökkenni kezd a termékeny tojások részaránya. Holm et al. (2002) megfigyelése alapján, japán fürjben a spermium tároló csövecskék maturációja megelőzi a petevezető maturációját, mivel már a tojásrakást megelőző időszakban spermiumokat tudtak kimutatni a tároló csövecskékből.

Természetes párzást követően a kloákába ürített spermiumok aktívan a spermium tároló csövecskékbe vándorolnak. A csövecskékben általában 50-200 spermium helyezkedik el kötegekbe rendeződve, feji végükkel a kamra aljához illeszkedve. A különböző időpontban betárolt spermiumok a csövecskéken belül nem keverednek egymással, ami lehetővé teszi azt, hogy mindig a legfrissebb spermiumok termékenyítsék meg a petét az ovulációt követően (Zavaleta et al., 1987).

A cervix területén fejlett körkörös izomréteg alakul ki, amelynek működése révén ez a szakasz mint utero-vaginális sphincter működik, izolálja, illetve védi a külső behatásoktól a petevezető felsőbb szakaszait és esetenként a benne kialakulófélben lévő tojást.

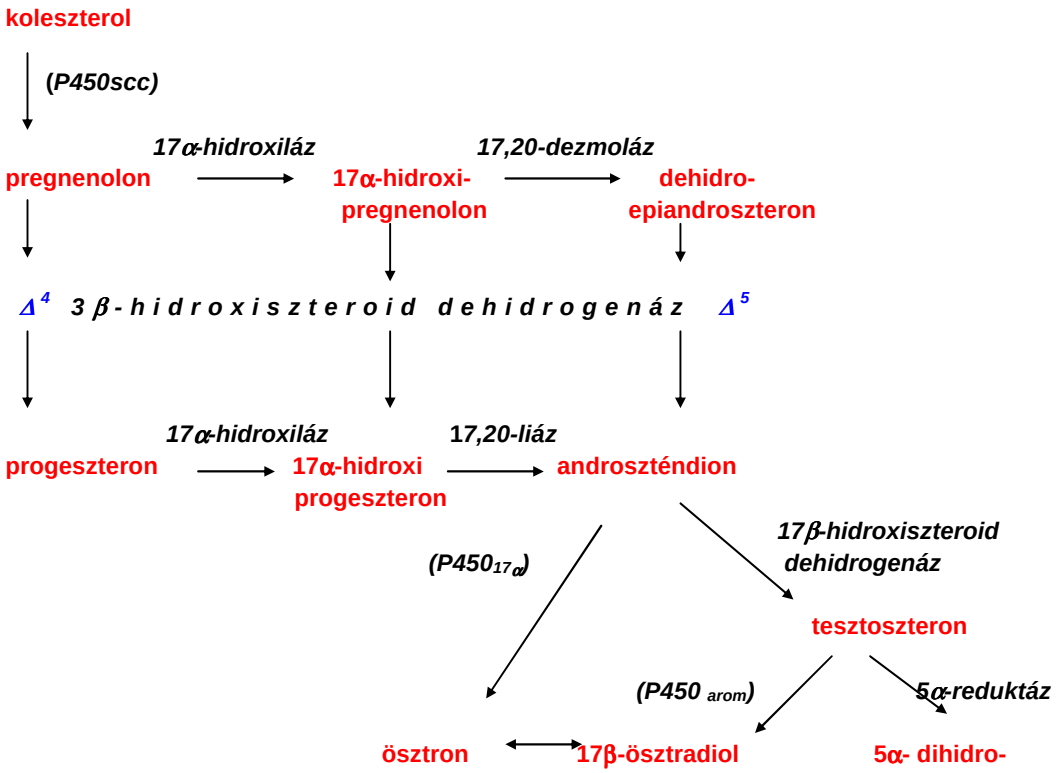
3.1.2.6. Vagina (hüvely)

A vagina közvetlenül a kloákában végződő rövid petevezető szakasz, amelynek izmos fala és sphinctere fontos szerepet játszik az ovipozícióban. Házi tyúkban hossza 6-7 cm. Ürege szűk, a falában lévő intermuszkuláris sövények azonban nagy kiterjedésű tágulást tesznek lehetővé tojásrakáskor. A petevezetőnek ez a szakasza kismértékben ívelt lefutású, tojásrakáskor kiegyenesedik és egyenesen a kloáka szájadékába tolódik, a tojás pedig a kloákával történő érintkezés nélkül jut ki a külvilágra. A vagina nyálkahártyája hosszanti lefutású keskeny, magas redők alkotják másodlagos invaginációkkal. A hüvely alső szakaszán a redők körkörössé válnak. A nyálkahártya hámrétege csillós és kehelysejteket tartalmaz, ez utóbbiak száma a szájadék felé fokozatosan nő. A kehelysejtjek síkos váladékot termelnek a tojás csúszóssá tételéhez. A hüvely alsó szakaszának erőteljes körkörös és hosszanti izomzata tűri ki a szájadékot párzás és tojásrakás alkalmával. A vagina az urodeumot és proktodeumot elválasztó redőn szájadzik be a kloákába (Péczely, 1987).

3.2. A petefészek endokrin működése

3.2.1. A petefészek szteroid hormonjai

A szteroidok legfőbb forrásai az ivarszervek (petefészek, here), ezért közös néven szexuál szteroidoknak is nevezik őket. A szteroid hormonokat a szteroid váz szénatomjainak száma alapján soroljuk be. 18 szénatomot tartalmazóak (C-18) az ösztrogének, a 19 szénatomosak (C-19) az androgének és a 21 szénatomosak (C-21) a progesztagének és a mellékvese kortikoidjai.
A szteroid hormonok közös prekurzora a koleszterol, amely a májsejtekben képződik és nagyobb hányada közvetlenül a keletkezése után észtereződik (2. ábra). A koleszterol észterek a vérárammal jutnak el a szteroidtermelő szervekbe (az ivarmirigyekhez és a mellékvesekéreghez), ahol lipidcseppek formájában épülnek be az endokrin sejtekbe. Enzimatikus folyamatok révén deészterifikálódnak, majd a szabad koleszterol a mitochondriumokba jut, ahol a pregnenolonná történő konverziót a $P450_{scc}$ citokróm enzim (cholesterol side-chain cleavage enzyme) katalizálja, amelynek aktivitása a granulosa rétegben a tüsző fejlődésével arányosan növekszik.
A pregnenolon kiinduló vegyülete lehet mind a progeszteron szintézisnek, mind a 17-α-hidroxipregnenolon szintézisnek, amely utóbbi elsősorban emlősök esetében számottevő a mellékvesekéregben (Etches, 1990).



tesztoszteron

17β-hidroxiszteroid dehidrogenáz

1. ábra
A petefészek szteroidszintézisének feltételezett lépései házityúkban.

A a kis fehér folliculusok a pregnenolont androszténdionná konvertálják a Δ^5-3β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz útján (Δ^5 pathway), amelynek során köztes termékként 17α-OH-pregnenolon és dehidroepiandroszteron keletkezik (1. ábra). A gyors növekedési hierarchiába belépő sárga tüszőben a pregnenolon androszténdionná alakul, miközben progeszteron és valószínűleg 17α-OH-progeszteron keletkezik (Δ^4 pathway). Az ovulációt megelőző 15-20 órában a legnagyobb tüsző (F1) csak progeszteront szintetizál (Etches, 1990).

A petefészek egyik legfőbb feladata, a petesejt termelése mellett a szteroid-szintézis, amely elengedhetetlen az ivarszervek fejlődéséhez és működésük fenntartásához.
A madarak petefészke is elsősorban szteroid hormonokat – progeszteront, androgéneket és ösztrogéneket - termel, kisebb mértékben más, ún. szöveti hormonokat. A szteroidok specifikusan szabályozzák a reprodukciós folyamatok egyes mozzanatait.

3.2.2. A szexuál szteroidok bioszintézise madarakban

A petefészek szteroid szintézise a tüszők falát alkotó kötőszöveti rétegekbe ágyazott endokrin sejtekben, sejtcsoportokban zajlik. Az eltérő enzimkészlettel rendelkező, specializált szteroidogenetikus sejtek a theca externa, a theca interna és a granulosa rétegében helyezkednek el, részarányuk a tüsző szteroidtermelő kapacitásában a tüsző fejlődésével változik, ennek megfelelően a tüszők fejlettségi állapotuknak megfelelően eltérő szteroidtermelő kapacitással rendelkeznek.

3.2.2.1. A tüszőfejlődés útján elindult (hierarchikus) tüszők szteroid termelése

Madarakban a tüszők ezen populációján belül a szteroidszintézisre elsősorban a Δ^4 út jellemző.
A tüszők szteroid produkcióját illető irodalom rendkívül gazdag. Huang et al. (1979) voltak azok, akik elsőként vetették fel a tyúk petefészek szteroidszintézisének ‘kétsejtes modelljét’, a granulosa és a theca sejtek szteroid produkciója alapján, amelyben a preovulációs tüsző granulosája a progeszteron legfőbb

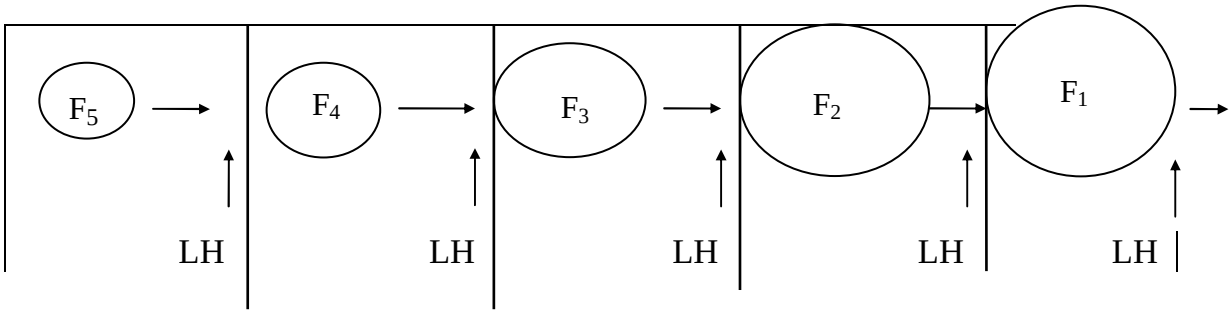
forrása a, míg a theca sejtek az ösztrogéneknek és az androgéneknek. A modell intenzív interakciót is feltételez a granulosa és theca sejtek között, amelyben a granulosából származó progeszteron mint prekurzor szerepel a további szintézisek alapjául, mivel a fejlődő tüszők thecája nem képes a progeszteron előállítására.

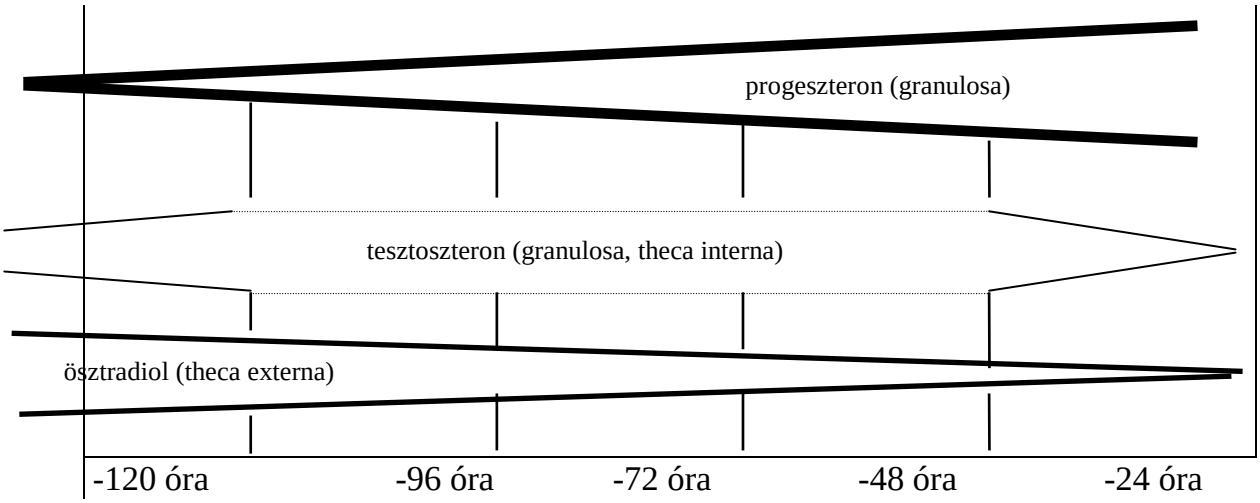
A vizsgálati módszerek finomodásával a theca rétegen belül további két réteget különítettek el, a theca internát és a theca externát, amelyek magukban hordozták a kétsejtes elmélet továbbfejlesztésének szükségszerűségét madarakban (2. ábra). A szteroid szintézis 'háromsejtes modellje' szerint (Porter et al., 1989) a granulosa által termelt progeszteront a theca interna sejtek androgénné konvertálják, amelyet aztán a theca externa sejtek alakítanak át ösztradiollá, mindamellett, hogy a theca interna sejtek a granulosától függetlenül is képesek progeszteront és androgéneket előállítani (Nitta et al., 1991a).
A 'háromsejtes modell'-t igazolta Kato et al. (1995) vizsgálata is, amelyben kimutatták, hogy a szteroid genezisben fontos szerepet játszó enzimek közül a P450 $_{17\alpha}$ mRNS-e főleg a theca internában expresszálódott, míg a P450 $_{arom}$ m RNS-e a theca externában volt detektálható, megfelelően a szintetizált tesztoszteron, illetve ösztradiol szinteknek. A theca internában mért ösztradiol valószínűleg diffúzió révén jut el a th. externából és feltételezhetően paracrin funkcióval rendelkezik.
A granulosa és theca sejtek szteroid szintézisének szabályozása ennél a tüszőméretnél már elsősorban LH szabályozás alatt áll, adenilil cikláz/cAMP függő messenger közvetítésével (Tilly et al., 1989), amely rendszer egyre érzékenyebbé válik (fokozottabb válaszreakció) az ovuláció közeledtével. Ennek megfelelően LH receptor mRNS-t expresszálódását tudták kimutatni a granulosa és theca sejtekben (Johnson et al., 1996a).
A progeszteron (P) szintézis színhelye a granulosa sejtek rétege, amely maximális kapacitását a preovulációs tüszőkben éri el, a granulosa sejtekben történik a koleszterol konverziója progeszteronná (Johnson, 1990). Marrone et al. (1985) szerint az F1 tüszőkben a fokozott P release-nek megfelelően csökken a P-nak, mint szubsztrátnak a jelentősége. Ez tükröződik a tüszők fejlődése során tapasztalt csökkenő androszténdion szintézisben.
A theca szteroid szintetizáló képességgel rendelkező sejtjei rendkívül nagy plaszticitással rendelkeznek, *in vitro* körülmények között szubsztráttól függően többféle vegyület szintézisére is képesek is (Rodriguez-Maldonado et al., 1996). Porter et al. (1989) vizsgálata szerint pulyka F5 tüszőjéből származó theca interna sejtek P szintézisére is képesek.

Házityúkban Kato et al. (1995) szerint a tesztoszteron (T) szint az F2-F4 tüszőkben volt a legmagasabb, ami megegyezik Velazquez et al. (1991) méréseivel, amely szerint a tesztoszteron szekréció az F3 tüszők thecájában volt a legmagasabb, majd csökkent az F2-ben és az F1-es preovulációs tüszőben már nem volt mérhető mennyiségű.

Úgy tűnik, hogy a theca interna T szintetizáló képessége nem kizárólagos, F1-F5 tüszőkben Nitta et al. (1991b) a theca externán belül az ismert szteroid szintetizáló populáció mellett olyan interstitiális és fibroblast sejteket is tudott immuncitokémiai módszerekkel lokalizálni, amelyek immunreaktív $P450_{SCC}$, $P450_{C17}$ enzimkészlettel rendelkeztek, tehát képesek P-ból androgének szintézisére.
A theca externa szteroid termelő sejteit Velazquez et al. (1991), jellemezte morfológiailag házityúk kis sárga follikulusaiban. A fibroblastok között előforduló sejtek differenciálatlan jelleget mutatnak, amelyekre jellemző a csoportos elhelyezkedés, a nagy citoplazma, nagy, ovális mag és két-három nucleolus. Ezeknek a sejteknek a funkcionális jelentőségét Nitta et al. (1991b) állapította meg, a theca externában ezekben a differenciálatlan sejtekben mutatott ki specifikus $P450_{AROM}$ enzim aktivitást, amelynek révén ezek a sejtpopulációk tesztoszteronból ösztrogént (E2) képesek szintetizálni. Maximális aktivitásuk is ehhez a stádiumához köthető (5-10 mm-es átmérőjű kis sárga tüszők), mert Lee et al. (1994), akik házityúk kis tüszőinek (kis fehér, kis sárga tüszők) E2 tartalmát vizsgálták, a legmagasabb E2 szintet a kis sárga follikulusokban mérték. Ezt támasztja alá Hernandez-Vértiz et al. (1993) morfológiai vizsgálata is, mely szerint a theca externa differenciálatlan sejtjeinek száma a maximumot érte el kis sárga tüszők theca externájában, majd a tüsző növekedésével számuk csökkent és az F1 tüszőben már nem voltak fellelhetők.
Kato et al. (1995) és Velazquez (1991) későbbi időpontra teszik a maximális E szintek kialakulását házi tyúk tüszőiben. A preovulációs tüszőkön belül Kato et al. (1995) a legmagasabb E2 szintet az F4-F3 tüszők theca externa sejtjeiben detektálta a $P450_{arom}$ mRNS-nek együttes kimutatásával, míg Velazquez et al. (1991) szerint a 17β-ösztradiol szintézis csak az F5 tüszőméretig növekedett, az F4 méretnél már csökkent és alig volt detektálható az F3, F2, F1 méretnél.

Házityúk tüszőiben a theca externa réteg vastagsága szignifikánsan csökken a kis sárga tüsző mérettől az F1 méretig , míg a theca interna vastagsága viszonylagosan állandó, de a tipikus szteroidogenikus megjelenésű sejtek száma az internában csökken (Velazquez et al., 1991). Ezt a megfigyelést támasztja alá Marrone et al. (1985) megfigyelése is, amely szerint a maturáció során a tüszők androszténdion termelő kapacitása csökken.





2. ábra
A granulosa és a theca szteroid koncentációjának változása a tüszőérés során közvetlenül az ovulációt megelőzően (Bahr et al., 1983)

3.2.2.2. A prechierarchikus tüszők szteroid termelése

Házityúk esetében ide tartoznak a 8 mm átmérőnél kisebb tüszők. A legkisebb fehér tüszők thecája, valamint a prepubertás petefészek stromája szteroid aktivitással rendelkezik, a szintézisre a Δ^5 út jellemző (Levorse et al., 1994).
A granulosa sejtek ennél a tüszőméretnél még nem rendelkeznek P szintetizáló képességgel, annak ellenére, hogy a sejtekben 3β-hidroxiszteroid dehidrogenáz (3β-HSD) mutatható ki (Johnson, 2000a). Ez az eredmény megerősíti Robinson et al. (1986) megfigyelését, aki kis fehér tüszőkből nem tudott progeszteront kimutatni, csak ösztradiolt és androszténdiont. A 9-12 mm-es tüszők granulosái minimális, de már kimutatható P szintet tartalmaznak az aktiválódó P450scc citokrómnak köszönhetően (Tilly et al., 1991).

A 6-8 mm átmérőjű tüszők (granulosa, theca + stroma) rendelkeznek a legtöbb FSH receptor mRNS-sel (You et al., 1996). Az FSH mérsékelt, de szignifikáns szteroid termelést stimuláló hatással rendelkezik a kis tüszők theca interna sejtjeire (Kowalski et al., 1991), valamint folyamatos apoptosis ellenes védelmet biztosít ezen sejtek granulosa sejteinek *in vitro* (Johnson et al., 1996b).
Házi tyúk kis fehér tüszőinek theca interna és externa külső rétegében elhelyezkedő interstitialis sejtjei közül csak a theca externa interstitiális sejtjei rendelkeznek ösztrogén receptorokkal. Valószínű, hogy az interstitiális sejtek ösztrogén-ösztrogén receptor kölcsönhatás eredményeként érik el teljes differenciáltságukat a tüszőfejlődés során, azaz válnak fokozatosan ’aromatáz’ sej-

tekké a kis sárga tüszőkben (Yoshimura et al., 1995a). A kis fehér tüszőkben mind theca interna, mind a theca externa interstitiális sejtjei rendelkeznek 3β-hidroxiszteroid dehidrogenáz (3β-HSD), $P450_{scc}$, valamint $P450_{17\alpha}$ aktivitással, ami azt jelzi, hogy ezek a sejtek képesek progeszteron és androgén szintézisére is (Nitta et al., 1991b).

Az utóbbi időkben egyre jobban kezd elterjedni a tüszők szteroid termelésének „többsejtes" elmélete, amely arra a megfigyelésre épül, hogy a theca interna "szteroid sejtjei" képesek progesztagének és androgének szintézisére, de nem képesek az ösztrogénekére, ugyanakkor a theca externa sejtjei ösztrogének és elenyésző mennyiségű androgének szintézisére képesek (Pedernera et al., 1989, Nitta et al., 1991, Velazquez et al., 1991).

A lassú fejlődés állapotában lévő tüszők populációjából történő belépés a hierarchiába feltételhez kötött, a szelekció alapja az LH receptorok mRNS-ének már meglévő expressziója, valamint a granulosa sejtekben funkcionáló P450scc enzim készlet megjelenése. Ez utóbbi megjelenését az FSH szabályozza. Az eddig FSH függő prechierarchikus tüszők a szelekciót követően LH függővé válnak (Li et al., 1993).
Eltérő fejlődési stádiumú tüszők vizsgálata során megállapították, hogy a theca externa sejtek szteroid produkciója a tüsző maturációjának előrehaladtával csökken (Rodrígez-Maldonado et al., 1996).

3.2.2.3. A calix és az atretikus tüszők szteroid termelése

Az ovulációt követően a tüszőben granulosa és theca sejtek maradnak vissza, amelyek fokozatosan szívódnak fel, de még kb. 15 órán keresztül csökkenő progeszteron termelés mérhető a tüsző szövetében (Dick et al., 1978).

Biokémiai (koleszterol tartalmú lipidcseppek detektálása) és hisztokémiai vizsgálatok eredményei alapján, elsősorban a Δ^5-3β-hidroxiszteroid dehidrogenáz (3β-HSD) és 17β-hidroxiszteroid dehidrogenáz (17β-HSD) aktivitás kimutatása alapján többen is feltételezték, hogy a glanduláris jellegű hipertrofizált endokrin sejtek az atretikus tüszőkben szteroid szintézis szempontjából aktívak és a theca internában ösztrogént termelnek (Chieffi et al., 1965). Marshall et al. (1957) feltételezte, hogy az atretikus tüszők progesztineket szintetizálnak.
Armstrong (1985) vizsgálta atretikus tüszőkben az aromatáz citokróm aktivitását és megállapította, hogy a tüszők leépülése során szintje jelentősen csökken. Ennek alapján, valamint Yoshimura et al. (1985) eredményei alapján feltételezhető, hogy az atrézia folyamatában szerepet játszik a tüszőfal ösztrogén tartalmának csökkenése is, mivel ösztradiol kezeléssel meg tudták akadályozni a degeneratív folyamatok kialakulását házi tyúk tüszőiben.

Kísérletes úton előállított (2-szeri LH kezelés 18 óránként) atretikus tüszők (F4-F1) esetében 45 perccel a második kezelést követően mérték a tüszők progeszteron tartalmát, ahol az F1 és F3 tüszőkben csökkent a progeszteron termelés, az F2 és F4 tüszőkben nem (Wells et al., 1982).

3.2.3. A madár petefészek biológiailag aktív vegyületei

Szerepük elsősorban a tüszőfejlődés, az ovuláció és az ovipozíció szabályozásában van.

Prosztaglandinok

Elsősorban a simaizmokra fejtenek ki hatást, az E csoportba tartozó prosztaglandinok hatására elernyednek, a az F csoportba tartozók hatására összehúzódnak a sima izmok.

A madár petefészekben főleg az F_1 és a posztovulációs tüsző termeli ezeket és az ovulációt megelőző tüszőfal felrepedését eredményező folyamatokban játszik szerepet (Yoshimura et al., 1983).

Julang et al. (1995) vizsgálatai szerint házi tyúk granulosa sejtjeiben a transforming growth factor α (TGFα) által szabályozott mitotikus folyamatokhoz prosztaglandinok fokozott szintű szintézise szükséges.

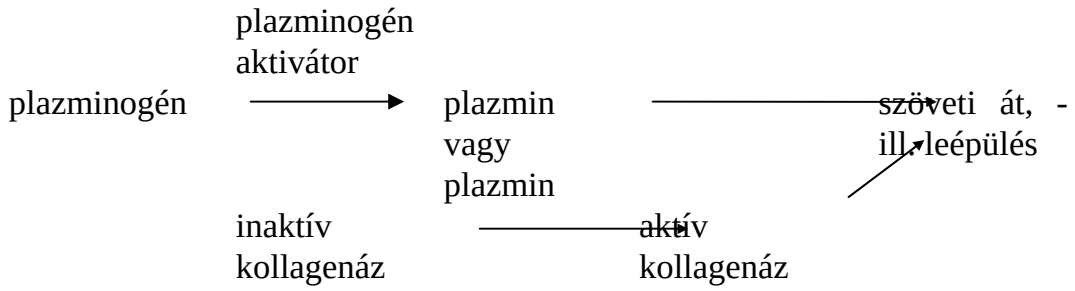
Katekolaminok

Adrenalin, noradrenalin, dopamin elsősorban a thecában fordulnak elő, legnagyobb mennyiségben az F_1 tüszőkben. Koncentrációjuk szignifikánsan megemelkedik 6 órával az ovuláció előtt, ami egybeesik az LH csúccsal, bizonyítva, hogy az ovuláció szabályozó mechanizmusában nem csak endokrin, hanem idegi folyamatok is szerepet játszanak (Bahr et al., 1986).

Plazminogén aktivátor

Fontos szerepet játszik a tüsző gyors növekedési szakaszában, amikor az intenzív szikbeépülést a tüsző szöveteinek élénk proliferációja és átépülése kíséri, valamint az ovuláció előkészítésében, amikor a stigma területén a szövetek fellazítását, leépítését végzi el. A plazminogén aktivátort a granulosa sejtek termelik, legnagyobb mennyiségben az F_1 tüszők tartalmazzák.

A plazminogén aktivátor (szerin proteáz), a plazminogént plazminná alakítja át, amely közvetlenül is részt vehet a szövetek átstruktúrálásában, vagy közvetve, az inaktív kollagenáz aktív kollagenázzá történő átalakításán keresztül (4. ábra). A pete ovulálását megelőzően a plazmin és a kollagenáz aktivitás megnövekedik a stigma területén, aminek következtében degradáció alakul ki a theca kötőszöveti rétegének extracelluláris mátrixában, a kollagén rostokban és az interfibrilláris dermatán-szulfát proteoglikánokban (Jackson et al., 1993).



4. ábra
A plazminogén aktivátor hatásmechanizmusa

Epidermal growth factor (EGF)
Házi tyúk tüszőiben a csírakorong szintetizálja az EG faktort. Kísérletesen bizonyított, hogy hatására fokozódik a granulosa sejtek proliferációja és csökken az apoptotikus sejtek száma (Hernandez et al., 2001).
Immuncitokémiailag a tüsző thecájában és granulosájában lokalizálták a hormon receptorait, amelyekhez kapcsolódva az EGF az ovuláció előtt álló F_1 tüsző LH indukálta progeszteron termelését gátolja (Pulley et al., 1986, Tilly et al., 1990).
Az EGF és a TGFα az LH indukálta progeszteron termelés gátlása mellett gátolja az LH indukálta aromatáz aktivitást is, amely a theca androszténdion szintéziséért felelős (Onagbesan et al., 1991, 1992).

Insulin-like growth factor-I (IGF-I)
Dózisfüggő módon stimulálja a theca és granulosa sejtek proliferációját, valamint potencírozza a bazális progeszteron szekréciót granulosa sejtekben *in vitro* (Peddie et al., 1993).

Inhibin
Ez az ivarszervek által termelt protein hormon negatív feed-back révén gátolja a hypophysisben az FSH termelődését. Az inhibint sikerült csirke petefészekben is kimutatni, legnagyobb mennyiségben az F_1 tüsző granulosa sejtjei termelik (Vanmontfort et al., 1992). Az inhibin α alegységének mRNS-ét preovulációs tüsző granulosa rétegében Johnson et al. (1993b) mutatta ki.
Egyes vizsgálatok szerint az inhibinnek paracrin hatást is tulajdonítanak, befolyást gyakorol a fejlődő tüszők növekedésére a petefészekben (Findlay, 1993).

Activin
Stimulálja az FSH felszabadulását a hypophysisből, közös alegységgel rendelkezik az inhibinnel, amelyet eltérő gének kódolnak (Chen et al., 1996).

Vasoactiv intestinal peptid (VIP)
VI peptidet lokalizáltak a theca interna idegvégződéseiben, amelyről feltételezik, hogy az adenil cikláz/cAMP útján fejti ki hatását a granulosa sejtekre. A preovulációs tüszőkben fokozza a progeszteron szintézist és a plazminogén

aktivátor aktivitását (Johnson et al., 1988a). Kawashima et al. (1995) VIP kötő helyet izolált házi tyúk preovulációs tüszőinek granulosa rétegében, ahol az ovuláció előtt megnövekedett a kötőhelyek affinitása.

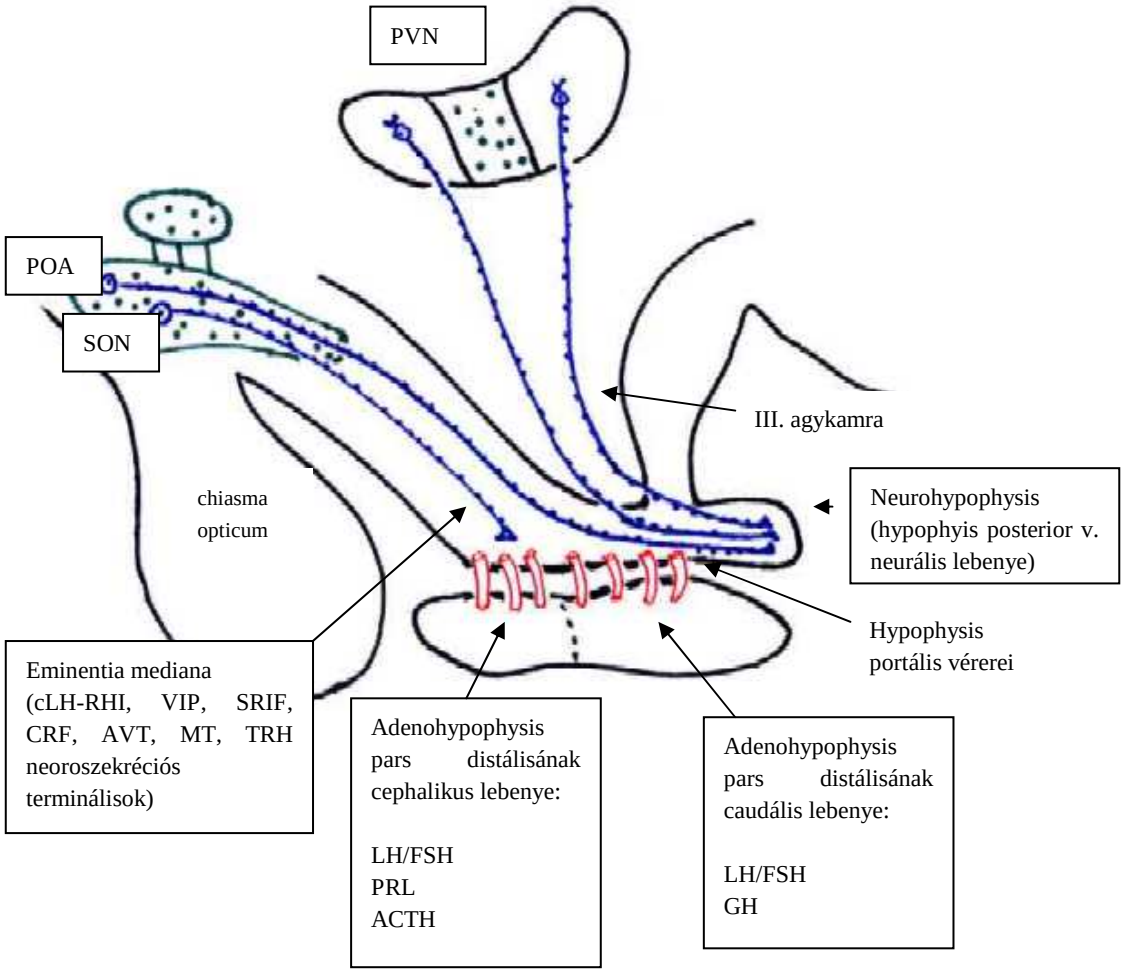
3.3. A petefészek működésének szabályozása

Az ivarszervek működésének szabályozása a központi idegrendszeren – hypothalamus → hypophysis → gonadotropinok – keresztül zajlik, amelyben az agy nem csak a működésükért felelős, hanem működésük optimális időzítéséért, összehangolásáért is. A szabályozásban kiemelt, központi szerepet tölt be a hypothalamus, mivel hídként köti össze az idegrendszert az endokrin rendszerrel (lehetővé téve az idegingerületek ”átírását” humorális válaszokká).

3.3.1. Hypothalamus-hypophysis komplexum

A hypothalamus az agyalap egy viszonylag kis területe, amelyet a harmadik agykamra jobb és bal oldali hypothalamusra oszt fel. A hypothalamus kis kiterjedése ellenére rendkívül összetett struktúrájú, szerteágazó funkciójú régiója az agynak. Ez a terület neuron csoportokat, idegrostokat egyaránt tartalmaz és olyan extrahypothalamikus axonokat, amelyek csak áthaladnak a hypothalamuson. Ez a komplex struktúra teszi lehetővé az összes extrahypothalamikus inger összegyűjtését, amelybe beletartoznak a szervezet bármely pontjáról, valamint a külvilágból érkező (fény, hőmérséklet, szag, stb.) ingerek. A hypothalamikus neuronok jelentős hányada endokrin sejt, mert működésük során nem neurotranszmitterek, hanem hormonok felszabadulásával reagálnak az idegi impulzusokra. Ezek a sejtek meghatározott területeken, nucleusokban, csoportosan fordulnak elő.

Madarakban a szaporodással kapcsolatos endokrin neuronok (magno- és parvocelluláris sejtek) elsősorban a *mediális hypothalamusban* helyezkednek el, amelyen belül elülső, középső és hátulsó részt különböztetünk meg (5. ábra).
Az elülső (preopticus-supraopticus) area területén található meg a n. suprachiasmaticus, amely különösen fontos közvetítő szerepet tölt be a hypothalamus felé a fény napszakos változásairól, mivel rostjai révén összeköttetésben áll a retinával (Péczely, 1987).



5.ábra

Madár hypothalamusának és hypophysisének sematikus ábrája
POA: preopticus area, SON: nucleus supraopticus, PVN: nucleus paraventricularis (Bons, 1980)

3.3.1.1. A luteinizáló hormon releasing hormon (LH-RH vagy Gn-RH)

Madarakban a gonadotrop hormonok felszabadítását (LH=luteinizáló hormon, FSH=folliculus stimuláló hormon) szabályzó luteinizáló hormon releasing hormon (LH-RH, vagy GnRH) két formában izolálható madarak agyában, a cGn-RH I szintéziséért felelős neuronok az elülső hypothalamusban (King et al., 1982), a cGn-RH II (Miyamoto et al., 1984) neuronok pedig a hátulsó

hypothalamusban dorsalisan lokalizálhatók. Neuronjaik szeparáltan fordulnak elő, a két rendszer nem keveredik (Millam et al., 1993, Gils et al., 1993).

3.3.1.1.1. Az LH-RH hormonok funkcionális szerepe

A fajonként változó struktúrájú GnRH (I) a hypothalamusból szabályozza a gonadotropinok felszabadulását a hypophysisből, míg az ősibb cGnRH II, amely főleg az agy extrahypothalamikus területein és valószínűleg perifériás idegrendszerben fordul elő, neurotranszmitter és neuromodulátor szerepet játszik (Millam et al., 1989).
Mindkét forma LH felszabadulást vált ki *in vivo* és *in vitro*, de a Gn-RH II hatékonyabb (4,7-szeres potenciállal rendelkezik) *in vitro*, élettani szerepe ezidáig tisztázatlan (Sharp et al., 1990). Hatása valószínűleg nem direkt hatás, mert a Gn-RH II neuronok nem rendelkeznek az eminentia mediánán végződő terminálisokkal (Katz et al., 1990, Millam et al., 1993, Mikami et al., 1988), ugyanakkor azonban a Gn-RH II szintek a szaporodási ciklus fázisainak megfelelően változnak.

3.3.1.1.2. A cLH-RH I felszabadulás szabályozása

Az eminentia mediana-ban a cGn-RH I felszabadulására különböző faktorok gyakorolnak stimuláló hatást, elsősorban a *fény*, összefüggésben a szaporodási ciklussal. A fotostimuláció küszöbértéke fajonként változik, a fotostimuláció gonád növekedést eredményez, ami bizonyos késéssel (1-2 nap) követi a gonadotrop hormon release-t. Hím japán fürjekben az LH a fotostimulációt követően már 19 óra múlva észleltek szignifikáns LH és FSH szint emelkedést a plazmában (Follett et al., 1977).
A fény három fotoreceptoron és a hozzájuk tartozó idegpályákon keresztül érheti el a hypothalamust, a szem retináján, a tobozmirigy fotoreceptor sejtjein és az úgynevezett mély, agyi fotoreceptorokon keresztül (Ariens Kappers, 1993). A tobozmirigy hormona, a melatonin különösen fontos szerepet tölt be a circannualis ciklusnak az aktuális nappalhosszal történő összehangolásában (Gwinner et al., 2000).

Fotostimulált madarakban a hypothalamikus LH-RH I területek hormon tartalma szignifikánsan magasabb a rövidnappalos madarakénál (Foster et al., 1988) és meglepő módon fényprogram hatására pulykában az LH-RH II tartalom is megemelkedik, tojó pulykákban nagyobb mennyiségben detektálható, mint kotló, vagy fotorefrakter madarakban (Rozenboim et al., 1993a).
A hypothalamus LH-RH tartalma a szaporodási fázisokkal összefüggésben változik. Maturáció idején a petefészek fokozódó szteroid szintetizáló aktivitásának következtében módosul a hypothalamus-hypophysis komplexum szekréciós aktivitása és érzékenysége is.

Amíg a fény stimulálja a Gn-RH szekréciót, addig a *szexuál szteroidok* magas plazma szintje csökkenti az LH szintjét, nőivarban az ösztrogén és a progeszteron, hímivarban a tesztoszteron képes módosítani a GnRH hatását az LH felszabadulásra (Davies, 1976). Ezt igazolja az a megfigyelés, gonadektomizált madarakban nagymértékben megnő a keringő LH és FSH szintje (Wilson et al., 1976 a). Nőivarú madarakban az ösztrogén negatív feed-back hatású, a progeszteron mindkét hatással rendelkezik, gátol és stimulál (ovulációs ciklus) is egyben (Wilson et al., 1976 b).
Úgy tűnik, hogy a szexuál szteroidok negatív feedback hatása az LH felszabadulásra, a hypothalamus szintjén érvényesül (Stetson, 1972), mert a részletesebb vizsgálatok szerint a gonadális szteroidok hypophysis szinten inkább stimulálólag hatnak az LH felszabadulásra; a tesztoszteron felerősíti a bazális LH szekréciót, az ösztrogén pedig a GnRH indukált LH felszabadulást fokozza (Knapp et al., 1987).
A gonadotropin felszabadulás szabályozásában jelentős szerepet játszanak a neurotranszmitterek is hypothalamus és eminentia mediana szinten. A GnRH neuronok nem rendelkeznek az összes aktív hatóanyag receptoraival, amelyek így feltételezhetően hatásukat a GnRH felszabadulására és a gén expresszióra indirekt módon, interneuronális kapcsolatokon keresztül fejtik ki (Gore et al., 1997). A *neurotranszmitterek* stimuláló (adrenalin, nor-adrenalin) és gátló hatással (dopamin, β endorfin, szerotonin) rendelkezhetnek.
Intraventriculárisan alkalmazott szerotonin és β-endorphin hatását vizsgálta Sakurai et al. (1986) házi tyúkon. Az eredmények szerint mindkét vegyület gátló hatással rendelkezik az LH felszabadulásra.

3.3.2. Hypophysis

A hypothalamus véráram útján ”kommunikál” a hypophysissel, az eminentia mediana területén történik a neurális üzenet ‘átírása’ humorális üzenetté, ugyanis itt végződnek és lépnek kapcsolatba a portális vérkeringéssel a hypothalamikus parvocelluláris endokrin neuronok axonjai. A portális vénák az adenohypophysisben végződnek, így biztosított az, hogy a hypothalamusban rendkívül kis mennyiségben képződő neurohormonok a szisztémás vérkeringés kiktatásával, tehát felhígulás nélkül juthassanak el a célsejtekhez.

3.3.2.1. Folliculus-stimuláló hormon (FSH)

Az elülső lebeny béta sejtjeinek terméke, nőivarú egyedekben stimulálja a petefészekben a kis fehér és kis sárga tüszők fejlődését, a granulosa sejtek progeszteron termelését a középnagy sárga tüszőkben (Calvo et al., 1983), valamint kis fehér tüszők theca sejteiben (6-8, 9-12 mm) a progeszteron, androszténdion és ösztrogén szekrécióját (Kowalski et al., 1991). FSH hatására fejeződik be a granulosa sejtek „érése” a kis sárga tüszőkben, amelynek eredményeként LH indukálta progeszteron termelésre lesznek képesek, ugya-

nis FSH hatásra indul meg a P450 citokróm enzim mRNS-ének szintézise (Li et al., 1993).
A gonadotrop hormonok keletkezése madarakban a legújabb kutatási eredmények alapján a hypophysisnek nem ugyanazon típusú sejteiben történik (Proudman et al., 1999), ennek alapján feltételezik, hogy madarakban szabályozásuk is eltérő az emlősökétől. Felépítésükben is nagy hasonlóságot mutatnak, mindkét hormon glükoprotein, amelyek két alegységből állnak, az α-alegység a receptor felismerő rész, míg a β-alegység a specifikus gonadotrop aktivitásért felel.

3.3.2.1.1. Az FSH szabályozása (inhibin, activin, follistatin)

A GnRH-tól független bazális szekréció szabályozásának vizsgálata az FSH-t szabályzó fehérjékre (inhibin, activin, follistatin) terelte a figyelmet. Ezek a gonád eredetű polipeptidek a TGF-β szupercsalád tagjainak közeli rokonai, több formában fordulnak elő alegységeik variációinak köszönhetően (Carroll et al., 1989).
Az inhibinnek két változata van annak megfelelően, hogy az α alegységhez melyik β alegység kapcsolódik (Inhibin A: α βA, Inhibin B: α βB). Az inhibin szelektíven gátolja az FSH β alegységének mRNS szintézisét, gátolja a GnRH-tól független FSH szekréciót, valamint csökkenti a keringő FSH mennyiségét, valamint paracrin módon szabályozza a tüszők FSH érzékenységét (Johnson, 1993a).
Madarakban a preovulációs tüszők granulosa sejtjei szintetizálják (Tsonis et al., 1988). Szintjük magasabb azokban a granulosa sejtekben, amelyek ritkábban ovuláló tyúkok tüszőiből származnak (Wang et al., 1993). Kimutatták, hogy mRNS-ének expresszálódását az LH alacsony szintje stimulálja (Findlay, 1993).
Az activin három formában létezik, változatait az inhibin β alegységeiből felépülő dimérek adják (Activin A: βAβA, Activin B: βBβB, Activin AB: βAβB). Az activin bármely formája növeli az FSH β alegységének mRNS szintézisét és az intracelluláris FSH szintet és fokozza a GnRH-tól független FSH szekréciót.
A follistatin egy glikoprotein, amely a különböző glükozilációk következményeként rendkívül változatos formákban fordulhat elő. Nagy affinitással kötődik az activinhez, aminek következtében gátolttá válik az FSH szintézis és szekréció. Az FSH szekrécióval foglalkozó vizsgálatok azt mutatják, hogy a follistatin játssza a legfontosabb szabályozó szerepet az FSH bazális szekréciójában (Kirk et al., 1994).
A gonadotropinok szabályozását bonyolítja, hogy ezeket a szabályozó fehérjéket extragonadálisan is kimutatták, beleértve a hypophysist is, méghozzá a gonadotrop sejteken belül (Shimasaki et al., 1989). Feltételezik, hogy ezekben az endokrin sejtekben egy ultra-rövid feedback mechanizmus is szabályozza a a gonadotrop hormonok felszabadulását.

Az inhibin, activin, follistatin renszer szerepéről még nem sokat tudnak, valószínű, hogy a hierarchikus fejlődésbe belépő tüszők számát szabályozzák az FSH szint szabályozásán keresztül.

3.3.2.2. Luteinizáló hormon (LH)

A luteinizáló hormon a hatásáról kapta a nevét - emlősökben, az ovuláció kiváltását követően elősegíti a preovulációs tüsző átalakulását sárgatestté (corpus luteum).
Madarakban kulcs szerepet játszik az ovuláció kiváltásában. További hatása, hogy stimulálja a tüszők szteroidogenezisét, csökkenti a plazminogén aktivátor aktivitását a granulosa sejtekben. (Kowalski et al., 1991).
A korai tüszőfejlődés során a granulosa sejteken az FSH és az ösztrogén együttes hatására alakulnak ki az LH receptorok és válik a granulosa LH-ra szenzitívvé, ami a későbbiek folyamán a preovulációs és F_1 tüszők intenzív progeszteron termelését eredményezi.
A szaporodásban betöltött szerepének megfelelően az LH szint lassan, de fokozatosan növekszik infantilis madarakban és viszonylag magas szintet ér el a prematuráció időszaka alatt; csirkékben 11-13. hét között, kacsákban 17-19. hét között, majd a tojásrakást megelőző 1.-2. hét között ez a szint nagymértékben lecsökken (Johnson et al., 1984, Wilson et al., 1982).
A tojásrakás időszakában jelentős preovulációs LH csúcsok alakulnak ki a progeszteron csúcsokat követően (Etches et al., 1976).
Az LH szint lecsökken a szaporodási ciklus végén a költő madarakban, amit egyidejű magas prolaktin szint kísér (Burke et al., 1980, Sharp et al., 1988). A költést követő fotorefrakteritás időszakát szintén alacsony LH szint jellemzi (John et al., 1983).

3.3.2.3. Prolaktin (PRL)

A PRL rendkívül széles hatásspektrumú, multipotens hormon, amely a cephalikus lebeny béta sejtjeiben szintetizálódik. Galambfélékben hatása lokális, a begytej termelődéséért felelős (Clarke et al., 1980).
Szerepe elsősorban a szaporodási ciklust lezáró időszakban, a költés idején kiemelkedő (fészekrakás, költés, fészek védelem, kotlás, utódgondozás). A vonulás időszakában a magas prolaktin szint adaptív funkciót tölt be azáltal, hogy csökkenti a kiválasztást és stimulálja a víz- és takarmányfelvételt. Madarakban a prolaktin felszabadulását túlnyomórészt (más hormonokkal és neurotranszmitterekkel) a bazális hypothalamus neuronjaiban lokalizálható vasointestinális peptid (VIP) szabályozza direkt módon, a hypophysisre hatva (MacNamee et al., 1986, Proudman, 1988).

A PRL centrálisan, a hypothalamuson (a GnRH-I és II neuronokon) keresztül gátolja a gonadotrop hormonok felszabadulását, fejti ki inhibitor hatását az LH szekrécióra (Rozenboim et al., 1993b).
Plazma szintje összefüggést mutat a nappalhossz alakulásával, valamint a fotorefrakteritással is. A tiroxin adagolásával a PRL szekréció fokozódása, valamint fotorefrakteritás váltható ki, a két hormon hatása komplementer (Goldsmith et al., 1984a).

3.4. Madarak szexuális maturációja

A madarakban, az emlősökhöz hasonlóan, az ivarérés a hypothalamus-hypophysis-gonád tengely aktivitásának fokozódását követően a szervezetnek a szaporodásra történő felkészülését jelenti, az ivarérést az első párzás jelzi.

3.4.1. A gonádműködés hypothalamo-hypophyseális szabályozása

GnRH

Csak *Parus major*-ra vonatkozó adatokat ismerünk, amelyek alapján a frissen kelt fiókákban alacsony, de mérhető GnRH szint volt detektálható a hypothalamusban. Az 1. és 3. napon mért magas LH értékek arra utalnak, hogy a hypothalamus-hypophysis tengely már keléskor funkcionál. A fejlődés során a GnRH tartalom szignifikáns növekedést mutatott a 6. és 9. nap között, ami egybeesett hímekben az első Leydig-féle interstitiális sejtek megjelenésével. A GnRH tartalom ezután nem mutatott változást a cinkék 6 hónapos életkoráig, novemberig (Silverin et al., 1996).

FSH

Vanmontfort et al. (1995) vizsgálta különböző hormonok plazma szintjének változását keléstől ivarérésig házi tyúkban.
Az FSH és az inhibin plazma szintjei a pubertásig pozitív korrelációt mutatva egyformán alacsonyak voltak, majd a pubertás beindulásával negatív korreláció alakult ki a két hormon között, az FSH szintje növekedni kezdett. A 18. héttől az FSH szintjének csökkenését az inhibin növekedése kísérte. A két hormon trendváltásának időpontja pontosan jelzi az ivari maturáció kezdetét.
Hasonló eredményeket kapott Lovell et al. (2001), aki 7. és 13. hét között alacsony inhibin szinteket mért házityúkban, amely a 19. héten, a tojásrakás beindulásakor kiemelkedően magas csúcsot adott. Ettől az időponttól szintje lecsökkent. Az inhibin negatív korrelációt mutatott az FSH-val és pozitív korrelációt mutatott a progeszteronnal. A 13-18. hetet megelőző alacsony FSH szint, majd az azt követő növekedés szoros összefüggést mutat a petefészek tömegének növekedésével és a fejlődő tüszők hierarchiába rendeződésével.

Japán fürjeken végzett kísérlet szerint a pubertás kezdeti fázisában a felszabaduló FSH mennyiségét a fénytartam direkt módon szabályozza, a fotoperiódus növelésével növekszik az FSH mennyisége is (Follett, 1991).

LH

A késői infantilis korban pulyka tojókban és csirkékben az LH szintje alacsony, amely a prepubertás időszaka alatt növekedni kezd a tesztoszteron szinttel együtt. Egészen a pubertást megelőző időszakig szintje viszonylag magas, közvetlenül a pubertás előtt szintje lecsökken. Pulykákban ez a csökkenés életkorfüggő, független az alkalmazott fénystimulációk időtartamától (Yang et al., 1999).
Házityúk esetében Sharp (1975), vizsgálta mindkét ivar LH szintjének alakulását a keléstől az ivarérésig. A kelést követő első héten gyors LH szint növekedés volt tapasztalható (maximum: 4,6 ± 0,6 ng/ml), majd ezt követően 1-2 hét alatt az LH szint lecsökkent 2,5-3 ng/ml szintre. Fokozatos növekedés 16-19 hetes kor körül kezd mutatkozni és ellentétben a kakasokkal, jércékben 3 hetes növekedés után az LH szint lecsökken a prepubertásban mért szintre. Az első tojásokat 22-25 hetes korban rakták le a jércék, amikor az LH szint 1,8 ± 0,3 ng/ml volt, ami alacsonyabb, mint a prepubertásban mért szint (2,7 ± 0,3 ng/ml).
Hasonló eredményt kapott Vanmontfort et al. (1995) is, az LH szintje jércékben a kelés utáni első héten folyamatosan növekedett, majd fluktuálni kezdett, a 6. és 14. héten szintje alacsony, a 10. és 18. héten magas volt.
Wilson et al. (1984) szintén maximális LH szintet mért házityúkban a prepubertás időszakában , a 17. héten.
A kelés utáni magas LH szint lehet az alacsony gonadális szteroid szint következtében kialakult enyhébb negatív feedback eredménye, de valószínűbb, hogy a szexuál szteroidok gátló hatása nem érvényesül teljes mértékben ebben az életkorban. Ezt a feltevést támasztja alá a nőivarban (összehasonlítva a hímivarú egyedekkel), a fejlődés összes fázisában mért alacsonyabb LH érték, amely a magasabb ösztrogén szint következménye.
A tojásrakás előtti LH szint csökkenését támasztotta alá több más vizsgálat is. Természetes fényviszonyok között, a 15. hét körül, a tojásrakás beindulása előtt 4-8 héttel egy LH csúcs alakul ki, amit az LH szint csökkenése követ. Az alacsony LH szint a fejlődő tüszők által termelt ovariális szteroidok, elsősorban a megemelkedő ösztrogén szint következménye, amely csökkenti a hypophysis szenzitivitását a GnRH-ra (Wilson et al., 1975a, Sharp, 1975, Williams et al., 1977).
A legkorábbi időpont, amikor a jérce szignifikáns LH szint növekedéssel válaszol a hosszúnappalos megvilágításra a 42 napos kor, de kb. 63 napos korban éri el fotoszenzitivitásának csúcsát és a legkorábbi időpont a kb. 200 napos kor, amikor spontán módon, fényprogramtól függetlenül beindul a tojástermelés (Lewis et al., 1994).

Ellentétben az emlősökre vonatkozó gazdag szakirodalommal, madarakban csak tojó pulykákban tanulmányozták részletesen az LH felszabadulás pulzatív mintázatát a szaporodási ciklust megelőző időszakban, majd a fotostimulációt követő maturálódás időszakában (Chapman et al., 1994). Fotoszenzitív madarakban (6L:18D) az LH szekrécióra alacsony alapérték és jól definiálható LH csúcsok jellemzőek. Az LH pulzációja alacsony frekvenciájú, magas amplitúdójú. A fotostimuláció (14L:10D) harmadik napján, amikor már érő folliculusok találhatók a petefészken, az ovariális szteroidok hatására megemelkedik az LH szint alapértéke és sok, gyors, rövid ideig tartó, alacsony amplitúdójú LH csúcs alakul ki. Az LH pulzálás mintázatának megváltozása maga után vonja a plazma triglicerid és ösztrogén szintjének megemelkedését (Bacon et al., 1980). A fotostimulált tojókban a sötét napszakban LH alapértéke meghaladja a nappal mért megemelkedett alapértéket is. A pubertás időszakára tehát pulzációt alig mutató, megemelkedett LH szint jellemző pulykákban (Bacon, 2001). Az LH szekréció pulzálásában az ovuláció közeledte okoz újabb változást. A fotostimuláció 25.-26. napján, magas, a megemelkedett LH alapértéket meghaladó, elnyújtott LH csúcsok alakulnak ki.
A házityúk egyedfejlődése során az LH felszabadulás napi ritmusa alapvetően nem változik, mindig a sötét fázis elejére esik (Wilson et al., 1984).

3.4.2. A petefészek endokrin működése a maturáció idején

Az *ösztrogének* a kelést követő első hetekben alacsony, 25-40 pg/ml koncentrációban vannak jelen csirkében, később, 10-16 hetes korban lassú emelkedés mutatkozik 50-100 pg/ml-es koncentrációval (Senior, 1974).
A juvenilis kor madarakban is kritikus jelentőségű az ivarspecifikus magatartásformák kialakulása szempontjából. Ebben az időszakban sajátítják el a hímek tanulás révén idősebb fajtársaiktól az énekmintázatokat, ekkor történik meg a szexuális imprinting is, amely a felnőttkori párválasztást és párzási magatartást határozza meg. Ezek a folyamatok szexuál szteroid függőek és dimorfizmust mutatnak (Adkins-Regan et al., 1990).
A fotostimuláció 2. hetében megkezdődik a másodlagos ivari jelleg kifejlődése, a májban megindul a szik prekurzor anyagainak szintézise, a medulláris állomány kialakulása. Ezzel egyidőben megemelkedik a plazma kálcium koncentrációja és megindul a petevezető differenciálódása.
Az első preovulációs tüsző megjelenésével az ösztradiol szint lecsökken, ami lehetővé teszi a hypothalamo-hypophysis komplexum részére, hogy visszanyerje reakciókészségét; azaz a progeszteron csúcsra preovulációs LH csúcscsal válaszoljon (Knight et al., 1985). Házi tyúkban Sechman et al. (2000) 6 nappal az első tojás lerakása előtt észlelt erőteljes E2 szint csökkenést, amely 6 nappal az első tojás után 116,9±18,2 pg/ml értéket érte el a csúcs 219,4 ±17,9 pg/ml-ről.
A plazma *progeszteron* szintje a keléstől a 18. hetes korig szűk határok között mozog (120-250 pg/ml). Ezt követően a P szint folyamatosan növekszik és

maximumát a tojásrakás beindulásával egyidejűleg éri el. Házi tyúkban a P szintje az első tojás lerakását megelőző 12 nappal kezd el emelkedni, és 3 nappal az első ovuláció előtt szintje csúcsértéket mutat (1,6±0,12 ng/ml) majd koncentrációja a plazmában alig változik (Sechman et al., 2000). A 18. héttől a 22. hétig a P szint emelkedése és a petefészek tömeggyarapodása pozitív korrelációt mutatkozik (Tanabe et al., 1979, 1981).
A plazma *tesztoszteron* szintje a prepubertás első fázisában magasabb, mint az ösztrogének koncentrációja. Házi tyúkban a maturáció során 4 héttel az első tojás lerakása előtt a tesztoszteron szint 26,9±6,79 pg/ml értékről 133,3±20,9 pg/ml értékre emelkedik meg és 2 héten keresztül, nagyjából ezt a szintet tartva jóval meghaladja az ösztrogén szintjét (Sechman et al., 2000). Az első ovuláció előtti 18. naptól szintje folyamatosan csökken a 9. napig (46,1±4,88 pg/ml), ahonnan egy újabb növekedés mutatkozik az ovuláció napjáig (118,8±21,13 pg/ml). Ettől kissé eltérő időpontban, 1 héttel a tojásrakás kezdete előtt talált magas T szintet Muray et al. (1980) házityúk maturációja során, amely aztán fokozatosan csökkent a tojásrakás kezdetéig.
Az E2/T hányados az első tojás lerakását megelőző 2 hétben volt a legmagasabb, csúcsértéket adva a 6. napon 4,8±0,87 értékkel (Sechman et al., 2000).

3.4.2.1. Az ivarérést befolyásoló egyéb tényezők

A korai, prepubertás idején alkalmazott fotostimulációt követő LH szint növekedés, amit csak több hetes eltolódással követ az ivarérés beindulása az ivarszervi és/vagy *szomatikus küszöbérték* jelentőségére hívja fel a figyelmet, amelynek hiányában csak az LH szint növekedése önmagában nem képes beindítani a maturációt. Az elméletet Dunn és munkatársai (1990) is alátámasztják, akik megfigyelték, hogy a test zsírtartalmának megnövekedése, illetve a keringő lipidek mennyiségének megnövekedése fokozta a szervezet fotostimuláció által kiváltott neuroendokrin reakciókészségét.
Madarak esetében a *neuropeptid Y* –ról (NPY) feltételezik, hogy ez a polipeptid fontos szerepet játszik a pubertás beindításában. Korai ivarérésű csirkékben a hypothalamus nucleus paraventricularisában (PVN), hasonlóan az eminentia medianahoz szignifikánsan magasabb NPY szintet találtak, mint a normál ivarérésű egyedekben, amely arra utal, hogy a PVN a pubertást közvetlenül megelőző időszakban rendkívül aktív idegi struktúra, amely szerepet játszik a GnRH rendszer maturációjában (Fraley et al., 1993).
Az ivarérés, tehát az első költés időpontja függ a madár *fajától* is. A madarak túlnyomó többsége kb. 12 hónapos korban, a kelés időpontját követő tavaszon éri el ivarérettségét és csak néhány faj (néhány fürj, galamb, papagáj faj) képes arra, hogy még a kelés évében költsön. Egyes fajokhoz tartozó egyedek 2-3 éves korukban válnak ivaréretté, vagy még később, 9-17 éves korukban, mint pl. a nagy albatrosz, vagy a kondor keselyű (Follett, 1991).

Szezonálisan költő madarak esetében, mérsékelt éghajlati viszonyok között az ivarérés időzítésében elsősorban a *fotoperiódus* dominál.
Fontos faktor a test mérete és a tollazat állapota, de önmagukban nem elegendők az ivaréréshez (McNaughton et al., 1992).
Az ivarérés kiváltásában egyes fajok esetében *ökológiai és szociális tényezők* is szerepet játszhatnak, amiről Coulson és munkatársai (1982) számoltak be a *Larus argentatus* esetében, amikor a költőhelyi populáció megritkulása az átlagos 6,2 éves ivarérési időt 4,3 évre csökkentette.
Meghatározó jelentőségű az ivarérésre a *kelés időpontjában uralkodó nappalhossz*, amely a fiókára hat a növekedés időszakában. Az évente egyszer költő madárfajok csak a kelést követő évben válnak ivaréretté, a stimuláló hosszúnappalos fotoperiódus ellenére is inaktívak maradnak szaporodásbiológiai szempontból, holott felnőttkori kifejlett testtömegüket hetek alatt elérik. Kísérletek azt bizonyítják, hogy a jelenség összefüggésben van a kelés időpontjában uralkodó fényviszonyokkal. Az ivarérés időzítésében a fotorefrakteritás játszik szerepet, a hosszúnappalos megvilágítás ugyanúgy képes fotorefrakteritást -juvenilis fotorefrakteritást - kiváltani a fiókákban, mint a költő madarakban, amelynek célja, hogy megakadályozza a sikertelen költés lehetőségét.
A juvenilis fotorefrakteritás nagyon hasonló a felnőttkori, a reprodukciós fázist lezáró fotorefrakteritáshoz: a gonádok mérete rendkívül kicsi, a plazma és a hypophysis gonadotrop szintje, valamint a hypothalamus GnRH tartalma alacsony. A juvenilis fotorefrakteritás is hasonlóképpen megszüntethető fénymegvonással, amire bizonyíték az a kísérlet, amelyben rövidnappalos megvilágítást követően ivarérés indult be tavaszi kelésű foglyoknál (Creighton, 1988, Dawson et al., 1992).
A két fotorefrakteritás azonos jellegére utal a pajzsmirigy kulcsszerepe mindkét esetben. Ezt jól igazolta az a kísérlet, amelyben a 7 napos korban tiroidektomizált hosszúnappalos kelésű seregélyeknél 6 héttel később az ivarérés jelei mutatkoztak (Dawson et al., 1987).

3.4.3. A petevezető maturációja, fejlődésének hormonális háttere

A petevezető fejlődése szteroid hormonfüggő folyamatok sorozatából áll, ezért a morfológiai és szteroid szintek közötti összefüggést a célsejtekben bekövetkező receptor expresszálódáson keresztül mutatjuk be. A petevezető maturációja két egymást követő fázisra osztható, egy lassú proliferációs és egy gyors differenciálódási szakaszra. Japán fürjben a petevezető a fejlődés beindulásától számított 20 napon belül alkalmassá válik a tojásrakásra (Pageaux et al., 1984).
A petevezető tömeggyarapodását Gilbert (1971) vizsgálta házi tyúkban, összefüggésben a petefészek tömeggyarapodásával. A szteroidogenezis beindulásával (16 hetes életkornál) az addig megközelítőleg azonos ütemű tömeggyarapodást mutató petefészek és petevezető (0,3 g és 0,2 g) fejlődési üteme kettéválik, a petevezető tömeggyarapodása felgyorsul és a 18. héten a 0,9 g-os

petefészekhez már 3,4 g-os petevezető tömeg tartozik. A 20. héten, a tüszők maturálódásakor még mindig a petevezető tömeggyarapodása intenzívebb (1,7 g-os petefészek, 12,1 g-os petevezető), a két szerv tömege a tojásrakás kezdetekor lesz azonos (petefészek 37,7 g, petevezető 36,6 g).
Hasonló tendenciát figyelt meg Thapliyal et al. (1991) *Ploceus philippins*-ben, a prepubertás időszakában, amikor egy rövid, átmeneti időre a petevezető tömeggyarapodása megelőzi a petefészek tömeggyarapodását, majd a két szerv tömeggyarapodásának üteme megváltozik, a petefészek tömeggyarapodása gyorsabb lesz a vitellogenezis időszakában.
Házi tyúkban a tojásrakás kezdetét megelőzően, 8 hét alatt zajlik le a petevezető fejlődése 0,5 g-ról 45-60 g tömegűre, a legintenzívebb sejtgyarapodást a magnumban lehetett észlelni (Yu et al., 1974). Hasonlóan nagymértékű petevezető gyarapodást észleltek kacsánál, a magnum szakasza 280%-os növekedést mutatott a maturáció során (Sharma et al., 1989).
A petevezető fejlődése madarakban is a petefészek ösztrogén (E) termelésének hatására indul be. Az E hatása rendkívül gyors, az E kezelést követő 24 órán belül megindul a nyálkahártya hámja felől a mirigyhám sejtek proliferációja a stromába. További 1-4 napos E hatásra felgyorsul a differenciálódás, a mirigyhám sejtekben fokozott mitotikus aktivitás észlelhető, a mirigy végkamrák egyre mélyebben nyomulnak be a stromába, az epithel sejteken beindul a ciliogenezis, felismerhetőkké válnak a kehelysejtek. A mirigyhámsejtekben már 2-3 napos folyamatos E kezelés után megjelennek a lizozim és ovalbumin szemcsék, de a petevezető teljes fejlettségét kb. 10 napos E hatásra éri el (Oka et al., 1969).
Az ösztrogén emellett előkészíti a célszöveteket a progeszteron számára azáltal, hogy progeszteron receptorok (nukleáris proteinek) szintézisét indukálja a sejtekben. Megjelennek a progeszteron receptorokat tartalmazó mesenchymális sejtek és elárasztják a nyálkahártya subepitheliális rétegeit. A mesenchyma-hámsejt interakció a hámsejtek differenciálódását eredményezi (Tuohimaa et al., 1989). Szövettanilag ez azt jelenti, hogy a felszínt alkotó struktúrák (luminális hámsejtek) a stromába nyomulnak, invaginációk jönnek létre, aminek következtében az ösztrogén receptorok a felszín alatt, a mélyebben fekvő mirigyhám sejtekben is megjelennek.
A petevezető fejlődésének kezdeti szakaszában főként az alapstruktúrák fejlődnek, a kötőszöveti elemek gyarapodnak, a vaszkularizáció fokozódik. Ennek megfelelően az inaktív petevezetőnek szinte minden sejtje (hámsejtek, mesotheliális sejtek, stromális sejtek, simaizom sejtek) tartalmaz ösztrogén receptorokat, ugyanakkor az aktív petevezetőben már csak a mirigyhámban figyelhető meg ösztrogén receptor expresszálódás, ahol a tojásfehérjék – lizozim, conalbumin, ovomucoid és az ovalbumin – szintézise történik (Joensuu et al., 1989).
A mirigyhámsejtek proliferációjának kezdete a plazma progeszteronszint csökkenésével esik egybe és maximális intenzitást mutat további csökkenését követően, egyidejű ösztrogén szint növekedést mellett.

Hasonlóan az ösztrogén receptorokhoz, az inaktív petevezetőben is kimutathatók progeszteron receptorok a hámsejtekben és egyes mesotheliális sejtben (peritoneális hám). Ennek alapján a hámsejteken belül két szubpopuláció különíthető el, a *konstitutív* expresszálódást mutató populáció epithel sejtjei inaktív állapotban is, ösztrogén hiányában is tartalmazzák a progeszteron receptorokat, míg az *induktív* expresszálódást mutató epithel sejtekben csak a maturáció során detektálható progeszteron receptor. Feltételezik, hogy az előbbiek leszármazottai a mirigyhám sejtek populációja, míg az utóbbiaké a csillós és kehely sejtek (Pageaux et al., 1989).
A progeszteron receptorok nem csak a szekréciós sejtekben detektálhatók, hanem a mesotheliumban, a simaizom sejtekben, valamint a stromális sejtekben, amelyekben a legintenzívebb festést adták a receptorok (Gasc et al., 1984). Ezt erősítették meg mások is, akik a tyukoknál a tojásrakás kezdete előtt 4 héttel a stromális sejtek progeszteron receptor expresszióját figyelték meg a nyálkahártya redőkben, illetve a nyálkahártyában. Ezt követte a mirigyek kialakulása, a jelentős petevezető gyarapodás. A vizsgálatok szerint a stromális sejtek progeszteron receptor expressziója feltétele az epithelium differenciálódásának (Joensuu, 1990). A luminális sejtekben progeszteron hatására ciliogenezis indult be. (Pageaux et al., 1986). A maturálódott petevezetőben (18 hetes korban) az összes stromális sejt progeszteron receptort tartalmazott (induktív progeszteron receptorok), amely arra enged következtetni, hogy az ösztrogén és progeszteron direkt hatását a stromális sejtek közvetítik a propria mirigyek kialakulásakor, a petevezető növekedésekor (Ylikomi et al., 1988).
A progeszteron növekvő plazmaszintjét szekréciós granulumok akkumulálódása kíséri az epithelium és a mirigyhám sejtjeiben.
A progeszteron a hámsejtek mitózisát gátolja, a sejtproliferáció növekvő progeszteron szint hatására fejeződik be, amellyel egyidejűleg megindul a tojásfehérjék (avidin) szintézise (Pageaux et al., 1984).

A petefészek által szintetizált <u>androgének</u> önmagukban nem rendelkeznek semmiféle hatással a petevezető morfológiájára, de az ösztrogénnel szinergizmusban aktívan közrejátszanak a petevezető fejlődésében, elsősorban a stroma sejtjeinek differenciálódására, szöveti szerveződésére hatnak. Receptoraik kimutathatók a stromális sejtekben, a vererek endotheliumában, simaizom sejtjeiben, valamint a fejlődés késői fázisában a mirigyhámsejtekben is (Joensuu et al., 1992).

A szaporodási ciklus végén, illetve idős tojó madaraknál a degradálódó petevezetőben (magnumban) erőteljesen lecsökken a sejtmagokban az ösztrogén receptorok száma, valamint a progeszteron receptorok száma a cytosolban, a petevezető ösztrogén refrakter állapotba kerül (Okulicz et al., 1985).
Szövettanilag a szteroid szint csökkenését követő leépülés első jele az epitheliális sejtek magasságának és méretének csökkenése, a propria mirigyek eltűnése. A szöveti regresszió a sejthalál két típusa révén valósul meg, a sejtek

eliminálása apoptosis és autolízis révén történik. A leépülés korai stádiumában az apoptosis a meghatározó, míg később a lizoszómális eredetű savanyú foszfatáz révén az autolízis veszi át a főszerepet a szövet törmelékek eltakarításában, aminek végeredményeként a degradálódó petevezető szövettanilag alig fog különbözni az inaktív petevezető mikroszkópos képétől (Eroschenko et al., 1974).

3.5. Az ovulációs ciklus endokrin háttere

Házityúkban az ovulációs ciklus klasszikus értelmezésben ovipozícótól ovipozícióig terjed. Tágabb értelmezésben, valójában egy tüsző hierarchiába történő belépése, sárga, majd F_1-es tüszővé történő fejlődése, illetve ovulációja tekinthető egy ovulációs ciklusnak, ami 7-10 nappal hosszabb időtartamot jelent a klasszikus ovulációs ciklusnál. Ennek alapján egyértelmű, hogy baromfiak esetében több, egymást átfedő ovulációs ciklus létezik egyidejűleg, amelyben eltérő fejlődési stádiumban lévő tüszők vesznek részt.
Gyakorlati szempontból az ovulációs ciklus házityúkban a tojásrakási sorozattal jellemezhető. A sorozat azoknak az egymást követő napoknak a számát tartalmazza, amelyeken tojásrakás történik. A sorozatot tojásrakás nélküli szünnap előzi meg és zárja le.
Madaraknál a sorozatok hossza fajra jellemző, ezért rendkívül változatos lehet, 1-2 tojástól akár 200 darabig is terjedhet. Vadmadaraknál a sorozattal nagyon gyakran a tojásrakási ciklus be is fejeződik, ugyanakkor a tojástermelésre szelektált intenzív tojóvonalak frissen termelésbe lendült, kb. 20 hetes tojói rendkívül hosszú sorozatokat képesek lerakni.
A tojótyúkoknál általánosan alkalmazott fényprogramok esetében (14 L:10 D) a sorozat első ovipozíciója a kora reggeli órákra esik. A sorozat következő tojásai a rákövetkező napon egyre későbbi időpontban kerülnek lerakásra (időpontja naponta 1-1,5 órával tolódik el az előző tojáshoz képest, mert a tojásrakást 15-45 perccel később követi az ovuláció), mindaddig, amíg a tojásrakás időpontja nem csúszik át a délutánba, ekkor szünnap követi a sorozatot.
A sorozatot befejező pihenőnap alatt regenerálódik a mechanizmus, így a következő sorozat első ovulációja ismét a fajra jellemző napszakra, a nyitott, ‘open’ periodusra esik, ami házityúk esetében a nappali időszak első fele.
A tojásrakás csak fényprogramok alkalmazása esetén alkot sorozatokat, folyamatos megvilágítás esetén a tojásrakás random módon, a nap bármely szakában történhet 24-26 órás intervallumokkal. Az ovuláció időzítésében nem csak a sötét-világos fázisok váltakozása játszhat szerepet, hanem más környezeti tényezők is, pl. hőmérséklet, etetési idő (Cunningham et al., 1984).

3.5.1. Az ovuláció

Az ovulációs események hormonális háttere még nem teljesen ismert, mert a gonadotropinok és a szexuál szteroidok közti feed-back mechanizmusok kiér-

tékelését nagyon megnehezíti a különböző méretű tüszők egyidejű jelenléte, aminek következtében a két egymást követő ovuláció között mért szteroid plazma koncentráció az összes tüsző szteroid produkcióját reprezentálja.
A nehézségek ellenére is egyértelművé vált, hogy az ovulációs mechanizmus motorja a szexuál szteroidok trigger hatására lökésszerűen fokozódó LH szekréció. A szexuál szteroidok közül elsősorban a progeszteron rendelkezik a GnRH release-re stimuláló hatással. Az LH preovulációs csúcsértéke, amely az alapszint 2-3-szorosa, házi tyúkban 4-6 órával, japán fürjben 3-6 órával, házi kacsában 4-7 órával, pulykában pedig 8 órával előzi meg az ovulációt (Péczely, 1987).
Az LH csúcs után megközelítőleg 4-6 órával, a tojásrakás után 15-45 perccel történik az ovuláció. Etches et al. (1981) egy még korábbi LH csúcsot is észleltek 14-11 órával az ovuláció előtt, amelynek még nem tisztázott a jelentősége.

Az ovulációt megelőző LH csúcs hatására következik be a csírakorongban az első meiotikus osztódás, majd ezt követően az ovuláció. A felrepedés helye, a stigma régió anatómialilag lényegesen különbözik a tüsző többi részétől. A stigma területén az epithelium, a theca externa, interna és a granulosa rétegek találhatók meg. A domináló theca externa fibroblastokat és extracelluláris mátrixba ágyazott kollagén rostokat tartalmaz. A vizsgálatok szerint a stigma területén megfigyelhető alacsonyabb szakítószilárdság a stigma hossztengelyével párhuzamosan futó, kötegekbe rendeződött kollagén rostoknak köszönhető, mert egyébként a tüsző stigmán kívüli területein a kollagén rostok összefonódva helyezkednek el a theca-ban. Az ovulációt megelőzően a stigma területe szélesedni kezd és egyre áttetszőbbé válik. A kollagén tartalom csökken, a kollagén rostok a kötegekben elemi szálakra esnek szét és közöttük az intercelluláris rés egyre tágabbá válik, de nem mutatnak degeneratív folyamatokra utaló jeleket. Ezek a struktúrális változások csak a stigma területére szorítkoznak (Jackson et al., 1991).
A szerkezeti leépülésben jelentős szerepet játszanak a proteolítikus enzimek, amelyeket az F_1 tüszőkben a megemelkedett progeszteron koncentráció aktivál. A kollagenáz aktivitás a tüsző maturációjával arányosan fokozódik (Aoki et al., 1985). A tüszőfal simaizom kontrakcióját befolyásolja a preovulációs tüszőben megnövekedett prosztaglandin koncentráció, a megnövekedett E_1 és $F_{2\alpha}$ aktivitás. A prosztaglandinoknak többirányú lehet a szerepük az ovulációban, az összehúzódó símaizmok elősegítik a pete kilökődését, másrészt érszűkítő hatásuk révén felgyorsítják az atrophiás folyamatokat a leépülő stigma területén, ill. csökkentik a tüszőrepedést kísérő vérzést.
A preovulációs időszakban a *progeszteron* termelésnek két időpontban van maximuma a legnagyobb sárga tüszőkben, az első valamivel megelőzi, vagy egybeesik az LH csúccsal, tehát 6-4 órával az ovuláció előtt észlelhető, a második 2-3 óra múlva követi ezt (Sharp et al., 1981a), sok esetben a két csúcs nem különül el élesen egymástól. A magas plazmaszint az F1 tüszők szekréciós aktivitását tükrözi.

A *tesztoszteron* 10-6 órával, az *5α-dihidrotestoszteron* (DHT) 6 órával az ovulációt megelőzően ad csúcs értéket a plazmában, együttes szintjük a négy legnagyobb preovulációs tüsző szekréciós kapacitását tükrözi. Szerepük nem teljesen tisztázott, mivel ovuláció preovulációs androgén csúcs hiányában is be tud következni (Johnson PA et al., 1984b). A petefészek tüszők granulosa és theca sejtjeiben androgén receptorok expresszálódása figyelhető meg, az androgének szerepet játszanak a szteroid szintézis és a plazminogén aktivátor működésének szabályozásában (Tilly et al., 1987, Lee et al., 1990).
Az *17β-ösztradiol* és az *ösztron* 6-4 órával az ovuláció előtt éri el legmagasabb szintjét a plazmában, amit megelőz egy kisebb ösztrogén csúcs 23-18 órával az ovulációt megelőző időszakban. Az ösztradiol plazma csúcsot az F3 és F4 tüszők termelése adja, de ezzel együtt az ösztrogének nagy része a prehierarchikus tüszőkből származik. Az ösztrogén a progeszteronnal együtt a hypothalamus és hypophysis érzékenyítésében játszik szerepet, hogy a progeszteron csúcs LH felszabadulást tudjon kiváltani (Wilson et al., 1976b).
A *kortikoszteronok* szezonális növekedést mutatnak sok vadmadár fajban a költési időszakban, szintjük diurnális ritmusban változik, amelyben a csúcsok az ovipozícióhoz kapcsolódnak. Szerepük ellentmondásos, Wilson et al. (1980) feltételezik, hogy az LH csúcs időzítésében játszanak szerepet.

3.5.1.1. Az ovuláció neuro-endokrin szabályozása

Sharp et al. (1990) eredményei szerint az ovuláció szabályozásában csak az LH-RH I játszik szerepet az LH szekréció szabályozásán keresztül, az ovulációra kifejtett direkt hatása ez idáig nem ismert.
Az ovulációt megelőző progeszteron csúcs az LH csúccsal együtt pozitív feedback hatást gyakorol a hypothalamusra. A progeszteron receptorok kimutatásával megállapították, hogy az ovuláció létrejöttében a supraopticus és a paraventricularis magcsoportok játszanak kulcsszerepet. Kismennyiségű progeszteronnak a preopticus területre injektálásával előrehozott ovulációt lehet kiváltani. Progeszteron receptorokat mutatott ki Kawashima et al. (1979) a hypophysisben is, amelyek mennyisége a hypothalamus receptorokkal együtt 18 és 8 órával az ovuláció előtt adott csúcs koncentrációt. A hypothalamus csak az ovariális szteroidok (ösztrogén és progeszteron) érzékenyítő hatását követően képes reagálni a progeszteronra. A progeszteron hatással van mind a tonikus, mind az akut LH szekrécióra. Az ösztrogén, az emlősökkel ellentétben nem játszik szerepet a preovulációs LH csúcs kiváltásában, szerepe inkább a hypothalamus szenzitizációjában és a tojásképződésben van.
Tojó pulykákban is a preovulációs LH csúcsokat progeszteron csúcsok kísérik, amelyek az LH csúcstól abban különböznek, hogy tovább, több órán keresztül figyelhetők meg. Az óránként vett vérmintákban az LH szintek változása nem mutatott napi ritmust közvetelenül az első tojás lerakása előtti időszakban, nem lehetett LH csúcsot megfigyelni a sötét napszakban a házi tyúkhoz hasonlóan (Bacon, 2001).

Egyes vizsgálatokban tanulmányozták a keringő FSH hatását is és megállapították, hogy az ovulációt megelőző 14-15. órában az FSH szintje megemelkedik (Scanes et al., 1977). Feltételezik az FSH receptorok alapján, hogy az FSH a tüszők szelekciójában és fejlődésében játszik szerepet. Vanmontfort et al. (1994) vizsgálatai szerint az FSH plazma szintje házi tyúkban a pre- és posztovuláció 28 órás időszakában kismértékben fluktuáló volt kiugró értékek és változások nélkül (1,69±0,08 ng/ml és 2,06±0,19 ng/ml között). Ugyanez a munkacsoport vizsgálta az inhibin plazma szintjének változásait is. A mérések egy szignifikáns plazma inhibin csökkenést mutatnak a P csúcsot megelőző 6. órában, majd ezt követően szintje folyamatosan növekedést mutatott, amely nem volt szignifikáns. Az eredmények azt mutatják, hogy az inhibin fontos szerepet tölt be a madarakban is az FSH gátlása révén, de nem játszik kiemelt szerepet az ovuláció mechanizmusában.
Madarakban az adrenalin és a noradrenalin mennyisége 4 órával a provulációs LH csúcsot megelőzően megnövekszik az anterior hypothalamusban (Sharp et al., 1989a). Hasonló eredményt kapott Millam et al. (1984) is, megállapította, hogy mind a noradrenalin, mind az adrenalin GnRH felszabadulást eredményezett *in vitro* japán fürj hypothalamusából.
Madarakra vonatkozóan a dopamin gátló hatásáról számolt be Hibbs et al. (1977) és MacNamee et al. (1989). A dopamin szintézise gátolt a preovulációs LH csúcs időszakában (Sharp et al., 1989b), míg szintje a csökkenő tojástermelést mutató tyúkokban megnövekszik, a dopamin szint és a reprodukciós aktivitás közötti összefüggés fordítottan arányos (Sharp et al., 1984, El Halawani et al., 1976). A gátlás legvalószínűbb helye a GnRH axonok preszinaptikus végződése az eminentia medianaban, ahol szinaptikus kapcsolatokat lokalizáltak a GnRH és a dopaminerg neuronok között házi tyúkban (Contijoch et al., 1992).

A *prolaktin* szintje csúcsot ad a plazmában az ovulációt megelőző 10. órában és a legalacsonyabb a 6. órában, de még ezek az adatok sem adnak egyértelmű bizonyítékot arra, hogy a prolaktin szabályozó szerepet tölt be az ovulációban. Ugyanakkor kimutatták, hogy a prolaktin a szteroid szintetizáló enzimek gén expressziójának gátlásán keresztül inhibítor hatást fejt ki a petefészek szteroid szintézisére (Tabibzadeh et al., 1995).
A prolaktinnak az ovulációban betöltött szerepére utalnak azok az eredmények, amelyek szerint GnRH-val indukált ovuláció meggátolható prolaktinnal, mivel prolaktin hatására csökken a GnRH szintje a hypothalamusban (Rozenboim et al., 1993c).

A fentiekben már utaltunk arra, hogy ha a tojó tyúkok olyan tartási körülmények között termelnek, amelyben semmiféle ritmusadó tényező nincs az ovuláció befolyásolására (folyamatos megvilágítás, folyamatos táplálékellátás, egyenletes hőmérséklet), akkor a tojásrakás bekövetkezhet a nap bármely szakában, majd egy idő után szabályos ovulációs ciklus alakul ki, 24-27 órás intervallummal. Ez a 24 óránál hosszabb ciklus meglehetősen szokatlan, mert a

legtöbb biológiai ritmus 22 és 26 óra között 24 órássá válik, ha megfelelő ritmusszabályozót kap. A jelenség még magyarázatra vár.

3.6. Az ovipozíció szabályozása

Az ovulációt követően 24-26 óra múlva a petevezetőben befejeződik a tojásképződés és a madár jellegzetes viselkedési formákat mutatva megtojik.
Az ovulációt kísérő neuro-endokrin változások a tojásrakással is összefüggésben állnak, mert megfigyelések szerint a preovulációs és a postovulációs tüsző lekötésekor nem következik be tojásrakás és indukált, előrehozott ovuláció esetén a tojásrakás is idő előtti lesz. Üres petevezető esetén (az ovulációt nem előzi meg tojásrakás) az ovulációt erős uterinális kontrakciók kísérik. A tojásrakás szabályozásának pontos mechanizmusa nem ismert, prosztaglandinok (a prosztaglandinok E csoportjába tartozó PGE_1 és PGE_2, valamint $PGF_{2\alpha}$) és arginin vazotocin (AVT) játszanak benne fontos szerepet, mint potenciális simaizom összehúzódást indukáló vegyületek (Shimada, 1979). A prosztaglandinokat a preovulációs tüsző granulosa sejtjei termelik az ovulációt megelőzően 1 órával, de a posztovulációs tüsző is jelentősen hozzájárul a tojásrakás időpontjában mért magas prosztaglandin plazma szinthez. Olson és Hertelendy (1981) szerint az ovipozíció időpontja körül a $PGF_{2\alpha}$-ból származó metabolitok megemelkedett plazma koncentrációját mérték tojó tyúkban. A prosztaglandin szintézist a preovulációs LH csúccsal összefüggő folyamatok serkentik.
Olson megállapításával ellentétben Kelly et al. (1990) szerint, akik tojótyúkokon a clutch utolsó, befejező ovipozícióját vizsgálták (amelyet nem követett ovuláció) az F_1 és F_2 tüszők hatása az ovipozícióra független a preovulációs endokrin változásoktól, tehát az ovipozíciót és az ovulációt szabályozó élettani mechanizmusok függetlenek egymástól.
A neurohypophysisből felszabaduló AVT hasonlóan az emlősök oxytocinjához, kontrakciót vált ki az uterusban. Az uterus simaizomzatának egyre erősebb összehúzódásai eredményeként lökődik ki a tojás a petevezetőből.
A hormonális szabályozás vizsgálata mellett kutatások folytak az ovipozíció mechanizmusában szerepet játszó neurotranszmitterek vagy neuromodulátorok meghatározására is. A legújabb eredmények szerint a galanin, ez a 29 aminosavból álló, a béltraktusban és az agyban is előforduló peptid játssza kulcsszerepet az ovipozíció ideje alatt az uterinális és vaginális kontrakciók kiváltásában (Li et al., 1996)

3.7. Az ovulációs ciklus szezonalitása

A madarak többsége éves szinten csak bizonyos meghatározott időszakban költ, amely időszakot a rendelkezésre álló táplálékmennyiség határoz meg, amely az utódok táplálásához és kitollasodásához szükséges. A 30° -nál na-

gyobb északi és déli szélességi körökön a madarak szezonális költése egybeesik a tavasszal, illetve a nyárral, amikor a vegetáció növekedését gerinctelen és gerinces táplálékforrás-növekedés kíséri.
Ennek megfelelően a mérsékelt égöv alatt élő madarak szaporodása nagymértékben szabályozott, elsősorban a nappalhosszúság, a fénytartam által. Ez alatt az egész éves, annuális nappalhosszúság változásokat értjük, amelyek ciklicitását a madár érzékeli, tehát a tavaszi nappalhossz növekedés beindítja az ivarszervek fejlődését. A legtöbb mérsékelt éghajlaton élő madár szaporodási időszaka viszonylag szimmetrikus a nyári napéj egyenlőség időpontjára.
A szezonális szaporodási ciklus kialakulásában elsősorban a fénynek van szabályozó szerepe (a fotostimuláció küszöbértéke fajonként változik) és azoknak az endogén ritmusszabályozó oszcillátoroknak, amelyek a belső, meghatározott frekvenciájú ritmusokat (fényérzékenység, gonadotropinok, prolaktin, kortikoszteron elválasztás) összehangolják a serkentő fénytartammal.
A mérsékelt éghajlatú szélességi körön költő madarak esetében nagyszámú tanulmány foglalkozik a fotoperiódus által irányított szaporodásbiológiai folyamatokkal (Sharp, 1993, Sharp, 1996).

A fény kulcs szerepe mellett a szezonális költést közvetlenül ható faktorok komplexuma váltja ki, amelyeket Wingfield *kezdő előrejelző (initial predictive)*, *lényeges kiegészítő (essential supplementary)*, *szinkronizáló (synchronizing)* és *módosító (modifying)* kategóriákba sorolt (Wingfield, 1980, 1983).
Az egyenlítőtől távolabb költő madarak számára az évszakok nappalhossz változása adja meg a kezdő, a maturációt indító előrejelzést, amihez még további, lényeges kiegészítő és szinkronizáló információk is szükségesek, hogy szaporodásra kész állapotba kerüljön a szervezet. Ilyen lényeges kiegészítő információ a tavaszi nappalhossz-növekedés, a pár jelenléte, a fészkelőhely, vagy a költőterritórium és a tojásrakás beindulásához elegendő táplálékmennyiség. A szinkronizáló információk az ellentétes nemű költő párral történő interakciókból származnak, amelyek a részvevő szereplők szaporodásbiológiai állapotát hivatottak szinkronizálni, hogy párzás időpontjában érett ivarsejttel (pete, spermium) rendelkezzen mindkét fél (Wingfield et al., 1988). A közvetlen módosító faktorokhoz tartoznak a kedvezőtlen időjárási tényezők, a fészek, illetve a fészekalj elvesztése (Wingfield et al., 1993).

Elfogadott az a nézet, hogy az éves költési ciklus már az azt megelőző évben indul, kezdete őszre, a csökkenő nappalhosszú periódusra, illetve a téli, rövidnappalos periódusra esik. Ez idő alatt a nyári, hosszúnappalos periódus alatt kialakult gátló hatás, azaz a fotorefrakter állapot fokozatosan megszűnik. A biológiai óra érzékeli a rövid nappalt, de nem közvetít sem stimuláló, sem gátló információt a GnRH-I neuronok felé, hatásuk neutrális. A rövidnappalos időszakon belül a GnRH-I neuronok ”bekapcsolásának” (set-point) időpontját nem lehet előre jelezni, mert ez nagymértékben függ a madár fajától.

Tavasszal és nyáron, a növekvő nappalhossz eléri a madár genotípusára jellemző kritikus nappalhosszt, amelynél aktiválódnak a GnRH-I neuronok. A stimuláló input által kiváltott GnRH szekréció mértéke függ a genotípus által determinált ”bekapcsolási” időponttól a rövidnappalos periódus alatt. A fotoperiódusos információ által kiváltott stimuláló hatással egyidejűleg a fény gátló hatását is közvetít a GnRH-I neuronok felé. A gátlás erőssége és aránya a stimuláló hatáshoz képest, amelynél már dominánssá válik, szintén genotípusfüggő. A fotoperiódus során akkor alakul ki abszolut fotorefrakteritás a reprodukció teljes megszűnésével, amikor a fotostimuláció hatását elfedi egy a fény által kiváltott erőteljesebb inhibitor hatás.
A fotoperiódus által kiváltott gátló hatás enyhébb esetben észrevétlen maradhat, minden látható, szaporodást kedvezőtlenül befolyásoló jel nélkül addig, amíg a nappalok hossza csökkenni nem kezd a nyári nap-éj egyenlőséget követően. A csökkenő fénytartam hatására a GnRH-I neuronokra ható stimuláló hatás mértéke is csökkenni kezd, amelyet gyorsan elfed a túlsúlyba kerülő gátló hatás. Ebben az esetben alakul ki a relatív fotorefrakteritás, az ivarszervek regressziójától kísérve. Ha ebben az állapotban a madaraknak növekvő megvilágítást biztosítunk, akkor erre a stimuláló hatásra reprodukciós aktivitással reagálnak, míg az abszolut fotorefrakter madaraknál nem kapunk ilyen reakciót.
Amikor ősszel a nappalhossz a kritikus érték alá csökken, a GnRH-I neuronokra stimulálólag ható input azonnal megszűnik, azonban a gátló hatás átmeneti időre tovább perzisztál.
A nyári nap-éj egyenlőség után alkalmazott rövidnappalos kezelés hatására a hosszúnappalos gátló hatást meg lehet szüntetni madaraknál (Sharp, 1996).
A fény által szabályozott szezonális ritmus mellett meghatározó szepet játszanak a környezeti hatásoktól független endogén ritmusok is, amelyek az évszakos ritmusokat alakítják ki (Péczely, 1987).

3.7.1. A szaporodási ciklus lezárása

A madarak szaporodási ciklusa fotorefrakteritással, vedléssel és/vagy kotlással zárul.

3.7.1.1. Fotorefrakteritás

Tágabb értelemben fotorefrakteritás alatt azt az élettani állapotot értjük, amelyben a növekvő nappalhossz elveszti stimuláló hatását a hypothalamus-hypophysis-gonád tengelyre, az ivarmirigyek regresszálódnak és szaporodásbiológiai szempontból inaktivvá válik az egyed. Ez az állapot természetes adaptációs jelenségként szezonális szaporodású madaraknál egy hosszabb fotostimulációs periódust követően alakul ki, amely még a stimulációs (növekvő

nappalhosszúságú) fényperiódus időszakában lezárja a madarak szaporodási ciklusát, megakadályozva annak kedvezőtlen elhúzódását.
Általánosságban érvényes minden madárfajra a fotorefrakteritás kialakulásánál, hogy az ivarszervek inaktivitásának kezdeti időpontjában a nappalhossz tartama a gonádfejlődés beindításához szükséges nappalhossz időtartamánál hosszabb. A másik jellegzetesség, hogy minél hosszabb a fotoszenzitív időszakban a nappalhossz, annál gyorsabban, rövidebb idő alatt alakul ki a refrakter állapot.
A vizsgálatok azt mutatják, hogy a fény, azaz a növekvő nappalhossz két, ellentétes irányú hatással rendelkezik azoknak a fajoknak a szaporodására, amelyekben fotorefrakter állapot alakul ki; a fény a kezdeti fázisban stimulálja az összes, a reprodukciós folyamatokban szerepet játszó tényező ‘bekapcsolását’, amit szükségszerűen egy teljes ‘kikapcsolás’ követ a szaporodási periódus végén. A szaporodási ciklust lezáró fotorefrakteritás jele a drasztikusan lecsökkenő, majd teljesen megszűnő tojástermelés és az azt kísérő vedlés, de ezek a jelenségek már csak azoknak a folyamatoknak a végeredményei, amelyek valójában már a fotostimulációval egyidejűleg indultak el. A növekvő nappalhosszra kialakuló fotorefrakteritás több hét alatt alakul ki, azaz a szaporodásban szerepet játszó neuro-endokrin, endokrin szervek csak fokozatosan ‘kapcsolnak ki’ (Follet et al., 1991).
Feltételezik, hogy a fajra jellemző fénymennyiség érzékelését követően a GnRH sejtek inaktívvá válnak, meghatározva ezzel az alsóbb endokrin szintek működését is. Ennek első jeleként csökken a hypothalamus GnRH termelő képessége és a hypophysis GnRH-ra mutatott érzékenysége is alacsony szintet mutat. A gonád regressziójával párhuzamosan a hypothalamus GnRH tartalma tizedére, a GnRH neuronok területe a felére csökken és az eminentia mediana területéről eltűnnek az immuncitokémiai szempontból reaktív GnRH neuronok (Goldsmith et al., 1989, Foster et al., 1987, Hahn et al., 1995).
Sokáig tartotta magát az a nézet, hogy a hypothalamus, hypophysis szinten fellépő inaktivitás a szexuál szteroid produkció gátló feedback hatására alakul ki. Jelenlegi ismereteink szerint a fotorefrakteritásnak csak kísérő jelensége és nem oka a magas szteroid szint által kiváltott gonadotrop hormon inhibíció. Ezt alátámasztja az a megfigyelés is, hogy kasztrált madarak is képesek fotorefrakterré válni hosszúnappalos kezelést követően (Wilson et al., 1974, Mattocks et al., 1976).
Bizonyított, hogy a fotostimulációval egyidejűleg fokozódik a pajzsmirigy hormonok szekréciója is, amelyek direkt gátló hatást fejtenek ki a hypothalamus-hypophysis-gonád tengelyre. A GnRH szintézis gátlásán keresztül a tiroxin gátolja a gonadotrop hormonok elválasztását is, ezért a szaporodási ciklus vége felé túlsúlyba kerülése elősegíti a fotorefrakter állapot kialakulását (Dawson, 1984, Klandorf et al., 1982, Sharp et al., 1981).
Fotorefrakteritást csak pajzsmirigy hormonokkal nem lehet kiváltani, de azok a folyamatok, amelyek a fotostimulációra bekövetkező fotorefrakteritás kialakulásához vezetnek csak tiroxin jelenlétében veszik kezdetüket.

A szaporodási ciklus a költéssel és az utódok felnevelésével zárul le. Ebben az időszakban a legmagasabb plazmaszintet a prolaktin mutatja. Úgy tűnik, hogy a szezonális, illetve a fotopriódus által indukált szekréciót, amely a fotorefrakteritás kialakulását stimulálja a neurális hatások (kontaktus a tojásokkal, fiókákkal, vizuális és hang ingerek, stb.) még jobban felerősítik (a szülői magatartásformák előhívásának elősegítésére). A szezonális ciklusok vizsgálata azt mutatja, hogy az emelkedő tiroxin szinttel együtt növekszik a prolaktin szintje is, amit az a kísérlet is bizonyít, amelyben pajzsmirigy irtással megakadályozható volt a prolaktin szint emelkedése és a fotorefrakteritás kialakulása seregélyben (Goldsmith et al., 1984b). A fotorefrakteritásban betöltött szerepe főként, mint közismerten antigonadotrop hatású hormon, a hypothalamus GnRH szekréciójának gátlásán keresztül érvényesül.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Állatok és tartási körülmények

Kísérleteinket Gödöllőn, a Gödöllői Agrártudományi Egyetem Állattenyésztési Intézetének Szaporodásbiológiai Tanszékén végeztük, az 1987-től 1993-ig tartó időszakban.
A nőivarú landes-i fajtájú ludakat a Babati Lúdnemesítő Állomás bocsátotta a rendelkezésünkre, amelyeket természetes megvilágítású, kifutós ólakban helyeztünk el. Az ivóvizet átfolyó rendszerben folyamatosan biztosítottuk a madarak részére. A takarmány az állatok mindenkori fiziológiai állapotának megfelelő (növendék, tojó, stb.) granulált táp volt, ad libitum.

4.2. Fénymikroszkópos szövettani vizsgálatok

4.2.1. Fejlődő tüszők

A petefészekben fejlődő tüszők maturációjának nyomonkövetéséhez folyamatosan történt a mintavétel, a téli, szexuálisan inaktív fázistól (1987. február 11-től) egészen a tojásrakás csúcsáig (1987. április 28-ig). A vizsgálathoz 2 éves, átlagosan 5 kg testtömegű tojó ludakat használtunk fel. Az állatok kifutóval rendelkező ólakban, természetes megvilágításban voltak elhelyezve, ad libitum takarmány (11% nyersfehérje tartalom) és víz ellátással.
A madarak (15 db) elvéreztetését követően megnyitottuk a hasüreget, kiemeltük a petefészket és a petefészekről leválasztottuk a fejlődő (fehér és sárga) tüszőket, megmértük átmérőjüket (mm), majd megfeleztük őket. Az egyik tüszőfelet Bouin oldatban fixáltuk, majd Péterfi szerinti kettős (metilbenzoát-paraffin) beágyazást alkalmaztunk (Krutsay, 1980). Reichert mikrotóm segít-

ségével 5 μm vastag metszeteket készítettünk, amelyet haematoxilin-eosin festékkel festettünk meg. A metszeteket Reichert Zetopan fotomikroszkóppal fényképeztük le.

4.2.2. Degradálódó tüszők

A kísérlet elrendezése és a mintavétel menete megegyezett az előző kisérletével, tehát azonos kísérleti körülmények között, azonos fajtájú állatokon történt, azzal a különbséggel, hogy a mintavételnél a degradálódó tüszők kiválasztásánál Gilbert (1985) által meghatározott szempontok érvényesültek, azaz a külsőleg jól látható elváltozások – kis tüszők esetében a mattsárga szín, nagyobb tüszők esetében a torz forma, petyhüdt tapintat, felszín alatti vérömlenyek, zsugorodott, ráncos felszín – jelentették a mintavételi kritériumokat. A leválasztott atretikus tüszőket lemértük. A mérések adatai 1-2 mm-es eltéréssel csak megközelítő pontosságúak a szabálytalan formák miatt. A leválasztott tüszőket szintén megfeleztük és a az egyik felüket fénymikroszkópos vizsgálat céljára Bouin oldatban (pikrinsav) fixáltuk, majd Péterfi szerinti kettős (metilbenzoát-paraffin) beágyazást alkalmaztunk (Krutsay, 1980). Reichert mikrotóm segítségével 5 μm vastag metszeteket készítettünk, amelyet haematoxilin-eosin festékkel festettünk meg. A mikroszkópos struktúrákat Erpino (1973) szerint kategorizáltuk, majd a kiválasztott metszeteket Reichert Zetopan fotomikroszkóppal fényképeztük le.

4.2.3. Petevezető

A petevezető maturációjának nyomonkövetéséhez folyamatosan történt a mintavétel, a téli, szexuálisan inaktív fázistól (1989. január 29-től) egészen a szaporodási ciklus lezárulásáig (1989. június 18-ig). A vizsgálathoz 3 éves, átlagosan 5 kg testtömegű tojó ludakat (14 db) használtunk fel. Az állatok kifutóval rendelkező ólakban, természetes megvilágításban voltak elhelyezve, ad libitum takarmány (11% nyersfehérje tartalom) és víz ellátással.
Az madarak (14 db) elvéreztetését követően megnyitottuk a hasüreget, kiemeltük a petevezetőt és az egyes szakaszoknak megfelelően kis darabokat vágtunk ki belőlük a csöves struktúra megtartása mellett. A mintákat Bouin oldatban (pikrinsav) fixáltuk, majd Péterfi szerinti kettős (metilbenzoát-paraffin) beágyazást alkalmaztunk (Krutsay, 1980). Reichert szánkamikrotóm segítségével 5 μm vastag metszeteket készítettünk, amelyet haematoxilin-eosin festékkel festettünk meg. A metszeteket Reichert Zetopan fotomikroszkóppal fényképeztük le.

4.3. Transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálat

A vizsgálathoz 11 db 2 éves, átlagosan 5 kg testtömegű tojólúdból történt mintavétel: 1991-ben februártól áprilisig és októbertől novemberig. A kiemelt petefészekről leválasztottuk a tüszőket, fiziológiás vízzel átitatott szűrőpapírra helyezve őket megmértük az átmérőjüket (mm) és a külső jegyeik alapján (forma, szín, tapintat) ép vagy atretikus csoportba soroltuk be őket. A vizsgálat során 37 normál (1 mm-től 25 mm-ig) és 63 atretikus tüszőt dolgoztunk fel.
A leválasztott tüszőből kis darabot metszettünk ki fixálásra. Erre a célra az 1,5% glutáraldehidet, 1% formaldehidet és 1% szukrózt tartalmazó 0,1 M-os kakodilát puffer (pH 7) vált be a legjobban. 2 órás rögzítési idő után a mintákat 0,1 M-os kakodilát pufferben mostuk át, majd 1% OsO_4-et tartalmazó kakodilát pufferrel posztfixáltuk. A festést 1% uranil acetáttal végeztük el. Emelkedő koncentrációjú etanol sorban víztelenítettük a mintákat, amelyek ezután aralditos beágyazásra kerültek (Durcupan, Fluka). A metszésnél a metszési szöget a tüszők struktúrájának megfelelően állítottuk be úgy, hogy a tüszőfal minden rétege a metszetre kerüljön. A metszeteket uranil acetáttal és ólom citráttal kontrasztoztuk meg.
A vizsgálatokat Tesla BS 500 és JEOL 100 CXII típusú transzmissziós elektronmikroszkóppal végeztük el.

4.4. Szexuál szteroidok mennyiségi meghatározása H^3-RIA módszerrel

4.4.1. Meghatározás plazmából, mintavétel

A szexuál szteroidokat a vizsgálati időpontokban nőivarú háziludak szárnyvénájából (vena brachialis) vett 5 ml mennyiségű vérmintákból határoztuk meg. A vért heparinozott csövekbe vettük, majd az alakos elemeket centrifugálással (5000/min fordulatszám) szeparáltuk a plazmától. A plazmát felhasználásig -20 °C-on tároltuk.

4.4.2. Meghatározás tüszőkből (normál, atretikus), mintavétel

Az izolált tüszők méretének meghatározását követően a tüszőkből a tüszőfal megnyitása után a sziktartalmat eltávolítottuk, nehogy a szikanyag szteroid tartalma a mérések eredményeit módosítsa. Kisebb tüszők esetében elegendő volt a sziket enyhe nyomással kipréselni a tüszőből. Nagyobb tüszők esetében (sárga tüszők), fecskendővel, enyhe nyomást alkalmazva fiziológiás NaCl oldatos átmosást alkalmaztunk, vigyázva arra, nehogy a theca réteghez lazán kapcsolódó granulosa hámot az öblítő oldat kisodorja. A szteroid meghatározásra elkülönített tüszőfelet 4 °C-on fiziológiás NaCl oldat hozzáadásával ollóval felapróztuk, majd teflon-üveg homogenizátorban szuszpenzió finomságúra homogenizáltuk. A szuszpenzióból először a progeszteron extrahálását

végeztük el petroléterrel, majd ezt követően a tesztoszteron és a 17-β-ösztradiolét dietil éterrel.

^{3}H-RIA

A progeszteron (P) meghatározását Abraham (1971) módszere szerint 200 µl, a tesztoszteron (T) meghatározását Jallageas (1975) szerint 300 µl, a 17β-ösztradiolét (E2) szintén 300 µl plazma extraktumból, Mikhail (1970) szerint végeztük el.

Anyagok:

1. Antiszérumok:

A P4 antiszérumot BSA-11-OH-progeszteron-hemiszukcináttal szemben (Sharp PJ, Roslin, U.K.), a T antiszérumot BSA-tesztoszteron-3-hemiszukcináttal szemben (Sharp PJ, Roslin, U.K.), az E_2 antiszérumot BSA-17β-ösztradiol-hemiszukcináttal szemben (Sharp PJ, Roslin, U.K.) állították elő.

2. Kötőanyagok:

P4: 20 ml puffer
100 µl H^3-progeszteron higítás:
100 µl P4 antitest 5.000x
T: 20 ml puffer
100 µl H^3-tesztoszteron higítás:
33 µl T antitest 6.000x
E_2: 20 ml puffer
100 µl H^3-ösztradiolhigítás:
50 µl E_2 antitest 20.000x

3. Szcintillációs koktél :

0,3 g POPOP (2,2'-p-fenilen bis(5-feniloxazol)
7g PPO (2,5-difenil-oxazol)
1 toluol
500 ml triton-X 100

4. Aktív szén (Charcoal) oldat

1 l foszfát puffer (pH 7,4)
0,2 g dextrán T-70
2 g Norit-A

Módszer:

A felolvasztott plazmából dietiléteres extrakciót végeztünk mindhárom szteroid esetében. Az extrakciós visszanyerést a plazmához adott 2000 cpm szteroiddal ellenőriztük.

Extrahálás:

2000 cpm H^3-P4, -T, -E_2 alkoholos oldatának kúpos csövekbe mérése, bepárolás 37 °C-on.
200 µl plazma bemérése P4, 300-300 µl T és E_2 esetében, vortex.
5 ml dietiléter hozzáadása, gépi rázás 3 percig.

A minták -20 °C-on tárolása 2 órán át.
A felülúszó extraktum leöntése.
Az extraktum bepárlása 37 °C-on.
Radioimmuno-assay (RIA):
A bepárolt extraktumhoz a bemért plazmával megegyező mennyiségű etilalkohol (P4:200 µl, T és E_2:300 µl) hozzáadása, vortex.
A mintából 50 µl, a szcintillációs koktélból 5 ml összemérése küvettába - recovery.
P4 esetében 100 µl, a T és E_2 esetében pedig 200 µl minta RIA csövekbe mérése, majd bepárlás 37 °C-on.
A RIA csövekben bepárolt mintákhoz szteroidokként 200 µl kötőanyag bemérése, vortex.
Tárolás 4 °C-on, kb. 14 órán keresztül.
Charcoal-os elválasztás:
500 µl aktív szénoldat hozzámérése a RIA mintákhoz, vortex.
8 perces inkubálás 4 °C-on.
Centrifugálás 3500 1/min fordulatszámon 20 percig.
A felülúszó leszívása, 500 µl minta + 5 ml szcintillációs koktél küvettákba mérése.

Mérés:
A lágy β sugárzás indukálta beütésszámot LKB-Wallack szcintillációs számláló felhasználásával mértük.
Standard sorok készítése:
Az 1 pg/µl koncentrációjú szteroid alkoholos oldatából RIA csövekbe mértünk mindhárom hormon esetében 0, 25, 50, 100, 250, 500 µl-t, majd 37 °C-on bepároltuk.
Hormonspecif ikus kötőoldat hozzáadása (200 µl), vortex, inkubálás 4 °C-on 14 órán keresztül.
A Charcoal-os elválasztás a mérendő mintákkal együtt, azokkal megegyező módon.

A szteroid visszanyerés a direkt éteres extrakciónál 85% volt.
Az intraassay CV% értéke 6-11%, az interassay CV% értéke 8-14% volt.

4.5. Enzimbiokémia vizsgálat lizoszómális enzimek kimutatására

A vizsgálat során a lizoszómális marker enzimek aktivitását mértük tüszőfal homogenizátumból, amelyet a szteroid meghatározásnál leírt módon kaptunk. A kategorizált tüszők falát 4 °C-on fiziológiás NaCl oldat hozzáadásával ollóval felapróztuk, majd teflon-üveg homogenizátorban szuszpenzió finomságúra homogenizáltuk. Mérésig a mintákat –20 °C-on tároltuk.
A savanyú foszfatáz assay-t Barrett (1972) szerint végeztük el. A reakció oldatot, amely 800 µl 0,2 M Na-citrát puffert (pH 4.8), 100 µl $5x10^{-3}$ mM p-

nitrofenilfoszfátot és 100 ml homogenizátumot tartalmazott, 60 percig 39 °C-on inkubáltuk. A reakciót 2 ml TRIS-SDS oldat hozzáadásával állítottuk le. Az oldat centrifugálását követően 410 nm-en mértük a szupernatáns elnyelőképességét. Standardnak a p-nitrofenol hígitási sorát használtuk.
A β-galaktozidáz aktivitását Barrett (1972) szerint határoztuk meg. A reakció oldatot, amely 800 μl 0,2 M Na-citrát puffert (pH 4.3), 100 μl $5x10^{-3}$ mM nitrofenil-β-galaktopiranozidot és 100 μl homogenizátumot tartalmazott, 60 percig 39 °C-on inkubáltuk. A reakciót 2 ml TRIS-SDS oldat hozzáadásával állítottuk le. Standardnak a p-nitrofenol hígitási sorát használtuk.
A β-glukuronidáz assay-t Barrett (1972) szerint végeztük el. A reakció oldatot, amely 800 μl 0,2 M Na-citrát puffert (pH 5.0), 100 μl $5x10^{-3}$ mM nitrofenil-β-glukuronidot és 100 μl homogenizátumot tartalmazott, 60 percig 39 °C-on inkubáltuk. A reakciót 2 ml TRIS-SDS oldat hozzáadásával állítottuk le. Az oldat centrifugálását követően 405 nm-en mértük a szupernatáns elnyelőképességét.
A katepszin-D aktivitását módosítva, Barrett (1972) szerint határoztuk meg. A reakció oldatot, amely 500 μl 0,2 M Na-citrát puffert (pH 4.0), 400 μl 8%-os haemoglobint és 100 μl homogenizátumot tartalmazott, 90 percig 39 °C-on inkubáltuk. A reakciót 1 ml 10%-os triklór ecetsav hozzáadásával állítottuk le. Az oldatot 30 percig 4 °C-on hűtöttük, majd centrifugáltuk és 1 ml szupernatánst használtunk fel az oldott peptidek meghatározására fehérje-festék assay felhasználásával. Egységnek a haemoglobinból 1 perc alatt 1 μg triklór ecetsav hatására felszabaduló enzimet vettük.
A nyers homogenizátumból történő fehérje meghatározást Bradford (1976) szerint végeztük el, ahol standardnak szarvasmarha szérum albuminjának V frakcióját használtuk.

4.6. Palpációs módszer a petevezető tágasságának mérésére

Az 1991. december 27-én indult vizsgálatban 15 darab májusi kelésű, természetes fényviszonyok között felnevelt, landes-i fajtájú tojó ivarérését, petevezetőjük palpációs módszerrel kitapintható morfológiai (tágassági) változásait követtük nyomon április 13-ig.
A kloákán keresztül elvégzett kitapintással 4 eltérő petevezető állapotot detektáltunk a jobb kéz mutatóujjának hegyével. Annak ellenére, hogy a módszer eléggé szubjektív, a hibalehetőséget csökkenti, ha a vizsgálatokat mindig ugyanaz a személy végzi.
A kategóriák jellemzése:
Szűk: A petevezető ceruzahegy vékonyságú, tömör tapintatú hengeres képlet, amely a medence csontos alapján elmozdítva tapintható csak ki. Szájadéka nem érzékelhető, a kloáka szűk és tapadós.
Közepes: A petevezető ceruza vastagságú, vagy attól kissé szélesebb, szájadékába egy átlagos női mutatóujj 1-2 mm-re bevezethető.

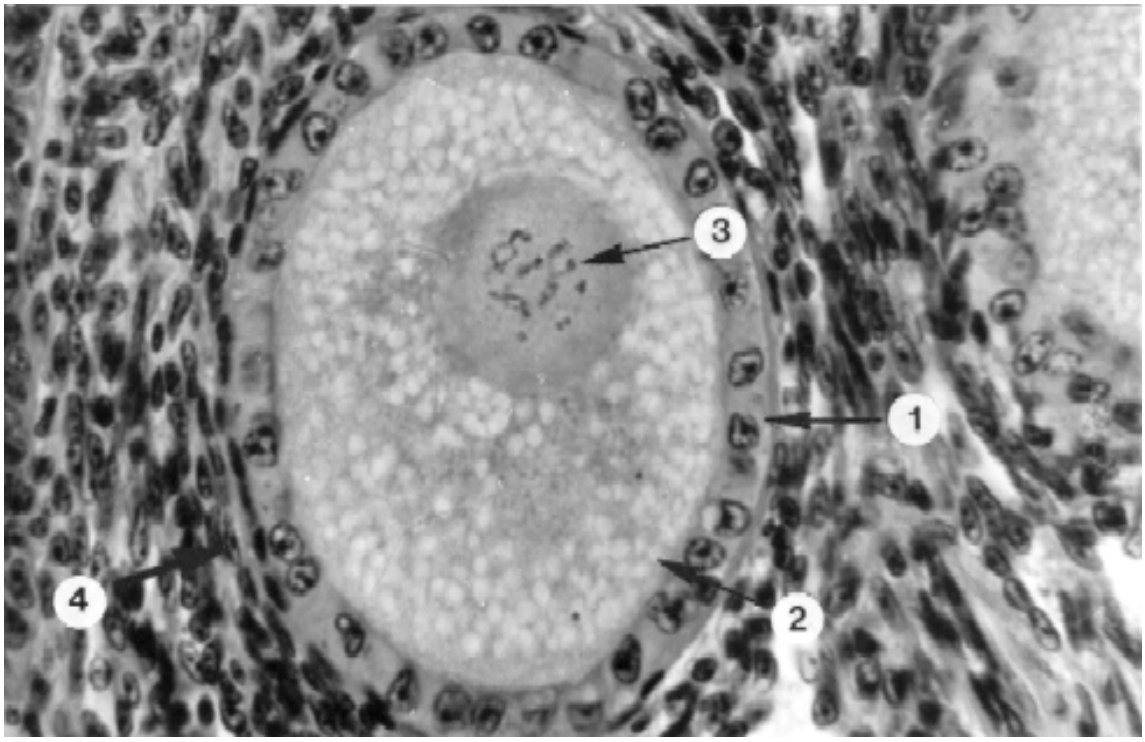
Tág: A petevezető akár kétujjnyi szélességű is lehet, tapintata petyhüdt, a mutatóujj a vaginába minden akadály nélkül bevezethető. A cloaca tág és síkosan nedves.
Tojást tartalmazó: Kemény- vagy lágyhéjú tojás tapintható ki a cloacán keresztül.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A nőivarú házilúd petefészek működésének morfológiai és funkcionális változásai a szaporodási ciklus során

5.1.1. Fénymikroszkópos morfológiai változások a petefészekben a tüszőérés során

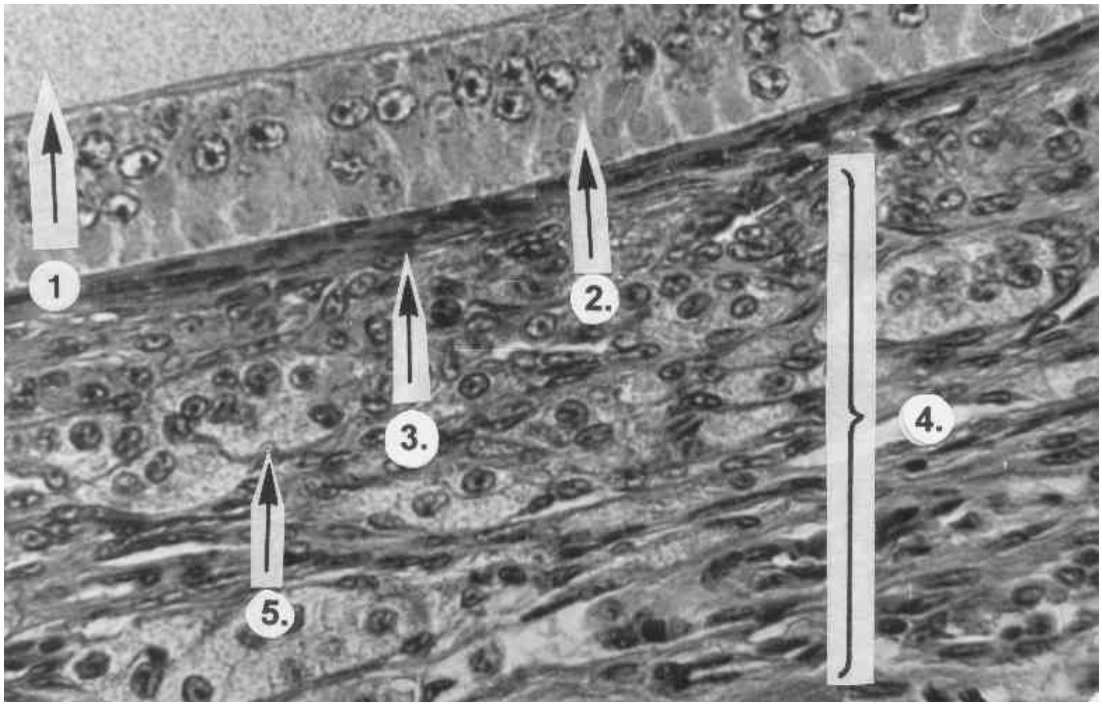
A primer, 50-100 μm méretű tüsző felépítése a legegyszerűbb (6. ábra). A petefészek kéregállományában, a stromába ágyazottan elhelyezkedő folliculus magját kismennyiségű szikállomány és egyrétegű, köbhám jellegű granulosa veszi körül. A theca réteg még nem kifejezett, jelenlétét a stromában a petesejt körül egy rétegben elhelyezkedő fibroblastok jelzik.



x630

6. ábra
A petefészek stromájába ágyazott kortikális tüsző.
A kismennyiségű szikanyagba (2) ágyazott nucleusban (3) jól láthatók a kromoszómák. A granulosa egyrétegű (1). Fibroblaszt jellegű sejtek a stromában (4).

A legkisebb fehér tüszőknél (500-1000 μm), amelyek már kiemelkednek a petefészek felszínéről, megjelenik a theca interna és externa (7. ábra). Az externa rétegében fészekszerű elrendeződésben glanduláris jellegű, úgynevezett ”fészkes” sejtek helyezkednek el, amelyek élesen elkülönülnek a kötőszöveti sejtektől. A fészkeken belül ezek a sejtek szorosan egymáshoz fekszenek, sejtmagjuk általában kerek, vagy ovális és jól elkülönülő, feltűnő nucleolussal rendelkeznek. A citoplazma állománya világosszínű, gyakran habos szerkezetű, amely egyértelműen a szövettani beágyazás során, a szerves oldószer által kioldott lipidek nyomaira utal.

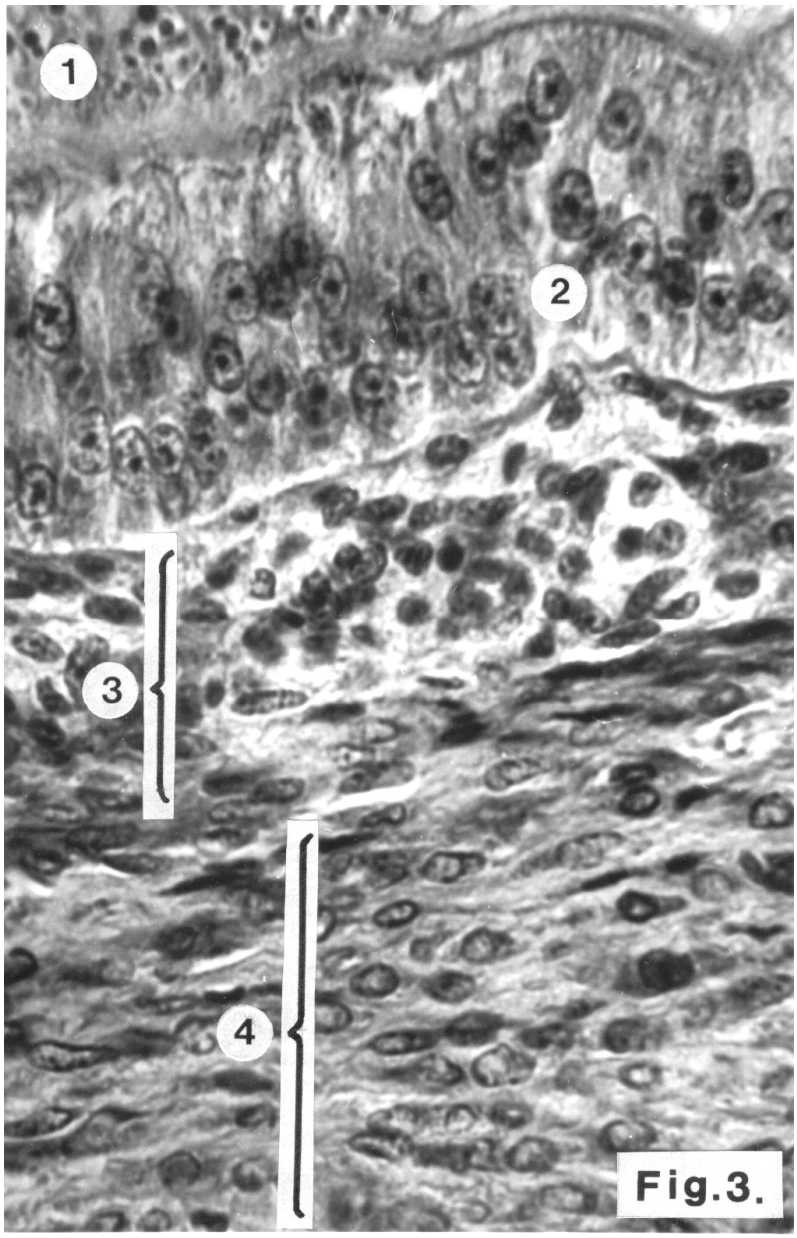


X400

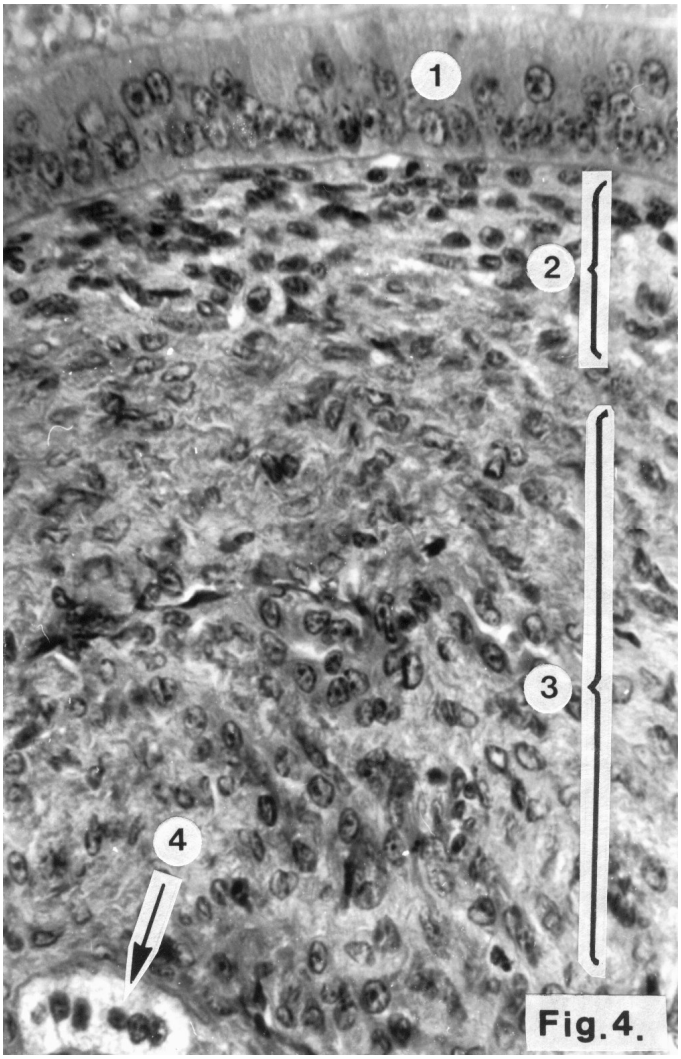
7. ábra

Kis fehér tüsző (500-1000 μm)
A szikanyagot (1) körülvevő granulosa többmagsoros (2), a theca interna (3) kötőszövet jellegű, a theca externa (4) megvastagodott és jelentős mennyiségű mirigy jellegű fészkes elrendeződésű sejtet (5) tartalmaz.

A legnagyobb fehér tüszőkben (9-10 mm) a tüszőhám egyrétegű, amelyben a sejtmagok többsoros réteget alkotnak. A theca interna sejtjeinek kötőszöveti jellege elmosódottá válik, a sejtek lekerekedetté válnak, duzzadtak, citoplazmájuk világos, kerek sejtmagot tartalmaznak szembetűnő nucleolussal. A theca externa kötőszöveti sejtjei között csak elvétve látni ”fészkes” sejteket (8. ábra).



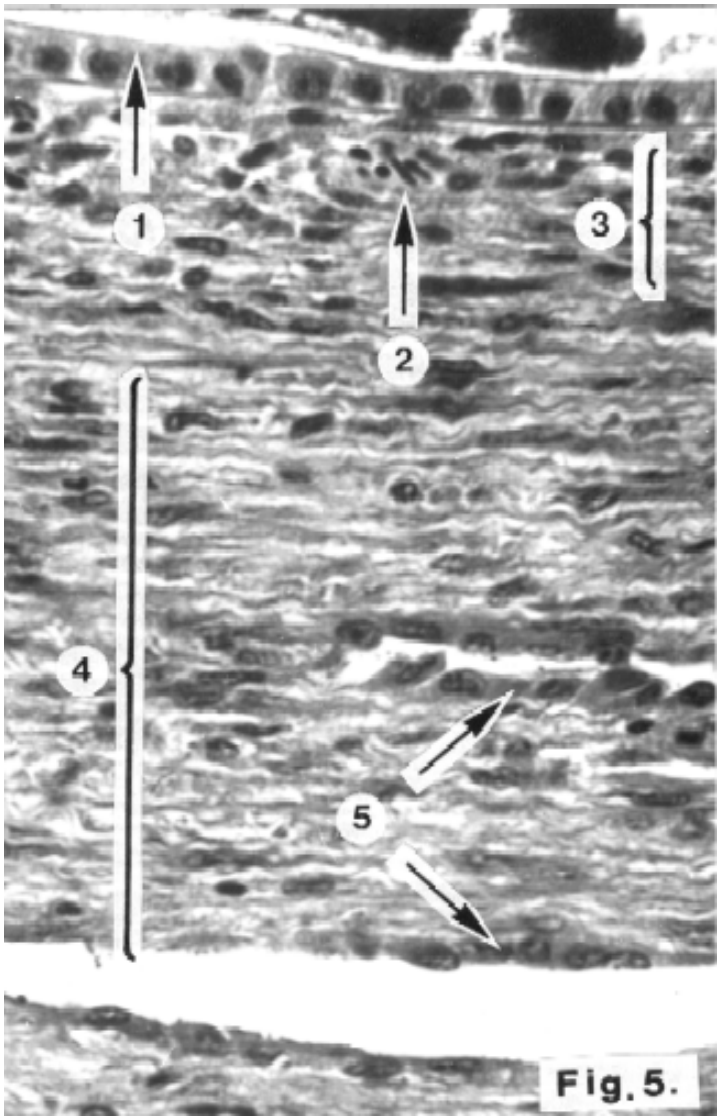
X400
8. ábra
Nagy fehér tüsző (8 mm, F_8)
Szik (1). A granulosa többrétegű, több magsorral (2), a theca interna (3) glanduláris jellege szembetűnő, hiperplasztikus. A theca externa (4) kötőszöveti sejtjei között nem látható mirigyes-fészkes sejt.



X400
9. ábra
Nagy fehér tüsző (10 mm, F_7)
A granulosa hámsejtek (1) többmagsoros jellege kezd eltűnni, a theca interna rétegében (2) a glanduláris jelleg csökken (a glanduláris sejtek sejtmagvai kissebbé váltak, alakjuk megnyúlt). A theca externa (3) kötőszöveti sejtejei között csak elvétve lelhető fel egy-egy mirigyes-fészkes sejt (4).

Színbeli változás a 10-11 mm-es tüszőméretnél jelentkezik, a sárga szikanyagok beépülésével megjelenik a kis sárga tüszők (11-18 mm) első generációja. A granulosa egyrétegű oszlophám, a sejtmagok is kezdenek egy réteget alkotni. A hámsejtek között sötétebben festődő, bazofil citoplazmájú sejteket lehet megfigyelni (regeneratív tartalék sejtek). A theca interna továbbra is glanduláris jelleget mutat. A theca externában a ”fészkes” sejtek száma csökkenő (9. ábra).

A <u>közepes méretű sárga tüszőkben</u> (19-24 mm = F_5) a theca interna hiperplasztikus jellege csökkenő. Feltűnő a réteg gazdag erezettsége. A tüszőhám tipikus köbhám (10. ábra).

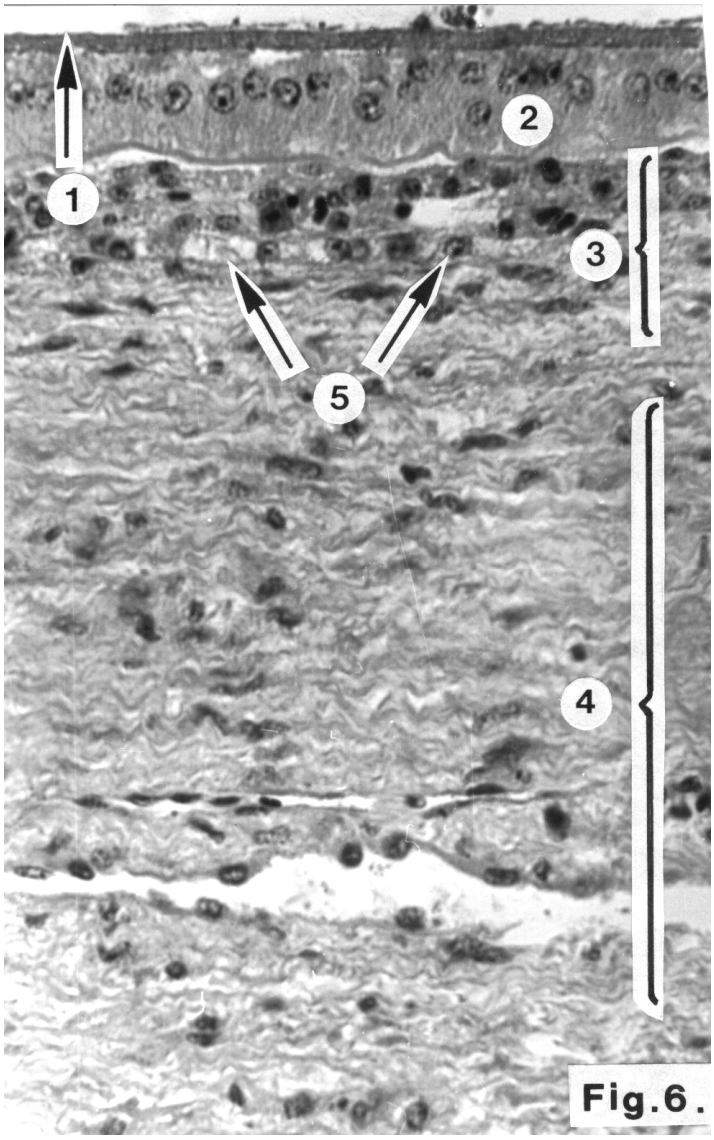


X400

10. ábra
Fejlődő sárga tüsző (23 mm, F_5)
A granulosa (1) köbhám jellegű, a theca interna (3) kötőszövet jellegű, benne fejlődő kapillárisok (2). A theca externa megvastagodott, tág vénás erekkel, lacunákkal (5).

A <u>nagy sárga tüszőkben</u> (25-33 mm = F_4, 34-44 mm = F3) a theca rétegek vastagsága erőteljesen csökken, a theca interna sejtek kötőszöveti jelleget mutatnak, közöttük csak ritkán látható egy-két duzzadtabb, glanduláris jellegű sejt. A tüszőfal vér és nyirok erekben gazdag. A tüszőhám köbhám.

A legnagyobb sárga tüszőkben (45-49 mm = F2, 50-53 mm = F1) a theca interna vékony réteggé válik, amely alig elkülöníthető az alatta fekvő réteg fibroblastjaitól. A tüszőfal gazdagon erezett. A granulosa hámsejtjei ismét enyhén megnyúlttá váltak, oszlophám jelleget mutatnak, amelyekben a magok a sejt felszínéhez közel helyezkednek el. Citoplazmájukban bazofil granulátumok figyelhetők meg (11. ábra).

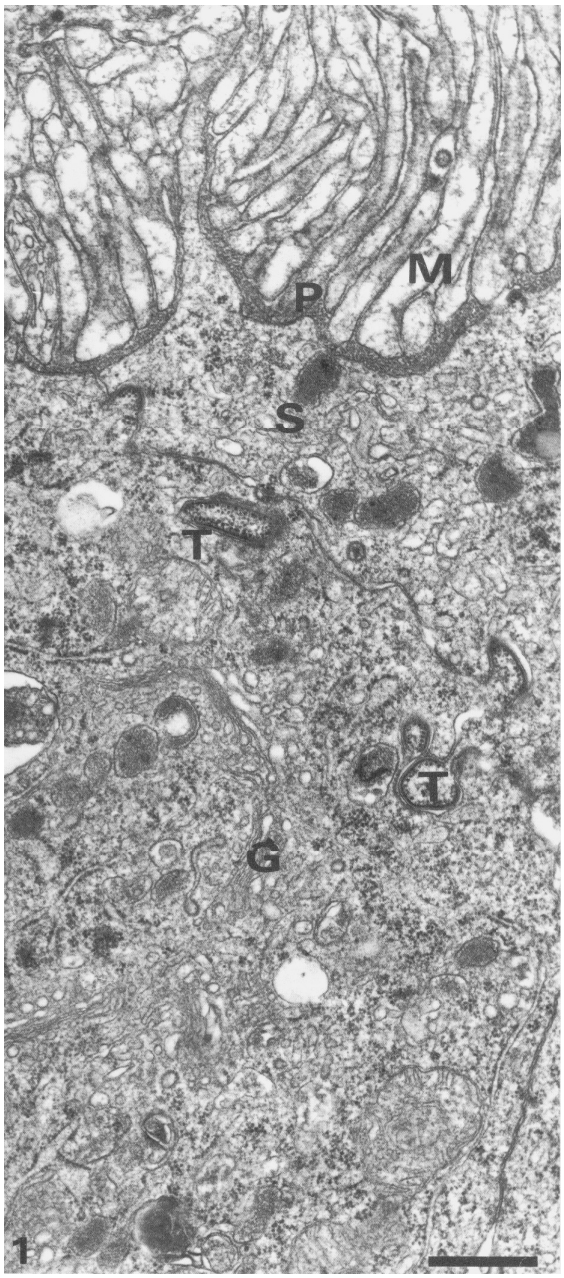


X400

11. ábra
Preovulációs tüsző (52 mm, F_1)
A zona radiata megvastagodott (1), a granulosa (2) magas hengerhám, a magok a hámsejtekben apikálisan helyeződnek el. A theca interna (3) gazdagon erezett (5). Theca externa (4).

5.1.2. Elektronmikroszkópos morfológiai változások a petefészekben a tüszőérés során

A kisméretű, 1-2 mm átmérőjű tüszők tüszőhámját alacsony, két rétegbe rendeződött, szorosan egymáshoz simuló köbhámsejtek alkotják. Magjuk ovális, jól előtűnő nucleolussal. A citoplazma bazális régiójában jelentős mennyiségű, a szemcsés endoplasmaticus reticulummal (RER) összefüggő cisterna, valamint szabad riboszómák csoportjai figyelhetők meg. A mitochondriumok a sejteken belül jellegzetes módon a mag alatti területeken, míg a Golgi-apparátusok supranucleárisan helyezkednek el. A citoplazmában mikrotubulusok és a bazális területen mikrofilamentumok alkotta fejlett hálózat figyelhető meg. Már ebben a fejlődési fázisban jelen vannak a citoplazmában a transosomák a laterális plazmamembrán alatt, vagy apikálisan, a sejtfelszín közelében. A petesejt feszínét alkotó mikrobolyhok között granulosanyúlványok figyelhetők meg. A két sejt között a perivitellinális rétegben fibrillumok láthatóak (12. ábra).



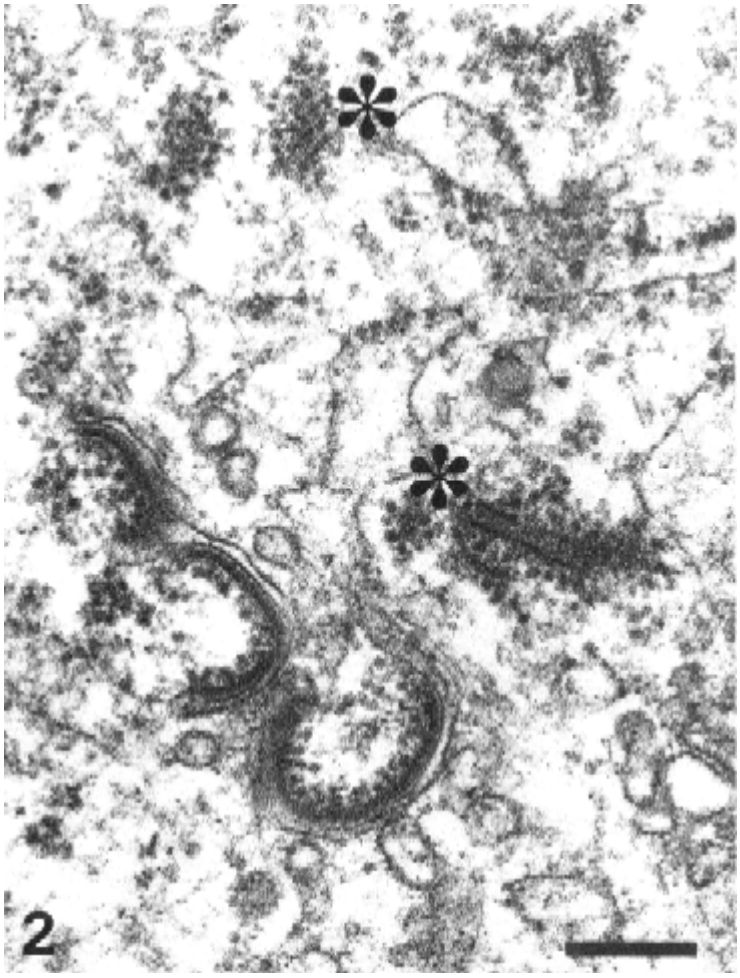
Mérővonal: 0.5 μm

x31000

12. ábra

Granulosa hámsejt apikális része egy 1 mm átmérőjű tüszőből.

A sejthatáron több transosoma (T) is látható, valamint hosszú, lapos Golgi apparátus (G) és elektrondenz szekréciós granulumok (S). A membrana pervitellina-ba (P) a petesejt mikrobolyhai (M) nyúlnak be.

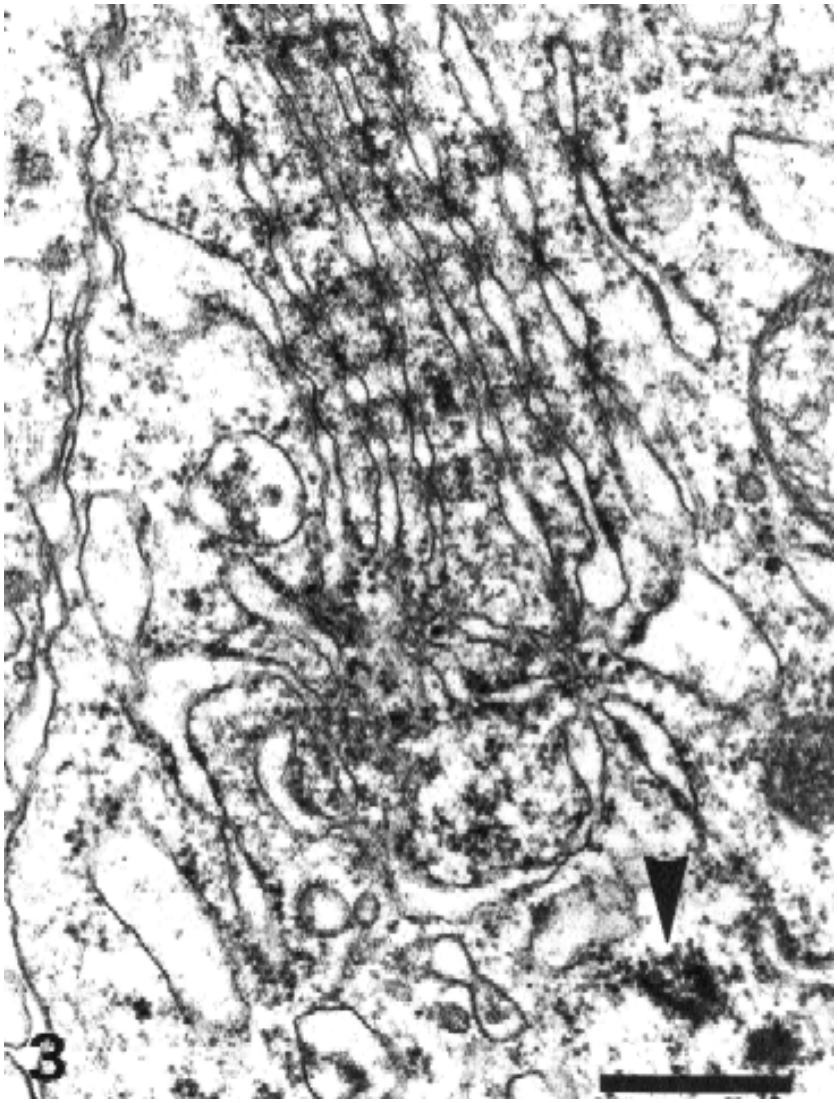


13. ábra
Komplett struktúrájú transosomák és prekurzorjaik (csillag) egy 2 mm átmérőjű tüsző granulosa hámsejtjéből.
X59 000
Mérővonal: 0,25 μm

A növekedésnek indult, 3-6 mm átmérőjű tüszőkben a granulosa sejtek kezdenek megnyúlni, de magjuk változatlan marad. A transosomák száma megszaporodik, elsősorban a laterálisan és apikálisan, közel a plazmamembránhoz. A transosomák felépítése egységes, a metszeteken egy félkör alakú, erősen elektrondenz lemezként jelenik meg, amelynek belső felületéhez vékony rétegben riboszómaszerű, apró elektrondenz szemcsék tapadnak. (13. ábra).
A transosoma külső rétege nincs kapcsolatban a plazmamembránnal. Általában a sejteknek azon területén fordulnak elő nagyobb számban, ahol a sejt ujj-

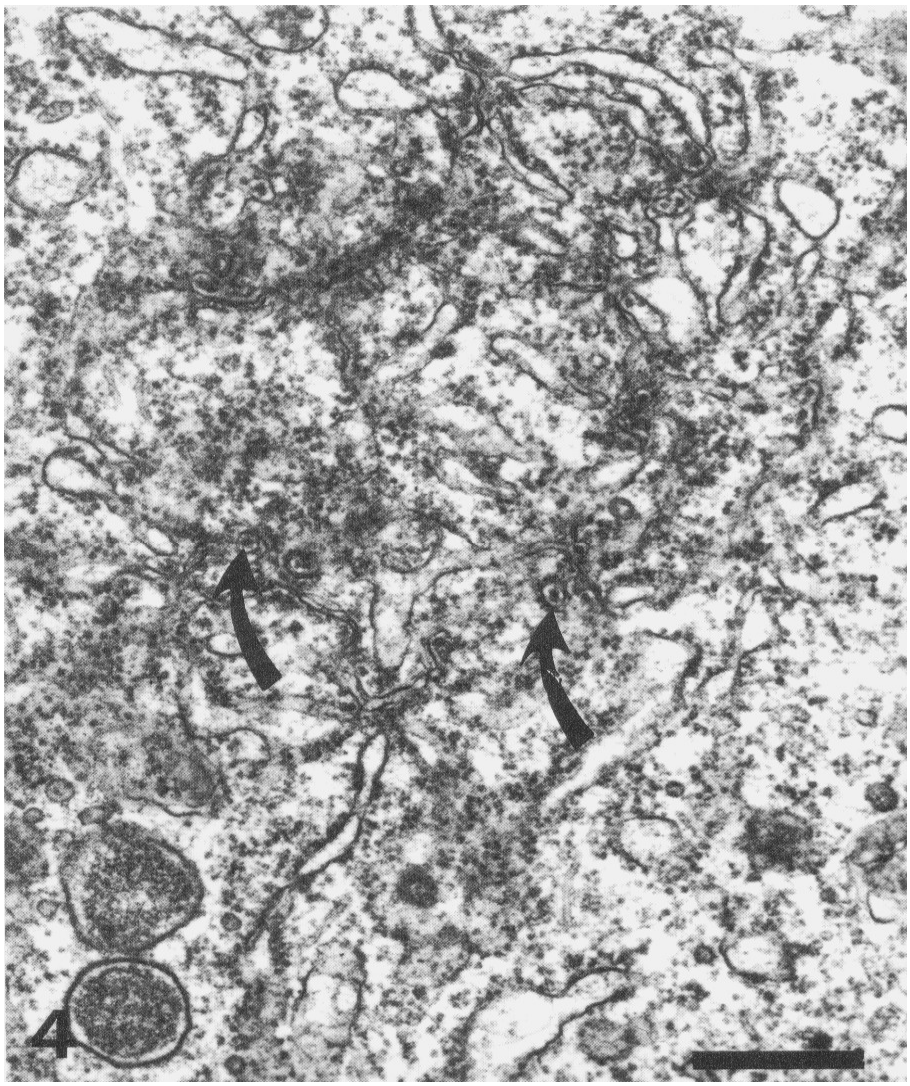
szerű képletek formájában nyúlványokat bocsájt a szomszédos sejtek, vagy a petesejt felé. Egyes esetekben a transosomák elektrondenz testekbe zárt képletként tűnnek fel. A sejtek apikális részében olyan képletek is megfigyelhetők, amelyek feltehetően a transosomák alkotóelemeit fogják képezni, mint amilyenek azok az elektrondenz lemezek, amelyeket mindkét oldalról riboszómaszerű szemcsék borítanak.

A szemcsés endoplasmatikus retikulum jól fejlett és két specifikus jellegzetességgel rendelkezik, amelyek közül az egyik a szemcsés endoplasmatikus retikulum membránjával kapcsolatban álló annulált (gyűrűs) lemezes struktúra (14. ábra), a másik pedig azok a fenestrált területek, amelyek sima felületű cisternák és csövecskék finom, egymással közlekedő hálózatát foglalják magukban.



14. ábra

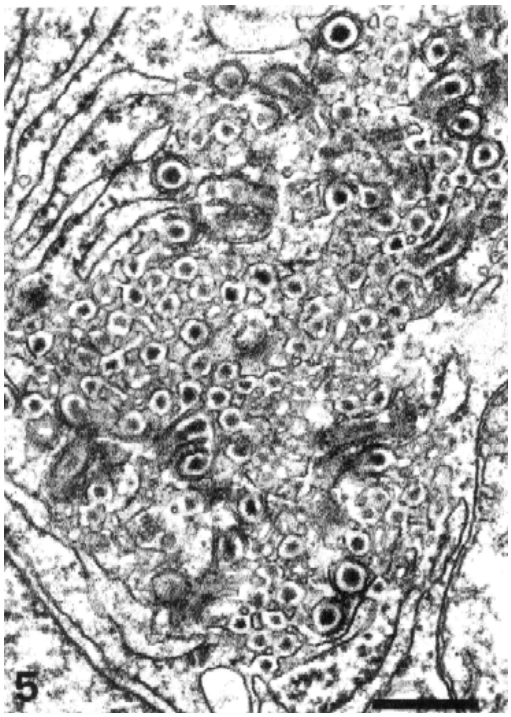
Gyűrűs (annulált) lemezek és prekurzorok (nyíl) egy 5 mm átmérőjű tüsző granulosa sejtjéből.
X37 000
Mérővonal: 0.5 μm



A tubulusok közötti terekben elektrondenz maggal rendelkező granulumok felhalmozódása figyelhető meg. A belső elektrondenz rész ismeretlen eredetű, egynemű, gömbökbe vagy kötegekbe tömörült anyagból áll. (15., 16. ábra) A fenestrált terület körül elhelyezkedő RER cisternái sugaras elrendeződést mutatnak (15. ábra).

15. ábra
Sugaras elrendeződésű szemcsés endoplazmás retikulum (RER) ciszternák. Középpontjukban elektrondenz granulum (nyíl) felhalmozódás. Tüsző átmérő: 7 mm.

X29 000,
Mérővonal: 0.5 μm



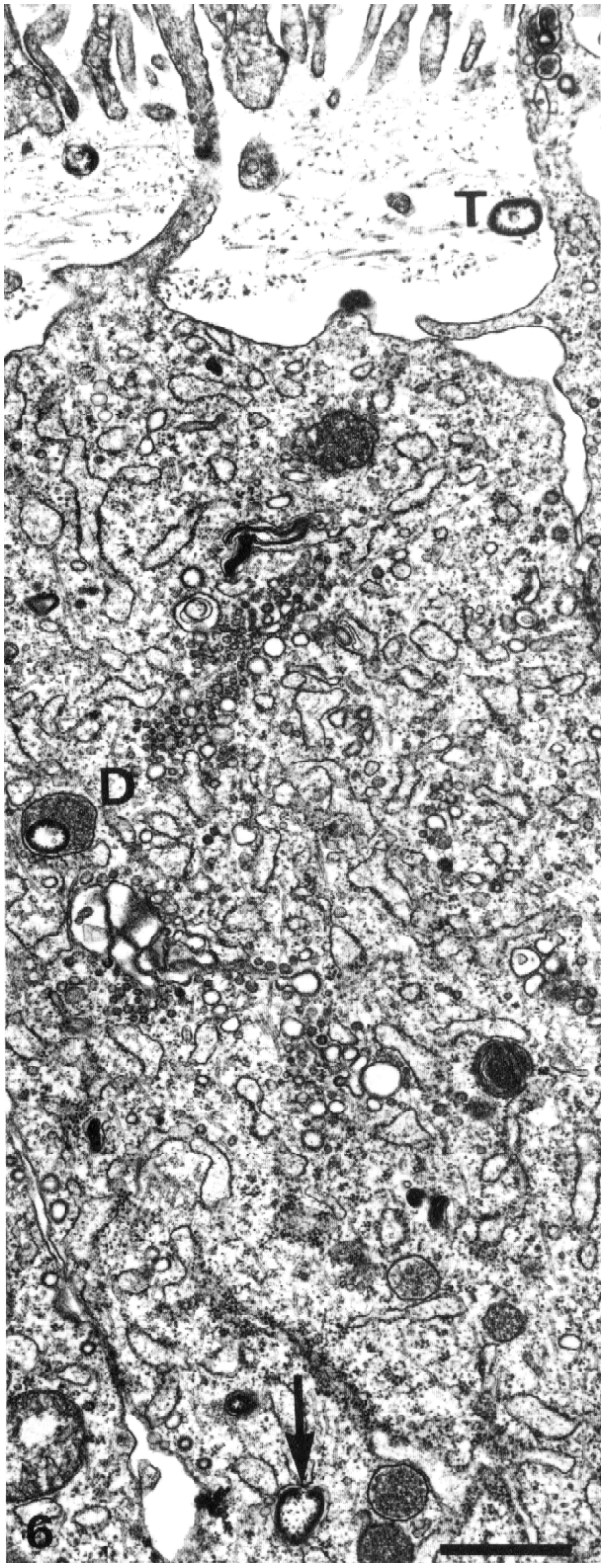
16. ábra
Citoplazmában elhelyeződő elektrondenz granulumok, amelyek szoros kapcsolatban állnak a RER ciszternákkal közlekedő csövecskék rendszerével.
Tüsző átmérő: 14 mm.

X48 500
Mérővonal: 0.3 μm

Az elektrondenz maggal rendelkező testek csak a tüszőhám sejtjeire jellemzőek, a theca sejtekben nem fordulnak elő. A Golgi-apparátus a szomszédságában elhelyezkedő elektrondenz maggal rendelkező testekkel a citoplasma apikális részében helyezkedik el. A basális területen nagy mennyiségben mitochondriumok láthatók mikrofilamentumok sűrű hálózata által körülvéve. A perivitellinális réteg hasonlatos a kis fehér tüszőkéhez.

A 8 mm-nél nagyobb tüszőkben (kis és közepes sárga tüszőkben) a granulosa egyrétegű, oszlopos jellegű hám, nagymértékben hasonló felépítéssel, mint a kis tüszőkben, azzal a különbséggel, hogy a transosomák száma ebben a fejlődési stádiumban lényegesen kevesebb és már csak a petesejtbe nyúló sejtfalnyúlványok hegyén lelhető fel (17. ábra). Egyes felvételeken felismerhető a

petesejt szikcseppjeibe inkorporált transosomák maradványa. A granulosa sejtek között gyakran széles intercelluláris terek figyelhetők meg, amelyeket számos hosszú, laterális sejtnyúlvány hidal át. Az érintkező felületeket tipikus desmosomák rögzítik. A közepes méretű sárga tüszők perivitellinális rétegében elektrondenz durva rostok koncentrálódása látható.



17. ábra

Tüsző hámsejt jól fejlett szemcsés endoplazmás retikulummal. Számos kisebb vezikulum figyelhető meg a Golgi apparátus körül. A mélyen benyúló citoplazma nyúlványban transosoma figyelhető meg (nyíl). A másik transosoma (T) egy perivitellinális állományba benyúló apikális sejtnyúlványban helyezkedik el. Elektrondenz test

(D) transosoma-szerű struktúrát tartalmaz. Tüsző átmérő: 9 mm.

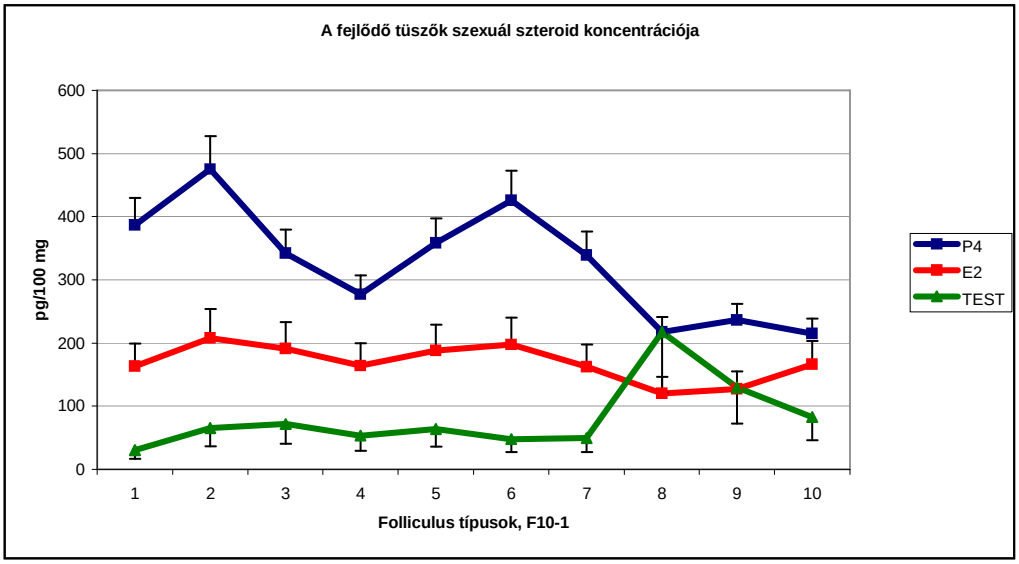
X18 000,
Mérővonal: 1 μm

5.1.3. A funkcionális változások a fejlődő tüszők szexuál szteroid tartalmában

A legmagasabb P értéket a legnagyobb sárga tüszőkben (F_1, F_2) és a legkisebb sárga tüszőkben (F_6) mértük. A P értékek alacsonyabbak a közepes méretű sárga tüszőkben (F_3, F_4, F_5) és alacsonyak a kis fehér folliculusokban (F_8, F_9, F_{10}).

Az E_2 tartalom nem mutat jelentős változásokat a különböző méretű tüszők esetében, de szintje a kis fehér tüszőkben a legalacsonyabb (F_8, F_9).

A T értéke alacsony a sárga és a nagy fehér tüszőkben, de magas a kis fehér tüszőkben.



18. ábra
Fejlődő tüszők szexuál szteroid tartalma

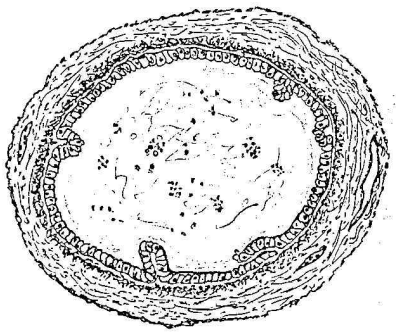
2.táblázat
A szexuál szteroid értékek variancia analízisének eredményei

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1									
F2				P p<0.01					
F3									
F4						P p<0.01			
F5									
F6								P p<0.01	
F7									
F8	T p<0.01	T p<0.01	T p<0.01	T p<0.01	T p<0.01	T p<0.01	T p<0.01		

5.1.4. Fénymikroszkópos morfológiai változások a petefészekben a tüszőatrézia során

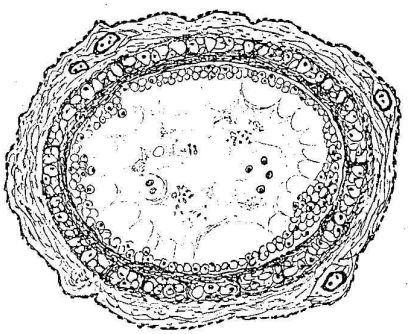
A tüsző atréziának hét típusát tudtuk elkülöníteni egyes sejtek jelenléte, hiánya, dominanciája illetve a szikállomány elhelyeződése alapján.

Eredményeimet először egy összefoglaló, tipizáló grafikus ábrán mutatom be:



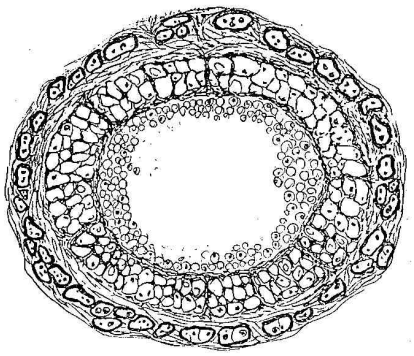
1. típusú atrézia

proliferálódó granulosa,
theca interna,
theca externa elváltozások nélkül



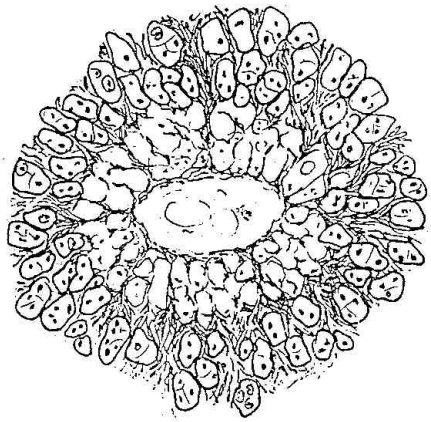
2. típusú atrézia

proliferálódó granulosa,
proliferálódó hiperplasztikus theca interna glanduláris sejtek,
theca externában egy-két „fészkes” glanduláris sejt



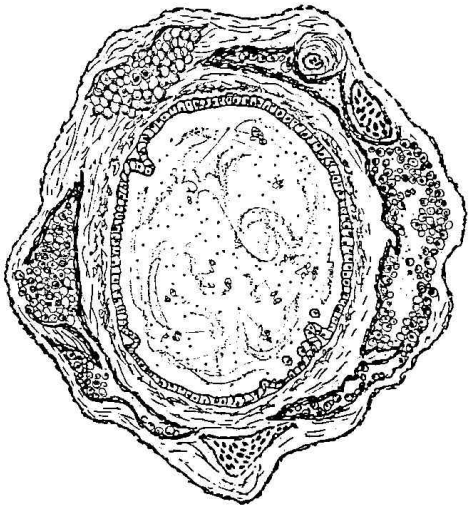
3. típusú atrézia

proliferálódó granulosa,
proliferálódó hiperplasztikus theca interna galnduláris sejtek,
proliferálódó theca externa glanduláris sejtek



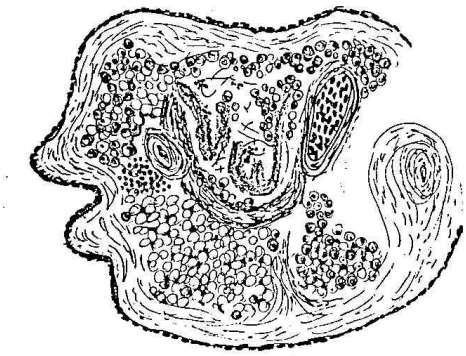
4. típusú atrézia

Küllőszerű kötőszövetes rostok mentén proliferálódó theca glanduláris elemek.



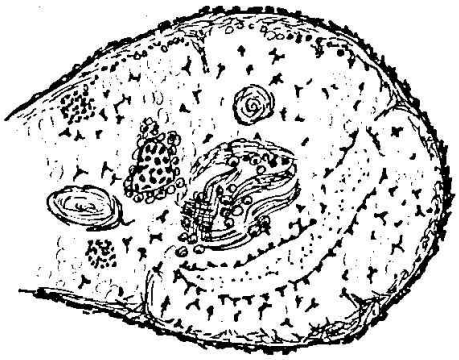
5. típusú atrézia

Szik és proliferálódó stromális glanduláris sejtek a a tüszőfal kötőszövetes rostjai között.



6. típusú atrézia

Proliferálódó, aktív stromális sejtek dominanciája a volt tüsző területén.



7. típusú atrézia

Zsíros degeneráció jeleit mutató stromális glanduláris terület a degradálódott tüszőben.

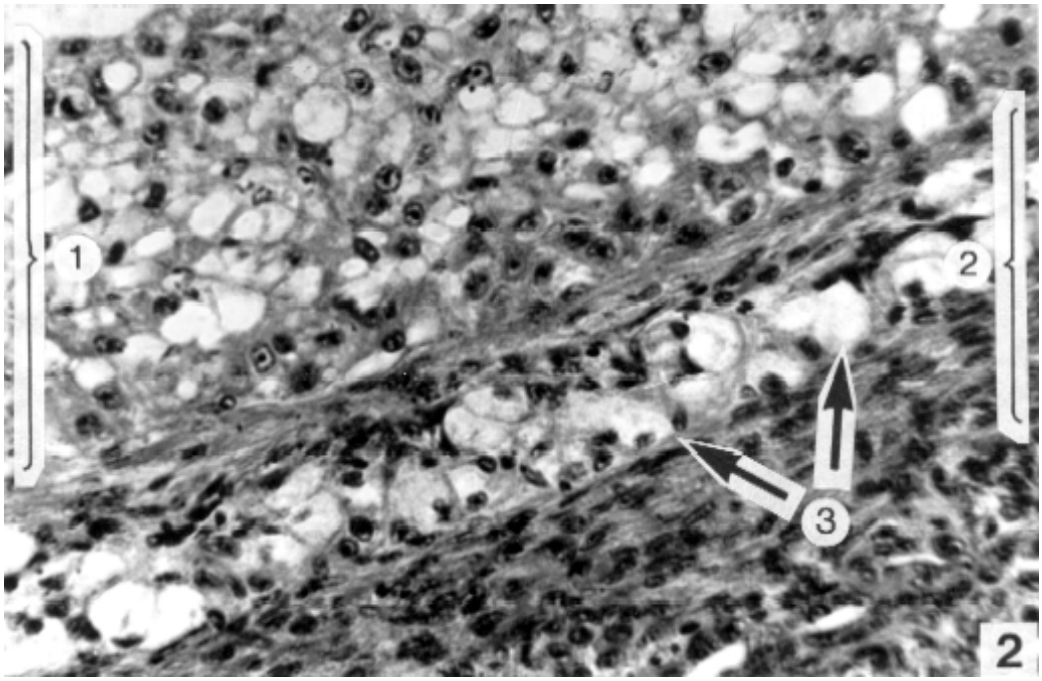
Az 1. típusba tartoznak a korai stádiumú atretikus tüszők (19. ábra).
A theca réteg épnek tűnik, a granulosa elveszti egyrétegű jellegét és élénk proliferáció jeleit mutatva, több rétegben belenő a szik állományába. Ebbe a típusba tartoznak még azok a tüszők is, amelyek ennek a folyamatnak már előrehaladottabb stádiumában vannak, ahol a szikállományt már teljesen elárasztották a burjánzó granulosa eredetű sejtek, közöttük kis és közepes számban macrophagokkal. A sejtek gyakran dezintegráltak, vagy csak laza kapcsolatban állnak egymással a sejthalmazokon belül. Alakjuk gyakran szabálytalan, enyhén puffadtak és gyakran piknotikus a sejtmagjuk. Citoplazmájuk „lyukacsos” a kioldódott lipidcseppek következtében, amely lipid jellegű anyagok szintézisére és tárolására utal.
Makroszkóposan ezek a tüszők ép kis fehér tüsző benyomását keltik, a degradációs folyamatok beindulására csak egy-két apró jel utal. Színük fehér, de mattabb, tompább fényű, mint az ép tüszőké és tapintatuk puhább.

X100

19. ábra
1. típusú atrézia

A granulosa hám (1) elvesztette egyrétegű szabályos struktúráját, burjánzó hámsejtek szaporodnak be a szikállományba. A theca rétegében (2) a glanduláris sejtek hiányzanak, jellege kötőszövetes.

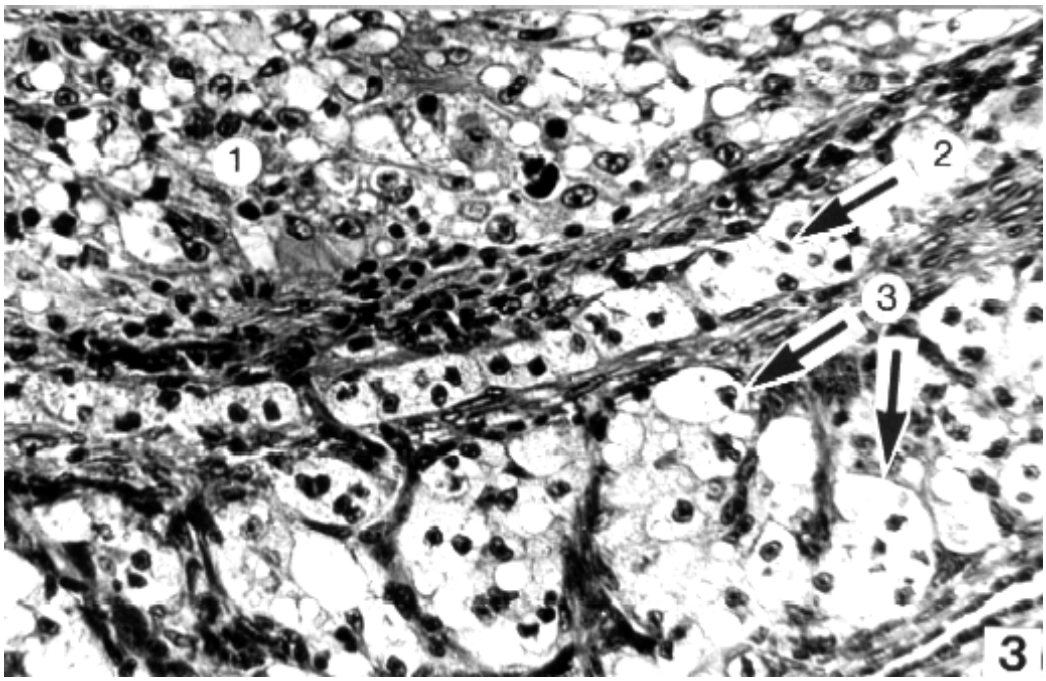
A 2. típusba azokat az atretikus tüszőket soroltuk, amelyekben a theca interna kötőszöveti elemei glanduláris típusúvá alakulnak és erős hyperplasiát mutatnak. Ezek a sejtek a granulosa réteg alatti lamina basalis kötőszöveti elemei és a theca externa közötti területet szorosan, 3-4 rétegben elhelyezkedve töltik ki. A sejtek citoplazmája kismértékben vakuolizált, sejtmagjukban szembetűnő a nucleolus. A sejtréteget egyes helyeken sugárirányú kötőszöveti sejtcsoportok szabdalják fel. Megfigyeléseink alapján a granulosa proliferációja és a theca interna sejtek transzformációja együttesen fordulnak elő. Szórványosan, a theca externában fészkes sejteket is meg lehet figyelni (20. ábra).
Makroszkóposan a 2. típusú atréziát nem lehet elkülöníteni rendkívül heterogén megjelenési formái miatt.



X250
20. ábra
2. típusú atrézia

A többrétegű, burjánzó granulosa hám sejtjei (1) a degeneráció jeleit mutatják, egyes hámsejtek magja piknotikus, a citoplazma vakuolizált. A theca interna (2) glanduláris sejtjei (3) hipertrofizáltak.

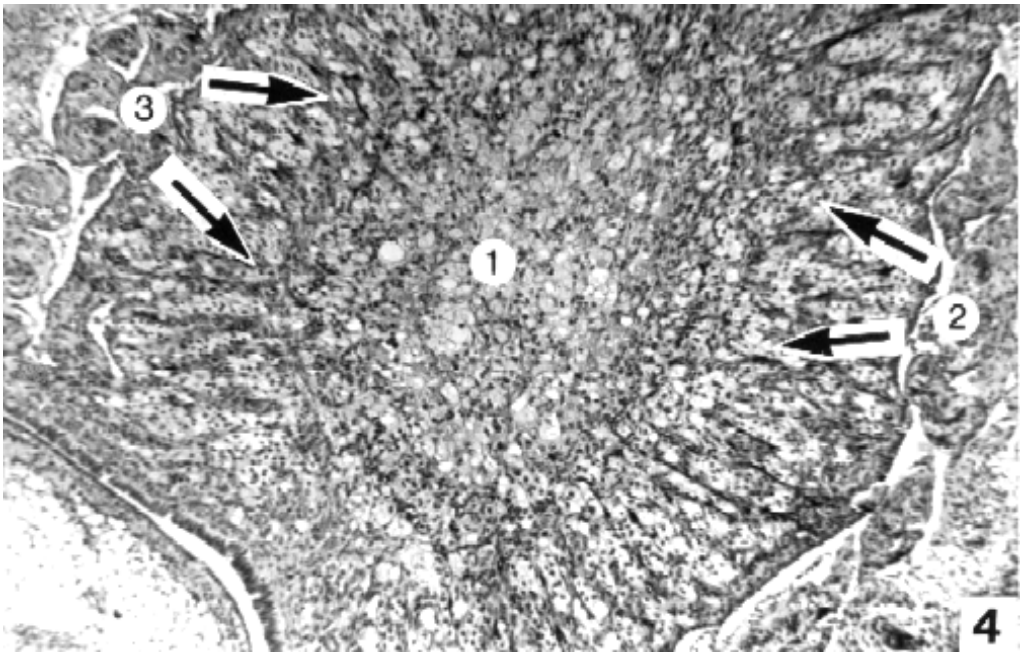
A 3. típus hasonló a 2. típushoz, a különbséget a theca externában nagy számban megjelenő fészkes sejtek adják. Ezek a sejtcsoportok előfordulhatnak az 500 μm-es folliculustól a 9-10 mm-ig, későbbi stádiumban már csak szórványos a jelenlétük a theca externában. A glanduláris típusú sejtek a theca externa sugaras elrendeződésű kötőszöveti rostjai által határolt ”fészkeiben” helyezkednek el szorosan egymáshoz illeszkedve. Citoplazmájuk világos színű, habos szerkezetű (ez valószínűleg a beágyazás során kioldott lipidek jelenlétére utal), a sejtmagok kerek, vagy ovális formájúak és szembetűnően kifejezett nucleolust tartalmaznak. A 3. típusban tehát 3 különféle, eltérő eredetű sejttípus lelhető fel, amelyek erőteljes proliferáció jeleit mutatják, amelyet a citoplazma gyakori vakuolizációja kísér. A kioldódott lipidek valószínűleg akkumulált prekurzor koleszterol észterek, amelyek a szteroid szintézis kiinduló vegyületei (21. ábra).
Az atrézia 3. típusú, előrehaladottabb fázisában a theca interna kötőszöveti elemei túlnövik a glanduláris sejteket, a granulosa sejtek elárasztják az egész szik állományt és a theca externában a fészkeket elválasztó rostok megvastagodnak,a theca externa ”elkötőszövetesedik”. Előrehaladottabb állapotban a tüsző helyét stromába süllyedt hegszövet jelzi.



X250
21. ábra
3. típusú atrézia

Piknotikus magvú, burjánzó, püffedt granulosa hámsejtek (1) az ooplazmában. A theca interna glanduláris sejtjei (2) jól elkülöníthetők, a theca externa „fészkei” nagymennyiségű glanduláris sejttel (3) vannak kitöltve.

A 4. típusba csak a 0,5-1,00 mm-nél kisebb atretikus tüszőket tudtuk besorolni. A petefészek felszínéből kiemelkedő tüszőknél ez az atrézia típus nem fordul elő. Jellegzetessége, hogy a theca externa glanduláris sejtjei a küllőszerű kötőszöveti rostok mentén, fészkes elrendeződésben élénk proliferáció jeleit mutatják. A sejtszaporodás a petesejt középpontja felé haladva gyakran túlnövi a glanduláris theca interna sejteket és a szikállományt kitöltő granulosa sejteket. Ennél az atrézia típusnál nem figyelhető meg koncentrikus kötőszöveti rétegek kialakulása (22. ábra).

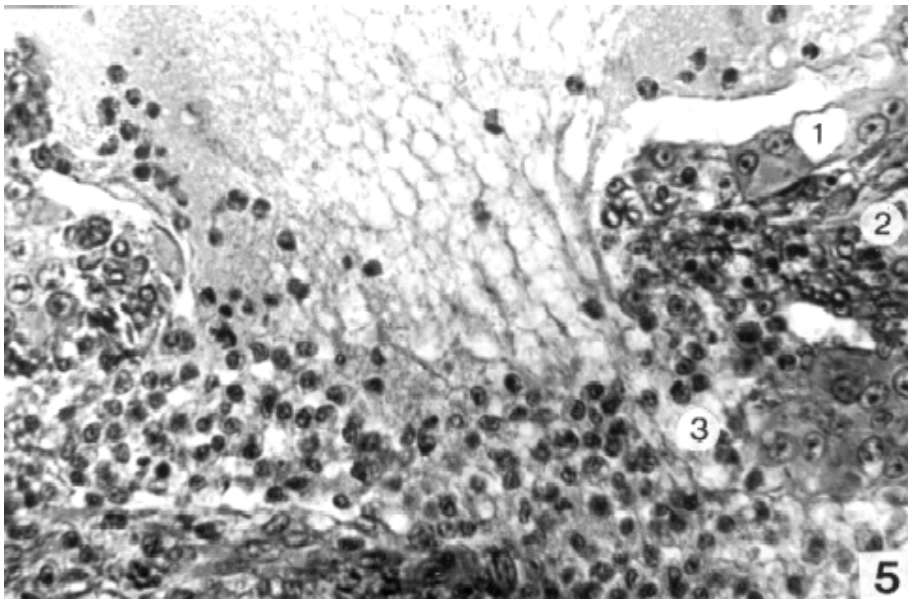


X70
22. ábra
4. típusú atrézia

Szembetűnő a theca externa megvastagott rétege, amelyben a „fészkes-glanduláris” sejtek (2) sugárirányú kötőszövetes váz (3) mentén helyeződnek el. A szikállományt dezintegrált granulosa hámsejtek nőtték be (1).

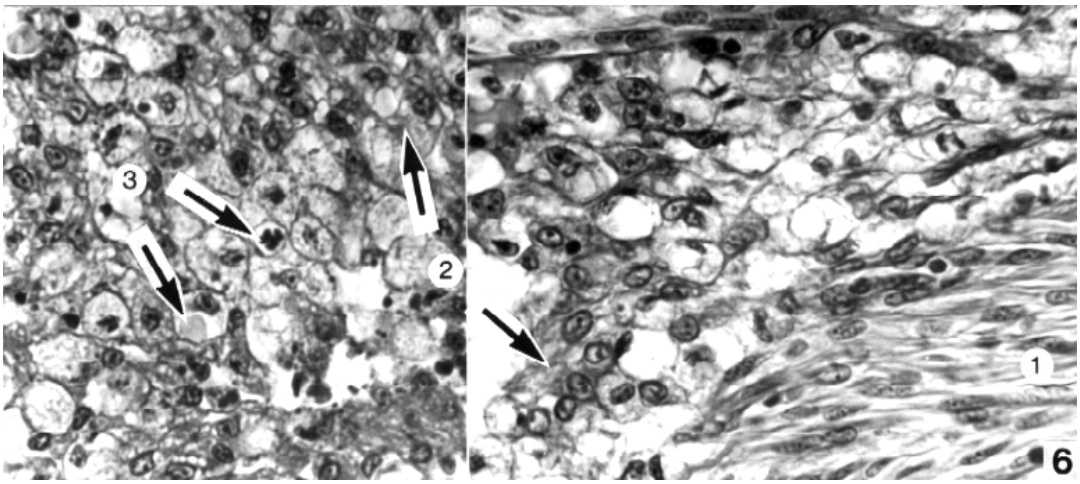
Az 5. típus mint ‘bursting’ atrézia ismert, amelynél a tüszőfal teljesen, vagy részlegesen átszakad a degeneratív folyamatok eredményeképpen és a szikanyag vörös vérsejtek és plazma kíséretében utat tör a kötőszöveti rostok közé, vagy a hasüregbe (23. ábra). Jelen esetben mi csak az első változatot vizs-

gáltuk. A rostok közé jutott szikanyag körül mindig stroma sejtek figyelhetők meg, mintegy azt sugallva, hogy megjelenésüket a szik indukálja.
A stroma sejtek alakja rendkívül polimorf, jól elkülönülnek a környezetet alkotó kötőszöveti sejtektől. Sejtmagjuk nagy kerek, vagy ovális, a nucleolus kifejezett. Citoplazmájuk gyengén festődő, gyakran vakuolizált, néhány esetben fagocitált szikszemcsét tartalmaz. Az 5. típusú atrézia kezdeti stádiumában a stroma sejteken degeneratív elváltozások még nem figyelhetők meg, ellentétben a tüszőt alkotó többi sejttípussal. A granulosa egyrétegű, de a hámrétegben nagy számban találhatók leépülő tüszőhám sejtek (sötéten festődő citoplazma, piknotikus mag), a tüszőfal átszakadásának helyén a hám folytonossági hiányt mutat.
A folyamatért felelős lizoszómális hidroláz típusú enzimek aktivitásának eredményeként a tüszőfal egyes rétegeinek szoros kapcsolata meglazul és a repedést követően szik jelenik meg a granulosa és a lamina basalis, a granulosa sejtek és a theca interna sejtek között. Az áttörés helyéről kiindulva a szik fokozatosan elárasztja az érintett területeket. A tápanyagellátási problémák csak felgyorsítják a már folyamatbanlévő degeneratív folyamatok.
Ennél az atrézia típusnál csak a stroma sejtek rendelkeznek glanduláris, lipid szintetizálásra utaló morfológiai jellemzőkkel.
Ennek az atrézia típus makroszkóposan is elkülöníthető, kívülről látható jelei vannak a tüszőfal felrepedésének és a szik megjelenésének a kötőszöveti rostok között. A tüszők felszíne dudorzatos, hullámzó tapintatú, ugyanakkor a központi része inkább tömör gumilabdához hasonlít. A vékony theca rostokon és a serosán áttűnik a ”kifolyt” szik sárga színe, és szembetűnőek a felrepedést kísérő vérömlenyek is. A stigma megvastagodott, mattfehér és élesen elhatárolódik a környezetétől.
Az 5. típusú atréziát csak 19 mm-es tüszőátmérőig tudtuk megfigyelni, mert az ennél nagyobb tüszőknél az egész fal átszakad és a szikanyag a hasüregbe ömlik.

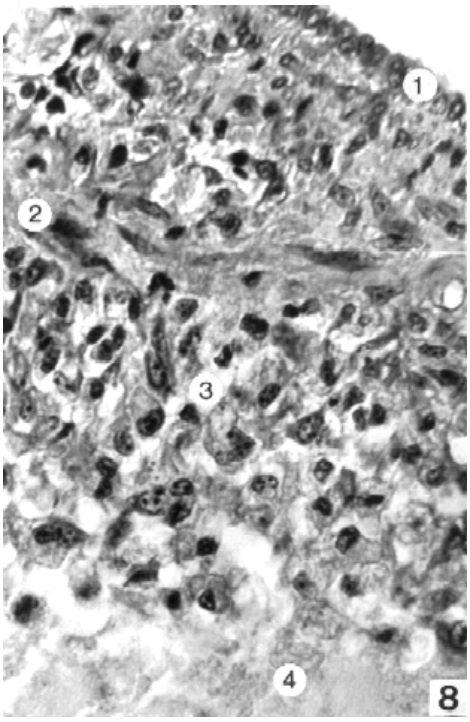


X250

23.ábra
5. típusú atrézia
„Bursting” atrézia; a degradálódott tüsző fala, a theca rétegek (2) átszakadtak és a szik, valamint az elfajult granulosa sejtek a lazább kötőszöveti rétegek lacunáiba, vagy a hasüregbe folynak ki. A granulosa réteg maradványa (1).

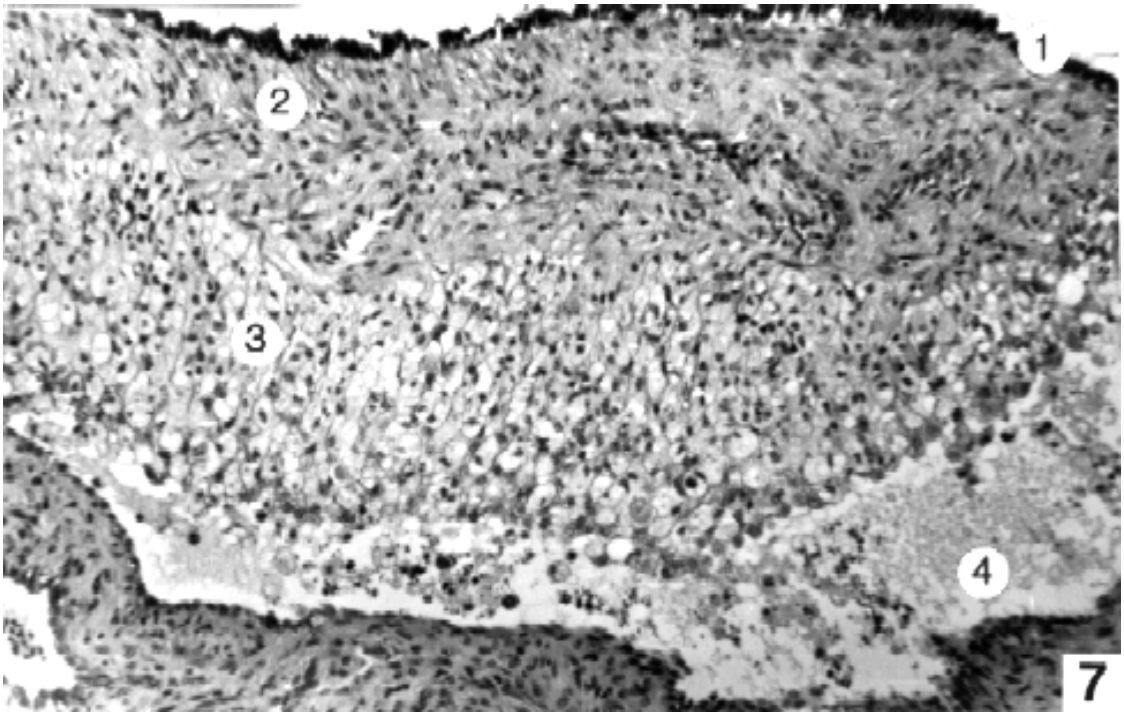


X400
24. ábra
5. típusú „bursting” atrézia
A képen jól nyomon követhető a kötőszöveti sejtek (1) transzformációja stromális glanduláris elemekké (2). Inkorporált szik szemcsék (3).



A 6. típusú atréziára a lipid szintetizáló stroma sejtek inváziója a jellemző. A tüsző eredeti felépítésére már csak egy-két sejtcsoport utal, a theca rétege szakadozott, kisebb szigeteket képez a domináló stroma sejtek között.
A sziket és stroma sejteket is tartalmazó atretikus tüszőkben nagy számban fordulnak elő heterofil granulocyták, lymphocyták és vörös vérsejtek.
Ez a típusú atrézia előfordulhat bármely méretű tüszőnél, de makroszkóposan csak 6-7 mm-es méretig lehet beazonosítani, az ennél nagyobb 6. típusú atretikus tüszők megjelenési formája már túl heterogén. 7 mm-ig egységesen a tüszők színe sötét mattsárga, feltűnően vastag, fehér stigmával, alakjuk ovális, tapintatuk petyhüdt, felszínük a későbbiek folyamán ráncossá válik.
X400
25. ábra
6. típusú atrézia

A stromális glanduláris szövet kialakulása. Csírahám (1). Fibroblasztok (2), stromális glanduláris sejtek (3), valamint szik (4).



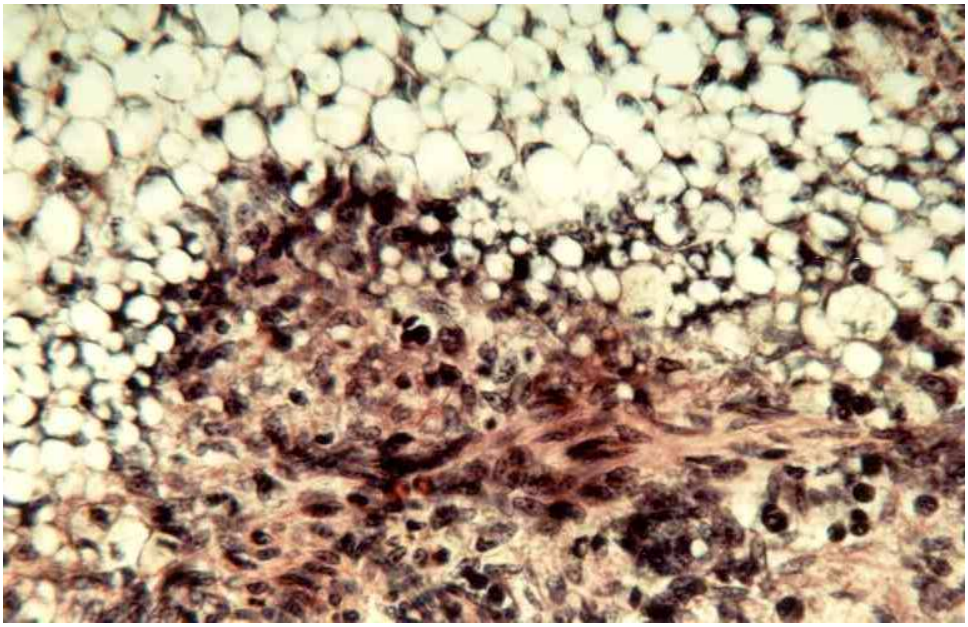
X100

26. ábra
6. típusú atrézia

Stromális glanduláris sejtek (3) a szikkel (4) elárasztott területeken. Kötőszöveti stroma (2). Csírahám (1).

A 7. típus az atretikus folyamatok utolsó stádiumát képviseli. Ennél a típusnál már nem láthatóak aktív stroma sejtek, mert döntő többségük átalakult univakuoláris vagy plurivakuoláris, a zsíros degeneráció jeleit mutató zsírszövetté. Gyakori, hogy ez az atrézia nem csak a tüszőkre korlátozódik, hanem egész petefészek lebenyekre terjed ki (27. ábra).

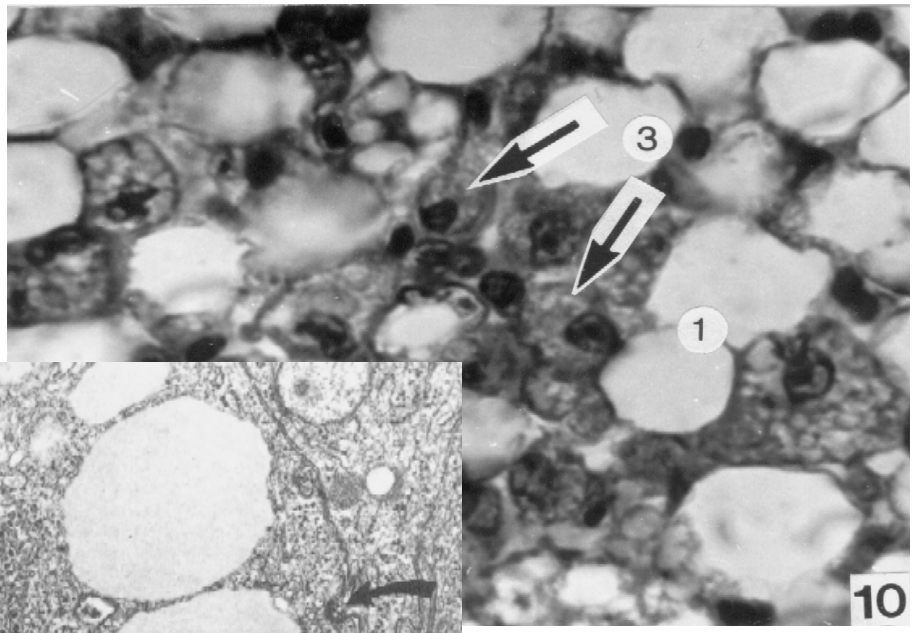
Makroszkóposan a 7. típusú atrézia nem mutat jellegzetes képet.
A leépülési folyamatok végső stádium a petefészek állományában figyelhető meg, amelynek eredményeként a kialakult hegszövet kötőszöveti rostjai újra beolvadnak a stromába.

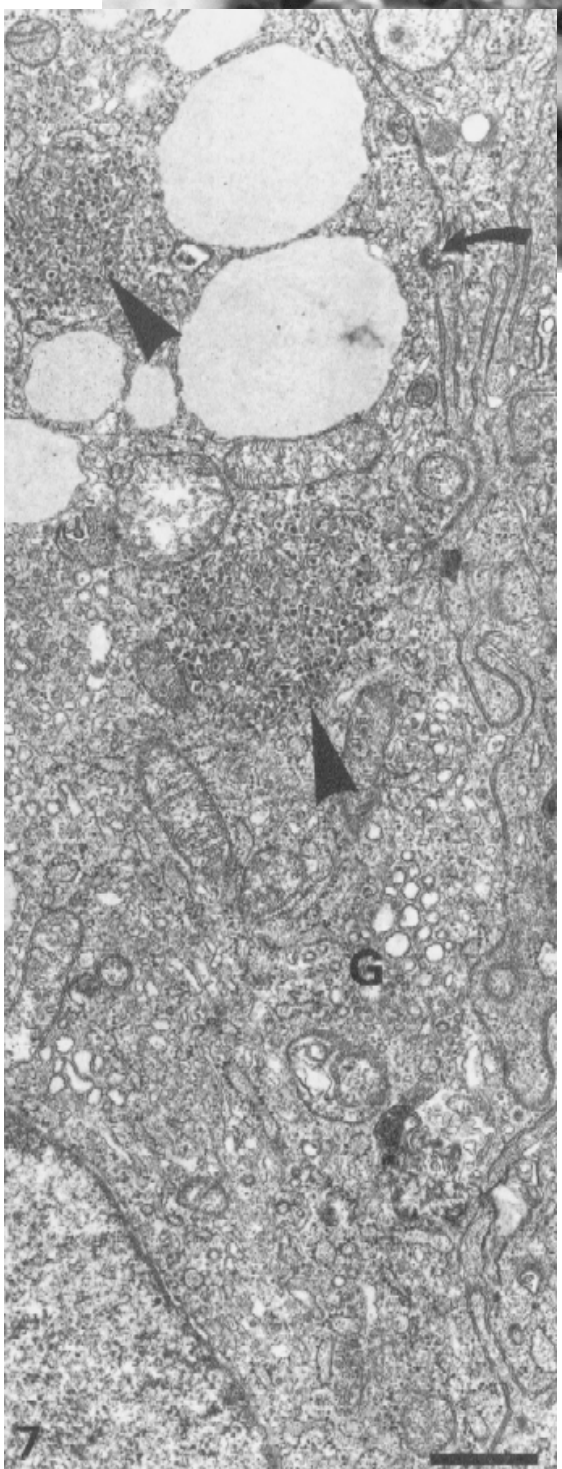


X80

27. ábra
7. típusú atrézia

A stromális glanduláris sejtek túlnyomó többsége zsíros elfajulás képét mutatja. Kötőszöveti rostok maradványa a sejtek között.





X600
28. ábra
7. típusú atrézia
A stromális sejtek univakuoláris (1) és plurivakuoláris (2) zsíros degeneráció jeleit mutatják. Aktív stromális sejtek (3).

5.1.5. Elektronmikroszkópos morfológiai változások a tüsző granulosa sejtjeiben a tüszőatrézia során

Atretikus tüszőminta minden méretnél és fejlődési fázisnál előfordult és a vizsgálatok szerint a leépülési folyamatok során nem volt semmilyen fázisspecifikus morfológiai jellemző megállapítható .

A tüszőfejlődés zavarára utaló legkorábbi jel a transosomák eltűnése a

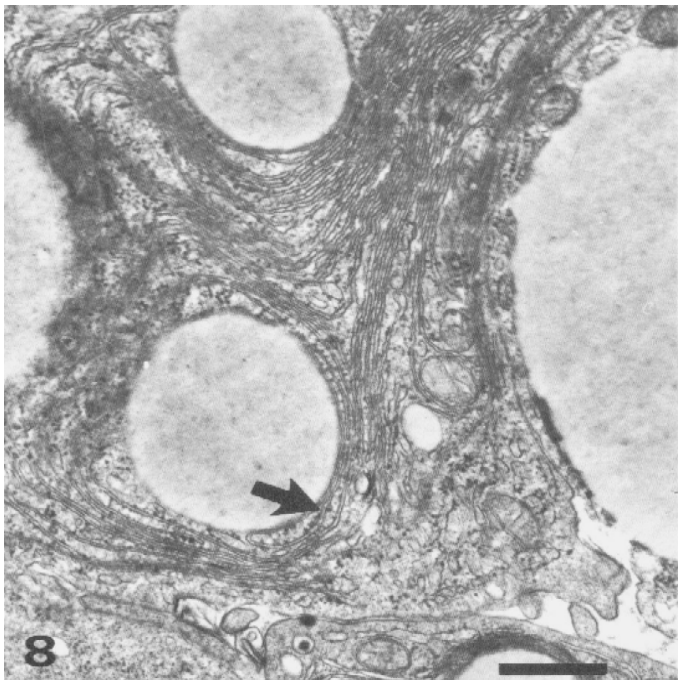
tüsző sejtek citoplazmájából, amelyek normálisan a sejtmembránokhoz közel, a sejtek apikális és laterális régiójában fordulnak elő. Ezeket olyan sejtekben is megfigyeltük, amelyek struktúrájukban egyébként teljesen intaktnak tűntek. A másik leggyakoribb kísérő jelenség a lipidcsepp felhalmozódás. A cseppeket gyakran sima felületű membránok veszik körül és néha kapcsolat figyelhető meg a szemcsés endoplazmatikus retikulum és a cseppek között (30. ábra).

29. ábra
Korai stádiumú atrézia

A citoplazmában lipid cseppek és nagy tömegben elektrondenz testek (nyílhegy) felhalmozódása figyelhető meg. A transosomák és precurzoraik eltűntek a granulosa sejtből, a Golgi ciszternák (G) enyhén duzzadtak. Egy transosoma maradványa (nyíl). Tüsző átmérő: 1 mm.

X21000

Mérővonal: 0,75 μm



X25500
30. ábra

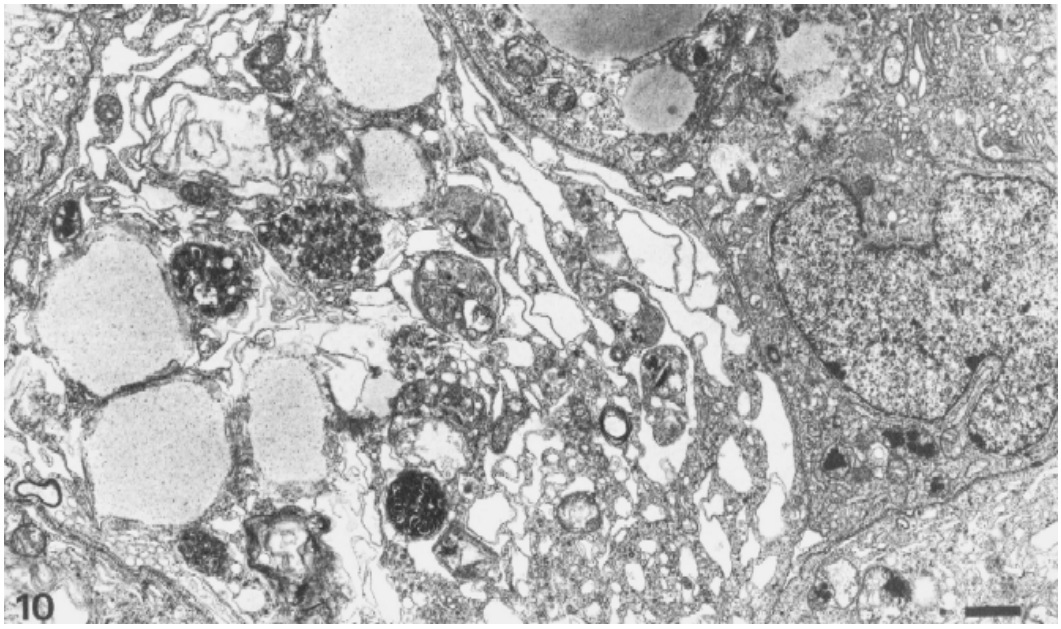
Granulosa sejt egy atretikus tüszőből (szürkés színű, puha tapintatú). Lipid csepp sima falú ciszternában. Figyelemre méltó a sima és szemcsés felületek átmenete (nyíl). Tüszőátmérő: 5 mm. Mérővonal: 0,5 μm

Mérővonal: 0,75 μm
x18 000

A leépülés előrehaladottabb fázisában a sejt alkotórészek integrációja megszűnik, a szemcsés endoplazmatikus retikulum üregei kitágulnak, elektrondenz, ismeretlen eredetű anyagot tartalmazó vakuolumok halmozódnak fel a citoplazmában, a mitochondriumok felpuffadnak és állományukban pelyhes jellegű anyag kondenzáció figyelhető meg.

31. ábra
3 mm átmérőjű atretikus tüsző granulosa sejtje. A lipid cseppeket riboszómáktól mentes membránok veszik körül. A mitochondriumok különböző sűrűségű anyagokat tartalmaznak.

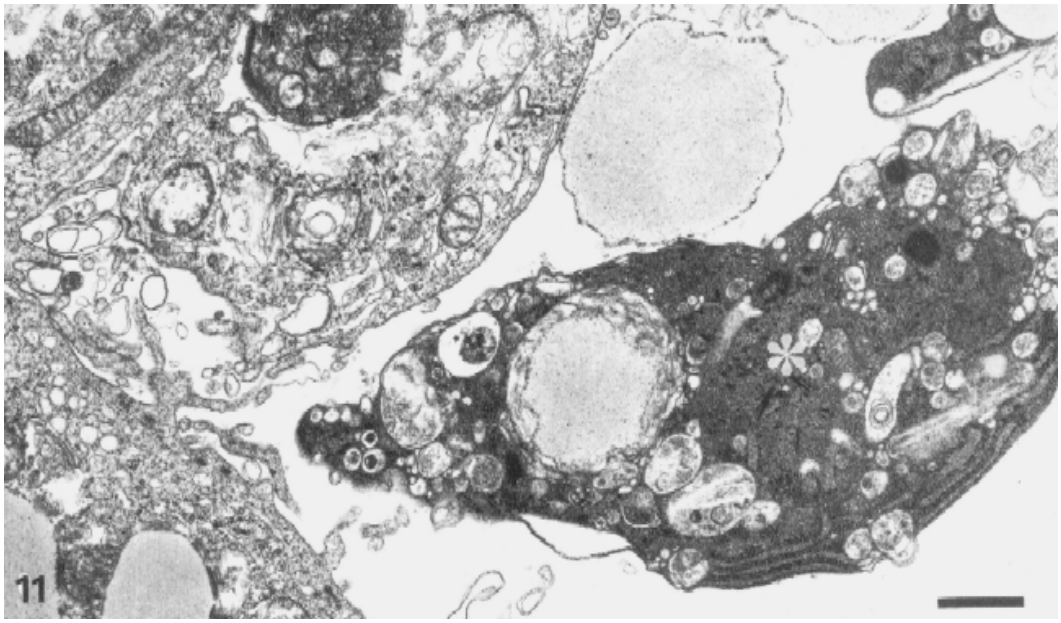
A degradálódás során csak ritkán látható autofág vakuolum. Az elektrondenz granulumokat a leépülési folyamatok nem érintik, még az atrófia végső fázisában is jól felismerhető a struktúrájuk a citoplazmában (29. ábra, 33. ábra).
A sejtmagokon mély invaginációk alakulnak ki, a maghártya mentén egyes esetekben kromatin kondenzáció figyelhető meg. A bazális lamina szakadozottá válik, az apikális és laterális sejtnyúlványok eltűnnek, megszűnik a sejtek közötti kapcsolat és a granulosa réteg szétesik. Sajátságos, hogy ugyanazon a vizsgálati mintán belül szinte teljesen ép és súlyosan degradálódott sejtek fordulhatnak elő egymás mellett, ami arra utal, hogy a leépülési folyamatok szinkron nélkül zajlanak.



x9500
32. ábra
Előrehaladottan atretikus granulosa sejt átnézeti képe.

Mérővonal: 1 μm

Egyes atretikus tüszőkben tipikus apoptotikus sejteket is megfigyelhettünk, amelyek szétszórtan, elkülönülten fordulnak elő, citoplazmájuk denz anyagot tartalmaz, amelybe lipid cseppek, duzzadt mitochondriumok és meglepően jó állapotban lévő szemcsés endoplazmás retikulum vezikulumok vannak be-ágyazva. A sejt magja alig felismerhető, kromatin állománya csomókban, a maghártya mentén helyezkedik el (33. ábra).



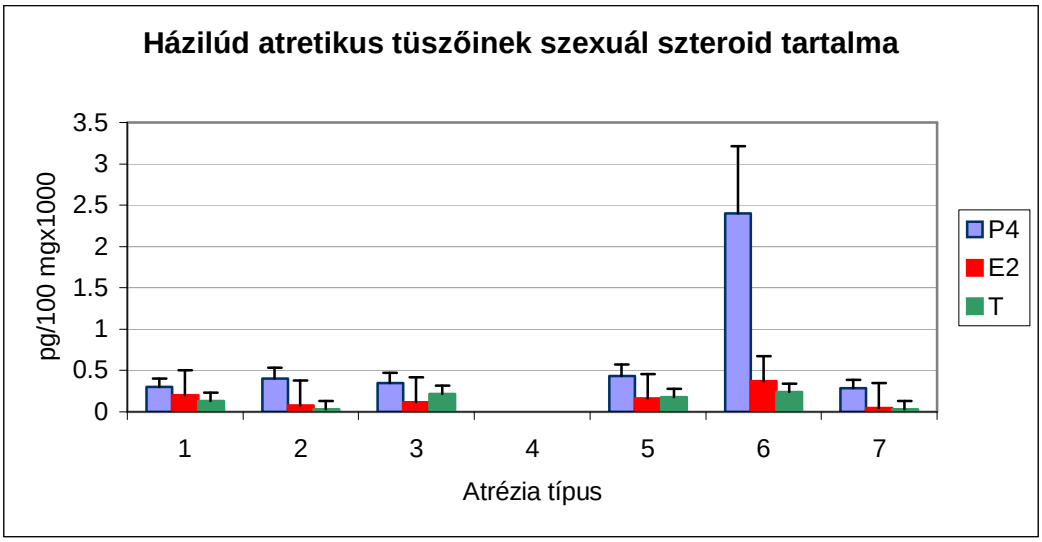
X15000
33. ábra

Dezintegrálódott apoptotikus sejt intenzív citoplazma kondenzáció jeleit mutatja. A mitochondriumok duzzadtak. A csillag a kumulálódott elektrondenz granulumokat jelzi.

Mérővonal: 1μm

5.1.6. Változások a degradálódó tüszők hormontartalmában

Az atretikus tüszők szteroid tartalmát típusonként mértük a tavaszi reprodukciós ciklus során (34. ábra).



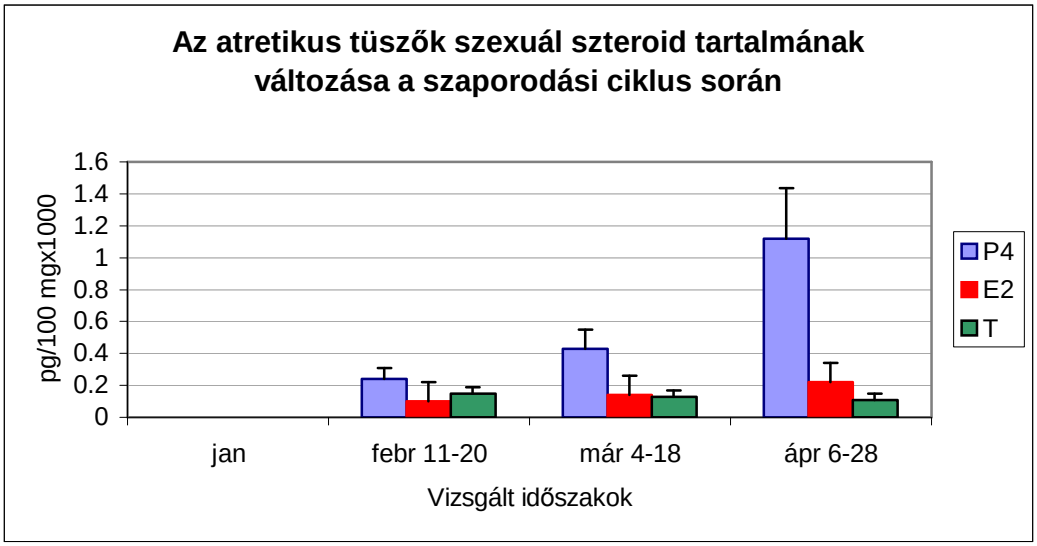
34. ábra

A P4 tartalom mutatja a legmarkánsabb változást a degradálódó tüszőkben. A legtöbb típusban értéke 200-400 pg/100 mg között változik, kivéve a 6. típust, ahol kiemelkedően magas értéket mutat, 2000 pg/100 mg.

A 17-β-ösztradiol szintén a 6. típusú atretikus tüszőkben a legmagasabb (279 pg/100 mg). Az ezt követő második legmagasabb értéket (203 pg/100 mg) az 1. típusban mértük, míg a többi típusban nem mutatkozott lényeges különbség.

A T értéke a 3. típusban a legmagasabb (220 pg/100 mg), és a legalacsonyabb a 2. és a 7. típusban (26 pg/100 mg és 25 pg/100 mg).

A szteroid értékek változását nem csak atrézia típusonként, hanem időben is vizsgáltuk, a szaporodási ciklus előrehaladtával (35. ábra). A vizsgálati időszakot három szakaszra osztottuk (február 11-től 20-ig - csúcstermelés, március 4-től március 18-ig - a degradációs fázis kezdete, április 6-tól április 28-ig - a szaporodási ciklus befejezése) és a szakaszokon belül vizsgáltuk a három szteroid hormon átlagos értékeit.
Megállapítható, hogy a P4 tartalom az atretikus tüszőkben a ciklus előrehaladtával jelentős mértékben megnő, míg a T csökken, az E2 pedig átmeneti csökkenés után emelkedő tendenciát mutat.

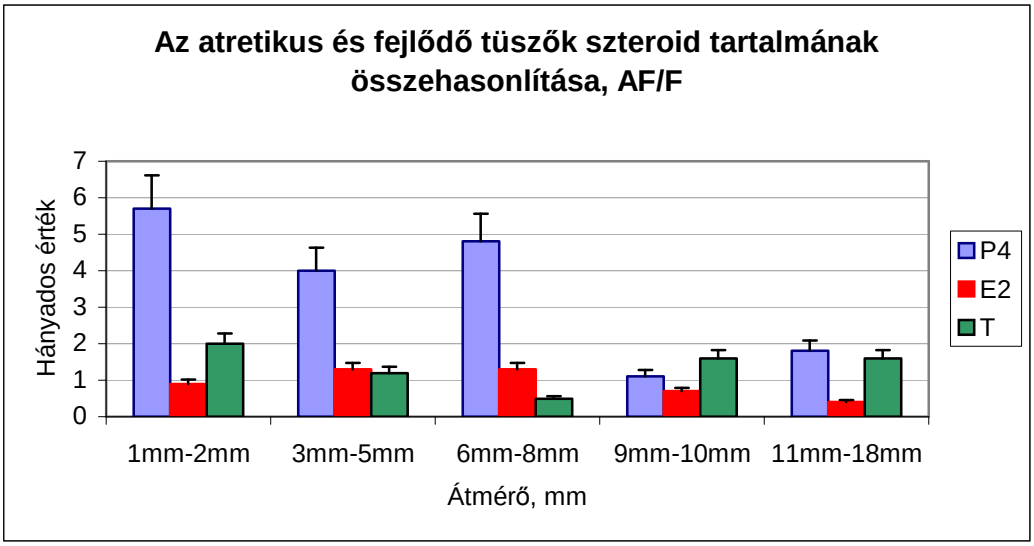


35. ábra

A fejlődő és degradálódó tüszők méretének és hormontartalmának ismeretében összehasonlítást végeztünk közöttük 18 mm-es átmérőnagyságig (36. ábra), ennél nagyobb degradálódó tüszőt a „bursting” effektus miatt nem volt módunkban feldolgozni. (A nagyméretű atretikus, „felrobbant” tüszők vizsgálatát akadályozta, hogy a hasüregben, a kifolyt szik következtében beindult enzimatikus folyamatok miatt az ilyen tüszők a mintavételkor már erősen macerálódott állapotban voltak.)
Az 1-2 mm-es nagyságú tüszők esetében az atretikus tüszők P tartalma majdnem hatszorosa a fejlődő tüszőkének. A 3-5 mm-es nagyságú tüszőknél a P tartalom négyszerese, a 6-8 mm-es tüszőknél pedig ötszöröse volt a fejlődő tüszőkének. 18 mm-ig a P tartalom csökkenő tendenciát mutat a degradálódó tüszőkben, de még így is meghaladja a fejlődő tüszőkben mért értékeket.

Az E_2 egyes méreteknél (1-2 mm, 9-10 mm, 11-18 mm) alacsonyabb a degradálódó tüszőkben, mint az épekben, de két kategóriában (3-5 mm, 6-8 mm) értéke meghaladja a fejlődő tüszőkét.

A T értéke az 1-2 mm-es kategóriában mintegy kétszerese, a legmagasabb, az ép tüszőkének. Ettől a mérettől felfelé a T hányados értéke csökken 6-8 mm-ig, majd a 18 mm-es méretig újra növekszik.



36. ábra

5.1.7. Lizoszómális enzimaktivitási vizsgálatok degradálódó tüszőkben, összehasonlítva a fejlődő tüszőkével

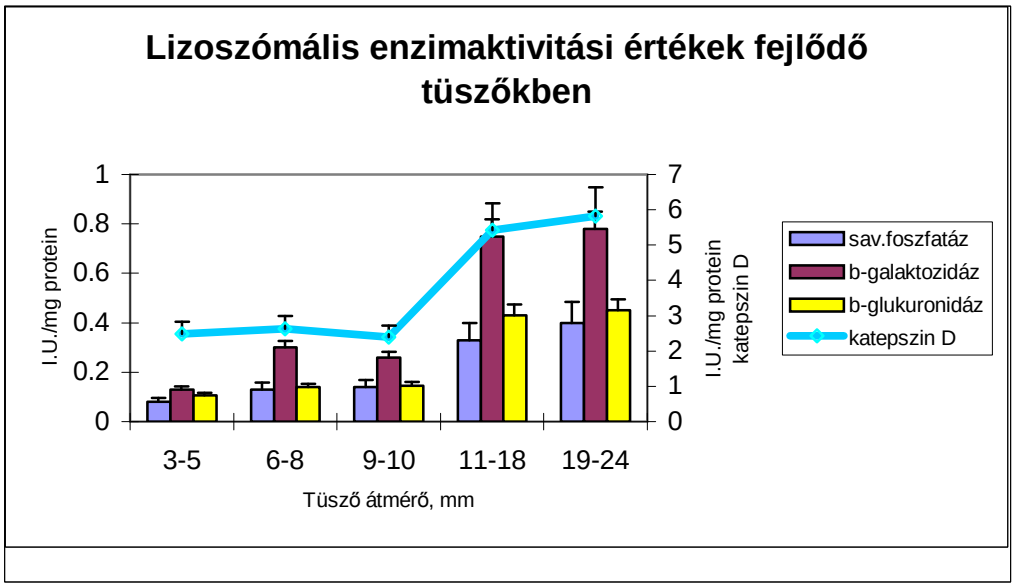
3. táblázat
Lizoszómális enzimaktivitási vizsgálatok eredménye degradálódó tüszőkben, összehasonlítva a fejlődő tüszőkével

Átmérő	savanyú foszfatáz I.U./mg/protein			β-galaktozidáz I.U./mg/protein			β-glukuronidáz I.U./mg/protein			katepszin D I.U./mg/protein		
	AF	F	AF/F	AF	F	AF/F	AF	F	AF/F	AF	F	AF/F
(F9) 3-5 mm	n=9 0,5 ±0,4	n=4 0,08 ±0,05	6,2	n=9 0,78 ±0,71	n=4 0,13 ±0,08	5,2	n=9 0,42 ±0,3	n=3 0,106 ±0,04	3,9	n=9 7,2 ±5,6	n=4 2,48 ±0,88	2,9
(F8) 6-8 mm	n=4 0,4 ±0,2	n=3 0,13 ±0,02	3,1	n=4 0,63 ±0,52	n=3 0,3 ±0,1	2,1	n=4 0,34 ±0,14	n=4 0,14 ±0,04	2,4	n=4 5,1 ±1.96	n=3 2,63 ±0,45	1,9
(F7) 9-10 mm		n=7 0,14 ±0,05			n=7 0,26 ±0,1			n=7 0,145 ±0,07			n=7 2,39 ±0,4	
(F6) 11-18 mm	n=6 0,67 ±0,3	n=2 0,33 ±0,23	2,0	n=6 1,31 ±0,7	n=2 0,75 ±0,63	1,7	n=6 0,61 ±0,4	n=2 0,43 ±0,38	1,4	n=6 10,6 ±6,6	n=2 5,42 ±4,27	1,9
(F5) 19-24 mm		n=2 0,4 ±0,02			n=2 0,78 ±0,11		n=6 0,61 ±0,4	n=2 0,45 ±0,11	1,4		n=2 5,83 ±2,58	

AF= atretikus follikulus
F=fejlődő follikulus

AF/F=hányados érték

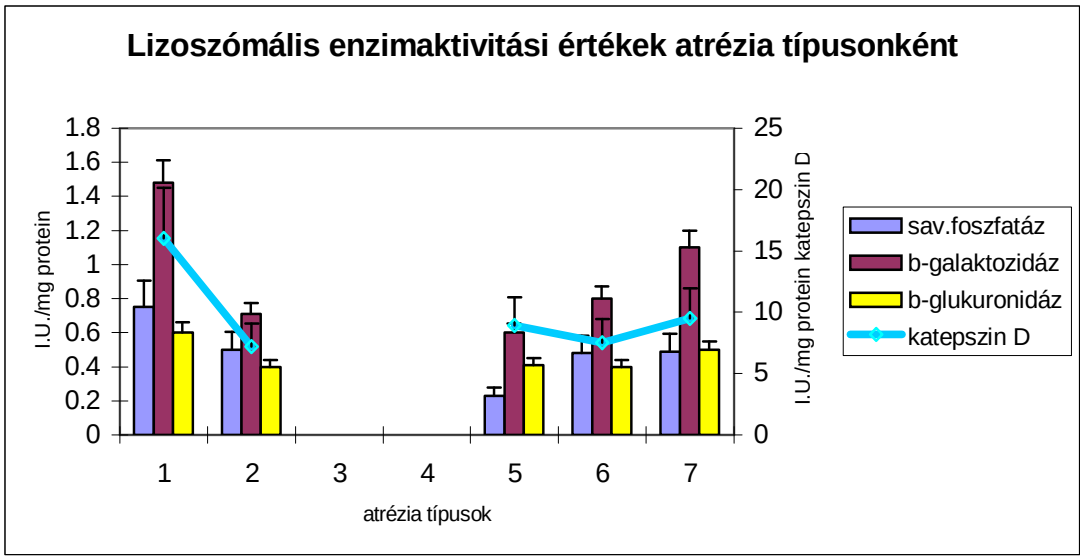
Első lépésben a fejlődő tüszők lizoszomális enzim aktivitását mértük meg F_9-től F_1-ig mind a négy enzimre (savanyú foszfatáz, β-galaktozidáz, β-glukuronidáz, katepszin-D). Az eredmények azt mutatták, hogy F_9-től F_7-ig az enzimaktivitás egyöntetűen alacsony, majd F_7-től F_4-ig aktivitásnövekedés mutatkozott, amely F_4-nél érte el maximumát (37. ábra). A legnagyobb tüszőkben (F_3-tól F_1-ig) az enzim aktivitás alacsony szintet mutat, amely megegyezik a legkisebb tüszők értékeivel.



37. ábra

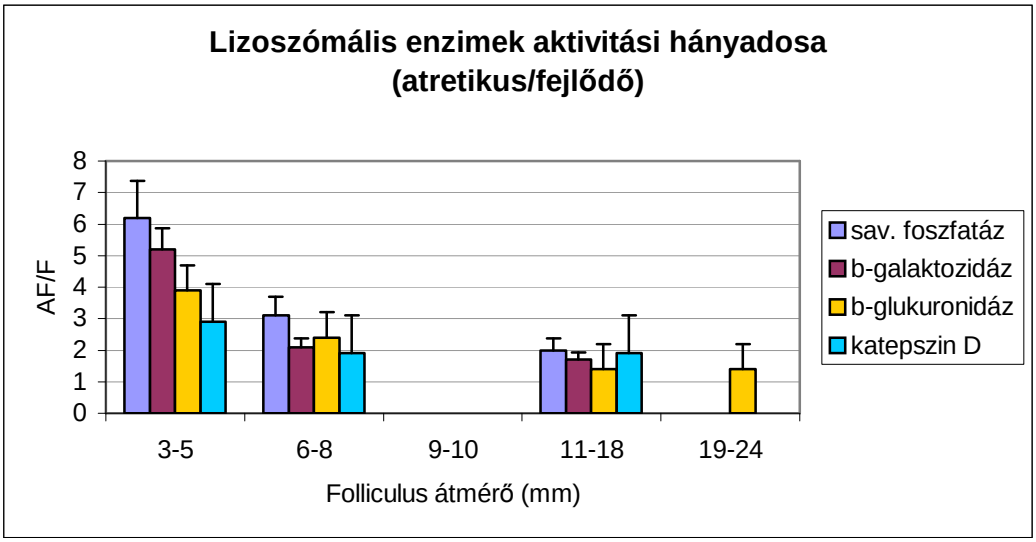
A degradálódó tüszőkben két szempont alapján vizsgáltuk a lizoszómális enzimaktivitást.

Az elsőben a fénymikroszkópos szövettani kép alapján, degradációs típusok szerint csoportosítottuk a tüszőket. Az eredmények alapján nem mutatkozott lényeges enzim aktivitásbeli különbség az egyes típusok között (38. ábra).



38. ábra

A vizsgálati eredményeket méret szerint is kiértékeltük (3 mm-től 18 mm-ig, amely megfelel az F_9, F_8, F_7 és F_6 méretnek) és megállapítottuk, hogy méret alapján sincs jelentős aktivitásbeli különbség, de ezek az értékek lényegesen magasabbak, mint az ép tüszőkben, elsősorban a 3-5 mm-es méretnél (39. ábra).



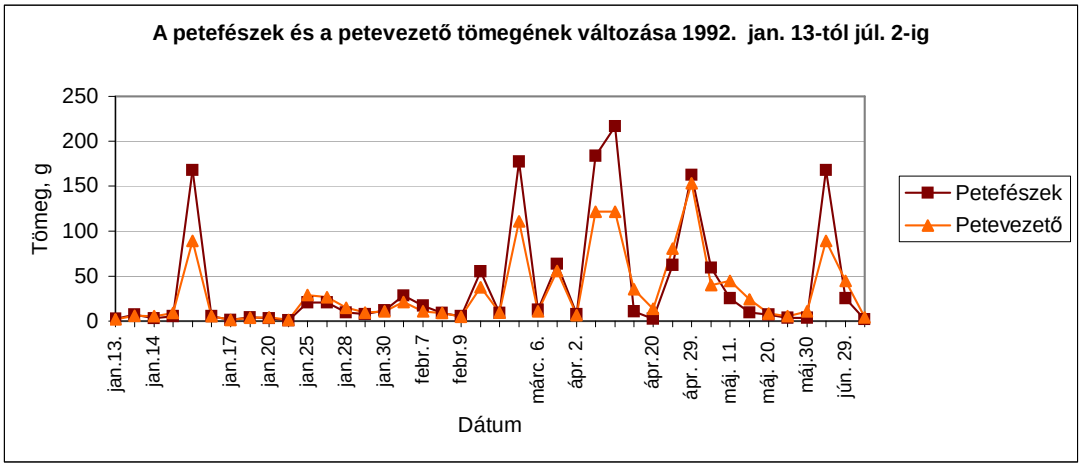
39. ábra

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a degradálódó tüszőkben nincs lényeges enzimaktivitásbeli különbség sem a morfológiai kép alapján, sem a méret alapján, de a mért értékek jóval meghaladják az ép tüszőkben mértekét.

5.2. Változások a petevezetőben a szaporodási ciklus ideje alatt

5.2.1. A petevezető tömegváltozása a petefészek tömegváltozásának összefüggésében

Az 1992. január 13-án indult kísérletben először időrendi sorrend alapján vizsgáltuk 40 tojólúd petefészkének és petevezetőjének tömegváltozásait. Az eredmények szembetűnően tükrözték a házilúdnak azt a faji sajátosságát, hogy szaporodásbiológiai szempontból még azonos cikluson belül is erős szórást mutat (korai, illetve késői ivarérés, változó perzisztencia). Ezt a január 15-én levágott tojó adatai is jól tükrözik, amely ebben az időpontban közvetlenül a tojásrakás előtt állt, míg csoporttársainál alig indult be a maturáció folyamata (40. ábra).

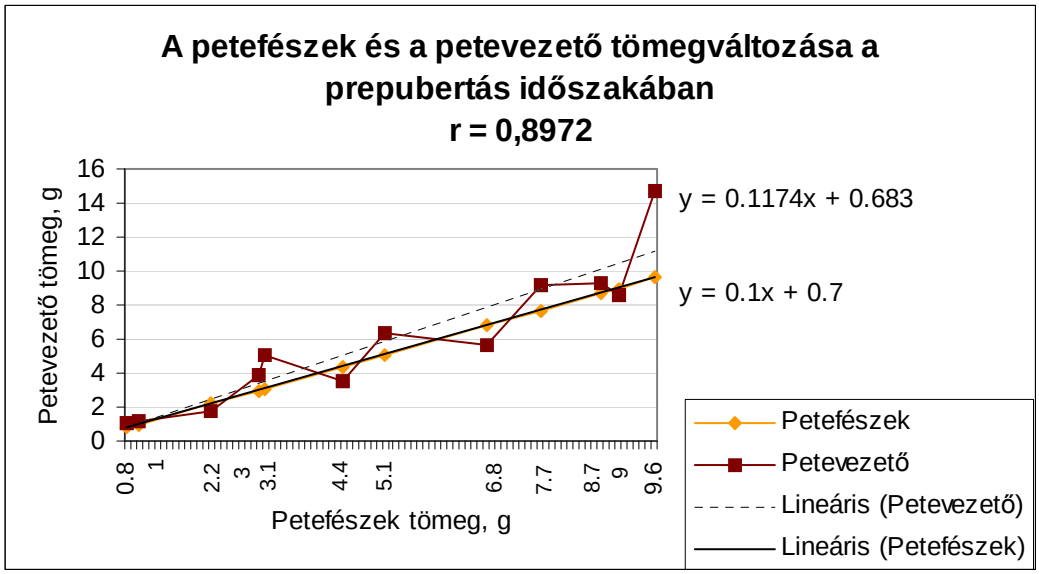


40. ábra

A petefészek és a petevezető tömegének változása egy szaporodási cikluson belül, egyedenként

Vizsgáltuk a petevezető tömegváltozását csoportonként, a petefészek tömegváltozásának függvényében is, mivel a szezonális reprodukciós változások hátterében a petefészek triggerhatása a meghatározó.
A tojókból csoportokat képeztünk a petefészek tüszőkészlete (fehér, fehér és kis sárga, nagy sárga, nagy sárga és calixok, atretikus) és tömege alapján, tehát azonos csoporton belül megközelítőleg azonos szaporodásbiológiai állapotú madarak voltak, vagy a fázison belül valamely fejlődési állapotot képviselték.
Az adott kritériumok alapján történő csoportosítás megengedi, hogy egyedi értékek alapján általánosíthassuk eredményeinket, mivel tendenciák vizsgálata volt szándékunk.

Inaktív csoport:

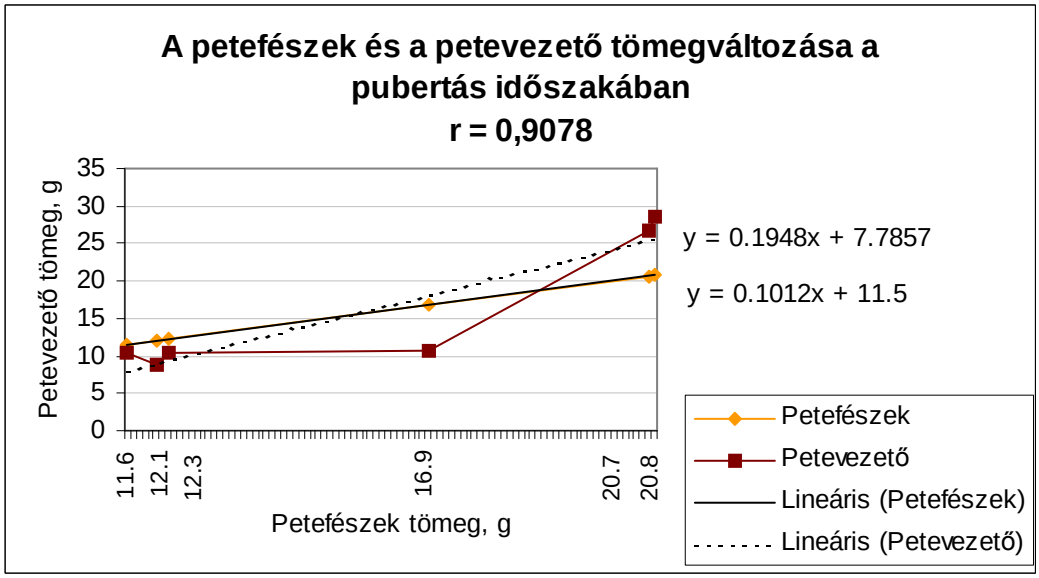


41. ábra

Az inaktív csoportba a 0,8 g és 9,6 g közötti petefészek mintákat soroltuk, amelyeken csak 10 mm átmérőig voltak fehér tüszők. A grafikonon feltüntetett trendvonalak jól mutatják (r=0,9), hogy a kezdeti fejlődési szakaszban a petefészek tömeggyarapodásának ütemét nem sokkal, de megelőzi a petevezető tömeggyarapodásának üteme a vizsgált minták 69%-ában (41. ábra).

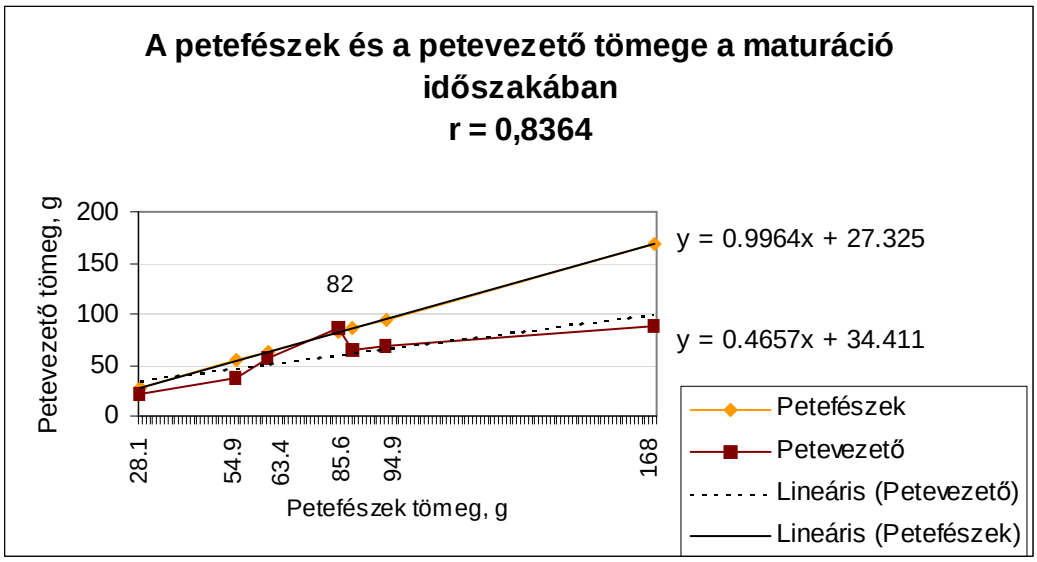
Prematurus csoport:

Ebben a csoportban a kis sárga tüszőpopuláció megjelenésével a petefészek tömeggyarapodása felgyorsul (r = 0,9) és két eset kivételével a petefészek tömege mutat magasabb értékeket (42. ábra). Ennek a két esetnek köszönhetően a petevezető tömegváltozásának trendje kis mértékben, de meghaladja a petefészek tömegváltozásának trendjét.



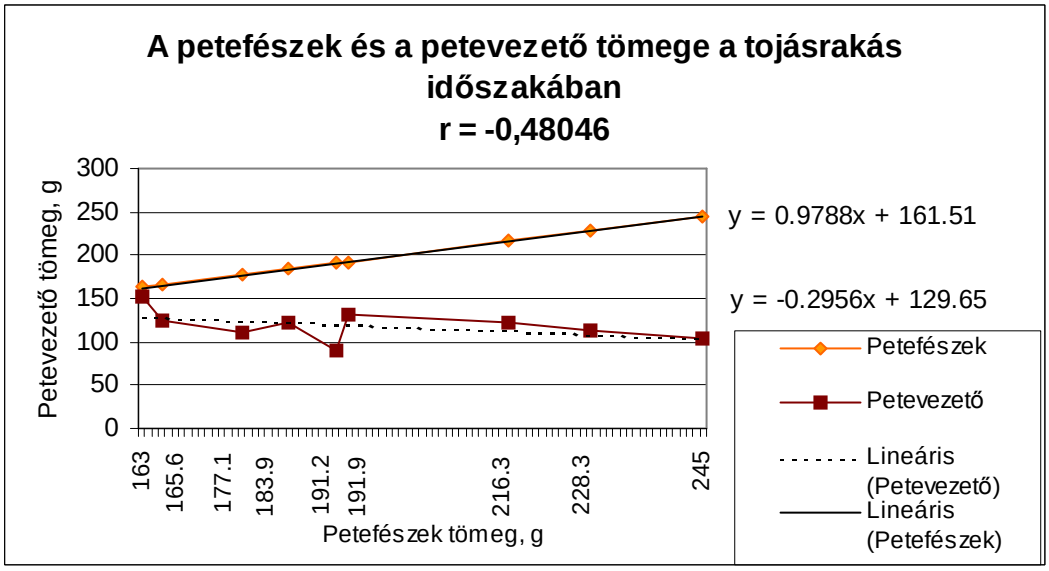
42. ábra

Maturálódó csoport:



43. ábra

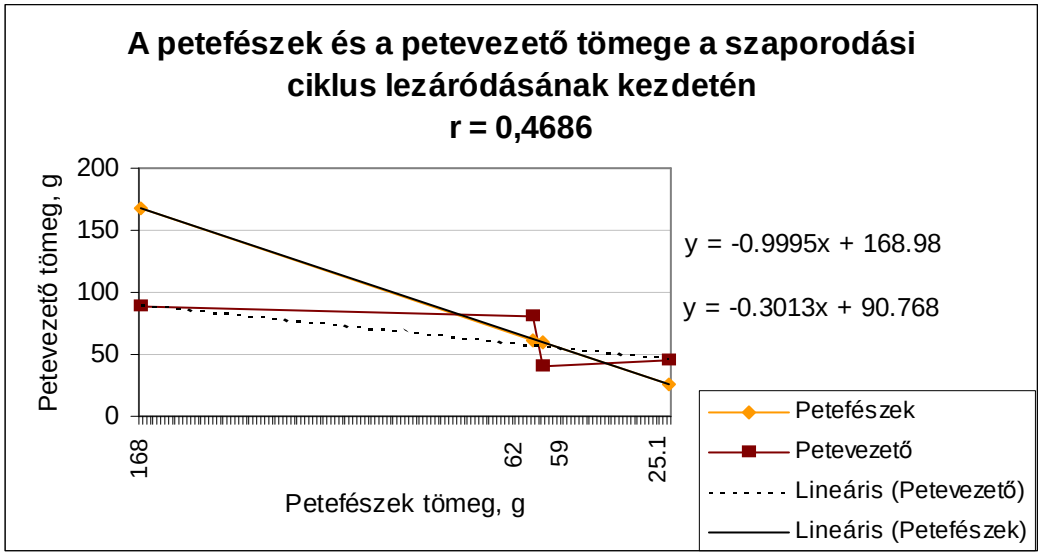
A maturálódó csoportba azokat a tojókat soroltuk be, amelyeknél a petefészken már nagy számban jelentek meg sárga tüszők, köztük nagyméretűek is (43 mm-ig), de még nem tojtak (calix nem volt észlelhető a petefészken).
A petefészek tömeggyarapodása a vizsgált tojóknál egy madár kivételével intenzívebb, mint a petevezetőé (43. ábra).



44. ábra

Tojó csoport:

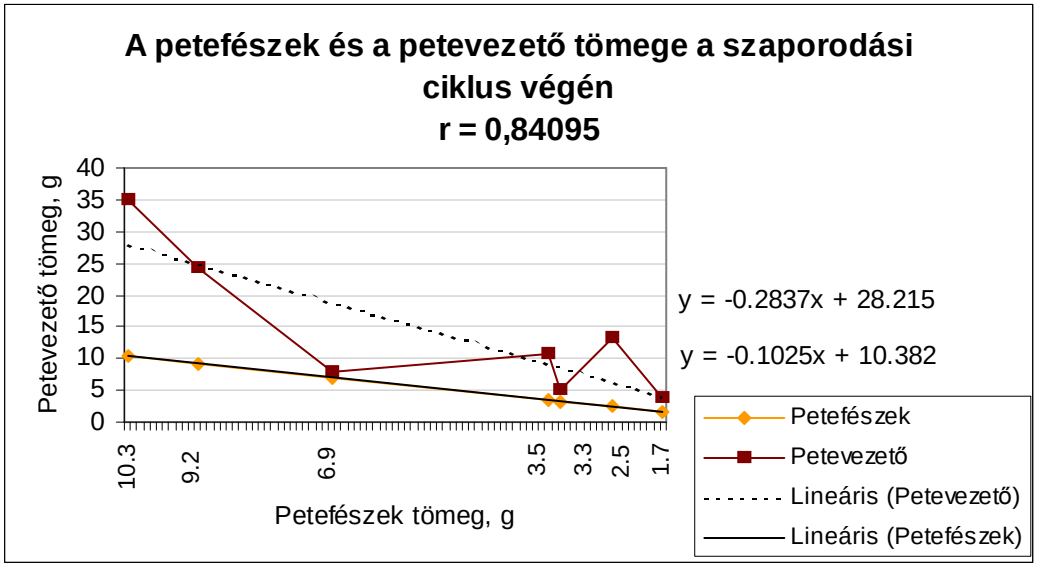
Ebbe a csoportba az aktív tojó madarak kerültek. A kritériumokat a nagy sárga preovulációs tüsző, calixok a petefészken, vagy petesejt, tojás a petevezetőben képezték. A grafikonon csak a petevezető tömegeket ábrázoljuk a petevezető tojás tartalmának tömege nélkül, amelyek két esetben 140 g és 130 g-os tömeget képviseltek. A tömegváltozás trendje jól tükrözi a két ivarszerv működésének eltérő jellegét (44. ábra). Míg a termelés csúcsán a petefészek növekvő kapacitással működik, azaz egyre több tüsző indul fejlődésnek, addig a petevezető tömegében nincs jelentős mértékű változás, mivel tömege maximális aktivitás esetén is limitált (egy időben csak egy tojás termelésére képes).



45. ábra

A tojásrakást befejező csoport:
Ebbe a csoportba degradálódó tüszőket tartalmazó petefészekkel kerültek be a tojók. Az atretikus tüszők mérete rendkívül változatos volt, a 40-50 mm átmérőtől a 10-3 mm méretig. Egy-két petefészken több, épnek tűnő kis fehér tüsző is fellelhető volt.
Az aktív ciklust lezáró szakaszban a petefészek tömegcsökkenésének üteme megelőzi a petevezető tömegcsökkenésének ütemét (45. ábra).

Ciklusvégi csoport:
Ebben a csoportban a tojók petefészkén már csak egy-két apró méretű atretikus follikulus figyelhető meg. A petefészek tömegcsökkenését a petevezető csak fáziskéséssel követi (46. ábra).



46. ábra

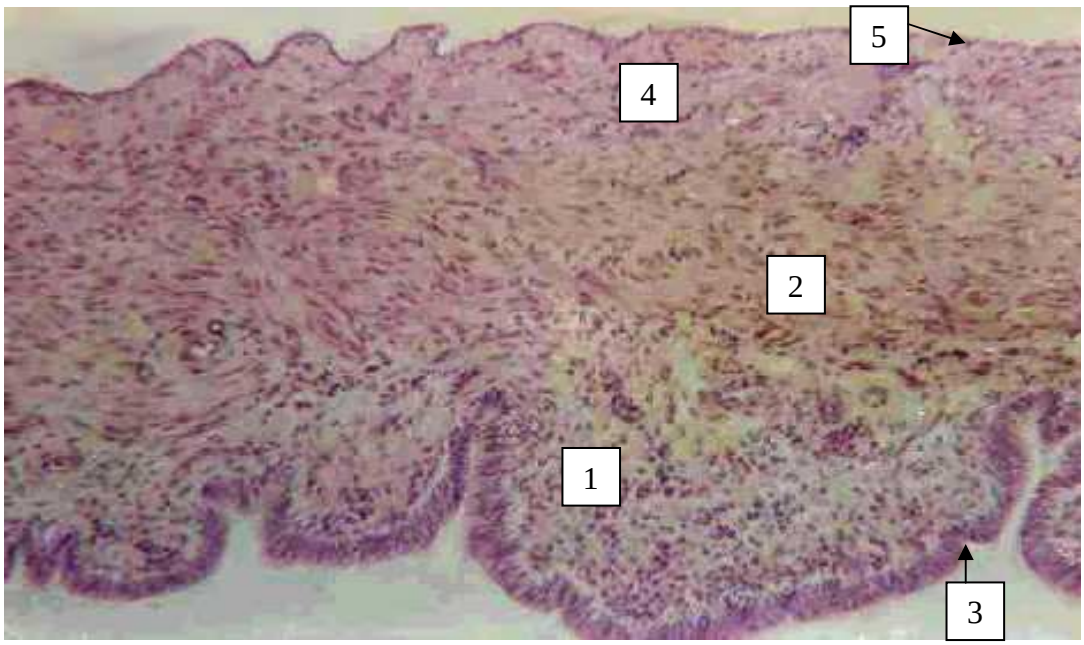
A tömegváltozás üteme nem egyenletes sem a petefészek, sem a petevezető esetében, a prepubertás és pubertás időszakában hol az egyik, hol a másik képvisel nagyobb tömeget, de tendenciájában a petevezető fejlődése gyorsabb.
A maturáció időszakában a minták nagyobb homogenitást mutatnak, a trend megváltozik, a petefészek fejlődése felgyorsul, amit a petevezető tömeggyarapodása csak lassabb ütemben tud követni.
Hasonló képet mutat az aktív időszak is, ahol azonban a petevezető esetében a maximális 132,6 g-os tömeg elérését követően nem észlelhető további tömeggyarapodás.
A ciklus végén a petefészek tömegcsökkenésének üteme megelőzi a petevezető tömegcsökkenésének ütemét, közvetlenül a tojásrakás utáni időszakban tendenciájában, majd a végső időszakban a mért tömeg értékek szerint is.

5.2.2. A petevezető maturációjának és leépülésének szövettana

Az ivarérést megelőzően és annak kezdetén a petevezető nyálkahártyájában intenzív proliferáció figyelhető meg, amely kiterjed mind a stratum epithelialéra, mind pedig a nyálkahártya propria rétegére. Ezek a változások többé-kevésbé azonos módon zajlanak le a petevezető egyes szakaszaiban.

Infundibulum

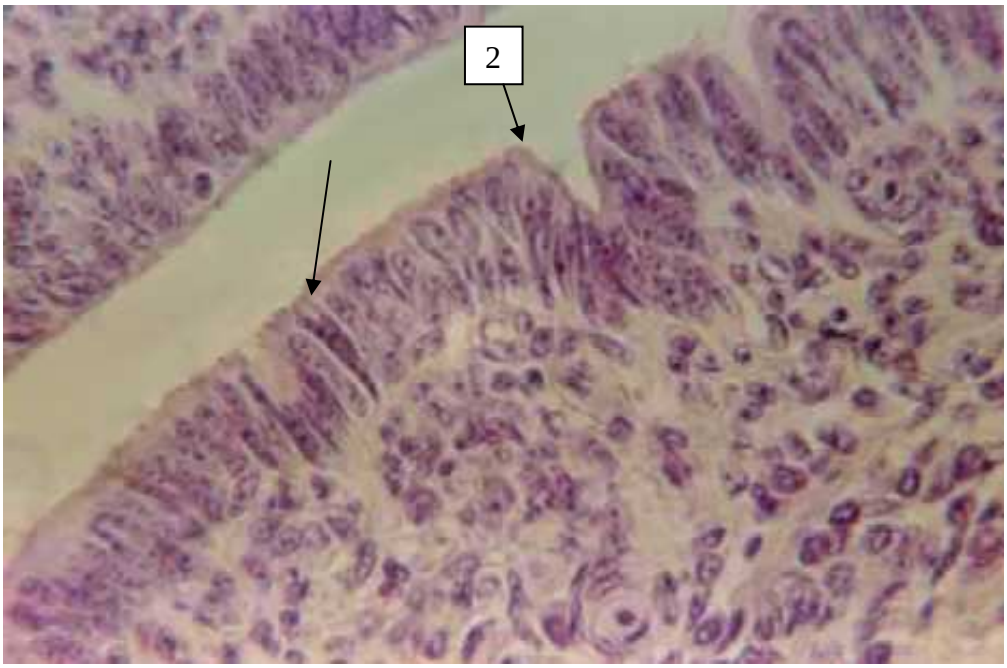
Prepubertás madarakban az infundibulumra (a petevezető tömege: 6,2 g) makroszkóposan a nyálkahártya redők egyszerű struktúrája a jellemző, a lumenbe beemelkedő hosszanti lefutású redők alacsonyak (47. ábra).



10x10

47. ábra
Inaktív infundibulum: propria – lazarostos kötőszövet (2), nyálkahártya hámja (3), simaizomszövet (4), mesothelium (5)

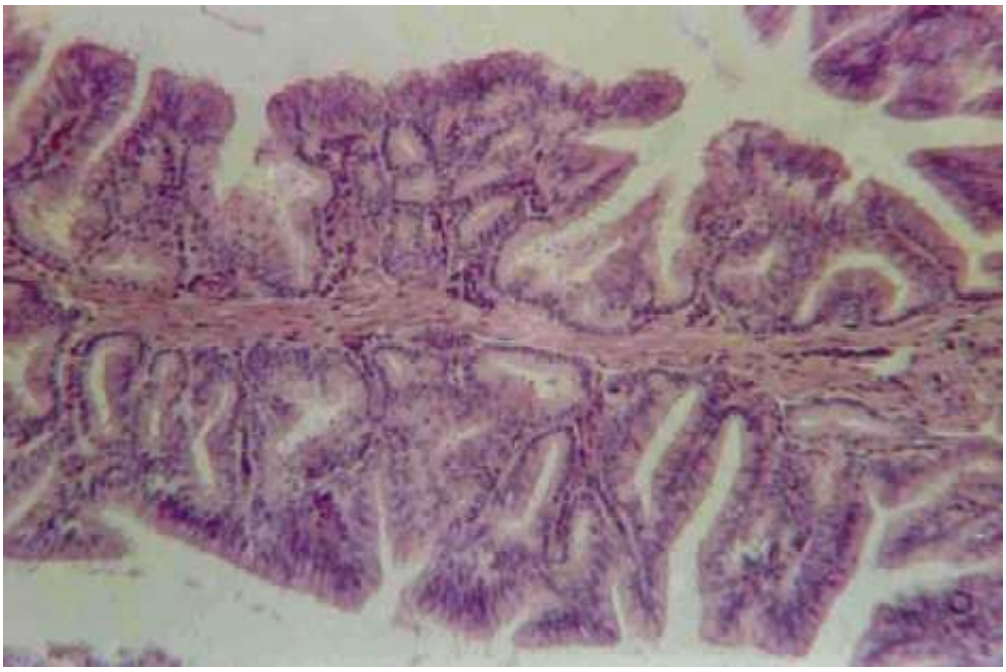
A stratum epitheliale többmagsoros csillós hengerhám rétege csillóktól mentes, a propriában mirigy végkamra kivezetőcső kezdemények vannak (2), de végkamrákat nem lehet megfigyelni (48. ábra).



6,3x63

48. ábra

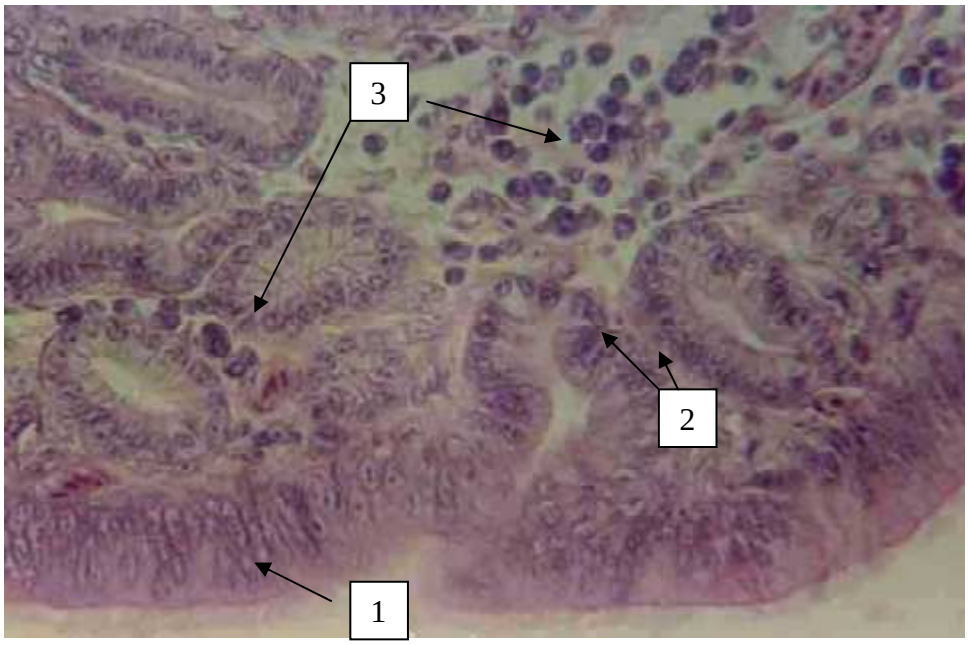
Inaktív infundibulum. Szorosan egymásnak símuló hámsejtek, amelyeket szinte teljes egészében a sejtmag tölti ki (1).



10x10

49. ábra

A tojásrakó ludakban (153 g-os petevezető) az infundibulumban a nyálkahártya redők többszörösen lebenyezetté válnak (49. ábra).

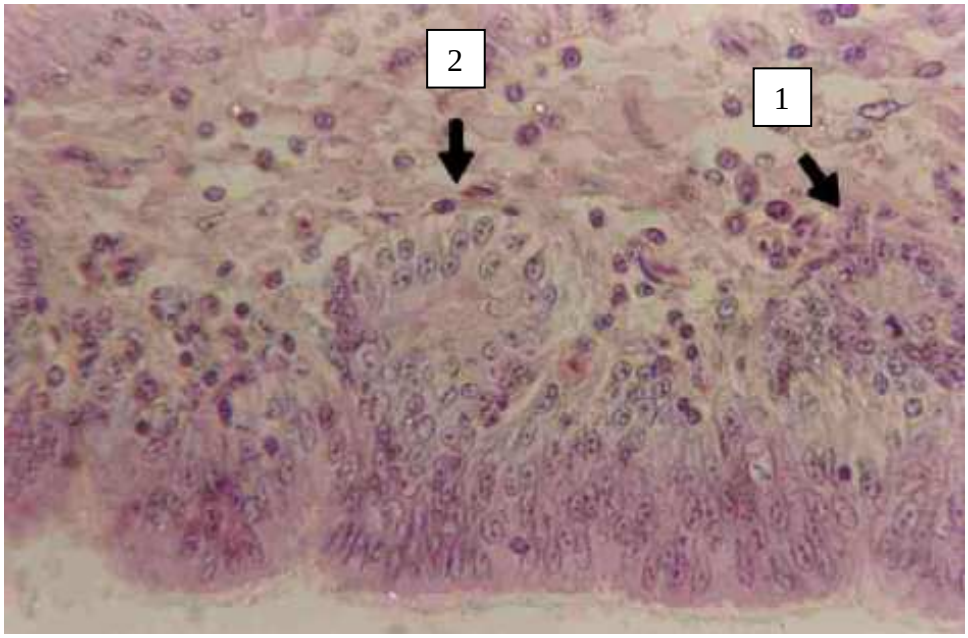


10x40

50. ábra

Aktív infundibulum nyálkahártyája

Az aktív infundibulum (50. ábra) nyálkahártya hámja többmagsoros csillangós hengerhám kehelysejtekkel, amelyben a magok sok esetben a sejtekben bazálisan helyezkednek el a citoplazmában található nagymennyiségű váladék granulum miatt (1). A propria bogyós mirigy végkamrái jól fejlettek, a mirigyek és a kivezető csövek hám sejteiben a magok egy rétegben, bazálisan helyeződnek el (2). A propriában stromális sejtek (differenciálatlan mezenchimális sejtek) látszanak (3).



10x40

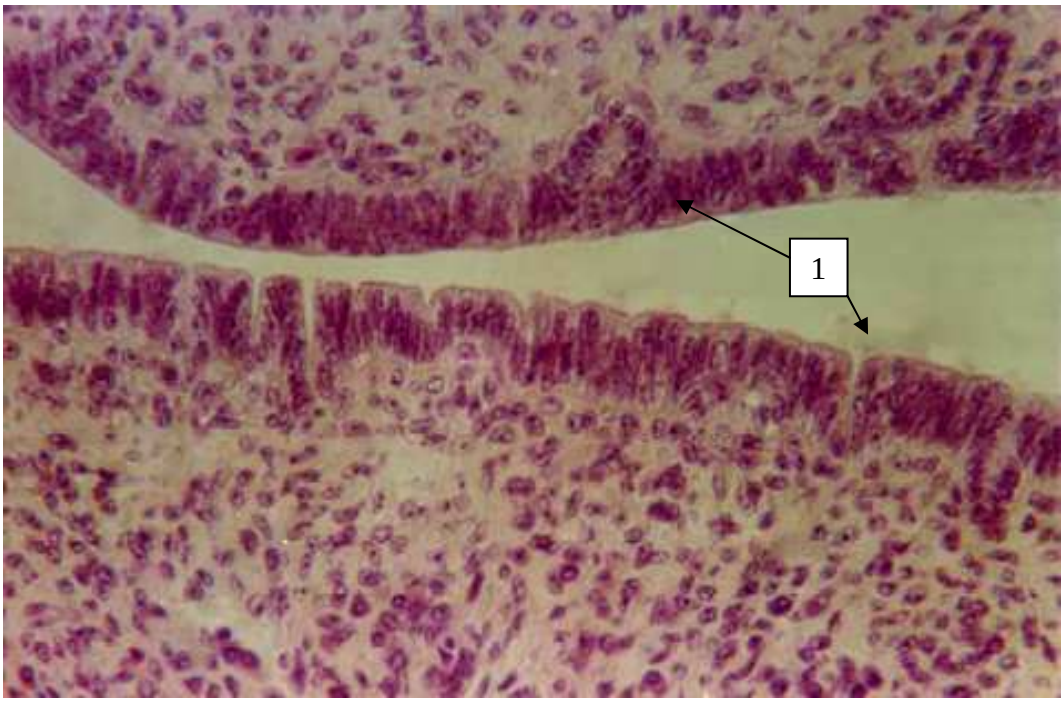
51. ábra

Degradálódó petevezető infundibulum szakasza.

A leépülő petevezetőben (tömege: 35 g) az infundibulum propria mirigyeinek területén jellemző a végkamrák számának csökkenése (51. ábra). A végkamrákat alkotó mirigy hámsejtek eltűnőben vannak, magjaik piknotikusak, a végkamrákat körülvevő lamina basalis eltűnt, körülöttük már csak makrofágok és granulociták (1). Lumen nélküli, szerkezetében még felismerhető mirigy-végkamra (2).

Magnum

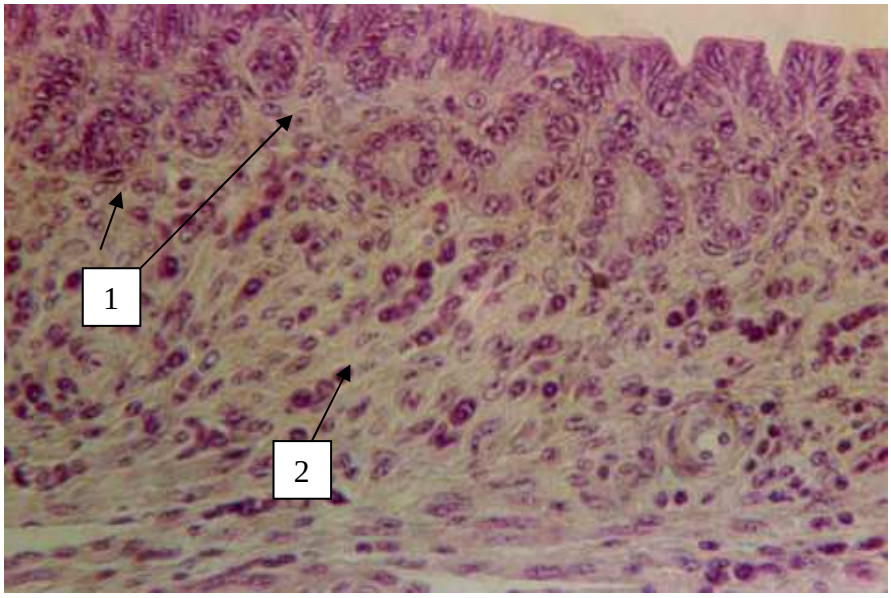
Az inaktív magnum (52. ábra) stratum epithelialéja viszonylag kis méretű, alacsony hengerhám sejtekből áll. A réteget egy-egy inaktív propria mirigy kivezető csöve töri át (1).



6,3x40

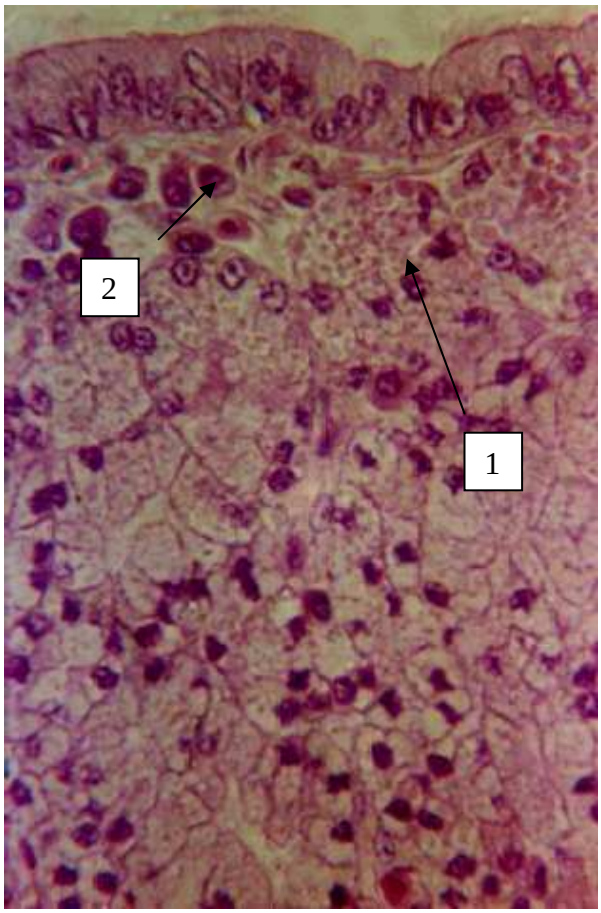
52. ábra
Inaktív petefészek magnum szakasza

A fejlődésnek indult (56 g-os petevezető) magnumban (53. ábra) a proliferálódó hámréteg felől megindul a propria mirigyek fejlődése (1), ugyanakkor a stromális sejtek inváziója is megfigyelhető a submucosa felé (2).



6,3x40

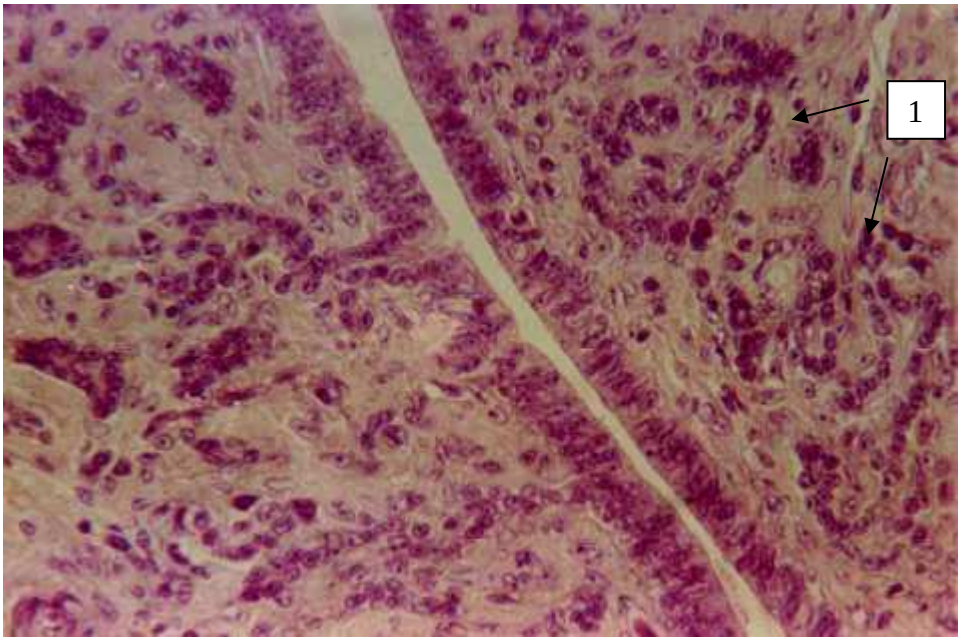
53. ábra



A funkcionáló petevezető (tömege: 153 g) magnum szakaszában a stratum epitheliale és a propria is hypertrophiát mutat (54. ábra). A hámrétegben jellemző a sejtek megnagyobbodása és kiszélesedése. A propriát hatalmasra duzzadt elágazó mirigy végkamrák töltik ki, a sejtek alig felismerhetők a felhalmozódott váladék granulumoktól (1), stromális szövet alig látszik. A két réteg között duzzadt kapillárisok vannak (2).

6,3x63

54. ábra

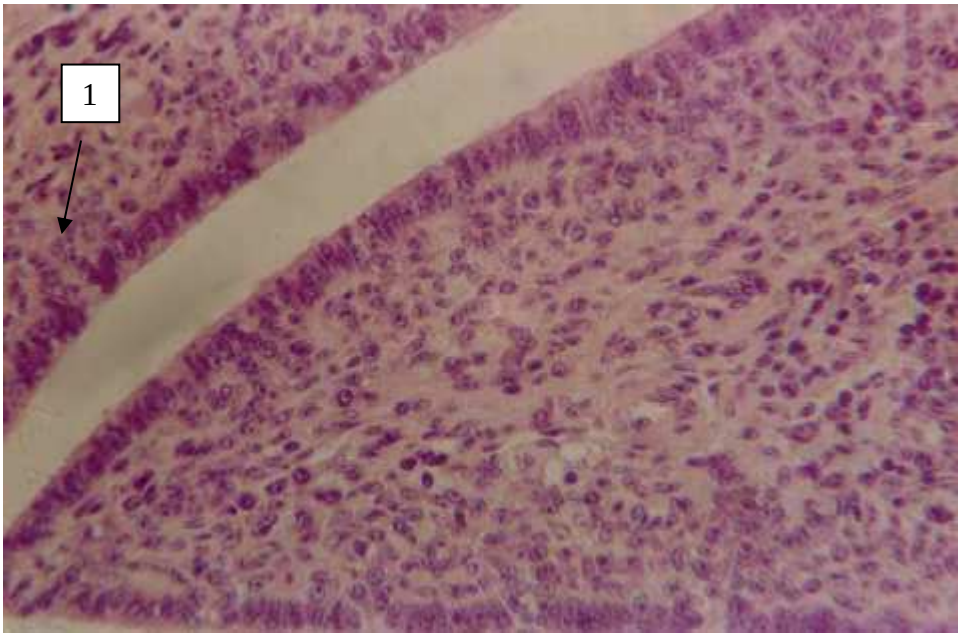


6,3x40

55. ábra

A leépülő petevezetőhöz (tömege: 35 g) tartozó magnumban a mirigyvégkamrák feldarabolódása és erős atrophiája figyelhető meg (1), a mirigyhám szerkezete eltűnőben van, a propria stroma állománya dominánssá válik (55. ábra).

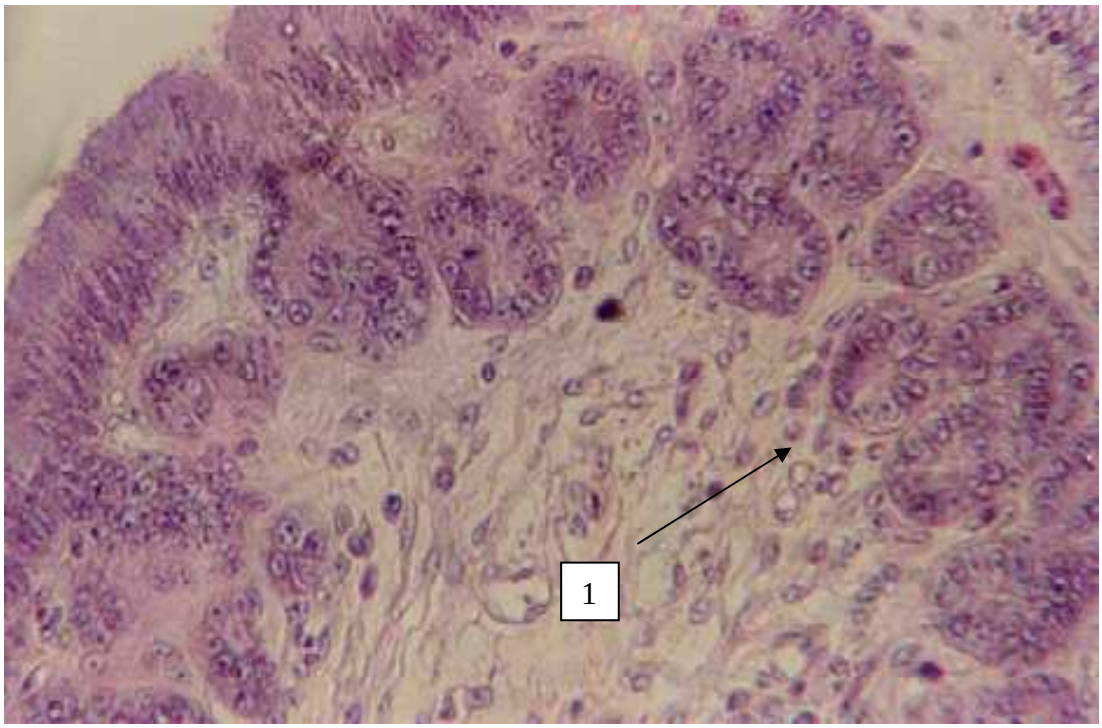
Isthmus



6,3x40

56. ábra

Az inaktív (petevezető tömege: 6,2 g) isthmusban, a propriában mirigyvégkamrákat megfigyelni nem lehet, a magas hengerhámsejtekből álló stratum epithelialét néhány kivezetőcső kezdemény (1) járja át. A hámsejtjek keskenyek és viszonylag magasak, rajtuk csillók még erősebb nagyítással sem figyelhetők meg (56. ábra).

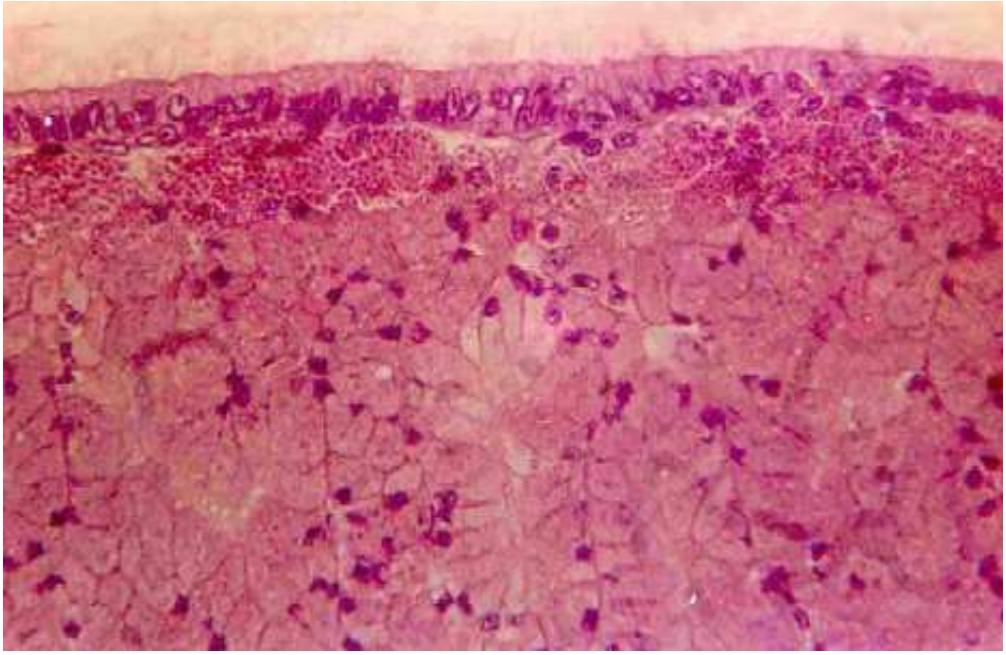


6,3x40

57. ábra

A maturálódó isthmusban (petevezető tömege: 56 g) a propria mirigyek kivezető csöveiből indul meg a bogyós végkamrák „sarjadzása” (57. ábra). Jellemző a stratum epitheliale magasabbá válása, a nagyobb számú kehelysejt és a stromális sejtek megjelenése a mirigyvégkamrák között (1).

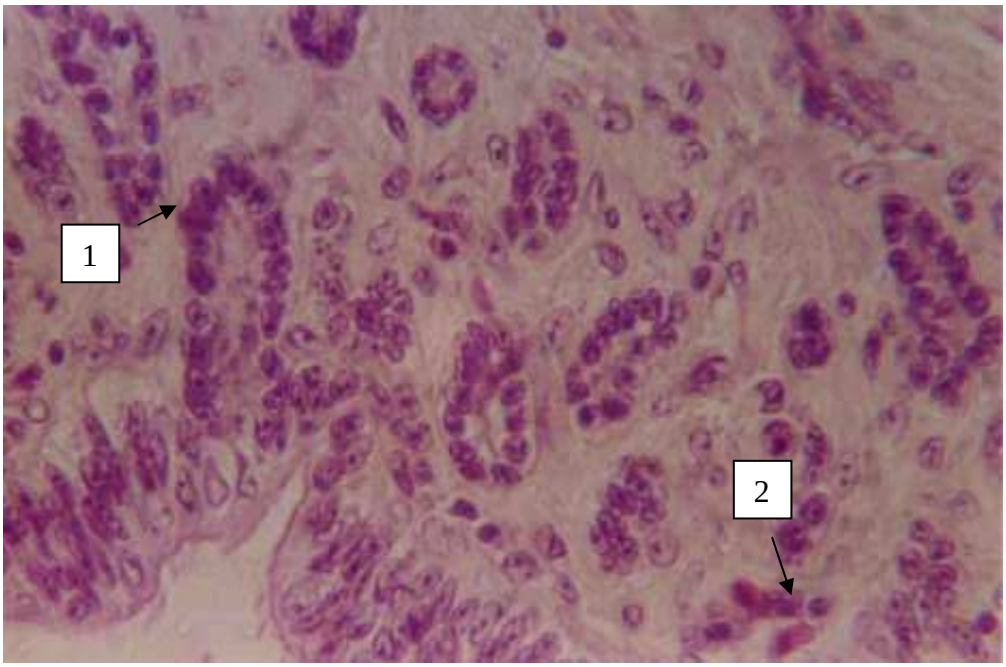
Az aktív isthmusban (petevezető tömege: 150 g) a stratum epitheliale sejtjei kiszélesednek, a sejtmagok a sejtekben bazális helyezkednek el, nyálkahártya hámrétege alatt erőteljes kapilláris hálózat látszik. A propriát teljes egészében kitöltik az elágazó mirigyek, melyek lumene nem látszik, mert telítve vannak váladékkal (58. ábra).



6,3x40

58. ábra

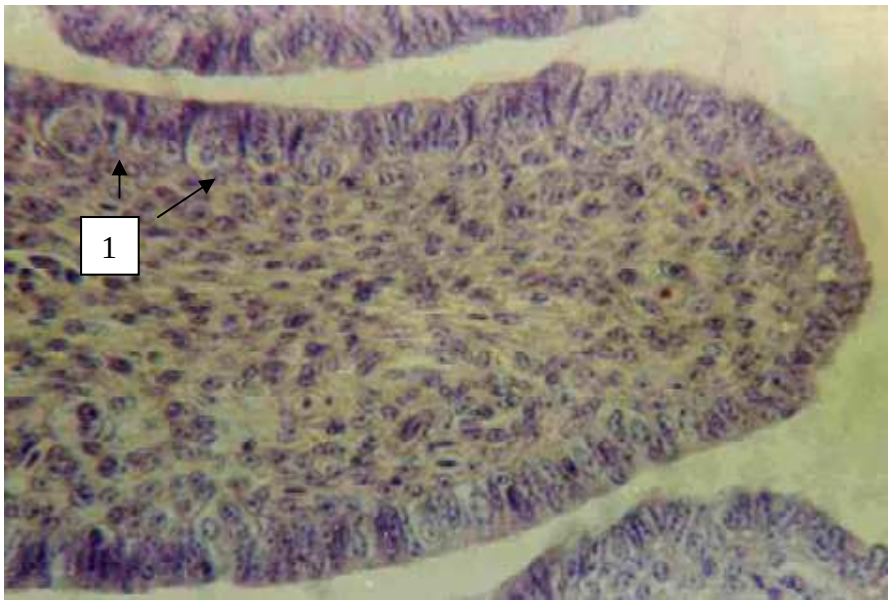
A leépülő petevezető (tömege: 35 g) isthmusában feltűnő a propria mirigyek feldarabolódása. A mirigyhámsejtek magjai piknotikusak, töredezettek (1), a végkamrákból zömmel a kivezető csőhöz kapcsolódó elemek maradnak meg. A stratum epitheliale és a propria határán nyiroksejtek, makrofágok és granulociták (2) találhatók (59. ábra).



6,3x63

59. ábra

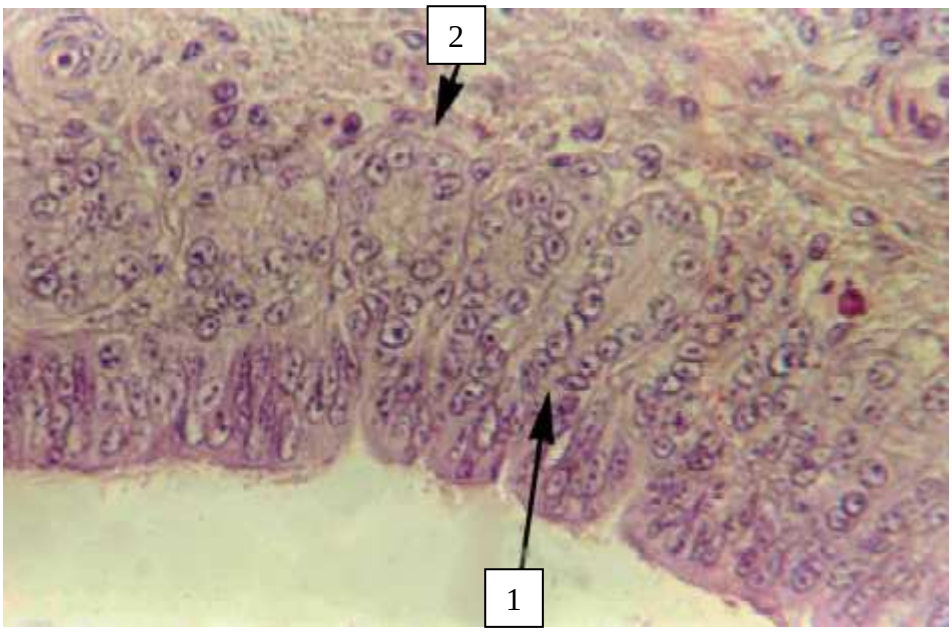
Uterus



6,3x40

60. ábra

A prematurus petevezető (petevezető tömege: 6,2 g) uterusában a stratum epitheliale viszonylag kis sejtjei között kevés és összelapított kehelysejt található (1). A réteget néhány mirigy kivezető cső járja át. A propriában mirigyvégkamrák nem láthatók (60. ábra).

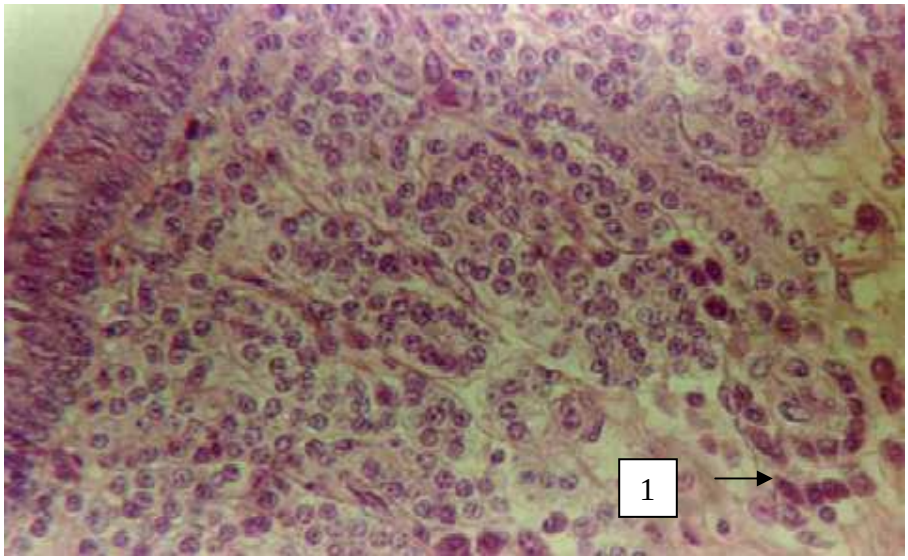


10x40

61. ábra

A maturáció során (petevezető tömege: 56 g) az uterusban (61. ábra) a str. epitheliale magasabbá válik, nagyszámú kehelysejt jelenik meg és megfigyelhető a mirigy kivezető csövekből meginduló mirigyvégkamra differenciálódás (1).

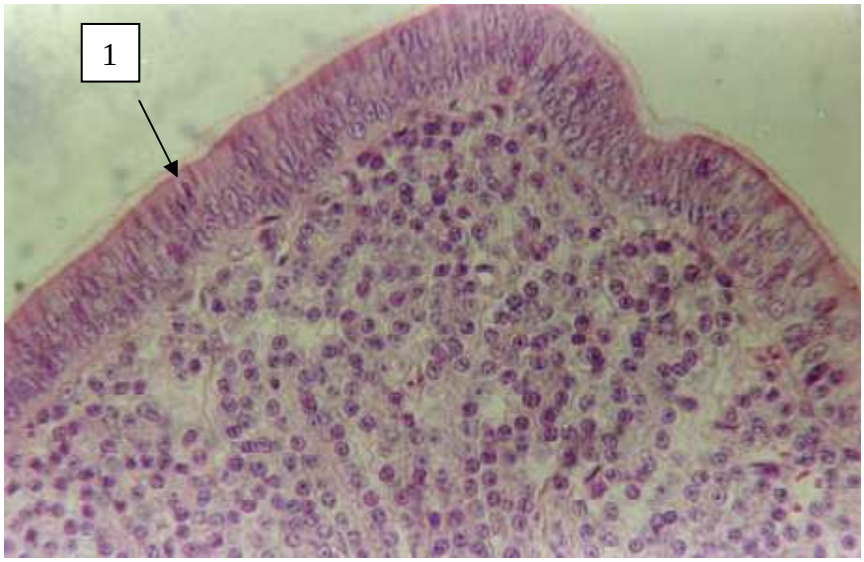
A propria mirigyek kesztyűujjszerűen türemkednek be a kötőszövetbe, s körülöttük stroma sejtek láthatók (2).



6,3x40

62. ábra

A differenciálódás előrehaladottabb stádiumában a mirigyhám sejtek már elérték a stroma mélyebb rétegeit (62. ábra). Jól láthatók a stromális sejtek a kivezető csövek és a végkamrák környezetében (1), amelyek mintegy mutatják az utat, szinte „felvezetik” a propriába nyomuló mirigyvégkamrákat.

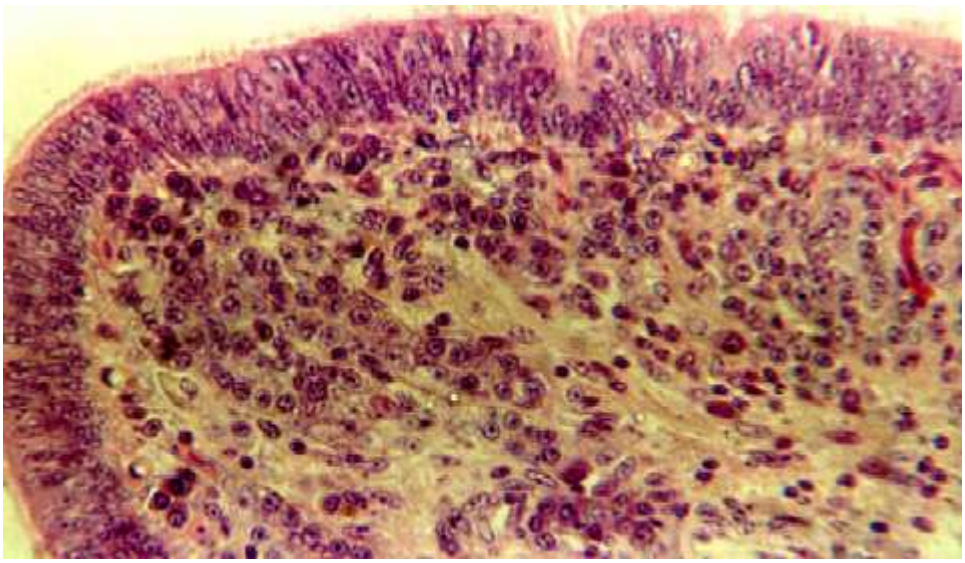


6,3x40

63. ábra

Az aktív (petevezető tömege: 153 g) tojó uterusára jellemző, mind a str. epitheliale, mind a propria mirigyek területén a megnövekedett szekréciós tevékenység. A hámréteg sejtjei kiszélesednek, csillókkal fedettek, közöttük nagy-

számú kehely sejt van (1). A propriát teljes mértékben kitölti a duzzadt sejtekből álló elágazó mirigy állomány (63. ábra).



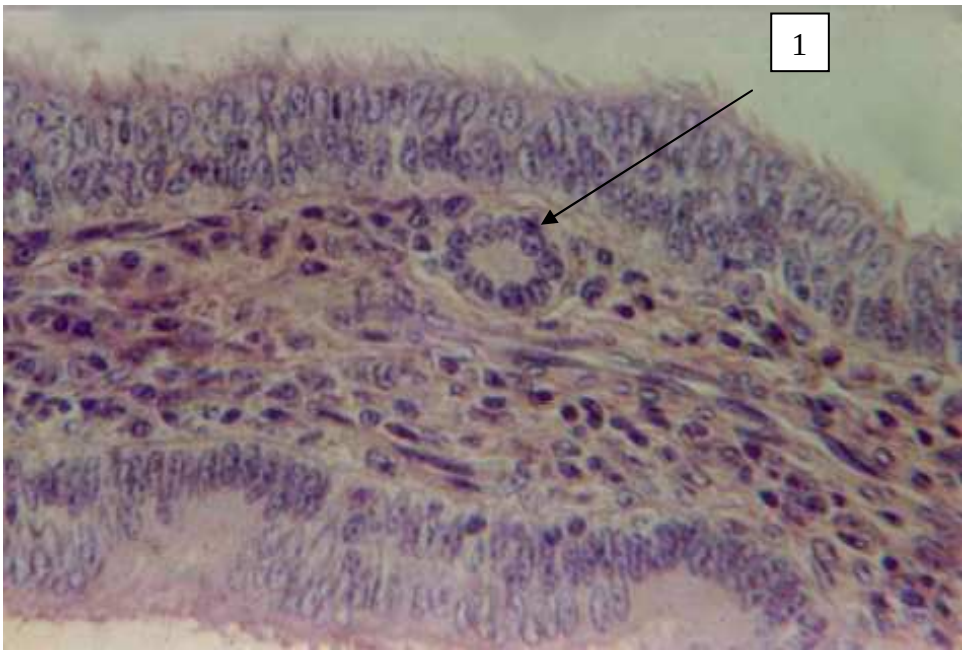
6,3x40

64. ábra

Leépülő uterus nyálkahártya lebenyének átnézeti képe. A mirigy végkamrák struktúrája alig felismerhető, a lazarostos kötőszövet elemei között nagyszámban figyelhetők meg vörösvérsejtek, alakos elemek (64. ábra).

Uterovaginális szakasz

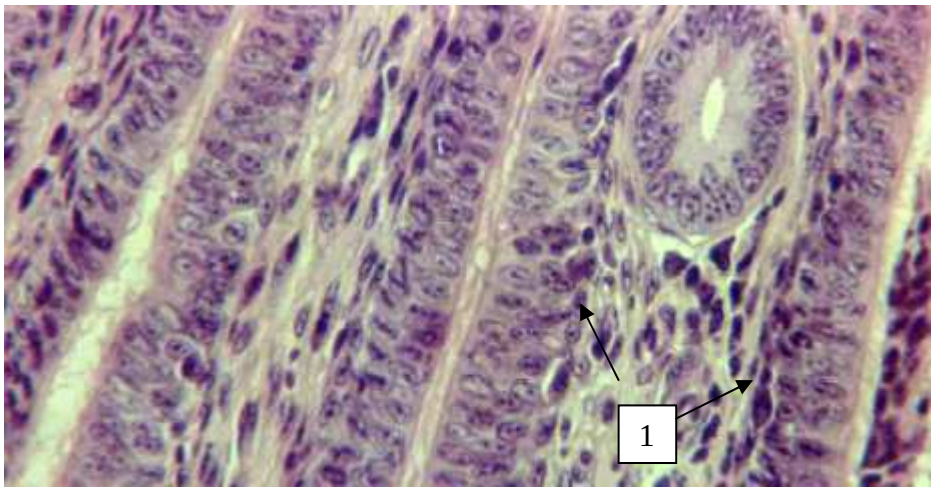
A maturáció előtt (petevezető tömeg: 6,2 g) is megfigyelhetők a propriába beágyzott spermiumtároló csövecskék (1). Az ezeket bélelő hámsejtek viszonylag alacsonyak és keskenyek. A kripták lumene szűk, vagy nem látszik (65. ábra).



10x40

65. ábra

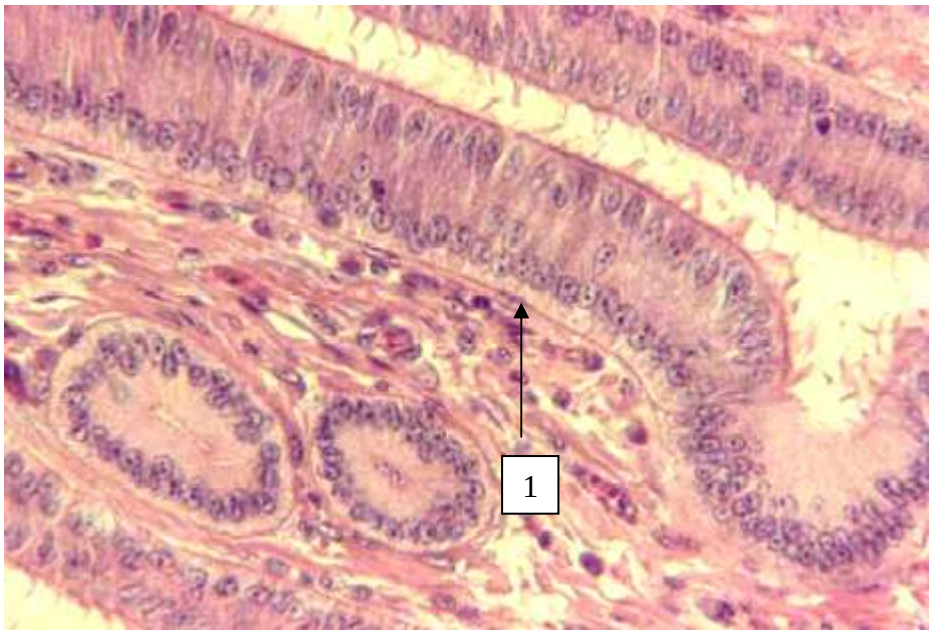
A növekvő petevezető (tömege: 56 g) uterovaginális szakaszában megvastagszik a stratum epitheliale és megindul a propriában lévő csövecskék fejlődése is (66. ábra). A submucosában jól láthatóak a nyálkahártya hámsejtjeinek bazális részéhez beékelődött stromális sejtek (1).



6,3x40

66. ábra

Az aktív (petevezető tömege: 153 g) tojókban az uterovaginális junctio stratum epitheliale-ja vastag és két magsorban határozott rétegzettséget mutat. A lamina basalis kifejezett (1). A propria kapillárisokban gazdag, a kötőszöveti elemek között különböző fehérvérsejt típusok találhatók (67. ábra).



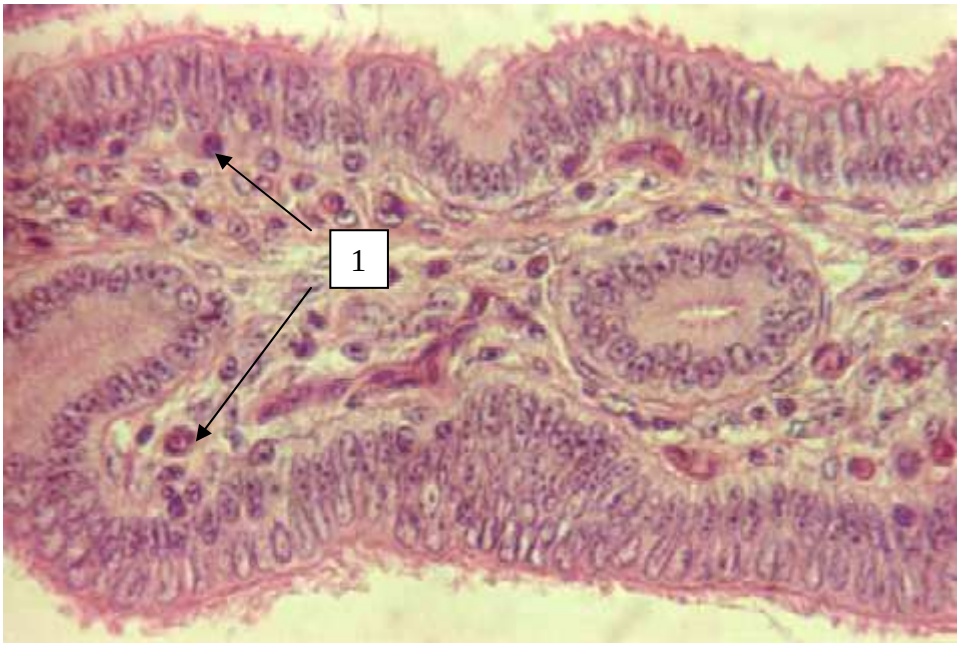
6,3x40

67. ábra

10x40

68. ábra
A spermium tároló csövecskék sejtjei magas hengerhámot képeznek, a többé-kevésbé tág lumenben gyakran láthatunk spermiumokat (1).

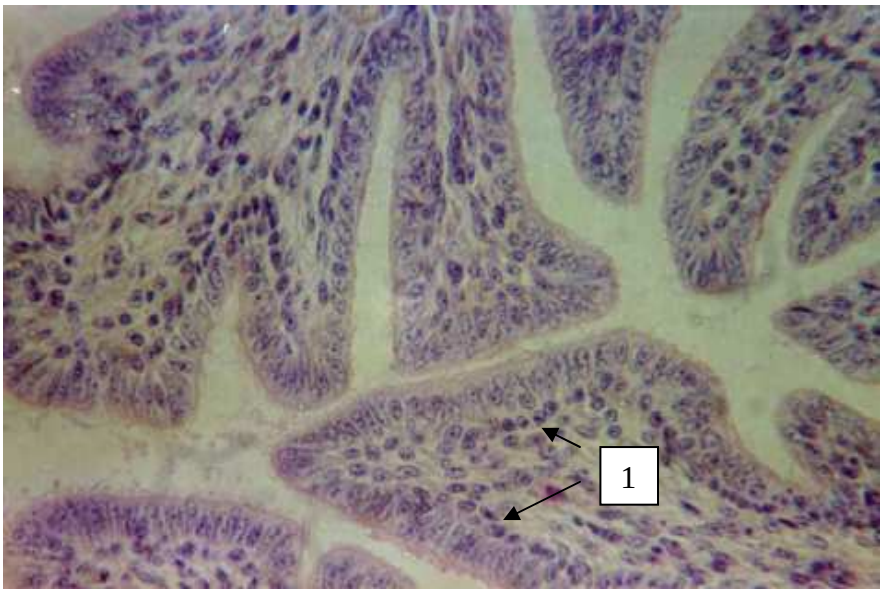
A szaporodási időszak után ezen a területen csak kismértékű változások figyelhetők meg, ami jóformán csak a str. epitheliale vastagságát mérsékeli, a propria és a benne helyezkedő tároló mirigyek mérete alig változik, bár ekkor ezek a mirigyek üresek. A regresszió fázisában jól láthatóak a submucosa alatt tömörülő „takarító” sejtek (69. ábra).



10x40

69. ábra

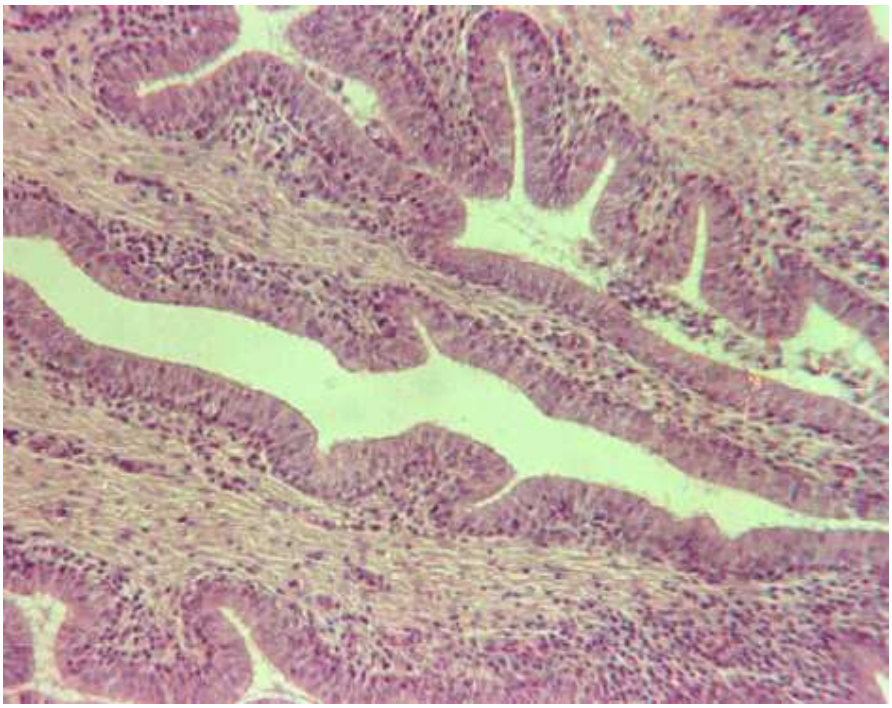
Vagina



6,3x40

70. ábra

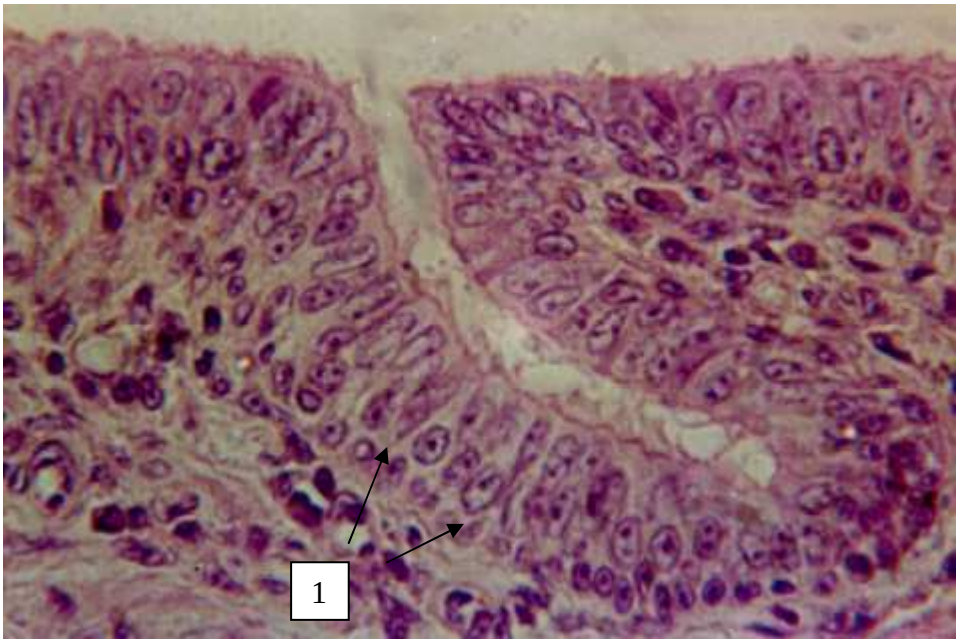
A maturáció előtt (pv: 6,2 g) a hüvely str. epitheliale-ja viszonylag vékony, a hámsejtek kisméretűek és alacsonyak (70. ábra). Figyelemre méltó a mucosa alatt szabályos sorban elhelyezkedő, „ugrásra kész” stromális sejtek populációja (1).



10x10

71. ábra

A szexuális differenciálódás során (petevezető tömege: 56 g) a nyálkahártya redőzöttsége fokozódik (71. ábra).



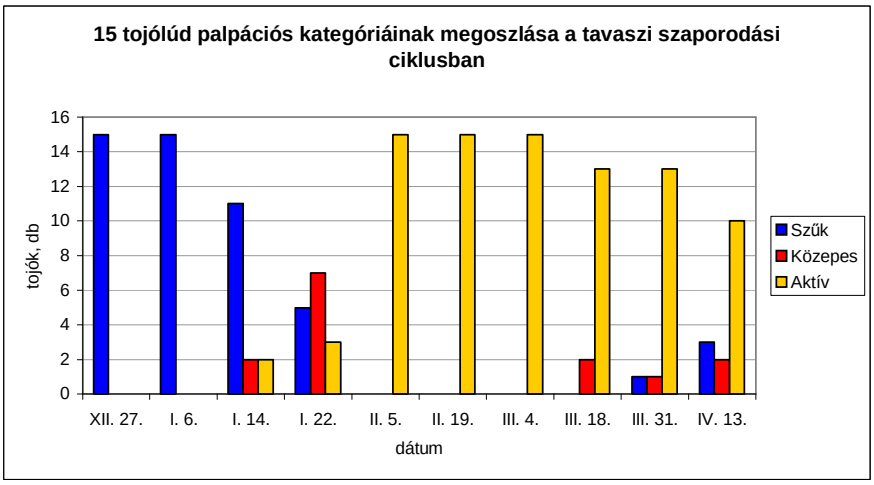
10x63

72. ábra

A stratum epithelialét felépítő sejtek mennyisége megnő (72. ábra). A szexuálisan aktív madárban (petevezető tömege: 153 g) a vagina stratum epitheliale rétegét váladékkal telt kehelysejtek (1) jellemzik.

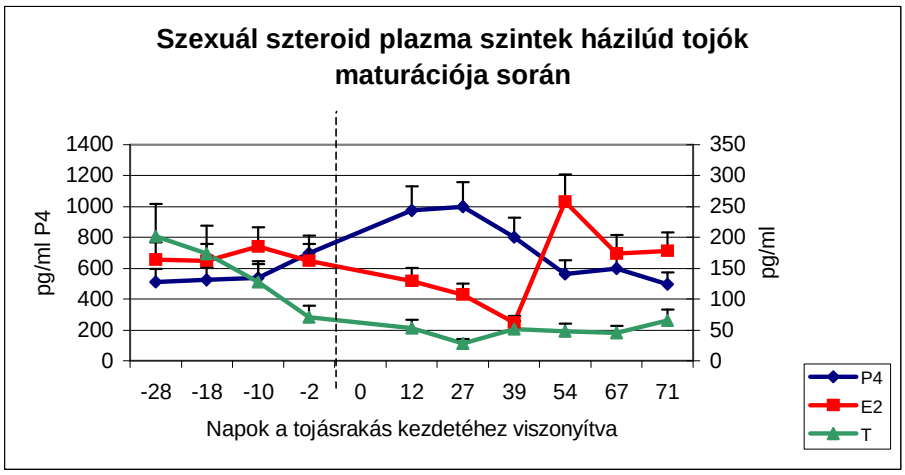
A degradálódó petevezetőben (35 g) a stratum epitheliale elvékonyodása, a másodlagos nyálkahártya redők visszafejlődése és a propriában nagyszámú lymphocyta megjelenése lesz jellemző.

5.2.3. Összefüggések a petevezető hüvelyméret változásai és a szexuál szteroid plazmaszintek között



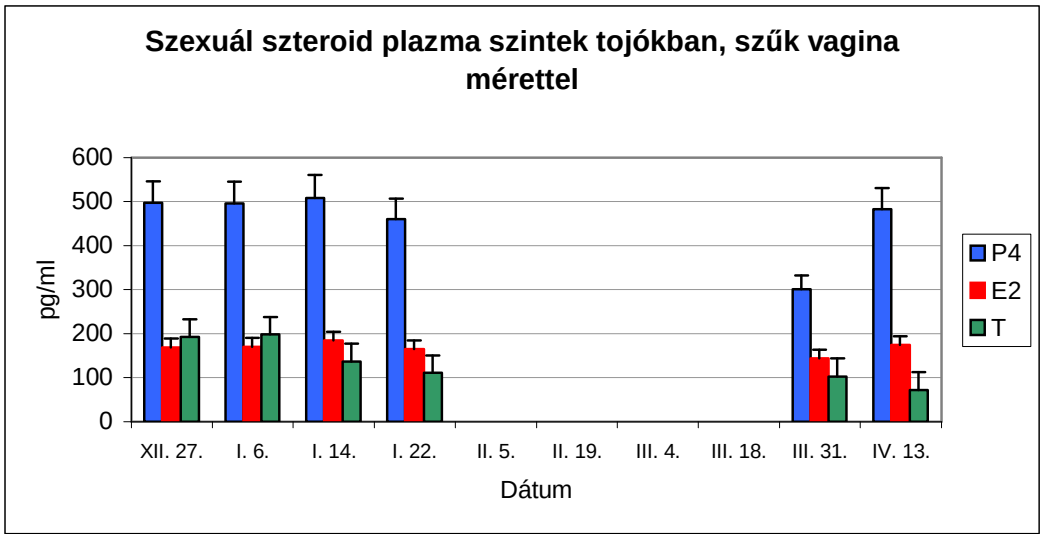
73. ábra

Az 1991. december 27-én indult és 1992. április 13-ig tartott kísérlet időszaka alatti palpációs vagina kategóriákat a 73. ábra, a vizsgált időszak szexuál szteroid hormon értékeit a 74. ábra mutatja be.



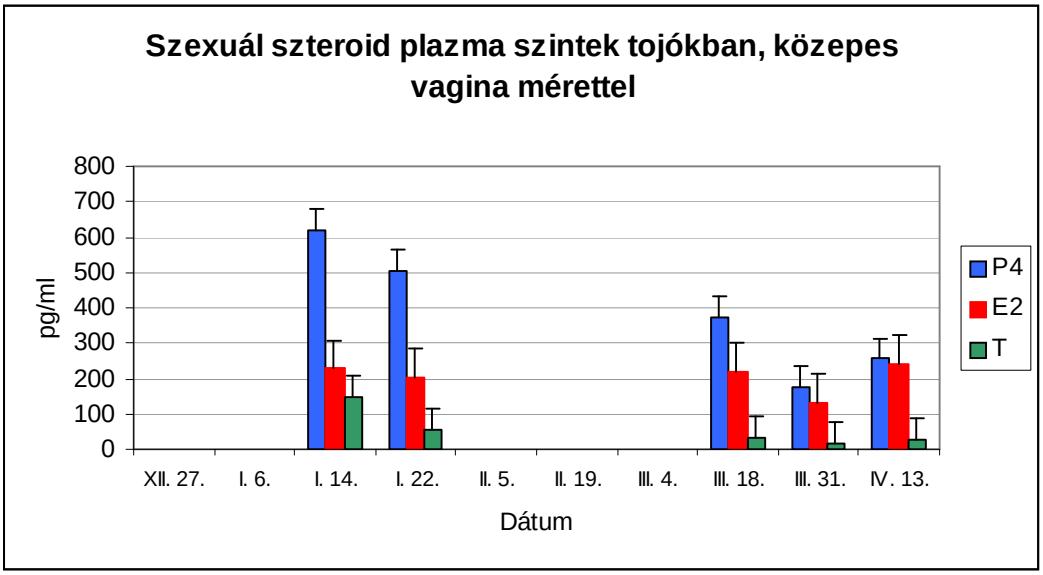
74. ábra

Megállapítottuk, hogy a szűk vaginaméret a szaporodási ciklust megelőző és az azt lezáró időszakra jellemző. A szűk hüvelyméretű madarakban a P4 mind a ciklus előtt, mind a ciklus után egyformán alacsony szintet mutatott, az E2 közepes szintű, ugyanakkor a T plazma szintje magas a korai - december-január eleje – időszakban, a prepubertás időszaka alatt, és szintje növekvő a ciklust lezáró időszakban (75. ábra).

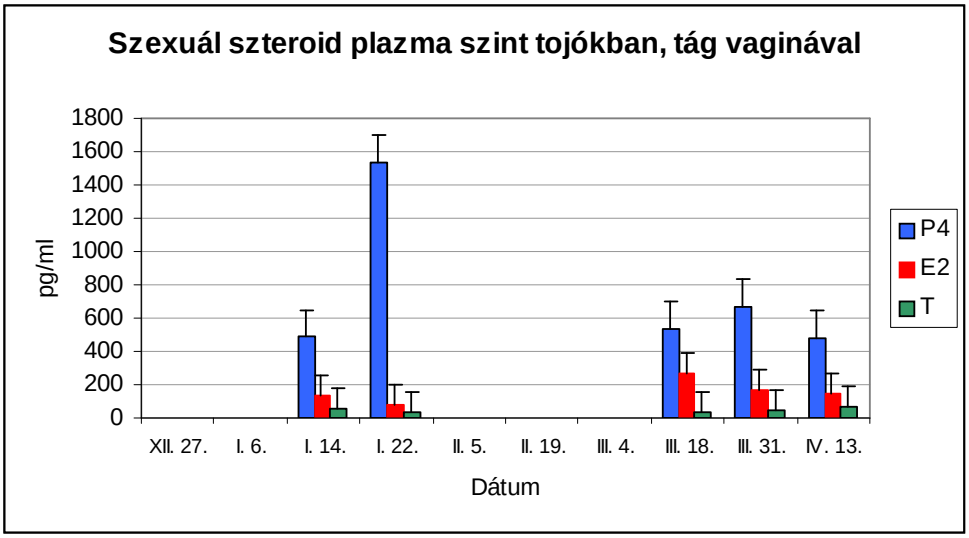


75. ábra

A <u>közepes</u> hüvelyméretű madarakban a pubertás során magas E2 és közepesen magas P4 plazmaszint volt észlelhető csökkenő T plazma szintek mellett. Ugyanez a kategória a ciklus befejeztével nagyon alacsony T és alacsony P4 szintet mutatott, az E2 szintek a március 31-i értéket kivéve magasak (76. ábra).

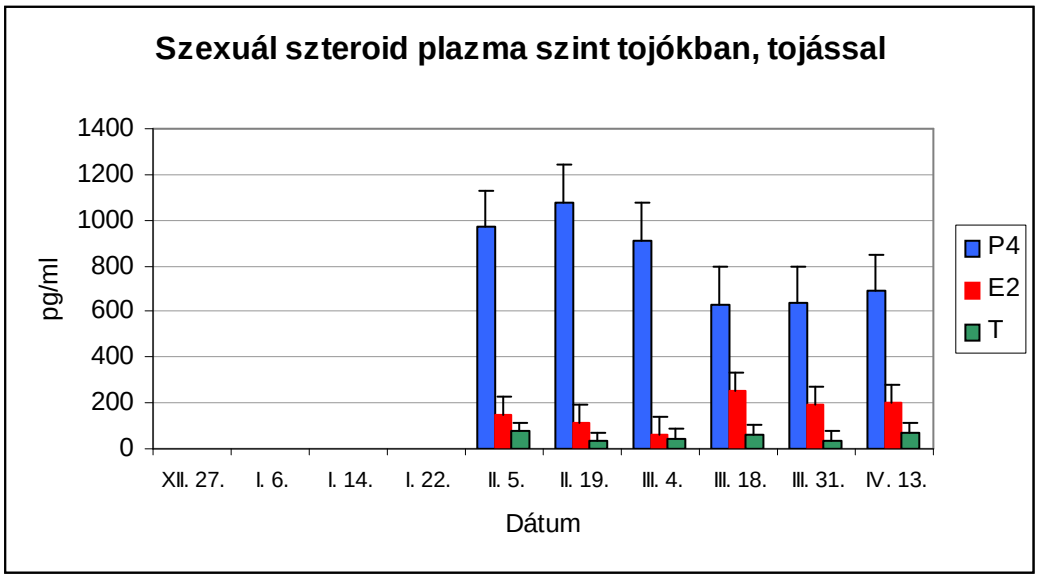


76. ábra



77. ábra

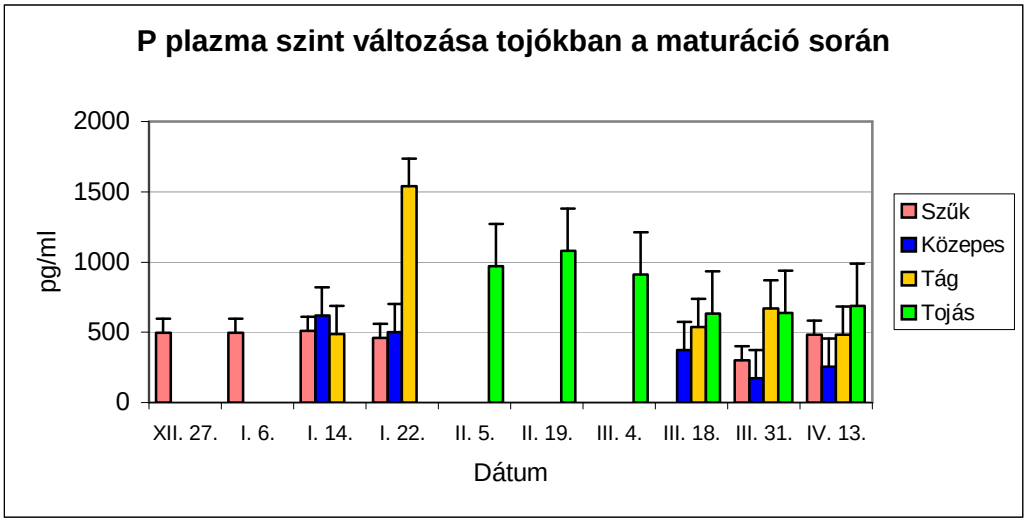
Tág méret esetén a P4 szint közepesen magas, az E2 és a T szintek alacsonyak, közvetlenül a tojásrakás előtt álló tojókban azonban kifejezett P4 dominancia észlelhető (77. ábra).



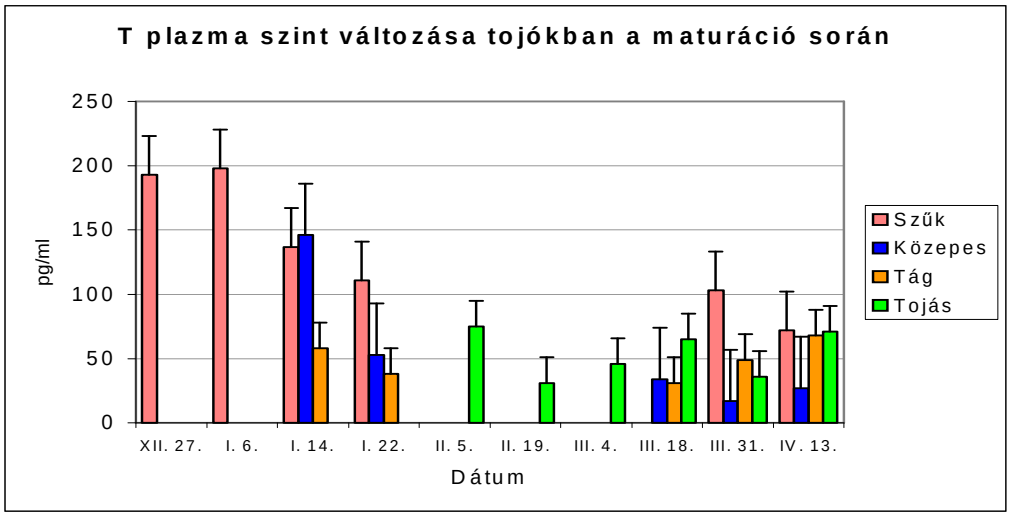
78. ábra

Azokban a madarakban, amelyek petevezetőjében tojás volt a vizsgálat időpontjában, a P4 plazma szintek magasak voltak a maximális termelés időpontjában, a ciklus vége felé a P4 szintje csökkenő volt. A termelés csökkenésével (III. 18.) az E2 szintek értékének megemelkedését lehetett megfigyelni. A T szint alacsony (78. ábra).

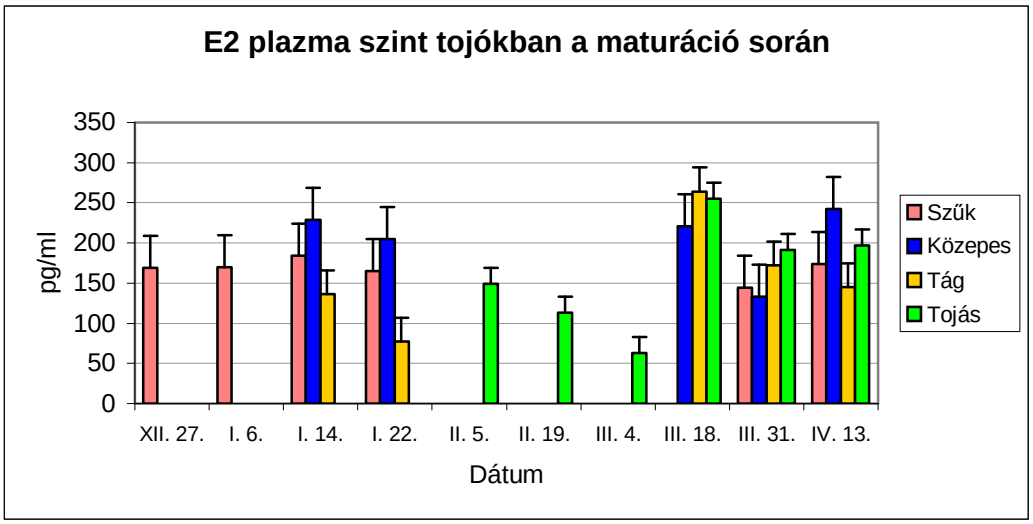
Vizsgáltuk az egyes szexuál szteroidok szintjének alakulását a szaporodási ciklus során egyedekre, azaz palpációs kategóriákra is lebontva.
A P szint érdekes módon nem a tojó madarakban adta a legmagasabb értékeket, hanem a tág, éppen tojásrakás előtt álló madarakban (79. ábra).
A T szint magas volt a szűk tojókban, de csak a prepubertás időszakában. A ciklus végén szintén magasabb T szint figyelhető meg a szűk tojókban, de ez nem éri el a ciklus eleji szinteket (80. ábra).
Az E2 szintje a tojásrakás kezdete előtt a legmagasabb a közepes méretű tojókban, szintje megemelkedik a tojástermelés csökkenésével. A ciklus végén a közepes kategóriákra jellemző a megemelkedett E2 szint (81. ábra).



79. ábra

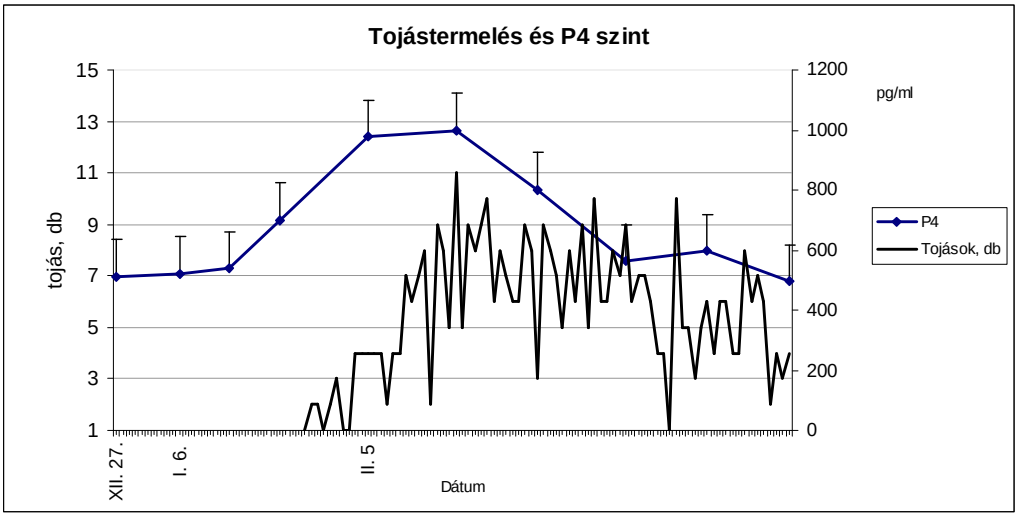


80. ábra



81. ábra

A progeszteron szint és a tojástermelés összefüggése (82. ábra):
A P4 egyenletesen alacsony (500 pg/ml) szintet mutatott egy hónapon keresztül a tojóciklus kezdete előtt (december 27-től január 14-ig). Január 22-én kissé megemelkedett P4 szintet tudtunk mérni (700 pg/ml), ami előre jelezte a január 24-én megtojt első tojást. A beindult tojástermelés ekkor még csak szórványos volt és csak 19 nap után (február 11-én) került az állomány reprodukciós szempontból azonos állapotba, kezdett el minden tojó tojni. Ettől az időponttól a tojástermelés fokozatosan növekedett és február 19-én érte el maximumát (73%-os termelést). Ez a szint ezt követően kissé lecsökkent és március 22-ig 60%-os szinten folytatódott. A P4 értéke a tojástermelés növekedését követve szintén február 19-én, a csúcstermelés napján érte el maximumát (1000 pg/ml).



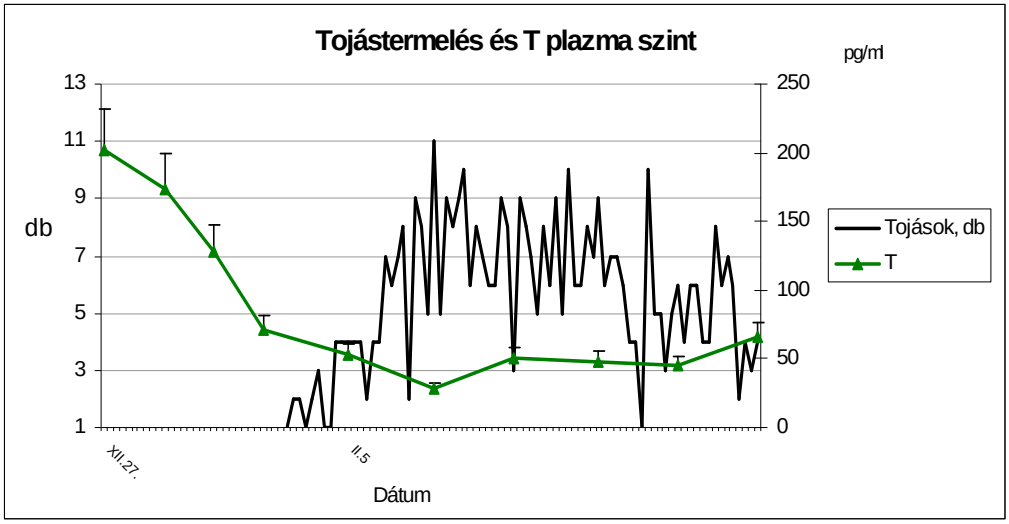
82. ábra

Az ezt követő időszakban, még 60%-os termelés mellett a P4 szintje folyamatosan és meredeken csökken március 18-ig. Március 22. után a tojástermelés rendszertelenné válik és egy-két szélsőséges termelési nap után március 31-ig 40%-os szintre áll be. Ekkor a P4 értéke kissé megemelkedett, de ez a növekedés nem volt szignifikáns. Április elejére a termelés 20%-ra, a P4 szint 495 pg/ml-re csökkent, ami megegyezik a prepubertás idején mért értékekkel; december 27., január 14.

4. táblázat
A P4 plazma értékek variancia analízise

	Dec.12	Jan.6	Jan.14	Jan.22	Febr.5	Febr.19	Márc.4	Márc.28	Márc.31
Jan.6	NS								
Jan.14	NS	NS							
Jan.22	NS	NS	<0.01						
Febr.5	<0.001	<0.001	<0.001	NS					
Febr.19	<0.001	<0.001	<0.001	NS	NS				
Márc.4	<0.01	<0.01	<0.001	NS	NS	NS			
Márc.28	NS	NS	<0.001	NS	<0.001	<0.001	<0.05		
Márc.31	NS	NS	<0.001	NS	<0.01	<0.001	<0.05	NS	
Ápr.13	NS	NS	<0.001	NS	<0.001	<0.001	<0.01	NS	NS

A tesztoszteron szint és a tojástermelés összefüggése (83. ábra):
A T szint mozgása ellentétes irányú volt a tojók szexuális aktivitásával, illetve a tojástermelés alakulásával. A T december 27-én érte el csúcsértékét, majd fokozatosan csökkent február 19-ig. A legalacsonyabb értéket adó időszak (28,14 pg/ml) egybe esett a maximális tojástermelés időpontjával. A tojástermelés csökkenését a T szintjének enyhe emelkedése kísérte a kisérlet időszakának végéig, amikor szintje a 63,3 pg/ml-t érte el. Ez a növekedés a legalacsonyabb február 19-i értékhez viszonyítva szignifikáns volt 5%-os szinten.



83. ábra

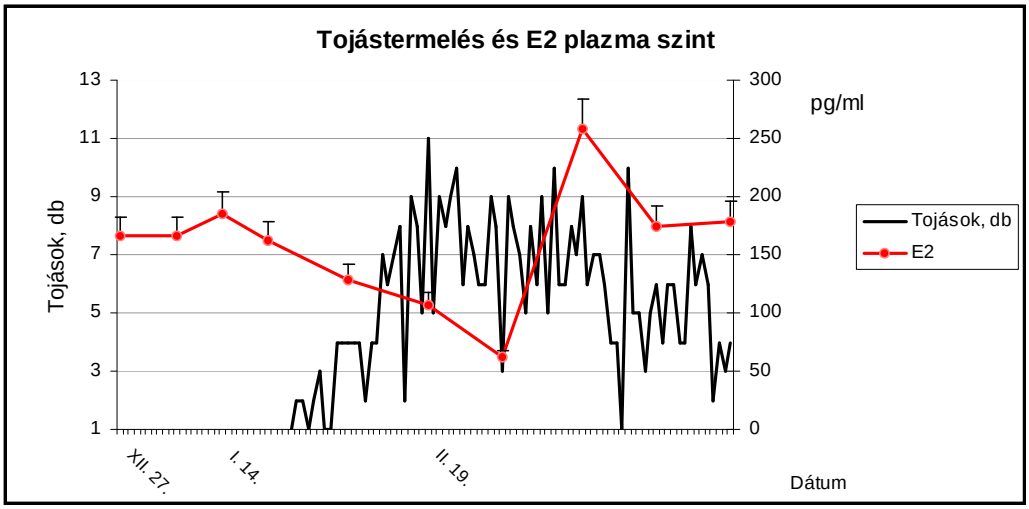
5. táblázat

A T plazma értékek variancia analízise

	Dec.12	Jan.6	Jan.14	Jan.22	Febr.5	Febr.19	Márc.4	Márc.28	Márc.31
Jan.6	NS								
Jan.14	<0.05	NS							
Jan.22	<0.001	<0.001	<0.05						
Febr.5	<0.001	<0.001	<0.001	NS					
Febr.19	<0.001	<0.001	<0.001	<0.05	NS				
Márc.4	<0.001	<0.001	<0.001	NS	NS	NS			
Márc.28	<0.001	<0.001	<0.001	NS	NS	NS	NS		
Márc.31	<0.001	<0.001	<0.001	NS	NS	NS	NS	NS	
Ápr.13	<0.001	<0.01	<0.01	NS	NS	<0.05	NS	NS	NS

A 17-β-ösztradiol szint és a tojástermelés összefüggése (84. ábra):

A prepubertás időszakában az E2 plazma szintje nem mutatott jelentős változásokat, alig volt eltérés a december 27-i és január 6-i szintek között (166.3 és 165.8 pg/ml). Január 14-én kismértékű emelkedést észleltünk (183.6 pg/ml), ezt követően az E2 szint március 4-ig folyamatosan csökken (64 pg/ml). Március 18-án, a tojástermelés csökkenésének kezdetével egyidejűleg hirtelen és kiemelkedő plazmaszint növekedés mutatkozott (254 pg/ml), amely aztán egy 175 pg/ml-es szintre csökkent március 31-én és április 13-án, ami megegyezik a decemberi és januári E2 értékekkel.



84. ábra

6. táblázat

Az E2 plazma értékek variancia analízise

	Dec.12	Jan.6	Jan.14	Jan.22	Febr.5	Febr.19	Márc.4	Márc.28	Márc.31
Jan.6	NS								
Jan.14	NS	NS							
Jan.22	NS	NS	NS						
Febr.5	NS	NS	NS	NS					
Febr.19	<0.01	<0.001	<0.05	<0.05	NS				
Márc.4	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	NS	<0.05			
Márc.28	<0.01	<0.001	<0.001	<0.01	NS	<0.001	<0.001		
Márc.31	NS	NS	<0.001	NS	NS	<0.001	<0.001	<0.01	
Ápr.13	NS	NS	<0.01	NS	NS	<0.01	<0.01	<0.01	NS

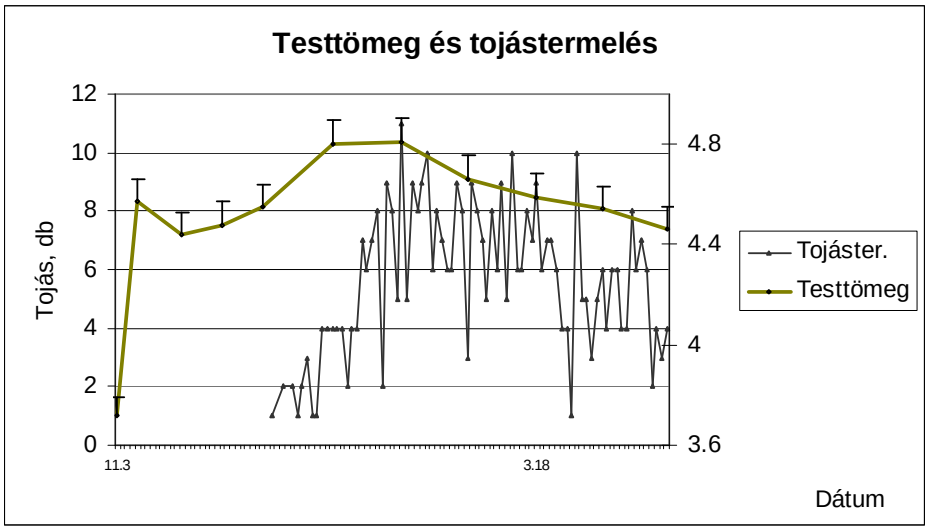
A tojástermelés időszakában magas P4 és alacsony E2 és T szintek voltak jellemzőek. A termelés csökkenését a P4 szint csökkenése kísérte, ugyanakkor a T szint enyhe növekedést mutatott. Az E2 szintje átmeneti emelkedés után szintén lecsökkent. A kísérleti időszak végén, amikor már csak szórványos volt a termelés a P4 és az E2 szintje a prepubertás időszakának értékeivel volt azonos, míg a T szint annál lényegesen alacsonyabb értéket mutatott.

Testtömeg és tojástermelés (85. ábra):

Jelentősebb testtömeggyarapodás két különböző időszakban volt észlelhető a tojóknál. Az első fázisban, a prepubertás időszakában - november végétől december végéig - szignifikáns (0,85 kg-os) növekedés volt észlelhető, még a szaporodási ciklust megelőző rövidnappalos fotoperiódus ideje alatt. A tojástermelést megelőzően kisméretű testtömegcsökkenés volt észlelhető.

A második, kisebb testtömegnövekedés a tojásrakás kezdetét kísérte, ahol a gyarapodás a funkcionáló petevezető és gonád növekedéséből adódott.

A tojástermelés január 24-én indult 9 óra 12 perces nappal hosszúságnál, maximumát február 19-én érte el 10 óra 29 perces nappal hosszúságnál. A tojók átlagos testtömege a tojástermelés maximumával egyidőben érte el a legmagasabb értékét (4.82 kg), majd ez az érték folyamatosan csökkent és április közepére elérte a januári ”felkészülési” testtömeg értékét (4.45 kg).



85. ábra

5.3. ÚJ EREDMÉNYEK

1. Fénymikroszkópos szinten megállapítottam, hogy a házi lúd fejlődő tüszőiben a tüszőfal struktúrája a tüsző fejlettségi állapotától függ.
A granulosa hám egyrétegű a stromába ágyazott korai fejlődési fázisban (50-100 μm), valamint a fejlődő sárga tüszőkben, 10 mm átmérő nagyságtól az ovulációs méretig (53 mm), többrétegű és/vagy többmagsoros a fejlődő fehér tüszőkben.
A theca interna rétege kötőszövetes jellegű a legkisebb fehér, valamint a fejlődő sárga tüszőkben, ugyanakkor glanduláris jelleget mutat a 7-10 mm-es fehér tüszőkben.
Hasonlóképpen változik a theca externa megjelenési formája is, amely kötőszövetes jelleget mutat az összes fejlődési stádiumban, kivéve a legkisebb fehér és a 10 mm-es nagy fehér tüszőket, ahol a theca externa rétegében „fészkes" glanduláris sejtek populációjának kialakulását lehet megfigyelni, amelyek a sárga szik beépülésének kezdetével eltűnnek. A fejlődő sárga tüszőkben a tüszőfal fénymikroszkópos szinten egyöntetűen kötőszövetes jelleget mutat.

2. Vizsgáltam fejlődő tüszők granulosa rétegének strukturális változásait transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálati módszerrel házi lúdban. Megállapítottam, hogy a házi lúd granulosa sejtjeinek felépítése eltér a házi tyúk granulosa sejtjeitől egyes sejt organellumok tekintetében, mint amilyenek az ismeretlen funkciójú szemcsés endoplazmatikus retikulummal közlekedő annulált lemezek és a citoplazmában előforduló elektrondenz centrális résszel rendelkező granulumok. Megállapítottam, hogy a lúd granulosa sejtek transosomái szerkezetükben megegyeznek más madárfajokéival.

3. Vizsgáltam a házilúd fejlődő tüszőinek (F_{10}-től F_1-ig; 1 mm-es átmérőtől 53 mm-es átmérőig) szexuál szteroid tartalmát, amelyeknél a házi tyúkra vonatkozó irodalmi adatoktól eltérően a legkisebb fehér tüszőkben progeszteron tartalmat tudtam mérni, jelentős tesztoszteron szintek kíséretében, alacsony ösztrogén szint mellett. A progeszteron szintek két fejlődési stádiumnál adtak magas értéket, az F_7-F_8 (10-18 mm) tüszőknél és az F_2-F_1 (45-53 mm) tüszőknél, míg az ösztradiol és a tesztoszteron kisebb, nem szignifikáns változásoktól eltekintve egyenletes szintet mutattak a tüszőfejlődés során.

4. Házi lúd petefészkén az atretikus tüszőkben fénymikroszkópos szinten 7 leépülési stádiumot írtam le szövettani típusát írtam le házilúdban a tüszőfalat alkotó elemek degradációjának szintjei, illetve újonnan megjelenő szövettani elemek alapján.
Megállapítottam, hogy az atrézia során a tüszőfal theca rétegek a kötőszöveti elemei (multipotens stromális sejtek, fibroblasztok) valószínűleg a kötőszöveti rostok között megjelenő szik hatására glanduláris elemekké transzformálód-

nak. A glanduláris sejtek által elfoglalt területek a szaporodási ciklus végén nagy kiterjedésben fordulnak elő a petefészek stromájában is.

5. Vizsgáltam a lizoszómális marker enzimek (savanyú foszfatáz, β-galaktozidáz, β-glukuronidáz, katepszin-D) aktivitás változásait a fejlődő és degradálódó tüszőkben. A fejlődő tüszőkben az F5 méretnél (19-24 mm) mértem a legmagasabb aktivitást. Az atretikus tüszőknél nem találtam összefüggést az atrézia típusa, a tüsző mérete között és az enzimaktivitási szintek között, de az enzimek aktivitása lényegesen magasabb volt az ép tüszőkben mért értékeknél.

6. Mérésekkel igazoltam, hogy az atretikus tüszők intenzív szteroid szintetizáló képeséggel rendelkeznek. Megállapítottam, hogy a progeszteron tartalom változik a legnagyobb mértékben az atretikus tüszőkben, elsősorban a glanduláris jellegűvé transzformálódott stromális kötőszöveti elemek rendelkeznek kiemelkedő progeszteron szintetizáló aktivitással. Megállapítottam, hogy az atretikus tüszők progeszteron tartalma a szaporodási ciklus végére jelentősen megnő, elsősorban a stromális glanduláris sejttípus dominánssá válása miatt.

7. Palpációs technikát alkalmaztam tojók szaporodásbiológiai állapotának kategorizálására (inaktív, maturálódó, aktív, regressziós fázisban lévő) és egyben feltártam ennek hátterét. Leírtam a cloácán keresztül kitapintható hüvelyméret változásainak összefüggéseit a plazma szexuál szteroid (progeszteron, 17β-ösztradiol, tesztoszteron) szintjének változásával.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

6.1. Strukturális és hormonális változások házilúd tüszőfejlődése során

A fejlődő tüszők hormon tartalmáról csak házityúkra vonatkozó adatokkal rendelkezünk. Az eredmények többsége megegyezik abban, hogy a granulosa sejtekben a progeszteron, a theca interna sejtekben az androgének (kismértékben néha progeszteron), a theca externa sejtekben az ösztrogének szintézise zajlik. A granulosa által termelt progeszteron kettős funkciójú: egyrészt „végtermék", mely a vérbe szecernálódik, másrészt parakrin úton átjut a theca rétegekbe, s ott az előállított szteroidok prekurzora (petefészek szteroid termelésének két, ill. három sejtes modele). A hormonok mennyisége a tüsző fejlődésével változik, a megfelelő struktúrák változása által kísérve.

Vizsgálataink során házilúd legkisebb tüszőiben (1-8 mm) mértük a legalacsonyabb progeszteron (P) szintet, ami a 9-10 mm-es populációban indult növekedésnek és egészen a 11-18 mm-es átmérőig folyamatosan, erőteljesen növekedett. Ez az alacsony szint házityúkban leírt, alig mérhető értékhez képest igen magas, meghaladja a 200 pg/100 mg értéket.
Összehasonlítás képpen házi tyúkban Tilly et al. (1991) még egy előrehaladottabb fejlődési fázisban lévő tüszőpopulációból sem tudott lényeges P tartalmat kimutatni, a 6-8 mm (kis fehér tüsző) átmérőjű tüszőkből izolált granulosa sejtek csak extrém alacsony P szintet tartalmaztak. A 9-12 mm-es tüszők (kis sárga tüsző) granulosájában már lényegesen magasabb P szintet találtak, a növekedés a 6-8 mm-es populáció P szintjéhez képes 200-szoros volt. Tilly et al. (1991) eredménye megerősíti Robinson et al. (1986) P-ra vonatkozó eredményét, akik a kis fehér tüszőkben nem tudtak P tartalmat kimutatni, csak ösztradiolt, androszténdiont és dehidroepiandrosteront, amely utóbbi feltehetően szubsztrátként funkcionált.
Házi lúdban a kis fehér tüszőkben a P szintje nem mutatott változást, ugyanakkor a kis fehér tüszők morfológiájában jelentős átalakulások figyelhetők meg, az 1 mm-től 10 mm-ig átmérőjű tüszőkben a granulosa fokozatosan elveszti többmagsoros, többrétegű jellegét, ami a mérések szerint nincs befolyással a szteroidogenikus aktivitására.
A házi lúdban mért P eredményeket nagyon nehéz értelmezni, ugyanis az irodalmi adatok szerint a granulosa a kis fehér tüszőkben nem képes P előállítására a hiányzó P450 $_{SCC}$ enzim következtében (Tilly et al., 1991), ugyanakkor ismert, hogy a prehierarchikus tüszők granulosa sejtjei 3β-hidroxiszteroid dehidrogenáz (3β-HSD) aktivitással rendelkeznek, tehát elvileg képesek P szintézisére. Az irodalom adatai és saját méréseink között mutatkozó eltérés oka lehet a species különbség, ill az a tény, hogy *in vitro* és *in vivo* adatok nem mindig fedik tökéletesen egymást.

Házi lúdban a P szint két fejlődési fázisnál ad csúcsot, a kis sárga tüszők (F6: 10-11 mm), valamint az F1 (50-53 mm) és F2 tüszők (45-49 mm) populációjában (ez utóbbi kettő között nem szignifikáns a különbség). Porter et al. (1989) vizsgálata szerint pulyka F5 tüszőjéből származó theca interna sejtek P szintézisére képesek. Elképzelhető, hogy házi lúdban az F6 tüszőknél tapasztalt P csúcshoz hozzájárultak a th interna sejtek is.
A fejlődés során jelentős visszaesés volt tapasztalható a 19-33 mm-es tüszők P tartalmában, aminek magyarázatára nem találtunk irodalmi adatokat.
Az F1 tüszőknek az F2 tüszőkénél alacsonyabb P tartalma feltételezhetően a mintavétel időpontjával lehet összefüggésben, az F1 tüszőt a hierachiában megelőző és már ovulációra került petesejt preovulációs LH csúcsa deszenzitizálhatja, aminek eredményeképpen átmenetileg csökkenhet az éppen aktuális F1 tüsző progeszteron termelése. Hasonló jelenséget tapasztalt Yu et al. (1992), akik természetes LH csúcsot követő 4 órán belül kiemelt preovulációs tüszőknél LH refrakteritást észleltek exogén LH stimulációra. Ezt megerősíti Yoshimura et al. (1995c) is, aki F1, F2, F3 tüszők granulosa sejtjeiben nem tudott progeszteron receptort izolálni 20 órával a várható ovulációt megelőzően. Ezeknek a receptoroknak az indukciójában az LH játszik szerepet és hatással vannak a progeszteron termelés fokozására önszabályozó folyamatok révén.
Kato et al. (1995) mérései szerint házityúkban a P szint az F1 és F2 tüszőkben volt a legmagasabb, más fejlődési fázisban nem írtak le olyan csúcsot, mint amilyet méréseink alapján találtunk házilúdban, a kis sárga tüszőkben. Ezeknek a csúcsoknak fénymikroszkópos szinten, morfológiai alapokon nem tudjuk magyarázatát adni.

Házityúkban egybehangzóak a tesztoszteronra (T) vonatkozó megállapítások a preovulációs tüszőket illetően. Kato et al. (1995), szerint a T az F2-F4 tüszőkben volt a legmagasabb egyidejű magas E szinttel a theca internában (amely valószínűleg theca externa eredetű E diffúzió eredménye) a P450 $_{17\alpha}$ enzim mRNS-ével együtt. Velazquez et al. (1991) eredményei szerint is a tesztoszteron szekréció az F3 tüszők thecájában volt a legmagasabb, majd csökkent az F2-ben és az F1-ben már nem volt mérhető mennyiségű. Ezzel egyezik Marrone et al. (1985) mérési eredménye is, amely szerint a maturáció során a tüszők androszténdion termelő kapacitása csökken.
Házilúdban a házi tyúkban mért T szintekkel ellentétben nem a nagy sárga tüszőkben, hanem a kis fehér tüszőkben figyelhetünk meg növekvő T szintet, amely az F8 tüsző méretben ad csúcsot. A tyúkon leírt hormon-struktúra kapcsolatnak (T-theca interna szteroid termelő sejtek) megfelelően házilúdban ebben a fejlődési szakaszban a szövettani képet nagymértékben a glanduláris jellegű th interna sejtek uralják, amelyek megjelenésükben jelentősen eltérnek a házityúkban leírt th interna sejtektől (Hernandez-Vertiz et al., 1993).
Házilúdban a T szint a legkisebb, 1 mm átmérőjű tüszőknél még nem volt jelentős, ezekben a tüszőkben a theca interna erősen kötőszöveti jelleget mutat,

a fibrociták alakja nyújtott, a sejtek semmiféle szteroidtermelő jelleget nem mutatnak fénymikroszkópos szinten, ami megegyezik a házityúk theca internájának mikroszkópos képével, ahol a szteroid termelő theca internát fibroblastok vékony rétege megnevezéssel jelölik. Érdekes módon házi tyúkban ez a kép nem változik a tüsző fejlődése során, ugyanakkor házilúdban már az F8 (8-9 mm) tüszőkben a theca interna sejtek markáns változáson mennek keresztül, teljesen elveszítik kötőszövetes jellegüket, glanduláris jellegűvé válnak, nagy, világos, kissé habos jellegű citoplazmájukat szinte teljesen kitöltik a magok, amelyekben gyakran nucleolusok láthatók. A theca interna rétege több sejtrétegű, megvastagodott, a theca externa sejtjei is inkább fibroblasztokra emlékeztetnek. Ezt a struktúraváltozást magas T tartalom kíséri, amely az F8-as tüszőkben észlelt szteroid tartalom 64%-át képezte.

Az nagy fehér (F7= 10 mm) tüszőkben a theca interna vastagsága is, valamint a réteget alkotó sejtek mérete csökken, a sejtek laposabbak lesznek, magjuk megnyúlt, elvesztik kifejezett glanduláris jellegüket, amit a T szint szignifikáns csökkenése is jelez. Ez az alacsony T szint az F2 méretig nem változik, a preovulációs tüszőben szintje már alig mérhető. Az ezt kísérő szövettani képek is azt mutatják, hogy a theca interna csak kismértékben mutatja a klasszikus szteroid szintetizáló sejtek jellegzetességét.
Úgy tűnik, hogy a theca interna T szintetizáló képessége nem kizárólagos, F1-F5 tüszőkben Nitta et al. (1991) a theca externán belül az ismert szteroid szintetizáló sejt populáció mellett olyan interstitiális és fibroblast sejteket is tudott immuncitokémiai módszerekkel lokalizálni, amelyek immunreaktív P450 $_{SCC}$, P450 $_{C17}$ enzimkészlettel rendelkeztek a theca externában, tehát képesek P-ból androgének szintézisére.

A theca interna sejtek glanduláris változása által kísért intenzív T szintézisét támasztja alá megfigyelésem, hogy tojókban a prepubertás időszakában a gonád fejlődését magas T plazmaszint vezeti be (Forgó et al., 1996a), amelynek forrását a mérések szerint a kis fehér tüszők populációja adja.

Házi lúdban az ösztrogén (E2) szint a legkisebb méretnél (1 mm) viszonylag magas, ezután fokozatosan csökken és nagyjából azonos szinten mozog, sehol sem mutatva szignifikáns változást a tüszőérés során. Az E2 szintet kísérő morfológiai kép „fészkes” sejtek jelenlétéről tanúskodik a theca externában. Ezek a fészkes sejtek jól elkülönülnek kötőszövetes környezetüktől, 3-6 sejt képez egy fészket, amelyet bazális membrán vesz körül. Ezen belül a sejtek szorosan egymásnak fekszenek, sejtmagjuk kerek, vagy ovális, citoplazmájuk nagy, világos, habos szerkezű. A leírás alapján a fészkes sejtek megjelenésükben nagymértékben eltérnek azoktól a differenciálatlan theca externa sejtektől, amelyeket házi tyúkban írtak le kis sárga tüszők theca externájában és amelyekről azt igazolták, hogy az E2 szintézisében játszanak szerepet (Velazquez et al., 1991). Időbeni megjelenésük házityúkban a kis sárga tüszők (5-10 mm) stádiumához köthető. Ezt igazolta Lee et al. (1994) is, akik házityúk kis tüsző-

inek (kis fehér, kis sárga) E2 tartalmát vizsgálták, a legmagasabb E2 szintet a kis sárga follikulusokban mérték. Ezt támasztja alá Hernandez-Vértiz et al. (1993) vizsgálata is, mely szerint a theca externa differenciálatlan sejtjeinek száma a maximumot érte el kis sárga tüszők theca externájában, majd a tüsző növekedésével számuk csökkent és az F1 tüszőben már nem voltak fellelhetők.

A morfológiai különbségek ellenére azonban a viszonylag magas E2 szint lúd legkisebb fehér tüszőiben azt támasztja alá, hogy ezek a glanduláris jellegű sejtek megfelelelhetnek a házityúkban leírt E2 termelő theca externa sejteknek. Valószínű, hogy később, a tüszőfejlődés során ezek a sejtek a tüszőfalat alkotó kötőszövetes sejtszaporodás, illetve a növekvő petesejt feszítő hatásának következtében ellaposodnak és beleolvadnak a környezetükbe.
Házi tyúkban a preovulációs tüszőkön belül a legmagasabb E2 szintet az F4, F3 tüszők th externa sejtjeiben detektálták a P450 $_{arom}$ mRNS-nek együttes kimutatásával (Kato et al., 1995). Velazquez et al. (1991) hasonló eredményre jutott, a 17β-ösztradiol szintézis az F5 tüszőméretig növekedett, az F4 méretnél már csökkent és alig volt detektálható az F3, F2, F1 méretnél.
Házi lúdon az F2 tüsző méretnél észleltünk enyhe E2 emelkedést, ami nem volt szignifikáns.

Az irodalmi adatokkal történt összehasonlítás alapján egyértelmű, hogy házilúdban a fejlődő tüszők szteroid tartalma jelentős mértékben eltér a házi tyúkban mért szintektől, ami további vizsgálatok szükségességét veti fel, ha igazolni akarjuk az eltérések fajspecifikus jellegét. Azt, hogy a tüszők szteroid szintézisében vannak faji specificitások alátámasztja Asem et al. (1985) vizsgálata, amely szerint a P metabolizmus sajátos vonásokat mutat japán fürj theca sejtjeiben.

Az a tény mindenképpen elgondolkoztató, hogy házi lúd fejlődő sárga tüszőiben 400-szoros nagyítással már nem tudtunk eltérő jellegű sejtcsoportokat elkülöníteni az egyöntetűen kötőszövetes jelleget mutató tüszőfalban, de ez nem jelenti azt, hogy ezek struktúrák nincsenek ott és nem rendelkeznek szteroid szintetizáló aktivitással.
Valószínű, hogy nagyobb felbontású technikával jobban be lehetne azonosítani a finomabb struktúrákat, amire bizonyíték Hernandez-Vertiz et al. (1993) szövettani vizsgálata, amely szerint házi tyúkban 1400-szoros nagyítással egészen a preovulációs stádiumig megfigyelhetők a theca internában a szteroid szintetizáló sejtek.

A jövőre vonatkozóan javasoljuk a vizsgálatok folytatásához a morfológiai módszerek kibővítését a szteroid bioszintézis enzimek immuncitokémiájával, amely nagymértékben hozzájárulna a szteroid szintetizáló sejtek *in situ* lokalizálásához a tüszőfejlődés során, térben is és időben is.

6.2. Morfológiai és hormonális változások házilúd tüszőiben az atrézia során

A petefészekben a tüszőknek körülbelül 99%-a sohasem kerül ovulációra, sorsa a leépülés lesz, amelyre a kezdő jelet a granulosa sejtjeiben beinduló folyamatok adják meg. A fiziológiás sejtpusztulás (más neveken apoptosis, programozott sejt halál, aktív sejt halál, vagy biológiai sejt halál) mechanizmusa biztosítja azt, hogy a petefészek minden ciklusban termékeny petesejtet ovuláljon a megtermékenyítéshez. A teljes folyamat még nem ismert, de valószínű, hogy egyes sejtek genetikailag már eleve pusztulásra vannak ítélve. Az irreverzibilis folyamatok sorozatát feltehetően hormonális változások indítják el, amelyeket aztán apoptotikus proteineket kódoló gének vesznek át és folytatnak.

Az apoptosis során a „hibás” sejtek eliminálása a szomszédos sejtek, környező struktúrák működésének megzavarása nélkül zajlik le, a sejtvesztés nem vált ki immunreakciót a szervezetből. Az apoptotikus folyamatok meghatározott sorrendben zajlanak le, jellegzetes morfológiai elváltozásokat mutatva. A haldokló sejt citoplazmájának mérete jelentősen csökken, a mag DNS állományának fragmentálódása következtében a mag piknotikus lesz. Ezt követően a sejtalkotórészek membránnal körülvett vezikulumokban tűnnek fel, mint apoptotikus citoplazma testek, amelyeket makrofágok, vagy a szomszédos sejtek fagocitálnak.

Ezzel szemben a patológiás sejthalál, a nekrózis mindig nagyobb, összefüggőbb sejtkapcsolatokat érint, ahol helyi szöveti reakció is jelentkezik (Tilly, 1996).

A tüsző atrézia jelensége a madár egyedfejlődése során több időpontban fordul elő halmozottan: a maturáció során, amikor megindul a fejlődő tüszők belépése a hierarchiába, a szaporodási ciklus befejeződtével, amikor a kotlást, illetve vedlést kíséri nagyszámú leépülő tüsző, valamint a korosodással figyelhető meg fokozott mértékű tüsző atrézia.

Házityúkban a prehierarchikus tüszők szelekciója 9 mm alatti tüszőátmérőnél figyelhető meg (Gilbert et al., 1983). Az atrézia folyamatának beindításában valószínűleg hormonális hatások is közrejátszanak. Ezt támasztják alá emlős adatok, patkányban az endonukleázok aktivitását gátolja az ösztrogén, míg a tesztoszteron ösztrogén antagonista hatásánál fogva fokozza az apoptozis előfordulását (Billig et al., 1993).

Vizsgálatunk a házi lúd egész reprodukciós időszakára kiterjedt, a mintákat morfológiai szempontból és szteroid hormon tartalom alapján tipizáltuk a tüszők alapstruktúrájának megváltozása szerint. Szövettanilag 7 típust tudtunk megállapítani, ami a jelenlegi ismereteink szerint inkább a leépülés, azaz a szöveti átépülés 7 stádiumának felel meg. Ezt támasztja alá Gupta et al. (1988) eredménye, akik a tüsző atréziának csak két formáját különítették el (bursting

és non-bursting) annak alapján, hogy a leépülés során átszakad-e a tüszőfal vagy sem, ami nagymértékben a tüsző méretétől is függ.
A tüsző atrézia első jele a granulosa sejtekben figyelhető meg (Johnson, 2000a). Ezt támasztják alá saját eredményeink is (Kovács et al., 1992), amennyiben elektronmikroszkópos szinten először a transosomák eltűnését figyeltük meg teljesen épnek tűnő granulosa sejtekben.
A granulosa rétegben a sejtpusztulásnak több formája is előfordulhat párhuzamosan, az apoptosis mellett jelentős számban tudtak olyan sejteket megfigyelni, amelyeknél a citoplasma extenzív autofagocitózisa kísérte a mag leépülési folyamatát, valamint olyan nekrotikus sejteket, amelyek elveszették kapcsolatukat a szomszédos granulosa sejtekkel és magjuk kromatin állománya különböző nagyságú rögökké kondenzálódott (D'Herde et al., 1996). A granulosa rétegben az apoptosis folyamata meglehetősen aszinkron a sejtek között, nem terjed ki egységesen minden granulosa sejtre (D'Herde et al., 1994).
Saját megfigyeléseink szerint, házi lúdban az elektronmikroszlópos vizsgálatok során a granulosa rétegében nem annyira az apoptosis, mint inkább a nekrózis volt domináns (Kovács et al., 1992).
A legkorábbi fénymikroszkópos szövettani képek is a granulosa rétegben történt változásokat erősítik meg házilúdban, a granulosa sejtek elvesztik integritásukat és intenzív proliferáció jeleit mutatják a szik állományába. A további fázisokban a theca rétegek proliferációja és glanduláris hiperpláziája figyelhető meg atipikus szteroid szintek mellett. A kis fehér atretikus tüszőkben mért eredményünket erősíti meg Armstrong (1985) is, aki aromatáz aktivitást mutatott ki házi tyúk hasonló tüszőpopulációjában.
Jelentős változás akkor figyelhető meg mind szövettanilag, mind hormonális szempontból, amikor a lizoszómális enzimaktivitás következtében a tüszőfal részlegesen átszakad és a szik a csírahámmal borított lazarostos kötőszövet lacunái közé folyik be. A szik jelenléte valószínűleg olyan stimulust jelent a kötőszöveti stroma sejtek (fibroblastok) számára, amelynek hatására egy glanduláris jellegű transzformálódási folyamat jeleit lehet fénymikroszkóposan megfigyelni. A hosszúkás alakú, nyújtott magvú fibroblast sejtek lekerekednek, magjuk nagy, kerek, citoplazmájuk világos színű, kissé habos jellegű feltehetően lipid tartalmuk miatt, a citoplazmában gyakran fagocitált szik szemcséket lehet megfigyelni.
A transzformáció képessége differenciálatlan mezenchimális jellegű sejtek sajátossága, amelyek megőrizték multipotens tulajdonságukat és ingerek (pl. toxinok) hatására belőlük a szükségletnek megfelelő sejtek alakulhatnak ki. A fibrocitákhoz hasonló, vagy azoknál kisebb sejtek elsősorban a kapillárisok szomszédságában találhatók (Vígh et al., 1984). Ezek a kötőszöveti eredetű őssejtek jelentős szerepet töltenek be a sejt differenciálódás szabályozásában, a szöveti reparációban, sebgyógyulásban, szövet helyettesítésben (Young et al., 1993).
A szükségleteknek megfelelő transzformáció jelenségéről számol be házi tyúkban Nili et al. (1996), akik bursting típusú atréziában a lacunácat bélelő

sejtek, valamint a peritoneum sejtjeinek makrofágokká történő átalakulását figyelték meg a kifolyt szik stimuláló hatására.
Saját megfigyelésünk alapján transzformálódott glanduláris jellegű stromális sejtek árasztják el a szik tartalmú területeket miközben a mérések szerint intenzív P szintézist folytatnak átmeneti ideig, ugyanis a citoplazma lipid tartalmának növekedése a sejtek zsíros elfajulásához vezet és ekkor már szteroid szintézist nem lehet kimutatni. Hasonló glanduláris transzformációt írt le Marshall (1957) holló atretikus tüszőiben, ahol proliferációt követően szintén fibroblasztok váltak glanduláris jellegűvé.
Vizsgálatunk szerint a stromális glanduláris transzformációval együtt járó atrézia inkább a tojóciklus végére jellemző, amikor a több szikanyagot tartalmazó nagyobb tüszők atretizálódnak. Ez jól tükröződik a degradálódó tüszők szexuál szteroid tartalmában, ahol az áprilisban vett atretikus tüsző mintákban magasabb P szintet találtunk, mint a szaporodási ciklus elején vett mintákban.
Eredményünkkel egybevág Liu et al. (2001) eredménye is, aki folyamatos megvilágítás hatására kotlásra hajlamos pulykákban, atretikus és policisztás tüszőállományt tartalmazó ováriumnál, alacsony LH szint mellett viszonylag magas P szintet mért. Hasonló eredményt adtak Péczely et al. (1993) mérései is, aki fotorefrakter házilúd tojókban június közepén talált magas P szintet a plazmában.
Feltételezhető, hogy a megemelkedett P szintnek egyrészt lokálisan stimuláló hatása van a degradációt kísérő enzimek aktivitására, hasonlóan az ovulációs felrepedési mechanizmushoz, másrészt szisztémásan szerepet játszhat a szaporodási ciklust lezáró vedlés folyamatában (Péczely, 1992).
Javasoljuk a stromális glanduláris sejt populáció célzott vizsgálatát elektronmikroszkópos szinten a transzformációs folyamatok megismerése céljából.

6.3. Házilúd fejlődő és atretikus tüszőinek enzimbiokémiai vizsgálatai

Az általunk vizsgált lizoszómális marker enzimek (savanyú foszfatáz, β-galaktozidáz, β-glukuronidáz, katepszin D) vizsgálata azt mutatta, hogy a növekvő tüszőkben valamennyi lizoszómális enzimaktivitás jól mérhető szintet mutatott, de alacsonyabb volt, mint a leépülő tüszőkben. A fejlődő tüszőkben mért enzimaktivitás viszonylag magas értéke arra utal, hogy a differenciálódó follikulusokban olyan szövetátrendeződési folyamatok zajlanak – beleértve a fokozódó kapillarizációt is – amelyek a lizoszómális aktivitás fokozódásával járnak együtt. Az egyes tüszőtípusokban észlelt különbségek arra utalnak, hogy az erőteljes növekedésnek indult sárga tüszőkben (F7-F4-ig) a legintenzívebbek ezek a folyamatok, itt mértük a legmagasabb enzimaktivitásokat. Ez elsősorban a katepszin D enzim aktivitására vonatkozik, amelynek aktivitás növekedése megfelel a beépülő szik növekedő mennyiségének (Elkin et al., 1995). Az F5-ös tüszőméretig megfigyelt enzim aktivitása a nagyobb tüsző méreteknél már nem mérhető. Ezzel analóg jelenség figyelhető meg a *Sparus*

aurata-nál is, amelynek petefészkében csak a korai vitellogenezis időszakában mérhető katepszin D aktivitás, a tüszőfejlődés későbbi időszakában a katepszin L veszi át a katepszin D proteolítikus szerepét (Carnevali et al., 1999).
A preovulációs tüszők alacsonyabb lizoszómális aktivitása arra utal, hogy a maximális méretet elért falában az enzimatikus folyamatokkal együttjáró szöveti átépülések kisebb jelentőségűek.
A degradálódó tüszőkben nagyobb lizoszómális enzimaktivitás érték volt mérhető, mint a növekvő tüszőkben, elsősorban a kis fehér tüszők szintjén. Ezt támasztja alá Johnson et al., 1997, eredménye is, akik atretikus tüszőkben magasabb proteolítikus hatású urokináz enzim szintet mértek, mint a fejlődő tüszőkben.
Ugyanakkor azt is megállapítottuk, hogy a degradálódó tüszőkben nincs összefüggés az atrézia típusa és az enzimaktivitás növekedése között és ugyancsak nem volt különbség a különböző méretű degradálódó tüszők között. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a leépülő tüszőkben már igen hamar aktiválódik az a lizoszómális program, amely végül is a sejt szétesését eredményezi.
Hasonló megfigyelésekről számolnak be alap-citológiai munkák a legkülönbözőbb szövetféleségek esetében is (Alberts et al., 1989).

A jövőre vonatkozóan érdemes volna kiterjeszteni az enzim vizsgálatokat lúgos foszfatáz aktivitásának mérésére is, amely jelentősebb szerepet tölt be a szövetek átépítésében, a differenciálódási folyamatokban (Chapeau et al., 1996).

6.4. A petevezető morfológiai és funkcionális változásai a szaporodási ciklus során házilúdban összefüggésben a szexuál szteroid szintekkel

A fotostimuláció hatására aktiválódó hypothalamus-hypophysis-gonád tengely hatására a petefészek prematurus kis fehér tüszői növekedni kezdenek, az általuk termelt szteroidok pedig egyre nagyobb mennyiségben kerülnek a szisztémás keringésbe. Az ösztrogén (E2) stimulálja a sejt proliferációt, a propria mirigyek kialakulását, a sejtek differenciálódását, a progeszteron receptorok szintézisét. A progeszteron (P) fokozza E hatást követően a szekréció intenzitását, ugyanakkor gátló hatással rendelkezik a mirigyhám sejtek differenciálódására, proliferációjára. A két hormon egymáshoz viszonyított aránya határozza meg a petevezető morfogenezisének ütemét, a petevezető adott fejlődési állapotát.
Ez vonatkozik magára a szerv támasztószövetére is, a szövet-specifikus struktúrák fejlődését párhuzamosan kíséri a kötőszövet sejtjeinek a szaporodása, vérerek sarjadzása, a petevezető nyálkahártya redőinek fokozódó redőzöttsége.

Ezeket a méretváltozásokat a petevezetőben - összefüggésben a petefészek aktivitásával - a tömegváltozással tudjuk a legjobban szemléltetni.
Fél éves időtartamon keresztül kísértük figyelemmel a kísérleti célra levágott tojókból származó petevezetők és petefészkek tömegének alakulását, ezek a minták az összes szaporodási fázist jól reprezentálták. A két szerv tömegének gyarapodása eltérő ütemben történik egy bizonyos fejlettségi szintig, az ún. inaktív fázisban a petevezető tömeg gyarapodásának trendje megelőzi a petefészek tömeg gyarapodását, de ez házi lúdban sokkal kisebb különbséggel történik, mint házi tyúkban (Gilbert, 1971), ahol nagyságrendekkel nagyobb a petevezető tömege a petefészeknél. Ez a trend a nagyobb sárga tüszők megjelenésével megfordul, a sárga szik fokozott ütemű beépülésével a petefészek tömeg gyarapodása felgyorsul és egészen az aktív szakaszig meghaladja a petevezetőét. A ciklus végén, a leépülést gyorsabb ütemű petefészek tömeg csökkenés és lassabb ütemű petevezető regresszió jellemzi. Hasonló tendenciát figyelt meg Thapliyal et al. (1991) *Ploceus philippins*-ben, ahol a házi lúdéhoz hasonlóan változnak a gonád tömegek a regresszió időszakában.

A tojó időszakban a petevezető tömege aktív ludakban 89,7 g-tól 153,1 g-ig változhat az ovulációs ciklustól függően, az inaktív időszakban mért tömeghez képest 170%-os a tömeggyarapodás. Ez az érték jól tükröződik a tojók tömegnövekedésében is, amely az aktív fázisban elsősorban az ivarszervek növekedésének eredményeként a 240 g-ot érte el (Forgó et al., 1996b). Hasonlóan nagymértékű petevezető gyarapodást észlelt vadmadaraknál Gupta et al. (1987), kacsánál Sharma et al. (1989).
A petevezető méretváltozását szubjektív módszerrel, palpációval is követni lehet, a kloákába szájadzó vagina vastagsága jól kitapintható a medence csontos alapján. A tapintás során információt kapunk a vagina vastagságáról, tapintatáról (állagáról), beszájadzásának tágasságáról.
Amíg a tojó inaktív, addig a vagina (szűk kategória) ceruzahegy vastagságú, szívós húrként észlelhető, amely érintésre rugalmasan kitér, a vagina szájadéka nem érzékelhető.
Vizsgálataink szerint ez a kategória csak január 6-ig fordult elő, ahol a tojókban alacsony progeszteron (P), közepesen magas ösztrogén (E2) szintet mértünk, ugyanakkor a tesztoszteron (T) szint ekkor volt a legmagasabb az egész maturálódás során.
Házilúdban a petevezető differenciálódásának időszakában a megemelkedett E2 szint mellett magas T szint is kimutatható volt. Joensuu et al. (1992) vizsgálta a dihidrotesztoszteron hatását E2 indukálta petevezetőre házityúkban és azt találta, hogy a T aktív szerepet játszik a stromális sejtek szöveti szerveződésében. Szerepét a T receptorainak lokalizálásával igazolta még az endotheliumban, a vererek sima izomzatában és a mirigyhám sejtekben is. Mivel a T főképpen a strukturális szövetek kialakításában játszik szerepet, magas plazmaszintje az E2-vel együtt elengedhetetlen a fejlődési ciklus kezdetén. Tsushima et al. (1992) a T és az E2 szinergista hatását vizsgálva feltételezi,

hogy a T protein szintézist stimuláló hatása révén fokozza az E2 receptorok számát a célszövetek sejtmagjaiban.

Ezt a szinergikus hatást támasztja alá Sechman et al. (2000) vizsgálata is, akik házi tyúkban az E2 szint folyamatos emelkedése mellett T csúcsot mértek a tojásrakás kezdete előtti 42. naptól a 18. napig, majd a T szint lecsökkent. Az E2 szintje a tojásrakás kezdete előtt 6 nappal csökkent le.
Magas T szintet talált Muray et al. (1980) is házi tyúk maturációja során, 1 héttel a tojásrakás kezdete előtt, amely fokozatosan csökkent a tojásrakás kezdetéig.
A magas bevezető T szint amellett, hogy szinergista szerepet tölt be az E2 mellett Knapp et al. (1987) szerint moduláló hatással van az LH felszabadulásra is, ugyanis fiatal tojó pulykák hypophysiséből a T a bazális LH felszabadulást, míg E2 az LH-RH mediált LH release-t fokozta.
Házi lúdban a magas kezdeti E2 és T szintekből, valamint az első mérések után rendkívül rövid időn belül (28 napra) beinduló tojástermelésből arra lehet következtetni, hogy az elsőéves tojóknál már a rövidnappalos időszakban beindultak azok a folyamatok, amelyek elindították a kis fehér tüszők maturálódását.
Feltételezésünket alátámasztják azok a maturációs házi tyúk adatok, amelyek azt mutatják, hogy a tojásrakás a fotostimulációt követően jóval később, a 42. napon indult csak be (Sechman et al., 2000).
A rövidnappalos maturálódás speciális jelensége ismert a madár szaporodásbiológiában. Egy adott év tavaszán kelt madarak szomatikus fejlettségük elérése ellenére sem költenek a kelés évében, mert fotorefrakter állapotban, az ún. juvenilis fotorefrakteritás állapotában vannak. A csökkenő nappalhosszúság hatására, aztán a fiatal madarak fokozatosan válnak fotoszenzitivvé és ennek jeleként október-novemberben egy LH csúcs mérhető (Williams et al., 1987), ami a reprodukciós rendszer „bekapcsolásának” a jele hypothalamikus szinten. Feltételezhető, hogy ez a rövidnappalos maturálódás jelensége állhat a tojók korai cikluskezdésének hátterében.

Házi lúdban, hasonlóan a házi tyúkhoz az inaktív petevezetőben *szövettanilag* két struktúra domináns, a nyálkahártya hámja és a kötőszöveti stroma, a propria mirigyekre a petevezető mirigyes szakaszaiban csak egy-két invaginació utal az epitheliumban.

Maturálódó házi lúd tojóban a vagina (<u>közepes</u> kategória) ceruzavastagságú, vagy annál valamivel vastagabb, a vagina szájadékába egy női mutatóujj hegye 1-2 mm-re bevezethető. A közepesek P szintje erőteljes emelkedést mutat, a T szintje csökkenő, az E2 pedig egy nem szignifikáns csúcsot adott 10 nappal a tojásrakás kezdete előtt.
A hormon szintek alakulása egybevág a petevezető fejlettségi állapotával. Az E2 által formált kisebb csúcs valószínűleg felgyorsította a petevezetőben az E2 függő differenciálódási és növekedési folyamatokat. Az előrehaladott

maturáció jeleként 8 nap alatt a tojók 33%-a lépett át a szűk kategóriából a közepes kategóriába. A T szintje tovább csökkent. A P növekedő szintje az irodalmi adatok szerint kettős szerepet tölt be, indukálja a nyálkahártya hámjának, főként a kehelysejteknek a differenciálódását, ugyanakkor az E2 indukálta mirigyhámban gátolja a mitózist, hatására fejeződik be a propria mirigyek proliferálódása.
A *szövettani* vizsgálatok szerint a petevezető erezettsége gazdag, mirigyes szakaszaiban a propria rétegében a stroma már alig látható a mirigy végkamrák nagy számától, de még mindig megfigyelhetők formálódó végkamrák, az epithel sejtek még szorosan egymásnak fekszenek, a csillók rétege jól látszik. A petevezető alsóbb szakaszaiban (utero-vaginális junctio, vagina) feltűnő a stroma és epithelium határán a stromális sejteknek az epithel réteg felé irányuló inváziója, szinte beékelődnek a hámsejtek bázisához.
A stromális sejteknek a szöveti differenciálódásban betöltött fontos szerepét támasztja alá Perche et al. (1990) eredménye is, akik I típusú kollagént tudtak kimutatni az epitheliumban az epithel sejtek bazális és laterális membránjai között, valamint az epithel sejtek bazális membránja és a lamina basalis között a stromális mezenchimális sejtek (fibroblasztok) hámsejtek közötti megjelenését követően. In situ hibridizációval igazolták az I típusú kollagén fibroblast eredetét.
Hasonlóképpen a stromális sejtek megjelenése után detektáltak laminint a propriában proliferálódó mirigyek lamina basalisában, amely a fejlődés során egyre vastagabbá válik (Perche et al., 1988). A stromális sejtek megtapadásukat követően a lamina basalis alkotóelemeit (fibronektin, laminin, I és IV típusú kollagén) szintetizálják, így ez által kiemelt szerepet játszanak a propria extracelluláris mátrixának előkészítésében a mirigyhám sejtek inváziójához.

Az aktív petevezetőben a vagina (tág kategória) szájadékába szinte automatikusan 1-2 cm-re becsúszik a kloákába bevezetett ujj, a vagina petyhüdt, vastag. Ezt a kategóriát közvetlenül a tojásrakás kezdete előtt, illetve a tojásrakás idején lehetett megfigyelni. A plazma E2 és T szintje csökkenő, a P pedig extrém magas csúcsot ad január végén, 2 nappal a tojásrakás beindulása előtt. Érdekes módon a tág kategória P csúcsa lényegesen magasabb volt, mint az ezt követő tojásrakási aktív fázis bármely időpontjában.
A tág kategóriájú ludak 8 napon belül kezdtek el tojni, ami közel azonos házityúkban tapasztalt értékkel. Wilson et al. (1975a) megfigyelése szerint a szexuális maturáció végső fázisa (a nagy sárga tüszők generációinak kifejlődése) a tojásrakást megelőző 1 hét alatt zajlik le. A február 5-től március 4-ig tartó időszakban az állomány minden egyede tág kategóriába tartozott, ezen belül a tojók 33%-ában, 47%, illetve 60%-ában tojást is volt a vizsgálat időpontjában. Az állomány csúcstermelése február 19-én volt 11 db tojással (73%). A petevezetőben P hatásra történik az avidin szekréciója, míg az E2 az ovalbumin szintéziséért felel.

Hasonló plazma szinteket figyelt meg Sechman et al. (2000) házi tyúkban is, azzal a különbséggel, hogy a tojásrakás beindulását szignifikáns T emelkedés kísérte a tojásrakás beindulását követő 6. napig.

Szövettanilag az aktív fázisban a mirigyes szakaszokban a látóteret szekréciós cseppekkel duzzadásig kitöltött mirigyhámsejtek uralják, melyeknek magjai sokszor nem is látszanak a szintetizált fehérjetömegtől és amely miatt a metszetek szinte egyneműen festődnek. Az epithelium egymagsoros, a magok a sejtek bazális részén helyezkednek el, a csillók jól fejlettek.
Az alsóbb szakaszokban subepitheliálisan a lamina basalis kifejezett, a hámréteg kétmagsoros, az utero-vaginális szakasz spermium tároló csövecskéi fejlettek, a magas hengerhámsejtek magjai bazálisan helyezkednek el, néhány csövecskében spermiumok láthatóak.

Az aktív fázis 53 napig tartott, március közepén, a kezdeti regressziós időszakban palpációval már 2 közepes kategóriájú tojót találtunk és a tojástermelés is elkezdett jelentős ingadozásokkal csökkenni, amit jól tükröz a szteroidok plazmaszintje is. Még az aktív és tág tojókban is elkezdett csökkenni e P szint, ugyanakkor az E2 szint ugrásszerűen megnövekedett az összes kategóriában. A T szint az előző vérvételi időpontokhoz képest a még tojó madarakban növekedést mutatott.
Április 13-ára már az állomány 33%-a állt le a tojással (közepes és szűk kategória), ezekben a tojókban alacsony a P szint, a T kismértékű emelkedést mutat és magas az E2 szintje.

Feltételezhető, hogy a megemelkedett E2 plazmaszint a csökkenő P plazma szintet hivatott kompenzálni. Eddig nem közölt adataink szerint ebben az időszakban a házilúd petevezetőjében az E2 és T receptorainak kötési kapacitása jelentős növekedést mutat, amely a növekvő ösztrogén (és androgén) szint upregulációs hatására vezethető vissza. A petevezető „újraindításának” valószínű célja további P receptorok szintézisének stimulálása lenne annak érdekében, hogy a petevezető csökkenő P szintek mellett is működőképes maradjon.
Ugyanakkor az is elképzelhető, hogy az E2 „refrakteritás” állapotába került petevezető (Okulicz et al., 1985) csökkent E2 receptor számát hivatott ellensúlyozni a magas E2 plazma szint.

A tojásrakás befejeződését követően a petevezető regressziójának első látható jele *szövettanilag* a nyálkahártya hámsejtjeinek méretcsökkenése, majd a propria mirigyek dezintegrációja. Számos bizonyíték van arra, hogy a szöveti regresszióban két eltérő típusú leépülési folyamat játszik szerepet, az apoptózis és az autolízis (Bowen et al., 1990). Az apoptózis a petevezető leépülésének kezdeti szakaszában játszik szerepet, amit a következő fázisban a lizoszómális enzimek, főként a savanyú foszfatáz aktivitásának eredményeként autolízis követ (Heryanto et al., 1997). A regressziós folyamatok következtében a petevezető struktúrája az inaktív petevezető struktúrájához válik hasonlóvá

(Eroschenko et al., 1974) azzal a különbséggel, hogy a hámban és a stromában a leépülési folyamatokat nagyobb számban kíséri makrofágok, granulociták és limfociták beáramlása.

Vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy házi lúdban a petevezető maturációs folyamata már a rövidnappalos időszakban megindul, amit a magas T szint és a viszonylag magas E szint stimulál. A palpációs inaktív kategória aktívvá válása 32 napot vett igénybe, ez idő alatt kismértékű E2 szint, jelentős P szint növekedés és folyamatos T szint csökkenés volt megfigyelhető. A maturáció közel egyhónapos időtartama azt mutatja, hogy a házi lúd genetikailag nem mutat olyan mértékű homogenitást, mint amilyen a házi tyúkra jellemző. A rövid, alig egyhónapos tojószezon is az intenzívebb szelekciós munka szükségességére hívja fel a figyelmet perzisztencia szempontjából.
A szövettani vizsgálatok eredménye azt mutatja, hogy a házi lúd petevezetőjének fejlődési és leépülési fázisai megegyeznek a házi tyúkban leírtakéval, fénymikroszkópos szinten.
Eredményeim azt mutatják, hogy a palpációs módszerrel megállapított kategóriák és a szexuál szteroidok szintjei között van összefüggés, a kategóriák ismerete és az egyes fejlődési fázisok időtartama alapján jó megközelítéssel meg lehet becsülni bizonyos termelési fázisok várható bekövetkeztét.
Meggyőződésem, hogy a palpációs technika sok lehetőséget rejt magában, egy kis gyakorlattal bárki, bármikor jó eredménnyel használhatja tojók aktuális szaporodásbiológiai állapotának meghatározására.

Mindenképpen javaslom a vizsgálatok kiterjesztését házi lúd egész éves hormonális ciklusára, ami további adatokkal támogathatná a házi lúd tavaszi és őszi szaporodási ciklusának összehasonlítását, jellegzetességeinek feltárását.

7. IRODALOMJEGYZÉK

ABE T, KANEKO T, OTSUKA J, HOSODA T: Changes in phosphatase activities of follicular membranes of growing follicles and atretic follicles in laying hen and starving hen. In: *Poult Sci*, 1962., 41. 1447-1453.

ABRAHAM GE, SWERDLOFF R, TULCINSKY D, ODELL WD: Radioimmunoassay of plasma progesterone. In: *J Clin Endocr Metab*, 1971., 32. 619-624.

ADKINS-REGAN E, ABDELNABI M, MOBARAK M, OTTINGER MA: Sex steroid levels in developing and adult male and female zebra finches (Poephila guttata). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1990., 78. 93-109.

AITKEN RNC: The oviduct. In: *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*, Szerk.: Bell DJ, Freeman BM, Academic Press, London, New York, 1971., 3. 1237-1289.

ALBERT LL: Cells. In: *Principles of biochemistry*, 7. Kiadás, Szerk.: Anderson S, Fox J, Worth Publishers Inc., USA, 1982., 15-41.

ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WATSON JD: Molecular biology of the cell. 1989., Second edition, Garland Publishing Inc., New York, London, 459-465.

AOKI F, MORI M, KOHMOTO K, SHODA Y: Collagenase activity in follicle during ovulatory process of Japanese quail. In: *Jap Poult Sci*, 1985., 22. 190-200.

ARIENS KAPPERS J: Innervation of the vertebrate pineal gland. In: *The pineal gland and its endocrine role*, Szerk.: Axelrod J, Fraschini F, Velo GP, Plenum, New York, London, 1993., 87-107.

ARMSTRONG DG: Changes in aromatase activity in small ovarian follicles of the domestic fowl (*Gallus domesticus*) during growth and atresia. In: *J Endocrinol*, 1985., 105. 297-301.

ASEM E, MARRONE BL, HERTELENDY F: Steroidogenesis in ovarian cells of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1985., 60. 353-360.

BACON WL, BROWN KI, MUSSER MA: Changes in plasma calcium, phosphorus, lipids and estrogens in turkey hens with reproductive state. In: *Poultry Sci*, 1980., 59. 444-452.

BACON WL: Secretory patterns of luteinizing hormone and gonadal steroids in relationship to reproductive status in male and female turkeys. In: *Avian Endocrinology*, Szerk.: Dawson A, Chaturvedi CM, Narosa Publishing House, New Delhi, India, 2001., 167-179.

BAHR JM, RITZHAUPT LK, McCULLOUGH S, ARBOGAST LA, BEN-JONATHAN N: Catecholamine content of the preovulatory follicles of the domestic fowl. In: *Biol Reprod*, 1986., 34. 502-506.

BAHR JM, WANG S, HUANG MY, CALVO FO: Steroid concentrations in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. In: *Biol Reprod*, 1983., 29. 326-334.

BAIN JM, HALL JM: Observations on the development and structure of the vitelline membrane of the hen's egg: an electron microscope study. In: Aust J Biol Sci, 1969., 22. 653-667.

BAKST MR: Oviducal sperm selection, transport, and storage in poultry. In: *Poultry Science Rev*, 1994., 5. 117-143.

BAKST MR: Scanning electron microscopy of hen granulosa cells before and after ovulation. In: *Scanning Electron Microscopy*, 1979., 3. 307-312.

BARBER DL, SANDERS EJ, AEBERSOLD R, SCHNEIDER WJ: The receptor for yolk lipoprotein deposition in the chicken oocyte. In: *J Biol Chem*, 1991., 266. 18761- 18770.

BARRETT AJ: Lysosomal enzymes, In: *Lysosomes*. A Laboratory Handbook. Szerk.: JT Dingle, Elsevier, New York, 1972., 46-135.

BELLAIRS R: Aspects of the development of yolk spheres in the hen's oocyte, studied by electron microscopy. In: *J Embryol Exp Morphol*, 1967., 17. 267-281.

BILLIG H, FURUTA I, HSUEH AJ: Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. In: *Endocrinol*, 1993., 133. 2204-2212.

BOGENFÜRST F: Lúdtenyésztők kézikönyve. Új Nap Lap- és Könyvkiadó, Budapest, 1992.

BONS N: The topography of mesotocin and vasotocin systems in the brain of the domestic mallard and Japanese quail: Immunocytochemical identification. In: *Cell Tissue Res*, 1980., 213. 37-51.

BOWEN ID, BOWEN SM: Mechanisms of programmed cell death. In: *Programmed cell death in tumors and tissues*, Chapman, Hall, London, UK., 1990., 57-61.

BRADFORD MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. In: *Analyt Biochem*, 1976., 72. 248-254.

BURKE WH, DENNISON PT: Prolactin and luteinizing hormone levels in female turkeys (*Meleagris gallopavo*) during a photoinduced reproductive cycle and broodiness. In*: Gen Comp Endocrinol*, 1980., 41. 92-100.

CALLEBAUT M, D'HERDE K, HERMANS N, VAN NASSAUW L.: Localization and transport of lipids in the avian ovarian follicular layers and the structural relationship of theca and granulosa to the basement membrane. In: *Journal of Morphology*, 1991., 209. 143-163.

CALLEBAUT M, SIJENS RJ, VAN NASSAUW L: Evolution of the avian ovarian follicle wall during its expansion. In: *Eur Arch Biol (Bruxelles)*, 1990., 101. 77-87.

CALLEBAUT M: Demonstration of Sudan-black stainable material in epon sections through the ovarian follicle wall of Japanese quail. In: *IRCS Med Sci*, 1982., 10. 665-671.

CALLEBAUT M: Electron microscopic evidence for the delivery of lipids by the granulosa cells to the superficial avian ooplasm. In: *Eur Arch Biol (Bruxelles)*, 1991c., 102. 47-53.

CALLEBAUT M: Light- and electron-microscopic observations on the relationship between prelampbrush oocytes and surrounding granulosa cells in the laying Japanese quail (Coturnix coturnix japonica). In: *Reprod Nutr Dev*, 1991a., 31. 461-471.

CALLEBAUT M: Localization of voluminous highly osmiophilic material in the largest ovarian follicles of laying Japanese quails. In: *Med Sci Res*, 1988b., 16. 1307-1309.

CALLEBAUT M: Pyriform-like and holding granulosa cells in the avian ovarian follicle wall. In: *Eur Arch Biol (Bruxelles)*, 1991b., 102. 135-145.

CALLEBAUT M: The ovarian chordolacunar system in birds. In: *Arch Biol (Bruxelles)*, 1988a., 99. 1-15.

CALVO FO, BAHR JM: Adenylyl cyclase system of the small preovulatory follicles of the domestic hen: Responsiveness of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. In*: Biol Reprod*., 1983., 4. 542-547.

CALVO FO, WANG SC, BAHR JM: LH-stimulable adenylyl cyclase activity during the ovulatory cycle in granulosa cells of the three largest follicles and the postovulatory follicle of the domestic hen (*Gallus domesticus*). In*: Biol Reprod*, 1981., 25. 805-812.

CARNEVALI O, CARLETTA R, CAMBI A, VITA A, BROMAGE N: Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*: Involvement of two lysosomal proteinases. In: *Biol Reprod*, 1999., 60. 140-146.

CARROLL R, CORRIGAN A, VALE W, CHIN W: Inhibin, activin, and follistatin: regulation of follicle-stimulating hormone messenger ribonucleic acid levels. In: *Mol Endocrinol*, 1989., 3. 1969-1976.

CHALANA RK, GURAYA SS: Morphological and histochemical changes in the follicular epithelium during follicular growth in the crow *Corvus splendens*. In: *Proc Indian Academ Sci (Anim Sci)*, 1980., 89. 133-140.

CHALANA RK, GURAYA SS: Morphological and histochemical observations on the ovarian surface epithelium during the reproductive cycle of crow (*Corvus splendens*) and myna (*Acridotheres tristis*). In: *Acta Morph Neerl Scand*, 1979b., 17. 65-72.

CHALANA RK, GURAYA SS: Seasonal fluctuation of cholesterol in ovarian compartments of birds. In: *Ann Biol Anim Biochem Biophys*, 1977., 17. 1005-1011.

CHAPEAU C, ENGELHARDT H, KING GJ, ETCHES RJ: Alkaline phosphatase activity in the theca of ovarian follicles of the hen throughout follicular development. In: *Poult Sci*, 1996., 75. 1536-1545.

CHAPMAN DP, BACON WL, LONG DW, KURIMA K, BURKE WH: Photostimulation changes the pattern of luteinizing hormone secretion in turkey hens. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1994., 96. 63-74.

CHEN C-C, JOHNSON PA: Molecular cloning of inhibin/activin βA–subunit complementary deoxyribonucleic acid and expression of inhibin/activin α– and βA–subunits in the domestic hen. In: *Biol Reprod*, 1996., 54. 429-435.

CHIEFFI G, BOTTE V: The distribution of some enzymes involved in steroidogenesis of hen's ovary. In: *Experientia*, 1965., 21. 16-17.

CLARKE WC, BERN HA: Comparative endocrinology of prolactin. In: *Hormonal Proteins and Peptides*. Szerk.: Li CH. Academic Press, New York. 1980., Vol. 8: 105-197.

CONKRIGHT MD, ASEM EK: Intracrine role of progesterone in follicle-stimulating hormone and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-induced fibronectin production and deposition by chicken granulosa cells: Influence of follicular development. In: *Endocrinology*, 1995., 136. 2641-2651.

CONTIJOCH AM, GONZALEZ C, SINGH HN, MLAMED S, TRONCOSO S, ADVIS J-P: Dopaminergic regulation of luteinizing hormone-releasing hormone release at the median eminence level: Immunocytochemical and physiological evidence in hens. In: *Neuroendocrinology*, 1992., 55. 290-300.

COULSON JC, DUNCAN N, THOMAS C: Changes in the breeding biology of the herring gull, *Larus argentatus* induced by reduction in the size and density of the colony. In: *J Anim Ecol*, 1982., 51. 739-756.

CREIGHTON JA: Photoperiodic control of puberty in the red-legged partridge. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1988., 71. 17-28.

CUNNINGHAM FJ, WILSON SC, KNIGHT PG, GLADWELL RT: Chicken ovulation cycle. In: *J Experimental Zool*, 1984., 232. 485-494.

D'HERDE K, DE PESTEL G, ROELS F: In situ end labeling of fragmented DNA in induced ovarian atresia. In: *Biochem Cell Biol*, 1994., 72. 573-579.

D'HERDE K, DE PREST B, ROELS F: Subtypes of active cell death in the granulosa of ovarian atretic follicles in the quail (*Coturnix coturnix japonica*). In: *Reprod Nutr Dev*, 1996., 36. 175-189.

DAHL E: Studies on the fine structure of ovarian interstitial tissue. 2. The ultrastructure of the thecal gland of the domestic fowl. In: *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 1970 a., 109. 195-211.

DAHL E: Studies on the fine strucure of ovarian interstitial tissue 7. The postnatal evolution of the thecal gland in the domestic fowl. In: *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 1972., 113. 133-156.

DAVIES DT: Steroid feedback in the male and female Japanese quail. In*: J Endocrinol*, 1976., 70. 513-514.

DAWSON A, MCNAUGHTON FJ: Puberty in European starlings: can nestlings perceive daylenght? In: *Ornis Scan*, 1992., 23. 209-213.

DAWSON A, WILLIAMS TD, NICHOLLS TJ: Thyroidectomy of nestling starlings to cause neotenous sexual maturation. In: *J Endocrinol*, 1987., 112. 5-6.

DAWSON A: Changes in plasma thyroxine concentration in male and female starlings (*Sturnus vulgaris*) during a photo-induced gonadal cycle. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1984., 56. 193-197.

DERAY A: Les cellules de la granulosa des petits follicules ovariens de Canes: Cane Pékin (*Anas platyrhynchos*), Barbarie (*Cairina moschata*) et hybride: Pékin male X Barbarie femelle. In: J Ultrastruct Res, 1979., 68. 118-135.

DICK HR, CULBERT J, WELLS JW, GILBERT AB: Steroid hormones in the postovulatory follicle of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod Fertil*, 1978., 53. 103-107.

DO THI D X, HARGITAI CS: A lúd mesterséges termékenyítésének gyakorlati tapasztalatai. In: *Magyar Állatorvosok Lapja*, 1995., 50. 321-384 p.

DO THI D X, PÉCZELY P: A sötéttermes tartásmód és a takarmányozás változtatásának hatása a gunarak szaporodásbiológiai jellemzőire. In: *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 1989., 37. 535-546.

DO THI D X, PÉCZELY P: Eltérő megvilágitási rendszerek, valamint a tolltépés hatása a gunarak gonád reaktivációjára a nyári-őszi időszakban. In: *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 1990., 39. 333-348.

DO THI D X, PÉCZELY P: Technológiai és endokrinológiai lehetőségek a ludak második (őszi) termelési ciklusának előkészítésére. In: *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 1993., 3. 257-271.

DO THI D X: A Landesi gunarak ondó és spermium termelésének alakulása életkortól és származástól függően. In: *Baromfitenyésztés és feldolgozás*, 1988., 2. 65-74.

DUNN IC, SHARP PJ, HOCKING PM: Effects of interactions between photostimulation, dietary restriction and dietary maize oil dilution on plasma LH and ovarian and oviduct weights in broiler breeder females during rearing. In: *Br Poultry Sci*, 1990., 31. 415-427.

EL HALAWANI ME, BURKE WH: Brain monoamine metabolism of turkey hens in various stages of their reproductive cycle. In: *Biol Reprod*, 1976., 15. 254-259.

ELKIN RG, FREED MB, DANETZ SA, BIDWELL CA: Proteolysis of Japanese quail and chicken plasma apolipoprotein B and vitellogenin by cathepsin D: similarity of the resulting protein fragments with egg yolk polypeptides. In: *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 1995., 112. 191-196.

EROSCHENKO VP, WILSON WO: Histological changes in the regression reproductive organs of sexually mature male and female Japanese quail. In: *Biol Reprod*, 1974., 11. 169-179.

ERPINO MJ: Histogenesis of atretic ovarian follicles in a seasonally breeding bird. In: *J Morph*, 1973., 139. 239-250.

ETCHES RJ, CHENG KW: Changes in the plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, oestradiol and testosterone and in the binding of follicle-stimulating hormone to the theca of follicles during the ovulation cycle of the hen. In: *J Endocrinol*, 1981., 91. 11-22.

ETCHES RJ, CUNNINGHAM FJ: The interrelationship between progesterone and luteinizing hormone during the ovulation cycle of the hen (*Gallus domesticus*). In: *J Endocrinol*, 1976. 71. 51-58.

ETCHES RJ: The ovulatory cycle of the hen. In: *CRC Critical Reviews in Poultry Biology*. 1990; 2: 293-318.

FINDLAY JK: An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. In: *Biol Reprod*, 1993., 48. 15-23.

FOLLET BK: The physiology of puberty in seasonally breeding birds. In: *Follicle Stimulating Hormone: Regulation of secretion and molecular mechanisms of action*, Szerk.: M. Hunzicker-Dunn, N. B. Schwartz, Serono Symposium, USA, Springer Verlag, New York. 1991., 54-65.

FOLLETT BK, DAVIES DT, GLEDHILL B: Photoperiodic control of reproduction in Japanese quail: Changes in gonadotropin secretion on the first day of induction and their pharmacological blockade. In: *J Endocrinol*, 1977., 74. 449-460.

FOLLETT BK, PEARCE-KELLY AS: Photoperiodic induction in quails as a function of the period of the light-dark cycle: Implications for models of time measurement. In: *J Biol Rhythms*, 1991., 6. 331-341.

FORGÓ V, PÉCZELY P, DO THI DOG X, HARGITAI CS: Relationship between the plasma levels of sexual steroids and the develpment of oviduct and egg-laying during puberty and at the beginning of the spring reproduction cycle in domestic geese. In: *Acta Agronomica Hun*, 1996a., 44. 77-88.

FORGÓ V, PÉCZELY P, DO THI DONG X, HARGITAI CS: Role of thyroid hormones during spring maturation and at the beginning of the egg-laying period in female geese. In: *Acta Agronom Hun*, 1996b., 44. 177-190.

FOSTER RG, PANZICA GC, PARRY DM, VIGLIETTI-PANZICA C: Immunocytochemical studies on the LH-RH system of the Japanese quail: Influence by photoperiod and aspects of sexual differentiation. In: *Cell Tissue Res*, 1988., 253. 327-335.

FOSTER RG, PLOWMAN G, GOLDSMITH AR, FOLLETT BK: Immuncytochemical demonstration of plasticity of the luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) system of photosensitive and photorefractory starlings (*Sturnus vulgaris*). In: *J Endocrinol*, 1987., 115. 211-220.

FRALEY GS, KUENZEL WJ: Precocious puberty in chicks (*Gallus domesticus*) induced by central injections of neuropeptide Y. In: *Life Sciences*, 1993., 52. 1649-1656.

GASC JM, RENOIR JM, RADANYI C, JOAB I, TUOHIMAA P, BAULIEU EE: Progesterone receptor in the chick oviduct: an immunohistochemical study with antibodies to distinct receptor components. In: *J Cell Biol*, 1984., 99. 1193-1201.

GERHARTZ B, AUERSWALD EA, MENTELE R, FRITZ H, MACHLEIDT W, KOLB HJ, WITTMANN J: Proteolytic enzymes in yolk-sac membrane of quail egg. Purification and enzymatic characterization. In: *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 1997., 118. 159-166.

GILBERT AB, HARDIE MA, PERRY MM, DICK HR, WWELLS JW: Cellular changes in the granulosa layer of the maturing ovarian follicle of the domestic fowl. In: *Br Poult Sci*, 1980., 21. 257-263.

GILBERT AB, PERRY MM, WADDINGTON D, HARDIE MA: Role of atresia in establishing the follicular hierarchy in the ovary of the domestic hen (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod Fertil*, 1983., 69. 221-227.

GILBERT AB, PERRY MM, WALKER MA, WADDINGTON D: Identification of atresia in small ovarian follicles of the domestic hen (*Gallus domesticus*). In: *IRCS Med. Sci.*, 1985., 13. 732-733.

GILBERT AB.: Female genital organs. In: *Form and function in birds*. Szerk.: AS KING, J MCLELLAND. London: Academic Press, 1979. 1. kötet: 237-360.

GILBERT AB: The ovary. In: *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*, Szerk.: BELL DJ, FREEMAN BM, Academic Press, London/New York, 1971., 1163-1199.

GILS J V., ABSIL P, GRAUWELS L, MOONS L, VANDESANDE F, BALTHAZART J.: Distribution of luteinizing hormone-releasing hormones I and II (LHRH-I and -II) in the quail and chicken brain as demonstrated with antibodies directed against synthetic peptides. In: *J Comp Neurol*, 1993., 334. 304-323.

GOLDSMITH AR, IVINGS WE, PEARCE-KELLY AS: Photoperiodic control of the development of the LHRH neurosecretory system of European starlings, *Sturnus vulgaris* during puberty and the onset of photorefractoriness. In: *J Endocrinol*, 1989., 122. 255-268.

GOLDSMITH AR, NICHOLLS TJ: Thyroidectomy prevents the development of photorefractoriness and the associated rise in plasma prolactin in starlings. In*: Gen Comp Endocrinol*, 1984b., 54. 256-263.

GOLDSMITH AR, NICHOLLS TJ: Thyroxine induces refractoriness and stimulates prolactin secretion in European starlings (*Sturnus vulgaris*). In: *J Endocrinol*, 1984a., 101. R1-R3.

GORBIK TA: Ultrastructure and dynamics of transosomes of the follicular epithelium of bird ovaries. In: *Arkh Anat Gistol Embriol*, 1976., 70. 79-86.

GORE AC, ROBERTS JL: Regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression in vivo and in vitro. In: *Frontiers Neuroendocrinol*, 1997; 18: 209-245.

GUPTA SK, GILBERT AB, WALKER MA: Histological study of follicular atresia in the ovary of the domestic hen (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod Fertil*, 1988., 82. 219-225.

GUPTA SK, MAITI BR: Ovarian activity during the annual reproductive cycle and nesting cycle of a wild avian species, the pied myna (*Sturnus contra contra*). In: *Can J Zool*, 1987., 65. 958-966.

GUPTA SK, MAITI BR: Seasonal changes in the oviduct of the pied myna (Aves: *Sturnidae*). In: *J Morphol*, 1987., 194. 247-263.

GURAYA SS.: Correlative cytological and histochemical studies on the avian oogenesis. In: *Z. mikrosk.-anat. Forsch.*, 1976a., 90. 91-150.

GURAYA SS: Follicular atresia. In: *Ovarian follicles in reptiles and birds*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 1989., 201-235.

GURAYA SS: Morphological and histochemical observations on follicular atresia and interstitial gland tissue in the columbid ovary. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1976b., 30. 534-538.

GUZSAL E: A házimadarak szövettana. In: *Háziállatok szövettana*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1967., 339-382.

GUZSAL E: A sejt. In: *Az állatok sejtjei és szövetei*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1974., 13-33.

GWINNER E, HAU M: The pineal gland, circadian rhythms and photoperiodism. In: *Sturkie's avian physiology*, Ötödik kiadás, Szerk.: Whittow GC, Academic Press, 2000., 557-568.

HAHN TP, BALL GF: Changes in brain GnRH associated with photorefractoriness in house sparrows (*Passer domesticus*). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1995., 99. 349-363.

HERNANDEZ AG, YAO H-C, BAHR JM: Extra-ovarian and intra-ovarian control of follicular growth and differentiation in the chicken ovary. In: *Avian Endocrinology*, Szerk.: Dawson A, Chaturvedi CM, Narosa Publishing House, New Delhi, India, 2001., 181-195.

HERNÁNDEZ-VÉRTIZ A, GONZÁLEZ DEL PLIEGO M, VELÁZQUEZ P, PEDERNERA E: Morphological changes in the theca layer during the maturation of the preovulatory ovarian follicle of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1993., 92. 80-87.

HERYANTO B, YOSHIMURA Y, TAMURA T, OKAMOTO T: Involvment of apoptosis and lysosomal hydrolase activity in the oviducal regression during induced molting in chickens: A cytochemical study for end labeling of fragmented DNA and acid phosphatase. In: *Poult Sci*, 1997., 76. 67-72.

HIBBS M, GLASWELL RT, CUNNINGHAM FJ: Effect of intraventricular administration of dopamine on plasma concentrations of LH in the domestic fowl. In: *J Endocrinol*, 1977., 75. 43-49.

HOLM L, RIDDERSTRALE Y: Development of sperm storage tubules in the quail during sexual maturation. In: *J Exp Zool*, 2002., 292. 200-205.

HUANG ES-R, KAO KJ, NALBANDOV AV: Synthesis of sex steroids by cellular components of chicken follicles. In: *Biol Reprod*, 1979., 20. 454-461.

HUANG ES-R, NALBANDOV AV: Steroidogenesis of chicken granulosa and theca cells: In vitro incubation system. In: *Biol Reprod*, 1979., 20. 442-453.

JACKSON JA, FRIBERG AC, BAHR JM: Preovulatory changes in glycoaminoglycans and collagen content in the stigma region of the follicle of the domestic hen. In: *Biol Reprod*, 1991., 45. 301-307.

JACKSON JA, TISCHKAU SA, ZHANG P, YOSHIMURA Y, BAHR JM: Involvement of plasminogen activator and collagenase changes in

extracellular matrix during the proliferative and ovulatory phases of the chicken ovary. In: *Avian Endocrinology*, Szerk.: Sharp PJ, Bristol, 1993., 309-319.

JALLAGEAS M: Interactions reciproques test-thyroidiennes chez le Canard male. Incidencés sur chez cycles endocriniens annuels. In: *These*, 1975., Université de Montpellier, France

JOENSUU TK, TUOHIMAA PJ.: Ontogeny of the estrogen receptor in the chick oviduct. In: *J Steroid Biochem*, 1989., 34. 293-296.

JOHN TM, GEORGE JC, SCANES CG: Seasonal changes in circulating levels of luteinizing hormone and growth hormone in the migratory Canada goose. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1983., 51. 44-49.

JOHNSON AL, BRIDGHAM JT, ANTHONY RV: Expression of avian urokinase and tissue-type plasminogen activator messenger ribonucleic acid during follicle development and atresia. In: *Biol Reprod*, 1997., 56. 581-588.

JOHNSON AL, BRIDGHAM JT, WAGNER B: Characterization of a chicken luteinizing hormone receptor (cLH-R) cDNA, and expression of cLH-R mRNA in the ovary. In: *Biol Reprod*, 1996a., 55. 304-309.

JOHNSON AL, BRIDGHAM JT, WITTY JP, TILLY JL: Susceptibility of avian granulosa cells to apoptosis is dependent upon stage of follicle development and is related to endogenous levels of *bcl*-xlong expression. In: *Endocrinology*, 1996b., 137. 2059-2066.

JOHNSON AL, TILLY JL: Effects of vasoactive intestinal peptide on steroid secretion and plasminogen activator activity in granulosa cells of the hen. In: *Biol Reprod*, 1988a., 38. 296-303.

JOHNSON AL, VAN TIENHOVEN A: Effects of aminoglutethimide on luteinizing hormone and secretion, and ovulation in the hen, *Gallus domesticus*. In: *Endocrinology*, 1984., 114. 2276-2283.

JOHNSON AL: Granulosa cell apoptosis: conservation of cell signaling in an avian ovarian model system. In: *Biol Signals Recept*, 2000b., 9. 96-101.

JOHNSON AL: Reproduction in the female. In: *Sturkie's avian physiology*. Ötödik kiadás. Szerk: Whittow GC. Academic Press, 2000a., 569-596.

JOHNSON AL: Steroidogenesis and actions of steroids in the hen ovary. In: *Poultry Biol*, 1990., 2. 319-346.

JOHNSON PA, VAN TIENHOVEN A: Plasma luteinizing hormone levels throughout development and relative to ovulation in pinealectomized hens (*Gallus domesticus*). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1984b., 54. 450-456.

JOHNSON PA, WANG SY: Characterization and quantification of mRNA for the inhibin α-subunit in the granulosa layer of the domestic hen. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1993b., 90. 43-50.

JOHNSON PA: Inhibin in the hen. In: *Poult Sci*, 1993a., 72. 955-958.

JULANG L, TSANG BK: Prostaglandins mediate the stimulation of deoxyribonucleic acid synthesis by transforming growth factor α in hen granulosa cells during ovarian follicular development. In: *Biol Reprod*, 1995., 52. 1050-1058.

KATO M, SHIMADA K, SAITO N, NODA K, OHTA M: Expression of P450 $_{17\alpha\text{-hydroxylase}}$ and P450 $_{\text{aromatase}}$ genes in isolated granulosa, theca interna, and theca externa layers of chicken ovarian follicles during follicular growth. In: *Biol Reprod*, 1995., 52. 405-410.

KATZ IA, MILLAR RP, KING JA.: Diffrential regional distribution and release of two forms of gonadotropin-releasing hormone in the chicken brain. In: *Peptides*, 1990., 11. 443-450.

KAWASHIMA M, KAMIYOSHI M, TANAKA K: Cytoplasmic progesterone receptor concentrations in the hen hypothalamus and pituitary: Difference between laying and nonlaying hens and changes during the ovulatory cycle. In: *Biol Reprod*, 1979., 20. 581-585.

KAWASHIMA M, TAKAHASHI T, YASUOKA T, KAMIYOSHI M, TANAKA K: A vasoactive intestinal peptide binding component in hen granulosa cells. In: *PSEBM*, 1995., 209. 387-391.

KELLY JD, ETCHES RJ, GUÉMENÉ D: Follicular control of oviposition in the hen. In: *Poult Sci*, 1990., 69. 288-291.

KERN MD: Seasonal changes in the reproductive system of female white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambelii*, in captivity and in the field. I. The ovary. In: *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 1972., 126. 297-319.

KIMIJIMA T, HASHIMOTO Y, KITAGAWA H, KON Y, SIGIMURA M: Localization of immunoglobulins in the chicken oviduct. In: *Japanese J Vet Sci*, 1990., 52. 299-306.

KING JA, MILLAR RP.: Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone: II. isolation and characterization. In: *J Biol Chem*, 1982., 257. 10729-10732.

KIRK SE, DALKIN AC, YASIN M, HAISENLEDER DJ, MARSHALL JC: Gonadotropin-releasing hormone pulse frequency regulates expression of pituitary follistatin messenger ribonucleic acid: A mechanism for differential gonadotrope function. In: *Endocrinology*, 1994., 135. 876-880.

KITAMURA A, YOSHIMURA Y, OKAMOTO T: Changes in the population of mitotic and apoptotic cells in white follicles during atresia in hens. In: *Poult Sci*, 2002., 81. 408-413.

KLANDORF H, STOKKAN K-A, SHARP PJ: Plasma thyroxine and triiodothyronine levels during the development of photorefractoriness in willow ptarmigan (*Lagopus lagopus lagopus*) exposed to different photoperiods. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1982., 47. 64-69.

KNAPP TR, FEHRER SC, SILSBY JL, PORTER TE, BEHNKE EJ, EL HALAWANI ME: Gonadal steroid-mediated alteration of luteinizing hormone secretion by anterior pituitary cells of young turkeys. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1987., 68. 449-455.

KNIGHT PG, GLADWELL RT, CUNNINGHAM FJ: Release of LHRH *in vitro* and anterior pituitary responsiveness to LHRH *in vivo* during sexual maturation in pullets (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod Fert*, 1985., 74. 145-151.

KOVÁCS J, FORGÓ V, PÉCZELY P: The fine structure of the follicular cells in growing and atretic ovarian follicles of the domestic goose. In: *Cell Tissue Res*, 1992., 267. 561-569.

KOWALSKI KI, TILLY JL, JOHNSON AL: Cytochrome P450 side-chain cleavage (P450 scc) in the hen ovary. I. Regulation of P450scc messenger RNA levels and steroidogenesis in theca cells of developing follicles. In: *Biol Reprod*, 1991., 45. 955-966.

Központi Statisztikai Hivatal, Legfrissebb Adatok, In: *Mezőgazdaság: Állatállomány*, 2001. december 1.

KRUTSAY M: Paraffinmetszetek készítése. In: *Szövettani technika*, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1980., 36-45.

LEE HT, BAHR JM: Inhibition of the activities of P450 cholesterol side-chain cleavage and 3β-hydroxysteroid dehydrogenase and the amount of P450 cholesterol side-chain cleavage by testosterone and estradiol-17β in hen granulosa cells. In: *Endocrinology*, 1990., 126. 779-786.

LEE KA, BAHR JM: Utilization of substrats for testosterone and estradiol-17 beta production by small follicles of the chicken ovary. In: *Domest Anim Endocrinol*, 1994., 11. 307-314.

LEE KA, VOLENTINE KK, BAHR JM: Two steroidogenic pathways present in the chicken ovary: theca layer layer prefers delta 5 pathway and granulosa layers prefers delta 4 pathway. In: *Domest Anim Endocrinol*, 1998., 15. 1-8.

LEVORSE JM, JOHNSON AL: Regulation of steroid production in ovarian stromal tissue from 5- to 8-week-old pullets and laying hens. In: *J Reprod*, 1994., 100. 195-202.

LEWIS PD, PERRY GC, MORRIS TR, FOLLETT BK: Effects of timing and size of daylength change on brown egg laying domestic hens: plasma luteinising hormone concentration and sexual maturity. In: *Br Poultry Sci*, 1994., 35. 25-31.

LI D, TSUTSUI K, MUNEOKA Y, MINAKATA H: An oviposition-inducing peptide: Isolation, localisation, and function of avian galanin in the quail oviduct. In: *Endocrinology*, 1996., 137. 1618-1626.

LI Z, JOHNSON AL: Regulation of P450 cholestrol side chain cleavage messenger ribonucleic acid expression and progesterone production in hen granulosa cells. In: *Biol Reprod*, 1993., 49. 463-469.

LIU HK, LONG DW, BACON WL: Concentration change patterns of luteinizing hormone and progesterone and distribution of hierarchical follicles in normal and arrested laying turkey hens. In: *Poult Sci*, 2001., 80. 1509-1518.

LOVELL TM, KNIGHT PG, GROOME NP, GLADWELL RT: Changes in plasma inhibin A levels during sexual maturation in the female chicken and the effects of active immunization against inhibin alpha-subunit on reproductive hormone profiles and ovarian funkction. In: *Biol Reprod*, 2001., 64. 188-196.

MACNAMEE MC, SHARP PJ, LEA RW, STERLING RJ, HARVEY S: Evidence that vasoactive intestinal polypeptide is a physiological releasing factor in the bantam hen. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1986., 62. 470-478.

MACNAMEE MC, SHARP PJ: The functional activity of hypothalamic dopamine in broody bantam hens. In: *J Endocrinol*, 1989., 121. 67-74.

MARRONE BL, CRISSMAN HA: Characterization of granulosa cell subpopulations from avian preovulatory follicles by multiparameter flow cytometry. In: *Endocrinology*, 1988., 122. 651-658.

MARRONE BL, HERTELENDY F: Decreased androstendione production with increased follicular maturation in theca cells from the domestic hen (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod Fert*, 1985., 74. 543-550.

MARRONE BL, HERTELENDY F: Steroid metabolism by avian ovarian cells during follicular maturation. In: *Biol Reprod*, 1983., 29. 953-962.

MARSHALL AJ, COOMBS CJF: The interaction of environmental, internal and behavioral factors in the rook, *Corvus f. fragilegus Linneaeus*. In*: Proc Zool Soc London*, 1957., 128. 545-589.

MATTOCKS PW, FARNER DS JR, FOLLETT BK: The annual cycle in luteinizing hormone in the plasma of intact and castrated white-crowned sparrows *Zonotrichia leucophrys gambelii*. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1976., 30. 156-161.

MCNAUGHTON FJ, DAWSON A, GOLDSMITH AR: Puberty in birds: the reproductive system of starlings does not respond to short days until birds are fully grown. In: *J Endocrinol*, 1992., 132. 411-417.

MIKAMI S, YAMADA S, HASEGAWA Y, MIYAMOTO K: Localization of avian LHRH-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the domestic fowl, *Gallus domesticus*, and the Japanese quail, *Coturnix coturnix*. In: *Cell Tissue Res*, 1988., 251. 51-58.

MIKHAIL G, WU CH, FERIN M, VANDE WIELE RL: Radioimmunoassay of plasma estrone and estradiol. In: *Steroids*, 1970., 15. 333-352.

MILLAM JR, BURKE WH, EL HALAWANI ME: Release of gonadotropin-releasing hormone from the Japanese quail hypothalamus *in vitro*. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1984., 53. 293-301.

MILLAM JR, CRAIG-VEIT CB, ADAMS TE, ADAMS BM.: Avian gonadotropin-releasing hormones I and II in brain and other tissues in turkey hens. In*: Comp Biochem Physiol.*, 1989., 94. 771-776.

MILLAM RJ, FARIS PL, YOUNGREN OM, EL HALAWANI ME, HARTMAN BK.: Immunohistochemical localization of chicken gonadotropin-releasing hormones I and II (cGnRH I and II) in turkey hen brain. In: *J Comp Neurol.*, 1993., 333. 68-82.

MIYAMOTO K, HASEGAWA Y, NOMURA M, IGARASHI M, KANGAWA K, MATSUO H.: Identification of the second donadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: Evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. In: *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984., 81. 3874-3878.

MURAY T, PÉCZELY P, PETHES GY: Changes of plasma progesterone and testosterone level in chicken (*Gallus domesticus*) from the first day of life to the beginning of oviposition. In: *Acta Vet Acad Sci Hung*, 1980., 28. 97-102.

NAKAMURA A, NAKAJO S: Proteolytic activity in the ovarian follicle wall of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during normal and LH-induced ovulation. In: *Jap J Fertil Steril*, 1980., 25. 98-102.

NARBAITZ R, DE ROBERTIS EM: Postnatal evolution of steroidogenic cells in the chick ovary. In: *Histochemie*, 1968., 15. 187-193.

NILI H, KELLY WR: Form and function of lacunae in the ovary of the laying hen. In: *Anat Rec*, 1996., 244. 165-174.

NITTA H, OSAWA Y, BAHR JM: Multiple steroidogenic cell populations in the thecal layer of preovulatory follicles of the chicken ovary. In: *Endocrinology*, 1991a., 129. 2033-2040.

NITTA H, OSAWA Y, BAHR JM: Immunolocalization of steroidogenic cells in small follicles of the chicken ovary: Anatomical arrangement and location of steroidogenic cell change during follicular development. In: *Domest Anim Endocrinol*, 1991b., 8. 587-594.

OGAWA K, GOTO K: Effects of gonadotropins, sex steroids and adenohypophysectomy on the activities of proteolytic enzymes in the ovarian follicle wall of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod Fertil*, 1984., 71. 545-549.

OKA T, SCHIMKE RT: Interaction of estrogen and progesterone in chick oviduct development. II. Effects of estrogen and progesterone on tubular gland cell function. In*: J Cell Biol*, 1969., 43. 123-137.

OKULICZ WC, FOURNIER DJ, ESBER H, FREDRICKSON TN: Relationship of oestrogen and progesterone and their oviductal receptors in laying and non-laying 5-years-old hens. In: *J Endocrinol*, 1985., 106. 343-348.

OLSON DM, HERTELENDY F: Plasma levels of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_2 in relation to oviposition and ovulation in the hen. In: *Biol Reprod*, 1981., 24. 496-504.

ONAGBESAN OM, PEDDIE M, WILLIAMS J: Effects of EGF or TGFα on androstenedione production by theca cells of the chicken *in vitro*.In: *J Endocrinology*, 1992., 132. Supplement Abstract 283.

ONAGBESAN OM, PEDDIE M, WILLIAMS J: Effects of growth factors, serum and gonadotrophins on cell morphology and estrogen production by theca cells cultured in defined medium. In: *J Endocrinology*, 1991., 129. Supplement Abstract 190.

PAGEAUX JF, DUFRENE L, LAUGIER C, PERCHE O, SANDOZ D: Heterogenity of progesterone receptor expression in epithelial cells of immature and differentiating quail oviduct. In: *Biol Cell*, 1989., 67. 135-140.

PAGEAUX JF, LAUGIER C, PAL D, PACHECO H: Development of the oviduct in quail during sexual maturation in relation to plasma concentrations of oestradiol and progesterone. In: *J Enocrinol*, 1984., 100. 167-173.

PAULSON J, ROSENBERG MD: The function and transposition of lining bodies in developing avian oocytes. In: *J Ultrastructure Res*, 1972., 40. 25-43.

PÉCZELY P, EL HALAWANI ME, HARGITAI CS, MÉZES M, FORGÓ V, JÁNOSI SZ: The photorefractoriness in domestic goose: Effect of gonads and thyroid on the development of postbreeding prolactinaemia. In: *Acta Biol Hung*, 1993., 44. 329-352.

PÉCZELY P: A madarak szaporodásbiológiája, Budapest, Mezőgazdasági Kiadó, 1987.

PÉCZELY P: The role of thyroid and adrenal cortical hormones in the modulation of the gonadal function in birds. In: *Acta Biol Hung*, 1985., 36. 45-70.

PÉCZELY, P: Hormonal regulation of feather development and moult on the level of feather follicles. In: *Ornis Scan*, 1992., 23. 346-354.

PEDDIE M, ONAGBESAN M, WOOLVERIDGE I: The role of epidermal growth factor and other factors in the paracrine and autocrine control of ovarian follicular development in the domestic hen. In: *Avian Endocrinology*, Szerk.: Sharp PJ, Bristol, 1993., 321-330.

PEDERNERA E, VELAZQUEZ P, GÓMEZ Y, GONZÁLEZ DEL PLIEGO M: Isolation of steroidogenic cell subpopulation in the follicular theca of the ovary in the domestic fowl. In: *Growth Factors and the Ovary*. Szerk.: Hirshfield AN. Plenum, New York. 1989., 351-355.

PERCHE O, HAYASHI M, HAYASHI K, BIRK D, TRESTAD RL, SANDOZ D: Origin of type I collagen localized within oviduct epithelium of hyperstimulated by progesterone. In: *J Cell Sci*, 1990., 95. 85-95.

PERCHE O, SANDOZ D: Immunolocalization of laminin during estrogen-induced differentiation of quail oviduct epithelial cells. In: *Biol Cell*, 1988., 64. 353-362.

PERRY MM, GILBERT AB, EVANS AJ: Electron microscope observations on the ovarian follicle of the domestic fowl during the rapid growth phase. In: *J Anat*, 1978., 125. 481-497.

PORTER TE, HARGIS BM, SILSBY JL, EL HALAWANI ME: Differential steroid production between theca interna and theca externa cells: a tree-cell model for follicular steroidogenesis in avian species. In: *Endocrinology*, 1989., 125. 109-116.

PRESS N: An unusual organelle in avian ovaries. In: *J Ultrastructure Res*, 1964., 10. 528-546.

PROUDMAN J, OPEL H: Stimulation of prolactin secretion from turkey anterior pituitary cells. In: *Proc Soc Exp Biol Med*, 1988., 187. 448-458.

PROUDMAN JA, VANDESANDE F, BERGHMAN LR: Immunhistochemical evidence that follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone reside in separate cells in the chicken pituitary. In: *Biol Reprod*, 1999., 60. 1324-1328.

PULLEY DD, MARRONE BL: Inhibitory action of epidermal growth factor on progesterone biosynthesis in hen granulosa cells during short-term culture: two sites of action. In: *Endocrinology*, 1986., 118. 2284-2291.

RETZEK H, STEYRER E, SANDERS EJ, NIMPF J, SCHNEIDER WJ: Molecular cloning and functional characterization of chicken cathepsin D, a key enzyme for yolk formation. In: *DNA Cell Biol*, 1992., 11. 661-672.

ROBINSON FE, ETCHES RJ: Ovarian steroidogenesis during follicular maturation in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). In: *Biol Reprod*, 1986., 35. 1096-1105.

RODRIGUEZ-MALDONADO E, VELZQUEZ PN, JUAREZ-OROPEZA MA, PEDERNERA E: Steroid metabolism in theca externa cells from preovulatory follicles of domestic hen. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1996., 101. 173-179.

ROTHWELL B, SOLOMON SE: The ultrastructure of the follicle wall of the domestic fowl during the phase of rapid growth. In: *Br Poult Sci*, 1977., 605-610.

ROZENBOIM I, TABIBZADEH C, SILSBY JL, EL HALAWANI ME: Effect of ovine prolactin administration on hypothalamic Vasoactive Intestinal Peptide (VIP), Gonadotropin Releasing Hormone I and II content, and anterior pituitary VIP receptors in laying turkey hens. In: *Biol Reprod*, 1993a., 48. 1246-1250.

ROZENBOIM I, EL HALAWANI ME: Characterization of Vasoactive Intestinal Peptide pituitary membrane receptors in turkey hens during different stages of reproduction. In: *Biol Reprod*, 1993b., 48. 1129-1134.

ROZENBOIM I, SILSBY JL, TABIBZADEH C, PITTS GR, YOUNGREN OM, EL HALAWANI ME: Hypothalamic and posterior pituitary content of vasoactive intestinal peptide, gonadotropin-releasing hormone I and II in the turkey hen. In: *Biol Reprod*, 1993c., 49. 622-627.

ROZENBOIM I, TABIBZADEH C, SILSBY JL, EL HALAWANI ME: Effect of ovine prolactin administration on hypothalamic vasoactive intestinal peptide (VIP), gonadotropin releasing hormone I and II content, and anterior pituitary VIP receptors in laying turkey hens. In: *Biol Reprod*, 1993., 48. 1246-1250.

SAKURAI H, KAWASHIMA M, KAMIYOSHI M, TANAKA K: Effect of serotonine and β-endorphin on the release of luteinizing hormone in the hen (Gallus domesticus). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1986., 63. 24-30.

SAYLER A, DOWD AJ, WOLFSON A: Influence of photoperiod on the localization of Δ^5–3β-hydroxysteroid dehydrogenase in the ovaries of maturing Japanese quail. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1970., 15. 20-30.

SCANES CG, GODDEN PMM, SHARP PJ: An homologous radio-immunoassay for chicken follicle-stimulating hormone: Observations on the ovulatory cycle. In*: J Endocrinol*, 1977., 73. 473-481.

SCHJEIDE OA, HANZELY L, HOLSHOUSER SJ, BRILES WE: Production and fates of unique organelles (transosomes) in ovarian follicles of *Gallus domesticus* under various conditions. In: *Cell Tissue Res*, 1974., 156. 47-59.

SECHMAN A, PACZOSKA-ELIASEWICZ H, RZASA J, HRABIA A: Simultaneous determination of plasma ovarian and thyroid hormones during sexual maturation of the hen (*Gallus domesticus*). In: *Folia Biol (Krakow)*, 2000., 48. 7-12.

SENIOR BE: Oestradiol concentration in the peripheral plasma of the domestic hen from seven weeks of age until the time of sexual maturity. In: *J Reprod Fert*, 1974., 41. 107-112.

SHANBHAG OK, BHAGYASHRI A, NAYAK MS, SHANBHAG AB, NADKARNI VB: Follicular atresia in the ovary of two species of quails, *Coturnix coromandelica* and *Perdicula argoondah*. In: *Folia Morphol (Prague)*, 1985., 33. 280-283.

SHARMA RK, DUDA PL: Histomorphological changes in the oviduct of the mallard (Aves: Anatidae). In: *Acta Morphol Neerl Scand*, 1989., 27. 183-192.

SHARP PJ, KLANDORF H: The interaction between day length and the gonads in the regulation of levels of plasma thyroxine and triiodothyronine in the Japanese quail. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1981., 45. 504-512.

SHARP PJ, LEA RW, CHADWICK A, LAKE PE: Concentrations of plasma luteinising hormone, prolactin, progesterone and androgens during the ovulatory cycle of the turkey. In: *Br Poult Sci*, 1981a., 22. 375-383.6

SHARP PJ, LEA RW: The response of the pituitary gland to luteinizing hormone releasing hormone in broody bantams. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1981., 45. 131-133.

SHARP PJ, MACNAMEE MC, TALBOT RT, STERLING RJ, HALL TR: Aspects of the neuroendocrine control of ovulation and broodiness in the domestic hen. In: *J Exp Zool*, 1984., 232. 475-483.

SHARP PJ, STERLING RJ, TALBOT RT, HUSKISSON NS: The role of hypothalamic vasoactive intestinal polypeptide in the maintenance of prolactin secretion in incubating bantam hens: Observations using passive immunization, radioimmunoassay and immunohistochemistry. In: *J Endocrinol*, 1989a., 22. 5-13.

SHARP PJ, TALBOT RT, MACNAMEE MC: Evidence for involvement of dopamine and 5-hydroxytriptamine in the regulation of the preovulatory release of LH in the domestic hen. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1989b., 76. 205-213.

SHARP PJ, TALBOT RT, MAIN GM, DUNN IC, FRASER HM, HUSKISSON NS: Physiological roles of chicken LHRH-I and -II in the control of gonadotropin release in the domestic chicken. In: *J Endocrinology*, 1990., 124. 291-299.

SHARP PJ: A comparison of variations in plasma luteinizing hormone concentrations in male and female domestic chickens (*Gallus domesticus*) from hatch to sexual maturity. In: *J Endocrinol*, 1975., 67. 211-223.

SHARP PJ: Photoperiodic control of reproduction in the domestic hen. In: *Poult Sci*, 1993., 72. 897-905.

SHARP PJ: Strategies in avian breeding cycles. In: *Anim Reprod Sci*, 1996., 42. 505-513.

SHEN X, STEYRER E, RETZEK H, SANDERS EJ, SCHNEIDER WJ: Chicken oocyte growth: Receptor-mediated yolk deposition. In: *Cell Tissue Res*, 1993., 272. 459-471.

SHIMADA K: Preovulatory spike bursts of hen uterus. In: *Biol Reprod*, 1979., 20. 1105-1110.

SHIMASAKI S, KOGA M, BUSCAGLIA M, SIMMONS D, BICSAK T, LING N: Follistatin gene expression in the ovary and extragonadal tissues. In: *Mol Endocrinol*, 1989., 3. 651-659.

SILVERIN B, SHARP PJ: The development of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in juvenile Great tits. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1996., 103. 150-166.

STETSON MH: Feedback regulation of testicular function in Japanese quail: Testosterone implants in the hypothalamus and adenohypophysis. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1972., 19. 37-47.

SZABOLCSI G: Enzimes analízis. Akadémia Kiadó, Budapest, 1991.

TABIBZADEH C, ROZENBOIM I, SILSBY JL, PITTS GR, FOSTER DN, EL HALAWANI ME: Modulation of ovarian cytochrome P450 17α-hydoxylase and cytochrome aromatase messenger ribonucleic acid by prolactin in the domestic turkey. In: *Biol Reprod*, 1995., 52. 600-608.

TAKAHASHI SI, KAZUO I, MOTOJI Y: Ultrastructural changes of interstitial and connective tissue in hen ovaries during sexual maturation. In: *Jpn J Zootech Sci*, 1979., 49. 594-599.

TANABE Y, NAKAMURA T, FUJIOKA K, DOI O: Production and secretion of sex steroid hormones by the testis, the ovary, and the adrenal glands of embrionic and young chickens (*Gallus domesticus*). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1979., 39. 26-33.

TANABE Y, NAKAMURA T, TANASE H, DOI O: Comparisons of plasma LH, progesterone, testosterone and estradiol concentrations in male and female chickens (*Gallus domesticus*) from 28 to 1141 days of age. In: *Endocrinol Jap*, 1981, 28. 605-613.

THAPLIYAL JP, BIUR K: The Indian weaver bird: From hatching to puberty. Sec. I: Body weight, plumage, bill, gonads and gonoducts. In: *Pavo*, 1991., 29. 111-124.

TILLY J: The molecular basis of ovarian cell death during germ cell attrition, follicular atresia, and luteolysis. In: *Frontiers in Bioscience*, 1996., 1. 1-11.

TILLY JL, JOHNSON AL: Modulation of hen granulosa cell steroidogenesis and plasminogen activator-activity by transforming growth factor alpha. In: *Growth Factors*, 1990., 3. 246-255.

TILLY JL, JOHNSON AL: Presence and hormonal control of plasminogen activator in granulosa cells of the domestic hen. In: *Biol Reprod*, 1987., 37. 1156-1164.

TILLY JL, JOHNSON AL: Regulation of androstendione production by adenosine 3',5' –monophosphate and phorbol myristate acetate in ovarian thecal cells of the domestic hen. In: *Endocrinology*, 1989., 125. 1691-1699.

TILLY JL, KOWALSKI KI, JOHNSON AL.: Stage of ovarian follicular development associated with the initiation of steroidogenic competence in avian granulosa cells. In: *Biol Reprod*, 1991., 44. 305-314.

TISCHKAU SA, BAHR JM: Avian germinal disc region secretes factors that stimulate proliferation and inhibit progesterone production by granulosa cells. In: *Biol Reprod*, 1996., 54. 865-870.

TISCHKAU SA, NEITZEL LR, WALSH JA, BAHR JM: Characterization of the growth center of the avian preovulatory follicle. In: *Biol Reprod*, 1997., 56. 469-474.

TOJO H, FUJII M, OGAWA K: Proteolytic enzymes and gonadal hormones of the ovarian follicle wall during ovulation in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). In: *J Reprod*, 1982., 64. 73-77.

TSONIS CG, SHARP PJ, McNEILLY AS: Inhibin bioactivity and pituitary cell mitogenic activity from cultured chicken ovarian granulosa and thecal/stromal cells. In: *J Endocrinol*, 1988., 116. 293-299.

TUOHIMAA P, JOENSUU T, ISOLA J, KEINANEN R, KUNNAS T, NIEMELA A, PEKKI A, WALLEN M, YLIKOMI T, KULOMAA M: Development of progestin-specific response in the chicken oviduct. In*: Int J Dev Biol*, 1989., 33. 125-134.

VAN NASSAUW L, TAO L, HARRISON F: Distribution of apoptosis-related proteins in the quail ovary during folliculogenesis: BCL-2, BAX and CPP32. In: *Acta Histochem*, 1999., 101. 103-112.

VANMONTFORT D, BERGHMAN LR, ROMBAUTS L, VERHOEVEN G, DECUYPERE E: Changes of immunreactive inhibin, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and progesterone in plasma after short-term food deprivation and during the ovulatory cycle of the domestic hen. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1994., 95. 117-124.

VANMONTFORT D, BERGHMAN LR, ROMBAUTS L, VERHOEVEN G, DECUYPERE E: Developmental changes in immunoreactive inhibin and FSH in plasma of chickens from hatch to sexual maturity. In: *Br Poultry Sci*, 1995., 36. 779-790.

VANMONTFORT D, ROMBAUTS L, DECUYPERE E, VERHOEVEN G: Source of immunreactive inhibin in the chicken ovary. In: *Biol Reprod*, 1992., 47. 977-983.

VELAZQUEZ P, GÓMEZ Y, GONZÁLEZ DEL PLIEGO M, PEDERNARA E: Steroidogenic cell subpopulations obtained from the theca of preovulatory follicles in the ovary of the domestic fowl. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1991., 83. 243-248.

VÍGH HB, KONDICS L: Összehasonlító szövettan. Második kiadás, Tankönyvkiadó Budapest, 1984. 30-33.

WANG S-Y, JOHNSON PA: Increase in ovarian α-inhibin gene expression and plasma immunreactive inhibin level is correlated with a decrease in ovulation rate in the domestic hen. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1993., 91. 52-58.

WELLS JW, CULBERT J, HARDIE MA, GILBERT AB: Progesterone production by granulosa cells of atretic follicles in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). In: *Gen Comp Endocrinol*, 1982., 47. 24-27.

WILLIAMS JB, SHARP PJ: A comparison of plasma progesterone and luteinizing hormone in growing hens from eight weeks of age to sexual maturity. In*: J Endocrinol*, 1977., 447-448.

WILLIAMS TD, DAWSON A, NICHOLLS TJ, GOLDSMITH AR: Short days induce premature reproductive maturation in juvenile starlings, *Sturnus vulgaris*. In: *J Reprod Fert*, 1987., 80. 327-333.

WILSON FE, FOLLETT BK: Plasma and pituitary luteinizing hormone in intact and castrated tree sparrows (*Speziella arborea*) during a photoinduced gonadal cycle. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1974., 23. 82-93.

WILSON SC, CUNNINGHAM FJ, MORRIS TR: Diurnal changes in the plasma concentration of corticosterone, luteinizing hormone and progesterone during sexual development and the ovulatory cycle of khaki campbell ducks. In: *J Endocrinol*, 1982., 101. 299-304.

WILSON SC, CUNNINGHAM FJ: Modification by metyrapone of the „open period" for pre-ovulatory LH release in the hen. In: *Br Poult Sci*, 1980., 21. 351-361.

WILSON SC, JENNINGS RC, CUNNINGHAM FJ: Developmental changes in the diurnal rhythm of secretion of corticosterone and LH in the domestic hen. In: *J Endocrinol*, 1984., 101. 299-304.

WILSON SC, SHARP PJ: Effects of androgens, oestrogens and deoxycorticosterone acetate on plasma concentrations of luteinizing hormone in laying hens. In: *J Endocrinol*, 1976 b., 69. 93-102.

WILSON SC, SHARP PJ: Effects of progesterone and synthetic LH-RH on the release of LH during sexual maturation in the hen (*Gallus domesticus*). In*: J Endocrinol*, 1975., 67. 359-369.

WILSON SC, SHARP PJ: Induction of luteinizing hormone release by gonadal steroid in the ovarectomized domestic hen. In: *J Endocrinol*, 1976 a., 71. 87-98.

WINGFIELD JC, FARNER DS: Endocrinology of reproduction in wild species. In: *Avian biology*, Szerk.: D. S. Farner, J. R. King, K. C. Parkes, Academic Press, London. 1993., 163-327.

WINGFIELD JC, MARLER P: Endocrine basis of communication in reproduction and aggression. In: *The Physiology of Reproduction*, Szerk.: E. Knobil, J. Neil, Raven Press, New York. 1988., 1647-1677.

WINGFIELD JC: Environmental and endocrine control of avian reproduction - an ecological approach. In: *Avian endocrinology: environmental and ecological perspectives*. Szerk.: S Mikami, K Homma, M Wada, Japan Sci Soc Press, Tokyo/Springer Verlag, Berlin. 1983., 265-288.

WINGFIELD JC: Fine temporal adjustment of reproductive function. In: *Avian Endocrinology*, Szerk.: A Epple, M H Stetson, Academic Press, New York. 1980., 367-389.

WITTY JP, BRIDGHAM JT, JOHNSON AL: Induction of apoptotic cell death in hen granulosa cells by ceramide. In: *Endocrinology*, 1996., 137. 5269-5277.

WOODS JE, DOMM LV: A histochemical identification of the androgen-producing cells in the gonads of the domestic fowl and albino rat. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1966., 7. 559-570.

WYBURN GM, AITKEN RNC, JOHNSTON HS: The ultrastructure of the zona radiata of the ovarian follicle of the domestic fowl. In: *J Anat*, 1965a., 99. 469-484.

WYBURN GM, JOHNSTON HS, AITKEN RNC: Fate of the granulosa cells in the hen's follicle. In: *Z Zellforsch*, 1966., 72. 53-65.

WYBURN GM, JOHNSTON HS, AITKEN RNC: Specialised plasma membranes in the preovulatory follicle of the fowl. In: *Z Zellforsch*, 1965b., 68. 70-79.

YANG J, LONG DW, BACON WL: Ontogeny of luteinizing hormone and estradiol secretion in turkey hens exposed to different photoperiods from hatch to sixty weeks of age. In: *Poult Sci*, 1999., 78. 1611-1618.

YAO HH, BAHR JM: Germinal disc-derived epidermal growth factor: a paracrine factor to stimulate proliferation of granulosa cells. In: *Biol Reprod*, 2001., 64. 390-395.

YAO HH, VOLENTINE KK, BAHR JM: Destruction of the germinal disc region of an immature preovulatory chicken follicle induces atresia and apoptosis. In: *Biol Reprod*, 1998., 59. 516-521.

YLIKOMI T, TUOHIMAA P: Sex-steroid-sensitive stromal cells and oviduct differentiation. In: *J Steroid Biochem*, 1988., 30. 473-476.

YOSHIMURA Y, BAHR JM: Atretic changes of follicular wall caused by destruction of the germinal disc region of an immature preovulatory follicle in the chicken: an electron microscope study. In: *J Reprod Fertil*, 1995b., 105. 147-151.

YOSHIMURA Y, OKAMOTO T, TAMURA T: Changes in localization of ovarian immunoreactive estrogen receptor during follicular development in hens. In: *Gen Comp Endocrinol*, 1995a., 100. 368-374.

YOSHIMURA Y, OKAMOTO T, TAMURA T: Effects of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone on the progesterone receptor induction in chicken granulosa cells in vitro. In: *Poult Sci*, 1995c., 74. 147-151.

YOSHIMURA Y, OKAMOTO T, TAMURA T: Ultrastructural changes of oocyte and follicular wall during oocyte maturation in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). In: *J Reprod Fertil*, 1993a, 97. 189-196.

YOSHIMURA Y, OKAMOTO T, TAMURA T:Electron microscope observarions on LH-induced oocyte maturation in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). 1993b., 98. 401-407.

YOSHIMURA Y, TAMURA T: Effects of estradiol administration on the follicular tissue of hypophysectomized hens. In: *Poult Sci*, 1985., 65. 1808-1810.

YOSHIMURA Y, TANAKA K, KOGA O: Studies on the contractility of follicular wall with special reference to the mechanism of ovulation in hens. In: *Br Poult Sci*, 1983., 24. 213-218.

YOU S, BRIDGHAM JT, FOSTER DN, JOHNSON AL: Characterization of the chicken follicle-stimulating hormone receptor (cFSH-R) complementary deoxyribonucleic acid, and expression of cFSH-R messenger ribonucleic acid in the ovary. In: *Biol Reprod*, 1996., 55. 1055-1062.

YOUNG HE, CEBALLOS EM, SMITH JC, MANCINI ML, WRIGHT RP, RAGAN BL, BUSHELL I, LUCAS PA: Pluripotent mesenchymal stem cells reside within avian connective tissue matrices. In: *In Vitro Cell Biol Anim*, 1993., 29. 723-736.

YU JY-L, MARQUARDT RR: Hyperplasia and hypertrophy of the chicken (*Gallus domesticus*) oviduct during a reproductive cycle. In: *Poult Sci*, 1974., 53. 1096-1105.

YU MW, ROBINSON FE, ETCHES RJ: Quantification of ovarian steroidogenesis in the domestic fowl by incubation of intact large follicles. In: *Poult Sci*, 1992., 71. 346-351.

ZAVALETA D, OGASAWARA F: A review of the mechanism of the release of spermatozoa from strorage tubules in the fowl and turkey oviduct. In: *World's Poult Sci*, 1987., 43. 132-139.