УДК 636.2:591.8:576.311.347:577.12.17

ВИВЧЕННЯ ОКИСНО-ВІДНОВНИХ ПРОЦЕСІВ У МІТОХОНДРІЯХТКАНИН ТЕЛИЦЬ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ГОНАДОТРОПНОЇ ДІЇ У ФОРМІ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ЕМУЛЬСІЇ

Ю. І. Сливчук, І. І. Гевкан, О. В. Штапенко, С. В. Федорова

Інститут біології тварин УААН

Наведено дані з впливу гіпофізарних гонадотропінів та гонадотропінів інших джерел походження на перебіг енергетичних процесів в мітохондріях тканин ендометрія, надниркових залоз, серцевого м'яза та печінки. Встановлено, що введення гормональних препаратів у формі ліпосомальної емульсії зумовлює підвищення рівня енергетичного обміну в мітохондріях досліджуваних тканин, як наслідок посилених біохімічних процесів в органах-мішенях — матці та яєчниках.

Ключові слова: ТЕЛИЦІ, МІТОХОНДРІЇ, ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ, ЕНДОМЕТРІЙ, НАДНИРКОВІ ЗАЛОЗИ, , ПЕЧІНКА, ГОНАДОТРОПІНИ СЕРЦЕВИЙ М'ЯЗ.

Широкі перспективи для практичного використання біологічної стимуляції фолікулогенезу відкрились з часу розробки біотехнологічних методів регуляції відтворення. Вивчення механізмів дії гіпофізарних гонадотропінів та гонадотропінів інших джерел походження в процесі росту і дозрівання фолікулів надало можливість використати ці гормони для викликання одночасного розвитку декількох яйцеклітин та їх синхронної овуляції з наступним заплідненням [1, 2].

У процесі попередніх досліджень [3, 4], нами був створений перспективний гормонально-вітамінний препарат у виді тонкої ліпосомальної емульсії отриманої шляхом ультразвукової емульгації водної і жирової фази гонадотропінів, естрогенів і вітамінів. Дослідження показали, що ліпосоми цієї емульсії не викликають ніяких негативних реакцій організму, а ліпіди, що є в їх складі, можуть бути використані для побудови клітинами структурних компонентів та функціональних макромолекулярних комплексів. Ліпосома ефективно охороняє в ній речовину, що забезпечує пролонговану дію гонадотропіну і вітамінів, включених в ліпосоми. Метою нашої роботи було вивчення впливу комплексних гормонально-вітамінних препаратів на інтенсивность енергетичних процесів в мітохондріях тканин окремих вісцеральних органів, і органів репродуктивної системи та надниркової залози статевозрілих телиць за умов різних схем їх введення.

Матеріали і методи

Дослід проведено на 16 телицях чорно-рябої породи, віком 16–18 місяців. Тварини були розділені на 4 групи по 4 телиці в кожній. Всі телиці знаходились в однакових умовах утримання і годівлі. Контрольній групі тварин три дні підряд вводили тривітамін в терапевтичних дозах. Всім дослідним групам тварин триразово вводили комплексні гормонально-вітамінні препарати (ГВП)у формі ліпосомальної емульсії на основі гонадотропінів різних джерел походження, через 48 годин вводили естрофан (аналог простагландину $F_{2\alpha}$) одночасно з тривітаміном. 1–ій дослідній групі телиць вводили ГВП на основі препарату «Фолігон»; 2–ій дослідній групі телиць вводили ГВП з вмістом ГСЖК (власного виробництва); 3–ій групі телиць внутрішньом'язево вводили ГВП на основі ФСГ. Через день, після виявлення охоти, тварин забивали на м'ясокомбінаті блокуючи центральну нервову систему електрошоком з наступним підрізанням яремних вен. Після забою телиць відбирали проби тканин (матка, серцевий м'яз, печінка, надниркові залози), промивали їх у охолодженому фізіологічному розчині і на льоду швидко відправляли в лабораторію.

Мітохондрії виділяли методом диференційного центрифугування (Шнайдер, Хагебум, 1943). Контроль за чистотою мітохондріальної фракції проводили під фазово-контрастним

мікроскопом. Активність окисного фосфорилювання вивчали полярографічним методом на полярографі ЛП–7 (ЧССР) (Кондрашова, 1973). Інтенсивність окислювального фосфорилювання вимірювали в мкатомах О /хв на 1мг білка. Вміст білка в мітохондріальній фракції визначали за Лоурі та співавт. (1951). Швидкість дихання мітохондрій реєстрували в різних метаболічних станах за Чансом (1956).

Типова полярограма зображена на рис.1, де наведено окремі позиції метаболічного стану мітохондрій.

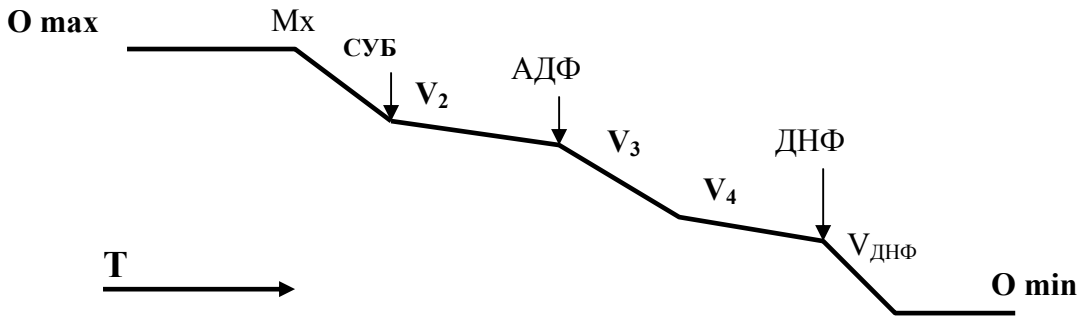

Рис. 1. Типова полярограма метаболічного стану мітохондрій

Результати й обговорення

Дані з окисного фосфорилювання в мітохондріях ендометрію телиць представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Активність окисного фосфорилювання в мітохондріях клітин ендометрія за умов стимулювання дихання ADP-ом (мкатом О/мг білка/хв), (M±n), n=4

Показники енергетичного стану мітохондрій	Групи тварин			
	Контрольна	1-а дослідна	2-а дослідна	3-а дослідна
V_3	9,41±0,45	17,95±0,62***	25,59±0,96***	21,69±0,84***
V_4	4,96±0,37	7,93±0,33***	13,63±0,31***	10,37±0,47***
ДК	1,93±0,12	2,25±0,07*	1,81±0,08	2,09±0,06
$V_{ДНФ}$	9,55±0,43	9,97±0,33	13,84±0,59***	34,82±1,24***

Примітка: * — P<0,05, *** — P<0,01, ** — P<0,001

Швидкість поглинання кисню мітохондріями ендометрія у телиць дослідних груп після додавання ADP в позиції V_3, і V_4 перевищувала в два і більше рази відповідну у контрольній групі. Найбільш виражена активність окисного фосфорилювання була виявлена у телиць 2–ї дослідної групи, яким вводили ГВП з вмістом ГСЖК, однак, значне підвищення цієї активності в позиції V_4 призвело до незначного зниження величини дихального контролю, який становив 1,81±0,08 проти 1,93±0,12 в контрольній групі телиць. Зниження активності споживання кисню мітохондріями клітин ендометрія тварин 1–ї дослідної групи в позиції V_4 зумовило вірогідне (P<0,05) збільшення показника дихального контролю в порівнянні з контрольною групою тварин.

Підвищення активності поглинання О спостерігали після роз'єднання окиснення і фосфорилювання 2,4–динітрофенолом ($V_{ДНФ}$) у 2–ій та 3–ій дослідних групах тварин, що вказує на підвищений рівень інтенсивності окисного фосфорилювання в мітохондріях ендометрія цих тварин. Активність споживання О мітохондріями ендометрія телиць 1–ї дослідної групи після додавання ДНФ знаходилась на такому ж рівні, як і у телиць контрольної групи.

У результаті полярографічних досліджень виявлено різниці в інтенсивності окисного фосфорилювання на мітохондріальних мембранах серцевого м'яза між окремими дослідними групами тварин (табл. 2).

Таблиця 2.

Активність окисного фосфорилювання в мітохондріях клітин серцевого м'яза за умов стимулювання дихання ADP- ом (мкатом О/мг білка/хв), n=4

Показники енергетичного стану мітохондрій	Групи тварин			
	Контрольна	1–а дослідна	2–а дослідна	3–а дослідна
V_3	25,53±0,92	28,18±0,65	44,92±3,23*	25,08±0,97
V_4	12,94±0,59	13,24±0,88	16,22±0,36**	10,90±0,37*
ДК	1,99±0,10	2,18±0,09	2,78±0,09*	2,33±0,11
$V_{ДНФ}$	11,28±0,51	18,60±0,42***	21,75±0,51***	18,87±0,56***

Гормональна обробка комплексним гормонально-вітамінним препаратом з вмістом ГСЖК тварин 2–ї дослідної групи, в період формування жовтого тіла, зумовила підвищення швидкості споживання кисню мітохондріями серцевого м’яза в позиції V_3 у порівнянні з контрольною та 1–ю і 3–ю дослідними групами і становила відповідно 44,92± 3,23 мкатом О/мг білка/хв проти 25,53±0,92 в контролі та 28,18±0,65 і 25,08±0,97 у дослідних групах. Подібна картина спостерігається і в позиції V_4, коли показники активності окисного фосфорилювання у тварин 1–ї та 3–ї знаходяться, приблизно, на однаковому рівні з відповідними в контрольній групі тварин. Однак, це не призвело до зниження показника дихального контролю. Всі дослідні групи тварин мали підвищений показник дихального контролю в порівнянні з контрольною групою.

Високий енергетичний потенціал мітохондріальних мембран міокарда дослідних груп телиць підтверджується підвищенням швидкості поглинання кисню в позиції $V_{ДНФ}$ при роз’єднанні окиснення з фосфорилюванням. Показники з високим ступенем вірогідності перевищували відповідний показник в контролі і становили: 18,60±0,42, 21,75±0,51 і 18,87±0,56 проти 11,28±0,51 мкатом О на мг білка за 1 хв.

Аналіз полярографічних досліджень щодо активності окисного фосфорилювання в мітохондріях гепатоцитів показав (табл. 3), що найбільш виразні зміни в позиції V_3 відбувались у тварин 2–ї та 3–ї дослідної групи. Ці показники перевищували відповідні у тварин контрольної та 1–ї дослідної групи у 2–3 рази.

Підвищення активності споживання О в позиції контролюючого стану мітохондрій V_4 у цих дослідних груп призвело до зниження показника дихального контролю в порівнянні з відповідними у контрольній та 1–й дослідній групах, який становив 1,75±0,08 і 1,99±0,08 проти 2,16±0,11 і 2,24±0,13. Підвищення швидкості споживання кисню в позиції $V_{ДНФ}$ вказує на високий ступінь поєднання окиснення і фосфорилювання в мітохондріях досліджуваної тканини у всіх дослідних груп тварин.

Таблиця 3

Активність окисного фосфорилювання в мітохондріях клітин печінки за умов стимулювання дихання ADP- ом (мкатом О/мг білка/хв), n=4

Показники енергетичного стану мітохондрій	Групи тварин			
	Контрольна	1–а дослідна	2–а дослідна	3–а дослідна
V_3	7,85±0,37	11,30±0,59**	17,98±0,82***	25,49±0,91***
V_4	3,69±0,14	5,05±0,33**	10,59±0,55***	12,84±0,49***
ДК	2,16±0,11	2,24±0,13	1,75±0,08*	1,99±0,08
$V_{ДНФ}$	5,82±0,28	8,34±0,40**	38,30±0,98***	36,11±1,24***

У результаті полярографічних досліджень енергетичного стану мітохондрій надниркових залоз виявлено вірогідне (P<0,001) підвищення інтенсивності окисного фосфорилювання в позиції V_3 у тварин усіх дослідних груп (табл. 4). Активність поглинання О в позиції V_4 мітохондріями надниркових залоз в 1–ій та 3–ій дослідних групах була найвищою, тоді, як у телиць 2–ї дослідної групи ця активність була значно нижчою, що і призвело до вірогідного (P<0,05) збільшення показника дихального контролю в порівнянні з контрольною групою тварин. Відповідні показники дихального контролю 1–ї та 3–ї

дослідних груп, яким вводили комплексний гормонально-вітамінний препарат на основі препарату «Фолігон» та ФСГ, знаходились на одному рівні з контролем.

Таблиця 4

Активність окисного фосфорилювання в мітохондріях клітин надниркових залоз за умов стимулювання дихання ADP-ом (мкатом О/мг білка/хв), (M±n), n=4

Показники енергетичного стану мітохондрій	Групи тварин			
	Контрольна	1–а дослідна	2–а дослідна	3–а дослідна
V_3	10,01±0,53	18,82±0,82***	22,32±1,23***	24,67±0,76***
V_4	4,37±0,21	9,58±0,56***	7,56±0,37***	9,58±0,39***
ДК	2,31±0,13	2,07±0,06	2,95±0,17*	2,59±0,07
$V_{ДНФ}$	6,43±0,52	13,73±0,51***	13,58±0,48***	12,80±0,35***

На відміну від інтенсивності окисного фосфорилювання, інтенсивність роз'єднаного 2,4–динітрофенолом дихання мітохондрій досліджуваної тканини посилювалась в усіх дослідних груп і знаходилась на одному рівні та перевищувала відповідну у тварин контрольної групи, що вказує на високий ступінь спряженості окиснення і фосфорилювання на мітохондріальних мембранах надниркових залоз за умов введення комплексних гормонально-вітамінних препаратів гонадотропної дії.

Вивчення механізмів дії гонадотропних гормонів на енергетичні процеси мітохондрій органів-мішеней самиць лабораторних тварин останнім часом пов'язують з стероїдогенезом в яєчниках та надниркових залозах [5]. Введення телицям гормональних препаратів гонадотропної дії, в період формування жовтого тіла, супроводжувалося відповідними змінами окисного фосфорилювання у мітохондріях тканини ендометрію, печінки, серцевого м'яза та надниркових залоз. Тому, впливаючи на органи-мішені (матку і яєчники) і посилюючи їх функцію, комплексні гормонально-вітамінні препарати чинять вплив на функцію окремих вісцеральних органів і в даному випадку на функції печінки та міокарду, де прискорюються метаболічні процеси пов'язані з тканинним диханням. Найбільш виразні зміни виявлено в мітохондріях печінки, серцевого м'яза та наднирників за умов впливу комплексного гормонально-вітамінного препарату на основі ГСЖК, що очевидно можна пов'язати підвищеною рецепцією цих органів до діючої речовини введеного препарату. Отже, посилення функції матки і яєчників зумовлює підвищення функції окремих вісцеральних органів і, зокрема функцію печінки та серцевого м'яза та надниркових залоз, де прискорюються метаболічні процеси, пов'язані з тканинним диханням.

Висновки

Введення телицям в період формування жовтого тіла гормональних препаратів гонадотропної дії, різних джерел походження, у формі ліпосомальної емульсії призводить до підвищення рівня енергетичного обміну в мітохондріях тканин ендометрія, печінки, серцевого м'яза та надниркових залоз., як наслідок посилених біохімічних процесів в органах-мішенях — матці та яєчниках, які відбуваються на тлі введених комплексних гормонально-вітамінних препаратів.

Yu. I. Slyvchuk, I. I. Hevkan, O. V. Shtapenko, S. V. Fedorova

THE STUDY OF REDOX PROCESSES IN THE MITOCHONDRIA OF THE TISSUES OF HEIFERS UNDER THE CONDITIONS OF UTILIZATION OF PREPARATIONS WITH GONADOTROPIC ACTION IN THE FORM OF A LIPOSOMAL EMULSION

S u m m a r y

The data on the influence of pituitary gonadotropins and gonadotropins of other origin on the progress of energy processes in the mitochondria of the endometrium, adrenal glands, cardiac muscle and liver tissues are presented. It has been established that the administration of hormonal preparations in the form of a liposomal emulsion causes an elevated level of energy metabolism in the mitochondria of the studied tissues, as a result of enahced

biochemical processes in the target tissues — uterus and ovaries, which occur at the background of the administered complex hormonal-vitamin preparations

The Institute of Animal of the Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Lviv

1. *Бучко А. М., Смолянинов Б. В., Розгони И. И.* Применение гонадотропных препаратов для синхронизации и стимуляции воспроизводительной функции животных // Физиолого-биохимические основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. Сб. науч. тр. Редкол.: Лагодюк П. З. и др. — К.: ЮО ВАСХНИЛ, 1986. — С. 62–67.

2. *Смолянинов Б. В.* Влияние гонадотропных гормонов на окислительные процессы в тканях животных // Применение эндокринных препаратов в животноводстве. Научно-технический бюллетень Украинского научно-исследовательского института физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных. — Львов, 1980. — 1(4). — С. 51–54.

3. Способ вызывания полиовуляции у коров-доноров при трансплантации эмбрионов: А. с №1729352 СССР, МКИ А 01К67/02 // И.И. Розгони, Б. В. Смолянинов, Т. Я. Чорненький, А. М. Бучко, Д. Э. Кобулей, Ю. И. Слывчук (СССР). — № 4351449/15; Заявл. 25.11.87; Опубл. 30.04.92, Бюл. № 16. — 8 с.

4. *Сливчук Ю. І.* Вплив фолікотропіну і «поліфолу» на окремі показники енергетичного обміну в деяких внутрішніх органах статевозрілих телиць. // Аграрний вісник Причорномор'я. —Збірник наукових праць «Біологічні та сільськогосподарські науки» — Одеса, 2004. — Вип. 23. — С. 167–173.

5. Oxydative phosphorylation in ovarian and epinephrine mitochondria./ McIntosh J., Mitani F., Uzgiris V. et all // Acad. Sci. — 1973. — Ann. № 7. — P. 212–392.