

## ОСОБЛИВОСТІ ДИХАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МІТОХОНДРІЙ ЯЄЧНИКІВ КОРІВ

М. М. Акимішин, Д. Д. Остапів, Р. Г. Сачко

Інститут біології тварин НААН

*Досліджували інтенсивність споживання кисню мітохондріями яєчників корів залежно від фізіологічного стану і окремих форм патології статевої залози. Встановлено, що високою дихальною активністю характеризуються мітохондрії яєчників «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту», а найнижчою — «раннього жовтого тіла». Інтенсивність споживання кисню мітохондріями яєчників за патології (персистентного жовтого тіла і гіпофункції) не відрізняється від фізіологічних станів «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту». Встановлені значні коливання дихальної активності мітохондрій, які зумовлені як станами яєчника, так й індивідуальними особливостями корів. Виявлено, що додавання Естрофану до суспензії мітохондрій знижує споживання кисню за фізіологічних станів «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту», не впливає за «свіжої овуляції» й «раннього жовтого тіла» і проявляє тенденцію до підвищення за патології яєчників.*

Функціонування статевої залози зумовлено розвитком васкулярної сітки, інтенсивністю кровотоку і, відповідно, постачанням субстратів і кисню до структур (фолікулів) яєчника [1, 2]. При цьому ріст і виділення домінуючого фолікула починається на добу пізніше, ніж зростає інтенсивність потоку крові в судинах [3]. Виявлені зміни зумовлені потребою ооцитів у субстратах і кисні при дозріванні [4]. Одночасно, у фолікулах яєчників корів, які атрезують, розвиток васкулярної сітки слабший, а швидкість потоку крові понижена [5]. Очевидно, вказані особливості постачання крові до яєчників за різних фізіологічних станів (дозрівання і виділення домінуючого фолікула, овуляція, розвиток і регресія жовтого тіла) будуть зумовлювати неоднакову інтенсивність окисних процесів у тканині статевої залози. Таке припущення підтверджується виявленою різницею споживання кисню мітохондріями статевої залози корів і телиць за окремих стадій статевого циклу і при патологіях яєчників [6, 7].

Метою досліджень було вивчення дихальної активності мітохондрій за різних фізіологічних станів і при окремих патологіях яєчників корів.

**Матеріали і методи.** Дослідження провели на 39 коровах 5–8-річного віку, масою тіла 450–500 кг української молочної чорно-рябої породи, які належали сільськогосподарсько-виробничому кооперативу «Урожай» Луцького району Волинської області. Стан яєчників корів оцінювали ректальним дослідженням. Забій та відбір матеріалу проводили на м'ясопереробному підприємстві (м. Пустомити). Після забою відбирали яєчники, повторно оцінювали фізіологічний стан і ділили на групи: зі "свіжою" овуляцією, на місці овульованого фолікула є відтулина, жовте тіло відсутнє або діаметр до 5 мм, колір червоний (СО); з "раннім" жовтим тілом, діаметр 10–20 мм, колір червоний або брунатний (РЖТ); з "пізнім" жовтим тілом, діаметр 5–15 мм, колір жовтий (ПЖТ); "фолікулярного росту", без жовтого тіла (ФР) [8]. Крім того, відбирали статеві залози з патологіями: гіпофункцією — за відсутністю статевих циклів у корів, у яєчниках — поодинокі антральні фолікули діаметром до 4 мм, тканина пружна; персистентним жовтим тілом — відсутність статевих циклів понад 25–30 днів у корів, у яєчниках — жовте тіло діаметром 10–15 мм. Яєчники промивали 0,9 % розчином натрію хлориду, з фолікулів аспірували антральну рідину. З тканини статевої залози готували гомогенат: подрібнювали, додавали охолоджений до 0–4 °С 0,25 М розчин сахарози (1:1 —

вага : об'єм) і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера. Гомогенат центрифугували при 3000 об/хв., надосадову рідину відбирали і повторно центрифугували 15 хв. при 12000g при 0–4 °С. Осад мітохондрій суспендували у 0,5 мл інкубаційного середовища, яке містило 150 мМ сахарози, 5 мМ тріс, 50 мМ КСl, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> (рН 7,4). У суспензії мітохондрій вивчали інтенсивність споживання кисню полярографічно (нг-атом О/мг білка×хв) за температури 25,0 °С. Для виявлення впливу гормонального препарату на дихальну функцію мітохондрій в інкубаційну суміш додавали Естрофан (Спофа, Чехія; 0,25 мг/мл клопростенолу — синтетичного аналога простагландину F<sub>2α</sub>) — 10 мкл. Вміст загального білка у гомогенатах тканин (мг/мл) вивчали методом Lowry [9]. Аналіз результатів досліджень проведено за М. О. Плохінським [10].

**Результати й обговорення.** Мітохондрії, залежно від фізіологічного стану яєчників, відрізняються величиною інтенсивності споживання кисню. Найвищою дихальною активністю характеризуються органели «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту», відповідно, 22,0±5,32 та 20,5±5,04 нг-атом О/мг білка×хв, нижчою на 27,9–32,8 % «свіжої овуляції» і найнижчою — «раннього жовтого тіла» (10,3±1,91 нг-атом О/мг білка×хв; табл.).

Таблиця

**Дихальна активність мітохондрій яєчників корів, М±m**

| Стан яєчника            | Споживання кисню, нг-атом О/мг білка×хв |           |                  |
|-------------------------|---|-----------|------------------|
|                         | n                                       | ендогенне | за дії Естрофану |
| Свіжа овуляція          | 6                                       | 14,8±2,44 | 13,5±3,65        |
| Раннє жовте тіло        | 3                                       | 10,3±1,91 | 9,7±3,61         |
| Пізнє жовте тіло        | 7                                       | 22,0±5,32 | 14,0±5,34        |
| Фолікулярний ріст       | 10                                      | 20,5±5,04 | 13,9±5,07        |
| Гіпофункція             | 8                                       | 19,7±4,97 | 21,1±5,45        |
| Персистентне жовте тіло | 5                                       | 19,3±2,64 | 20,9±2,15        |

При аналізі дихальної активності мітохондрій яєчників, залежно від фізіологічного стану, виявлено значні коливання величин досліджуваного показника. Так, за «свіжої овуляції» дихальна активність знаходилась в межах 8,2–23,7 нг-атом О/мг білка×хв (CV — 40,2 %), «раннього жовтого тіла» — 6,2–14,8 нг-атом О/мг білка× хв (CV — 32,0 %), «пізнього жовтого тіла» — 8,2–42,6 нг-атом О/мг білка×хв (CV — 64,0 %) і «фолікулярного росту» — 8,6–55,5 нг-атом О/мг білка×хв (CV — 77,8 %). Отже, мітохондрії яєчників одного й того ж фізіологічного стану відрізняються інтенсивністю споживання кисню. Виявлені відмінності вказують на індивідуальні особливості окисного метаболізму організму корів, різну здатність до засвоєння і використання поживних речовини раціонів для забезпечення репродуктивної функції.

За патології яєчників, порівняно з фізіологічними станами «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту», дихальна активність мітохондрій не відрізняється і становить: за гіпофункції 19,7±4,97 нг-атом О/мг білка×хв і персистентного жовтого тіла — 19,3±2,64 нг-атом О/мг білка×хв. Отже, відсутність різниці у інтенсивності споживання кисню мітохондріями за вказаних форм патологій і фізіологічними станами яєчника свідчить про можливість статевої залози відновити фолікулогенез і статево циклічність корів.

Оцінюванням дихальної активності мітохондрій за вказаних форм патологій яєчників окремих тварин виявлено, що при гіпофункції коливання величин показника становлять від 4,2–42,5 нг-атом О/мг білка×хв (CV — 67,8 %) і при персистентному жовтому тілі — 7,8– 39,6 нг-атом О/мг білка×хв (CV — 48,4 %). Отже, мінливість величин дихальної активності мітохондрій свідчить про існування індивідуальних особливостей використання кисню незалежно від виду патології яєчників корів.

Додавання гормонального препарату в комірку полярографа до суспензії мітохондрій, отриманих з яєчників різних фізіологічних станів, неоднаково впливає на інтенсивність

споживання кисню. Дихальна активність органел статевої залози «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» знижується, відповідно, на 36,4 і 29,5 %, а за «свіжої овуляції» і «раннього жовтого тіла» — не змінюється ( $13,5 \pm 3,65$  і  $9,7 \pm 3,61$  нг-атом O/мг білка $\times$ хв), порівняно з ендогенним диханням. Додавання Естрофану до мітохондрій, виділених з яєчників за гіпофункції і персистентного жовтого тіла, зумовлює тенденцію до підвищення споживання кисню (відповідно, 6,3 і 7,7 %). При цьому, дія гормонального препарату на дихальну активність мітохондрій залежить від фізіологічного стану яєчника та індивідуальних особливостей корів. Мінливість величини споживання кисню мітохондріями за дії Естрофану, порівняно з ендогенним диханням, зростає за всіх фізіологічних станів яєчника: «фолікулярного росту» (CV — 89,0 %), «пізнього жовтого тіла» (CV — 85,4 %), «свіжої овуляції» і «раннього жовтого тіла» (відповідно, 53,7 і 52,5 %) і знижується — за гіпофункції та персистентного жовтого тіла (CV — 51,7 і 38,6%).

Подібні зміни дихальної активності виявлені при додаванні ФСТ до мітохондрій строми яєчника — зростання концентрації гормону в середовищі визначення знижує споживання кисню органелами [6]. Очевидно, понижене споживання кисню мітохондріями при додаванні синтетичного аналога простагландину F<sub>2α</sub> (Естрофану) за фізіологічних станів яєчників «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» зумовлене зниженням активності АТФ-ази. І навпаки, у яєчниках з патологією проявляється лютеолітична дія Естрофану (естроген-подібна дія), що зумовлює тенденційно вищу величину дихальної активності органел.

## ВИСНОВКИ

1. Високою дихальною активністю характеризуються мітохондрії яєчників «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту», а найнижчою «раннього жовтого тіла».

2. Інтенсивність споживання кисню мітохондріями яєчників за патології (персистентного жовтого тіла і гіпофункції) не відрізняється від фізіологічних станів «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту».

3. Встановлено значні коливання дихальної активності мітохондрій, які зумовлені як станами яєчника, так й індивідуальними особливостями корів.

4. Додавання Естрофану до суспензії мітохондрій знижує споживання кисню за фізіологічних станів «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту» і проявляє тенденцію до підвищення за патології яєчників.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчити концентрацію статевих гормонів у тканинах яєчників різних фізіологічних станів і за патології.

## RESPIRATORY ACTIVITY PECULIARITIES OF COW OVARY MITOCHONDRIA

*M. Akymyshyn, D. Ostapiv, R. Sachko*

Institute of Animal Biology of NAAS

## SUMMARY

Ovarian mitochondria oxygen consumption intensity in connection with physiological state and gonads individual pathologies were studied. It is set that, ovarian mitochondria of “late corpora lutea” and “follicle growth” characterizes by high respiration activity, on the contrary — lowest indexes were in “early corpora lutea”. Ovarian mitochondria oxygen consumption intensity by pathologies (“persistent corpora lutea” and its hypofunction) doesn’t distinguish from physiological states of “late “corpora lutea” and “follicle growth”. Great fluctuations of mitochondria respiratory activity were established, which were caused by ovarian states and cow individual peculiarities. It is

determined, that Oestrophan addition to mitochondrial suspension lowers oxygen uptake in physiological states late “corpora lutea” and “follicle growth”, doesn’t have an impact in “fresh ovulation” and “early corpora lutea”, has a increase tendency in ovarian pathologies.

## ОСОБЕННОСТИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ЯИЧНИКОВ КОРОВ

*М. М. Акьмышин, Д. Д. Остапив, Р. Г. Сачко*

Институт биологии животных НААН

### АННОТАЦИЯ

Исследовали интенсивность потребления кислорода митохондриями яичников коров в зависимости от физиологического состояния и отдельных форм патологий половой железы. Установлено, что высокой дыхательной активностью характеризуются митохондрии яичников «позднего желтого тела» и «фолликулярного роста», а наименьшей «раннего желтого тела». Интенсивность потребления кислорода митохондриями яичников при патологии (персистентного желтого тела и гипофункции) не отличается от физиологических состояний «позднего желтого тела» и «фолликулярного роста». Установленные значительные колебания дыхательной активности митохондрий обусловлены как состояниями яичников, так и индивидуальными особенностями коров. Выявлено, что добавление Эстрофана к суспензии митохондрий снижает потребление кислорода при физиологических состояниях «позднего желтого тела» и «фолликулярного роста», не влияет при «свежей овуляции» и «раннего желтого тела» и проявляет тенденцию к повышению при патологии яичников.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Zeleznik A. J.* Gonadotropin-binding sites in the rhesus monkey ovary: role of the vasculature in the selective distribution of human chorionic gonadotropin to the preovulatory follicle / A. J. Zeleznik, H. M. Schuler, L. E. Reichert // *Endocrinology*. — 1981. — Vol. 109. — P. 356–362.
2. *Christopher D. A.* A high-frequency pulsed-wave Doppler ultrasound system for the detection and imaging of blood flow in the microcirculation / D. A. Christopher, P. N. Burns, B. G. Starkoski, F. S. Foster // *Ultrasound Med Biol*. — 1997. — Vol. 23. — P. 997–1015.
3. *Acosta T. J.* Differential Blood Flow Changes Between the Future Dominant and Subordinate Follicles Precede Diameter Changes During Follicle Selection in Mares / T. J. Acosta, E. L. Gastal, M. O. Gastal, M. A. Beg // *Biology of reproduction*. — 2004. — Vol. 71. — P. 502–507.
4. *Hul Y.* Effects of low O<sub>2</sub> and ageing on spindles and chromosomes in mouse oocytes from pre-antral follicle culture / Y. Hul, I. Betzendahl, R. Cortvrindt et al. // *Human Reproduction*. — 2001. — Vol. 16, № 4. — P. 737–748.
5. *Jiang J. Y.* Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles / J. Y. Jiang, G. Macchiarelli, B. K. Tsang, E. Sato // *Reproduction*. — 2003. — Vol. 125. — P. 211–223.
6. *Любомська О. В.* Окислювальні процеси в окремих структурах яєчника, матки та наднирниках корів і телиць під впливом гормонів за умов *in vitro in vivo* : автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.10 / 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: 03.00.13 / М. О. Кротких. — Львів, 2001. — 18 с.
8. *Гузеватий О. Є.* // Вісник аграрної науки / О. Є. Гузеватий, В. В. Ясінський, Л. В. Смудка та ін. — 1995. — № 11. — С. 94–98.

9. *Lowry O. H.* Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry , N. J. Rosebrough, A. L. Fair, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* — 1951.— V. 193, № 1.— P. 264–275.

10. *Плохинский Н. А.* Руководство по биометрии для зоотехников / *Н. А. Плохинский.* — М.: Колос, 1969. — 255 с.