

УДК636.321/38:612.063

Гримак Х.М., аспірант ©

Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ МАТКИ І ЯЄЧНИКІВ ЗА СТИМУЛЯЦІЇ СТАТЕВОЇ ОХОТИ У ОВЕЦЬ В АНЕСТРАЛЬНИЙ ПЕРІОД

Метою наших досліджень було вивчити вплив ГСЖК у складі ліпосомальної емульсії на органи розмноження овець української гірськокарпатської породи у схемі стимуляції їх статевої охоти в непарувальний період. Проведено підбір оптимальної дози ГСЖК у комплексі з гонадотропін-рилізінг гормоном (сурфагоном) і досліджено їх вплив на гістоморфологічний стан слизової оболонки матки і яєчників. Показано, що стимуляція статевої охоти у вівцематок української гірськокарпатської породи в анестральний період комплексом ГСЖК з сурфагоном у складі ліпосомальної емульсії сприяє збільшенню гістоморфологічних показників слизової оболонки рогів матки та біохімічних показників яєчників і стінки матки. Встановлено, що введення ГСЖК викликало зростання кількості маткових залоз на 31,2 і 21,9 %. Також відмічено зростання кількості біохімічних показників епітелію слизової оболонки матки: фосфору РНК на 21,8 і 16,0 відсотка, вільних SH-груп на 25,8 і 15,0%. У стінці матки піддослідних овець також відмічали вищий рівень глікогену за введення ГСЖК на 10,8 і 6,4% порівняно до контролю. Введення ГСЖК з сурфагоном підвищило активність амінотрансфераз: активність АлАТ була вищою на 42,7 і 22,9%, АсАТ — на 20,4 і 15,9 відсотка. Аналогічні результати отримані при біохімічному дослідженні яєчників. Спостерігали підвищення рівня розчинних білків у дослідних тварин на 17,9 і 8,2%, фосфору ДНК — на 10,4 і 2,3 відсотка, РНК — на 22,8 і 13,5 %, вільних SH-груп — на 27,9 і 15,6%, глікогену — на 16,7 і 10,0%, АлАт — на 18,7 і 8,6%, АсАт — на 21,8 і 11,9%. Отже, введення ліпосомальної емульсії з використанням зменшеної на 20,0 відсотків дози ГСЖК у комплексі з сурфагоном найоптимальніше покращує біохімічні показники епітелію стінки матки і яєчників.

Ключові слова: вівці, синхронізація, ГСЖК, сурфагон, ліпосомальна емульсія, вагінальні губки.

УДК636.321/38:612.063

Грымак Х.М., аспирант

Інститут биологии животных НААН, ул. В. Стуса 38, м. Львов, 79034, Украина

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МАТКИ И ЯИЧНИКОВ ЗА СТИМУЛЯЦИИ ПОЛОВОЙ ОХОТЫ В ОВЕЦ В АНЭСТРАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Целью наших исследований было изучить влияние ГСЖК в составе липосомальной эмульсии на органы размножения овец Украинской горнокарпатской породы в схеме стимуляции их половой охоты в

анэстральный период. Проведен подбор оптимальной дозы ГСЖК в комплексе с гонадотропин-релизинг гормоном (сурфагоном) и исследовано их влияние на гистоморфологическое состояние слизистой оболочки матки и яичников. Показано, что стимуляция половой охоты у овцематок украинской горнокарпатской породы в анэстральный период комплексом ГСЖК с сурфагоном в составе липосомальной эмульсии способствует увеличению гистоморфологических показателей слизистой оболочки рогов матки и биохимических показателей яичников и стенки матки. Установлено, что введение ГСЖК вызвало увеличение количества маточных желез на 31,2 и 21,9 %. Также отмечено повышение количества биохимических показателей эпителия слизистой оболочки матки: фосфора РНК на 21,8 и 16,0 %, свободных SH-групп на 25,8 и 15,0 %. В стенке матки подопытных овец также отмечали высший уровень гликогена при введении ГСЖК на 10,8 и 6,4 % по сравнению с контроля. Введение ГСЖК с сурфагоном повысило активность аминотрансфераз: активность АЛТ была выше на 42,7 и 22,9 %, АсАТ – на 20,4 и 15,9 %. Аналогичные результаты получены при биохимическом исследовании яичников. Наблюдалось повышение уровня растворимых белков в опытных животных на 17,9 и 8,2 %, фосфора ДНК – на 10,4 и 2,3 %, фосфора РНК – на 22,8 и 13,5 %, свободных SH-групп – на 27,9 и 15,6 %, гликогена – на 16,7 и 10,0 %, АЛТ – на 18,7 и 8,6 %, АсАТ – на 21,8 и 11,9 %. Таким образом, введение липосомальной эмульсии с использованием уменьшенной на 20,0 % дозы ГСЖК в комплексе с сурфагоном оптимально улучшает биохимические показатели эпителия стенки матки и яичников.

UDC 636.321/38: 612063

Grymak C.

Institute of animal biology NAAS, Stusa str., 38, Lviv, 79034, Ukraine

HISTOMORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICES OF THE UTERUS AND OVARIES AFTER THE STIMULATION OF SEXUAL HUNTING OF THE EWES DURING THE NON-BREEDING PERIOD

The aim of our research was to study the influence of PMSG as part of liposomal emulsion on the organs of reproduction of sheep of the Ukrainian Carpathian Mountain breed in the scheme of stimulation of their sexual hunting in the non-breeding period. A selection of the optimal dose of PMSG in complex with gonadotropin-releasing hormone (surfagon) has been made and their impact on the histomorphological state of the mucous membranes of the uterus and ovaries has been studied. It has been shown that the stimulation of sexual hunting of the Ukrainian Carpathian Mountain breed ewes in the non-breeding period using the complex of PMSG and surfagon as part of liposomal emulsion leads to the increase in the histomorphological indicators of the mucous membrane of the uterus horns and biochemical parameters of the ovaries and the uterus. It has been established that the introduction of PMSG caused an increase in the number of uterine glands by 31,2 and 21,9 %. Also, the increase in the number of biochemical parameters of the epithelium of the mucous membrane of the uterus has been noted: phosphorus RNA by 16,0 and 21,8 percent, free SH-groups by 25,8 and 15,0%. In the wall of the uterus of experimental sheep, the level of glycogen after introducing PMSG has been stated to be higher by 10,8% and 6,4% in comparison with the control. The introduction of

PMSG and surfagon increased the activity of aminotransferases: the activity of ALT higher by 42,7 and 22,9%, AST - by 20,4% and 15,9%. Similar results were obtained after the biochemical analysis of the ovaries. Experimental animals showed the increase in the level of soluble proteins by 17,9% and 8,2%, phosphorus DNA by 10,4 and 2,3 percent, RNA - by 22,8 % and 13,5%, free-SH-groups - by 27,9 and 15,6%, glycogen – by 16,7 and 10,0%, ALT- by 18,7% and 8,6%, AST - by 21,8% and 11,9%. Thus, the introduction of liposomal emulsion with the reduced by 20,0 percent dose of PMSG in complex with surfagon effectively improves biochemical parameters of the epithelium of the uterine wall and ovaries.

Вступ. Сучасні умови ведення вівчарства вимагають розроблення і впровадження у виробництво методів і способів штучного керування процесами відтворення. Сюди слід віднести зменшення тривалості підсисного і сервіс-періоду у вівцематок. Це дозволить скоротити період між ягніннями та одержати більшу кількість ягнят за певний проміжок часу [1,2,3,4].

Важливим показником у питаннях відтворення є ущільнення строків приходу овець в охоту, їх можна регулювати гормональною стимуляцією. Однак, їх ефективність у багатьох порід овець змінюється із сезоном і характеризується найнижчими показниками в анестральний період.

Проте, існує незначна кількість літературних джерел, які вказують на можливість стимулювати статеву охоту вівцематок гормональними препаратами у непарувальний період і одержувати задовільні результати [5,6].

В Інституті біології тварин НААН розроблено метод стимуляції статевої охоти овець в анестральний період з використанням біологічно активних речовин [7,8]. Значний інтерес з точки зору доставлення лікарських речовин до органів-мішеней становить ліпосомальна емульсія, яку останнім часом використовують дослідники [9].

У зв'язку з вищенаведеним метою наших досліджень було з'ясувати вплив ГСЖК у складі ліпосомальної емульсії за стимуляції статевої охоти в анестральний період на органи-мішені (матка, яєчники) вівцематок.

Методика і методи. Дослідження проводили в анестральний період (квітень-травень) на вівцематках української гірськокарпатської породи (УГКП) у СФГ «Салдобош» Хустського району Закарпатської області. Загальна схема викликання статевої охоти була однаковою для усіх піддослідних тварин і включала дегельмінтизацію, вітамінізацію та введення вагінальних губок з прогестероном на 14 діб.

Після виймання губок було сформовано 3 групи вівцематок: контрольну (38 голів) і дві дослідні: перша і друга по 36 голів у кожній

Тваринам контрольної групи внутрішньом'язово ін'єктували 500 Ю ГСЖК (фолігон Р Intervet, Нідерланди), дослідним групам — 400 і 300 Ю фолігону у складі ліпосомальної емульсії. Крім того, тваринам усіх груп під час осіменіння внутрішньом'язово ін'єктували аналог Гн-РГ (сурфагон — 10 мкг) (табл. 1).

На 4-й день після осіменіння було проведено забій по 5 голів з кожної групи. При цьому визначали гістологічні показники матки: висоту покривного і залозистого епітелію, кількість маткових залоз. Препарати для гістологічного дослідження готували за методом Афанасьєва І.М., фарбували гематоксиліном. Морфометричні показники: висоту покривного і залозистого епітелію, кількість маткових залоз — визначали під мікроскопом МБІ-15 (40 x 15) за допомогою

окулярного мікромметра. У тканинах слизової оболонки матки і яєчників визначали окремі показники білкового і вуглеводного обміну (розчинні білки, фосфору ДНК, фосфору РНК, Sh-групи, глікоген, АлАТ, АсАТ) за методиками, описаними у довіднику за редакцією В. В. Влізла (2012) [10]. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакету програм Statistica 7 (StatSoft, США).

Таблиця 1

Схема стимуляції статевої охоти і багатоплідності у овець в анестральний період

Назва заходу	Термін проведення	Групи тварин		
		контрольна	I дослідна	II дослідна
Дегельмінтизація	1-а доба	Альбендазол – 3 г		
Вітамінізація	1-а доба	Інсолвіт – 5 мл		
Вкладання вагінальних губок + вітамінізація	7-а доба	Інсолвіт – 5 мл		
Виймання вагінальних губок + внутрішньом'язове введення ГСЖК	20-а доба	ГСЖК – 500 ІО	ГСЖК – 400 ІО у складі ліпосомальної емульсії	ГСЖК – 300 ІО у складі ліпосомальної емульсії
Початок статевої охоти	21-а доба			
Внутрішньом'язове введення сурфагону та лапароскопічне осіменіння	21-а доба	10 мкг 12-18 год. після введення ГСЖК		

Результати досліджень. Аналізуючи основні показники, за якими класифікували гістоморфологічний стан слизової оболонки рогів матки, нами встановлено, що кількість маткових залоз у полі зору мікроскопа у тварин першої і другої дослідних груп була вищою відповідно на 31,2 % та 21,9 %, ніж у контрольних овець. Одночасно в гістозрізах спостерігали збільшення висоти епітелію маткових залоз в овець дослідних груп порівняно з контролем, в першій групі на 25,5%, у другій — на 12,0 відсотків. Висота епітелію ендометрію рогів матки овець першої і другої дослідних груп перевищувала аналогічний показник у контрольних тварин відповідно на 35,4 і 16,4 %.

Важливі дані з вивчення стимулюючої дії гонадотропіну у складі ліпосомальної емульсії в комплексі з Гн–Рг на органи розмноження овець в анестральний період одержані за результатами проведених біохімічних досліджень (табл. 3).

Введення ГСЖК, у зменшеній дозі, в складі ліпосомальної емульсії викликає незначне зростання концентрації розчинних білків в яєчниках овець. В той же час додаткова ін'єкція гонадотропін–релізинг гормону підвищує вміст розчинних білків у першій і другій дослідних групах порівняно з контролем відповідно на 17,9 та 8,2 відсотка.

Така ж картина спостерігається і за вмістом фосфору нуклеїнових кислот. Різниця за вмістом ДНК між дослідними і контрольними групами становить 10,4 та 2,3 відсотка.

Таблиця 2

Гістоморфологічні показники слизової оболонки рогів матки овець УГКП, M±m, n=5

Показники	Групи тварин		
	контрольна	I дослідна	II дослідна
Кількість маткових залоз в полі зору мікроскопа, шт.	6,4±0,5	8,4±0,51*	7,80±0,73
Висота епітелію маткових залоз, мкм	2134,3±61,38	2677,8±52,43***	2389,5±30,87**
Висота покривного епітелію слизової оболонки рогів матки, мкм	2351,2±37,13	3183,5±28,06***	2736,7±32,80***

Примітка. У цій та наступній таблицях вірогідна різниця між показниками контрольної і дослідних груп: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ різниця між показниками контрольної та дослідних груп.

Таблиця 3.

Біохімічні показники яєчників вівцематок за стимуляції статеві охоти в анестральний період, M±m, n=5

Показники	Групи тварин		
	контрольна	I дослідна	II дослідна
Розчинні білки, г%	20,16±2,98	23,76±1,49	21,82±2,08
ДНК, мг % Р	20,69±1,92	22,84±1,5	21,16±1,39
РНК, мг % Р	67,16±2,16	82,48±3,48**	76,25±1,76**
SH-групи, мкг/г	1192,36±29,36	1525,42±45,13***	1378,63±29,73***
Глікоген, мг %	2112,4±45,42	2460,7±31,17***	2324,3±32,33**
АлАТ, мкмоль/г	83,15±3,01	98,73±2,86**	90,26±2,52*
АсАТ, мкмоль/г	2043,6±30,97	2488,7±33,16***	2286,5±30,20***

Вміст фосфору РНК в яєчниках вівцематок першої дослідної групи на 22,8 %, а другої дослідної групи – на 13,5 % більший, ніж у контрольних тварин. Більш виражені зміни виявлені за вмістом вільних сульфгідрильних груп в яєчниках піддослідних овець. Вміст вільних SH-груп в яєчниках вівцематок першої дослідної групи на 27,9 %, а другої — на 15,6 відсотка більший, ніж у контрольних овець.

Отримані дані свідчать про інтенсивність синтезу білків в яєчниках дослідних тварин за впливу стимулюючих препаратів. Це вказує на те, що у тканинах яєчників концентрація розчинних білків, фосфору нуклеїнових кислот та вільних сульфгідрильних груп вища у вівцематок дослідних груп.

Крім показників білкового обміну в яєчниках овець встановлено суттєву різницю за одним з показників вуглеводного обміну. Вміст глікогену в яєчниках вівцематок першої і другої дослідних груп відповідно на 16,5 % та 10,0 % більший, ніж у тварин контрольної групи.

У тканинах яєчників піддослідних тварин також спостерігали зростання активності амінотрансфераз (АлАТ і АсАТ) в овець обох дослідних груп. Так, активність АлАТ у яєчниках овець першої дослідної групи була вищою на 18,7 відсотка за аналогічний показник яєчників контрольних тварин. У другій дослідній групі теж відмічалось зростання активності АлАТ в яєчниках на 8,6

відсотка. Ще більш виражену різницю спостерігали за активністю АсАТ, яка у яєчниках овець першої дослідної групи була вищою відповідно на 21,8 %, а другої дослідної групи — на 11,9 % порівняно з контролем.

Подібні результати отримали і за біохімічного дослідження стінки матки піддослідних овець (табл. 4).

Таблиця 4

Біохімічні показники стінки матки овець за стимуляції статеві охоти в анестральний період, n=5

Показники	Групи тварин		
	контрольна	I дослідна	II дослідна
Розчинні білки, г%	20,46±1,48	21,12±1,67	20,78±1,77
ДНК, мг % Р	22,15±1,14	23,18±2,36	22,56±1,51
РНК, мг % Р	101,14±0,92	123,19±4,79***	117,35±2,21***
SH-групи, мкг/г	812,46±10,15	1021,84±29,15***	934,15±26,98***
Глікоген, мг %	2252,7±38,88	2495,8±48,75**	2396,3±28,61*
АлАТ, мкмоль/г	83,62±3,04	119,35±2,37***	102,73±1,51***
АсАТ, мкмоль/г	2136,8±42,21	2573,7±70,36***	2475,6±35,34***

За вмістом розчинних білків у стінці матки досліджуваних груп овець суттєвих розбіжностей не встановлено. Приблизну картину спостерігали і за вмістом фосфору ДНК у стінці матки, який був однаковий у контрольних і дослідних овець. Проте, вміст фосфору РНК у стінці матки дослідних і контрольної груп вже відрізнявся. Так, вміст фосфору РНК у стінці матки вівцематок першої дослідної групи був більшим на 21,8 %, ніж у тварин контрольної групи.

Аналогічно у стінці матки овець другої дослідної групи вміст фосфору РНК теж був більшим на 16,0 % порівняно з контрольними тваринами.

За вмістом вільних SH-груп більш характерні зміни спостерігали у тварин дослідних груп, де виявили збільшення даного показника у стінці матки овець першої групи на 25,8%, другої – на 15,0 відсотка порівняно з тваринами контрольної групи.

Значно вищий рівень глікогену у стінці матки піддослідних овець спостерігався за впливу ін'єкції ГСЖК в складі ліпосомальної емульсії у зменшеній дозі з комплексом аналога Гн-РГ. Вміст глікогену у стінці матки овець першої дослідної групи був на 10,8% більший, ніж у тварин контрольної групи. Аналогічно у стінці матки вівцематок другої дослідної групи вміст глікогену більший на 6,4 відсотка.

Введення ГСЖК з комплексом Гн-Рг суттєво підвищило активність амінотрансфераз. Так, активність АлАТ у стінці матки овець першої дослідної групи на 42,7 %, другої дослідної групи – на 22,9 % вища, ніж у тварин контрольної групи.

Дещо менше зростання активності АсАТ у стінці матки спостерігали у дослідних овець. Активність АсАТ у вівцематок першої дослідної групи була вищою на 20,4 %, другої на 15,9 відсотка, ніж в овець контрольної групи.

Висновки. Введення ГСЖК у складі ліпосомальної емульсії з комплексом гонадотропін-релізінг гормону (сурфагону) викликає посилення білкового та

вуглеводного обміну у тканинах яєчників і стінки матки, а саме: зростання вмісту розчинних білків на 8,2-17,9 %, сульфгідрильних груп — на 15-27,9 %, глікогену — на 6,4-16,5%, активності амінотрансфераз на 8,6-42,7 %.

Перспективи подальший досліджень. Результати гістоморфологічних та біохімічних досліджень статевих органів вівцематок в непарувальний період слугуватимуть основою для удосконалення методу стимуляції статевої охоти у анестральний період.

Література

1. Аузбаев С.А. Совершенствование методов воспроизводства овец / С.А. Аузбаев // Наука и образование.- 2010. - № 2 (19). - С. 72-74.
2. Mielniczuk M. Synchronizacja rui u owiec – możliwości i skuteczność / M. Mielniczuk, J. Udała, M. Witkowski, Z. Gajewski, H. Bostedt // *Życie Weterynaryjne.* — 2000. — Tom. 75(3). — P. 153–155.
3. Wierzchoś E. Specyfika regulacji rozrodu owiec i kóz. *Biologia Rozrodu Zwierząt. Fizjologiczna regulacja procesów rozrodczych samicy* / E. Wierzchoś, T. Schwarz, Pod redakcją prof., T. Krzymowskiego // Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. — 2007. — Tom 1. — P. 491–504.
4. Бонев Г. Вызов суперовуляции у овец старозагорской породы в анестральный сезон путем применения комбинированных гормональных схем / Г. Бонев // *Живот. науки.* — 1997. — С. 235–238.
5. Коврижных И. Л. Влияние прогестагенов на репродуктивные функции овцематок асканийской тонкорунной породы / И. Л. Коврижных, Т. Ф. Молдова, М. А. Клеопина // *Овцеводство. Респ. меж вед. тем. сб.* — К.: Урожай. — 1981. — Вып.. 20. — С. 67–70.
6. Lassoued N. Effect of progesterone on ovulation length and duration of the ovarian cycle induced by the male effect in the Barbarine ewe and the local Tunisian goat / N. Lassoued, G. Khaldi, Y. Cogne, P. Chemineau, J. Thimonier // *Reprod. Nutr. Dev.* — 1995. — P. 26–33.
7. Чокан Т. В. Отримання помісних овець української гірськокарпатської породи з використанням біотехнологічних методів відтворення / Т. В. Чокан, М. М. Шаран, М. Муравські // *Біологія тварин.* — т. 13, № 1–2. — 2011. — С. 391–396.
8. Шаран М. М. Підвищення багатоплідності овець різних генотипів в анестральний період з використанням біологічно активних речовин / М. М. Шаран, З. С. Топурко, М. Муравські, К. Коваржова // *НТБ ІБТ та ДНДКІ вет препаратів та кормових добавок.* — 2006. — В7, № 1–2. — С.244-248.
9. Гевкан І. І. Вплив препарату "Арговіт" на обмінні процеси телиць з гіпофункцією яєчників / І. І. Гевкан, Ю. І. Сливчук // *Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок.* — 2010. — Вип. 11, № 2/3. — С. 240-244.
10. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині [Текст] : довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; за ред В. В. Влізла.— Львів: СПОЛОМ, 2012.— 764с.

Рецензент – д.вет.н., професор Стефанік В.Ю.