

BARBARA BŁASZCZYK

*Katedra Rozrodu Zwierząt Rozrodu
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Akademia Rolnicza w Szczecinie
Doktora Judyta 6, 71-466 Szczecin
e-mail: barbara.blaszczyk@biot.ar.szczecin.pl*

SPECYFIKA FOLIKULOGENEZY I STEROIDOGENEZY JAJNIKOWEJ ŚWINI DOMOWEJ (*SUS SCROFA f. DOMESTICA*)

FOLIKULOGENEZA JAJNIKOWA ŚWINI

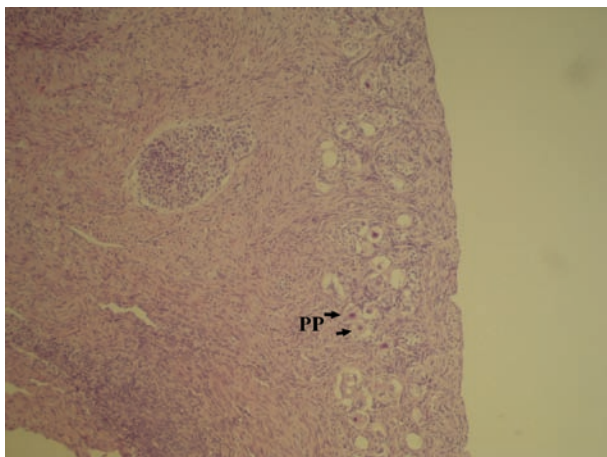
Jajnik świni zaczyna formować się we wczesnych etapach rozwoju zarodkowego, a zauważalny jest już w 24–26 dniu tego okresu. Pierwsze pęcherzyki jajnikowe pojawiają się natomiast około 70 dnia (MCCOARD i współaut. 2003), a nawet wcześniej, bo już w 40 dniu od zapłodnienia (HUNTER 2000).

Proces powstawania tych podstawowych jednostek strukturalnych i czynnościowych jajnika zbiega się z chwilą rozpoczęcia mejozy w oogoniach, zwanych od tego momentu oocytami. Oocyt bowiem stanowi centrum, do którego przywędrują i rozwijają się somatyczne elementy pęcherzyka. Początkowo otoczony on jest pojedynczą warstwą spłaszczonych komórek ziarnistych, na zewnątrz której tworzy się błona podstawna (KNOX 2005). Tak ukształtowany pęcherzyk nosi nazwę pęcherzyka pierwotnego (Ryc. 1) i w dalszych etapach wraz ze wzrostem oraz różnicowaniem będzie utrzymywał oocyt w kontrolowanym środowisku i chronił go przed potencjalnie szkodliwymi substancjami krążącymi w krwioobiegach (GANDOLFI i współaut. 2005). Znaczna ilość oocytów nie zostaje jednak wcielona do pęcherzyków i te, które nie stają się ich częścią składową ulegają degeneracji. U świni stanowią one 60% w stosunku do liczby oocytów w momencie narodzenia (GUTHRIE i GARRETT 2001).

Badania histologiczne jajnika płodowego świni wykazały, że oprócz pęcherzyków pierwotnych znajdują się w nim również pęche-

rzyki pierwszo- i drugorzędowe (MCCOARD i współaut. 2003). Te stadia pęcherzykowego rozwoju cechuje wzrost objętości i ilości komórek ziarnistych, a także ich różnicowanie, wzrost oocytu i formowanie osłonki pęcherzyka (SZOŁTYS 1999). Średnica świńskich pęcherzyków pierwszorzędowych wynosi około 0,12 mm, natomiast drugorzędowych od 0,14 do 0,40 mm (KNOX 2005). Pęcherzyki pierwszorzędowe obserwowano już w 75 dniu, a drugorzędowe po 90 dniu od zapłodnienia (MCCOARD i współaut. 2003). W ten sposób w jajnikach nowonarodzonych samic obecne są pierwotne, pierwszo- i drugorzędowe pęcherzyki, których łączna ilość szacowana jest na ok. 500 tysięcy. Z tej pierwotnej populacji, do czasu osiągnięcia dojrzałości płciowej liczba pęcherzyków zmniejsza się do około 420 tysięcy (GANDOLFI i współaut. 2005).

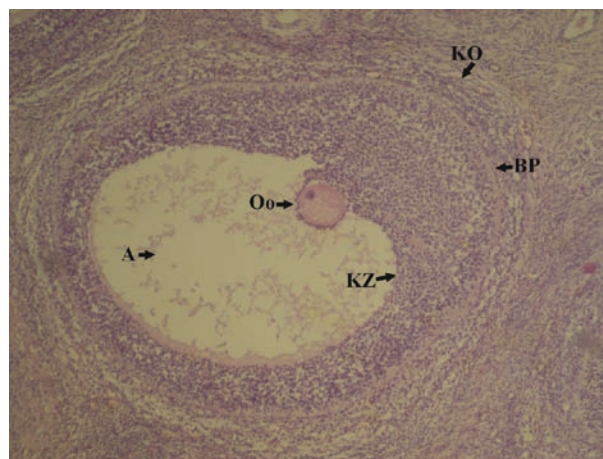
Dalsze etapy folikulogenezy zachodzą już w okresie pourodzeniowym. Na podstawie badań nad kinetyką wzrostu pęcherzyków jajnikowych u niedojrzałych płciowo samic oszacowano, że odstęp od momentu opuszczenia przez pęcherzyk pozostającej w spoczynku puli aż do uformowania się antrum wynosi około 83 dni (MORBECK i współaut. 1992). Stąd na powierzchni jajników 90-dniowych zwierząt obecne są już pierwsze pęcherzyki antralne (KNOX 2005). Początkowo ich wzrost polega głównie na rozplemie komórek ziarnistych, które tworzą od 10 do 30 warstw oraz różnicowaniu komórek osłon-



Ryc. 1. Preparat histologiczny jajnika świni z widocznymi pęcherzykami pierwotnymi (PP) (fot. A. Błaszczyk).

kowych, a późniejsze powiększanie się rozmiarów pęcherzyków związane jest przede wszystkim z gromadzeniem się płynu pęcherzykowego (Ryc. 2). Wzrost pęcherzyków wczesnoantralnych najprawdopodobniej jest kontrolowany przez lokalne czynniki wzrostowe, ale dokładny sygnał dla zapoczątkowania wzrostu pęcherzykowego u świni nie jest do końca wyjaśniony (TELFER 1998).

Od momentu wyłonienia się pęcherzyka antralnego do osiągnięcia średnicy 1 mm wzrost pęcherzyka trwa od 3 do 4 tygodni, a przez następne 2–3 tygodnie osiąga on 7 mm średnicy (MORBECK i współaut. 1992). Końcowy wzrost do rozmiaru owulacyjnego, wynoszącego 8–10 mm, jest bardzo szybki i trwa około 4–6 dni (GUTHRIE 2005). Ponadto, po osiągnięciu średnicy powyżej 1 mm wzrost pęcherzyka staje się zależny od gonadotropin (DRIANCOURT 2001), podczas gdy wcześniejsze etapy rozwoju nie wymagają oddziaływania tych hormonów (BRÜSSOW i współaut. 1996). Wu i współautorzy (2001), w badaniach nad dojrzewaniem pęcherzyków w warunkach *in vitro*, wykazali, że folitropina (FSH) jest pierwotnym induktorem dojrzewania komórek granulozy, aktywującym ich proliferację i różnicowanie. O nasileniu tych procesów świadczy wzmożona aktywność aromatazy, wzrost wydzielania inhibiny i estradiolu oraz wytworzenie się receptorów dla lutropiny (LHr) w komórkach granulozy. Jak podają HUNTER i współautorzy (2005) średnica świńskich pęcherzyków, w których obecne są już receptory dla LH, wynosi 5 mm. Kilkumiesięczny wzrost pęcherzyków do stadium owulacyjnego obserwuje się również podczas całego okresu dojrzałości płciowej.



Ryc. 2. Preparat histologiczny jajnika świni z widocznym pęcherzykiem antralnym (fot. A. Błaszczyk).

A – antrum, Oo – oocyt, KZ – komórki ziarniste, BP – błona podstawna, KO – komórki osłonowe.

Ze stu pęcherzyków zaczynających wzrost i osiągających średnicę od 1 do 4 mm „rekrutowana” jest pula ok. 50 pęcherzyków, z których tylko 10–25 pęcherzyków wybieranych jest do owulacji, natomiast pozostałe ulegają atrezji (degeneracji) (PRUNIER i QUESNEL 2000). Według KNOXA (2005) termin „rekrutacja” odnosi się do populacji małych i średnich pęcherzyków obecnych na powierzchni jajnika, które są wybierane do dalszego wzrostu i potencjalnie mają szansę owulować. Natomiast „selekcja”, zdaniem cytowanego autora, odnosi się do tych pęcherzyków, które wybrane z puli pęcherzyków rekrutowanych unikają atrezji i owulują. Rekrutacja definiowana jest również jako zapoczątkowanie folikulogenezy zależnej od gonadotropin (DRIANCOURT 2001). Mechanizmy kontrolujące te dwa procesy są przedmiotem wielu badań (PRUNIER i QUESNEL 2000, GUTHRIE 2005). Przyjmuje się, że FSH jest kluczowym regulatorem rekrutacji u większości gatunków zwierząt, w tym również u świń (KNOX 2005). PRUNIER i QUESNEL (2000) sugerują jednak, że rekrutacja i selekcja pęcherzyków u świni zależy nie tylko od okresowo pojawiających się dużych stężeń tego hormonu we krwi, ale również od równowagi między czynnikami stymulującymi (FSH i LH) i hamującymi (np. progesteronem) te procesy. U świń rekrutacja zapoczątkowana jest najprawdopodobniej poowulacyjnym wzrostem stężenia FSH we krwi. Pod wpływem tej gonadotropiny część pęcherzyków wzrasta, ale począwszy od 15 dnia cyklu nasila się też atrezja małych i średnich pęcherzyków. Między 18 a 19. dniem

cyklu następuje selekcja dojrzałych pęcherzyków, osiągających stadium owulacyjne, natomiast pozostałe pęcherzyki z tej puli ulegają atrezji (HUNTER 2000). RÁTKY i współautorzy (2005) wskazują, że populacja pęcherzyków owulacyjnych (Graafa) u świni nie jest jednorodna zarówno pod względem biochemicznym (zróżnicowana wrażliwość na LH), jak i pod względem wielkości, a zanotowane przez HUNTERA i współautorów (2004) różnice pomiędzy poszczególnymi pęcherzykami wynoszą co najmniej 2–3 mm. KNOX (2005) sugeruje, że ta asynchroniczność rozwojowa pęcherzyków może mieć wpływ na zróżnicowaną jakość oocytów, przeżywalność zarodków i formowanie się ciałek żółtych.

Warunkiem osiągnięcia przez pęcherzyk dojrzałości owulacyjnej jest wykształcenie odpowiedniej ilości receptorów dla FSH. Ich obecność zapewnia aktywację zespołu aromatyzacji, enzymów przekształcających testosteron w estradiol (CONLEY i współaut. 1994). Dzięki temu wzrasta się sekrecja estradiolu, a w komórkach ziarnistych wzrasta ilość receptorów dla LH. Dopiero w tak przygotowanym pęcherzyku zachodzą zmiany prowadzące do owulacji (KNOX 2005).

Szereg autorów podkreśla, że tylko nieliczne pęcherzyki mają szansę osiągnąć stadium owulacyjne, większość z nich ulega atrezji na różnych etapach rozwoju (MCCOARD i współaut. 2003). U świni procesowi temu w największym stopniu podlegają pęcherzyki powyżej 1 mm średnicy (KNOX 2005). Jak podają GUTHRIE i współautorzy (1995), GUTHRIE i COOPER (1996) biochemicznym wykładnikiem atrezji są zmiany w wielkości sekrecji hormonów steroidowych, a spadek

aktywności aromatazy i produkcji estradiolu jest wczesną właściwością apoptozy komórek granulozy i atrezji antralnych pęcherzyków na wszystkich stadiach cyklu rujowego. Według MAXSONA i współautorów (1985) utrata zdolności do syntezy estradiolu jest efektem obniżonej wrażliwości komórek ziarnistych na FSH. Tym niemniej określenie koncentracji estradiolu w płynie pęcherzykowym może być zdaniem powyższych autorów wiarygodnym wskaźnikiem atrezji.

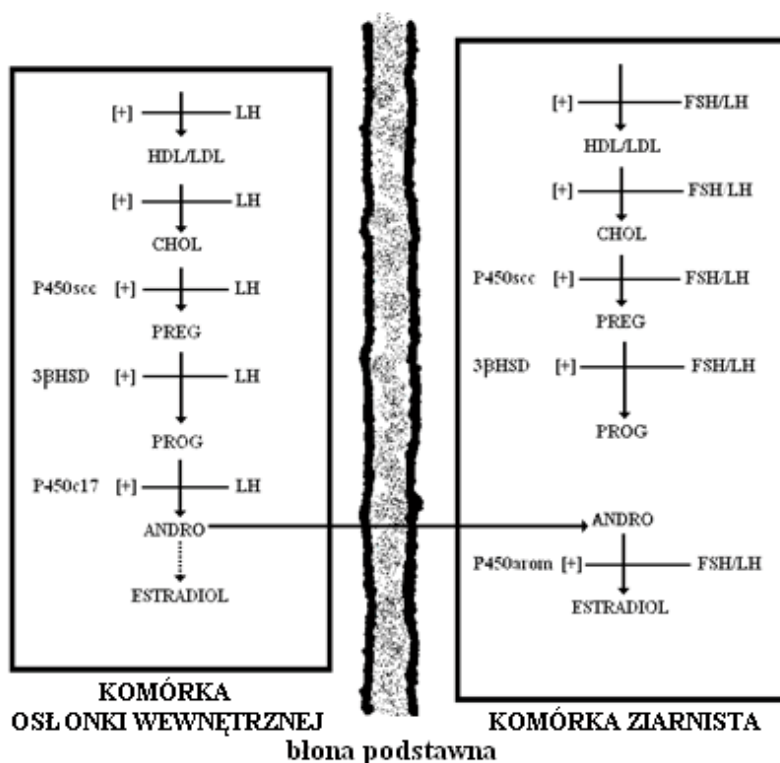
Kolejnym ważnym zjawiskiem towarzyszącym rozwojowi pęcherzyków u wielu gatunków zwierząt jest ich falowy wzrost (DRIANCOURT 2001). U młodych samic, ale wykazujących już cykle rujowe, nie stwierdzono falowego wzrostu pęcherzyków i dlatego uważa się, że świnię są jedynym z gatunków nie mającym typowego falowego wzrostu pęcherzyków. Jednakże fale pęcherzykowe obserwowano przed dojrzewaniem płciowym, a także podczas ciąży (DRIANCOURT 2001). Uważa się, że falowy wzrost pęcherzyków przed dojrzałością związany jest z powtarzającymi się co kilka dni zmianami morfologicznego wyglądu jajników z „typu plastra miodu” (ang. honeycomb type) z dużą liczbą małych pęcherzyków na „typ winogron” (ang. grape type) z kilkoma średnimi i dużymi pęcherzykami, powyżej 6 mm (DRIANCOURT 2001). Jednakże badania nad dynamiką zmian w koncentracji hormonów steroidowych wskazują na istnienie dwóch okresów pęcherzykowej aktywności w czasie cyklu rujowego. Pierwszy z nich ma miejsce w fazie lutealnej między 2 a 8 dniem cyklu (w fazie lutealnej), a drugi podczas fazy pęcherzykowej (GUTHRIE i COOPER 1996).

STEROIDOGENEZA PĘCHERZYKOWA

Aktywność steroidogenna pęcherzyków jajnikowych zależy od wzrostu i różnicowania się komórek składowych pęcherzyka, a jej kierunek zmienia się w zależności od stadium rozwojowego pęcherzyka i fazy cyklu rujowego (CONLEY i współaut. 1994, CORBIN i współaut. 2003). Do czasu przedowulacyjnego wyrzutu LH w pęcherzykach dominuje produkcja androgenów i estrogenów, natomiast po tym okresie przeważa produkcja progesteronu (SZOŁTYŚ 1999).

Wspólnym prekursorem wszystkich hormonów steroidowych jest cholesterol. W komórkach steroidogennych jajnika głównym jego źródłem są lipoproteiny niskiej (LDL) i wysokiej gęstości (HDL) dostarczane z krwią.

Ponadto może być on syntetyzowany *de novo* z octanu lub też może być też pozyskiwany z estrów cholesterolu nagromadzonych w kroplach lipidowych. Częsteczki lipoprotein dostają się do cytoplazmy komórki na drodze endocytozy, skąd po procesach estryfikacji i hydrolizy uwolniony cholesterol dociera do mitochondriów. W tej strukturze komórkowej, pod wpływem cytochromu P450_{SCC}, cholesterol ulega przekształceniu w pregnenolon, a dalsze etapy steroidogenezy zachodzą w siateczce śródplazmatycznej, gdzie znajdują się pozostałe enzymy (CORBIN i współaut. 2003). Pod wpływem dehydrogenazy Δ^5 - 3β -hydroksysterydowej (3 HSD) pregnenolon ulega konwersji do progesteronu. Kolejny



Ryc. 3. Schemat syntezy hormonów steroidowych w komórkach pęcherzyka jajnikowego (IRELAND 1987).

CHOL, cholesterol, PREG – pregnenolon, PROG – progesteron, ANDRO – androgeny, P450_{scc} – oksydaza cytochromowa odszczepiająca boczny łańcuch cholesterolu, P450_{c17} – oksydaza cytochromowa katalizująca przejście progesteronu w androgeny, P450_{AROM} – oksydaza cytochromowa aktywująca przejście androgenów w estrogeny, 3βHSD – dehydrogenaza Δ⁵-3β-hydroksysterydowa.

etap obejmuje hydroksylację progesteronu, w wyniku której powstają androgeny. Reakcja ta katalizowana jest przez 17α-hydroksylazę/c17-20-liazę (P450_{c17α}). Następny etap związany z aromatyzacją androgenów do estrogenów zachodzi pod wpływem oksydazy cytochromowej P450_{AROM}; testosteron ulega aromatyzacji do estradiolu, a androstendion do estronu (CORBIN i współaut. 2003). Synteza estrogenów zależy zatem od dostępności androgenów i zdolności aromatyzacyjnej pozwalającej na przekształcenie androgenów do estrogenów. Stąd dojrzałe pęcherzyki przedowulacyjne wykazują wysoką aktywność aromatazy i wysoką koncentrację estradiolu w płynie pęcherzykowym (HUNTER i współaut. 2004).

Estradiol (17β-estradiol) odgrywa istotną rolę w folikulogenezie ssaków. U większości gatunków, wzrost syntezy i uwalnianie tego hormonu bezpośrednio poprzedza przedowulacyjną falę gonadotropin i koordynuje

wiele aspektów pęcherzykowej i reprodukcyjnej funkcji jajnika (CONLEY i współaut. 1994). Klasyczny model steroidogenezy w pęcherzyku jajnikowym opiera się na tzw. teorii dwóch komórek i dwóch gonadotropin (Ryc. 3). Zakłada ona, że prekursorzy androgenne, syntetyzowane w warstwie osłonki wewnętrznej, pod wpływem LH dyfundują przez błonę podstawną do warstwy ziarnistej, gdzie ulegają kontrolowanej przez FSH aromatyzacji (IRELAND 1987). Zgodnie z tą teorią w komórkach ziarnistych zachodzi przemiana androgenów do estrogenów, gdyż tylko te komórki posiadają enzymy umożliwiające aromatyzację androgenów. Jednakże klasyczna teoria „dwie komórki i dwie gonadotropiny” nie odzwierciedla dokładnie sposobu, w jaki estrogeny syntetyzowane są w świńskim pęcherzyku jajnikowym. Jak podają CONLEY i współautorzy (1994) w przedowulacyjnych pęcherzykach świni zdolność do produkcji estradiolu, niezależnie od komórek

ziarnistych wykazują także komórki osłonki wewnętrznej, które posiadają aktywną oksydazę P450_{AROM}. Tak więc, synteza estrogenów odbywa się zarówno w komórkach osłonki wewnętrznej, jak i komórkach warstwy ziarnistej, a proces ten kontrolowany jest przez trzy enzymy: oksydazę P450_{c17 α} i P450_{AROM}, obecne w komórkach osłonki, i oksydazę P450_{AROM}, obecną w komórkach ziarnistych. Aktywność tych enzymów znacznie spada w pęcherzykach przed samą owulacją powodując obniżenie syntezy androgenów i estradiolu. Dzięki tym zmianom pęcherzykowa steroidogeneza przestawiona zostaje na produkcję progesteronu i zapoczątkowane są procesy luteinizacyjne (CONLEY i współaut. 1994). Ponadto komórki ziarniste świni będące głównym miejscem syntezy progesteronu nie posiadają zdolności syntetyzowania androgenów z progesteronu. Ta zamiana jest dokonywana w komórkach osłonki wewnętrznej, a głównym androgenem jest androstendion, przenoszony następnie do komórek warstwy

ziarnistej, gdzie zamieniany jest do testosteronu i aromatyzowany do estradiolu (DOWNEY i DRIANCOURT 1994). CORBIN i współautorzy (2003) sugerują, że estradiol produkowany w komórkach ziarnistych dostaje się do płynu pęcherzykowego (transportowany przez albuminy), natomiast estrogeny syntetyzowane w komórkach osłonowych dostają się przede wszystkim do krwioobiegu. Cytowani autorzy wskazują, że może to być wyjaśnieniem niezgodności pomiędzy koncentracją estrogenów w płynie pęcherzykowym a stężeniem tych hormonów w żyłach jajnikowej.

W odróżnieniu od pęcherzyków „zdrowych”, w pęcherzykach atretycznych zmniejsza się zdolność do syntezy estradiolu i wzrasta produkcja progesteronu. Wykazano, że głównym miejscem syntezy progesteronu w pęcherzykach dotkniętych atrezią są komórki osłonki, w przeciwieństwie do pęcherzyków „zdrowych”, w których progesteron produkowany jest przede wszystkim przez komórki ziarniste (GUTHRIE i współaut. 1995).

CZYNNIKI KONTROLUJĄCE WZROST I FUNKCJĘ PĘCHERZYKA JAJNIKOWEGO

Pęcherzykowy wzrost, różnicowanie i aktywność steroidogenna kontrolowana jest przez wiele czynników, spośród których FSH i LH, a także prolaktyna i oksytocyna mają kluczowe znaczenie (MADEJ i współaut. 2005). Ponadto na funkcję pęcherzyka wpływają wyprodukowane w nim hormony steroidowe i białkowe, które na drodze auto- i parakrynnie oddziałują na komórki pęcherzykowe. Ważnymi regulatorami pęcherzykowymi są liczne czynniki wzrostowe, cytokiny i interleukiny (KNOX 2005). Wielu autorów podkreśla, że wzrost pęcherzyka i steroidogeneza kontrolowane są przez wzajemne oddziaływanie insulinopodobnych czynników wzrostu (IGF-I, IGF-II) i gonadotropin (MADEJ i współaut. 2005). Dużą uwagę przywiązuje się również do hormonów metabolicznych (insuliny, glukokortykoidów, leptyny, hormonów tarczycy, hormonu wzrostu), które wpływają na czynność pęcherzykową poprzez oddziaływanie na oś podwzgórzowo-przysadkową bądź działając bezpośrednio na poziomie jajnika. Udział hormonów tarczycy w regulacji funkcji pęcherzyka jajnikowego świni udowodniono w licznych pracach (GREGORASZCZUK i współaut. 1998). Jedną z możliwości zakłada, że hormony tarczycy uczestniczą w regulacji funkcji pęcherzykowej poprzez bezpośredni wpływ na komórki granulocy, w których

stwierdzono obecność receptorów dla tych hormonów. W badaniach *in vitro* wykazano, że hormony tarczycy synergistycznie z FSH wpływają na funkcję komórek granulocy poprzez stymulację powstawania receptorów LH/CG (ang. luteinizing hormone/chorionic gonadotropin) i różnicowanie morfologiczne komórek (MARUO i współaut. 1987). Ponadto stwierdzono udział hormonów tarczycy w steroidogenezie poprzez indukcję bądź hamowanie aktywności enzymów steroidogennych (GREGORASZCZUK i współaut. 1998). Sugeruje się również, że hormony tarczycy wraz z FSH mogą być ważnymi inhibitorami apoptozy. Ich hamujący wpływ na apoptozę wykazano w hodowlach świńskich komórek granulocy pozyskanych z małych pęcherzyków antralnych (ASAHARA i współaut. 2003).

Oprócz czynników transportowanych do pęcherzyka naczyniami krwionośnymi i produkowanych lokalnie przez pęcherzykowe komórki somatyczne, w regulacji pęcherzykowej funkcji uczestniczy także znajdujący się w nim oocyt. Wiadomo, że oocyt ssaka syntetyzuje czynniki, których rola sprowadza się nie tylko do istotnego wpływu na rozwój samego oocytu, ale także na formowanie i aktywność pęcherzyka jajnikowego. Spośród tych czynników wymienia się białka morfogenetyczne kości (BMP), różnicujący czynnik

wzrostu (GDF-9) i transformujący czynnik wzrostu (TGF- α). Sugeruje się, że kontrola funkcji komórek ziarnistych i komórek osłonkowych przez oocyty może odbywać się poprzez lokalne sprzężenia zwrotne między

tymi typami komórek. Komunikacja oocyt-komórka somatyczna jest więc dwukierunkowa i istotna dla rozwoju oocytu oraz pęcherzyka (HUNTER i współaut. 2005).

SPECIFICITY OF OVARIAN FOLLICULOGENESIS AND STEROIDOGENESIS IN DOMESTIC PIG (*SUS SCROFA f. DOMESTICA*)

Summary

In this review, the main features of folliculogenesis in pigs are summarized because normal follicular development of an oocyte that is capable of fertilization and embryonic development. Folliculogenesis begins in early fetal life. Nevertheless, the precise signal for the initiation of follicular growth in pigs remains unknown. Specific feature of follicles is that porcine theca interna cells possess an active aromatase system. In addition, morphological and functional characteristics ovarian follicles of pigs shows that porcine granulosa cells are the major site of progesterone synthesis. It is generally accepted that among domestic species, pigs are the only species

that do not have follicle waves during the estrous cycle. However, it has been recently demonstrated that waves of follicular development occur before puberty and during pregnancy in pigs. Follicular growth in pigs is dependent on endocrine and paracrine factors, such as gonadotropins, steroids, metabolic hormones, growth factors and other regulatory peptides. Furthermore, studies of morphologically follicles in the pig indicate that follicular development is dependent on the oocyte. The oocyte secretes factors essential for both oocyte and follicular somatic cell function and development.

LITERATURA

- ASAHARA S., SATO A., ALJONAI A. A., MARUO T., 2003. *Thyroid hormone synergizes with follicle stimulating hormone to inhibit apoptosis in porcine granulosa cells selectively from small follicles*. Kobe J. Med. Sci. 49, 107-116.
- BRÜSSOW K. P., TORNER H., RÁTKY J., SCHNEIDER F., KANITZ W., KOCHLING W., 1996. *Aspects of follicular development and intrafollicular oocyte maturation in gilts*. Reprod. Domest. Anim. 31, 555-563.
- CONLEY A. J., HOWARD H. J., SLANGER W. D., FORD J. J., 1994. *Steroidogenesis in the preovulatory porcine follicle*. Biol. Reprod. 51, 655-661.
- CORBIN C. J., MORAN F. M., VIDAL J. D., FORD J. J., WISE T., MAPES S. M., NJAR V. C., BRODIE A. M., CONLEY A. J., 2003. *Biochemical assessment of limits to estrogen synthesis in porcine follicles*. Biol. Reprod. 69, 390-397.
- DOWNY B. R., DRIANCOURT M. A., 1994. *Morphological and functional characteristics of preovulatory follicles in Large White and Meishan gilts*. J. Anim. Sci. 72, 2099-2106.
- DRIANCOURT M. A., 2001. *Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction*. Theriogenology 55, 1211-1239.
- GANDOLFI F., BREVINI T. A. L., CILLO F., ANTONINI S., 2005. *Cellular and molecular mechanisms regulating oocyte quality and the relevance for farm animal reproductive efficiency*. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 24, 413-423.
- GREGORASZCZUK E. L., SŁOMCZYŃSKA M., WILK R., 1998. *Thyroid hormone inhibits aromatase activity in porcine thecal cells cultured alone and in coculture with granulosa cells*. Thyroid 8, 1157-1163.
- GUTHRIE H. D., 2005. *The follicular phase in pigs: Follicle populations, circulating hormones, follicle factors and oocytes*. J. Anim. Sci. Suppl. 83, 79-89.
- GUTHRIE H. D., COOPER B. S., 1996. *Follicular atresia, follicular fluid hormones, and circulating hormones during the midluteal phase of the estrous cycle in pigs*. Biol. Reprod. 55, 543-547.
- GUTHRIE H. D., GARRETT W. M., 2001. *Apoptosis during folliculogenesis in pigs*. Reprod. Suppl. 58, 17-29.
- GUTHRIE H. D., COOPER B. S., WELCH G. R., ZAKARIA A. D., JOHNSON L. A., 1995. *Atresia in Follicles Grown after Ovulation in the Pig: Measurement of increased apoptosis in granulosa cells and reduced follicular fluid estradiol-17*. Biol. Reprod. 52, 920-927.
- HUNTER M. G., 2000. *Oocyte maturation and ovum quality in pigs*. Rev. Reprod. 5, 122-130.
- HUNTER M. G., ROBINSON R. S., MANN G. E., WEBB R., 2004. *Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species*. Anim. Reprod. Sci. 82-83, 461-477.
- HUNTER M. G., BRANKIN V., QUINN R. L., FERGUSON E. M., EDWARDS S. A., ASHWORTH C. J., 2005. *Oocyte-somatic cell-endocrine interactions in pigs*. Domest. Anim. Endocrinol. 29, 371-384.
- IRELAND J. J., 1987. *Control of follicular growth and development*. J. Reprod. Fert. Suppl. 34, 39-54.
- KNOX R. V., 2005. *Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig*. Domest. Anim. Endocrinol. 29, 385-397.
- MADEJ A., LANG A., BRANDT Y., KINDAHL H., MADSEN M. T., EINARSSON S., 2005. *Factors regulating ovarian function in pigs*. Domest. Anim. Endocrinol. 29, 347-361.
- MARUO T., HAYASHI M., MATSUO H., YAMAMOTO T., OKADA H., MOCHIZUKI M., 1987. *The role of thyroid hormone as a biological amplifier of the actions of follicle-stimulating hormone in the functional differentiation of cultured porcine granulosa cells*. Endocrinology 121, 1233-1241.
- MAXSON W. S., HANEY A. F., SCHOMBERG D. W., 1985. *Steroidogenesis in porcine atretic follicles: Loss*

- of aromatase activity in isolated granulosa and theca.* Biol. Reprod. 33, 495-501.
- MCCOARD S. A., WISE T. H., FORD J. J., 2003. *Germ cell development in Meishan and White Composite gilts.* Anim. Reprod. Sci., 77, 85-105.
- MORBECK D. E., ESBENSHADE K. L., FLOWERS W. L., BRITT J. H., 1992. *Kinetics of follicle growth in the prepubertal gilt.* Biol. Reprod. 47, 485-491.
- PRUNIER A., QUESNEL H., 2000. *Influence of the nutritional status on ovarian development in female pigs.* Anim. Reprod. Sci. 60, 185-197.
- RÁTKY J., TORNER H., EGRSZEGI I., SCHNEIDER F., SARLOS P., MANABE N., BRÜSSOW K. P., 2005. *Ovarian activity and oocyte development during follicular development in pigs at different reproductive phases estimated by the repeated endoscopic method.* J. Reprod. Dev. 51, 109-115.
- SZOŁTYŚ M., 1999. *Funkcja komórek ziarnistych wżgórka jajonośnego.* Post. Biol. Kom., 26, Supl. 12, 189-192.
- TELFER E. E., 1998. *In vitro models for oocyte development.* Theriogenology 49, 451-460.
- WU J., EMERY B. R., CARRELL D. T., 2001. *In vitro growth, maturation, fertilization, and embryonic development of oocytes from porcine preantral follicles.* Biol. Reprod. 64, 375-381.