

## **ІНТЕНСИВНІСТЬ ЕНЕРГЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В МІТОХОНДРІЯХ ТКАНИН ТЕЛИЦЬ ПАРУВАЛЬНОГО ВІКУ ЗА УМОВ РІЗНИХ СХЕМ ВВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ГОНАДОТРОПНОЇ ДІЇ**

*Ю. І. Сливчук*

Інститут біології тварин УААН

*Наведено дані про вплив різних схем індукції поліовуляції гіпофізарними гонадотропінами та гонадотропінами СЖК на енергетичні процеси в мітохондріях клітин ендометрію, надниркових залоз, серцевого м'яза та печінки. Встановлено, що введення телицям у період формування жовтого тіла гормональних препаратів гонадотропної дії різних джерел походження призводить до підвищення енергетичного обміну в мітохондріях клітин досліджуваних органів, як наслідок посиленого фолікуло- та оогенезу.*

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

Метод трансплантації ембріонів великої рогатої худоби в біотехнології прискореного розмноження високоцінних племінних тварин є найбільш апробованим і широко вживаним. Підтвердженням цьому можуть бути успіхи в створенні високопродуктивного молочного стада в країнах Північної Америки та Європи, де приблизно 70 % биків-виробників, які використовуються для якісного поліпшення стада, отримані шляхом пересадки ембріонів. Однак, потенціальні можливості трансплантації ембріонів у практиці відтворення використовуються не повністю.

Серед основних причин недостатнього використання методу є фактори економічного характеру: висока вартість робіт, низькі ціни на племінну худобу, незначний ресурс високопродуктивних тварин. Важливе значення мають і біологічні та технологічні фактори, які залежать від ефективності використання методу в умовах виробництва.

У технології трансплантації ембріонів індукція поліовуляції є найбільш важливою ланкою, від якої залежить кінцевий результат. Досі викликання поліовуляції залишається нестабільним і маловивченим питанням. Велике практичне значення мають розробки спрощених схем гормональної обробки. Стан організму, індукований гормонами для викликання поліовуляції, ще недостатньо вивчений в фізіолого-біохімічному плані. Тому ця проблема становить науковий інтерес, має практичну цінність і заслуговує на подальше вивчення. Дослідження, які з'явилися впродовж останніх років, в основному, стосуються впливу великих доз гонадотропінів на морфологію яєчників, фолікуло- і оогенез [1, 2], ембріопродукцію [3, 4] та рівень окремих гормонів у крові [5–8].

На сьогоднішній день проводяться роботи з вивчення впливу різних схем індукції поліовуляції на окиснювальні процеси в тканинах та сироватці крові тварин [9–11] однак, проведено їх недостатньо.

Метою нашої роботи було встановити рівень енергетичних процесів у мітохондріях ендометрія, надниркових залоз, серцевого м'яза та печінки статевозрілих телиць за умов різних схем введення гормональних препаратів гонадотропної дії у період формування жовтого тіла.

## Матеріали і методи

Дослід проведено на 24 телицях статевозрілого віку (16–18 місяців), чорно-рябої породи в господарстві Радехівського району Львівської області. Тварини були розділені на 6 груп по 4 телиці в кожній. Всі тварини знаходились в однакових умовах утримання і годівлі. Контрольній групі тварин протягом 3 днів вводили тривітамін, на 4-й день фізіологічний розчин — 10 мл. Тваринам 1-ї дослідної групи три дні підряд вводили тривітамін, на 4-й день статевого циклу «Фолігон» — однократно (у дозі здатній викликати поліовуляцію). Тварин 2-ї дослідної групи обробляли аналогічно 1-й дослідній групі, відмінність полягала в тому, що у перші три дні разом з тривітаміном вводили солі мікроелементів — сірчаноокислий цинк і мідь. Телицям 3-, 4-, і 5-ї дослідної групи триразово вводили комплексні гормонально-вітамінні препарати (ГВП) у формі ліпосомальної емульсії на основі гонадотропінів різних джерел походження, одночасно з тривітаміном. Третій дослідній групі телиць вводили ГВП на основі препарату «Фолігон»; четвертій дослідній групі телиць вводили ГВП з вмістом ГСЖК (власного виробництва); п'ятій групі телиць внутрішньом'язево вводили ГВП на основі ФСГ. Всім дослідним і контрольній групі тварин через 48 годин після останньої ін'єкції вводили естрофан одночасно з тривітаміном. Через день, після виявлення охоти, тварин забивали на м'ясокомбінаті шляхом підрізання яремних вен після блокади центральної нервової системи електрошоком. Після забою у тварин брали проби тканин, промивали їх в охолодженому фізіологічному розчині (0,9 % NaCl) і на льоді швидко доставляли в лабораторію. Виділення мітохондрій проводили в холодній кімнаті за температури 2–4 °С, за методом описаним Скулачовим (1962). Контроль за чистотою мітохондріальної фракції проводили під фазово-контрастним мікроскопом. Активність окисного фосфорилування (ОФ) вивчали полярографічним методом на полярографі ЛП-7 (ЧССР) (Кондрашова, 1973). Інтенсивність ОФ вимірювали в мікроатомах кисню за 1 хвилину з розрахунку на 1 міліграм мітохондріального білка (мккатом О/мг білка/хв). Вміст білка в мітохондріальній фракції визначали за методом Лоурі та співавторів (1951). Швидкість дихання мітохондрій реєстрували в різних метаболічних станах за Чансом (1957).

## Результати й обговорення

При аналізі даних полярографічного дослідження виявлено підвищення інтенсивності ОФ у мітохондріях ендометрія у позиції  $V_3$  — стан активного окиснення субстратів у присутності ADP, спряжений з окиснювальним фосфорилуванням, в усіх дослідних групах порівняно з контролем у 2 і більше рази. Крім 4-ї групи, аналогічна картина виявлена і в позиції контролюючого стану  $V_4$ , спостерігається виснаження запасів доданого акцептора фосфору — ADP, але в присутності субстратів окиснення — сукцинату і АТР, що утворився і характеризує процеси внутрішнього гідролізу утвореної АТР, тобто активність АТР–ADP обміну, швидкість поглинання кисню падає, одночасно зростає ступінь відновлення носіїв електронів (табл. 1).

Показники ДК у тварин 1-, 3- та 5-ї дослідних груп були вищими за відповідні у контролі. Однак, вірогідними вони були у тварин 2- та 3-ї дослідної групи. У телиць 4-ї дослідної групи, яким вводили ГВП, що містив ГСЖК, не призвів до підвищення показника дихального контролю, який становив  $1,81 \pm 0,08$ , проти  $1,93 \pm 0,12$  у мітохондріях клітин ендометрію контрольної групи телиць. Високий ступінь спряження окиснення і фосфорилування у мітохондріях ендометрія підтверджується підвищенням швидкості поглинання кисню в позиції  $V_{\text{днф}}$ . Показники при вільному без фосфорилування диханні — роз'єднаному 2,4-динітрофенолом, у телиць 1-, 3- та 5-ї дослідних груп вірогідно перевищували відповідний показник у контрольній групі телиць.

Дослідження енергетичного стану мітохондрій надниркових залоз показали, що інтенсивність окисного фосфорилування в позиції V<sub>3</sub> і V<sub>4</sub> у телиць усіх дослідних груп порівняно з контрольною була вищою. Показники дихального контролю 2- та 3-ї дослідних груп, яким вводили препарат «Фолігон» та комплексний гормонально-вітамінний препарат на основі препарату «Фолігон», знаходились на одному рівні з контролем. Це вказує на однаковий потенціал енергетичних потужностей мітохондріальних мембран клітин надниркових залоз у цих груп тварин, тоді, як у телиць 1- та 4-ї дослідної групи дихальний контроль був вищим і становив  $3,67 \pm 0,16$  і  $2,95 \pm 0,17$  проти  $2,31 \pm 0,13$  у контролі. Підвищення інтенсивності поглинання кисню у всіх дослідних групах виявлено і у позиції V<sub>ДНФ</sub>, що вказує на високий ступінь поєднання тканинного дихання з фосфорилуванням.

Таблиця 1

**Активність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин за умов стимулювання дихання ADP-ом (мккатом O/мг білка/хв), (M±n), n=4**

Групи тварин	Показники енергетичного стану мітохондрій			
	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	ДК	V <sub>ДНФ</sub>
<i>енергетичний обмін у мітохондріях клітин ендометрія</i>				
Контрольна	9,41 ± 0,45	4,96 ± 0,37	1,93 ± 0,12	9,55 ± 0,43
1-а дослідна	26,01 ± 1,23 <sup>***</sup>	11,65 ± 0,51 <sup>***</sup>	2,29 ± 0,11	23,87 ± 0,89 <sup>***</sup>
2-а дослідна	24,34 ± 0,90 <sup>***</sup>	10,51 ± 0,45 <sup>***</sup>	2,34 ± 0,12 <sup>*</sup>	17,45 ± 0,49 <sup>***</sup>
3-а дослідна	17,95 ± 0,62 <sup>***</sup>	7,93 ± 0,33 <sup>***</sup>	2,25 ± 0,07 <sup>*</sup>	13,84 ± 0,59 <sup>***</sup>
4-а дослідна	25,59 ± 0,96 <sup>***</sup>	13,63 ± 0,31	1,81 ± 0,08	9,97 ± 0,33
5-а дослідна	21,69 ± 0,84 <sup>***</sup>	10,37 ± 0,47 <sup>***</sup>	2,09 ± 0,06	34,82 ± 1,24 <sup>***</sup>
<i>енергетичний обмін у мітохондріях клітин надниркових залоз</i>				
Контрольна	10,01 ± 0,53	4,37 ± 0,21	2,31 ± 0,13	6,43 ± 0,52
1-а дослідна	34,72 ± 1,41 <sup>***</sup>	9,65 ± 0,57 <sup>***</sup>	3,67 ± 0,16 <sup>***</sup>	16,52 ± 0,58 <sup>***</sup>
2-а дослідна	23,08 ± 0,98 <sup>***</sup>	10,09 ± 0,51 <sup>***</sup>	2,30 ± 0,09	11,21 ± 0,36 <sup>***</sup>
3-а дослідна	18,82 ± 0,82 <sup>***</sup>	9,58 ± 0,56 <sup>***</sup>	2,07 ± 0,06	13,73 ± 0,51 <sup>***</sup>
4-а дослідна	22,32 ± 1,23 <sup>***</sup>	7,56 ± 0,37 <sup>***</sup>	2,95 ± 0,17 <sup>*</sup>	13,58 ± 0,48 <sup>***</sup>
5-а дослідна	24,67 ± 0,76 <sup>***</sup>	9,58 ± 0,39 <sup>***</sup>	2,59 ± 0,07	12,80 ± 0,35 <sup>***</sup>
<i>енергетичний обмін у мітохондріях клітин серцевого м'яза</i>				
Контрольна	25,53 ± 0,92	12,94 ± 0,59	1,99 ± 0,10	11,28 ± 0,51
1-а дослідна	97,46 ± 4,27 <sup>***</sup>	24,78 ± 1,42 <sup>***</sup>	3,70 ± 0,14 <sup>***</sup>	26,82 ± 1,84 <sup>***</sup>
2-а дослідна	36,43 ± 1,41 <sup>***</sup>	12,65 ± 0,62	2,87 ± 0,08 <sup>***</sup>	17,02 ± 0,60 <sup>***</sup>
3-а дослідна	28,18 ± 0,65	13,24 ± 0,88	2,18 ± 0,09	18,60 ± 0,42 <sup>***</sup>
4-а дослідна	44,92 ± 3,23 <sup>*</sup>	16,22 ± 0,36 <sup>**</sup>	2,78 ± 0,09 <sup>*</sup>	21,75 ± 0,51 <sup>***</sup>
5-а дослідна	25,08 ± 0,97	10,90 ± 0,37 <sup>*</sup>	2,33 ± 0,11	18,87 ± 0,56 <sup>***</sup>
<i>енергетичний обмін у мітохондріях клітин печінки</i>				
Контрольна	7,85 ± 0,37	3,69 ± 0,14	2,16 ± 0,11	5,82 ± 0,28
1-а дослідна	11,61 ± 0,46 <sup>***</sup>	5,46 ± 0,32 <sup>**</sup>	2,13 ± 0,09	9,71 ± 0,33 <sup>***</sup>
2-а дослідна	7,20 ± 0,51	3,97 ± 0,28	1,84 ± 0,05 <sup>*</sup>	7,71 ± 0,35 <sup>*</sup>
3-а дослідна	11,30 ± 0,59 <sup>**</sup>	5,05 ± 0,33 <sup>**</sup>	2,24 ± 0,13	8,34 ± 0,40 <sup>***</sup>
4-а дослідна	17,98 ± 0,82 <sup>***</sup>	10,59 ± 0,55 <sup>***</sup>	1,75 ± 0,08 <sup>*</sup>	38,30 ± 0,98 <sup>***</sup>
5-а дослідна	25,49 ± 0,91 <sup>***</sup>	12,84 ± 0,49 <sup>***</sup>	1,99 ± 0,08	36,11 ± 1,24 <sup>***</sup>

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

Застосування різних схем індукції поліовуляції мало певний вплив не тільки на органи-мішені, але й на такі екстрагенітальні органи, як серцевий м'яз та печінка. Зокрема, аналізуючи дані з вивчення інтенсивності окисного фосфорилування в мітохондріях серцевого м'яза, найбільш виражені різниці виявлено у підвищенні активності поглинання кисню після додавання ADP у позиції V<sub>3</sub> у тварин 1-, 2- та 4-ї дослідних груп. У позиції вільного дихання (V<sub>4</sub>) у тварин 2-ї дослідної групи, де індукцію поліовуляції проводили

«Фолігоном» — однократно (в дозі здатній викликати поліовуляцію) на тлі введення тривітаміну та мікроелементів, показник поглинання кисню був дещо нижчий, ніж у тварин контрольної групи, що і зумовило вірогідне збільшення дихального контролю, який становив  $2,87 \pm 0,08$  проти  $1,99 \pm 0,10$  у контрольній групі. Показники ДК були вірогідними у 1-, 2- та 4-ій дослідних групах телиць, що вказує на високу енергетичну потужність мітохондріальних мембран міокарда телиць цих груп. Вірогідне посилення вільного — роз'єданого 2,4-динітрофенолом дихання в мітохондріях міокарда телиць усіх дослідних груп, підтверджує високий рівень спряження окиснення і фосфорилування в мітохондріях серцевого м'яза.

Дослідження енергетичного стану мітохондрій печінки показали, що швидкість поглинання кисню мітохондріями гепатоцитів у тварин 1-, 3- та 5-ї дослідної груп у позиції  $V_3$  і  $V_4$ , при додаванні ADP вірогідно підвищувалась. У тварин 2-ї дослідної групи ці показники не відрізняються від контролю, а показник дихального контролю був нижчим і становив  $1,84 \pm 0,05$  проти  $2,16 \pm 0,11$  у контрольній групі. ДК 1- та 3-ї дослідної групи знаходився на рівні відповідного показника контрольної групи, а в телиць 2-, 4- та 5-ї дослідних був нижчим за відповідний показник у контрольній групі. Аналогічна картина спостерігалась і при вільному, незв'язаному з фосфорилуванням диханні у позиції  $V_{днф}$ . Підвищення споживання кисню в позиції  $V_{днф}$  мітохондріями гепатоцитів усіх дослідних груп телиць за умов різних схем стимуляції поліовуляції вказує на високий ступінь поєднання вільного дихання та фосфорилування.

Отже, застосування вищезгаданих схем індукції поліовуляції в період формування жовтого тіла (4–5 день статевого циклу) зумовлює підвищення рівня енергетичних процесів у мітохондріях клітин ендометрію та надниркових залоз дослідних груп тварин, що очевидно, можна пов'язати з механізмом впливу гонадотропних гормонів на енергетичні процеси в мітохондріях органів-мішеней самиць, що встановлено в досліді на лабораторних тваринах і останнім часом пов'язують з стероїдогенезом в яєчниках та надниркових залозах [11] з підвищеним рівнем інтенсивності синтезу стероїдних гормонів у цих органах. Інтенсифікацію енергетичних процесів в екстрагенітальних органах, зокрема, серцевому м'язі можна пояснити підвищеною рецепцією цього органа до гонадотропних гормонів [12]. Попередніми дослідженнями доведено стимулюючий вплив жиророзчинних вітамінів, а також  $\beta$ -каротину на функцію яєчників у корів [13, 14], на що вказує високий їх вміст у фолікулярній рідині перед овуляцією. Встановлено також підвищення відтворювальної здатності корів при підвищенні в їх раціоні макро- та мікроелементів [14]. З урахуванням цих даних і, виходячи з одержаних результатів, можна зробити висновок про обґрунтованість оптимального забезпечення потреб корів та телиць вітамінами та мікроелементами з метою забезпечення високого рівня поліовуляції.

## Висновки

Введення телицям у період формування жовтого тіла гормональних препаратів гонадотропної дії різних джерел походження призводить до підвищення енергетичного обміну в мітохондріях клітин ендометрію, печінки, серцевого м'яза та надниркових залоз.

Введення «Фолігону» за різними схемами — на тлі введення тривітаміну, тривітаміну та мікроелементів і у формі ліпосомальної емульсії (комплексний ГВП) зумовлює підвищення рівня енергетичного обміну в органах мішенях і в екстрагенітальних органах.

Однократне введення «Фолігону» в дозах здатних викликати суперовуляцію, на тлі попереднього введення тривітаміну та мікроелементів, призводить до більш вираженого посилення енергетичного обміну в досліджуваних тканинах.

**Перспективи подальших досліджень.** У майбутньому доцільно було б вивчити рівень статевих гормонів та активності системи антиоксидантного захисту за умов дії гонадотропних гормонів.

*Yu. I. Slyvchuk*

**THE INTENSITY OF ENERGETIC PROCESSES IN THE MITOCHONDRIA  
OF TISSUES OF MATURE HEIFERS UNDER THE CONDITIONS  
OF DIFFERENT PATTERNS OF ADMINISTRATION OF PREPARATIONS  
WITH GONADOTROPIC ACTION**

**S u m m a r y**

Data about the influence of different patterns of polyovulation induction by pituitary and PMS gonadotropins on energetic processes in the mitochondria of endometrium cells, adrenal glands, heart muscle and liver are presented. It has been established that the administration of hormonal preparations with gonadotropic action obtained from various sources leads to the enhancement of energetic metabolism in the mitochondria of cells of the studied organs, as a result of an intensified folliculo- and ovogenesis.

*Ю. И. Слывчук*

**ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ  
В МИТОХОНДРИЯХ ТКАНЕЙ ТЕЛОК СЛУЧНОГО ВОЗРАСТА ПРИ УСЛОВИЯХ  
ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМ ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ  
ГОНАДОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ**

**А н н о т а ц и я**

Изложены данные о влиянии различных схем индукции полиовуляции гипофизарными гонадотропинами и гонадортопинами СЖК на энергетические процессы в митохондриях клеток эндометрия, надпочечников, сердечной мышцы и печени. Установлено что введение телкам в период формирования желтого тела гормональных препаратов гонадотропного действия различных источников происхождения приводит к повышению энергетического обмена в митохондриях клеток исследуемых органов, как следствие усиленного фолликуло- и оогенеза.

1. *Takahashi J.* Inductions of superovulations using several FSH regiments in Holstein-Friesian heifers / Takahashi J., Kanagawa H. // *Jap. J. Vet. Res.* — 1985. — Vol. 33. — P. 45–50.

2. *Rich J.* Superovulace krov a pervotelek / Rich J., Polasek M. // *Živočišna výroba.* — 1984. — Vol. 29. — P. 1059–1068.

3. *Donaldson L. E.* The Day of the Estrus Cycle that FSH is Started Superovulation in Cattle // *Theriogenology.* — 1984. — 22. — 1. — P. 97–99.

4. *Chupin D.* Antagonistic Effect of LH on FSH-induced Superovulation in Cattle / Chupin D., Coubornous J., Procureur R. // *Theriogenology.* — 1984. — Vol. 21. — 1. — P. 229.

5. *Прокофьев М. И.* Эндокринная регуляция у коров при различных способах вызывания суперовуляции / Прокофьев М. И., Бахитов К. И., Рябих В. П. // *С.-х. биология.* — 1980. — Т. 15. — 2. — С. 302–306.

7. *Donaldson L. E.* LH and FSH Profiles at Superovulation and Embryo Production in the Cow / Donaldson L. E. // *Theriogenology.* — 1985. — Vol. 23, № 3. — P. 441–447.

8. *Хилькевич С.* Суперовуляция у коров-доноров в зависимости от гормонального профиля перед обработкой / Хилькевич С., Овчинников А. // *Молочное и мясное скотоводство.* — 1986. — 2. — С. 47.

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

10. *Кротких М. О.* Вплив гонадотропін-релізінг гормону на інтенсивність процесів біологічного окиснення та фосфорилування у тканинах статевих органів корів і телиць / Кротких М. О., Смолянінов Б. В., Петрицька Н. Ф., Безп'ятих О. В // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. — 2005. — № 2. — С. 146–148.

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

12. *Shemesh M.* Functional importance of bovine myometrial and vascular LH receptors and cervical FSH receptors / Shemesh M., Mizrachi D., Gurevich M., et al. // Semin Reprod Med. — 2001. — Vol. 19, № 1. — P. 87–96.

13. *Смолянінов Б. В.* Влияние содержания витамина А и каротина в крови коров-доноров, а также рН вымывной среды на качество и количество получаемых эмбрионов : Материалы всесоюз. конф. «Физиология продуктивности животных — решения продовольственной программы СССР» / Б. В. Смолянінов, А. М. Бучко, Д. Э. Кобулей, Ю. И. Сливчук. — Таллин, 1990. — С. 76–77.

14. *Ковалив Л. Н.* Влияние бета-каротина и премикса «Микромаг» на биохимические процессы в репродуктивных органах, уровень полиовуляции и качество эмбрионов у тёлочек : Сб. тез. науч. конф. «Новые аспекты участия биологически активных веществ в регуляции метаболизма и продуктивности с.-х. животных» / Л. Н. Ковалив, Д. Э. Кобулей, А. М. Бучко, Ю. И. Сливчук. — Боровск, 1991. — С. 98–99.

**Рецензент:** головний науковий співробітник НВЦ з вивчення пріонних інфекцій, доктор сільськогосподарських наук Остапів Д. Д.