

УДК 636.2:591.466:576311.347

МІКРОСТРУКТУРА МАТКИ ТА ІНТЕНСИВНІСТЬ СПОЖИВАННЯ КИСНЮ МІТОХОНДРІЯМИ ЕНДОМЕТРІЮ КОРІВ

*М. М. Акимішин, Ю. В. Мартин, Р. Г. Сачко, О. С. Грабовська,
А. З. Пилипець, Д. Д. Остапів*

Інститут біології тварин НААНУ

Вивчали дію утеростимулятора «Міметон» на інтенсивність поглинання кисню мітохондріями ендометрію у зв'язку з запальними процесами слизової оболонки матки та фізіологічним станом яєчників у корів. Ендометрит (серозний та серозно-катаральний) у корів характеризується зменшенням числа та величини маткових залоз, їх атрофією, нагромадженням ексудату, потовщенням м'язових волокон при зменшенні товщини м'язової (міометрію) та слизової (ендометрію) оболонок. При морфологічних змінах мазка виявлені зміни дихальної активності мітохондрій, що зумовлено як запальними процесами у слизовій матки, так і фізіологічним станом яєчника. Препарат «Міметон» стимулює споживання кисню та ресинтез АТФ у слизовій матки при ендометриті, що прискорює процеси її відновлення при запальних процесах.

Фізіологія статевого циклу самок характеризується послідовною зміною стадій, які супроводжуються дозріванням фолікулів у яєчниках та овуляцією, утворенням та регресією жовтих тіл. Проте на тривалість статевого циклу корів, можуть впливати акушерські і гінекологічні захворювання. Зокрема при запальних процесах матки (метритах) виявляють близько 40 % (36–50 %) молочних корів [1, 2]. При цьому, у 15–20 % самок хвороба проявляється як клінічний ендометрит (з виділенням катарального або гнійного ексудату; тривалість більше 21 доби після отелення) і у 30 % корів, як субклінічний ендометрит (зменшення виділень із статевих органів або їх відсутність, порушення статевого циклу). Наслідком запальних процесів є порушення гормонального стану самок, зокрема у плазмі крові корів виявляють нижчі концентрації естрадіолу і прогестерону, гальмується розвиток фолікулів у яєчнику та здовжується лютеальна фаза, порівняно з клінічно здоровими тваринами [3–5]. Поряд із вказаними змінами, в ендометрії змінюється інтенсивність окисних процесів та АТФ-ресинтезуюча здатність мітохондрій [6–8]. Коригування інтенсивності споживання кисню органами шляхом введення ветеринарних препаратів нормалізує окисне фосфорилування й відновлює функціональний стан органів розмноження та репродуктивну функцію корів.

Тому метою роботи було вивчення дії утеростимулятора «Міметон» на інтенсивність поглинання кисню мітохондріями ендометрію корів з запальними процесами слизової оболонки матки та фізіологічним станом яєчників у корів.

Матеріали і методи

Дослідження провели на 16 тваринах 15-місячного–9-річного віку живою масою 250–500 кг, які належали СВК «Урожай» Луцького району Волинської області. Після забою корів відбирали матку та оцінювали фізіологічний стан органу і ендометрію: у нормі (стінка матки пружної, щільної консистенції, ендометрій блідо-рожевого кольору, блискучий, без видимих

запальних процесів, ексудат прозорий, рис. 1, А) та патології (стінка матки потовщена, ендометрій сірого кольору з видимими вогнищами запалення, ексудат мутний; рис. 1, Б).



Рис. 1. Матка корів у нормі (А) та при ендометриті (Б)

При вивченні мікроструктури тканини матки та дихальної активності мітохондрій ендометрію у нормі та при патології враховували фізіологічний стан яєчника [9]. Для підтвердження клінічно встановленого діагнозу вивчали гістоструктуру матки. Тканину матки з верхньої третини рогу (шматочки товщиною 0,5 см) фіксували у 15 % розчині нейтрального формаліну та заливали у парафін. Виготовлені гістозрізи (7 мкм) фарбували гематоксиліном та еозином [10], фотографували за допомогою вмонтованої в мікроскоп відеокамери, а зображення фіксували з використанням програмного забезпечення MedCam. Для визначення інтенсивності дихання мітохондрій готували гомогенат ендометрію: слизову матки відпрепарувували від міометрію, подрібнювали, додавали охолоджений до 4 °С 0,25 М розчин сахарози (1:1 вага : об'єм) і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера. Отриманий гомогенат центрифугували при 3000 об/хв. Надосадову рідину повторно центрифугували 15 хв при 12000 g. Осад мітохондрій суспендували у 0,5 мл інкубаційного середовища, яке містило 150 мМ сахарози, 5 мМ тріс, 50 мМ КСl, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ КН₂РО₄ (рН 7,4).

Швидкість дихання визначали полярографічним методом [11]: у комірку полярографа вносили 0,1 мл суспензії мітохондрій та 0,9 мл інкубаційного середовища. Для виявлення впливу «Міметону» на інтенсивність споживання кисню мітохондріями в комірку полярографа додавали утероміметик до кінцевої концентрації 5 мМ. Процес дихання стимулювали додаванням АДФ у концентрації 100 мкМ. Вміст загального білка мітохондрій визначали за методом Лоурі [12]. Аналіз отриманих результатів провели за М. О. Плохінським [13].

Результати й обговорення

Мікроскопічно за фізіологічної норми у матці виявлено слизову, м'язову та серозну оболонки (рис. 2).

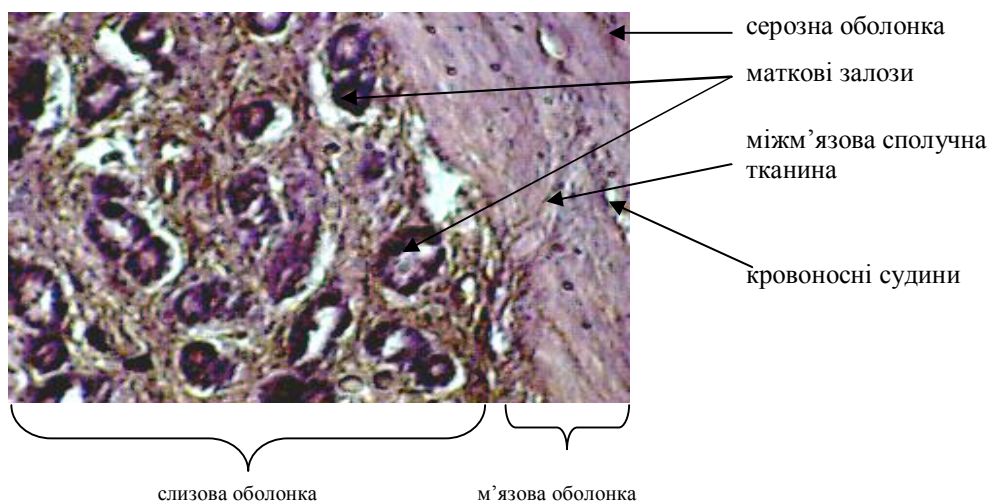


Рис. 2. Мікроструктура матки корови у нормі (гематоксилін-еозин x 100)

Ендометрій вистелений одношаровим циліндричним епітелієм, в якому виявляються маткові залози. Вони в основному прості, окремі з них розгалужені, розміщуються на всій поверхні слизової оболонки паралельними рядами під кутом до поверхні слизової (рис. 3; а, б). У міометрії м'язові волокна не потовщені, а між шарами м'язів, у сполучній тканині, виявляються кровоносні судини. Серозна оболонка (периметрій) не потовщена, без візуальних змін.

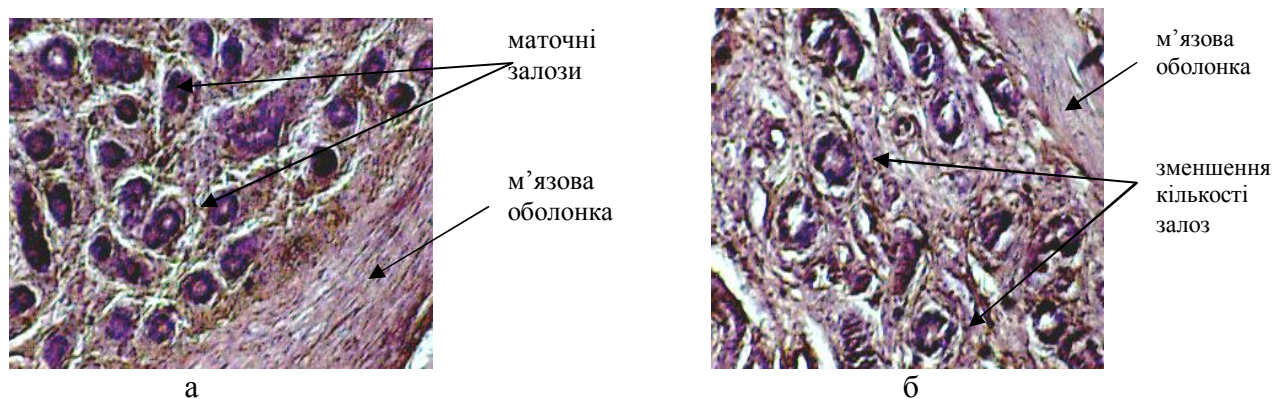


Рис. 3. Мікроструктура матки великої рогатої худоби різних вікових груп (а — телиця 18-місячного віку; б — корова 7-річного віку; гематоксилін-еозин x 100)

У тканині матки при запальному процесі (ендометриті) зменшена товщина слизової оболонки, маткові залози атрофовані, їх кількість знижена, величина зменшена, нагромаджується ексудат (рис. 4, а). Окремі залози втрачають контури.

Структура м'язової оболонки збережена, проте зменшена її товщина, а м'язові волокна, навпаки, потовщені. Навколо вогнища запалення виявлено сформований грануляційний вал. Дрібні судини спавші, а стінки їх потоншені, а це свідчить про серозний та серозно-катаральний ендометрити (рис. 4, б).

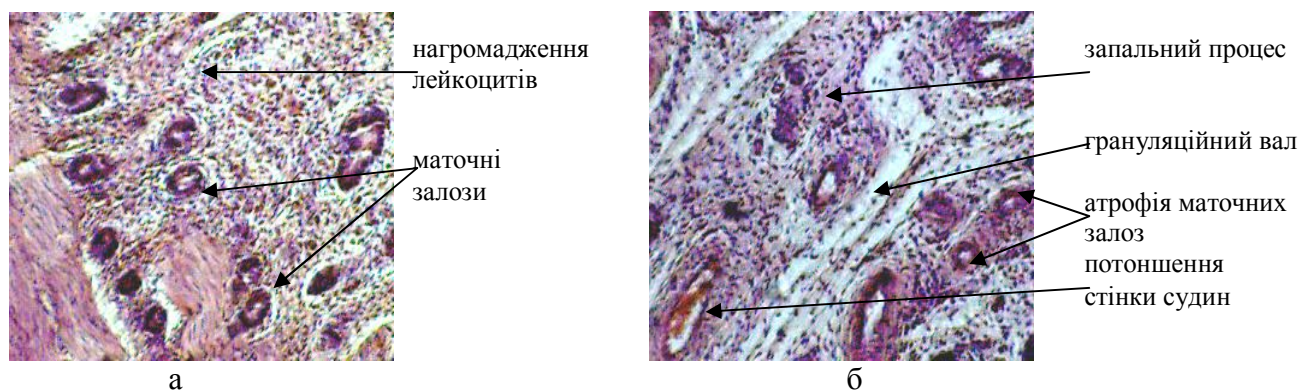


Рис. 4. Мікроструктура слизової оболонки матки у корів з ендометритом (а — серозний ендометрит, б — серозно-катаральний ендометрит; гематоксилін-еозин x 100)

При вивченні інтенсивності дихання мітохондрій ендометрію встановлено, що величина споживання кисню органами слизової оболонки матки у нормі вища, порівняно з запальними процесами ($13,0 \pm 4,83 - 40,9 \pm 10,74$ проти $8,4 \pm 0,49$ нг-атом O /мг білка /хв; рис. 5). При цьому, виявлено зв'язок інтенсивності споживання кисню мітохондріями ендометрію з фізіологічним станом яєчника. Максимальна дихальна активність органел слизової матки проявляється при фізіологічному стані яєчника «пізнього жовтого тіла» ($40,9 \pm 10,74$ нг-атом O/мг білка за хв), знижується на 13,7 та 31,1 % при «фолікулярному рості» та «свіжій овуляції» і найнижча (68,3 %; $p < 0,05$) при «ранньому жовтому тілі».

Виявлена залежність зумовлена фізіологічним перебігом статевого циклу корів і, зокрема впливом гормонів, що забезпечують ріст, розвиток і овуляцію домінуючого фолікула (яєчники фізіологічних станів: «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту»)

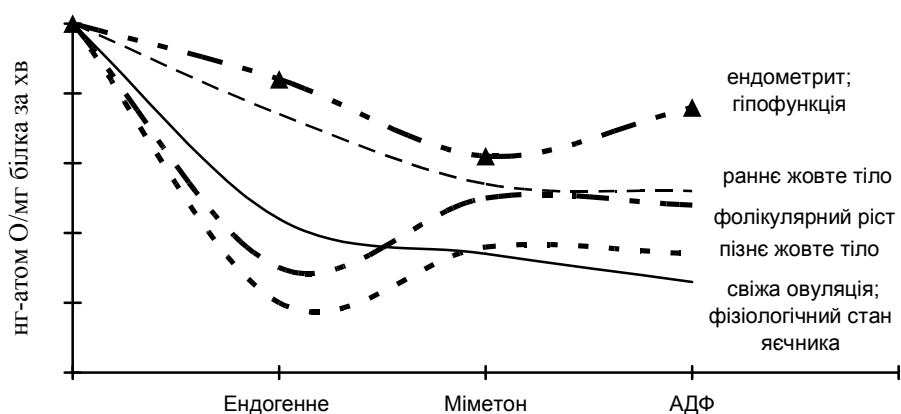


Рис. 5. Споживання кисню мітохондріями ендометрію у нормі та патології і в зв'язку з фізіологічним станом яєчника

й, відповідно, підготовку матки (в т. ч. ендометрію) до запліднення, а також потребами ембріонів (яєчники «свіжої овуляції» і «раннього жовтого тіла») [14–17].

Отже, ендогенне споживання кисню мітохондріями ендометрію (метаболічний стан I) свідчить про вміст субстратів у тканині та здатність органел їх використовувати. Виявлені відмінності у дихальній активності органел, як впливає з аналізу результатів досліджень, зумовлені як запальними процесами слизової оболонки, так і фізіологічним станом яєчника.

При використанні «Міметону» (додаванні діючої речовини і, в тому числі, субстратів окиснення) встановлено вище на 16,4 і 45,0 % споживання кисню мітохондріями ендометрію за фізіологічних станів яєчника «свіжої овуляції» і «раннього жовтого тіла», порівняно з ендогенним диханням. Отже, при забезпеченні субстратами окиснення і за впливу діючої речовини утеростимулятора дихальна активність мітохондрій зростає: органели забезпечені субстратами окиснення та неорганічним фосфором (метаболічний стан II). Стимулювання окисного фосфорилування додаванням АДФ супроводжується підвищенням дихальної активності органел, відповідно, на 9,9 і 5,0 % (активний стан III).

Не виявлено впливу «Міметону» на споживання кисню мітохондріями ендометрію за фізіологічного стану яєчника «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту». Зокрема, дихальна активність органел за вказаних фізіологічних станів висока, відповідно: $40,9 \pm 10,74$ та $35,3 \pm 13,10$ нг-атом О/мг білка за хв, знижується при додаванні препарату, відповідно, на 23,4 та 24,1 % і, при стимулюванні окисного фосфорилування, залишається без змін ($33,3 \pm 12,37$ та $26,5 \pm 4,04$ нг-атом О/мг білка за хв). При ендометриті, що супроводжується гіпофункцією яєчника, «Міметон» стимулює дихальну активність органел на 65,8 % ($p < 0,01$). Додавання АДФ знижує використання кисню органелами на 36,9 %, порівняно зі стимулюючою дією препарату, але дихальна активність вища від ендогенної на 48,8 % ($p < 0,01$).

Таким чином, введення «Міметону» стимулює окисне фосфорилування у мітохондріях ендометрію, що забезпечує ресинтез АТФ і, відповідно, процеси відновлення тканин при запальних процесах.

Висновки

1. При мікроскопічному дослідженні стінки матки корів встановлено серозний та серозно-катаральний ендометрити, що характеризуються зменшенням числа та величини

маткових залоз, їх атрофією, нагромадженням ексудату, потовщенням м'язових волокон, при зменшенні товщини м'язової (міометрію) та слизової (ендометрію) оболонок.

2. Дихальна активність мітохондрій залежить від фізіологічного стану як яєчників, так і слизової оболонки матки у корів.

3. При ендометриті, що супроводжується гіпофункцією яєчника, «Міметон» стимулює споживання кисню та ресинтез АТФ у слизовій матки.

Перспективи подальших досліджень. З метою медикаментозного коригування відтворної функції у самок слід було б провести дослідження ресинтезу АТФ у мітохондріях репродуктивних органів тварин за допомогою інших препаратів.

*M. M. Akymyshyn, Yu. V. Martyn, R. H. Sachko,
O. S. Grabovs'ka, A. Z. Pylypets', D. D. Ostapiv*

UTERUS MICROSTRUCTURE AND INTENSITY OF OXYGEN CONSUMPTION BY ENDOMETRIUM MITOCHONDRIA OF COWS

S u m m a r y

Influence of uterus stimulator «Mimeton» on intensity of oxygen absorption by endometrium mitochondria in connection with the inflammatory processes of mucous membrane of uterus and physiological state of ovaries in cows is presented in this article. At microscopic research of uterus wall diagnosis is set — endometritis (serose and serose-catarthal), that is characterized by reduction of number and size of uterine glands, their atrophy, piling up of exsudate, by thickening of muscular fibres at reduction of thickness of muscular (miometrium) and mucous (endometrium) membranes. The set changes in morphology of tissues show difference in respiratory activity of mitochondria, the size of which depends both on the inflammatory processes of mucous uterus, and the physiological state of ovaries in cows. Preparation «Mimeton» stimulates consumption of oxygen and resynthesis of ATF in mucous of uterus at endometritis, that stimulates the processes of regeneration of tissues at inflammatory processes.

*G. G. Akimishin, Yu. V. Martyn, P. G. Sachko,
O. S. Grabovskaya, A. S. Pilypets, D. D. Ostapiv*

МИКРОСТРУКТУРА МАТКИ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА МИТОХОНДРИЯМИ ЭНДОМЕТРИУ КОРОВ

А н н о т а ц и я

Изучали действие утеростимулятора «Миметон» на интенсивность поглощения кислорода митохондриями эндометриу в связи с воспалительными процессами слизистой оболочки матки и физиологическим состоянием яичников у коров. При микроскопическом исследовании стенки матки установлен диагноз — эндометрит (серозный и серозно-катаральный), что характеризуется уменьшением числа и величины маточных желез, их атрофией, нагромождением экссудата, утолщением мускульных волокон при уменьшении толщины мускульной (миометриу) и слизистой (эндометриу) оболочек. Установленные изменения в морфологии тканей проявляются разницей в дыхательной активности митохондрий, величина которой зависит как от воспалительных процессов слизистой матки, так и физиологического состояния яичников у коров. Препарат «Миметон» стимулирует потребление кислорода и ресинтез АТФ в слизистой матки при эндометриті, что убыстряет процессы возобновления тканей при воспалительных процессах.

1. *Markusfeld O.* Periparturient traits in seven high dairy herds: incidence rates, association with parity, and interrelationships among traits / O. Markusfeld // *J. Dairy Sci.* — 1987. — 70:158 166. [Abstract/FREE Full Text](#);
2. *Zwald N. R.* Genetic selection for health traits using producer-recorded data, I: incidence rates, heritability estimates, and sire breeding values / N. R. Zwald, K. A. Weigel, Y. M. Chang et al // *J. Dairy Sci.* — 2004. — 87: 4287 4294.
3. *Sheldon I. M.* Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle / I. M. Sheldon, D. E. Noakes, A. N. Rycroft et al. // *Reproduction.* — 2002. — 123: 837 845.
4. *Williams E. J.* The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow / E. J. Williams, D. P. Fischer, D. E. Noakes et al. // *Theriogenology.* — 2007; 68: 549 559.
5. *Харута Г. Г.* Вміст статевих гормонів у корів за різного стану жовтих тіл і результату осіменіння. / Г. Г. Харута, А. О. Батуревич. — Вісник БНАУ.
6. *Любомська О. В.* Окислювальні процеси в окремих структурах яєчника, матки та наднирника корів і телиць під впливом гормонів за умов *in vitro* та *in vivo* : Автореф. канд.... вет. наук / О. В. Любомська. — Львів, 1997. — 19 с.
7. *Кротких М. О.* Окисно-відновні процеси в тканинах яєчника, матки та надниркової залози корів і телиць залежно від стану репродуктивної системи : Автореф. канд.... вет. наук / М. О. Кротких. — Львів, 2001. — 18 с.
8. *Смолянинов Б. В.* Контроль и регуляция воспроизводительной функции самок сельскохозяйственных животных. / Б. В. Смолянинов, М. А. Кротких. — Одесса : СМІЛ, 2004. — 197 с.
9. *Гузеватий О. Є.* Оцінка функціонального стану ооцит-кумулясних комплексів корів залежно від типу яєчника / О. Є. Гузеватий, В. В. Ясінський, Л. В. Смุลка, Т. А. Колечко та ін. // Вісник аграрної науки. — 1995. — № 11. — С. 94–98.
10. *Вракин В. Ф.* Практикум по анатомии с основами гистологии и эмбриологии сельскохозяйственных животных / В. Ф. Вракин, М. В. Сидорова, Э. М. Давыдова. — М. : Колос, 1982. — 207 с.
11. *Chance B.* The respiratory chain and oxidative phosphorylation / B. Chance, G. R. Williams // *Adv. Enzymol.* — 1956. — Vol. 17. — P. 65–134.
12. *Lowry O. H.* Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al // *J. Biol. Chem.* — 1957. — Vol. 193. — № 1. — P. 265–275.
13. *Плохинский Н. А.* Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский. — М. : Колос, 1969. — 255 с.
14. *Sartori R.* Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles / R. Sartori, P. M. Fricke, J. C. P. Ferreira et al. // *Biology of Reproduction.* — 2001. — 65:1403–1409.
15. *Fields M. J.* Extragonadal Luteinizing Hormone Receptors in the Reproductive Tract of Domestic Animals / M. J. Fields, M. Shemesh // *Biology of Reproduction.* — 2004. — 71:1412–1418.
16. *Herath S.* Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function / S. Herath, E. J. Williams, et al. // *Reproduction.* — 2007. — 134:683–693.
17. *Rose J.* The Effects of Estradiol and Catecholestrogens on the Expression and Activity of Enzymes Regulating Glycogen Metabolism in the Uterus of the Mink / J. Rose, J. Hunt, J. Shelton et al. // *Biology of Reproduction.* — 2008. — 78 : 93. — P. 173.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор Янович В. Г.