

УДК 636.2:591.8:576.311.347:577.12.17

ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН В МІТОХОНДРІЯХ ТКАНИН ТЕЛИЦЬ ЗА ДІЇ ГОНАДОТРОПНИХ ПРЕПАРАТІВ У ФОРМІ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ЕМУЛЬСІЇ

Ю. І. Сливчук

Інститут біології тварин НААН

Наведено дані про вплив гіпофізарних та СЖК- гонадотропінів на енергетичні процеси в мітохондріях клітин тканин ендометрію, надниркових залоз, серцевого м'яза та печінки. Встановлено, що введення телицям гормональних препаратів гонадотропної дії у формі ліпосомальної емульсії в період формування жовтого тіла призводить до підвищення рівня енергетичного обміну в мітохондріях клітин досліджуваних органів. Найбільш виразні зміни виявлено у тварин за дії комплексного гормонально-вітамінного препарату, виготовленого на основі ГСЖК

Ключові слова: ГОНАДОТРОПНИ, ЛІПОСОМАЛЬНА ЕМУЛЬСІЯ, МІТОХОНДРІЇ, ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ, ТЕЛИЦІ

Широкі перспективи для практичного використання біологічної стимуляції фолікулогенезу відкрились з часу розроблення біотехнологічних методів регуляції відтворення тварин [1]. Вивчення механізмів дії гонадотропінів у процесі росту і дозрівання фолікулів дозволило використовувати ці гормони для стимулювання розвитку декількох яйцеклітин та їх синхронної овуляції з наступним заплідненням [2, 3]. Одним з важливих етапів біотехнології трансплантації ембріонів великої рогатої худоби є стимулювання суперовуляції у корів-донорів з використанням гормональних препаратів гонадотропної дії [4].

У результаті досліджень [5, 6] був створений комплексний гормонально-вітамінний препарат у формі ліпосомальної емульсії до складу якого входили: гонадотропіни, естрогени і вітаміни. Встановлено, що ліпосоми емульсії ефективно зберігають в собі діючу речовину, забезпечують пролонговану дію гонадотропіну, естрогенів і вітамінів та не викликають негативних реакцій в організмі корів.

Мета роботи – дослідити вплив комплексних гормонально-вітамінних препаратів гонадотропної дії у формі ліпосомальної емульсії на інтенсивність енергетичних процесів у мітохондріях тканин матки, серцевого м'яза, печінки та надниркових залоз статевозрілих телиць.

Матеріали і методи

Дослід провели на 16 телицях української чорно-рябої молочної породи віком 16–18 місяців, які розділили на 4 групи – контрольну і три дослідні. Телицям контрольної групи внутрішньом'язово у терапевтичних дозах вводили тривітамін впродовж трьох діб через кожних 24 години. Тваринам дослідних груп – комплексні гормонально-вітамінні препарати (ГВП) у формі ліпосомальної емульсії: I-й дослідній групі телиць вводили ГВП на основі препарату «Фолігон»; II-й – ГВП з вмістом ГСЖК (власного виробництва); III-й – ГВП на основі ФСГ. Після третьої ін'єкції, через 48 год., усім тваринам вводили естрофан в комплексі з тривітаміном. Через добу, після виявлення охоти, тварин забивали на м'ясокомбінаті. Після забою відбирали зразки тканин (матка, серцевий м'яз, печінка, надниркові залози), промивали охолодженим 0,9 % розчином NaCl і до початку досліджень (60 хв) зберігали за температури 0–4 °С. Мітохондрії з тканин виділяли методом диференційного центрифугування за температури 2–4 °С. Контроль чистоти мітохондріальної фракції оцінювали під фазово-контрастним мікроскопом. Інтенсивність споживання кисню мітохондріями вивчали методом полярографії на полярографі ЛП-7 (ЧССР) [7]. Інтенсивність окисного фосфорилування виражали в мкатомах O/хв на 1мг білка. Вміст білка в мітохондріальній фракції визначали за Лоурі [8]. Метаболічний стан мітохондрій реєстрували за Чансом [9]: «активний» (V_3) – найбільш інформативний стан, коли різко стимулюється дихання додаванням (200 μ M) АДФ; «контрольований» (V_4) стан – після вичерпання доданого акцептора фосфату (АДФ); $V_{днф}$ – роз'єднаного дихання за допомогою (2,4-ДНФ 40 μ M), який інформує про потужність ферментів дихального ланцюга мітохондрій, його потенційні можливості пропустити потік електронів від субстратів окиснення.

Результати та обговорення

Встановлено, що швидкість поглинання кисню мітохондріями клітин ендометрію у телиць дослідних груп у метаболічних станах V_3 і V_4 була вірогідно вищою, ніж у контрольній групі (рис. 1).

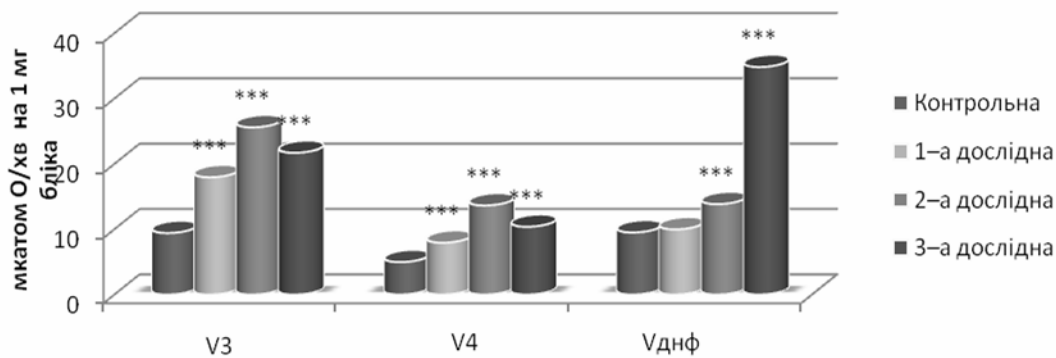


Рис. 1. Інтенсивність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин ендометрію за дії гормонально-вітамінних препаратів у формі ліпосомальної емульсії, n=4

Примітка: різниця статистично вірогідна порівняно з контрольною групою * – P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001

Найбільша швидкість окисного фосфорилування виявлена у мітохондріях клітин ендометрію телиць II-ї дослідної групи, яким вводили ГВП, що містив ГСЖК. Однак, підвищення інтенсивності окисного фосфорилування у метаболічному стані V₄ призвело до зниження показника дихального контролю у цій групі, який становив 1,81±0,08, проти 1,93±0,12 в контрольній групі телиць. Зменшення інтенсивності споживання кисню мітохондріями клітин ендометрію тварин I-ї дослідної групи у метаболічному стані V₄ зумовило збільшення (P<0,05) дихального контролю в порівнянні з контрольною групою.

Після роз'єднання окиснення і фосфорилування 2,4-динітрофенолом (V_{днф}) в мітохондріях клітин ендометрію тварин II-ї і III-ї дослідних груп інтенсивність поглинання O₂ підвищилась. Виявлена залежність вказує на вищу інтенсивність окисного фосфорилування в мітохондріях ендометрію вказаних груп тварин. Споживання O₂ мітохондріями клітин ендометрію телиць I-ї дослідної групи, після додавання ДНФ, аналогічне величині значення контрольної групи тварин.

Міжгрупові різниці інтенсивності окисного фосфорилування виявлено в мітохондріях клітин серцевого м'яза телиць (рис. 2). Введення комплексного гормонально-вітамінного препарату, що містив ГСЖК у тварин II-ї дослідної групи в період формування жовтого тіла підвищило швидкість споживання кисню мітохондріями клітин серцевого м'яза у метаболічному стані V₃, порівняно з контрольною, I-ю та III-ю дослідними групами. Величина споживання кисню становила, відповідно, 44,92±3,23 мкатом O/hv на 1 мг білка проти 25,53±0,92 у тварин контрольної та 28,18±0,65 і 25,08±0,97 мкатом O/hv на 1 мг білка тварин I-ї і III-ї дослідних груп. Подібна різниця спостерігається і у метаболічному стані V₄. Величина показника інтенсивності окисного фосфорилування у тварин I-ї та III-ї груп становила 13,24±0,88 та 10,90±0,37 мкатом O/hv на 1 мг білка і була на одному рівні з відповідним показником контрольної групи (12,94±0,59). Однак, величина дихального контролю у телиць дослідних груп була підвищена і становила: у першій – 2,18±0,09; у другій – 2,78±0,09; у третій – 2,33±0,11 проти 1,99±0,10 у контрольній групі тварин.

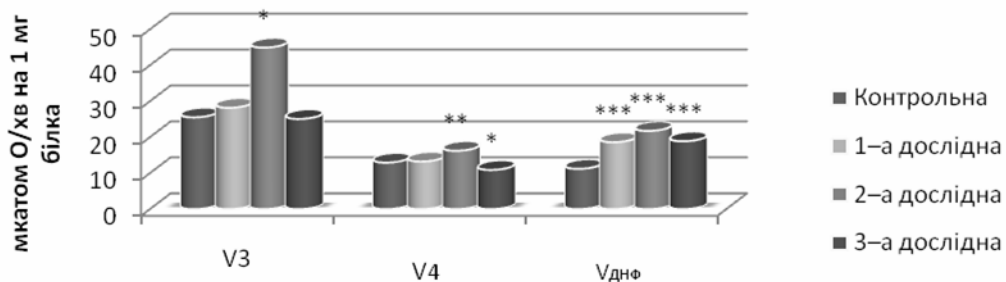


Рис. 2. Інтеисивність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин серцевого м'яза телиць за дії гормонально-вітамінних препаратів у формі ліпосомальної емульсії, n=4

На високий енергетичний потенціал мітохондрій клітин міокарду телиць дослідних груп вказує збільшення швидкості поглинання кисню при роз'єднанні окиснення з фосфорилуванням. Величина показника I-, II- та III-ї дослідних груп перевищувала (P<0,001) значення у контролі і становила: 18,60±0,42; 21,75±0,51 і 18,87±0,56 проти 11,28±0,51 мкатом O/hv на 1 мг білка.

В мітохондріях гепатоцитів зміни інтенсивності окисного фосфорилування в метаболічному стані V_3 виявлено у тварин II-ї та III-ї дослідної групи (рис. 3). Величина показника у телиць вищезгаданих груп більша у 2–3 рази порівняно з контрольною та I-ю дослідною групами.

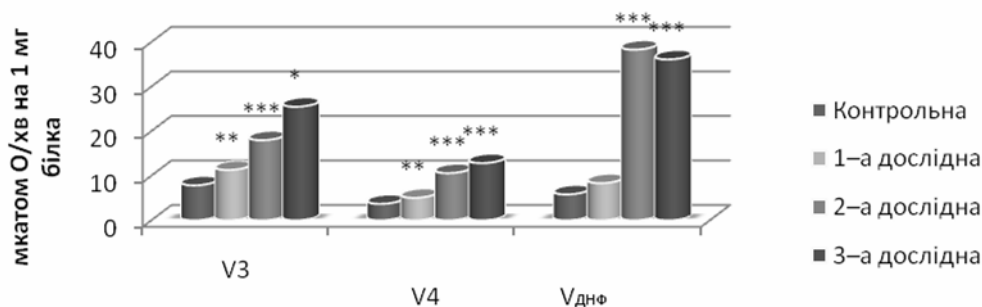


Рис. 3. Інтенсивність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин печінки за дії гормонально-вітамінних препаратів у формі ліпосомальної емульсії, $n=4$

Підвищення споживання O_2 мітохондріями гепатоцитів тварин II-ї та III-ї дослідних груп у метаболічному стані V_4 призвело до зниження дихального контролю, який становив $1,75 \pm 0,08$ і $1,99 \pm 0,08$ порівняно з контрольною та I-ю дослідною групами тварин відповідно $2,16 \pm 0,11$ і $2,24 \pm 0,13$. Підвищення споживання кисню мітохондріями гепатоцитів усіх дослідних груп тварин за роз'єданого дихання вказує на високий ступінь зв'язку окиснення і фосфорилування.

У результаті досліджень енергетичного стану мітохондрій надниркових залоз виявлено підвищення ($P < 0,001$) інтенсивності окисного фосфорилування у метаболічному стані V_3 у тварин усіх дослідних груп (рис. 4). Поглинання O_2 у метаболічному стані V_4 мітохондріями надниркових залоз тварин I-ї і III-ї дослідних груп найвище, а у телиць II-ї дослідної нижче. Вказані відмінності призвели до підвищення ($P < 0,05$) дихального контролю у телиць II-ї групи. Значення показників дихального контролю телиць I-ї та III-ї дослідних груп, яким вводили ГВП на основі препарату «Фолігон» та ФСГ становили $2,27 \pm 0,06$; $2,59 \pm 0,07$ і знаходились на одному рівні з контрольною групою ($2,31 \pm 0,13$).

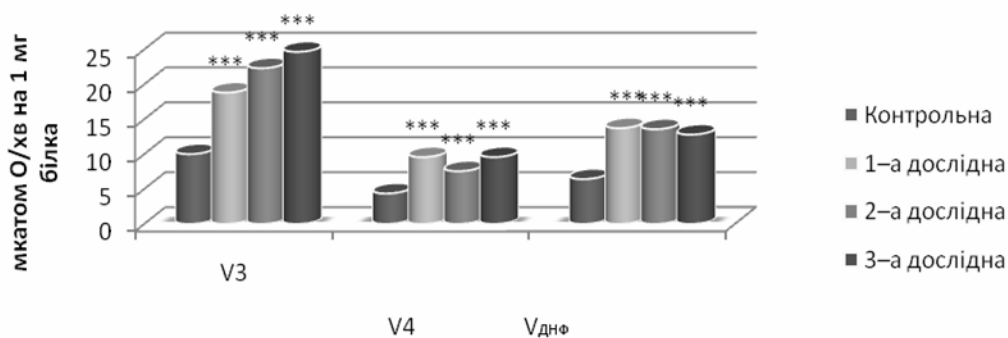


Рис. 4. Інтенсивність окисного фосфорилування в мітохондріях клітин надниркових залоз телиць за дії гормонально-вітамінних препаратів у формі ліпосомальної емульсії, $n=4$

Інтенсивність роз'єданого 2,4-динітрофенолом дихання в мітохондріях клітин надниркових залоз усіх дослідних груп посилювалась ($P < 0,001$) і знаходилась на одному рівні, що вказує на високий ступінь спряженості окиснення і фосфорилування за умов введення комплексних гормонально-вітамінних препаратів гонадотропної дії.

Механізми впливу гонадотропних гормонів на енергетичні процеси в мітохондріях організмів мішеної (матки та яєчників) пов'язують з стероїдогенезом в яєчниках та надниркових залозах [8]. Введення телицям гормональних препаратів гонадотропної дії в період формування жовтого тіла, супроводжується змінами окисного фосфорилування у мітохондріях клітин ендометрія, печінки, серцевого м'яза та надниркових залоз. Найбільш виразні зміни виявлено у тварин за дії комплексного гормонально-вітамінного препарату, виготовленого на основі ГСЖК.

Висновок

Гормональні препарати гонадотропної дії у формі ліпосомальної емульсії посилюють енергетичний обмін в мітохондріях клітин ендометрія, печінки, серцевого м'яза та надниркових залоз.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно дослідити концентрацію статевих гормонів у тварин при застосуванні гормональних препаратів у формі ліпосомальної емульсії.

Yu. I. Slyvchuk

ENERGETIC METABOLISM IN THE MITOCHONDRIA OF TISSUES OF HEIFERS UNDER THE ACTION OF GONADOTROPIC PREPARATIONS IN THE FORM OF A LIPOSOMAL EMULSION

S u m m a r y

The data on the influence of pituitary and PMS gonadotropins on the energetic processes in the mitochondria of 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 during the period of formation of the yellow body causes an elevated level of energy metabolism in the mitochondria of the studied tissues. The most significant changes occurred in the animals under the influence of the complex hormonal-vitamin preparation produced on the basis of GPMS.

Ю. И. Сливчук

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В МИТОХОНДРИЯХ ТКАНЕЙ ТЕЛОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ГОНАДОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ФОРМЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ЭМУЛЬСИИ

А н н о т а ц и я

Приведены данные о влиянии гипофизарных гонадотропинов и гонадотропинов СЖК на энергетические процессы в митохондриях клеток тканей эндометрия, надпочечников, сердечной мышцы и печени. Установлено, что введение телкам гормональных препаратов гонадотропной действия в форме липосомальной эмульсии в период формирования желтого тела приводит к повышению уровня энергетического обмена в митохондриях клеток исследуемых органов. Наиболее отчетливые изменения выявлены у животных за действия комплексного гормонально-витаминного препарата, изготовленного на основе ГСЖК

1. *Мельничук Д. О.* Перспективи біотехнології у тваринництві / Д. О. Мельничук, О. Є. Гузеватий // Вісник аграрної науки. – 2002. – № 12. – С. 5–11.
2. *Бучко А. М.* Применение гонадотропных препаратов для синхронизации и стимуляции воспроизводительной функции животных / А. М. Бучко, Б. В. Смолянинов, И. И. Розгони // Физиолого-биохимические основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. Сб. науч. тр. Редкол.: Лагодюк П. З. и др. – Киев : ЮО ВАСХНИЛ, 1986. – С. 62–67.
3. *Смолянинов Б. В.* Влияние гонадотропных гормонов на окислительные процессы в тканях животных / Б. В. Смолянинов // Применение эндокринных препаратов в животноводстве. Научно-технический бюллетень Украинского научно-исследовательского института физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных. – Львов, 1980. – 1(4). – С. 51–54.
4. 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. Чорненко, А. М. Бучко, Д. Э. Кобулей, Ю. И. Сливчук (СССР). – №4351449/15; Заявл. 25.11.87; Опубл. 30.04.92, Бюл. № 16. – 8 с.
5. *Яблонський В. А.* Біотехнологія відтворення тварин / В. А. Яблонський – К. : Арістей, 2004. – 296 с.
6. *Сливчук Ю. І.* Вплив фолікотропіну і «поліфолу» на окремі показники енергетичного обміну в деяких внутрішніх органах статевозрілих телиць. / Ю. І. Сливчук // Аграрний вісник Причорномор'я. – Збірник наукових праць «Біологічні та сільськогосподарські науки» – Одеса, 2004. – Вип. 23. – С. 167–173.
7. *Кондрашова М. Н.* Обследование состояния выделенных митохондрий / М. Н. Кондрашова, А. А. Ананенко // Руководство по изучению окисления полярографическим методом. – Москва : Наука, 1973. – С. 106–129.
8. *Lowry O.* Protein measurement with Follin phenol reagent / O. Lowry, V. Rosebrough, R. J. Raundall, A. L. Farz // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 265. – P. 193.
9. *Chance B.,* Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation / B. Chance, G. Williams // Advan. Enzymol. – 1956. – Vol. 17. – P. 65–134.
10. *McIntosh J.* Oxidative phosphorylation in ovarian and epinephrine mitochondria / J. McIntosh, F. Mitani, V. Uzgiris, C. Alonso, H. Salganic // Acad. Sci. – 1973. – Ann. №7. – P. 212–392.

Рецензент: провідний науковий співробітник НВЦ з вивчення пріонних інфекцій, доктор ветеринарних наук, с. н. с. Остапів Д. Д.