

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН**

На правах рукопису

**АКИМИШИН МАРІАННА МИКОЛАЇВНА**

УДК 636.03:577.1

**КОНЦЕНТРАЦІЯ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ І АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ У  
ТКАНИНАХ РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ЗА СТАТЕВОГО ЦИКЛУ  
ТА ГІПОФУНКЦІЇ ЯЄЧНИКІВ КОРІВ**

03.00.04 – біохімія

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата ветеринарних наук

Науковий керівник  
**ОСТАПІВ ДМИТРО ДМИТРОВИЧ**  
доктор сільськогосподарських наук

ЛЬВІВ — 2018

## АНОТАЦІЯ

**Акимішин М. М. Концентрація статевих гормонів і активність ензимів у тканинах репродуктивних органів за статевого циклу та гіпофункції яєчників корів. — Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 03.00.04. – біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2018.

Дисертація присвячена визначенню концентрацій гонадотропних і стероїдних гормонів, активності та вмісту ізозимів лактат- (ЛДГ) і малатдегідрогеназ (МДГ), аспаратамінотрансферази (АСТ) й ензимів антиоксидантного захисту (ЕАЗ), розчинних протеїнів тканин репродуктивних органів корів за статевого циклу і гіпофункції яєчника, зв'язків між біохімічними показниками, теоретичному обґрунтуванні й практичному використанню антральної рідини фолікулів як сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок.

Уперше, на основі комплексних досліджень, встановлені особливості концентрацій гонадотропних та стероїдних гормонів, енергетичних і окисних процесів в тканинах репродуктивних органів корів за статевого циклу та гіпофункції яєчника. Зі зміною фізіологічного стану яєчника (статевого циклу): «раннє жовте тіло» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» у плазмі крові підвищуються концентрації гормонів: фолікулостимулюючого (ФСГ) та тестостерону (Т) і знижується - прогестерону (П), а максимальні величини значень лютеїнізуючого гормону (ЛГ) й естрадіолу (Е2) виявляються, відповідно, за «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту». За гіпофункції яєчника корів величинн значень ФСГ, ЛГ та прогестерону – низькі.

На противагу плазмі крові, у тканині статевої залози не виявлено залежності від фізіологічного стану яєчника концентрації ФСГ, ЛГ – висока за

«фолікулярного росту», Т і Е2 – максимальні, відповідно, за «раннього» та «пізнього жовтого тіла», а П – проявляє тенденцію до зростання: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст». В тканині яєчника корів за гіпофункції - низькі концентрації Е2 і Т.

В ендометрії концентрація ЛГ висока за стану статевої залози «пізнього жовтого тіла», Т – знижується: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст», Е2 і П – вищі, відповідно, за «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту», а за гіпофункції яєчника: ФСГ – максимальна, П – понижена, а Т і Е2 – не відрізняються від величин фізіологічних значень.

В антральній рідині концентрації гормонів залежать як від розміру фолікулів, з яких вона вилучена, так і фізіологічного стану яєчника: ФСГ висока у фолікулі до 7 мм (незалежно від фізіологічного стану); ЛГ – до 7 мм підвищується: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст», а Т, Е2, і П, відповідно, зростають. В антральній рідині фолікулів яєчника за гіпофункції концентрації всіх досліджених гормонів понижені.

Зміни фізіологічного стану яєчників: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» характеризується підвищеною активністю ЛДГ в тканинах статевої залози і ендометрію. При цьому, в ендометрії за «фолікулярного росту», порівняно з іншими станами яєчника, знижується вміст ізозимів ЛДГ4 та ЛДГ5 ( $p < 0,05-0,001$ ). Активність АСТ підвищена в тканинах яєчника і ендометрію за «пізнього жовтого тіла», а за «фолікулярного росту» вміст ізозиму АСТ1 низький, а АСТ2 – високий і проявляється максимальна активність МДГ. За гіпофункції яєчника у тканинах репродуктивних органів активність і вміст ізозимів ЛДГ на рівні величин значень за фізіологічних станів та низькі АСТ і МДГ, з пониженим вмістом ізозиму МДГ2 і вищим – МДГ3.

У тканині яєчника зі зміною стану: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» знижується активність супероксиддисмутази (СОД;  $p < 0,001$ ), а каталази (КАТ) – найменша ( $p < 0,01$ ) за «пізнього жовтого

тіла». В ендометрії не встановлено вірогідних різниць між активністю ЕАЗ залежно від фізіологічного стану яєчника, як і вмісту ізозимів СОД та КАТ в обох тканинах. Також не виявлено відмінностей активності глутатіонпероксидази (ГПО) в тканинах яєчника і ендометрію за фізіологічних станів статевої залози. Однак, в тканині статевої залози за «раннього жовтого тіла», «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» встановлено зниження ізозиму ГПО1 ( $p < 0,01$ ) і підвищення ГПО2, ГПО4 та ГПО5, відповідно. У ендометрії вірогідно вищий вміст ГПО1, ГПО2 і ГПО4 за стану яєчника «раннього жовтого тіла», а ГПО3 – за «фолікулярного росту».

За гіпофункції, порівняно фізіологічними станами, в тканині яєчника найнижча активність ЕАЗ і понижений вміст ізозимів СОД2, ГПО1, ГПО4 та ГПО5 ( $p < 0,01$ ), підвищений СОД3, ЕСОД та ГПО3 ( $p < 0,05-0,01$ ), а в ендометрії понижена активність СОД і вміст ізозимів СОД2, ГПО1 та КАТ1 й високі ГПО і КАТ та вміст СОД3, МСОД, ЕСОД, ГПО5 і КАТ2.

У антральній рідині активність ЛДГ низька з великих фолікулів залоз «фолікулярного росту» та «раннього жовтого тіла» і, навпаки, висока – з «пізнього жовтого тіла». У малих фолікулах яєчника «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту» висока активність АСТ і МДГ, а вміст ізозимів АСТ1 і МДГ2 та МДГ3, навпаки, вищий у великих фолікулах. Для антральної рідини фолікулів яєчника за гіпофункції характерні низька активність ЛДГ і найвищий вміст ЛДГ5 ( $p < 0,05-0,01$ ) та підвищені АСТ і вміст АСТ2, а активність МДГ знаходиться на рівні величин з фізіологічних станів яєчника.

Активність ЕАЗ в антральній рідині залежить від розміру фолікула та фізіологічного стану яєчника. Висока активність СОД характерна для великих фолікулів яєчника «фолікулярного росту», малих і великих фолікулів «пізнього» та «раннього жовтого тіла». При цьому, зі збільшенням розміру фолікулів статевих залоз «фолікулярного росту» та «раннього жовтого тіла» пропорційно підвищується активність КАТ, а з фолікулів 4–7 мм «пізнього жовтого тіла», навпаки, знижується. За відсутності різниць між вмістом

ізозимів СОД і КАТ антральної рідини з фолікулів різного діаметру одного і того ж фізіологічного стану статевої залози, існує вірогідна різниця вмісту ізозимів СОД в фолікулах однакового діаметру, але з різних за фізіологічним станом яєчників. Активність ГПО зі збільшенням розміру фолікулів підвищується за «раннього» і «пізнього жовтого тіла». Для антральної рідини фолікулів яєчника за гіпофункції характерні підвищені активності ЕАЗ, вищий вміст мітохондріальної СОД (МСОД) і ГПО5 та нижчий – ГПО1 і ГПО2.

Дія гормонів та активування ензимів проявляється підвищеним вмістом розчинного протеїну в тканинах за стану яєчника «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту». При цьому, зі зміною фізіологічного стану: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» у тканині яєчників знижується вміст преальбумінів і  $\gamma$ -глобулінів та зростає – альбуміну і гаптоглобінів (Нр;  $p < 0,05-0,01$ ), а в ендометрії за «пізнього жовтого тіла» збільшується вміст преальбумінів,  $\alpha$ -глобулінів і Нр. У тканині залози за гіпофункції вміст загального протеїну не відрізняється від фізіологічних величин, однак вищий  $\alpha_3$ -глобулінів ( $p < 0,05$ ), а в ендометрії – підвищений вміст загального протеїну і, в тому числі, альбуміну й  $\alpha$ -глобулінів ( $p < 0,05$ ) та понижений – преальбумінів, Нр ( $p < 0,05$ ) і  $\gamma$ -глобулінів.

В антральній рідині вміст загального протеїну найвищий з фолікулів яєчників «раннього жовтого тіла» з переважанням в його складі преальбумінів та  $\gamma$ -глобулінів, за «фолікулярного росту» – зі збільшенням розміру фолікулів тенденційно знижується вміст загального протеїну за збереженого відсоткового вмісту його фракцій. За патології яєчника встановлено найнижчий вміст загального протеїну ( $p < 0,05-0,01$ ) та відсутня різниця вмісту фракцій, порівняно з аналогами за фізіологічних станів.

Концентрація гонадотропінів в плазмі крові характеризує інтенсивність синтезу стероїдних гормонів, окиснювальних та відновних процесів у тканинах репродуктивних органів корів. Кореляційним аналізом встановлено, що зі збільшенням ФСГ в плазмі крові у тканинах: яєчника – знижуються

концентрації Е2 і Т та підвищується – П; ендометрію – знижується Е2, а максимум П ( $64,6 \pm 12,24$  нг/мл) виявляється за 0,5–1,0 МО/л ФСГ. При цьому, за зростання ФСГ в плазмі крові у тканині яєчника підвищується активність ЛДГ ( $\eta = 0,495$ ) та знижуються АСТ ( $\eta = 0,468$ ), СОД і КАТ (відповідно,  $\eta = 0,331$  і  $0,794$ ), а у ендометрії – максимальні величини АСТ і ГПО проявляються, відповідно, за більше 1,0 та менше 0,5 МО/л ФСГ (відповідно,  $\eta = 0,322$  і  $0,353$ ).

За підвищення ЛГ в плазмі крові збільшуються в тканинах концентрації: яєчника – Т ( $\eta = 0,585$ ), П ( $\eta = 0,478$ ) та Е2 ( $\eta = 0,540$ ); ендометрію – П та Е2 (відповідно,  $\eta = 0,435$  і  $0,561$ ) і не змінюється Т ( $\eta = 0,282$ ). За зростання ЛГ в плазмі крові у тканинах: яєчника – підвищуються активності АСТ, ГПО і КАТ (відповідно,  $\eta = 0,332$ ,  $0,368$  і  $0,580$ ), а за 1,2–2,4 МО/л гормону – максимальна активність ЛДГ ( $\eta = 0,483$ ) і низькі – МДГ та СОД (відповідно,  $\eta = 0,400$  і  $0,546$ ); ендометрію – підвищується активність ГПО ( $\eta = 0,574$ ) і за 1,2–2,4 МО/л гормону знижується КАТ ( $\eta = 0,435$ ).

Концентрації стероїдних гормонів в плазмі крові характеризують інтенсивність біохімічних процесів в тканинах репродуктивних органах корів. Підвищення концентрації Т в плазмі крові корів проявляється в тканині статевої залози активуванням МДГ і ГПО (відповідно,  $\eta = 0,530$  і  $0,300$ ) та зниженням СОД ( $\eta = 0,423$ ), а в ендометрії - підвищенням активності ЛДГ і АСТ (відповідно,  $\eta = 0,401$  і  $0,471$ ) й зниженням МДГ і СОД (відповідно,  $\eta = 0,456$  і  $0,595$ ). Зростання концентрації П в плазмі крові характеризує в тканині яєчника підвищення процесів гліколізу (ЛДГ;  $\eta = 0,541$ ) і гальмування активності ГПО ( $\eta = 0,342$ ), а в ендометрії – активування МДГ ( $\eta = 0,415$ ) і АСТ ( $\eta = 0,465$ ) та зниження КАТ ( $\eta = 0,411$ ). Підвищення концентрації Е2 в плазмі крові в тканині яєчника проявляє негативну кореляцію з активністю КАТ ( $\eta = 0,426$ ), а в ендометрії за 45,0–55,0 пг/мл гормону виявляються низькі МДГ, АСТ і ГПО (відповідно,  $\eta = 0,476$ ,  $0,487$  і  $0,311$ ).

Сила впливу концентрацій гормонів у тканинах репродуктивних органів на активність ензимів відрізняється, від встановлених у плазмі крові. У тканині яєчника підвищення концентрацій ФСГ і ЛГ зі слабкою силою корелює з активністю ензимів трансамінування, антиоксидантного захисту та ЛДГ (не перевищує  $\eta = 0,289$ ), а в ендометрії, відповідно, знижуються МДГ, АСТ і СОД ( $\eta = 0,821, 0,376$  і  $0,404$ ) і зростають ЛДГ та ГПО ( $\eta = 0,432$  і  $0,393$ ).

За збільшення концентрації Т в тканині яєчника зростає активність ЕАЗ ( $\eta = 0,313-0,525$ ) та знижуються АСТ і МДГ ( $\eta = 0,327$  і  $0,422$ ), а в ендометрії – підвищується активність ЛДГ ( $\eta = 0,482$ ) й знижуються СОД і КАТ ( $\eta = 0,525$  і  $0,330$ ) та за  $30,0-45,0$  нг/мл гормону проявляється мінімальна МДГ ( $0,5 \pm 0,23$  нМ/хв $\times$ мг протеїну;  $\eta = 0,538$ ).

З підвищенням концентрації П в тканинах: яєчника – зростає активність МДГ ( $\eta = 0,331$ ), а за  $10-20$  нг/мл гормону найнижча активність ЛДГ ( $\eta = 0,311$ ), у ендометрії - до  $20,0$  нг/мл гормону понижені МДГ, АСТ і СОД, а за більше  $20$  нг/мл – зростають ( $p < 0,05-0,01$ ;  $\eta = 0,373, 0,341$  і  $0,494$ ).

За збільшення концентрації Е2 в тканині яєчника зростають ( $p < 0,05-0,001$ ) активності СОД і КАТ ( $\eta = 0,315$  і  $0,361$ ), а в ендометрії існує оптимум ( $5,0-10,0$  пг/мл) гормону за якого проявляється максимальна активність ЛДГ ( $\eta = 0,366$ ) та низькі АСТ і КАТ ( $\eta = 0,449$  і  $0,677$ ).

Доведено, що клітини антральної рідини (теки, гранульози, кумулюсу) *in vitro* синтезують стероїдні гормони. Впродовж культивування в культурі клітин концентрація Т поступово знижується і за більше 16 діб коливається в межах  $0,2-0,8$  нг/мл. Синтез Е2 на 14–16 доби в культурі клітин досягає майже в два рази вищої концентрації, ніж у фолікулярній рідині, й утримується на рівні впродовж 30–32 діб культивування, а концентрація П знижується до 14–32 доби. Апробуванням дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції на самках мишей доведено, що за введення  $0,1$  мл середовища з мінімальною дозою стероїдних гормонів (за естрадіолом  $70$  пг/мл) підвищується маса матки та яєчників більш ніж у 2 рази, порівняно з

контролем, за рахунок збільшення товщини стінки міометрію і ендометрію та величини маткових залоз. Вказані зміни репродуктивних органів проявляються за підвищених концентрацій ФСГ і ЛГ, Т і П в плазмі крові самиць. Ефективність дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок підтверджена відновленням репродуктивної функції у 60,0 % корів за двохразового внутрішньом'язового введення у дозі 20 мл/гол.

**Ключові слова:** гонадотропні та стероїдні гормони, лактат- і малатдегідрогенази, аспартатамінотрансфераза, ензими антиоксидантного захисту, протеїни, ізозими, репродуктивні органи, гіпофункція яєчника, корови.

## ANNOTATION

**Akymyshyn M. M. Concentration of sex hormones and activity of enzymes in tissues of reproductive organs at the reproductive cycle and hypofunction of cow ovaries. – Manuscript.**

The dissertation for candidate degree of veterinary sciences by speciality 03.00.04 – Biochemistry. – The Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2018.

The dissertation is devoted to the determination of concentrations of gonadotropins and steroid hormones, activity and content of isozymes of lactate (LDH) and malate dehydrogenases (MDH), aspartate aminotransferase (AST) and antioxidant enzymes, soluble proteins of tissues of cow reproductive organs during the sexual cycle and ovarian hypofunction, connections between biochemical indicators, theoretical substantiation and practical use of follicular fluid as raw materials for the creation of medication drug to stimulate the reproductive function of females.

For the first time, on the basis of complex studies, features of concentrations of gonadotropins and steroid hormones, energy and oxidative processes in tissues of



reproductive organs of cows during the sexual cycle and ovarian hypofunction have been established.

With changes in the physiological state of the ovary (sexual cycle): "early yellow body" → "late yellow body" → "follicular growth" the concentration of hormones: both follicle stimulating (FSH) and testosterone (T) increase in the blood plasma, and progesterone (P) concentration decreases. The maximum values of the luteinizing hormone (LH) and estradiol (E2) are detected, respectively, for the "late yellow body" and "follicular growth". The values of FSH, LH and P are low at the ovarian hypofunction of cows. There was no dependence on the physiological state of the ovary and the FSH concentration in the tissue of the sex gland in contrast to the plasma. LH was high for "follicular growth". T and E2 were the maximum, respectively, for the "early" and "late yellow body", and P – tends to grow: "early" → "late yellow body" → "follicular growth".

In the endometrium, the concentration of LH is high for the sex gland of the "late yellow body," T decreases: "early" → "late yellow body" → "follicular growth", E2 and P – higher, respectively, for "late yellow body" and "follicular growth", at ovarian hypofunction: FSH – maximum, P – lowered, and T and E2 – do not differ from the physiological values.

In follicular fluid, the concentration of hormones depends on both the size of the follicles from which it is removed, and the physiological state of the ovary. FSH concentration is high when the follicle size is up to 7 mm (regardless of physiological state). LH also increases when the follicle is up to 7 mm: "early" → "late yellow body" → "follicular growth", and T, E2, and P, respectively, increase. The concentrations of all the examined hormones are lowered in the follicular fluid at hypofunction.

Changes in the physiological state of the ovaries: "early" → "late yellow body" → "follicular growth" are characterized by increased activity of LDH in the tissues of the sex gland and endometrium. At the same time, in the endometrium for "follicular growth", compared with other ovarian states, the content of isozymes LDH4 and

LDH5 ( $p < 0.05$ – $0.001$ ) is reduced. AST activity increased in ovarian and endometrial tissues during "late yellow body". For "follicular growth", the content of isozyme AST1 is low, and AST2 is high and the maximum activity of MDH is manifested. At the ovarian hypofunction in tissues of reproductive organs both the activity and content of isozymes of LDH are in physiological norm, and ASTs and MDHs are low, with a lower content of isozyme MDH2 and higher of MDH3.

In the ovarian tissue with a change in row: "early" → "late yellow body" → "follicular growth", the activity of superoxide dismutase decreases (SOD;  $p < 0.001$ ), and catalase (CAT) is the smallest ( $p < 0.01$ ) for "late yellow body ". In the endometrium, no significant differences were found between the activity of antioxidant enzymes and the depending on the physiological state of the ovary, as well as the content of isozymes of SOD and CAT in both tissues. Also, no differences in the activity of glutathione peroxidase (GPO) in ovarian and endometrial tissues were detected under physiological conditions of sex gland. However, the reduction of isozyme GPO1 ( $p < 0.01$ ) and an increase of GPO2, GPO4 and GPO5, respectively, were established in the tissue of sex gland for the "early yellow body", "late yellow body" and "follicular growth". In the endometrium, GPO1, GPO2 and GPO4 are significantly higher in the condition of the ovary of the "early yellow body", and GPO3 – in "follicular growth". At hypofunction, in comparatively to physiological conditions, there were in the ovarian tissue the lowest activity of antioxidant enzymes and the decreased content of isozymes SOD2, GPO1, GPO4 and GPO5 ( $p < 0.01$ ), but SOD3, ESOD and GPO3 were elevated ( $p < 0.05$ – $0.01$ ). The activity of SOD and the content of isozymes SOD2, GPO1 and CAT1 are reduced, GPO, CAT, the content of SOD3, MSOD, ESOD, GPO5 and CAT2 are high in the endometrium.

In follicular fluid, LDH activity is low from large follicles of the "follicular growth" and "early yellow body" glands and, conversely, high from the "late yellow body". The activities of AST and MDH are high in the small follicles of the ovary of the "late yellow body" and "follicular growth", and the content of isozymes AST1 and MDH2 and MDH3, on the contrary, is higher in large follicles. For follicular

fluid of the ovarian follicles at hypofunction, low LDH activity and the highest content of LDH5 ( $p < 0.05-0.01$ ) and elevated AST and AST2 content are characteristic, and the activity of MDH is at the level of values in the physiological states of the ovary.

The activity of antioxidant enzymes in follicular fluid depends on the size of the follicle and the physiological state of the ovary. The high activity of SOD is characteristic of the large "follicular growth" follicles, small and large follicles of the "late" and "early yellow bodies". At the same time, with the increase in the size of the follicles of the sex glands of "follicular growth" and "early yellow body", the activity of the CAT increases proportionally, and from the follicles 4–7 mm of the "late yellow body," on the contrary, decreases. In the absence of differences between the content of isozymes of SOD and CAT follicular fluid from follicles of different diameters of the same physiological state of the sex gland, there is a significant difference in the content of SOD isozymes in follicles of the same diameter, but different from the physiological state of the ovaries. The activity of GPO with increasing follicle size rises for "early" and "late yellow body". Follicular fluid of the ovarian follicles at hypofunction are characterized by increased activity of antioxidant enzymes, higher content of mitochondrial SOD (MSOD) and GPO5, and lower – GPO1 and GPO2.

The action of hormones and activation of enzymes are manifested by the high content of soluble protein in the tissues for the condition of the ovary of both the "early yellow body" and "follicular growth". At the same time, with a change in the physiological state: "early" → "late yellow body" → "follicular growth" in the ovarian tissue, the content of prealbumin and  $\gamma$ -globulins decreases, and the albumin and haptoglobins (Hp;  $p < 0.05-0.01$ ) increase. A content of prealbumin,  $\alpha$ -globulins and Hp increases in the endometrium of the "late yellow body". In the tissue of the gland at hypofunction, a content of total protein does not differ from physiological values, but there is higher level of  $\alpha_3$ -globulins ( $p < 0.05$ ). In the

endometrium, total protein content is elevated, including albumin and  $\alpha$ -globulins ( $p < 0.05$ ), but levels of prealbumin, Hp ( $p < 0.05$ ) and  $\gamma$ -globulins are decreased.

In the follicular fluid, the total protein content is the highest for the "early yellow body" ovarian follicles, with the prevalence of prealbumins and  $\gamma$ -globulins in it. At "follicular growth" the size of the follicles increases and the total protein content decreases, tendently, with preserved percentage of its fractions. At the pathology of the ovary, the lowest content of total protein ( $p < 0.05$ – $0.01$ ) is established and there is no difference in the content of fractions when compared to analogues under physiological conditions.

Concentration of gonadotropins in blood plasma characterizes the intensity of steroid hormone synthesis, oxidative and reducing processes in the tissues of reproductive organs of cows. Correlation analysis has established that with an increase of FSH in blood plasma in tissues: the ovary – the concentration of E2 and T decreases, but P increases; endometrium – E2 decreases, and the maximum P ( $64.6 \pm 12.24$  ng/ml) is detected at 0.5–1.0 IU/L of FSH. At the same time, the growth of FSH in the blood plasma in the ovarian tissue increases the activity of LDH ( $\eta = 0.495$ ) and decreases AST ( $\eta = 0.468$ ), SOD and CAT (respectively,  $\eta = 0.331$  and 0.794), and in the endometrium – the maximum values of AST and GPO manifests itself under more than 1.0 and less than 0.5 IU/L of FSH (respectively,  $\eta = 0.322$  and 0.353).

At the increase of LH in blood plasma hormone concentration is enlarged in tissues: the ovary – T ( $\eta = 0.585$ ), P ( $\eta = 0.478$ ) and E2 ( $\eta = 0.540$ ); the endometrium – P and E2 (respectively,  $\eta = 0.435$  and 0.561), and does not change T ( $\eta = 0.282$ ). At the increase of LH in blood plasma in tissues: the ovary - the activities of AST, HPO and CAT enlarge (respectively,  $\eta = 0.332$ , 0.368 and 0.580), and 1.2-2.4 IU/l of the hormone causes the maximum activity of LDH ( $\eta = 0.483$ ) and low - MDH and SOD (respectively,  $\eta = 0.400$  and 0.546); endometrium – the activity of GPO increases ( $\eta = 0.574$ ) and for 1.2–2.4 IU/l of the hormone CAT decreases ( $\eta = 0.435$ ).

Concentrations of steroid hormones in blood plasma characterize the intensity of biochemical processes in the tissues of reproductive organs of cows. An increase in the concentration of T in the plasma of blood of cows leads to activating MDH and HPA (respectively,  $\eta = 0.530$  and  $0.300$ ) and a decrease in SOD ( $\eta = 0.43$ ) in the tissue of the sex gland, and in the endometrium - an increase of the activity of both LDH and AST (respectively,  $\eta = 0.401$  and  $0.471$ ) and the decrease of both MDH and SOD (respectively,  $\eta = 0.456$  and  $0.595$ ). An increase of P concentration in the blood plasma characterizes the intensification of the glycolysis (LDH;  $\eta = 0.541$ ) and inhibition of GPO activity ( $\eta = 0.342$ ) in the ovarian tissue, and in the endometrium both MDH ( $\eta = 0.415$ ) and AST activation is established ( $\eta = 0.465$ ) and CAT decreases ( $\eta = 0.411$ ). Increasing of the E2 concentration in the blood plasma shows a negative correlation with the activity of CAT ( $\eta = 0.426$ ) in the ovarian tissue. There are detected low MDH, AST and GPO (respectively,  $\eta = 0.476$ ,  $0.478$  and  $0.311$ ) in the endometrium, when the hormone concentration was 45.0-55.0 pg/ml.

The strength of the effects of hormone concentrations in the tissues of reproductive organs on the enzymes activity is different from the data were set in the blood plasma. In the ovarian tissue, the increase of the concentrations of both FSH and LH weakly correlates with the activity of transaminases, antioxidant enzymes and LDH (does not exceed  $\eta = 0.289$ ), and in the endometrium MDH, AST and SOD decrease respectively ( $\eta = 0.821$ ,  $0.376$  and  $0.404$ ), but LDH and GPO activities grow ( $\eta = 0.432$  and  $0.393$ ). In the ovarian tissue the increasing of T concentration causes higher activity of antioxidant enzymes ( $\eta = 0.313$ – $0.525$ ) and lower AST and MDH activities ( $\eta = 0.327$  and  $0.422$ ), and in the endometrium – the activity of LDH increases ( $\eta = 0.482$ ), the SOD and CAT decreases ( $\eta = 0.525$  and  $0.330$ ). This hormone (in the concentration 30.0-45.0 ng/ml) causes the minimum of MDH activity ( $0.5 \pm 0.23$  nM/min  $\times$  mg of protein,  $\eta = 0.538$ ).

With an increase of P concentration in the ovary tissues MDH activity ( $\eta = 0.331$ ) enlarges. The lowest activity of LDH ( $\eta = 0.311$ ) is observed in this tissue, if the hormone concentration is 10–20 ng/ml. In the endometrium, if the

hormone concentration is up to 20.0 ng/ml, activities of MDH, AST and SOD decrease. If hormone concentration is elevated more than 20 ng/ml, these activities increase ( $p < 0.05$ – $0.01$ ;  $\eta = 0.373$ ;  $0.341$  and  $0.494$ ). The increasing of E2 concentration leads to enlarge of both SOD and CAT activities ( $\eta = 0.315$  and  $0.361$ ) ( $p < 0.05$ – $0.001$ ) in the ovarian tissue. In the endometrium there is an optimum (5.0–10.0 pg / ml) of the hormone, which accompany maximum LDH ( $\eta = 0.366$ ) and low AST and CAT ( $\eta = 0.449$  and  $0.677$ ) activities.

It has been proven *in vitro* that cells of follicular fluid (theca, granulosa, cumulus) synthesize steroid hormones. In the culture of cells, during cultivation for more than 16 days, the concentration of T gradually decreases and fluctuates in the range of 0.2–0.8 ng/ml. On 14–16 days in cell culture the synthesis of E2 reaches almost twice the higher concentration than in the follicular fluid and is maintained at the level during 30–32 days of cultivation. P concentration decreases to 14–32 days. The approbation of influence of raw materials for the drug for stimulation of reproductive function in females has proven that introduction of 0.1 ml of medium with minimum steroid hormones (by E 70 pg/ml) increased the mass of uterus and ovary more than 2 times, when it was compared to the control. This is due to the increasing in the thickness of the myometrium wall, the endometrium and the size of the uterus glands. The indicated changes in the reproductive organs are manifested, if concentrations of FSH and LH, T and P are elevated in the blood plasma of females. The effectiveness of the raw material for the preparation of the drug to stimulate reproductive function of females is confirmed by the restoration of the reproductive function in 60.0 % of cows after two-time intramuscular administration in a dose 20 ml/head.

**Key words:** gonadotropins and steroid hormones, lactate and malate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, antioxidant proteins, proteins, isozymes, reproductive organs, hypofunction of the ovary, cows.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ**

1. Остапів Д. Д. Білки сироватки крові корів та органів розмноження корів / Д. Д. Остапів, М. М. Акимішин, В. В. Каплінський, Р. Г. Сачко // Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького. — 2008. — Т. 10. — № 3(38). — Ч. 2. — С. 9–14.
2. Акимішин М. М. Зв'язок між фізіологічним станом яєчників та концентрацією естрадіолу у репродуктивних органах корів / М. М. Акимішин, Д. Д. Остапів, Р. Г. Сачко, О. С. Грабовська, Ю. В. Мартин // Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького. — 2009. — Т. 11. — № 2(41). — Ч. 1. — С. 9–14.
3. Акимішин М. М. Мікроструктура матки та інтенсивність споживання кисню мітохондріями ендометрію корів / М. Акимішин, Д. Остапів, Ю. Мартин, Р. Сачко, О. Грабовська, А. Пилипець // Біологія тварин. — 2010. — Т. 12. — № 1. — С. 284–289.
4. Мартин Ю. В. Гістоморфологічні особливості та вміст класів ліпідів у яєчниках корів різного фізіологічного стану / Ю. Мартин, А. Пилипець, Р. Сачко, І. Яремчук, М. Акимішин, Н. Кузьміна. // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Збірник наукових праць. — Харків, 2011. — Вип. 23(Ч. 2). — Т. 1. — С. 57–61.
5. Мартин Ю. В. Мікроструктура яєчників великої рогатої худоби залежно від віку. / Ю. Мартин, Д. Остапів, Р. Сачко, А. Пилипець, М. Акимішин // Біологія тварин. — 2012. — Т. 14. — № 1–2. — С. 530–534.
6. Акимішин М. М. Активність ензимів антиоксидантного захисту в репродуктивних органах корів за норми та патології / М. Акимішин, Н. Кузьміна, Р. Сачко, Д. Остапів // Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького. — 2014. — Т. 16, № 2, Ч. 2. — С. 3–8.
7. Мартин Ю. В. Гістоморфологічна характеристика та концентрація гормонів тканини яєчника корів і телиць залежно від фізіологічного стану / Ю. Мартин, М. Акимішин, Р. Сачко, В. Віщур, Д. Остапів // НТБ Інституту біології тварин

та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — 2014. — Вип. 15. — № 2,3. — С. 190–196.

8. Акимішин М. М. Особливості дихальної активності мітохондрій яєчників корів / М. М. Акимішин Д. Д. Остапів, Р. Г. Сачко // НТБ Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — 2014. — Вип. 15. — № 1. — С. 175–179.

9. Акимішин М. М. Активність і вміст ізозимів малатдегідрогенази у тканинах яєчників і матки корів впродовж статевого циклу / М. М. Акимішин // Біологія тварин. — 2017. — Т. 19. — № 2 — С. 9–15.

10. Акимішин М. М. Активність та вміст ізозимів аспартатамінотрансферази в репродуктивних органах корів / М. Акимішин, Н. Кузьміна, Д. Остапів // Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького. — 2017. — Т. 19(№ 77). — С. 27–31.

11. Акимішин М. М. Активність і вміст ізозимів супероксиддисмутази в тканинах репродуктивних органів корів / М. Акимішин, Н. Кузьміна, Д. Остапів // НТБ ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок та Інституту біології тварин. — 2017. — Вип. 18. — № 1. — С. 11–19.

12. Пат. 59121Україна на корисну модель UA, МПК (2011/01): А61D7/00. Спосіб отримання естрогенів *in vitro* / Остапів Д., Сачко Р., Мартин Ю., Акимішин М. та ін.; заявник і патентовласник Інститут біології тварин. — № u 2010 10103 ; заявл. 16.08.2010 ; опубл. 10.05.2011 , Бюл. № 9. — 4 с.

13. Akymyshyn M. M. Concentration of estradiol in reproductive organs of cows depending on ovaries physiological state / M. Akymyshyn, D. Ostapiv, R. Simonov, V. Vlizlo // Folia Veterinaria. — Kosice, 2009. — V. 53(№1). — P. 115–117.

14. Vlizlo V. V. The lipids content in cows ovaries of at different physiological state. / V. Vlizlo, M. Akymyshyn, D. Ostapiv, A. Pylypets, O. Grabovs'ka, Y. Martyn, R. Sachko // XXVI World Buiatrics Congress, Santiago, Chile. — 2010. — <http://www.kenes.com/buiatrics/cd/pdf/1138.pdf>.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	19
ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	25
1.1. Гонадотропні і стероїдні гормони та їх роль у відтворній функції самок	25
1.2. Ангіогенні чинники і транспорт гормонів в організмі	38
1.3. Активність окремих ензимів енергетичного обміну і антиоксидантного захисту в репродуктивних органах та їх роль у відтворній функції самок	41
1.4. Вибір напрямку досліджень	51
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	53
2.1. Відбір матеріалу та схема проведення досліджень	53
2.2. Приготування гомогенатів тканин репродуктивних органів корів та дослідження біохімічних показників	57
2.2.1. Визначення вмісту загального протеїну та його спектру	57
2.2.2. Дослідження активності та вмісту ізозимів ензимів в крові, репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів	58
2.3. Визначення концентрації статевих гормонів у біологічних рідинах (плазмі крові, антральній рідині фолікулів яєчників корів і середовищі культивування клітин) та гомогенатах репродуктивних органів	63
2.4. Дослідження гормон-продукуючої здатності клітин антральної рідини фолікулів для отримання і апробування ефективності дії сировини для прототипу препарату зі стимулювання відтворної функції самиць	64
2.5. Статистичний аналіз отриманих результатів	64
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	68
3.1. Концентрація гормонів в плазмі крові та репродуктивних органах корів	68
3.2. Активність та вміст ізозимів ензимів в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів	75

3.2.1. Активність і вміст ізозимів ензимів антиоксидантного захисту в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів	75
3.2.2. Активність лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування й вміст їх ізозимів в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів	92
3.3. Вміст розчинних протеїнів в тканинах репродуктивних органів та антральній рідині фолікулів яєчників корів	110
3.4. Кореляції між концентраціями гормонів у плазмі крові та тканинах репродуктивних органів і активністю ензимів	117
3.4.1. Зв'язок концентрацій гонадотропінів у плазмі крові з стероїдними гормонами у тканинах репродуктивних органів корів	117
3.4.2. Зв'язок концентрацій гормонів у плазмі крові з активністю ензимів у тканинах репродуктивних органів корів	121
3.4.3. Кореляції між концентрацією гормонів і активністю ензимів у тканинах яєчників та ендометрію	129
3.5. Дослідження гормон-продукуючої здатності клітин антральної рідини фолікулів, отримання сировини для прототипу препарату зі стимулювання відтворної функції самиць та її вплив на репродуктивні органи лабораторних тварин і відновлення статевого циклу корів	138
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	144
ВИСНОВКИ	170
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	173
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	174
ДОДАТКИ	210

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

АФО – активні форми Оксигену

ГПО – глутатіонпероксидаза

ГФ – гіпофункція яєчника

ІФР – інсуліноподібний фактор росту

КАТ – каталаза; КАТ1; КАТ2 – ізоформи ензиму

ЕА3 – ензими антиоксидантного захисту

Е2 – естрадіол

ЛГР – рецептор лютеїнізуючого гормону

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

ЛГ – лютеїнізуючий гормон

МДГ – малатдегідрогеназа; МДГ1 – цитозольна; МДГ5 – мітохондріальна

ММ – молекулярна маса

ПААГ – поліакриламідний гель

П – прогестерон

СОД – супероксиддисмутаза: ЕСОД (S5) – позаклітинна (екзоцелюлярна);

МСОД (S4) – мітохондріальна; Cu,Zn-СОД (S1, S2, S3) – цитоплазматичні

Т – тестостерон

ТФР – трансформуючий фактор росту

ФР – «фолікулярний ріст»; ПЖТ – «пізнє жовте тіло», РЖТ – «раннє жовте тіло» - фізіологічні стани яєчника

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон

ФСГР – рецептор фолікулостимулюючого гормону.

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Серед порушень функціонування статевої залози корів найчастіше трапляються захворювання, які характеризуються зниженням її функції. Зокрема, у 20–75 % корів молочного стада, від загального числа хворих тварин (а в окремих випадках і від кількості тварин у стаді), діагностується гіпофункція яєчників [1, 2].

Зниження функціональної активності статевої залози корів спричинюють низька якість і неповноцінна годівля за високої продуктивності, запізніле осіменіння, недотримання зоогігієнічних вимог у приміщеннях для тварин і правил проведення родів, некваліфікована родова допомога, відсутність акушерської та гінекологічної диспансеризації [3, 4]. На тлі вказаних чинників порушуються ендокринний і метаболічний профілі організму, здатність структур яєчника продукувати стероїдні гормони, гальмуються розвиток ооцитів і овуляція [5].

За гіпофункції яєчників, поряд зі зміною морфологічних їх характеристик [6], знижується інтенсивність окисно-відновних процесів у тканинах статевої і надниркових залоз та матки, дихальна активність мітохондрій, утворюються активні форми Оксигену (АФО) і нагромаджуються продукти вільнорадикального окиснення [7, 8]. Наслідком порушення обмінних процесів у яєчниках і загалом у репродуктивних органах, є гальмування відтворювальної здатності корів та зниження продуктивності, недоотримання потомства і продукції.

Тому актуальним є дослідження особливостей обмінних процесів у організмі і, зокрема, в репродуктивних органах корів за фізіологічного перебігу статевого циклу та виявлення їх відмінностей за гіпофункції яєчника з метою з'ясувати механізми розвитку патології й розробити спосіб нормалізації відтворної функції самиць.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота є частиною науково-дослідних робіт Інституту біології тварин НААН «Вивчити кисеньзалежні процеси в окремих тканинах організму тварин при функціональних порушеннях і розробити способи їх корекції» (№ ДР 0106U003048) та «Вивчити біотехнологічні аспекти й механізми синтезу статевих гормонів клітинами гранульози та теоретично обґрунтувати створення нових ветеринарних препаратів» (№ ДР 0111U006151) за виконання яких дисертантка провела експериментальні дослідження, проаналізувала та узагальнила отримані дані стосовно фізіолого-біохімічних процесів в організмі і репродуктивних органах корів за перебігу статевого циклу та гіпофункції яєчника, отримала і апробувала ефективність дії сировини для прототипу препарату зі стимулювання репродуктивної функції самиць.

**Мета і завдання дослідження.** Мета роботи полягала у визначенні концентрації гонадотропних і стероїдних гормонів, активності ензимів і вмісту розчинних протеїнів у тканинах репродуктивних органів корів за статевого циклу та гіпофункції яєчників й розробленні та оцінюванні способу нормалізації відтворної функції самиць.

Для досягнення мети вирішували завдання:

- визначити концентрацію гонадотропних і стероїдних гормонів у крові й тканинах репродуктивних органів корів за перебігу статевого циклу та гіпофункції яєчників;
- дослідити активність і вміст ізозимів окремих ензимів енергетичного обміну й антиоксидантного захисту тканин;
- визначити вміст розчинних протеїнів у тканинах репродуктивних органів корів у зв'язку з перебігом статевого циклу та гіпофункцією яєчників;
- виявити кореляції між активністю окремих ензимів енергетичного обміну й антиоксидантного захисту та концентрацію гонадотропних і стероїдних гормонів у тканинах;
- з'ясувати можливість отримання сировини з гормональною

активністю із антральної рідини фолікулів корів для стимулювання відтворної функції самиць;

– оцінити ефективність дії сировини з гормональною активністю на організм та репродуктивні органи самиць мишей і щурів, відтворну функцію корів.

*Об'єкт дослідження:* гормональний стан та інтенсивність обмінних процесів у репродуктивних органах корів за статевого циклу та гіпофункції яєчника, способи нормалізації репродуктивної функції самиць.

*Предмет дослідження:* концентрації фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів, естрадіолу, прогестерону й тестостерону, активність і вміст ізозимів лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази, вміст і спектр розчинних протеїнів

*Методи дослідження:* біохімічні (спектрофотометричний: визначення активності ензимів; електрофоретичні: встановлення спектру протеїнів та ізозимів ензимів; імуноферментний: визначення концентрацій гормонів гонадотропних і стероїдних гормонів), фізіологічні (оцінювання стану організму корів і яєчників, розміру фолікулів), гістологічний і мікроскопічний (оцінювання і підтвердження стану репродуктивних органів самиць), статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента і кореляційного відношення).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше проведено комплексні дослідження енергетичних і окисних процесів у статевій залозі, ендометрії й антральній рідині фолікулів за статевого циклу та гіпофункції яєчника корів. Доведено, що гонадотропні та стероїдні гормони регулюють активність лактат- і малатдегідрогеназ, аспаратамінотрансферази, ензимів антиоксидантного захисту в тканинах яєчника і ендометрію. Виявлено, що активність і вміст ізозимів ензимів залежать від досліджуваної тканини й стану репродуктивної системи корів. Аналогічно вміст розчинних протеїнів та їх фракцій у тканинах яєчника, ендометрію і антральній рідині характеризує

стадію статевого циклу в корів і визначається інтенсивністю біохімічних процесів у репродуктивних органах та концентрацією гормонів. Уперше, на основі кореляцій між досліджуваними показниками, встановлено відмінність впливу концентрацій гормонів у тканинах репродуктивних органів і антральній рідині на величини активності ензимів, порівняно з плазмою крові. Доведено, що антральну рідину фолікулів яєчників корів доцільно використовувати як джерело природних стероїдних гормонів та біологічно активних речовин для стимулювання відтворної функції самиць. Запропоновано спосіб отримання сировини для прототипу препарату зі стимулювання репродуктивної функції корів. Результати експериментальних досліджень забезпечили отримання й апробування ефективності дії сировини з гормональною активністю на самках лабораторних тварин і коровах. Новизна отриманих результатів підтверджена патентом на спосіб отримання естрогенів *in vitro* (патент на корисну модель № u 201010103).

**Практичне значення отриманих результатів.** Доведено, що середовище культивування 14–32 добової культури клітин антральної рідини фолікулів яєчників корів може бути сировиною для виготовлення ветеринарного препарату зі стимулювання відтворної функції самиць. Уведення 0,1 мл середовища культивування самкам лабораторних тварин забезпечує збільшення маси репродуктивних органів, кількості й розміру антральних фолікулів у статевих залозах упродовж 3 діб досліджень за підвищених концентрацій гонадотропних і стероїдних гормонів у плазмі крові. Внутрішньом'язове введення двічі з інтервалом 11 діб 20,0 мл сировини для виготовлення ветеринарного препарату зі стимулювання відтворної функції корів з гіпофункцією яєчників відновлює стадію збудження статевого циклу в 60,0 % тварин.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес Львівського національного університету ветеринарної медицини та

біотехнологій імені С. З. Гжицького з дисципліни «Акушерство, гінекологія, біотехнологія».

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено аналіз літературних даних за темою дисертаційної роботи, експериментальні дослідження і статистичний аналіз цифрових даних. Планування експериментальних робіт, інтерпретація результатів досліджень, формулювання висновків здійснені за участі наукового керівника.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати досліджень дисертаційної роботи оприлюднені на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях: «Актуальні проблеми біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2009, 2014, 2015); XXVI World Buiatrics Congress (Santiago, Chile, 2010); «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2013, 2014); XXV Jubilee International Congress of the Hungarian Association for Buiatrics (Budapest, Hungary, 2015).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 11 статей у фахових наукових виданнях, з яких 9 включені до міжнародних наукометричних баз даних: 3 – у журналах, 4 – у вісниках, 3 – у науково-технічному бюлетені, стаття у закордонному журналі та збірнику наукових праць, теза доповіді на науковій конференції і патент на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 212 сторінках комп'ютерного тексту (основна частина 148 сторінок) і сформована з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу й узагальнення одержаних результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота містить 34 таблиці й 21 рисунок. Бібліографічний список налічує 293 джерела, з них 259 латиницею.



## РОЗДІЛ І

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Гонадотропні і стероїдні гормони та їх роль у відтворній функції самок

З настанням статевої зрілості (6–10 міс) у телиць утворюються статеві клітини, в яєчниках періодично розвиваються й дозрівають фолікули та ооцити, самки приходять в охоту, проявляють вторинні статеві ознаки. Вказані процеси в організмі самок протікають за впливу гонадотропних і стероїдних гормонів.

**Гонадотропні гормони - лютеїнізуючий (ЛГ) і фолікулостимулюючий (ФСГ)** є частинами нервового і ендокринного обміну між гіпоталамусом, гіпофізом і гонадами, який регулює синтез стероїдних гормонів та розвиток гамет [9]. Так, гонадотропін-релізінг гормон вивільняється з гіпоталамуса, зв'язується з рецепторами на гіпофізарних гонадотрофах, індукує синтез та секрецію ЛГ і ФСГ. ЛГ та ФСГ, попадаючи в кровообіг, зв'язуються з рецепторами та впливають на гонади. Цей вплив знаходиться в центрі регулюючої системи, проходження нейрональних сигналів від гіпоталамуса до статевих залоз та індукування сигналів, які спрямовані у зворотному напрямі.

**ФСГ** – глікопротеїн з ММ 30 кДа складається з  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць, які відрізняються вмістом вуглеводів і амінокислот. Гормон необхідний для ініціації функції яєчників з безпосередньою стимулюючою дією на ріст фолікулів. Вплив ФСГ на яєчники здійснює через рецептор (**ФСГР**). Рецептори для гонадотропінів (для ФСГ – **ФСГР** і ЛГ – **ЛГР**) знаходяться на поверхні соматичних клітин в гонадах і є представниками родини рецепторів родопсина з G-протеїном (GPCR) [10, 11].

Дія ФСГ спрямована на активування аденілатциклази і протеїнкінази й утворення цАМФ та фосфорилування протеїнів. Оскільки ФСГ діє виключно через **ФСГ-рецептор (ФСГР)**, механізми контролю рецепторної експресії

визначають ФСГ-чутливу популяцію клітин, зокрема, клітини гранульози яєчника. В клітинах дія ФСГ регулює ряд транскрипційних, метаболічних і гормональну активності, які є необхідними для проліферації, диференціювання, фолікулярного росту та дозрівання ооцитів [12]. У самок ФСГ індукує гормональні сигнали, які зворотно повертаються в гіпофіз і гіпоталамус для підтримання ендокринного балансу репродуктивної здатності [13]. Крім того, ФСГ діє через ФСГР на тканину матки: у невагітній – слабо впливає на скоротливу активність міометрія, а за вагітності – посилює [14].

ЛГ належить до родини глікопротеїнових гормонів з ММ 40 кДа і складаються з двох різних, нековалентно зв'язаних  $\alpha$ - та  $\beta$ - субодиниць [15]. Функція ЛГ полягає в стимулюванні дозрівання жовтого тіла, а підвищення його концентрації в період охоти, стимулюючи овуляцію, ініціює лютеїнізацію клітин гранульози й теки фолікула. Дія ЛГ опосередковується через ЛГР-протеїн з ММ 93 кДа. ЛГР виявлені в кровоносних судинах, яєчниках, фолікулах і матці жінок, корів, свиней та мишей [16, 17, 18, 19]. Зокрема, активування ЛГР у клітинах фолікула викликає овуляцію і ініціює диференціювання овульованого фолікула в жовте тіло [20]. Імуногістохімічними дослідженнями встановлено, що ЛГР присутній в епітелії слизової оболонки яйцепроводів, клітин гладкої мускулатури та ендотелію кровоносної системи [21]. Інтенсивність проявлення ЛГР менша в яйцепроводах, ніж у слизовій оболонці. Виявлено, що інтенсивність імуногістохімічної реакції в яєчнику свиней залежить від гормонального статусу тварин. Доведено прямий вплив естрадіолу на ЛГР за культивуванням клітин епітелію [15].

ЛГ входить до числа гормонів, які можуть регулювати функції яйцепроводів. *In vitro*, ЛГ може викликати спонтанне скорочення яйцепроводу свиней, зумовлюючи його релаксацію, особливо на етапі передовуляторної фази еструсного циклу [22]. Крім того, ЛГ знижує перистальтику яйцепроводу свиней за введення комплексу естрадіолу з прогестероном. Поступове

гальмування спонтанних скорочень відбувається протягом 10 хв після додавання ЛГ.

Активування ЛГР яйцепроводів корів призводить до посилення синтезу глікопротеїну [16], який зумовлює інтенсивніший розвиток ембріонів [23].

У жуйних тварин гормон впливає на матку і відіграє центральну роль у регулюванні еструсного циклу, вагітності та пологах. ЛГ регулює утворення PGHS-2, але не PGHS-1, у всіх тканинах матки (ендометрії, міометрії, шийці матки та яйцепроводів), які модулюються шляхом активування як інозитолфосфату, так і аденілатциклази [24].

В ендометрії концентрація ЛГР найбільша під час лютеїнової фази. Збільшення ЛГР перед овуляторним піком ЛГ свідчить про регульовальну функцію статевого циклу в жуйних. Прямий зв'язок підвищеної концентрації ЛГР та стимулювання синтезу простагландинів (PGHS-2 і  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) в епітеліальних клітинах ендометрію характеризує роль ЛГ за лютеолізу у великої рогатої худоби та свиней. Встановлено, що ін'єкції  $\text{PGF}_{2\alpha}$  викликають швидке інгібування продукування прогестерону жовтим тілом в яєчнику корови, а потім зменшення концентрації ЛГ / hCG-сайтів зв'язування в жовтому тілі [25]. ЛГ збільшує синтез прогестерону жовтого тіла. Проте, в ендометрії він бере участь в утворенні  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Дія ЛГ при підвищеній секреції  $\text{PGF}_{2\alpha}$  у матці великої рогатої худоби індукує лютеоліз. Тобто, ЛГ і його позагонадові рецептори можуть в кінці циклу стимулювати секрецію  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , ще до піку концентрації ЛГ, і стимулювати початок еструсу та овуляції.

Крім стимулювання, ЛГ може регулювати гормональний фон на ранніх стадіях вагітності, що проявляється зниженням утворення  $\text{PGF}_{2\alpha}$  і підвищенням  $\text{PGE}_2$  за ранньої вагітності [26].

ЛГР присутні у міометрії самок: корів, щурів, кроликів і жінок [27], а їх вміст залежить від стадії статевого циклу. Зокрема, високий вміст ЛГР встановлено за лютеїнової фази, а низький – за фолікулярного росту. Оскільки, ЛГ забезпечує активування шляхів як утворення цАМФ, так і фосфоліпази С,

вміст ЛГР корелює з концентрацією гормону [15]. При цьому, зміни вмісту ЛГР призводять до посилення зв'язування ЛГ та збільшення цАМФ, що забезпечує релаксацію матки за лютеїнової фази.

Рецептори ЛГ також виявлені в артеріях і венах самок. При цьому, як в яєчниковій артерії, так вени є більше ЛГР за фолікулярного росту, ніж за жовтого тіла. У всіх випадках у вені міститься вища концентрація ЛГР, ніж у артерії. Протеїн з ММ 93 кДа ЛГР виявлений в більших кількостях в екстрактах з маткових вен за еструсу і в менших - за лютеїнової та постовульторної фаз у корів.

Оскільки ЛГ підвищує PGHS-2 та синтез  $\text{PGF}_{2\alpha}$  і  $\text{PGE}_2$  у венах матки під час еструсу, маточна вена може впливати на циркулювання прогестерону (П) впродовж останніх етапів еструсного циклу. Збільшена секреція П під час проеструсу і еструсу може сприяти лютеолізу, що викликає збільшення кровотоку між судинами матки і яєчників, в результаті чого зростає кількість лютеолітичного  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Більш того, утворення  $\text{PGE}_2$  у венах матки може сприяти пом'якшенню шийки матки при еструсі та ініціювати передовуляторний розвиток антральних фолікулів [15].

Відомо, що початкові стадії фолікулогенезу в корів відбуваються незалежно від стимулювання гонадотропінами. Гонадотропіни залучаються до регуляції формування антрума, васкуляризації фолікулів, клітинної диференціації та індукованих гіпоксією факторів (HIF), які переважно регулюються концентрацією розчиненого  $\text{O}_2$ .

Антральний фолікул складається з декількох шарів різних типів клітин, які мають високоспеціалізовані функції. Зовнішні клітинні шари фолікула - це тека-клітини, які виникають через диференціювання оточуючої стромы з вторинної стадії (багатоклітинний шар, без антруму). Тека містить фолікулярну судинну систему та стероїдогенні клітини фолікула, які синтезують і секретують андрогени. Базальна мембрана відокремлює теку від клітин гранульози, що зумовлює втрату контакту судинної сітки з порожниною

фолікула. Одна з основних функцій клітин теки – секреція андрогенів. Клітини теки відповідають на дію ЛГ зі стимулюванням синтезу андрогенів з холестеролу. Крім того, вказані клітини утворюють прогестин під контролем гонадотропінів [28]. При цьому, у примордіальних фолікулах клітини теки чутливі до гонадотропінів.

За росту фолікулів утворюється порожнина (антрум), заповнена рідиною. Вважається, що утворення антруму асоціюється з розміром домінуючого фолікула, осмотичним градієнтом через секрецію протеоглікану клітинами гранульози та залежить від дії ФСГ [29].

Антрум розділяє шари гранульози на дві субпопуляції: клітини розміщені навколо стінки фолікула та кумулюса. У центрі фолікула знаходиться ооцит-кумулюсний комплекс (ОКК), який складається з 8 до 10 шарів клітин кумулюса, які оточують ооцит. Роль клітин гранульози полягає в забезпеченні розвитку ооцита, які диференціюється впродовж фолікулогенезу: від примордіальних до овуляції і до розвитку жовтого тіла. Регулювання диференціації клітин відбувається за участі гормонів та факторів росту. Доведено, що клітини гранульози характеризуються рецепторами для ФСГ і ЛГ [30]. Крім того, встановлені рецептори для факторів росту: епідермального (ЕФР), інсуліноподібного (ІФР) та анти-Мюллерового гормону. Дії гормонів і чинників росту на клітини гранульози змінюються залежно від стадій диференціювання.

Біосинтез двох важливих стероїдів – естрадіолу (E2) і прогестерону (П) – первинна функція клітин гранульози. Вони ароматизують андрогени для синтезу естрогенів і продукують гормони, які регулюють перебіг репродуктивного циклу та дозрівання ооцитів. Оскільки фолікул розвивається, клітини гранульози диференціюються і збільшується синтез естрогенів. У клітин гранульози з фолікулів передовуляторної стадії зростає здатність синтезувати прогестин під контролем ЛГ. Гранульоза з примордіальних фолікулів не синтезує стероїди, але чутлива до гонадотропінів.

У великої рогатої худоби впродовж еструсного циклу є 2-3 хвили розвитку фолікулів [31]. За кожної хвили, група з 3-6 фолікулів виростає до 4 мм, незалежно від рівня гормонів та набуває, з появою специфічних рецепторів до гонадотропінів, здатність відповідати на дію ФСГ і ЛГ [32, 33].

Ріст антральних фолікулів з 3–4 мм – ФСГ-залежний процес [34]. Зокрема, поява фолікулярної хвили ФСГ забезпечує в першу добу ріст фолікулів 4–5 мм [35]. У межах 12 год фолікули збільшуються до 5–6 мм в діаметрі і продовжують рости після зниження концентрації ФСГ. При цьому, відбувається вибір одного з фолікулів для подальшого росту. Одночасно виявлено, що крім ФСГ для початкової стадії розвитку (від 85  $\mu$ м до 150  $\mu$ м в діаметрі) фолікула необхідна низька концентрація ЛГ [36]. Фолікул другого порядку характеризується вищою концентрацією естрадіолу і ІФР-1, ніж першого порядку [37].

Наступна передовуляторна хвиля ЛГ розриває міжклітинні зв'язки між ооцитом і клітинами кумулюсу. При цьому, між клітинами кумулюсу зростають міжклітинні відстані, однак вони не втрачають зв'язок з ооцитом. Зростаючі відстані між клітинами характеризують секрецію гіалуронової кислоти та інших протеїнів гранульозою [38].

Ріст та збільшення відстаней між клітинами забезпечують фактори росту (СЕЕФ). Зокрема, до таких належать: трансформуючий фактор росту (TGF $\beta$ ) і фактор диференціювання 9 (GDF9) [39]. Виявлено, що додавання до клітин гранульози миші GDF9 (rmGDF9) впродовж 5 год активує гіалуронсинтазу 2 (Has2), простагаландин-ендопероксидазусинтазу 2 (Ptgs2), пентраксин 3 (Ptx3) і фактор некрозу пухлин альфа – протеїн 6 (Tnfaip6) та пригнічує рецептор ЛГ/hCG (Lhcgr), активатор плазміногену, урокіназу (Plau) [40].

Збільшення розмірів фолікулів завершується після виділення домінуючого фолікула [41]. Домінуючий фолікул (ДФ) характеризується підвищеним синтезом естрадіолу [42] і мРНК для рецептора ЛГ (ЛГР) в клітинах гранульози [43]. Він містить вищі кількості інгібіну і нижчі

низькомолекулярного ІФР [44]. Інгібін пригнічує ріст інших фолікулів, які піддаються атрезії. Домінуючий фолікул першої хвилі може атрезувати (ановуляторна хвиля) і тільки домінуючий фолікул другої чи третьої хвиль (відповідно, за циклу з двох чи трьох хвиль) овулює [45].

Вторинні фолікули припиняють ріст і зменшуються в розмірі, що зумовлено втратами рецепторів, які зв'язують гонадотропіни гранульозою і клітинами теки. Вказані зміни супроводжуються зниженням синтезу естрадіолу і апоптозом клітин гранульози та атрезією фолікулів [46].

Яєчники за впливу гонадотропінів продукують стероїдні гормони: андрогени, естрогени і прогестерон. Основними андрогенами яєчника є андростенодіон – продукт секреції текальних ендокриноцитів і **тестостерон (Т)**, який в організмі самок утворюється в клітинах теки фолікула і плаценті. Роль у відтворній функції самок андрогенів важлива, оскільки вони є попередниками синтезу естрадіолу [47]. Так, при дослідженні *in vitro* доведено здатність Т, андростенодіону та дигідростерону стимулювати ріст і розвиток фолікулів. При цьому встановлено, що Т збільшує чутливість фолікула до ФСГ [48], андростенодіон стимулює диференціювання клітин гранульози корів зі збільшенням активності ароматази і утворенням E2 [49], а дигідростерон ініціює збільшення вмісту ІФР і ростового фактору диференціювання 9 [50].

Дія андрогенів опосередковується через рецептори, які встановлені в ооцитах, клітинах гранульози і теки [51]. У яєчнику корів і овець mRNA рецептора андрогену виявляється в клітинах гранульози і теки, з найінтенсивнішим проявленням в преантральних і антральних фолікулах [52, 53]. В маленьких антральних фолікулах Т збільшує вміст mRNA рецептора в клітинах гранульози і теки й залежить від дії ФСГ. Крім того, mRNA рецептора андрогену виявлена в клітинах гранульози жовтого тіла.

Андрогени потрібні для ФСГ-залежного процесу біосинтезу естрогенів [54]. Відомо, що ФСГ і E2 забезпечують розвиток та захищають фолікул на різних стадіях розвитку (від преантрального до антрального). Аналогічно,

виявлено, що стероїди захищають фолікул від атрезії. Додавання ФСГ і Т чи дигідростерону до клітин гранульози з малих антральних фолікулів підвищує інтенсивність стероїдогенезу, а з великих – гальмування активності ароматази [55]. Т і дигідростерон здатні індукувати атрезію фолікулів. При цьому, в ранніх антральних і преантральних фолікулах проявляється антиапоптичний ефект, а у пізніх вони здатні викликати атрезію клітин [56].

До естрогенів належать естрадіол, естрон і естріол. *Естрадіол* (E2) продукується клітинами фолікулів та теки і меншою мірою клітинами жовтого тіла. Естрон утворюється шляхом периферичної ароматизації естрадіолу. Основним джерелом естріолу є гідроксилування естрадіолу й естрону в печінці.

Встановлено, що естрадіол стимулює синтез глікогену в матці, який є джерелом енергії для запліднення, розвитку і приживлення ембріонів [57]. Також, у самок щурів підвищення концентрації E2 стимулює синтез протеїнів в яйцепроводі [58, 59] на що вказує зростання включення  $^{35}\text{S}$ -метіоніну у протеїни. Аналогічно, введення П також підвищує включення  $^{35}\text{S}$ -метіоніну у протеїни яйцепроводу. Збільшується число смуг розчинних і структурних протеїнів (37 смуг з ММ від 20 до 200 кДа), які виявляються електрофорезом. Подібні результати отримані при дослідженні яйцепроводу корів: у просвіті ідентифіковані глікопротеїни, які утворюються за впливу E2 і П [60].

Естрадіол важливий для тривалості лютеолізу, оскільки пригнічення утворення E2 здовжує статевий цикл. Введення E2 ініціює лютеоліз, через підвищення концентрацій PGFM (13,14,-дигідро-15-кето-PGF<sub>2α</sub>) і окситоцинового рецептора ендометрія. Ефект E2 залежить від прогестерону (П), оскільки він спостерігається лише після того, як на ендометрій впливав П. E2 також може регулювати концентрацію, тривалість та дію PGF<sub>2α</sub> у відповідь на окситоцин [61]. У корів кількість рецепторів естрогенів збільшується в кінці лютеїнової фази завдяки E2, який регулює експресію власного рецептора в клітинах ендометрію.



Підвищення вмісту рецептора естрогенів індукує збільшення окситоцинового рецептора, що відповідає за утворення  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , який викликає лютеоліз. За фізіологічного перебігу еструсного циклу концентрація окситоцинового рецептора в ендометрії пригнічена дією П, а збільшення концентрації окситоцинового рецептора протягом 13–16 діб циклу в овець зумовлене зниженням гальмувального впливу прогестерону. Введення одного П є достатнім для початку експресії в ендометрії рецептора окситоцину, але введення E2, після дії прогестерону, підвищує експресію гена рецептора окситоцину. Таким чином, лютеоліз виникає за рахунок скоординованих змін як в синтезі простагландинів, так і окситоцинового рецептора й ці процеси регулюються E2 і П.

E2 *in vitro* здатний посилювати синтез П в епітеліальних клітинах та стимулювати секрецію простагландину [62].

Рецептор окситоцину виявлено в матці за еструсу та вагітності. В матці синтез рецептора окситоцину регулюється стероїдами, зокрема, естрадіолом. Механізм регулювання естрогенами рецептора окситоцину здійснюється через взаємодію з ДНК та протеїнами Sp1 і AP-1 [63]. Введення естрадіолу *in vivo* підвищує експресію рецептора окситоцину в ендометрії овець, а подовження тривалості дії – знижує концентрацію рецептора. Механізм дії E2 полягає у збільшенні секреції  $\text{PGF}_{2\alpha}$  та синтезі рецептора окситоцину. Однак, естрадіол не бере участі в початковій стадії активування окситоцинових рецепторів. Тільки П може стимулювати окситоцинові рецептори та забезпечити секрецію  $\text{PGF}_{2\alpha}$  при лютеолізі. При цьому, високі концентрації  $\text{PGF}_{2\alpha}$  зумовлені пониженим утворенням прогестерону і підвищенням концентрації естрадіолу.

У яєчнику синтезується стероїдний гормон **прогестерон (П)**, утворення якого залежить від рівня стимуляції гонадотропінами та фізіологічного стану статевої залози. Прогестерон продукується переважно жовтим тілом. Крім того, секретують гормон клітини гранульози і теки [64]. Після секреції з яєчника П діє на рівні гіпоталамус-гіпофіз, регулюючи секрецію гонадотропінів,

стимулює розвиток матки і молочної залози [65, 66]. Прогестерон впливає на фізіологію матки, включаючи диференціювання ендометрію та розвиток плаценти [66]. Гормон діє на тканини через два рецептори ядра (ПР-А і ПР-В). Ці рецептори функціонують, як фактори транскрипції, регулюючи каскади гена, що забезпечує дію П [67].

Відомо, що П пригнічує розвиток фолікулів яєчників. Зокрема, дослідження *in vivo* виявили негативну кореляцію між рівнями гормону в сироватці крові та швидкістю росту фолікулів (швидкістю мітозу клітин гранульози). Це співвідношення зберігається під час еструсного циклу і вагітності. Встановлено, що дія П зумовлена гальмуванням проліферації клітин гранульози *in vivo*. Так, П підвищує власну секрецію клітинами гранульози, пригнічує утворення естрогенів і знижує швидкість проліферації клітин за дії міогену [68].

Після овуляції клітини гранульози диференціюються в лютеїнові [69]. Перетворення клітин гранульози в лютеїнові відбувається впродовж декількох годин [70] і залежить від комбінації генів, які кодують синтез протеїнів необхідних для існування та функціонування жовтого тіла. Це перетворення клітин гранульози в лютеїнові незворотне і починається з припинення поділу клітин. Клітини жовтого тіла виявляються у фазі G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> циклу. Гальмування росту клітин впродовж лютеїнізації пов'язується зі зростаючою втратою регуляторів циклу клітин, зокрема циклін-залежної кінази (Cdks) і збільшенням синтезом інгібіторів Cdk - p21<sup>cip1</sup> і p27<sup>kip1</sup> [71, 72].

Прогестерон у лютеїнових клітинах функціонує як «універсальний лютеотропін», про що свідчить його здатність стимулювати власну секрецію [73]. Крім того, П підтримує існування лютеїнових клітин шляхом гальмування апоптозу [74, 75]. Лютеотропна дія П відбувається через високоафінний сайт зв'язування прогестину (R5020) у лютеїнових клітинах.

Прогестерон діє через власний рецептор (РП), який відіграє важливу роль у овуляції та індукції генів, пов'язаних з диференціацією лютеїнових клітин.

Рецептор П локалізується на плазматичній мембрані і через нього гормон впливає на функцію яєчників. РП виявляється в клітинах гранульози після дії гонадотропінів та у клітинах жовтого тіла овець, великої рогатої худоби і людини [76].

Крім того, дія П здійснюється й через інші шляхи. Зокрема встановлено, що П та його метаболіти можуть зв'язувати рецептори GABA<sub>A</sub>. Субодиниці GABA<sub>A</sub>-рецепторів присутні в яєчнику, однак вони не забезпечують дію П в клітинах гранульози [77]. Аналогічно, П зв'язує глюкокортикоїдний рецептор яєчників, який є в клітинах як гранульози, так і лютеїнових, проте він не характеризується антиапоптозною та антимиотичною діями [78]. У лютеїнових клітинах зв'язування П з глюкокортикоїдним рецептором може пригнічувати 20 $\alpha$ -гідроксистероїддегідрогеназу – ензим, який метаболізує П.

Ще одним шляхом впливу П на метаболізм репродуктивної системи є рецептор окситоцину. Виявлено, що прогестерон може витіснити окситоцин з власного рецептора.

Крім того, П може впливати на функцію яєчника через взаємодію з натрій-калієвою АТФазою, оскільки гормон зв'язується з субодиницею АТФази, яка, своєю чергою, стимулює мейоз у ооцитів [79].

Також дія П опосередкована через зв'язування гормону з мембранним протеїном PGRMC1, який складається з 194 амінокислот [80]. PGRMC1 проявляється в яєчниках миші [80], клітинах гранульози свиней [81] та гранульози і лютеїнових клітинах жінок [82]. Експресія вказаного протеїну регулюється гонадотропінами [64]. При цьому доведено, що PGRMC1 впливає на антиапоптозну дію П як в гранульозних, так і в лютеїнових клітинах. PGRMC1 зв'язує П і тим самим активує кінази шляхом взаємодії з областями гомології Src. Активування протеїнкінази G і фосфорилування протеїнів можуть активувати PGRMC1 [83].

П регулює функцію яєчника за допомогою протеїну C-262 з MM 55-60 кДа (SERBP1). Даний протеїн виявлений з використанням імуногістохімічних

досліджень в клітинах теки і строми, гранульози, епітелію та жовтого тіла яєчників [84]. Його вміст залежить від фізіологічного стану статевих залоз: величина значення зростає в клітинах гранульози за росту фолікулів. При цьому, інтенсивне утворення SERBP1 підвищує чутливість клітин гранульози до дії П [85]. SERBP1 є важливим компонентом механізму дії гормону, оскільки утворює комплекс з PGRMC1, який своєю чергою забезпечує антиапоптотичну та антимітотичну дію гормону.

Існує декілька механізмів за допомогою яких РП може діяти. Перший механізм передбачає активування транскрипції за допомогою РП [86]. Другий механізм полягає в зв'язуванні активного домену SH3 в межах РП, що стимулює зв'язування та активування Src-кіназ [87]. Активуванням Src-кіназ, П впливає на передачу сигналу, який регулює специфічні каскади гена [88]. Активування РП та SRC-кінази забезпечує дію П при утворенні жовтого тіла.

Ще один механізм впливу прогестерону здійснюється через РП, які утворюються в жовтому тілі (РПЖ) [89]. РПЖ знижують внутрішньоклітинні рівні цАМФ та підвищують активність MAPK 3/1. Своєю чергою, зменшене утворення цАМФ пригнічує стероїдогенез [90], а активування MAPK 3/1 є частиною апоптотичного механізму в різних типах клітин [91]. Експресія та активування РПЖ в лютеальних клітинах ініціює їх апоптоз і регресію жовтого тіла. Поряд з цим, рівні PGRMC1 зменшуються до середини вагітності, тоді як РПЖа збільшується до лютеолізу (тобто, коли рівень П знижується).

Зміни гормонального стану залежать від численних факторів, а його дисбаланс супроводжується порушенням статевого циклу та розвитку фолікулів. До факторів, які здатні впливати на концентрацію гормонів належать: вік тварин, продуктивність, відповідність рівня годівлі якості раціону, утримання та сезон року, хвороби матки і молочної залози. Так, встановлено, що у корів старшого віку (13–14 років), порівняно з молодшими (до 4 років), концентрація ФСГ вища, але число фолікулів 4–5 мм нижче протягом фолікулярних хвиль. При цьому, концентрації ЛГ не відрізнялися між

віковими групами, але фолікул за циклу з двох хвиль менший у старих корів. Одночасно, концентрація естрадіолу вища, а прогестерону – нижча в плазмі крові старих корів [92].

Лактуючі високопродуктивні корови характеризуються нижчим числом овуляцій і овульованих фолікулів після лютеолізу, ніж телиці. Окрім того, за овуляції у корів понижені концентрації стероїдних гормонів, однак більші яєчники і жовте тіло, ніж у телиць. При цьому, вказані зміни і відмінності не пояснюються концентрацією гонадотропінів, а визначаються інтенсивністю метаболізму стероїдів і утворення стероїдних гормонів [93].

На концентрацію стероїдних гормонів, і загалом, функцію яєчників впливає якість годівлі, зокрема, вміст ненасичених жирних кислот в раціоні. Виявлено, що згодовування кормів з додаванням високого вмісту ненасичених жирних кислот зумовлює збільшення діаметру передовуляторних фолікулів. При цьому, зростають концентрації андростенодіону і естрадіолу в фолікулярній рідині та співвідношення Е2/П. Крім цього, підвищується вміст mRNA P450-ароматази в клітинах гранульози з передовуляторних фолікулів [94]. При цьому, використання в складі середовища культивування крім пальмітинової, стеаринової та олеїнової кислот, ще й омега-3 альфа-ліноленової кислоти забезпечує розвиток ооцитів і виживання клітин кумулюсу [95]. Крім повноцінної годівлі, важливим фактором впливу на відтворну функцію самок є присутність природних та синтетичних токсикантів в раціонах [96].

Одним з факторів впливу на стероїдогенез і концентрацію гормонів у корів є хвороби матки, зокрема, ендометрію. Встановлено, що ріст порожнини домінуючого фолікула і овуляція сповільнюються через понижену концентрацію естрадіолу та гонадотропних гормонів. Зниження утворення естрадіолу зумовлено присутністю у фолікулярній рідині корів з ендометритом ліпосахаридів, які зв'язуються з рецепторами клітин гранульози, знижуючи активність ароматази. Аналогічно, концентрація прогестерону нижча у хворих, ніж в клінічно здорових тварин [97].

## 1.2. Ангіогенні чинники і транспорт гормонів в організмі

Гормони, статеві стероїди або їхні попередники, синтезуються в стероїдогенних клітинах яєчників, надниркових залоз та плаценти і транспортуються з кров'ю до тканин. Доведено, що ангіогенез забезпечує потреби яєчника впродовж фізіологічних змін і регулюються балансом між про- і антиангіотичними чинниками [98, 99, 100]. До таких чинників належать фактор росту фібробластів 2 (FGF2), ендотеліальний фактор росту судин А (VEGFA), родина факторів росту тромбоцитів (PDGF) і система ангіопротейну (ANGPT). Гальмування VEGFA/PDGF виявило, що вказані чинники відіграють роль не тільки в рості судин, але і забезпечують функцію яєчника [101, 102]. Визначальну роль проангіотичних факторів у розвитку судин навколо фолікулів зумовлює особливість їх будови – відсутність прямого контакту кровоносної системи з порожниною фолікула і, відповідно, постачання необхідних субстратів та  $O_2$  для існування та дозрівання статевої клітини. При цьому встановлено, що проникливість судин змінюється впродовж фолікулярної фази [103, 104.]. Виявлено, що інгібування VEGFA гальмує овуляцію, блокує васкуляризацію жовтого тіла і пригнічує постовуляторне підвищення концентрації П. І навпаки, зростання VEGFA забезпечує ріст домінуючого фолікула [105, 106], а зменшені потік крові чи васкуляризація характеризує ранню атрезію [107, 108].

ФСГ та ЛГ активують VEGFA, що призводить до зростання факторів індукованих гіпоксією (HIF). HIF – це висококонсервативні гетеродимерні транскрипційні фактори, що складаються з  $\alpha$ - та  $\beta$ - субодиниць.  $\alpha$ -субодиниця містить кисень-чутливі домени, а мРНК регулюється багатьма факторами, такими як росту, гормонами та  $pO_2$ . При цьому, процеси зростання чи зниження вмісту HIF регулюються гідроксилазами, які каталізують гідроксилювання протеїнів. Як наслідок, HIF мають короткий період напіврозпаду в клітинах за

фізіологічних умов оксигенації, а за низького вмісту кисню – стабілізуються й активують шлях «гіпоксичного стресу» [109].

Одним з протеїнів, які регулюють та впливають на транспорт  $O_2$  у фолікулах є внутрішньоклітинний синтез гемоглобіну як гранульозою, так і клітинами кумулюсу й ооцитами. Рівень клітинного гемоглобіну мінливий і відповідає коливанням лютеїнізуючого гормону (ЛГ) [109]. Гемоглобін забезпечує транспорт  $O_2$  за гіпоксичних умов та сприяє диференціюванню фолікула до утворення жовтого тіла і стабілізує НІГ, який індукує вказані перетворення [110].

Гормони, статеві стероїди або їхні попередники транспортуються з кров'ю до тканин кількома стероїд-зв'язуючими протеїнами. Найбільш поширений протеїн плазми крові, альбумін, зв'язує всі класи стероїдів неспецифічно, з низькою спорідненістю, для підвищення розчинності ліпофільних молекул і подовження періоду їх напіврозпаду [111]. Встановлено, що вміст альбуміну й загального протеїну знижується у фолікулярній рідині зі збільшенням розміру фолікула [112]. Крім альбуміну, в організмі тварин виявлено глобулін (SHBG), який зв'язує і транспортує андрогени та естрогени в крові й регулює їхній доступ до цільових тканин. SHBG є глікопротеїном з афінністю на чотири – п'ять порядків вищою, ніж у альбуміну. Через високу спорідненість зв'язування ліганду SHBG є основним транспортним протеїном плазми крові для андрогенів та естрогенів [113]. SHBG виробляється в печінці, а його вміст коливається впродовж всього життєвого циклу і впливає на метаболізм та гормональні фактори. Протеїн містить цинк-зв'язуючий сайт, що специфічно знижує його спорідненість до естрадіолу і підвищує до андрогенів, оскільки в тканинах статевих шляхів самців міститься значна кількість цинку [114].

У ссавців ген, кодує SHBG, виявляється в печінці та інших тканинах, включаючи мозок, нирки, матку, простату і сім'яники [115, 116, 117]. При цьому, існують генетичні відмінності, які сприяють індивідуальній мінливості

рівнів SHBG в плазмі. SHBG накопичується в позасудинних ділянках тканин та в цитоплазмі епітеліальних клітин, де впливає на дію андрогенів та естрогенів. Фізіологічне значення накопичення протеїну SHBG всередині стромы позаклітинного матриксу в матці миші протягом еструсного циклу характеризується зростанням вмісту його за максимальної концентрації естрадіолу в плазмі [118].

Ще одним протеїном, який характеризує стан репродуктивної системи самок є гаптаглобін (HrG). Місцем синтезу HrG є гепатоцити та репродуктивні органи, зокрема, матка [119]. Встановлено, що комплекс протеїнів, які взаємодіють з антитілом до HrG, характеризується молекулярною масою 110 кДа. При цьому, в матці жінок за допомогою електрофорезу в ПААГ з використанням детергентів та антитіла проти HrG виявлено протеїни з ММ 42, 20 і 16 кДа. Гаптаглобін складається з двох  $\alpha$  ( $\alpha 1$  і  $\alpha 2$ ; 9-16 кДа) і двох  $\beta$  (42–33 кДа) ланцюгів, які утворюють фенотипи протеїну. Розрізняють три фенотипи HrG: містять два  $\beta$  ланцюги у поєднанні з двома  $\alpha 1$  (HrG 1-1) або двома  $\alpha 2$  (HrG 2-2), чи однією  $\alpha 1$  і однією  $\alpha 2$  (HrG 2-1).

Гаптаглобін характеризується різноманітністю біологічних функцій: зв'язує гемоглобін, посилює інгібування синтезу простогландинів і активності катепсину В, стимулює ангиогенез, швидке диференціювання ендотеліальних клітин кровоносних судин. Крім того, вказаний протеїн характеризується імунодепресивними властивостями: блокує імунні відповіді нейтрофілів, інгібує лектин-індуковану трансформацію лімфоцитів і зменшує утворення антитіл. Імуногістохімічним дослідженням HrG в матці встановлено, помірне зафарбування стромы і відсутність проявлення зафарбування в епітелії за проліферації і, навпаки, інтенсивне зафарбування стромы і помірне – епітелію протягом секреторної фази. При цьому, відносний вміст HrG вищий в секреторній фазі, ніж в проліферативній. Також гаптаглобін бере участь в імунних відповідях і підтриманні фето-плацентарного бар'єру [120].

Серед значного числа протеїнів в клітинах гранульози домінуючого



фолікула яєчника корів виявлено декілька ізоформ рецептора ліпопротеїнів низької щільності (LRP8) [121]. При цьому встановлено, що у фолікулярній рідині зростає вміст аполіпопротеїнів (ліпопротеїни низької і дуже низької щільності) зі збільшенням розміру фолікулів: з малих (2–4 мм) до середніх і великих (4–10 мм) [122]. Рецептор ліпопротеїнів низької щільності (LRP8) сприяє використанню холестеролу клітинами гранульози протягом фолікулярного росту, що зумовлено підвищеним стероїдогенезом. Ліпопротеїни у фолікулярній рідині синтезуються *de novo* клітинами фолікула за аналогією утворення аполіпопротеїна Е клітинами теки [123]. Транспортер холестерину Е (APOE), який зв'язується з ліпопротеїдами з високим вмістом холестеролу (ліпопротеїни низької і дуже низької щільності) взаємодіє з рецепторами клітин теки. До того ж, APOE взаємодіє з рецепторами ліпопротеїнів низької щільності (LDLR), що підвищує синтез ензиму CYP17A1 та стимулює утворення андрогенів клітинами теки [124]. Рецептор LRP8 протягом росту фолікулів забезпечує функцію поглинання холестеролу, однак, починаючи з овуляції знижується вміст mRNA і протеїну LRP8, які відсутні в жовтому тілі. Зниження або відсутність LRP8 не відповідає потребам яєчника в холестеролі протягом овуляції і лютеїнізації [125]. Проте, на відміну від LRP8, вміст рецепторів ліпопротеїнів низької (LDLR) і дуже низької (VLDLR) щільності забезпечують використання холестеролу в яєчнику і виявляються в клітинах гранульози фолікулів яєчників корів через 24 год після овуляції домінуючого фолікула і в жовтому тілі [122, 126].

### **1.3. Активність окремих ензимів енергетичного обміну і антиоксидантного захисту в репродуктивних органах та їх роль у відтворній функції самок**

Концентрації гонадотропних і стероїдних гормонів в організмі самок регулюють та впливають на активність ензимів, які беруть участь в процесах

обміну енергії, вуглеводів, протеїнів, ліпідів, а також в захисті тканин і клітин від утворених токсичних продуктів метаболізму. До таких належать: лактатдегідрогеназа – ключовий ензим гліколізу, аспартатамінотрансфераза і малатдегідрогеназа – ензими малат-аспартатного шунта, супероксидисмутаза, глутатіонпероксидаза і каталаза – ензими ензиматичної ланки антиоксидантного захисту.

**Лактатдегідрогеназа** (ЛДГ; L-лактат: НАД-оксидоредуктаза, К.Ф. 1.1.1.27) внутрішньоклітинний ензим, який виявляється в різних тканинах, таких як скелетні м'язи, серце, печінка, нирки і репродуктивні органи. Ензим каталізує окиснення L-лактату до пірувату з використанням НАД<sup>+</sup>, як акцептора Гідрогену. ЛДГ складається з двох субодиниць (Н і М), які утворюють тетрамерний протеїн. Різні поєднання цих субодиниць призводить до утворення п'яти різних молекул ЛДГ – «ізоферменти» чи «ізоформи» (ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3, ЛДГ4 і ЛДГ5), які розділяються з використанням нативного електрофорезу в поліакриламідному гелі на п'ять окремих смуг. ЛДГ1 ізоформ (Н4), виявлений в серцевому м'язі, складається з чотирьох субодиниць Н і є найлегший, а ЛДГ5 (М4) - знаходиться в скелетних м'язах та печінці і є найважчий з усіх ізоферментів, складається з чотирьох субодиниць М. ЛДГ2 (3Н1М), ЛДГ3 (2Н2М) і ЛДГ4 (1Н3М) характеризуються проміжною рухливістю та виявляються в багатьох тканинах [127].

Зокрема, активність та вміст ізоформ ЛДГ досліджені в матці (ендо- і міометрії) самок щурів [128, 129]. Гістологічними та гістохімічними дослідженнями встановлено, що ензим локалізований в основному в епітелії і субепітеліальній стромі ендометрію. Одночасно, виявлені значні відмінності активності та вмісту ізоформ ензиму в ендометрії залежно від статевого циклу. Так, порівняння активності ЛДГ з насиченістю Оксигеном тканин встановлено обернену залежність між  $pO_2$  і ензимом ендометрія. При цьому, виявлено прямий зв'язок між  $pO_2$  і вмістом Н-субодиниці в тканинах ендо- і міометрію. Активність ЛДГ підвищується в атретичних фолікулах та корелює зі

збільшенням концентрацій прогестерону і андрогенів у фолікулярній рідині [112].

*Аспаратамінотрансфераза* (АСТ; КФ 2.6.1.1, L-аспартат: 2-оксоглутарат амінотрансфераза, глутамат: оксалоацетаттрансaminaза, ГОТ), ензим, що каталізує за участю коферменту піридоксаль-5'-фосфату, обернене перенесення аміногрупи (трансамінування) від L-аспартату на  $\alpha$ -кетоглутарат з утворенням оксалоацетату і L-глутамату. Ензим виконує роль зв'язуючої ланки між протеїновим і енергетичним обмінами: продукти реакції глутамат – вихідна сполука катаболізму амінокислот, а оксалоацетат — один з головних регуляторних чинників, що характеризує швидкість функціонування циклу трикарбонових кислот. Доведено, що регулювання перетворення аспартату в глутамат чи малат здійснюється мітохондріальними транспортерами, які активуються  $\text{Ca}^{2+}$  [130].

АСТ складається переважно з двох субодиниць та існує у вигляді двох ізозимів — мітохондріального (АСТ1, М.М. ~ 89,8 кДа) і цитозольного (АСТ2, М.М. ~ 92,6 кДа), які відрізняються між собою за фізико-хімічними властивостями. Близько 1/3 загальної внутрішньоклітинної активності АСТ локалізується в цитозолі, а 2/3 — в мітохондріях [130, 131]. Ізозими АСТ є компонентами малат-аспартатного шунту, який функціонує в клітинах печінки, нирок, серця та ембріонах [130, 132]. Встановлено, що аспартат, доданий до гомогенатів яєчників активує ароматази, пришвидшує перетворення тестостерону в естрадіол, а доданий до середовища культивування - забезпечує розвиток ембріона миші до бластоцисти [133]. Також, підтверджена участь АСТ у забезпеченні розвитку плодів — збільшенні клітинної маси, відсотку приживлення і ваги ембріонів, формуванні плаценти [134]. Однак, у ендометрії нагромадження аспартату, за низької активності аспаратамінотрансферази, свідчить про понижену здатність до запліднення, приживлення ембріонів і безпліддя [135, 136]. Крім того, відсутність АСТ2 характеризує низьку дихальну активність клітин та порушення гомеостазу Феруму [137, 138]

**Малатдегідрогеназа** (МДГ; КФ 1.1.1.37, L-малат: НАД оксидоредуктаза) - ензим, який каталізує перетворення оксалоацетату і малату за участі коферментів НАД<sup>+</sup> / НАДН [139, 140]. Ензим бере участь у багатьох метаболічних процесах, у тому числі, циклі трикарбонових кислот, синтезі амінокислот, глюконеогенезі, сприяє обміну метаболітів між цитоплазмою і органелами.

Малатдегідрогеназа — це мультимерний ензим (димери або тетраметри), що складається з ідентичних субодиниць молекулярною масою 30–35 кДа. У клітині виявляють в основному дві ізоформи: одна — ензим циклу трикарбонових кислот мітохондрій, інша виявлена в цитозолі, де бере участь у малат-аспартатному шунті. Зокрема, цитозольна МДГ (МДГ1) є гомодимер, кожна субодиниця має молекулярну масу 35 кДа і містить 332 амінокислотні залишки, а мітохондріальна МДГ (МДГ2) — димер, який складається з ідентичних субодиниць з молекулярними масами 34 кДа і містить послідовність з 314 залишків амінокислот. Ізозими кодуються генами ядра, синтезуються на цитоплазматичних рибосомах. Після синтезу МДГ1 залишається в цитозолі, а МДГ2 транслокується в мітохондрії за допомогою поліпептидно-асоційованого комплексу (НАС) [141]. Всі МДГ є НАД-залежними, крім ензиму хлоропластів, який використовує НАДФ як кофермент. Крім того, дослідженнями проведеними на верблюдах та свинях сальних порід встановлено ще один цитозольний ізоформ МДГ [140, 142]. Вважають, що виявлений ізоформ бере участь у відновленні НАДФ і забезпечує синтез ліпідів. Одна з найбільш суттєвих відмінностей між МДГ1 і МДГ2 є різниця в заряді: МДГ1 характеризується більшим зарядом, ніж МДГ2. Вміст ізоформів не постійний, а утворення нових ізоформів МДГ залежить від віку, умов експерименту та діючих речовин, які впливають на окремі ланки метаболізму і в цілому на організм тварин [142, 143].

Ізоензими малатдегідрогенази – цитозольний (МДГ1) і мітохондріальний (МДГ2) відіграють ключову роль транспорті відновних еквівалентів через

мітохондріальну мембрану. Це зумовлено тим, що мембрана непроникна для оксалоацетату і нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАДН), але не для малату, який здатний проникати в мітохондрії. МДГ1 забезпечує транспортування НАДН через мітохондріальну мембрану, контролюючи цикл трикарбонових кислот. Ензим відіграє важливу роль як в малат-аспартатному шунті, так і в циклі лимонної кислоти у всіх аеробних тканинах ссавців [144]. Малат-аспартатний шунт забезпечує передачу НАДН по внутрішній мітохондрії для окислення і відновлює  $\text{НАД}^+$  в цитоплазмі, який використовується для перетворення лактату в піруват.

Малатдегідрогеназа виявлена в репродуктивних органах самок. Встановлено, що малат-аспартатний шунт є ключовим регулятором метаболізму ембріонів [137, 145]. Виявлено, що ооцити і переїмплантаційні ембріони миші експресують мРНК цитозольної і мітохондріальної МДГ. Активність ензиму забезпечує ріст і розвиток ооцитів, ембріонів та їх приживлення [146, 147, 148, 149]. За культивування клітин гранульози виявлено зі зростанням активності малатдегідрогенази збільшення концентрації тестостерону і естрадіолу [150].

З розвитком сітки кровоносних судин зростає постачання і використання  $\text{O}_2$  та субстратів для забезпечення енергетичних і пластичних потреб тканин та клітин репродуктивних органів. Одночасно підвищується й інтенсивність окисно-відновних процесів, які характеризуються утворенням активних форм Оксигену (АФО). При цьому, коливання інтенсивності окисно-відновних процесів за фізіологічних та патологічних змін в репродуктивних органах зумовлює утворення продуктів пероксидного окиснення. Зокрема, дослідженнями вмісту ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду; МДА) у тканинах яєчників телиць і корів за фізіологічного перебігу статевого циклу виявлено найвищий рівень МДА у лютеальну стадію в тканинах жовтого тіла і яєчника, а найнижчий – у навколоплідній рідині тільних корів. За персистентного жовтого тіла і гіпофункції яєчників високий вміст ТБК-

активних продуктів встановлено у тканинах жовтого тіла та яєчниках [151]. Дослідженням вмісту МДА у фолікулярній рідині з різних за розміром фолікулів, встановлено, що величина значення досліджуваного показника у середніх і великих фолікулах однакова, але у невеликих фолікулах за фолікулярної фази вона нижча, ніж за лютеїнової [152, 153]. При цьому, одною з причин підвищення пероксидного окиснення ліпідів у тканинах фолікулів може бути гальмуванням утворення естрадіолу, оскільки дія гормону характеризується антиоксидантними властивостями [154]. Аналогічно, ІФР-1 проявляє протекторну дію на пероксидне окиснення ліпідів *in vitro*.

На рівень утворення АФО та продуктів пероксидного окиснення, й відповідно, функціонування репродуктивних органів самок (яєчника, яйцепроводів, матки), дозрівання та запліднення ооцитів і розвиток плода впливає активність системи антиоксидантного захисту (АОЗ; ензиматичної та не ензиматичної ланок) [155, 156, 157]. До компонентів ензиматичної ланки антиоксидантного захисту, які знижують негативний вплив і регулюють нагромадження АФО в організмі належать супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (ГПО) і каталаза (КАТ).

**Супероксиддисмутаза** (СОД; КФ 1.15. 1. 1.) – ензим, який в клітинах перетворює супероксиданіон у Гідроген пероксид та кисень. СОД, залежно від місця локалізації в клітині, існує у трьох формах, які характеризуються різними структурами, регуляцією, локалізацією та функціями [158]. Зокрема, виявлено цитозольний (Cu,Zn-СОД), мітохондріальний (Mn-СОД; МСОД) і позаклітинний (ЕСОД) ізоформи СОД [159, 160]. Cu,Zn-СОД є неглікозильовані гомодимери (32 кДа), які становлять приблизно 90% від загальної активності СОД в еукаріотичних клітинах. Крім того, цитозольний ізоформ виявлений в органелах: лізосомах, пероксисомах і ядрі. Існують докази, що Cu,Zn-СОД (приблизно 2%) знаходиться і в міжмембранному просторі мітохондрій для забезпечення додаткового захисту від АФО та запобігання витоку супероксидних радикалів з мітохондрій [161, 162].

Mn-SOD (88 кДа) знаходиться в мітохондріях та індукується в еукаріот після обробки опроміненням, і після індукції гіпероксії Mn-SOD захищає від окиснювального стресу органели [163]. Крім того, Mn-SOD зменшується в багатьох типах ракових клітин, а збільшення рівнів вказаного ізоциму змінює перебіг раку [164].

ЕСОД це глікозилізований ізоцим ензиму з високою молекулярною масою гомотетрамера (155 кДа). В активний центр ЕСОД входять Купрум та Цинк і вказаний ізоцим локалізується у позаклітинному матриксі багатьох тканин. На відміну від інших ізоцимів, ЕСОД спорідненена до гепаринсульфатпротеогліканів, розташованих на поверхні клітин і позаклітинного матриксу через його гепарин-зв'язуючий домен [165]. Гепарин-зв'язуючий домен має важливе значення, оскільки опосередковує своє зв'язування з клітинами ЕСОД.

Активність та ізоцими ензиму виявляються у фолікулах і репродуктивних органах самок, а величини значень їх залежать від численних факторів. Зокрема, встановлено, що активність СОД у фолікулярній рідині свиноматок знижується зі збільшенням розміру фолікула [166], а у жінок - підвищення активності ензиму корелює з низьким рівнем запліднення [167]. Активність СОД під час фолікулогенезу проявляє значні коливання, а найнижча величина значення ензиму характерна для великих фолікулів [168].

При дослідженні впливу ізоцимів СОД на відтворну функцію самок виявлено, що за відсутності цитозольної СОД миші субфертильні, у яєчниках зменшується кількість передовуляторних фолікулів і жовтих тіл. За відсутності мітохондріальної СОД самки втрачають здатність до статевого дозрівання [169].

Дослідженням експресії СОД впродовж фолікулогенезу в корів встановлено присутність трьох ізоцимів ензиму в клітинах гранульози та ооцит-кумуляосних комплексах з різних за розміром фолікулів: від малих (2,5 мм) до середніх (6,8 мм) і великих (більше 8 мм) [170]. При цьому, вивченням вмісту

ізозимів і активності СОД у фолікулах яєчників корів встановлено вищі величини значень досліджуваних показників у антральній рідині з малих фолікулів. Проте, вміст позаклітинного ізозиму СОД був підвищений в ооцитах і клітинах гранульози з великих фолікулів, порівняно з малими. Також, при дослідженні культури клітин гранульози з фолікулів яєчників «фолікулярного росту» встановлено вищий вміст ізозимів супероксиддисмутази — цитозольних (СОД1, СОД2) і екзоцелюлярного (СОД5) [150].

Дослідженням активності і вмісту ізозимів СОД та каталази клітин гранульози з фолікулів яєчників жінок різного віку (27–32 і 38–41 років), встановлено, що рівні мРНК, яка кодує супероксиддисмутази, Cu,Zn-СОД, Mn-СОД і каталазу значно знижені у жінок старше 38 років. Встановлені зміни пов'язані зі зменшенням протеїнів Cu,Zn-СОД, Mn-СОД і каталази. При дослідженні ультраструктури, більшість клітин гранульози старшої групи характеризуються дефектами мітохондрій і зниженням ліпідів, порівняно з молодшими [171].

Встановлена залежність активності ензиму від маніпуляцій за гіперстимуляції відтворної функції у жінок [152]. Активність СОД (Cu,Zn-СОД і Mn-СОД) виявлена в жовтому тілі. Встановлено, що експресію СОД стимулює пролактин (PRL і PRL-подібні гормони), який, тим самим, захищає від АФК лютеїнові клітини та забезпечує стероїдогенез [172]. При дослідженні активності супероксиддисмутази у тканинах матки свиноматок: ендометрії і міометрії виявлено, що вона змінюється впродовж відтворного циклу [173]. При цьому, вища активність СОД у період імплантації та на початку плацентації проявляється у ендометрії на ділянках середини і верхівки рогів матки, порівняно з основою.

**Глутатіонпероксидаза** (ГПО; КФ 1.11.1.9). Глутатионпероксидази (ГПО) є групою селенопротеїнів, які каталізують перетворення пероксидів [174]. Зокрема, цитозольна глутатіонпероксидаза (ГПО) є селенопротеїн,



вперше описаний як ензим, який захищає гемоглобін еритроцитів від окисної деструкції [175].

Виявлено п'ять ізозимів ГПО у ссавців. Зокрема, ГПО1 (найбільш поширені пероксидази), ГПО2 (переважно виявляються в шлунково-кишковому тракті), ГПО3 (в плазмі ГПО3) і ГПО4 (зв'язаний з мембраною протеїн, також називають фосфоліпідглутатіонпероксидаза; PHGPx). ГПО4 це єдиний ензим, який здатний знищувати пероксиди ліпідів, які утворюються в мембранах клітин [176].

Для забезпечення активності ГПО необхідні глутатіонредуктаза і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа та кофактори (відновлений глутатіон, НАДФН і глюкозо-6-фосфат). ГПО вважається основним ензимом, який руйнує  $H_2O_2$ . Надлишкова експресія ензиму захищає клітини від окислювального стресу, пригнічує апоптоз, індукований  $H_2O_2$ .

Протеїни ГПО експресуються у фолікулах яєчників корів. Оцінюванням за допомогою імуноблотингу ГПО в фолікулярній рідині та гранульозі з маленьких (2–5 мм), середніх (6–8 мм) та великих (більше 8 мм) фолікулів встановлено, що в фолікулярній рідині низька активність ензиму. Поряд з цим, в лізатах клітин гранульози виявлено підвищення активності ензиму зі збільшенням розміру фолікулів [177]. Подібні результати отримані за дослідження культури клітин гранульози з фолікулів яєчників «фолікулярного росту», в якій встановлено вищий вміст ізозимів глутатіонпероксидази — ГПО1 і ГПО2 [150].

Встановлено, що фолікули з яких отримували ооцити і були запліднені *in vitro* характеризувались вищою активністю ГПО, порівняно з фолікулами з яких ооцити не запліднились [178, 152].

При вивченні активності ГПО у фолікулярній рідині малих, середніх і великих фолікулів свиней виявлено значно вищі рівні ензиму в малих фолікулах порівняно з середніми та великими [166].

Існують дані про контроль рівнів ПОЛ у кожному фолікулі впродовж

розвитку, а одним з механізмів контролю є зниження активності ГПО та вмісту ГПО4 й зміна співвідношень між ізозимами ензиму в фолікулярній рідині корів [176].

**Каталаза** (КАТ; КФ 1.11.1.6,  $\text{H}_2\text{O}_2$ :  $\text{H}_2\text{O}_2$ -оксидоредуктаза) перетворює Гідрогену пероксид на воду і кисень. Каталаза є гомотетрамер з молекулярною масою (залежно від об'єкта з якого вона виділена) в межах від 225 до 270 кДа і складається з чотирьох субодиниць (ММ  $\sim$  60 кДа), кожна з яких містить гем Феруму. Різниця між каталазами залежить від розміру субодиниць, кількості четвертинних структур, різницями зв'язку з гемом. Ензим розділено на чотири основні групи: «класичні» монофункціональні ензими (тип А), каталази-пероксидази (тип В), не гемові каталази (тип С) і протеїни з незначними каталітичними діями (тип D) [179].

Синтез КАТ проходить в три етапи: 1) апо-мономери + гем  $\rightarrow$  гомомономери; 2) гомомономери  $\rightarrow$  гомодимери і 3) гомодимери  $\rightarrow$  гомотетрамери. Транспорт синтезованих мономерів ензиму в пероксисоми здійснюється за допомогою транспортного протеїну PEX5 [180]. Активність КАТ в значній мірі локалізована в субклітинних органелах - пероксисомах.

Цільова доставка каталази пригнічує поширення метастазів у печінці і знижує активність матриксних металопротеїназ (ММП). На противагу, зниження активності ензиму корелює з виникненням злоякісних утворень [181]. Підвищена активність КАТ гальмує як активність СОД, так і Mn-СОД-залежну експресію металопротеїназ [182].

Встановлено, що в клітинах гранульози зі збільшенням розмірів фолікулів у яєчниках свиноматок [183] і кіз [184] зростає активність каталази, що вказує на зміни активності ензиму за фолікулогенезу.

Протеїни КАТ експресуються у фолікулах яєчників корів. Встановлено, що активність ензиму найбільш висока в фолікулярній рідині малих фолікулів, порівняно з середніми і великими. При цьому, рівні  $\text{H}_2\text{O}_2$  були найнижчими у великих, порівняно з малими та середніми фолікулами [185]. При оцінюванні за

допомогою імуноблотингу КАТ в фолікулярній рідині та гранульозі з маленьких (2–5 мм), середніх (6–8 мм) та великих (більше 8 мм) фолікулів встановлено, що вищою активністю характеризуються зразки з малих, порівняно з середніми та великими антральними фолікулами. Поряд з цим, дослідженням активності ензиму в лізатах клітин гранульози не виявлено відмінностей залежно від розміру фолікулів [177]. Проте, у культурі гранульози з фолікулів яєчників корів за фізіологічного стану «фолікулярного росту» встановлено вищий вміст ізозиму каталази — КАТ1 [150].

Доведено, що активність КАТ залежить від типу тканини та віку [186]. Зокрема, у літніх пацієнтів у фолікулярній рідині понижена активність ензиму, порівняно з молодими [187]. Відрізняється активність КАТ у фолікулярній рідині та з просвіту матки корів за фізіологічного перебігу статевого циклу, величина значення якої підвищена за овуляції [188]. Активність ензиму залежить і від стану обміну речовин в організмі самок. Зокрема, активність каталази вища у фолікулярній рідині жінок з ожирінням, порівняно з неповними [189].

#### **1.4. Вибір напрямку досліджень**

Як впливає з огляду джерел літератури, перебіг та регулювання відтворного циклу самок, в тому числі й корів, забезпечується складними фізіологічними і біохімічними процесами, які включають виділення гонадотропних гормонів, їх транспорт кров'яним руслом, впливом на гормон-чутливі тканини і клітини та реакцією-відповіддю їх на дію гормональних чинників. ФСГ і ЛГ, через власні рецептори, впливають на енергетичний обмін та стероїдогенез клітин теки та гранульози фолікулів, тканин репродуктивної системи: яєчників, яйцепроводів і матки. Утворення стероїдних гормонів, своєю чергою, стимулює метаболізм клітин фолікула і дозрівання ооцита,

овуляцію, що проявляється зміною поведінки телиць й корів та характерними проявами статевого циклу.

Однак, залежно від продуктивності, пори року, віку, умов утримання та годівлі, захворювань репродуктивних органів змінюється синтез гонадотропних і стероїдних гормонів. Своєю чергою, знижуються інтенсивність використання субстратів і синтетичні процеси та активується вільнорадикальне окиснення структурних компонентів тканин, що проявляється зниженням функції яєчників і подовженням відтворного циклу. Тому, важливим є встановлення причинно-наслідкових зв'язків виникнення дисфункції статевих залоз у корів на основі дослідження концентрації гонадотропних та стероїдних гормонів, активності й ізозимів окремих ензимів енергетичного обміну і антиоксидантного захисту в крові та тканинах репродуктивних органів залежно від фізіологічного перебігу статевого циклу й гіпофункції яєчників.

Крім того, як впливає з огляду літератури, клітини фолікулів продукують стероїдні гормони й інші протеїнові чинники, а інтенсивність стероїдогенезу залежить від розміру фолікулів з яких вони отримані. При цьому, для культивування клітин гранульози і теки використовуються середовища збагачені протеїнами (альбуміном чи фолікулярною рідиною) та біологічно активними речовинами, які стимулюють їх ріст. Збагачене гормонами і біологічно активними речовинами середовище культивування може слугувати джерелом сировини, використання якої може стимулювати репродуктивну функцію самок.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Відбір матеріалу та схема проведення досліджень

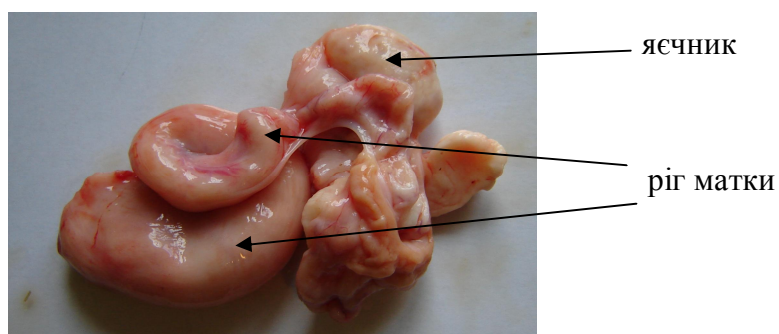
Дослідження з теми дисертаційної роботи проведені протягом 2008–2015 років в лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії та віварії Інституту біології тварин НААН, Державному підприємстві «ДГ «Миклашів» Інституту сільського господарства карпатського регіону, м'ясопереробному підприємстві ТзОВ «Пустомитим'ясо».

Для дослідження ензимів енергетичного обміну та антиоксидантного захисту в репродуктивних органах та антральній рідині фолікулів яєчників корів української молочної чорно-рябої породи ( $n = 157$ ) сформували групи тварин-аналогів за віком (5–8 років) і живою масою (450–500 кг), які утримувались за умов нормованої годівлі. Крім того, для оцінювання ефективності дії сировини для виготовлення прототипу препарату зі стимулювання репродуктивної функції сформували групи самок білих мишей ( $n = 15$ ) та щурів (*Rattus norvegicus* var. *Alba*, лінії Wistar;  $n = 12$ ; віком 1 місяць).

Корів, після ветеринарного огляду (клінічно здорові, без видимих проявів захворювань, слизові блідо-рожевого кольору, без видимих уражень) і оцінювання загального фізіологічного стану забивали на м'ясопереробних підприємствах відповідно до технологічного процесу, а лабораторних тварин – шляхом декапітації під хлороформним наркозом.

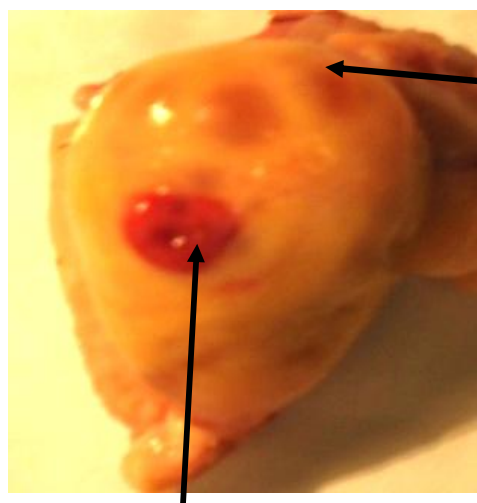
У корів відбирали: до забою – кров з яремної вени у пробірки з гепарином; після забою – яєчники, які оцінювали візуально і за фізіологічним станом ділили на групи [190]: з «раннім жовтим тілом», діаметр 10–20 мм, колір червоний або брунатний (РЖТ;  $n = 41$ ); з «пізнім жовтим тілом», діаметр

5–15 мм, колір жовтий (ПЖТ; n = 32); «фолікулярного росту», без жовтого тіла (ФР; n = 84) і, відповідно, верхню третину рогу матки (рис. 2.1). Відповідно,



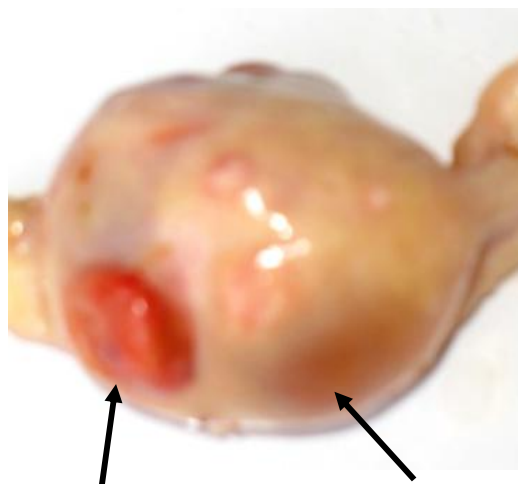
**Рис. 2.1. Яєчник з верхньою третиною матки**

зовнішній вигляд жовтого тіла характеризував стадії статевого циклу корів: метеструс, дієструс, проєструс [191]. Крім того, відбирали статеві залози і верхню третину рогу матки у корів з порушеним статевим циклом – гіпофункцією яєчників (рис. 2. 2).



формування  
(раннє) жовтого  
тіла А

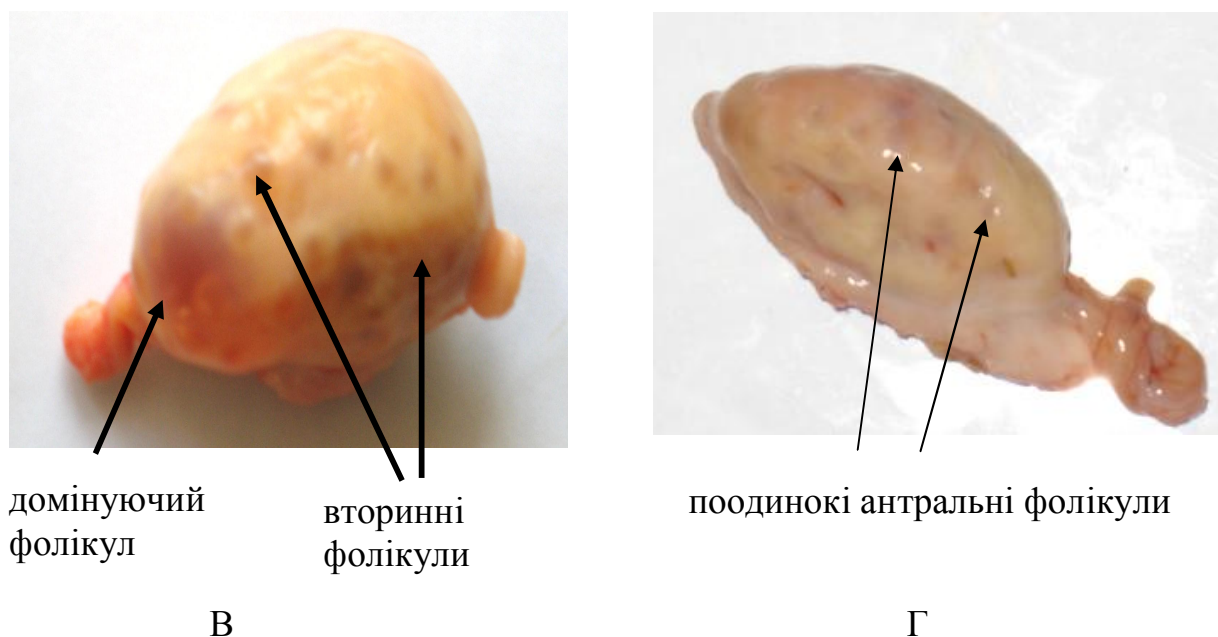
вторинні,  
середньо  
го  
розміру,  
фолікули



пізнє жовте

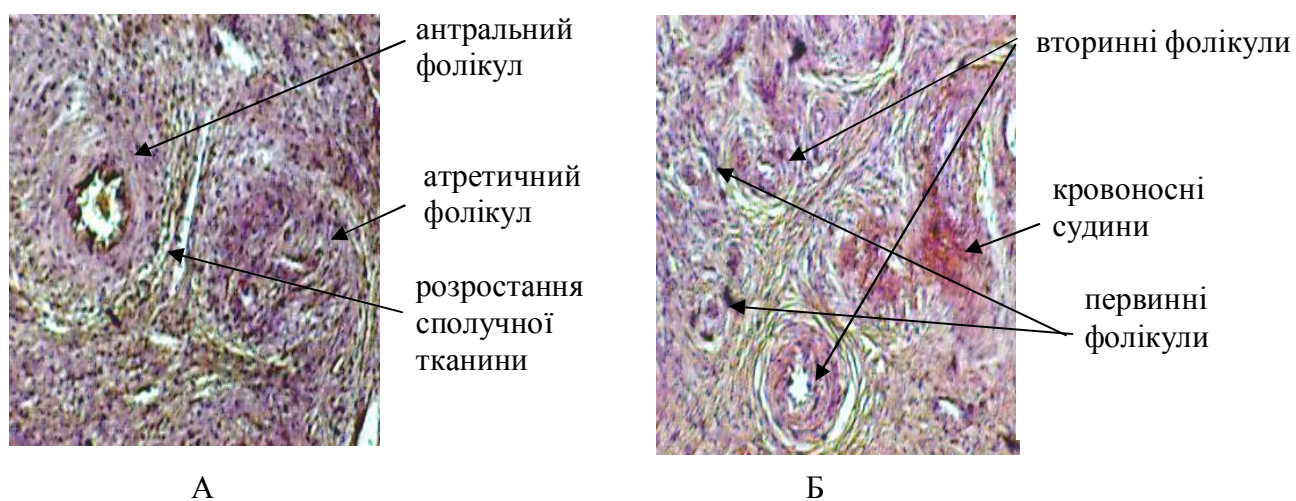
домінуючий  
(ростучий) фолікул

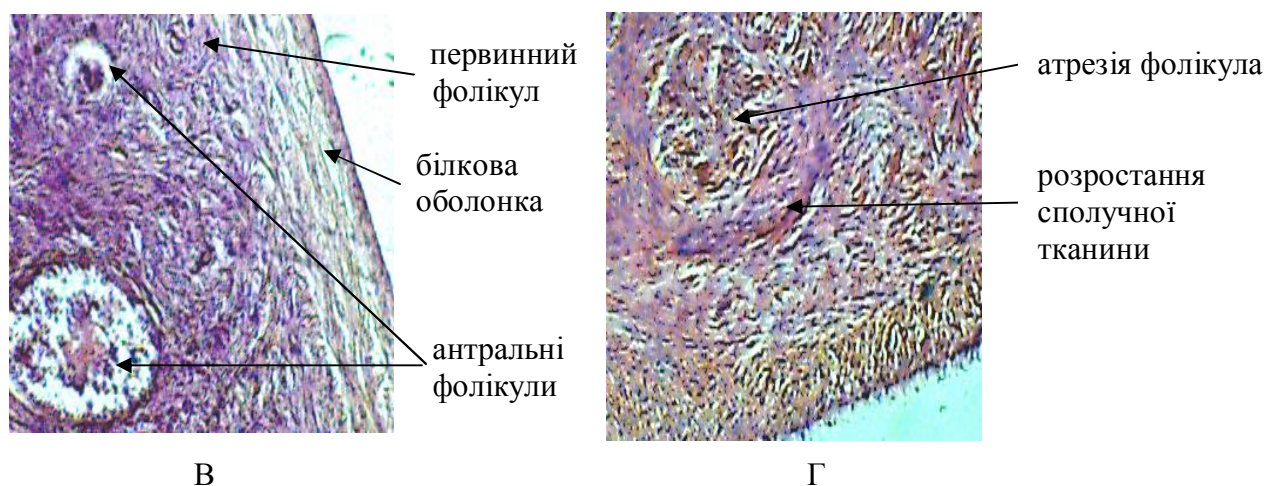
Б



**Рис. 2. 2. Класифікація яєчників за станом: А – «раннє жовте тіло»; Б – «пізнє жовте тіло»; В – «фолікулярний ріст»; Г - гіпофункція.**

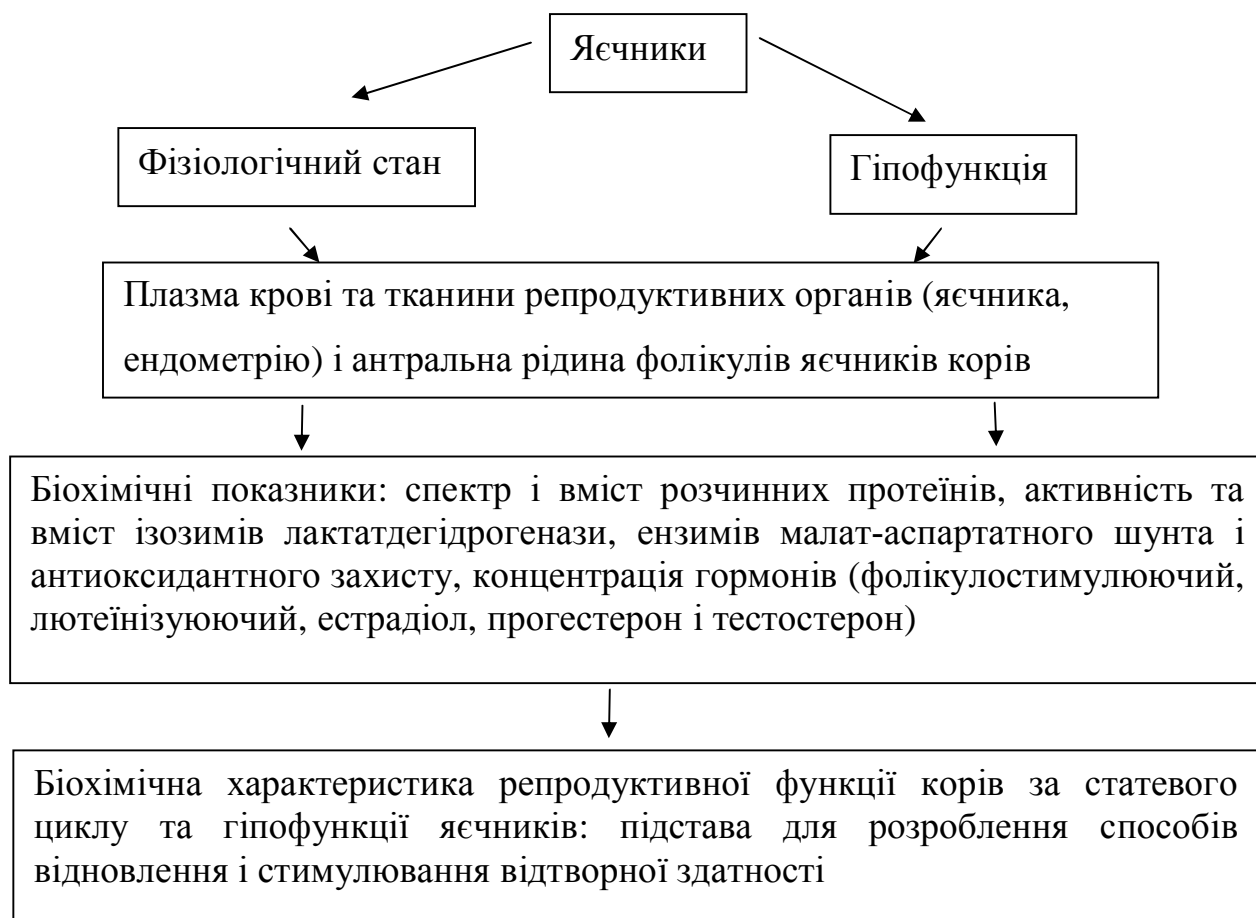
Діагноз встановлювали на основі анамнезу: первинних записів техніка зі штучного осіменіння (не приходили в охоту 90 і більше днів після отелення, феномени стадії збудження статевого циклу не проявляються) та оцінюванням стану статевих залоз ректальними дослідженнями (на поверхні статевої залози фолікули не пальпуються, тканина пружна). Підтверджували діагноз: дослідженнями концентрації статевих гормонів у плазмі крові, а після забою корів - гістологічними дослідженнями (рис. 2.3).





**Рис. 2.3. Мікроструктура яєчника великої рогатої худоби:** А – «раннє жовте тіло»; Б – «пізнє жовте тіло»; В – «фолікулярний ріст»; Г – гіпофункція яєчника (розростання сполучної тканини у фолікулярному шарі). Гематоксилін - еозин x 100.

Схема досліджень наведена на рис. 2.4.



**Рис. 2.4. Схема досліджень**



## **2.2. Приготування гомогенатів тканин репродуктивних органів корів та дослідження біохімічних показників**

Для досліджень, з урахуванням фізіологічного стану статевої залози та гіпофункції, відбирали: тканину яєчників, слизову матки з верхньої третини рогу, антральну рідину з фолікулів діаметром до 4мм (малі), 4–7мм (середні) і більше 7мм (великі). Зразки готували: антральну рідину аспірували залежно від розміру фолікулів; слизову матки з верхньої третини рогу матки відпрепарували від міометрію; тканину яєчників, після аспірації антральної рідини, промивали фізіологічним розчином за температури 2–4 °С. З тканини яєчника та ендометрію готували гомогенат: подрібнені тканини промивали 0,9%-вим розчином натрію хлориду і додавали 1:1 (вага : об'єм) охолоджений до 4 °С 0,25 М розчин сахарози і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера. Отриманий гомогенат центрифугували при 3000 об/хв. Відбирали надосадову рідину для досліджень біохімічних показників.

Для досягнення мети дисертаційної роботи досліджували: вміст і спектр розчинних протеїнів, активність та вміст ізозимів лактатдегідрогенази (ЛДГ), малат-аспартатного шунта, ензимів антиоксидантного захисту (СОД, КАТ, ГПО), концентрацію статевих гормонів (фолікулостимулюючий, лютеїнізуючий, естрадіол, прогестерон і тестостерон) та гістоструктуру репродуктивних органів піддослідних тварин.

**2.2.1. Визначення вмісту загального протеїну та його спектру.** Вміст загального протеїну визначали у плазмі крові – біуретовим реактивом (г/л), а в гомогенатах тканин чи антральній рідині методом Лоурі [192] (мг/мл гомогенат чи антральної рідини), якісний та кількісний вміст фракцій розчинних протеїнів – методом вертикального електрофорезу в пластинах 7,5 % поліакриламідного гелю (ПААГ). Проби для електрофорезу готували: в 7,5 % ПААГ: 0,1 мл плазми крові розбавляли 1:12 електродним буфером (рН 8,5), гомогенату тканини чи антральної рідини 0,1 мл розбавляли 1:4 електродним буфером (рН 8,5); 0,1 мл

проби змішували з аналогічною кількістю 40% сахарози, в лунки концентруючого гелю вносили 0,02 мл (~ 150–200 мкг білка). Маркерний барвник – 0,01 % розчин бромфенолового синього доданий в електродний буфер перед розбавленням проб. Після електрофорезу гелі фіксували і одночасно фарбували в 12,5 % трихлороцтовій кислоті з 0,25 % водним розчином кумасі R 250. Аналіз вмісту фракцій розчинних протеїнів (%) проводили з використанням програмного забезпечення TotalLab TL120.

### **2.2.2. Дослідження активності та вмісту ізозимів ензимів в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів.**

*Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ)* визначали за швидкістю окиснення НАДН [193]. До 1,5 мл 62,5 мМ Трис-НСІ буферу (рН 7,4), що містить 1,5 мМ пірувату і 6,25 мМ Na<sub>2</sub>ЕДТА, додавали 20 мкл зразка, а в контрольну кювету дистильованої води. Після преінкубування 3 хв при 37°C, в дослідну кювету додавали 375 мкл 0,2 мМ НАДН і вимірювали абсорбцію протягом 5 хв. Розраховували активність ензиму, з урахуванням розведення біологічного матеріалу в пробі і коефіцієнту молярної абсорбції НАДН при 340 нм ( $6,22 \times 10^3$  М<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>), в мікромоль використаного в реакції НАДН за формулою:

$$\frac{\Delta A \times V_1}{6,22 \times V_2 \times C \times t} = (\text{мкмоль} / \text{хв} \times \text{мг протеїну}), \text{ де: } \Delta A - \text{зміна абсорбцій за хв; } 6,22 -$$

коефіцієнт мікромольної абсорбції НАДН при 340 нм; V<sub>1</sub> – об'єм інкубаційної суміші в кюветі, мл; С – концентрація протеїну в V<sub>1</sub>, мг/мл; V<sub>2</sub> – об'єм зразка, мл, t – час інкубування, хв.

*Активність малатдегідрогенази (МДГ)* визначали за швидкістю окислення НАДН [193]. До 2,8 мл 50 мМ Трис-НСІ буферу (рН 8,0) додавали 0,1 мл 3 мМ оксалоацетату та 0,05 мл зразка, а в контрольну кювету дистильованої води. Після преінкубування 3 хв при 37°C, в дослідну кювету додавали 0,05 мл 0,2 мМ НАДН і вимірювали абсорбцію впродовж 15 хв. Активність ензиму розраховували з урахуванням розведення біологічного матеріалу в пробі і коефіцієнту мікромольної абсорбції НАДН при 340 нм

(6,22 см<sup>2</sup>/мкМ) в мікромоль використаного в реакції НАДН за формулою:

$$\frac{\Delta A \times V_1}{6,22 \times V_2 \times C} = (\text{мкмоль/хв} \times \text{мг протеїну}) \quad \text{де: } \Delta A - \text{зміна абсорбцій за хв; } 6,22 -$$

коефіцієнт мікромольної абсорбції НАДН при 340 нм;  $V_1$  – об'єм інкубаційної суміші в кюветі, мл;  $C$  – концентрація протеїну в  $V_1$ , мг/мл;  $V_2$  – об'єм зразка, мл.

**Активність аспаратамінотрансферази (АСТ)** визначали за Reitmann S. та Frankel S. [194, 195]. До 0,25 мл субстратного розчину (0,2 М D,L-аспартат, 2 мМ 2-оксоглутарат в 0,1 М фосфатному буфері, рН 7,4) додавали 0,05 мл зразка (розведення в 4 рази), а в контрольну пробу фізіологічного розчину та інкубували 60 хв за 37°C, після чого додавали 0,25 мл 1 мМ розчину 2,4-динітрофенілгідрозину в 1 М НСl, через 20 хв – 2,5 мл 0,4 М розчину NaOH та через 10 хв вимірювали оптичну густину за 546 нм проти дистильованої води в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Активність АСТ визначали за допомогою калібрувальної кривої та виражали в мкмоль/хв×мг протеїну.

**Активність супероксиддисмутази (СОД)** визначали за кількістю нітроформазану, що утворюється в реакції між феназинметасульфатом та НАДН [196]. Готували проби: до 0,05 мл зразка додавали 0,45 мл дистильованої води, 0,25 мл C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (99 %), 0,125 мл хлороформу, 100 мг КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, перемішували та центрифугували 30 хв при 4000–5000 об/хв за температури 4°C. Активність СОД визначали в супернатанті за температури 25°C. До 1,5 мл інкубаційної суміші (12,4 мг ЕДТА-Na<sub>2</sub>, 110 мг нітротетразолію синього (Sigma, USA, N 6876), НСТ, 18,4 мг феназинметасульфату (ФМС) в 100 мл 0,15 М Na/K фосфатного буферу (рН 7,8) додавали 0,1 мл супернатанту та 0,04 мл 0,05 мМ розчину НАДН (3,1 мг НАДН розчиняли в 2 мл 1 мМ трис-ЕДТА буферу; рН 8,0). В контрольну пробу додавали 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв після додавання всіх реагентів вимірювали абсорбцію контрольної та дослідної проб за довжини хвилі 540 нм на спектрофотометрі СФ-46 проти дистильованої

води в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Відсоток гальмування реакції утворення нітроформазану розраховували за формулою:

$$\frac{A_{\text{конт.пр.}} - A_{\text{досл.пр.}}}{A_{\text{конт.пр.}}} \times 100 = \begin{array}{l} \text{відсоток гальмування реакції} \\ \text{утворення нітроформазану} \end{array} ; \text{ де } A - \text{абсорбція.}$$

Активність СОД визначали за допомогою калібрувальної кривої з стандартними розчинами СОД ("Sigma", США; C1345) та виражали в МО/ мг протеїну.

**Активність глутатіонпероксидази (ГПО)** визначали з використанням реактиву Елмана [197]. До 0,83 мл інкубаційної суміші (4,8 мМ Г-SH, 6 мМ ЕДТА-Na<sub>2</sub> та 12 мМ азид натрію у 0,1 М Трис-НСІ буфері, яку готували безпосередньо перед визначенням) додавали 0,1 мл зразка та інкубували 10 хв за 37°C; додавали 0,07 мл 20 мМ розчину гідропероксиду третинного бутилу та продовжували інкубувати ще 5 хв. Реакцію зупиняли 0,2 мл 20 % розчином трихлороцтової кислоти. Центрифугували 5 хв за 4000 об/хв. До 5 мл 0,1 М Трис-НСІ буферу (рН 8,5) додавали 0,05 мл супернатанту та 0,05 мл реактиву Елмана (0,01 М розчин ДТНБК у метанолі). Через 5 хв проби фотометрували при 412 нм на СФ-46 проти дистильованої води в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. У контрольну пробу зразок вносили перед осадженням протеїнів. З урахуванням розведення біологічного матеріалу в пробі і коефіцієнту мікромолярної абсорбції тіонітрофенільного аніону (ТНФА) за 412 нм (11,4 см<sup>2</sup>/мкМ) розраховували активність ензиму в мікромоль використаного в реакції субстрату (Г-SH) за формулою:

$$\frac{\Delta A \times V_1 \times V_3}{11,4 \times V_2 \times V_4 \times C \times t} = (\text{мкмоль} / \text{хв} \times \text{мг протеїну}) \text{ де: } \Delta A - \text{різниця абсорбцій}$$

контрольної і дослідної проб; V<sub>1</sub> – V супернатанту + V Трис/НСІ буферу + V реактиву Елмана, мл; V<sub>2</sub> – об'єм зразка, мл; V<sub>3</sub> – V зразка + V інкубаційної суміші + V розчину гідропероксиду третинного бутилу + V розчину ТХО, мл; V<sub>4</sub> – об'єм супернатанту, мл; 11,4 – коефіцієнт мікромолярної абсорбції ТНФА за 412 нм; С – концентрація протеїну, мг/мл; t – час інкубації з реактивом Елмана, хв.

**Активність каталази (КАТ)** визначали методом Королюк М. А. та співавт. [198]. До 2,0 мл 0,03 % розчину  $\text{H}_2\text{O}_2$  додавали 0,1 мл зразка та інкубували 10 хв при 25 °С. Після чого додавали 1,0 мл 4 % розчину молібдату амонію в 0,01 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  та зупиняли реакцію 1,0 мл 0,1 н розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . В контрольну пробу розчин молібдату амонію додавали до, а в зразок – після інкубування. Після центрифугування (5 хв за 4000 об/хв) в супернатанті вимірювали інтенсивність екстинкції за 410 нм на СФ-46 проти дистильованої води. З урахуванням розведення біологічного матеріалу і коефіцієнту мілімолярної абсорбції комплексу пероксиду Гідрогену з молібдатовим амонієм за 410 нм – 110,6 розраховували активність ензиму в мілімоль використаного в реакції субстрату ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) за формулою: 
$$\frac{\Delta A \times V_1}{110,6 \times t \times V_2 \times C} = (\text{ммоль} / \text{хв} \times \text{мг протеїну}),$$

де  $\Delta A$  – різниця абсорбцій контрольної і дослідної проб;  $V_1$  – об'єм суміші в кюветі, мл;  $V_2$  – об'єм зразка, мл; 110,6 - коефіцієнт мілімолярної абсорбції комплексу молібдату амонію з пероксидом гідрогену при 410 нм;  $C$  – концентрація протеїну, мг/мл;  $t$  – час інкубування, хв.

Вміст ізозимів встановлювали після вертикального електрофорезу протеїнів зразків у пластинах поліакриламідного гелю (ПААГ). Кров, гомогенати тканин і антральну рідину розбавляли 1:1 Трис-гліциновим буфером (рН 8,5) і додавали 0,05 мл 40 % сахарози. У лунки концентруючого гелю вносили 0,02 мл проби (концентрація протеїну ~ 100 мкг).

Для виявлення **ізозимів ЛДГ** проводили електрофорез у 7,5 % ПААГ: Після електрофорезу фарбували ПААГ за J. Garbus [199]: інкубували 60 хв в темноті при температурі 37°C в інкубаційному середовищі: 0,1 мг/мл ФМС, 0,2 М лактату, 0,5 мг / мл  $\text{НАД}^+$  та 0,5 мг / мл НСТ в 0,1 М Трис /  $\text{HCl}$  буфері (рН 8,5). В місцях локалізації ензиму гель набуває фіолетового забарвлення [200]. Як маркер ізоензимного складу використані гемолізати еритроцитів крові корів.

**Ізозими МДГ** виявляли після електрофорезу в 7,5 % ПААГ. Після електрофорезу фарбували ПААГ за J. Garbus [199]: інкубували 60 хв в темноті

за температури 37°C в інкубаційному середовищі: 0,1 мг/мл ФМС, 0,2 М малату, 0,5 мг/мл НАД<sup>+</sup> та 0,5 мг/мл НСТ в 0,1 М Трис/НСІ буфері (рН 8,5). У місцях локалізації ензиму гель набуває фіолетового забарвлення.

Для виявлення **ізозимів АСТ** проводили електрофорез у 7,5 % ПААГ. Після електрофорезу фарбували ПААГ [195, 201]: інкубували 30 хв за температури 37 °С у середовищі: 0,5 мг/мл піридоксаль-5-фосфату, 30 мг/мл альбуміну, 0,2 М L,D-аспартату, 0,1 М α-кетоглутарату та 150 мг діазолію синього С (міцного синього В) у 50 мл 0,2 М Na/K фосфатного буферу (рН 7,5). Зони АСТ зафарбовуються в червоно-коричневий колір. Після фарбування гелі фіксували 20 хв в 7 % розчині трихлороцтової кислоти, а залишки незв'язаної фарби відмивали в 7 % розчині оцтової кислоти.

**Ізозими СОД** виявляли після електрофорезу в 10 % ПААГ. Після електрофорезу пластин гелю для виявлення ізоформ СОД фарбували модифікованим методом Beauchamp С. та Fridovich I. [202, 195].

**Ізозими ГПО** виявляли після електрофорезу в 7,5 % ПААГ: пластини гелю інкубували у суміші з 50 мМ Трис-НСІ буфері (рН7,9), 3 мМ відновленого глутатіону, 0,004% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1,2 мМ НСТ і 1,6 мМ ФМС протягом 45 хв. Незафарбовані смуги ензиму проявлялися на фіолетово-синьому фоні [203].

Ізозими ензимів антиоксидантного захисту ідентифікували за С. J. Weydert et al. [204].

**Ізозими КАТ** виявляли після електрофорезу в 7,5 % ПААГ: пластини гелю фарбували за методом W. Wodbury [205] — витримували 45 хв в дистильованій воді, насичували 10 хв 0,003 % розчином пероксиду Гідрогену, тричі промивали водою та за кімнатної температури в темноті інкубували 15 хв в середовищі, що містило 1 % розчин ферриціаніду калію (III) та Феруму хлориду. Після фарбування ПААГ на синьо-зеленому фоні місця локалізації протеїнів каталази проявляються яскраво-жовтими смугами.

Вміст ізозимів ензимів (%) визначали з використання програмного забезпечення TotalLab TL120.

**2.3. Визначення концентрації статевих гормонів у біологічних рідинах (плазмі крові, антральній рідині фолікулів яєчників корів і середовищі культивування клітин) та гомогенатах репродуктивних органів.** Для досягнення мети досліджень визначали концентрацію гормонів: у плазмі крові, антральній рідині та середовищі культивування клітин антральної рідини з фолікулів яєчників корів — фолікулоstimулюючого (ФСГ) і лютеїнізуючого (ЛГ) – МО/л, прогестерону (П) і тестостерону (Т) – нг/мл, естрадіолу (Е2) – пг/мл (в антральній рідині та середовищі культивування клітин – нг/мл), а в гомогенатах тканин репродуктивних органів у мл гомогенату: ФСГ і ЛГ – мМО, П та Т – нг і Е2 – пг – імуноензимним методом з використанням аналізатора Stat Fax 3000 та наборів реактивів фірми «DRG» згідно з інструкцією використання тест-систем.

Зокрема, для дослідження *фолікулоstimулюючого гормону (ФСГ)* вносили 25 мкл досліджуваного зразка і 100 мкл ензимного кон'югату, перемішували та інкубували 30 хв за 20–22 °С. Лунки звільняли від вмісту, тричі промивали відмиваючим розчином і додавали 100 мкл субстратного розчину. Інкубували 10 хв за 20–22 °С. Зупиняли реакцію додаванням 50 мкл стоп-розчину.

Для встановлення концентрації *лютеїнізуючого гормону (ЛГ)* вносили 25 мкл досліджуваного зразка і 100 мкл ензимного кон'югату, перемішували та інкубували 30 хв за 20–22 °С. Лунки звільняли від вмісту, тричі промивали відмиваючим розчином і додавали 100 мкл субстратного розчину. Інкубували 10 хв за 20–22 °С. Зупиняли реакцію додаванням 50 мкл стоп-розчину.

Для визначення концентрації *прогестерону (П)* вносили 25 мкл досліджуваного зразка, інкубували за 20–22 °С 5 хв., додавали 200 мкл імуноензимного кон'югату, перемішували та знову інкубували 60 хв. Лунки звільняли від вмісту, тричі промивали відмиваючим розчином, вносили 200 мкл ензим-субстрату та інкубували 15 хв. Зупиняли реакцію додаванням 100 мкл стоп-розчину.

Для встановлення концентрації *естрадіолу (E2)* в лунки вносили 25 мкл досліджуваного зразка і 200 мкл ензимного кон'югату, перемішували й інкубували 120 хв. за 20–22 °С. Лунки звільняли від вмісту, тричі промивали відмиваючим розчином, вносили 100 мкл ензим-субстрату та інкубували 15 хв. Зупиняли реакцію додаванням 50 мкл стоп-розчину.

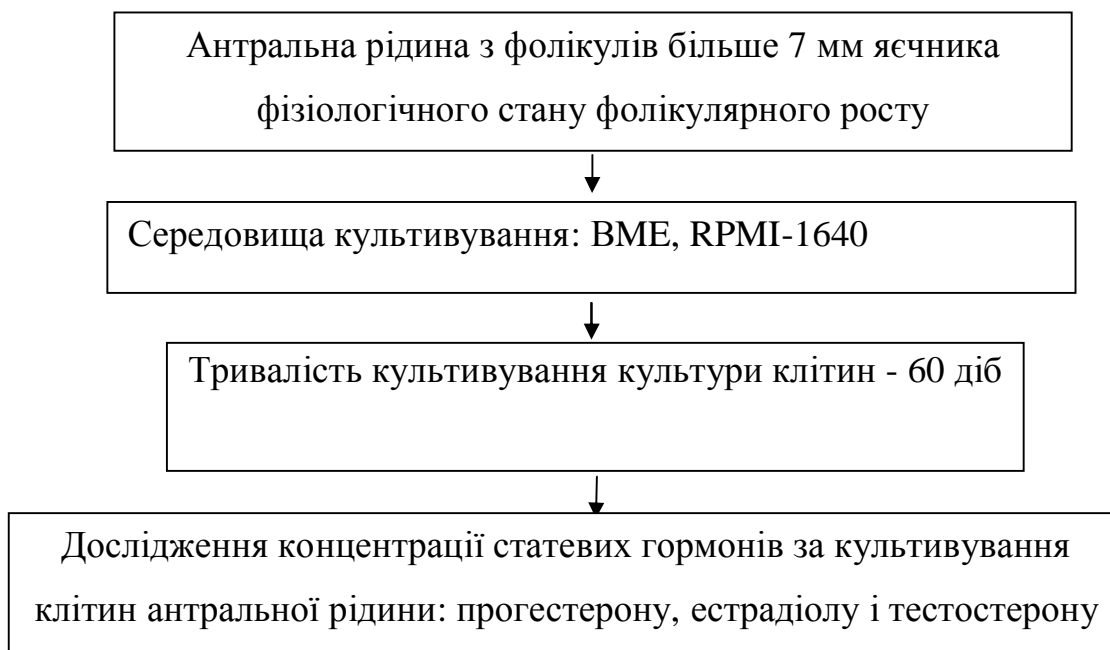
Для дослідження *тестостерону (Т)* вносили 25 мкл досліджуваного зразка, додавали 200 мкл імуноензимного кон'югату, перемішували та інкубували 60 хв за 20–22 °С. Лунки звільняли від вмісту, тричі промивали відмиваючим розчином, вносили 200 мкл ензим-субстрату та інкубували 15 хв. Зупиняли реакцію додаванням 100 мкл стоп-розчину.

Екстинцію зразків вимірювали при  $\lambda = 450$  нм. Одночасно зі зразками досліджували стандартні розчини з відомою концентрацією гормонів.

#### **2.4. Дослідження гормон-продукуючої здатності клітин антральної рідини фолікулів для отримання і апробування ефективності дії сировини для прототипу препарату зі стимулювання відтворної функції самиць.**

Для оцінювання можливості використання антральної рідини як сировини для створення прототипу препарату зі стимулювання репродуктивної функції самок використовували яєчники корів. Схема досліджень наведена на рис. 2.5. З великих (> 7 мм) фолікулів яєчника фолікулярного росту шляхом аспірації, отримували антральну рідину, центрифугували 5 хв за 2000 об/хв супернатант відділяли, а осад клітин суспендували в середовищах відповідно до об'єму фолікулярної рідини RPMI-1640 з додаванням (мас. %): еструсної сироватки корів 8–12 %; фолікулярної рідини – 10–12 %, гепарину (5 тис. од.) – 0,001–0,0015 мл). Отриману суспензію клітин антральної рідини (гранульози, теки і кумулюсу) вносили у планшети (діаметр лунок 3 см) і культивували впродовж 60 діб у герметично закритому ексікаторі при 5,0 % CO<sub>2</sub>, 100 % вологості і температурі 38,5 °С. Через кожні 7 діб проводили заміну 2/3 середовища. У

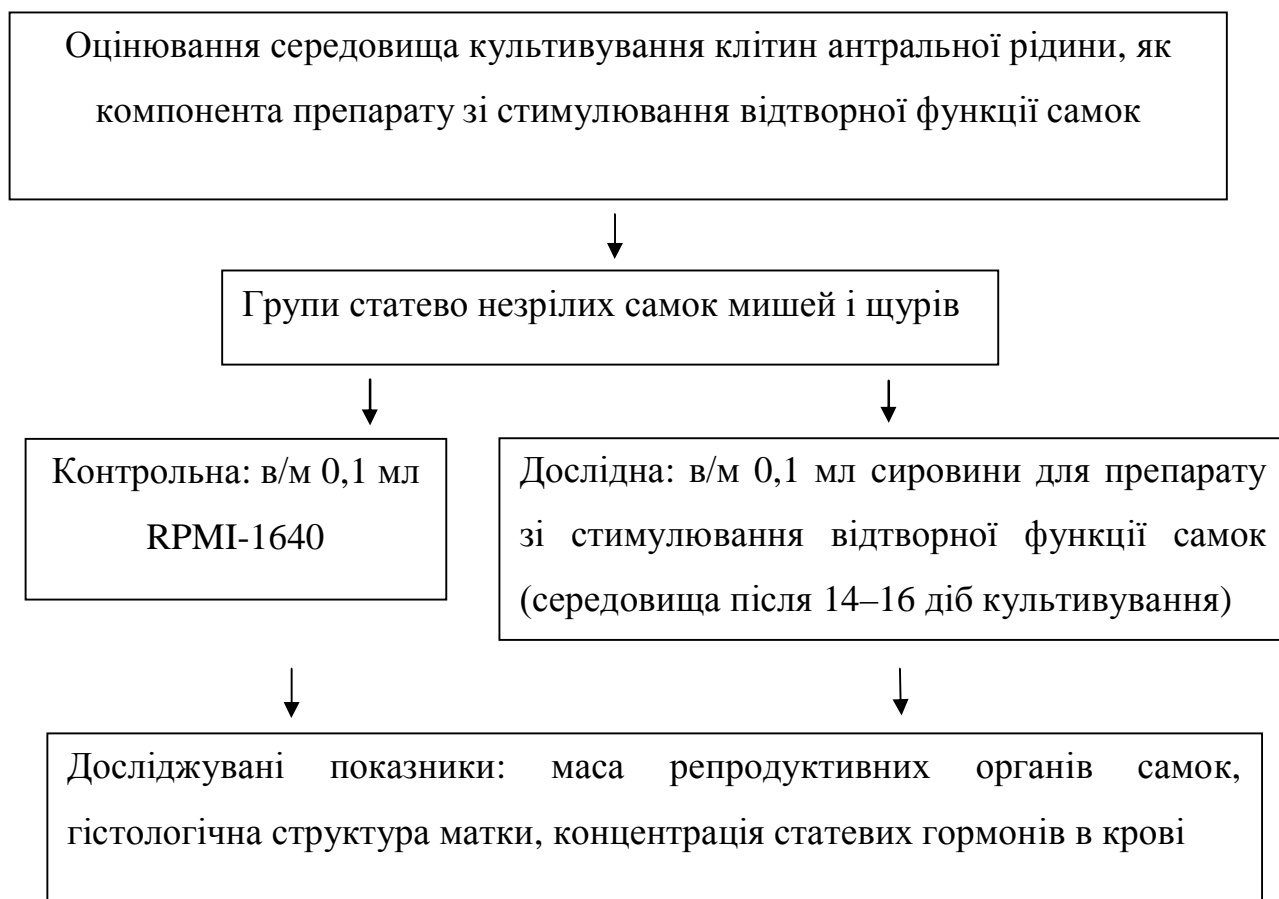




**Рис. 2.5. Схема отримання сировини для прототипу препарату зі стимулювання відтворної функції самок**

культури клітин при постановці на культивування, через 2–3, 7–8, 14–16, 30–32 та 60 діб визначали концентрацію статевих гормонів (естрадіолу, прогестерону і тестостерону).

Для вивчення дії середовища культивування клітин антральної рідини, як компонента препарату зі стимулювання відтворної функції самок сформували групи статеві незрілих самок білих беспородних мишей та щурів (лінія *Wistar*; рис. 2.6). Тварин розділили на групи: контрольну, якій вводили внутрішньом'язово 0,1 мл середовища культивування (RPMI–1640) та дослідну - вводили внутрішньом'язово 0,1 мл компонент препарату зі стимулювання відтворної функції самок (середовище культивування клітин). Самок мишей декапітували через 3 доби, а щурів через 1, 2 і 3 доби. Для досліджень відбирали кров (плазму крові) та репродуктивні органи (матку з яєчниками). Визначали вагу матки з яєчниками, концентрацію гормонів (ФСГ, ЛГ, естрадіол, прогестерон та тестостерон) і оцінювали гістоструктуру репродуктивних органів. Для гістологічних досліджень відібрали шматочки



**Рис. 2.6. Схема апробування дії сировини для виготовлення прототипу препарату зі стимулювання відтворної функції самок**

тканини яєчника товщиною 0,3–0,5 см, фіксували у 15 % розчині нейтрального формаліну та заливали у парафін. Гістозрізи (розміром 7 мікрон) фарбували гематоксиліном та еозином і фотографували за допомогою вмонтованої в мікроскоп відеокамери. Фіксували зображення за допомогою програмного забезпечення Med. Cam.

Для клінічного випробування ефективності дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок (розчин для ін'єкцій) відбирали корів-аналогів за живою масою тіла і продуктивністю ( $n = 20$ ), які за аналізом первинних записів техніка зі штучного осіменіння не приходили в охоту більше 90 діб, а ректальними дослідженнями – встановлена гіпофункція яєчників. З відібраних корів сформували дві групи – дослідну (10

голів) і (10 голів). Коровам групи порівняння вводили внутрішньом'язово 2 мл Естрофану (препарат порівняння), а тваринам дослідної групи, аналогічно, застосовували 20 мл сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції (досліджуваний препарат). За відсутності ознак феноменів стадії збудження статевого циклу (тічки, загального збудження і статевої охоти) повторно вводили досліджуваний препарат на 11 добу після першої ін'єкції. Проводили штучне осіменіння корів і через 3 місяці діагностували вагітність за відсутністю ознак стадії збудження статевого циклу, а у сумнівних випадках – ректальним дослідженням.

Експерименти з тваринами проводили згідно Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин (Strasbourg: Council of Europe 18.03.1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р., що підтверджено протоколом (№ 65 від 8.11.2017 р.) комісії з біоетичної експертизи.

**2.5. Статистичний аналіз отриманих результатів.** Статистичний аналіз отриманих результатів проведено методом варіаційної статистика з використанням t-критерію Стьюдента та  $\eta$  – кореляційного відношення [206] і застосуванням персонального комп'ютера й програмного забезпечення Clipper. Різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично вірогідною: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Результати досліджень опубліковані в працях [207, 208, 209, 210].

## РОЗДІЛ 3

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

**3.1. Концентрація гормонів в плазмі крові та репродуктивних органах корів**

Статевий цикл самок ссавців регулюється гонадотропними і стероїдними гормонами, а їх концентрації в крові й тканинах характеризують стадію відтворного циклу та дозволяють виявляти порушення репродуктивної функції [211, 212, 213, 214, 215]. Тому, досліджували концентрації статевих гормонів в плазмі крові та тканинах репродуктивних органів корів за перебігу статевого циклу і гіпофункції яєчників.

Встановлено, що концентрація ФСГ в плазмі крові корів знаходиться в межах 0,5-1,6 МО/л (табл. 3.1). При цьому, найвища величина значення

Таблиця 3.1

**Концентрація гормонів в плазмі крові корів за стану яєчника**

Гормон:	Стан яєчника:							
	«раннього жовтого тіла»		«пізнього жовтого тіла»		«фолікулярного росту»		гіпофункції	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
ФСГ, МО/л	3	0,7±0,12	4	0,5±0,06	5	1,6±0,25 <sup>**</sup>	4	0,9±0,11
ЛГ, МО/л	3	1,9±0,17	4	2,4±0,38 <sup>**</sup>	5	1,7±0,41	3	1,2±0,21
Е2, пг/мл	3	59,4±9,10	4	45,4±6,05	5	55,9±6,05	4	46,2±7,50
П, нг/мл	3	62,0±8,17	4	57,1±4,39 <sup>*</sup>	5	53,1±5,73	3	35,1±7,43
Т, нг/мл	3	0,2±0,03	4	0,3±0,07	5	0,5±0,18	4	0,3±0,04

\*Примітка: в цій і наступних таблицях різниця статистично вірогідна порівняно з мінімальною величиною значення \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$

( $1,6 \pm 0,25$  МО/л) характерна для тварин з яєчниками за фізіологічного стану «фолікулярного росту», а найнижча ( $0,5 \pm 0,06$  МО/л) – за «пізнього жовтого тіла». Різниця між величинами значень статистично вірогідна ( $p < 0,01$ ). За гіпофункції яєчника концентрація ФСГ нижча від максимальної величини значення на 43,8 % ( $p < 0,05$ ), однак вища на 44,5 % порівняно з мінімальною концентрацією гормону.

Концентрація ЛГ в крові корів за фізіологічних станів «раннього» і «пізнього жовтого тіла» яєчників в межах 1,9–2,4 МО/л, нижча на 9,5–28,6 % за «фолікулярного росту» і найнижча за гіпофункції ( $1,2 \pm 0,21$  МО/л). Різниця між мінімальною і максимальною величинами концентрації гормону становить 51,3 % і статистично вірогідна ( $p < 0,01$ ).

Одночасно, в плазмі крові корів поряд зі змінами гонадотропних гормонів виявлені особливості концентрацій стероїдних гормонів. Зокрема, концентрація Е2 висока за фізіологічних станів «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» (55,9–59,4 пг/мл) і нижча на 23,3–23,6 % за «пізнього жовтого тіла» і гіпофункції. На відміну від вказаного гормону, концентрація П пропорційно знижується зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннього жовтого тіла» → «пізнього жовтого тіла» → «фолікулярного росту». Найнижча величина значення в плазмі крові корів за гіпофункції яєчника ( $35,1 \pm 7,43$  нг/мл).

В плазмі крові корів концентрація Т низька ( $0,2 \pm 0,03$  нг/мл) за «раннього жовтого тіла» зростає на 0,1 нг/мл за «пізнього жовтого тіла» і максимальна ( $0,5 \pm 0,18$ ) за «фолікулярного росту». За гіпофункції яєчника встановлено  $0,3 \pm 0,04$  нг/мл стероїдного гормону.

Таким чином, в плазмі крові концентрація ФСГ і Т підвищуються зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» і, відповідно, досягають максимуму, що характеризує стимулювання росту фолікулів, а максимальна концентрація ЛГ виявляється за «пізнього жовтого тіла».

Поряд з вказаним, зі зміною фізіологічного стану статевої залози:

«раннього жовтого тіла» → «пізнього» → «фолікулярного росту» проявляється тенденція до зниження концентрації прогестерону.

За гіпофункції яєчника в плазмі крові корів, порівняно з фізіологічними станами статевої залози, низькі ФСГ, ЛГ та П, а порівняно з «фолікулярним ростом» концентрації всіх досліджених гормонів – понижені.

Дослідження гормонів в тканині яєчника залежно від фізіологічного стану свідчить, що за «раннього» і «пізнього жовтого тіла» концентрація ФСГ однакова (0,5 мМО/мл), а за «фолікулярного росту» і гіпофункції – 0,6 мМО/мл (табл. 3.2). При цьому, концентрація ЛГ максимальна (2,6±0,28 мМО/мл) за

Таблиця 3.2

### Концентрація гормонів в тканинах репродуктивних органів корів

Гормони	«раннього жовтого тіла»		«пізнього жовтого тіла»		«фолікулярного росту»		гіпофункції	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
<b>Яєчника</b>								
ФСГ, мМО/мл	19	0,5±0,09	15	0,5±0,08	27	0,6±0,06	10	0,6±0,13
ЛГ, мМО/мл	56	1,3±0,09	49	1,0±0,07	79	2,6±0,28 <sup>***</sup>	13	1,4±0,17
E2, пг/мл	56	20,4±2,25	48	25,4±3,92	79	17,8±1,16	13	16,1±3,65
П, нг/мл	56	36,8±5,31	49	38,9±6,54	79	41,2±4,55	13	38,3±8,30
Т, нг/мл	56	37,4±1,69 <sup>***</sup>	47	25,2±2,70	79	35,2±1,41	13	18,0±3,38
<b>Ендометрію</b>								
ФСГ, мМО/мл	3	0,2±0,05	8	0,7±0,16 <sup>*</sup>	10	0,4±0,09	7	0,9±0,14 <sup>**</sup>
ЛГ, мМО/мл	13	3,1±0,78	11	3,6±1,01	13	1,8±0,24	8	3,1±1,06
E2, пг/мл	21	7,6±0,72	14	13,2±1,85 <sup>***</sup>	22	4,6±0,74	8	7,5±1,24
П, нг/мл	21	56,9±6,65	14	10,3±1,37	23	91,2±10,37 <sup>***</sup>	8	11,0±2,02
Т, нг/мл	19	43,4±5,18	14	41,6±1,39	23	30,6±4,63	8	37,7±3,10

«фолікулярного росту», нижча на 46,2–50 % (p < 0,001) за гіпофункції та «раннього жовтого тіла» і найменша (1,0±0,07 мМО/мл) за «пізнього жовтого

тіла». Різниця між мінімальною та максимальною величинами значень статистично вірогідна ( $p < 0,001$ ).

Концентрація E2 в тканині яєчника за «пізнього жовтого тіла» висока (25,4 пг/мл), нижча на 19,7 % за «раннього жовтого тіла» та на 30,0 % за «фолікулярного росту» і найнижча за «гіпофункції» ( $16,1 \pm 3,65$  пг/мл).

Концентрація П проявляє тенденцію до пропорційного зростання (на 2,1 нг/мл) зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннього» → «пізнього жовтих тіл» → «фолікулярного росту». За гіпофункції яєчника величина значення досліджуваного показника становить  $38,3 \pm 8,30$  нг/мл і не відрізняється від концентрації П в тканині яєчника за фізіологічних станів.

За гіпофункції статевої залози концентрація Т найнижча ( $18,0 \pm 3,38$  нг/мл), вища на 28,4 % за «пізнього жовтого тіла» і ще на 48,9 % ( $p < 0,001$ ) за «фолікулярного росту». Максимальна величина ( $37,4 \pm 1,69$  нг/мл) встановлена за «раннього жовтого тіла». Різниця між мінімальною і максимальною величинами значень становить 51,9 % і статистично вірогідна ( $p < 0,001$ ).

Отже, в тканині яєчника зі зміною фізіологічного стану залози: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» за стабільної концентрації ФСГ, зростає ЛГ, П і Т та проявляється тенденція до зниження E2. За гіпофункції в тканині статевої залози, порівняно з фізіологічними станами, понижені концентрації E2 і Т.

В тканині ендометрію максимальна концентрація ФСГ встановлена за гіпофункції яєчника ( $0,9 \pm 0,14$  мМО/мл), нижча на 0,2 мМО/мл (22,3 %) за «пізнього жовтого тіла», на 0,5 мМО/мл (55,6 %;  $p < 0,01$ ) за «фолікулярного росту». Найнижча величина значення характерна для тканини ендометрію за «раннього жовтого тіла» –  $0,2 \pm 0,05$  мМО/мл, що нижче максимальної величини на 77,8 % ( $p < 0,01$ ).

Концентрація ЛГ в тканині ендометрію за «раннього жовтого тіла» і гіпофункції однакова (3,1 мМО/мл) і вища на 13,9 % за «пізнього жовтого тіла».

Найнижча величина значення показника встановлена за «фолікулярного росту» ( $1,8 \pm 0,24$  мМО/мл), що нижче максимального на 50,0 %.

В ендометрії за «фолікулярного росту» концентрація E2 низька ( $4,6 \pm 0,74$  пг/мл), зростає на 39,5 % за «раннього жовтого тіла» і максимальна за «пізнього жовтого тіла» ( $13,2 \pm 1,85$  пг/мл). Різниця між мінімальною і максимальною величинами становить 65,2 % ( $p < 0,001$ ). Для тканини ендометрію за гіпофункції статевої залози характерна середня величина значення гормону ( $7,5 \pm 1,24$  пг/мл).

Понижені величини значень П в ендометрії встановлені за «пізнього жовтого тіла» та гіпофункції яєчників ( $10,3 - 1,0$  нг/мл), вищі на 81,9 та 88,2 % ( $p < 0,001$ ) в тканині, відповідно, за «раннього жовтого тіла» та «фолікулярного росту».

Концентрація Т поступово знижується зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннього» → «пізнього жовтих тіл» → «фолікулярного росту» відповідно на 1,8 (4,2 %) та 11,0 (26,5 %) нг/мл. За гіпофункції яєчника концентрація Т становить  $37,7 \pm 3,10$  нг/мл і вірогідно не відрізняється від величин значень за фізіологічних станів.

Таким чином, зі зміною фізіологічного стану статевої залози: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» в тканині ендометрію високі концентрації ФСГ, ЛГ, E2 і Т та низька - П. За гіпофункції яєчника в тканині слизової матки максимальна величина значення ФСГ і понижена – П.

Дослідження концентрації статевих гормонів в антральній рідині залежно від фізіологічного стану яєчника свідчить, що ФСГ за «раннього жовтого тіла» і діаметру фолікулів більше 4 мм однакова ( $0,4$  МО/л) і вища на 33,3 % за менше 4 мм (табл. 3.3). За «пізнього жовтого тіла» концентрація ФСГ незалежно від розміру фолікулів в межах  $0,6 - 0,7$  МО/л, а за «фолікулярного росту» низька ( $0,3 \pm 0,17$  МО/л) і вища на 50,0 % за більше 4 мм. При цьому, існує різниця (33,3 %;  $p < 0,05$ ) між концентрацією ФСГ в великих фолікулах і зміні фізіологічного стану з «раннього» до «пізнього жовтого тіла». За гіпофункції



Таблиця 3.3

## Концентрація гормонів в антральній рідині фолікулів яєчників

Гормон / фолікул, мм		«раннього жовтого тіла»		«пізнього жовтого тіла»		«фолікулярного росту»		«гіпофункції»	
		n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
ФСГ, МО/л	> 7	4	0,4±0,02	25	0,6±0,09*	5	0,3±0,17	-	-
	4-7	5	0,4±0,03	4	0,6±0,17	5	0,6±0,14	-	-
	4 <	7	0,6±0,15	10	0,7±0,14	6	0,6±0,16	13	0,5±0,03
ЛГ, МО/л	> 7	6	1,3±0,24	31	1,7±0,15*	5	1,2±0,16	-	-
	4-7	21	0,9±0,06	21	1,2±0,11	13	1,3±0,09	-	-
	4 <	13	1,3±0,10	23	1,4±0,16*	29	1,6±0,15***	24	1,0±0,05
Е2, нг/мл	> 7	6	14,3±2,69	31	23,9±2,86*	5	33,0±4,54**	-	-
	4-7	21	8,5±0,72	20	10,7±1,47	13	17,7±2,57***	-	-
	4 <	13	31,7±7,25*	23	14,7±2,27	29	15,7±1,60	23	9,2±0,69
П, нг/мл	> 7	6	6,3±1,63	31	54,8±6,45***	5	92,8±5,92***	-	-
	4-7	21	10,5±1,12	21	20,6±5,44	13	45,5±6,16***	-	-
	4 <	13	46,6±9,33	23	47,0±5,03**	29	25,2±6,65	24	10,6±1,02
Т, нг/мл	> 7	6	12,8±1,36	31	10,1±2,62	5	31,8±2,12***	-	-
	4-7	21	13,7±1,05	20	40,3±1,88***	13	35,4±3,17***	-	-
	4 <	13	14,8±2,08	23	21,9±3,35	29	38,7±2,37***	24	13,7±0,94

яєчника концентрація гонадотропного гормону в антральній рідині понижена, порівняно з аналогами за фізіологічних станів, і становить 0,5±0,03 МО/л.

Концентрація ЛГ в антральній рідині залежить як від фізіологічного стану яєчника, так і розміру фолікулів. Зокрема, за зміни фізіологічного стану: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» і фолікула менше 4 мм концентрація гормону пропорційно зростає на 0,1 МО/л. Одночасно, за вказаного розміру фолікула і гіпофункції яєчника встановлено нижчу на 25,1–37,5 % ( $p < 0,05-0,001$ ) концентрацію ЛГ. Подібні зміни концентрації гормону

встановлено за зміни фізіологічного стану яєчника і розміру фолікула 4–7 мм. На відміну від вказаних розмірів фолікулів за більше 7 мм максимальна величина ЛГ встановлена за «пізнього жовтого тіла» ( $1,7 \pm 0,15$  МО/л) і на 29,5 % ( $p < 0,05$ ) нижча за «фолікулярного росту» і 23,7 % – «раннього жовтого тіла». Концентрація Е2 зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» і розміру фолікула більше 4 мм зростає, відповідно, на 20,6–40,2 % ( $p < 0,05$ ) і 21,6–39,6 % ( $p < 0,01$ – $0,001$ ), а за менше 4 мм на 50,5–53,7 % ( $p < 0,05$ ) знижується.

Концентрація П проявляє подібну залежність: за зміни фізіологічного стану «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» і фолікула більше 4 мм концентрація гормону пропорційно зростає, відповідно, на 49,1–88,6 % ( $p < 0,001$ ) і 41,0–54,8 % ( $p < 0,01$ – $0,001$ ). За малого розміру фолікула концентрація П за «раннього» і «пізнього жовтого тіла» однакова ( $46,6$ – $47,0$  нмоль $\times$ л) і знижується на 46,4 % ( $p < 0,01$ ) за «фолікулярного росту». Найнижча величина значення ( $10,6 \pm 1,02$  нг/мл) виявлена за гіпофункції яєчника.

Концентрація Т в антральній рідині залежить як від фізіологічного стану яєчника, так і розміру фолікула. Понижена величина значення ( $12,8$ – $14,8$  нг/мл) характерна для зразків з «раннього жовтого тіла», вища з «пізнього жовтого тіла» ( $10,1$ – $40,3$  нг/мл) і висока та майже однакова ( $31,8$ – $38,7$  нг/мл) з «фолікулярного росту». При цьому, за зміни фізіологічного стану залози: «раннє» → «пізнє жовте тіло» і фолікула більше 7 мм концентрація гормону  $10,1$ – $12,8$  нг/мл і зростає на 59,8–68,3 % ( $p < 0,001$ ) за «фолікулярного росту». За вказаних умов і розміру фолікула 4–7 мм концентрація Т низька ( $13,7 \pm 1,05$  нг/мл) за «раннього жовтого тіла» і вища на 61,3–66,1 % ( $p < 0,001$ ) за інших фізіологічних станів. За зміни фізіологічного стану залози: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярного росту» і малого розміру фолікула (менше 4 мм) концентрація Т зростає, відповідно, на 32,5 і 43,5 % ( $p < 0,001$ ).

За вказаного розміру фолікулів з яєчника за гіпофункції концентрація гормону становить  $13,7 \pm 0,94$  нг/мл, що нижче максимального значення на 64,6 % ( $p < 0,001$ ).

Отже, зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» в плазмі крові концентрації ФСГ і Т підвищуються, а ЛГ максимальна за «пізнього жовтого тіла» та проявляється тенденція до зниження концентрації П. При цьому, в тканині яєчника зі зміною фізіологічного стану залози концентрація ФСГ не змінюється, зростає ЛГ, П і Т та проявляється тенденція до зниження Е2, а в ендометрії високі концентрації ФСГ, ЛГ, Е2 і Т та низька – П. В антральній рідині величини значень концентрацій статевих гормонів мінливі та залежать як від розміру фолікулів з яких вона отримана, так і фізіологічного стану яєчників.

За гіпофункції, порівняно з фізіологічними станами яєчника, в плазмі крові корів понижені концентрації ЛГ та П, в тканині статевої залози – Е2 і Т, в ендометрії максимальна величина значення ФСГ і понижена – П, а в антральній рідині фолікулів величини значень концентрацій всіх досліджених гормонів понижені.

Результати досліджень опубліковані в працях [216].

### **3.2. Активність та вміст ізозимів ензимів в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів**

**3.2.1. Активність і вміст ізозимів ензимів антиоксидантного захисту в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів.** Перебіг статевого циклу, ріст, дозрівання фолікулів і овуляція супроводжуються змінами активності ензимів антиоксидантного захисту (ЕАЗ) в репродуктивних органах самок [217, 218, 219, 220, 221]. ЕАЗ, окремі їх компоненти, характеризують відтворну здатність самок за впливу різноманітних чинників (віку, сезону року, повноцінності раціонів,

продуктивності та інше) [187, 222, 223, 224, 225, 157]. Тому, досліджували активність та вміст ізозимів ЕАЗ в тканинах репродуктивних органів і антральній рідині з фолікулів статевих залоз за перебігу статевого циклу та за гіпофункції яєчників корів.

Встановлено, що активність СОД у тканині яєчника фізіологічного стану «фолікулярного росту» —  $18,5 \pm 0,95$  МО/ мг протеїну, вища на 21,0 % ( $p < 0,05$ ) за «пізнього жовтого тіла» і найвища за «раннього жовтого тіла» ( $25,6 \pm 1,25$  МО/ мг протеїну; табл. 3.4). Різниця між мінімальною та максимальною

Таблиця 3.4

**Активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах репродуктивних органів корів**

Тканина за стану статевої залози:	СОД, МО/мг протеїну		ГПО, мкМ/хв× мг протеїну		КАТ, мМ/хв× мг протеїну	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m
яєчника						
гіпофункції	7	10,6±1,93	8	0,034±0,007	7	0,89±0,09
«фолікулярного росту»	15	18,5±0,95 <sup>**</sup>	21	0,054±0,008	16	1,29±0,15 <sup>*</sup>
«пізнього жовтого тіла»	7	22,4±1,36 <sup>***</sup>	9	0,047±0,004	7	1,11±0,05 <sup>*</sup>
«раннього жовтого тіла»	17	25,6±1,25 <sup>***</sup>	21	0,050±0,005	17	1,51±0,11 <sup>**</sup>
η	0,767		0,250		0,457	
ендометрію						
гіпофункції	5	16,2±1,84	6	0,040±0,004	5	0,74±0,05
«фолікулярного росту»	4	16,3±1,03	4	0,038±0,006	4	0,60±0,08
«пізнього жовтого тіла»	4	19,8±2,18	7	0,039±0,005	4	0,70±0,08
«раннього жовтого тіла»	3	15,2±1,34	5	0,036±0,005	3	0,73±0,07
η	0,438		0,122		0,250	

величинами значень становить 38,3 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з вказаними фізіологічними станами яєчників за «гіпофункції» статевої залози у тканині

активність ензиму найнижча —  $10,6 \pm 1,93$  МО/ мг протеїну, що менше на 74,5 % ніж за «фолікулярного росту» і в 2,2 та 2,5 рази ніж за «пізнього» і «раннього жовтого тіла». Кореляційне відношення за фізіологічним станом яєчника для активності СОД становить  $\eta = 0,767$ .

Активність ГПО в тканині яєчника незалежно від фізіологічного стану статевої залози в межах  $0,047\text{--}0,054$  мкМ/хв×мг протеїну, а за гіпофункції на  $27,7\text{--}37,1$  % менша ( $p > 0,05$ ). Кореляційне відношення за фізіологічним станом яєчника і гіпофункції для активності ГПО тканини статевої залози слабкої сили ( $\eta = 0,250$ ).

Найвищою активністю КАТ характеризується тканина яєчника «раннього жовтого тіла» ( $1,51 \pm 0,11$  мМ/хв×мг протеїну), нижча на 14,6 % за «фолікулярного росту» і ще менша (26,5 %;  $p < 0,01$ ) величина значення за «пізнього жовтого тіла». За гіпофункції яєчника активність ензиму у тканині статевої залози найнижча ( $0,89 \pm 0,09$  мМ/хв×мг протеїну). Різниця між мінімальною і максимальною величинами активності КАТ становить 41,1 % ( $p < 0,01$ ). Аналіз кореляцій свідчить про середньої сили залежність активності КАТ від зміни фізіологічного стану й гіпофункції яєчника ( $\eta = 0,457$ ).

Аналіз активності СОД в слизовій матки свідчить про тенденційно нижчу величину значення за «раннього жовтого тіла» ( $15,2 \pm 1,34$  МО/мг протеїну) і вищу на 23,3 % за «пізнього жовтого тіла» ( $19,8 \pm 2,18$  МО/мг протеїну). За фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту» та гіпофункції активність ензиму в ендометрії однакова і становить 16,2 МО/мг протеїну. Кореляція активності СОД в ендометрії залежно від фізіологічного стану яєчника середньої сили ( $\eta = 0,438$ ).

При аналізі результатів досліджень активності ГПО в ендометрії встановлено меншу величину значення за фізіологічних станів яєчника ( $0,036\text{--}0,039$  мкМ/хв×мг протеїну; 5,3–7,7 %;  $p > 0,05$ ) і більшу на 2,5–10,0 % за гіпофункції. Кореляційне відношення за фізіологічним станом яєчника і гіпофункції для активності ГПО тканини ендометрію слабкої сили ( $\eta = 0,122$ ).

Найвища активність КАТ (0,73–0,74 мМ/хв×мг протеїну) характерна для тканини ендометрію за гіпофункції яєчника і «раннього жовтого тіла». Зі зміною фізіологічного стану: «пізні жовте тіло» → «фолікулярний ріст» у слизовій матки активність ензиму знижується, відповідно, на 5,5 і 19,0 % ( $p > 0,05$ ). Аналіз кореляцій свідчить про слабку залежність активності КАТ у ендометрії від зміни фізіологічного стану яєчника ( $\eta = 0,250$ ).

Таким чином, активність ЕАЗ в тканині яєчника висока за фізіологічних станів і низька ( $p < 0,05$ – $0,001$ ) за гіпофункції, а в ендометрії – величини значень активності ензимів вірогідно не відрізняються.

Активність СОД у антральній рідині залежно від розміру фолікулів і фізіологічного стану яєчника найвища ( $20,1 \pm 4,72$  МО/мг протеїну) з великих фолікулів за «фолікулярного росту» і нижча майже у 2 рази ( $p < 0,05$ ) з меншого діаметру (табл. 3.5). Подібний результат отримано при дослідженні активності ензиму в антральній рідині з фолікулів яєчника «раннього жовтого тіла»: висока ( $22,8 \pm 6,30$  МО/мг протеїну) з великих, на 38,4 % нижча з середніх і найнижча ( $7,6 \pm 0,66$  МО/мг протеїну) з малих. У антральній рідині з фолікулів більше 4 мм яєчника «пізнього жовтого тіла» активність СОД однакова ( $26,3$ – $26,7$  МО/мг протеїну) і на 27,4 % вища з малих. Кореляційне відношення за розміром фолікулів і фізіологічним станом яєчника для активності СОД в антральній рідині середньої сили ( $\eta = 0,349$ – $0,599$ ). За гіпофункції яєчників, в зв'язку з присутністю фолікулів діаметром до 4 мм, активність ензиму становить  $16,3 \pm 0,71$  МО/мг протеїну.

В антральній рідині залежно від зміни фізіологічного стану яєчника та розміру фолікула виявлено високу активність ГПО ( $0,20 \pm 0,08$  мкМ/хв×мг протеїну) за менше 4 мм «пізнього жовтого тіла», нижчу на 35,0 % за «фолікулярного росту» і найменшу ( $0,035 \pm 0,003$  мкМ/хв×мг протеїну) за «раннього жовтого тіла». Різниця між мінімальною і максимальною величинами значень 82,5 % ( $p < 0,05$ ). Подібна залежність величини показника встановлена при дослідженні активності ГПО в антральній рідині з більшого

Таблиця 3.5

**Активність ензимів антиоксидантного захисту в антральній рідині  
фолікулів яєчників**

Ензим/ фолікул, мм		«раннього жовтого тіла»		«пізнього жовтого тіла»		«фолікулярного росту»		гіпофункції	
		n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
СОД, МО/мг протеїну	> 7	3	22,8±6,30	7	26,7±2,58	14	20,1±4,72*	-	-
	4-7	3	14,0±5,42	4	26,3±6,39	6	9,2±1,69	-	-
	4 <	3	7,6±0,66	4	36,2±7,81*	7	10,3±3,93	3	16,3±0,71
	η	0,599		0,349		0,368		-	
ГПО, мкМ/хв×мг г протеїну	> 7	3	0,057±0,003	11	0,38±0,11*	25	0,25±0,063	-	-
	4-7	3	0,060±0,005	10	0,28±0,11	18	0,097±0,017	-	-
	4 <	4	0,035±0,003	9	0,20±0,08	9	0,13±0,041	3	0,077±0,028
	η	0,884		0,228		0,296		-	
КАТ, мМ/хв ×мг протеїну	> 7	3	0,63±0,03	11	0,75±0,16	34	0,84±0,15	-	-
	4-7	3	0,63±0,03	9	0,57±0,06	17	0,70±0,18	-	-
	4 <	4	0,55±0,10	8	0,67±0,20	18	0,54±0,11	3	1,37±0,48
	η	0,288		0,352		0,164		-	

розміру фолікулів. Максимальна величина значень проявлялась з середніх і великих фолікулів «пізнього жовтого тіла» (0,28–0,38 мкМ/хв×мг протеїну) і нижча на 65,4 і 34,3 %, відповідно, з «фолікулярного росту» і на 78,4–85,0 % з «раннього жовтого тіла».

Активність ензиму відрізняється й при дослідженні антральної рідини з різних за розміром фолікулів одного й того ж фізіологічного стану яєчника. Зокрема, за «фолікулярного росту» низька активність ГПО встановлена з середнього за розміром фолікула (0,097±0,017 мкМ/хв×мг протеїну), вища на 25,4 % з малого, а найвища (0,25±0,063 мкМ/хв×мг протеїну) з великого. Різниця між мінімальним та максимальним значенням становить 61,2 % і

статистична вірогідна ( $p < 0,05$ ). У антральній рідині за «пізнього» і «раннього жовтого тіла» зі збільшенням розміру фолікула: з малого до середнього і до великого встановлено пропорційне зростання активності ензиму, відповідно, на 26,4–28,6 % і 38,6–41,7 % ( $p < 0,01$ ).

Активність ГПО в антральній рідині малих фолікулів за гіпофункції яєчника становить  $0,077 \pm 0,028$  мкМ/хв×мг протеїну, що вище на 54,6 % порівняно з аналогами «раннього жовтого тіла», але нижче на 40,8–61,5 % ніж за «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла».

Кореляційне відношення для активності ГПО в антральній рідині залежно від розміру фолікула яєчників «фолікулярного росту» та «пізнього жовтого тіла» — слабкої сили ( $\eta = 0,228-0,296$ ) і «раннього жовтого тіла» — сильне ( $\eta = 0,884$ ).

Активність КАТ в антральній рідині залежить від розміру фолікулів і фізіологічного стану яєчника. Так, за фізіологічного стану статевої залози «фолікулярного росту» в антральній рідині з малих фолікулів активність ензиму низька ( $0,54 \pm 0,11$  мМ/хв×мг протеїну), підвищується на 22,9 % за 4–7 мм і ще вища на 35,8 % за більше 7 мм. Подібні зміни активності КАТ встановлені за «раннього жовтого тіла». Різниця між мінімальною та максимальною величинами значень становить 12,7 %. За «пізнього жовтого тіла» низька величина активності ензиму характерна для антральної рідини з фолікулів 4–7 мм ( $0,57 \pm 0,06$  мМ/хв×мг протеїну) і вища на 15,0–24,0 % з фолікулів інших розмірів.

Залежність активності ензиму в антральній рідині від розміру фолікула одного й того ж фізіологічного стану яєчника відрізняється: для «фолікулярного росту» та «раннього жовтого тіла» — слабка ( $\eta = 0,164-0,288$ ) і «пізнього жовтого тіла» середньої сили ( $\eta = 0,352$ ).

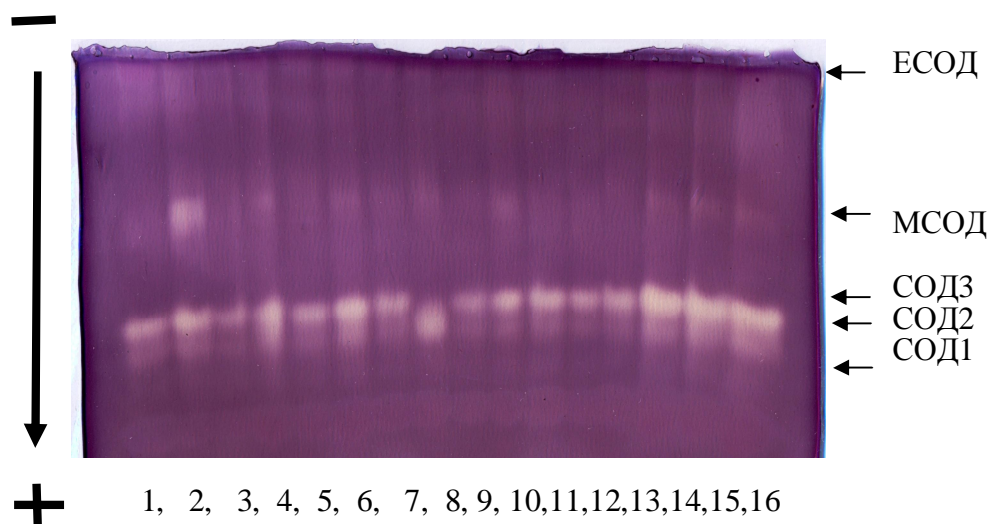
Найвищою активністю КАТ характеризується антральна рідина з малих фолікулів за гіпофункції статевої залози ( $1,37 \pm 0,48$  мМ/хв×мг протеїну). Різниця між активністю ензиму в антральній рідині з малих фолікулів за



гіпофункції і аналогами за фізіологічних станів — 50,0–61,6 %.

Отже, в антральній рідині активність ЕАЗ залежить як від розміру з якого вона отримана, так і фізіологічного стану яєчника. За гіпофункції статевої залози в антральній рідині підвищена активність КАТ, а СОД і ГПО на рівні аналогів за фізіологічних станів статевої залози.

Активність ензимів антиоксидантного захисту в репродуктивних органах корів забезпечують ізозими. Виявлено, що в електричному полі СОД розділяється на 5 окремих протеїнів, які характеризуються СОД-активністю (рис. 3.1). Ізозими СОД тканин репродуктивних органів з неоднаковою

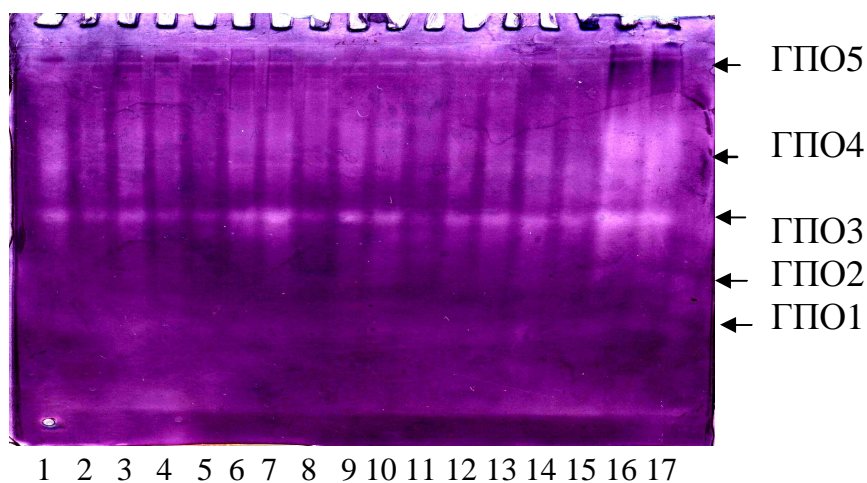


**Рис. 3.1.** Ізозими СОД тканин яєчника і ендометрію корів: СОД1, СОД2, СОД3 – цитозольні; МСОД – мітохондрійний; ЕСОД – позаклітинний; 1, 2, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 16 – тканина яєчників; 3, 6, 8, 10, 12, 14 – ендометрій

інтенсивністю проявляються у ПААГ і відрізняються площею зафарбування. За електрофоретичною рухливістю й, відповідно, величиною молекули, ізозими відповідають: позаклітинній, мітохондріальній та цитозольній СОД. Зокрема, СОД1, СОД2, СОД3 – розміщені в зоні рухливості цитозольної СОД, МСОД – мітохондрійної і ЕСОД – позаклітинної супероксиддисмутази.

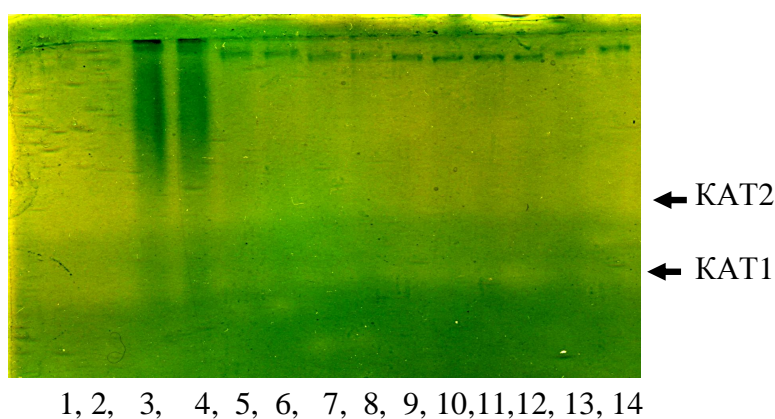
Електрофорезом в 7,5 % ПААГ встановлено 5 смуг каталітично активних

ізозимів ГПО. Виявлено, що смуги ізозимів відрізняються як рухливістю за електрофорезу, так й інтенсивністю та площею зафарбування (рис. 3.2).



**Рис. 3.2. Ізозими ГПО в тканинах репродуктивних органів корів за станів статевої залози:** гіпофункції – 1 – матки, 2 – яєчника; «раннього жовтого тіла» – 3, 10, 14 – яєчника; 4, 11, 15 – матки; «пізнього жовтого тіла» – 7, 12, 16 – яєчника; 8, 13 – матки; «фолікулярного росту» – 5, 17 – яєчника; 6 – матки.

Електрофорезом в 7,5 % ПААГ встановлено 2 смуги каталітично активних ізозимів КАТ (рис. 3.3). Виявлено, що смуги ізозимів відрізняються



**Рис. 3.3. Ізозими КАТ в крові та тканинах репродуктивних органів корів:** 1–4 — кров корів; тканини за фізіологічного стану яєчника: «раннього жовтого тіла» — 5, 7 – яєчника; 6, 8 – матки; «пізнього жовтого тіла» — 9 – яєчника; 10 – матки; «фолікулярного росту» — 11 – яєчника; 12 – матки; гіпофункції — 13 – яєчника; 14 – матки

електрофоретичною рухливістю й інтенсивністю та площею зафарбування.

Встановлено, що залежно від фізіологічного стану яєчників вміст ізозимів в тканині статевої залози вірогідно не відрізняється. Так, за «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» у тканині яєчників вміст СОД1 високий (13,0–13,7 МО/мг протеїну), на 3,4 % ( $p > 0,05$ ) нижчий за гіпофункції і низький у «ранньому жовтому тілі» ( $8,4 \pm 2,12$  МО/мг протеїну; 5,3 %; табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Вміст ізозимів антиоксидантного захисту в тканині яєчника, %,  $M \pm m$**

Ізозими	Стан яєчника				$\eta$
	Жовтого тіла		«фолікулярного росту»	гіпофункції	
	«раннього»	«пізнього»			
n =	9	14	7	12	
ЕСОД	14,5±3,35	13,9±2,57	11,3±2,97	19,5±5,28	0,240
МСОД	15,6±3,03	13,8±2,81	14,2±4,42	15,9±2,08	0,100
СОД 3	3,3±0,89	3,6±0,88	2,3±0,45	4,0±2,04	0,137
СОД 2	58,3±5,46	55,6±5,58	58,4±7,78	51,8±5,02	0,144
СОД 1	8,4±2,12	13,0±2,12	13,7±3,59	9,6±1,48	0,294
n =	7	4	7	4	-
ГПО5	8,0±2,33	6,0±1,44	10,8±2,00**	3,3±1,25	0,481
ГПО 4	13,1±1,74	26,0±2,40**	15,8±2,88	6,3±0,56	0,746
ГПО 3	51,2±8,42	45,6±5,05	50,1±5,59	74,8±3,09**	0,530
ГПО 2	19,9±3,42**	6,7±0,72	8,9±0,79	11,2±2,16	0,473
ГПО 1	5,5±0,92	15,6±2,71**	14,2±2,33**	4,3±0,61	0,740
n =	16	12	13	10	-
КАТ 2	87,7±3,61	74,4±7,75	88,7±3,93	83,8±6,81	0,293
КАТ 1	12,3±3,64	25,6±7,73	11,3±3,93	16,1±6,82	0,293

Аналогічно, не виявлено вірогідних змін вмісту інших ізозимів: СОД2 знаходиться в межах 51,8–58,4 %, СОД3 – 2,3–4,0 %, МСОД – 13,8–15,9 % і

ЕСОД – 11,3–19,5 %. Поряд з цим, у тканині яєчника за гіпофункції встановлено понижений вміст СОД2 і підвищений СОД3 та ЕСОД.

Вміст ГПО1 за «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» не відрізняється й знаходиться в межах 14,2–15,6 %, а за «раннього жовтого тіла» на 8,7–10,1 % нижчий ( $p < 0,01$ ). Вміст ГПО2 високий за «раннього жовтого тіла» ( $19,9 \pm 6,42$  %), а за «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» нижчий на 11,0–13,2 % ( $p < 0,01$ ). Вміст ГПО3 за «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» в межах 50,1–51,2 %, а за «пізнього» нижчий на 4,5–5,6 %. За зміни фізіологічного стану яєчника в тканині за «пізнього жовтого тіла» вміст ГПО4 високий ( $26,0 \pm 2,40$  %), за «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» нижчий на 10,2 ( $p < 0,05$ ) та 12,9 % ( $p < 0,01$ ). Високий вміст ГПО5 встановлений в тканині яєчника «фолікулярного росту» ( $10,8 \pm 2,00$  %) і нижчий на 2,8 % і на 4,8 %, відповідно, за «раннього» і «пізнього жовтого тіла». Для тканини яєчника за гіпофункції, порівняно з фізіологічними станами, характерні понижені величини значень: ГПО1 на 1,2–11,3 % ( $p < 0,01$ ), ГПО4 – 6,8–19,7 % ( $p < 0,01$ ) і ГПО5 – 2,7–7,5 % ( $p < 0,01$ ), а ГПО3, навпаки, підвищене на 23,6–29,2 % ( $p < 0,05–0,01$ ).

Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ГПО в тканині яєчника за фізіологічних станів і гіпофункції: середньої сили негативне для ГПО2 і ГПО3 ( $\eta = 0,473$  і  $0,530$ ), позитивне для ГПО5 ( $\eta = 0,481$ ), та сильне позитивне для ГПО1 і ГПО4 ( $\eta = 0,740$  і  $0,746$ ).

Аналіз вмісту ізозимів КАТ в тканині статевої залози свідчить, що основна частина активності забезпечується КАТ2 (74,4–88,7 %) і менша КАТ1 (11,3–25,6 %). При цьому виявлено, що активність ензиму слабо залежить від стану яєчника, різниця між мінімальною і максимальною величинами значень становить 14,3 % і статистично не вірогідна ( $p > 0,05$ ).

Залежність вмісту ізозимів в тканині яєчника залежно від фізіологічного стану статевої залози — середньої сили (КАТ1 і КАТ2 –  $\eta = 0,339$ ), а з урахуванням гіпофункції — слабка ( $\eta = 0,293$ ). Отже, в тканині яєчника за

гіпофункції підвищений вміст СОД3 і ЕСОД та понижений СОД1 і СОД2, вірогідно ( $p < 0,01$ ) нижчий ГПО1, ГПО4 і ГПО5 та вищий ГПО3, порівняно з фізіологічними станами.

Подібні результати отримані за аналізу ізозимів ЕА3 в ендометрії залежно від фізіологічного стану яєчника. Так, в ендометрії величина значення СОД1 в межах 11,8–14,6 %, СОД2 – 38,0–49,3 %, СОД3 – 5,3–7,3 %, МСОД – 18,2–23,2 % і ЕСОД – 13,9–19,6 %, різниця 1,7–8,2 % статистично не вірогідна ( $p > 0,05$ ; табл. 3.7). Однак, для слизової матки за гіпофункції яєчника характерний

Таблиця 3.7

**Вміст ізозимів антиоксидантного захисту в тканині ендометрію, %,  $M \pm m$**

Ізозими	Стан яєчника				$\eta$
	Жовтого тіла		«фолікулярного росту»	гіпофункції	
	«раннього»	«пізнього»			
n =	35	17	30	15	
ЕСОД	15,6±1,44	13,9±2,34	15,1±2,19	19,6±2,97	0,173
МСОД	19,4±1,70	18,2±3,63	20,8±2,78	23,2±4,56	0,114
СОД 3	5,3±0,79	5,4±1,09	5,8±0,79	7,3±1,30	0,151
СОД 2	47,7±3,04	49,3±5,98	43,6±5,19	38,0±3,93	0,170
СОД 1	13,4±1,66	13,1±3,60	14,6±1,96	11,8±0,95	0,089
n =	4	3	3	5	-
ГПО5	12,8±2,29	9,3±2,12	10,4±0,26	18,7±4,02	0,541
ГПО 4	20,0±4,32	25,5±4,59	15,6±6,06	22,7±2,07	0,671
ГПО 3	28,2±5,44	35,5±3,21	67,6±2,22**	43,4±6,00	0,809
ГПО 2	12,7±3,73	11,3±1,13	7,9±1,59	8,1±1,51	0,413
ГПО 1	26,1±4,13**	15,0±4,59	4,9±0,28	5,0±1,15	0,709
n =	7	10	6	12	-
КАТ 2	89,1±3,72	77,0±8,93	86,6±4,79	91,6±2,25	0,331
КАТ 1	10,9±3,72	23,0±8,93	13,3±4,77	8,4±2,25	0,331

понижений вміст СОД2 і підвищений СОД3, МСОД і ЕСОД.

В ендометрії, залежно від фізіологічного стану яєчника, встановлено за «раннього жовтого тіла» максимальний ( $26,1 \pm 4,13$  %) вміст ГПО1, на 11,1 % нижчий за «пізнього жовтого тіла», а за «фолікулярного росту» — найнижчий ( $4,9 \pm 0,28$  %). Різниця між мінімальним і максимальним значеннями 21,2 % і статистично вірогідна ( $p < 0,01$ ). Подібні зміни встановлені при дослідженні вмісту ГПО2 і ГПО4. В ендометрії за фізіологічного стану яєчника раннього і «пізнього жовтого тіла» величина значення висока (відповідно, 11,3–12,7 % та 20,0–25,5 %) і нижча на 3,4–4,8 % та 4,4–9,9 % за «фолікулярного росту». Однак, за «фолікулярного росту» високий ( $67,6 \pm 2,22$  %) вміст ГПО3 і на 32,1 % нижчий за «пізнього жовтого тіла» та на 39,4 % за «раннього жовтого тіла». Вміст ГПО5 майже не відрізнявся (9,3–12,8 %), різниця становила 2,4–3,5 % і знаходилась в межах похибки середнього арифметичного.

За гіпофункції яєчника у ендометрії вміст ГПО1 понижений ( $5,0 \pm 1,15$  %), а ГПО5, навпаки, підвищений на 5,9–9,4 %, порівняно з фізіологічними станами. Величини значень вмісту інших ізозимів знаходились у фізіологічних межах. Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ГПО у ендометрії за фізіологічного стану яєчника і гіпофункції неоднозначне: ГПО1 і ГПО3 – сильне ( $\eta = 0,709$  і  $0,809$ ), ГПО2, ГПО4, ГПО5 – середньої сили ( $\eta = 0,413$ – $0,671$ ).

При дослідженні вмісту ізозимів КАТ в ендометрії встановлено слабку залежність від фізіологічного стану яєчника. Різниця між мінімальною і максимальною величинами значень становить 14,3 % і статистично не вірогідна ( $p > 0,05$ ). Однак, в тканині слизової матки за гіпофункції яєчника встановлена підвищена величина КАТ2 і низька – КАТ1. В тканині слизової матки для вмісту ізозимів КАТ залежність від фізіологічного стану яєчника слабка ( $\eta = 0,260$ ), а з урахуванням гіпофункції статевої залози – середньої сили ( $\eta = 0,331$ ). Таким чином, для ендометрію за гіпофункції яєчника характерний понижений вміст СОД2, ГПО1 і КАТ1 та підвищений СОД3, МСОД, ЕСОД,

ГПО5 і КАТ2, порівняно до слизової за фізіологічних станів статевої залози.

Аналіз вмісту ізоцимів у антральній рідині з фолікулів різного діаметру залежно від фізіологічного стану яєчника виявив, що за «фолікулярного росту» не залежно від розміру фолікула вміст СОД1 знаходиться в межах 7,6–9,7 %, СОД2 – 46,3–49,3 %, СОД3 – 4,8–6,9 %, МСОД – 9,7–19,5 % і ЕСОД – 20,7–27,8 % (табл. 3.8). Різниця між величинами значень вмісту вказаних ізоцимів

Таблиця 3.8

**Вміст ізоцимів супероксиддисмутази в антральній рідині фолікулів яєчників, М±m**

Діаметр, мм	n	Вміст ізоцимів (%) за стану яєчника				
		СОД 1	СОД 2	СОД 3	МСОД	ЕСОД
«фолікулярного росту»						
> 7	7	9,3±2,21	46,3±4,96	6,9±2,57	9,7±1,80	27,8±6,04
4-7	7	7,6±1,21	47,2±6,27	4,8±0,60	19,5±4,66	20,7±5,12
4 <	7	9,7±1,48	49,3±5,53	5,6±1,92	13,9±3,65	21,0±5,40
η		0,2	0,083	0,164	0,392	0,216
«пізнього жовтого тіла»						
> 7	6	11,4±2,43	57,8±6,98	4,6±2,20	16,0±5,21	10,1±0,94*
4-7	6	11,7±1,92	54,7±2,98	5,3±2,08	12,6±2,07	16,1±2,26
4 <	6	14,3±3,34	47,0±2,75	8,1±2,02	11,8±1,43	18,7±5,11
η		0,189	0,370	0,284	0,216	0,409
«раннього жовтого тіла»						
> 7	3	14,1±3,05	38,3±0,36*	9,0±4,31	20,8±7,21	17,7±7,10
4-7	3	11,9±1,94	39,8±5,15*	11,5±5,42	15,3±1,89	21,4±4,56
4 <	4	10,6±1,79	51,2±5,85	6,9±2,80	12,9±2,40	20,8±4,62
η		0,333	0,558	0,246	0,393	0,154
гіпофункції						
4 <	6	11,1±1,66	46,1±2,30	4,0±0,99	20,1±2,77	18,7±1,82

становить відповідно 3,1, 3,0, 2,1, 9,8 і 7,1 % і статистично не вірогідна ( $p > 0,05$ ). Подібні результати встановлені аналізом вмісту іозимів СОД у антральній рідині з фолікулів яєчників «пізнього» і «раннього жовтого тіла».

Однак, не зважаючи на відсутність вірогідної різниці між вмістом окремих іозимів у антральній рідині з фолікулів різного діаметру одного і того ж фізіологічного стану статевої залози, МСОД проявляє криволінійну середньої сили залежність від розміру фолікула яєчника «фолікулярного росту» ( $\eta = 0,392$ ). Аналогічно, вміст СОД2 у антральній рідині проявляє позитивну кореляцію від розміру фолікула яєчника «пізнього жовтого тіла» ( $\eta = 0,370$ ), а ЕСОД – негативну ( $\eta = 0,409$ ). Також, існує позитивна залежність від розміру фолікула і вмісту СОД1 та МСОД ( $\eta = 0,333$  та  $0,393$ ) й негативна з СОД2 ( $\eta = 0,558$ ) у антральній рідині з яєчника «раннього жовтого тіла».

Порівнянням величин значень іозимів у антральній рідині з однакових за розміром фолікулів, але різних за фізіологічним станом статевих залоз виявленовірогідну різницю ( $p < 0,05$ ) між середніми і великими фолікулами яєчників «раннього» та «пізнього жовтого тіла» за вмістом СОД2 та між великими фолікулами яєчників «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» за вмістом ЕСОД. Крім того, існує вірогідна різниця ( $p < 0,05$ ) між вмістом МСОД у антральній рідині з малих фолікулів фізіологічного стану «раннього жовтого тіла» та гіпофункції.

Підвищений вміст МСОД у антральній рідині малих фолікулів за гіпофункції яєчника, порівняно з аналогами за фізіологічних станів, свідчить про активне утворення  $O_2^{\cdot-}$  у мітохондріях клітин гранульози й, можливо, ооцита.

При аналізі вмісту іозимів ГПО залежно від розміру фолікула одного й того ж фізіологічного стану яєчника встановлено вищу величину значення ГПО1 у великому фолікулі за «фолікулярного росту» ( $20,1 \pm 1,97$  %) і меншу на 5,7 % ( $p < 0,05$ ) у фолікулі менше 4 мм та на 13,4 % у фолікулі 4–7 мм ( $p < 0,01$ ; табл. 3.9). Вміст ГПО2 зі збільшенням фолікула знижувався з максимальної



Таблиця 3.9

**Вміст ізозимів глутатіонпероксидази в антральній рідині фолікулів  
яєчників,  $M \pm m$**

Діаметр, мм	n	Вміст ізозимів (%) за стану яєчника				
		ГПО 1	ГПО 2	ГПО 3	ГПО 4	ГПО5
«фолікулярного росту»						
> 7	3	20,1±1,97	13,6±3,16	17,7±4,74	20,9±2,00	27,6±2,68
4-7	3	6,7±0,91**	18,4±3,75	18,0±5,84	24,6±5,35	32,2±3,47
4 <	3	14,4±0,38*	27,1±3,30*	10,5±2,49	24,3±1,07	23,6±1,47
η		0,928	0,685	0,389	0,275	0,602
«пізнього жовтого тіла»						
> 7	4	14,5±3,64	42,2±0,88*	9,6±0,63	17,1±1,78	16,5±1,61
4-7	4	11,6±3,91	40,6±3,87	8,7±1,55	18,6±2,71	20,3±2,80
4 <	4	13,5±3,31	29,6±4,60	8,3±1,96	31,1±7,25	22,2±4,48
η		0,161	0,624	0,173	0,565	0,382
«раннього жовтого тіла»						
> 7	3	7,0±1,56	24,9±3,09	10,0±3,21	18,6±2,12	39,5±2,88
4-7	3	3,4±0,07	21,1±2,14	9,7±2,90	23,6±3,77*	42,1±3,09
4 <	3	4,5±0,54	23,3±2,93	14,9±0,17	11,9±0,73	45,2±2,71
η		0,670	0,308	0,483	0,736	0,421
гіпофункції						
4 <	3	7,2±1,12	10,9±1,69	12,3±0,58	13,2±1,43	56,3±1,95

величини (27,1±3,30 %) на 8,7 % та 13,5 % ( $p < 0,05$ ), відповідно, за середнього та малого розмірів. Вміст ГПО3 і ГПО5 підвищувався зі збільшенням розміру фолікула: за менше 4 мм – 10,5±2,49 і 23,6±1,47 %, за 4–7 мм збільшився на 7,5 і 8,6 %, а за більше 7 мм становив, відповідно, 17,7±4,74 і 27,6±2,68 %. Вміст ГПО4 не змінювався, величина значення показника знаходилась в межах 20,9–24,6 %. Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ГПО за фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту» середньої сили: ГПО3 і ГПО5 – позитивне (відповідно,  $\eta = 0,389$  і  $0,602$ ), ГПО2 – негативне ( $\eta = 0,685$ ) і ГПО1 – сильне криволінійне ( $\eta = 0,928$ ).

За «пізнього жовтого тіла» в антральній рідині вміст ГПО1 майже однаковий (11,6–14,5 %), різниця становить 1,9–2,9 % і знаходиться в межах похибки середнього арифметичного. Подібні зміни встановлені при аналізі вмісту ГПО3: величина значення в межах 8,3–9,6 %. Вміст ГПО2 зі збільшенням розміру фолікула в антральній рідині зростає: з  $29,6 \pm 4,60$  % за менше 4 мм на 11,0 % за 4–7 мм і на 12,6 % ( $p < 0,05$ ) за більше 7 мм, а вміст ГПО4 і ГПО5, навпаки, поступово знижується: високий ( $31,1 \pm 7,25$  і  $22,2 \pm 4,48$  %) за менше 4 мм, на 12,5 і 1,9 % нижчий за 4–7 мм і на 14,0 і 5,7 % – за більше 7 мм.

Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ГПО в антральній рідині з фолікулів яєчника «раннього жовтого тіла» середньої сили: для ГПО2 позитивне ( $\eta = 0,624$ ), ГПО4 і ГПО5 — негативне ( $\eta = 0,565$  і  $0,382$ ).

За «раннього жовтого тіла» в антральній рідині вміст ГПО1 низький до 7 мм ( $3,4$ – $4,5$  %) і на  $2,5$ – $3,6$  % вищий за більшого розміру фолікула. Подібні результати отримані при аналізі вмісту ГПО2 — вища величина значення в антральній рідині великого фолікула ( $24,9 \pm 3,09$  %) і на  $1,6$ – $3,8$  % нижча за меншого розміру. На противагу, вміст ГПО3 і ГПО5 в антральній рідині зі збільшенням розміру фолікула проявляє тенденцію до зниження: за менше 4 мм величини значень, відповідно,  $14,9 \pm 0,17$  і  $45,2 \pm 2,71$  %, за 4–7 мм нижчі на 5,2 і 3,1 % і за більше 7 мм становлять  $10,0 \pm 3,21$  і  $39,5 \pm 2,88$  %. Вміст ГПО4 в антральній рідині найвищий ( $23,6 \pm 3,77$  %) за 4–7 мм і на 11,7 та 5,0 % нижчий, відповідно, за менше 4 мм і більше 7 мм.

Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ГПО в антральній рідині залежно від розміру фолікула яєчника «раннього жовтого тіла» середньої сили: негативне для ГПО3 і ГПО5 ( $\eta = 0,483$  і  $0,421$ ), позитивне – ГПО1 і ГПО2 ( $\eta = 0,670$  і  $0,308$ ) і сильне – ГПО4 ( $\eta = 0,736$ ).

Аналіз результатів досліджень ізозимів в антральній рідині за гіпофункції яєчника свідчить про найвищу величину значення ГПО5 ( $56,3 \pm 1,95$  %) і найнижчу ( $10,9 \pm 1,69$  %) ГПО2. Тобто, особливістю вмісту ізозимів ГПО в

антральній рідині за гіпофункції, порівняно з аналогами за фізіологічних станів яєчника, є понижений вміст ГПО2 (12,4–18,7 %;  $p < 0,05$ ) та вищий ГПО5 (11,1–34,1 %;  $p < 0,05$ ). Вміст інших ізозимів в антральній рідині знаходиться в межах величин характерних для фізіологічних станів яєчника.

Дослідження вмісту ізозимів у антральній рідині з різних за діаметром фолікулів одного і того ж фізіологічного стану яєчника свідчить, що за «раннього жовтого тіла» максимальний вміст КАТ1 характерний для фолікула менше 4 мм (78,1±4,93 %), а для більше 4 мм – однаковий (63,1–67,6 %; табл. 3.10). Вміст КАТ1 та КАТ2 майже однаковий (47,4–52,5 %) в антральній

Таблиця 3.10

**Вміст ізозимів каталази в антральній рідині фолікулів яєчників,  $M \pm m$**

Стан яєчника	Ізозими	Діаметр фолікулів, мм				$\eta$
		4 <		4-7	> 7	
		n	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	
гіпофункції	КАТ 1	6	56,8±13,13	-	-	-
	КАТ 2	6	43,6±12,99	-	-	-
«фолікулярного росту»	КАТ 1	6	46,6±11,15	62,8±9,47	50,2±10,34	0,264
	КАТ 2	6	53,4±11,15	37,2±9,47	49,8±10,34	0,265
«пізнього жовтого тіла»	КАТ 1	6	67,5±9,02	52,5±12,23	68,0±9,98	0,268
	КАТ 2	6	32,5±9,03	47,4±12,22	32,3±9,85	0,268
«раннього жовтого тіла»	КАТ 1	3	78,1±4,93	63,1±17,64	67,6±15,04	0,256
	КАТ 2	3	21,9±4,93	36,9±17,64	32,1±14,83	0,256

рідині з фолікулів 4–7 мм яєчників «пізнього жовтого тіла» і з малих (менше 4 мм) та великих (більше 7 мм) фолікулів «фолікулярного росту» (46,6–53,4 %). Майже однаковий вміст (43,6–56,8 %) ізозимів виявлено за гіпофункції яєчника.

Кореляційне відношення за фізіологічним станом яєчника для вмісту ізозимів КАТ в антральній рідині слабе ( $\eta = 0,256–0,268$ ).

Таким чином, найнижча активність ЕАЗ в тканині яєчника за гіпофункції, порівняно з фізіологічними станами, свідчить про ймовірне гальмування активності чи понижений синтез ензимів. При цьому, у тканинах репродуктивних органів (статевої залози і ендометрію) зростають процеси утворення  $O_2^{\cdot-}$  у мітохондріях і позаклітинному просторі та знижується здатність перетворювати їх у цитозолі клітин.

Вказані зміни окисного метаболізму і нагромадження цитотоксичного продукту Оксигену у мітохондріях порушує електронтранспортний ланцюг та, відповідно, знижує ресинтез АТФ, що характеризує як понижену генеративну функцію яєчника, так і якість статевої клітини в фолікулах. Генерування  $O_2^{\cdot-}$  за порушеного окисного метаболізму призводить до нагромадження  $H_2O_2$  в тканинах і антральній рідині фолікулів, що гальмує утилізацію цитотоксичного продукту та проявляється зростанням вмісту окремих ізозимів ГПО і КАТ.

Результати досліджень опубліковані в працях [226, 227, 228].

### **3.2.2. Активність лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування й вміст їх ізозимів в репродуктивних органах і антральній рідині фолікулів яєчників корів**

Відтворна здатність, дозрівання ооцитів, їх запліднення й розвиток плода регулюються інтенсивністю нагромадження та перетворення субстратів для ресинтезу АТФ в репродуктивних органах і організмі самки [229, 230, 231, 140]. При цьому, вказані процеси забезпечуються і характеризуються активністю окремих ензимів до яких належать ЛДГ, МДГ та АСТ [232, 233, 234, 235]. Тому, для виявлення особливостей обмінних процесів в тканинах ендометрію і яєчника корів за статевого циклу та гіпофункції досліджували активність і вміст ізозимів ензимів малатаспартатного шунта та ЛДГ.

Встановлено, що активність лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування в тканинах репродуктивних органів і антральній рідині фолікулів яєчників корів залежить від фізіологічного стану статевої залози. Так, найнижча активність ЛДГ характерна для тканин яєчника і ендометрію за «раннього жовтого тіла» (31,5–33,9 мкМ/хв×мг протеїну), вища на 7,2–19,1 % величина значення за «пізнього жовтого тіла» і на 30,6–35,2 % за «фолікулярного росту» і гіпофункції (табл. 3.11). Різниця між мінімальними і

Таблиця 3.11

**Активність лактатдегідрогенази і ензимів трансамінування в тканинах репродуктивних органів корів**

Стан яєчника	ЛДГ, мкМ/хв× мг протеїну		МДГ, нМ/хв× мг протеїну		АСТ, мкМ/хв× мг протеїну	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m
статевої залози						
гіпофункції	5	47,3±8,79	4	0,4±0,10	8	61,8±4,57
«раннього жовтого тіла»	10	33,9±5,52	11	0,8±0,19	12	66,5±2,10
«пізнього жовтого тіла»	4	36,5±9,19	7	0,6±0,16	7	132,0±8,23 <sup>***</sup>
«фолікулярного росту»	9	48,8±3,65 <sup>*</sup>	14	1,0±0,21 <sup>*</sup>	11	97,3±3,67 <sup>**</sup>
η		0,387		0,353		0,892
ендометрію						
гіпофункції	6	49,6±5,44 <sup>*</sup>	5	0,4±0,11	5	146,1±9,33
«раннього жовтого тіла»	3	31,5±1,65	3	0,9±0,22	3	147,1±13,26
«пізнього жовтого тіла»	4	38,9±10,03	4	1,3±0,04 <sup>***</sup>	4	172,9±8,70
«фолікулярного росту»	3	48,6±6,24 <sup>*</sup>	4	1,1±0,11 <sup>**</sup>	4	163,5±7,20
η		0,459		0,799		0,512

максимальними величинами значень встановленими за «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» у тканинах репродуктивних органів статистично вірогідна ( $p < 0,05$ ). Аналіз залежності активності ензиму від зміни

фізіологічного стану і гіпофункції в тканинах репродуктивних органів середньої сили (яєчника –  $\eta = 0,387$  і ендометрію –  $\eta = 0,459$ ).

Активність МДГ в тканині яєчника «фолікулярного росту» висока ( $1,0 \pm 0,21$  нмоль/хв $\times$ мг білка), нижча на 20,0 % за «раннього жовтого тіла» і найнижча за «пізнього жовтого тіла» ( $0,6 \pm 0,16$  нмоль/хв $\times$ мг білка). За гіпофункції статевої залози активність ензиму на 33,3–60,0 % нижча, порівняно з фізіологічними станами. Різниця між максимальною і мінімальною величинами значень статистично вірогідна ( $p < 0,05$ ). Аналіз залежності активності МДГ від фізіологічного стану яєчника свідчить про слабку за силою кореляцію ( $\eta = 0,266$ ). Проте, залежність активності ензиму від фізіологічного стану і гіпофункції яєчника середньої сили ( $\eta = 0,353$ ).

Отже, активність МДГ за гіпофункції яєчника характеризує знижене перетворення субстрату (оксалоацетату чи малату) для забезпечення фізіологічних функцій статевої залози.

Подібні результати отримані при дослідженні активності МДГ в ендометрії. Високі величини значень активності ензиму у слизовій матки виявлені за фізіологічних станів яєчника ( $0,9$ – $1,3$  нмоль/хв $\times$ мг білка) і на 55,6–69,3 % нижча за гіпофункції. Різниця між активністю МДГ в ендометрії за яєчників «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» та гіпофункції статистично вірогідна ( $p < 0,01$ – $0,001$ ). Кореляційне відношення для активності ензиму в ендометрії за фізіологічних станів середньої сили ( $\eta = 0,450$ ), а за фізіологічних станів і гіпофункції сильне ( $\eta = 0,799$ ).

Таким чином, за гіпофункції яєчника у ендометрії понижене використання субстратів для підготовки тканини для ймовірного запліднення, закріплення і розвитку плода.

Активність АСТ висока у тканині яєчника за «пізнього жовтого тіла» ( $132,0 \pm 8,23$  мкМ/хв $\times$  мг протеїну), нижча на 26,3 % за «фолікулярного росту» і найнижча за «раннього жовтого тіла» ( $66,5 \pm 2,10$  мкМ/хв $\times$  мг протеїну; 49,7 %;  $p < 0,001$ ). В тканині яєчника за гіпофункції встановлено, порівняно з

фізіологічними станами, найнижчу активність ензиму ( $61,8 \pm 4,57$  мкМ/хв×мг протеїну). Різниця становить 7,1–53,2 % ( $p < 0,001$ ). Залежність активності АСТ від фізіологічного і патологічного станів статевої залози ( $\eta = 0,892$ ).

За вивчення активності ензиму в ендометрії встановлено, що висока величина значення характерна для тканини за стану яєчника «пізнього жовтого тіла» і на 5,5 % нижча за «фолікулярного росту». Для слизової матки за фізіологічного стану статевої залози «раннього жовтого тіла» і гіпофункції характерна однакова величина значення ( $146,1–147,1$  мкМ/хв×мг протеїну). Різниця між мінімальною і максимальною активністю АСТ в ендометрії 15,6 %. Кореляційне відношення для активності ензиму в ендометрії за зміни фізіологічного стану і гіпофункції яєчника середньої сили ( $\eta = 0,512$ ).

Отже, активність ензимів малатаспартатного шунта нижча у репродуктивних органах корів за гіпофункції яєчника, ніж за фізіологічних станів статевої залози.

Аналогічні відмінності встановлені при дослідженні антральної рідини з фолікулів залежно від фізіологічного стану яєчника. Зокрема, низькі величини значень активності ЛДГ характерні для антральної рідини з фолікулів менше 7 мм яєчника «пізнього жовтого тіла» ( $1,1$  мкМ/хв×мг протеїну) і з великих фолікулів залоз «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» ( $1,4–1,5$  мкМ/хв×мг протеїну; табл. 3.12). Для малих фолікулів яєчників фолікулярного росту і «раннього жовтого тіла» характерна висока активність ЛДГ ( $1,9–2,2$  мкМ/хв×мг протеїну). Аналогічно, найвища активність ензиму ( $2,8 \pm 0,35$  мкМ/хв×мг протеїну) встановлена в антральній рідині з фолікулів 4–7 мм «фолікулярного росту» і нижча на 32,2 % з аналогів «раннього жовтого тіла». В антральній рідині з великих фолікулів «пізнього жовтого тіла» виявлено найвищу активність ензиму ( $2,2 \pm 0,88$  мкМ/хв×мг протеїну).

Найнижча активність ЛДГ, порівняно з аналогами за фізіологічних станів, проявляється в антральній рідині з малих фолікулів за гіпофункції яєчника. При цьому, різниця між аналогами за «фолікулярного росту» і гіпофункції 54,6–

Таблиця 3.12

**Активність лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування в антральній рідині фолікулів яєчників корів**

Ензим/ фолікул, мм		«раннього жовтого тіла»		«пізнього жовтого тіла»		«фолікулярного росту»		гіпофункції	
		n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
ЛДГ, мкМ/хв ×мг протеїну	> 7	3	1,4±0,29	3	2,2±0,88	7	1,5±0,21	-	-
	4-7	3	1,9±0,43	3	1,1±0,33	6	2,8±0,35**	-	-
	4 <	4	2,2±0,49	3	1,1±0,15	7	1,9±0,48	4	0,5±0,09
	η	-	0,386	-	0,462		0,484	-	-
МДГ, нМ/хв ×мг протеїну	> 7	3	0,4±0,14	3	0,6±0,22	6	1,3±0,41	-	-
	4-7	3	0,6±0,17	3	0,7±0,26	6	1,1±0,40	-	-
	4 <	3	0,3±0,13	4	0,5±0,13	7	1,6±0,46	4	0,4±0,06
	η	-	0,389	-	0,161		0,187	-	-
АСТ, мкМ/хв ×мг протеїну	> 7	3	35,7±4,79	6	58,3±6,16*	6	50,1±8,29	-	-
	4-7	3	47,6±1,17	3	69,1±1,82***	3	63,5±4,53*	-	-
	4 <	3	49,3±7,79	3	88,1±5,02***	3	37,0±3,84	3	99,0±5,12***
	η	-	0,302	-	0,723		0,523	-	-

77,3 % ( $p < 0,05$ ). Залежність активності ензиму в антральній рідині від фізіологічного стану яєчника встановлено: за «фолікулярного росту» — величини фолікула одного і того ж фізіологічного стану яєчника середньої сили ( $\eta = 0,386 - 0,482$ ). Дослідженнями активності МДГ в антральній рідині залежно від розміру фолікулів встановлено з розміру менше 4 мм «фолікулярного росту» високу активність ( $1,6 \pm 0,46$  нМ/хв×мг протеїну), пізнього і «раннього жовтого тіла» — з фолікулів 4–7 мм ( $0,6 - 0,7$  нМ/хв×мг протеїну). Активність МДГ в антральній рідині з фолікулів яєчника за гіпофункції не відрізняється від аналогів «пізнього» та «раннього жовтого тіла» і становить  $0,4 \pm 0,06$  нмоль/хв×мг білка.



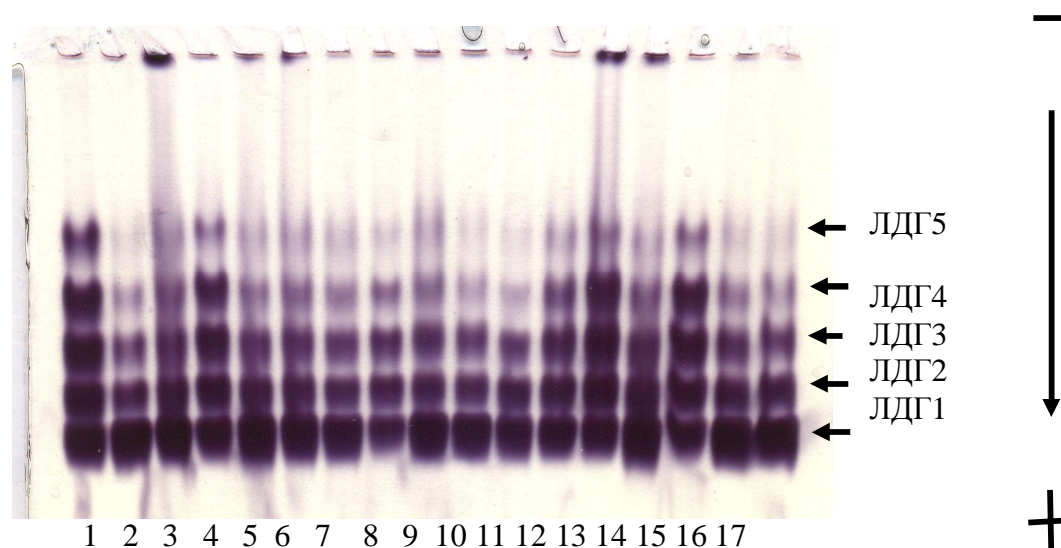
Встановлені особливості активності ензиму в антральній рідині свідчать про потребу в субстратах ростучих ооцитів з малих і середніх фолікулів яєчників «фолікулярного росту» та з «жовтим тілом». Величина активності МДГ з малих фолікулів яєчника за гіпофункції свідчить про потенційну можливість забезпечувати функції клітин гранульози і теки та розвиток ооцита.

Активність АСТ в антральній рідині, незалежно від розміру фолікула, найвища з яєчника «пізнього жовтого тіла» (58,3–88,1 мкМ/хв×мг протеїну), нижча на 8,2–50,3 % за «фолікулярного росту» і найнижча за «раннього жовтого тіла». За гіпофункції яєчника активність ензиму в антральній рідині малих фолікулів порівняно з аналогами за фізіологічних станів - найвища ( $99,0 \pm 5,12$  мкМ/хв×мг протеїну; 11,1–66,7%;  $p < 0,001$ ). Крім того, виявлено, що активність АСТ залежить від розміру фолікула одного і того ж фізіологічного стану статевої залози. Кореляційне відношення за розміром фолікула яєчника «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» в антральній рідині середньої сили (відповідно,  $\eta = 0,523$  і  $0,302$ ), а «пізнього жовтого тіла» – сильне ( $\eta = 0,723$ ).

Отже, зі зміною фізіологічного стану яєчника «раннього» → «пізнього жовтого тіла» → «фолікулярного росту» в тканині статевої залози і ендометрії та антральній рідині за росту фолікулів інтенсивно протікають процеси переамінування і з виділенням домінуючого фолікула гальмуванням активності ензиму в досліджених тканинах. Понижена активність ензиму в тканинах яєчника і ендометрію за гіпофункції свідчить про дефіцит субстратів для розвитку репродуктивних органів. Висока активність АСТ в антральній рідині вказує на потребу ростучого фолікула (гранульози і ооцита) в продуктах переамінування для росту і дозрівання.

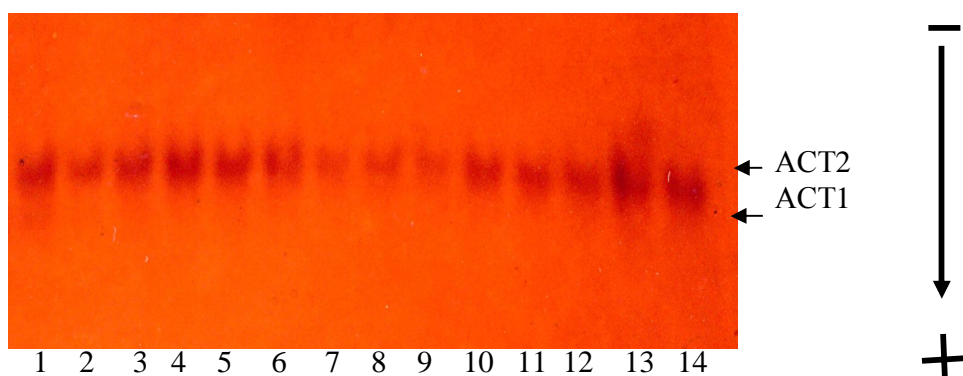
Використанням електрофорезу в 7,5 % ПААГ зі специфічним зафарбуванням в тканинах репродуктивних органів і антральній рідині з фолікулів яєчників корів виявлено ізозими лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування. Зокрема, активність ЛДГ у тканинах репродуктивних органів

і антральній рідині забезпечується 5 смугами каталітично активних ізозимів, які відрізняються електрофоретичною рухливістю, інтенсивністю та площею зафарбування. Ізозими на фореграмах в порядку зростання номеру (від зони рухливості маркерного барвника) позначили як ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3, ЛДГ4 і ЛДГ5 (рис. 3.12).



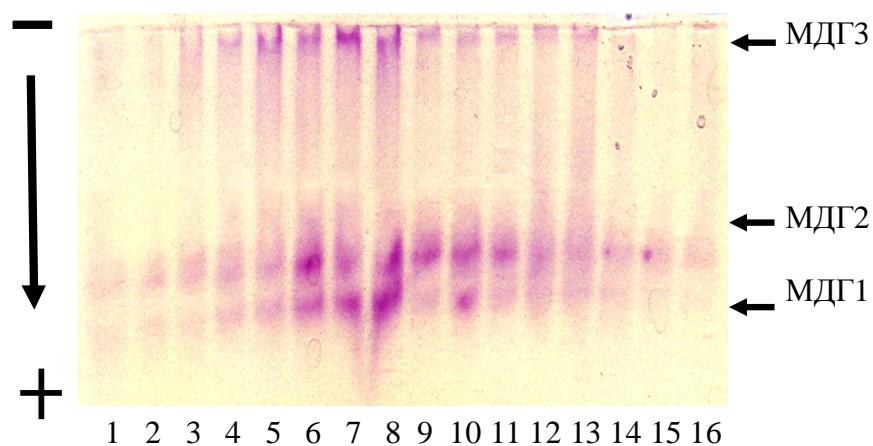
**Рис. 3.12. Ізозими ЛДГ в тканинах репродуктивних органів корів за фізіологічних станів статевої залози:** гіпофункції — 1 – матки, 2 – яєчника; «раннього жовтого тіла» — 3, 10, 14 – яєчника; 4, 11, 15 – матки; «пізнього жовтого тіла» — 7, 12, 16 – яєчника; 8, 13 – матки; «фолікулярного росту» — 5, 17 – яєчника; 6 – матки

Електрофорезом тканин репродуктивних органів корів і антральної рідини з фолікулів яєчників виявлено дві смуги протеїнів, які проявляли активність аспаратамінотрансферази (рис. 3.13). Смуги протеїнів АСТ в порядку зростання номеру (від зони рухливості маркерного барвника) позначили як АСТ1 і АСТ2. Виявлені на фореграмах 7,5% ПААГ ізозими характеризуються різною інтенсивністю та площею зафарбування, що вказує на неоднакову участь ізозимів ензиму в процесах перетворення аспартату в оксалоацетат в цитозолі і навпаки – в мітохондріях клітин.



**Рис. 3.13.** Ізозими АСТ тканин репродуктивних органів корів: яєчника – 1, 3, 4, 7, 8 – «пізнього жовтого тіла», 5 – гіпофункції; 10 – «фолікулярного росту»; 13 – «раннього жовтого тіла»; ендометрію за стану яєчника – 2, 9 – «пізнього жовтого тіла»; 11 – «фолікулярного росту»; 14 – «раннього жовтого тіла»; 6 – гіпофункції

Для тканин репродуктивних органів корів і антральної рідини з фолікулів яєчників характерні три смуги протеїнів, які проявляють активність малатдегідрогенази (рис. 3. 14). Смуги протеїнів МДГ характеризуються різною



**Рис. 3. 14.** Ізозими МДГ тканин репродуктивних органів корів: яєчників 1–4 – «фолікулярного росту»; 5, 7, 9 – «раннього жовтого тіла»; 11–13 – за гіпофункції»; ендометрію за стану яєчника: 6 – «фолікулярного росту»; 8, 10 – «раннього жовтого тіла», 14–16 – за гіпофункції

інтенсивністю та площею зафарбування, що вказує на неоднакову участь ізозимів ензиму в процесах утворення в цитозолі і використання малату в мітохондріях.

Встановлені особливості проявлення ензиматично активних смуг протеїнів ензимів залежать від досліджених тканин репродуктивних органів і фізіологічного стану статевої залози. Зокрема, для тканини яєчника характерна високий вміст ЛДГ1 (36,6–49,3 %), менший ЛДГ2 і ЛДГ3 (11,1–27,5 %), а найнижчий ЛДГ4 та ЛДГ5 (6,8–13,2 %; табл. 3.13). Крім того, вміст ізозимів у

Таблиця 3. 13

**Вміст ізозимів лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування в тканині яєчника, %,  $M \pm m$**

Ізозими	Стан яєчника				$\eta$
	Жовтого тіла		«фолікулярного росту»	гіпофункції	
	«раннього»	«пізнього»			
n =	7	4	7	4	
ЛДГ 5	13,2±3,06	6,8±0,77	10,8±2,53	8,6±2,53	0,347
ЛДГ 4	11,2±2,42	10,1±1,00	6,8±1,36	11,0±3,91	0,336
ЛДГ 3	16,4±1,70*	14,0±0,36	11,1±1,27	16,2±1,64*	0,551
ЛДГ 2	22,1±3,55	19,8±0,34	21,9±2,63	27,5±4,26	0,298
ЛДГ 1	36,7±4,81	49,3±1,64*	46,9±2,54	36,6±7,93	0,465
n =	20	12	20	13	-
МДГ3	27,1±4,54	18,8±2,62	25,0±3,55	29,0±4,26*	0,509
МДГ 2	38,3±6,74	44,9±6,03	38,9±5,42	36,0±6,15	0,094
МДГ 1	34,5±6,19	36,3±6,39	34,8±6,16	34,9±4,75	0,114
n =	7	15	9	5	-
АСТ 2	88,0±2,86	86,8±3,86	92,2±3,10	88,9±3,70	0,197
АСТ 1	13,2±3,86	11,9±2,86	7,8±3,09	10,9±3,69	0,197

тканині яєчника залежить і від фізіологічного стану. Низька величина ЛДГ1 виявлена за «раннього жовтого тіла» ( $36,7 \pm 4,81$  %) і на  $10,2$ – $12,6$  % ( $p < 0,05$ ) вища за «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла». Одночасно вміст ЛДГ2 майже не залежав від фізіологічного стану яєчника, величина значення в межах  $19,8$ – $22,1$  %. На противагу, вміст ЛДГ3 високий ( $16,4 \pm 1,70$  %) за «раннього жовтого тіла», нижчий на  $2,4$  % за «пізнього жовтого тіла» і найнижчий за «фолікулярного росту» ( $11,1 \pm 1,27$  %;  $5,1$  %,  $p < 0,05$ ).

Подібний результат отриманий при аналізі ЛДГ4 – висока величина значення за «раннього жовтого тіла» ( $11,2 \pm 2,42$  %) і нижча на  $4,4$  % ( $p > 0,05$ ) за «фолікулярного росту». Тенденційно нижче значення ЛДГ5 встановлено в тканині статевої залози за «пізнього жовтого тіла» ( $6,8 \pm 0,77$  %), а за інших фізіологічних станів – вище на  $4,0$ – $6,4$  % ( $p > 0,05$ ). За гіпофункції яєчника в тканині проявляється високий вміст ЛДГ2, величина значення на  $5,4$ – $7,7$  % вища ніж за фізіологічних станів. За вмістом інших ізозимів не виявлено вірогідних різниць. Аналіз кореляцій свідчить про середньої сили залежність вмісту ізозимів ЛДГ від фізіологічного стану та гіпофункції статевої залози (ЛДГ 1 –  $\eta = 0,465$ ; ЛДГ3 –  $\eta = 0,551$ ; ЛДГ4 –  $\eta = 0,336$ ; ЛДГ5 –  $\eta = 0,347$ ).

Вміст МДГ1 та МДГ2 у тканинах яєчника, не залежно від фізіологічного стану, майже однаковий і знаходиться в межах  $34,5$ – $44,9$  %, а вміст МДГ3 –  $18,8$ – $27,1$  %. При цьому, нижча величина значення МДГ2 ( $36,0 \pm 6,15$  %) і вища МДГ3 ( $29,0 \pm 4,26$  %) проявляється за гіпофункції, порівняно з фізіологічними станами. Аналіз залежності вмісту ізозимів ензиму від фізіологічного стану яєчника свідчить про слабку силу кореляції (МДГ1 –  $\eta = 0,031$ ; МДГ2 –  $\eta = 0,126$ ; МДГ3 –  $\eta = 0,250$ ). Подібна сила кореляції залежності встановлена між вмістом ізозимів МДГ1 і МДГ2 та фізіологічними станами й гіпофункцією яєчника ( $\eta = 0,094$ – $0,114$ ). Однак, кореляційне відношення для вмісту МДГ3 за зміни фізіологічних станів й гіпофункції яєчника середньої сили ( $\eta = 0,509$ ).

В тканині яєчника основна частина активності АСТ забезпечується вмістом АСТ2 ( $86,8$ – $92,2$  %), а АСТ1 займає  $7,8$ – $13,2$  %. При цьому, для тканин

яєчника за «фолікулярного росту» характерний найнижчий вміст АСТ1 ( $7,8 \pm 3,09$  %), вища величина встановлена за «раннього жовтого тіла» ( $13,2 \pm 3,86$  %). Різниця вказаного ізоциму між мінімальними і максимальними величинами становить, відповідно, 6,8 % ( $p > 0,05$ ). І навпаки, вміст АСТ2 найвищий за фізіологічного стану статевої залози «фолікулярного росту» і найнижчий за «раннього жовтого тіла». Кореляційне відношення для вмісту ізоцимів в тканині яєчника залежно від фізіологічного стану слабе ( $\eta = 0,197$ ). За гіпофункції яєчника вміст АСТ1 в тканині статевої залози становить 10,9 %, а АСТ2 – 88,9 %.

Таким чином, в тканині яєчника за гіпофункції проявляється підвищений вміст ЛДГ2 та МДГ3, що характеризує вищий рівень окисного метаболізму, порівняно з фізіологічними станами статевої залози.

При вивченні вмісту ізоцимів ензимів в ендометрії залежно від фізіологічного стану статевої залози встановлені подібні залежності. Так, за «раннього жовтого тіла» в слизовій матки виявлено найнижчий вміст ЛДГ1 ( $29,7 \pm 3,40$  %) і максимально високі значення ЛДГ3 і ЛДГ4 (18,2–21,5 %) та ЛДГ5 ( $9,9 \pm 2,06$  %; табл. 3.14). За зміни фізіологічного стану статевої залози: «пізнього жовтого тіла» → «фолікулярного росту» вміст ЛДГ1 підвищується на 13,3 ( $p < 0,05$ ) і 35,1 %, порівняно з раннім жовтим тілом. Одночасно вміст ЛДГ3, ЛДГ4 і ЛДГ5 знижується відповідно 3,0–11,0 % ( $p < 0,05$ ), 11,1–16,5 % ( $p < 0,01$ – $0,001$ ), 3,8–4,6 %. У ендометрії за гіпофункції статевої залози величини вмісту ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3, ЛДГ4 знаходяться на рівні значень виявлених за «раннього жовтого тіла». Вміст ЛДГ5 у слизовій матки за вказаного стану яєчника найвищий ( $12,2 \pm 3,34$  %). Різниця між вказаною величиною і мінімальною – 6,9 % ( $p > 0,05$ ). Кореляційне відношення для вмісту ізоцимів ЛДГ в ендометрії залежно від фізіологічного стану та гіпофункції яєчника: сильне – для ЛДГ1 та ЛДГ4 (відповідно,  $\eta = 0,737$  та  $0,799$ ) і середньої сили – для ЛДГ3 та ЛДГ5 ( $\eta = 0,507$  та  $0,479$ ). Вміст ЛДГ2 в слизовій матки слабо залежить від стану яєчника ( $\eta = 0,286$ ).

Таблиця 3.14

**Вміст ізозимів лактатдегідрогенази та ензимів трансамінування в тканині ендометрію залежно від фізіологічного стану яєчника, %,  $M \pm m$**

Ізозими	Стан яєчника				$\eta$
	Жовтого тіла		«фолікулярного росту»	гіпофункції	
	«раннього»	«пізнього»			
n =	4	3	3	5	
ЛДГ 5	9,9±2,06	6,1±1,89	5,3±1,65	12,2±3,34	0,479
ЛДГ 4	21,5±0,96 <sup>***</sup>	11,4±2,76	5,0±2,01	17,1±2,68	0,799
ЛДГ 3	18,2±2,83 <sup>*</sup>	15,2±3,46	7,2±2,56	18,3±4,48	0,507
ЛДГ 2	20,8±3,41	23,6±2,50	17,7±5,72	18,3±3,23	0,286
ЛДГ 1	29,7±3,40	43,0±1,82	64,8±10,89 <sup>*</sup>	34,0±5,58	0,737
n =	8	11	8	13	
МДГ3	22,8±4,70	16,7±4,19	24,7±7,54	29,0±4,26 <sup>*</sup>	0,273
МДГ 2	45,5±7,87	56,7±8,09	40,0±7,20	36,0±6,15	0,325
МДГ 1	32,0±5,69	26,5±7,31	35,2±6,33	34,9±4,75	0,181
n =	6	7	4	6	
АСТ 2	78,8±7,44	91,7±2,21	97,7±0,45 <sup>*</sup>	89,1±2,50	0,568
АСТ 1	21,4±7,44	8,2±2,22	4,8±2,51	10,8±2,49	0,550

Основна частина вмісту ізозимів МДГ у тканині ендометрію за фізіологічних станів яєчника припадає на МДГ2 (36,0–56,7 %) і менша на МДГ1 (26,5–35,2 %) та МДГ3 (16,7–29,0 %). У ендометрії за гіпофункції яєчника виявлено понижений (36,0±6,15 %) вміст МДГ2 і підвищений (29,0±4,26 %) МДГ3, порівняно з тканиною за фізіологічних станів. Різниця між вмістом МДГ3 у тканині ендометрію за гіпофункції яєчника і «пізнього жовтого тіла» – 12,3 % ( $p < 0,05$ ).

Основна частина активності АСТ в ендометрії забезпечується вмістом АСТ2 (78,8–97,7 %), а АСТ1 займає 4,8–21,4 %. При цьому, для тканин слизової

матки за стану статевої залози «фолікулярного росту» характерний найнижчий вміст АСТ1 ( $4,8 \pm 2,51$  %), а вищий на 16,6 % ( $p > 0,05$ ) за «раннього жовтого тіла» ( $21,4 \pm 7,44$  %). І навпаки, вміст АСТ2 найвищий у тканині за фізіологічного стану статевої залози «фолікулярного росту» і найнижчий за «раннього жовтого тіла». Різниця між мінімальним і максимальним вмістом іозиму в ендометрії залежно від вказаних фізіологічних станів яєчника – 18,9 % ( $p < 0,05$ ).

Кореляційне відношення для вмісту іозимів в тканині ендометрію у зв'язку з фізіологічним станом яєчника середньої сили ( $\eta = 0,550-0,568$ ). За гіпофункції яєчника вміст АСТ1 в тканині ендометрію, порівняно з величиною значень за фізіологічних станів статевої залози, не відрізняється і становить 10,9 %, а АСТ2 – 88,9 %.

Отже, в тканині ендометрію за гіпофункції яєчника проявляється максимальна величина МДГ3 та понижена – МДГ2, а вміст інших іозимів досліджених ензимів знаходиться в межах величин значень встановлених за фізіологічних станів статевої залози.

Вміст іозимів досліджених ензимів в антральній рідині залежить як від фізіологічного стану яєчників, так і розміру фолікулів з яких вона отримана. Зокрема, при вивченні вмісту іозимів ЛДГ встановлено, що за фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту» та збільшення розміру фолікула вміст ЛДГ1 та ЛДГ5 проявляють тенденцію до зростання ( $3,7-10,3$  % та  $0,3-1,6$  %), а ЛДГ2, ЛДГ3 і ЛДГ4 – до зниження ( $0,5-2,8$  %;  $2,2-3,3$  %;  $2,5-4,4$  %; табл. 3.15).

Кореляційне відношення для вмісту іозимів ЛДГ за збільшення розміру фолікула і фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту» середньої сили: ЛДГ1 – позитивне, а ЛДГ3 і ЛДГ4 – негативне ( $\eta = 0,465-0,534$ ).

На відміну, за «раннього жовтого тіла» і збільшення величини фолікулів вміст ЛДГ1 і ЛДГ4 – знижуються ( $5,2-7,0$  і  $2,3-4,2$  %), а ЛДГ2 і ЛДГ5 – зростають ( $8,0-8,4$  і  $1,6-2,5$  %). Вміст ЛДГ3 понижений ( $6,1 \pm 0,66$  %) у антральній рідині з фолікулів 4–7 мм.



Таблиця 3.15

**Вміст ізозимів лактатдегідрогенази в антральній рідині фолікулів  
яєчників,  $M \pm m$**

Діаметр фолікулів, мм	n	Вміст ізозимів (%) за стану яєчника				
		ЛДГ 1	ЛДГ 2	ЛДГ 3	ЛДГ 4	ЛДГ 5
«фолікулярного росту»						
> 7	4	67,7±4,07	18,0±3,15	6,6±1,86	2,5±0,56	5,1±1,39
4-7	4	61,1±3,66	20,3±3,92	7,7±1,03	4,4±1,57	6,4±2,18
4 <	4	57,4±1,96	20,8±2,58	9,9±1,07	6,9±1,89	4,8±1,20
η		0,534	0,181	0,465	0,531	0,202
«пізнього жовтого тіла»						
> 7	4	62,3±6,15	23,4±5,03	5,2±0,60	3,9±1,13	5,2±0,92
4-7	4	59,7±6,55	15,8±3,74	14,7±5,30	5,8±0,78	4,1±1,10
4 <	3	61,9±3,97	15,3±1,87	7,2±1,05	7,7±2,33	8,0±3,31
η		0,100	0,439	0,545	0,490	0,409
«раннього жовтого тіла»						
> 7	3	57,8±2,43	23,8±1,06*	8,5±1,58	4,1±0,64	5,8±0,33***
4-7	3	59,6±0,31	23,4±1,04*	6,1±0,66	6,0±1,32	4,9±0,66
4 <	3	64,8±2,26	15,4±2,47	8,0±1,96	8,3±1,11*	3,3±0,64
η		0,663	0,801	0,374	0,683	0,722
гіпофункції						
4 <	3	61,6±1,41	14,4±0,14	7,5±0,67	7,7±1,12	8,8±0,88

Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ЛДГ за збільшення розміру фолікула і фізіологічного стану яєчника «раннього жовтого тіла»: ЛДГ2 і ЛДГ5 – сильне, позитивне ( $\eta = 0,722-0,801$ ), ЛДГ1 і ЛДГ4 – середньої сили негативне, а ЛДГ3 – криволінійне ( $\eta = 0,374-0,683$ ).

За фізіологічного стану яєчника «пізнього жовтого тіла» у антральній рідині за збільшення розміру фолікулів підвищується на 0,5–8,0 % вміст ЛДГ2,

а ЛДГ4 і ЛДГ5 знижуються, відповідно на 1,9–3,8 %. Вміст ЛДГ3 високий з фолікулів 4–7 мм ( $14,7 \pm 5,30$  %) і нижчий на 7,5–9,5 % з малих і великих за розміром.

Кореляційне відношення для вмісту ізозимів ЛДГ за збільшення розміру фолікула і фізіологічного стану яєчника «пізнього жовтого тіла» середньої сили: ЛДГ2 – позитивне, ЛДГ4 і ЛДГ5 – негативне, ЛДГ3 – криволінійне ( $\eta = 0,409-0,545$ ).

Для антральної рідини з малих фолікулів за гіпофункції характерний найвищий вміст ЛДГ5 (на 0,8–5,5 %;  $p < 0,05-0,01$ ), порівняно до аналогів за фізіологічних станів яєчників.

Подібні відмінності встановлені при вивченні вмісту ізозимів МДГ. У антральній рідині найвищий вміст МДГ1 виявлено у фолікулах статевих залоз «раннього жовтого тіла» (52,5–60,9 %), МДГ2 з «пізнього жовтого тіла» (43,9–56,1 %), а МДГ3 з «фолікулярного росту» (27,7–41,8 %; табл. 3.16). Для яєчника за гіпофункції характерна присутність малих фолікулів в антральній рідині яких вміст ізозимів МДГ характеризується середніми величинами, відповідно, МДГ1 – 44,9 %, МДГ2 – 33,2 % і МДГ3 – 21,8 %.

Аналіз вмісту ізозимів в антральній рідині з одного і того ж фізіологічного стану яєчника, але різних за розміром фолікулів свідчить, що за пропорційного збільшення розміру фолікула статевих залоз «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» проявляється тенденція до зниження вмісту МДГ1 на 5,2–16,1 % і, навпаки, до зростання МДГ3 на 3,8–14,1 %. Поряд з цим, вміст МДГ2 в антральній рідині з фолікулів яєчника «фолікулярного росту», не залежно від розміру, знаходиться в межах 31,4–36,2 %, а за «пізнього жовтого тіла» проявляє тенденцію до підвищення (на 7,0–12,2 %) зі збільшенням величини фолікулів. У яєчнику «раннього жовтого тіла» зі збільшенням розміру фолікулів вміст МДГ1 підвищується на 2,0–6,3 %, а МДГ2 проявляє максимум ( $21,5 \pm 3,53$  %) за 4–7 мм і МДГ3 ( $28,6 \pm 5,93$  %) за розміру менше 4 мм.

Аналіз кореляцій між розміром фолікула і вмістом ізозимів МДГ залежно

Таблиця 3.16

**Вміст ізозимів малатдегідрогенази в антральній рідині фолікулів яєчників,  
M±m**

Діаметр фолікулів, мм	n	Вміст ізозимів (%) за стану яєчника		
		МДГ 1	МДГ 2	МДГ 3
«фолікулярного росту»				
> 7	11	26,6±6,52	31,4±7,07	41,8±7,06
4-7	11	30,2±6,06	36,2±6,17	33,6±6,28
4 <	10	37,8±8,10	34,5±7,83	27,7±8,01
η		0,209	0,094	0,252
«пізнього жовтого тіла»				
> 7	10	22,9±6,53	56,1±6,83	20,9±3,52
4-7	9	34,8±10,08	50,3±11,27	14,8±4,57
4 <	8	39,0±11,73	43,9±11,38	17,1±6,52
η		0,238	0,164	0,176
«раннього жовтого тіла»				
> 7	4	60,9±6,76	15,7±1,64	23,4±7,75
4-7	4	58,9±6,95	21,5±3,53	19,6±4,28
4 <	4	52,5±6,25	18,9±3,02	28,6±5,93
η		0,260	0,382	0,286
гіпофункції				
4 <	10	44,9±6,12	33,2±6,85	21,8±3,18

від фізіологічного стану яєчника слабкої сили ( $\eta = 0,094-0,286$ ). Виключення становить вміст МДГ2 у фолікулах яєчника «раннього жовтого тіла» – кореляційне відношення криволінійне середньої сили ( $\eta = 0,382$ ).

У антральній рідині основну частину активності АСТ забезпечує АСТ1 (72,8–88,2 %) і меншу – АСТ2 (11,7–27,2 %; табл. 3.17). При цьому, залежно від фізіологічного стану статевої залози і розміру фолікула вміст ізозимів

Таблиця 3.17

**Вміст ізозимів аспартатамінотрансферази в антральній рідині фолікулів  
яєчників,  $M \pm m$**

Стан яєчника	Ізозими	Діаметр фолікулів, мм				$\eta$
		4 <		4-7	> 7	
		n	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	
гіпофункції	АСТ 1	3	78,1 $\pm$ 1,26	-	-	-
	АСТ 2	3	21,9 $\pm$ 1,96	-	-	-
«фолікулярного росту»	АСТ 1	5	72,8 $\pm$ 2,73	84,2 $\pm$ 1,67	87,4 $\pm$ 5,71	0,557
	АСТ 2	5	27,2 $\pm$ 2,73	15,8 $\pm$ 1,67	12,6 $\pm$ 5,71	0,557
«пізнього жовтого тіла»	АСТ 1	3	88,2 $\pm$ 2,36*	77,4 $\pm$ 2,57	87,9 $\pm$ 2,27*	0,769
	АСТ 2	3	11,7 $\pm$ 2,38	22,5 $\pm$ 2,57*	12,1 $\pm$ 2,27	0,769
«раннього жовтого тіла»	АСТ 1	3	82,8 $\pm$ 1,44	85,7 $\pm$ 2,29	86,5 $\pm$ 1,53	0,456
	АСТ 2	3	17,2 $\pm$ 1,44	14,3 $\pm$ 2,29	13,5 $\pm$ 1,51	0,456

відрізняється. Так, за «фолікулярного росту» найвищий вміст АСТ1 (87,4 $\pm$ 5,71 %) встановлено в антральній рідині фолікула більше 7 мм, а найнижчий з малого фолікула (72,8 $\pm$ 2,73 %; менше 4 мм). Відповідно, найвищим вмістом АСТ2 характеризується антральна рідина з малого фолікула (27,2 $\pm$ 2,73 %), а низьким (12,6 $\pm$ 5,71 %) – з великого. Різниця між вказаними величинами ізозимів становить 14,6 %. У антральній рідині з фолікулів 4–7 мм яєчника «пізнього жовтого тіла» встановлена низька величина значення АСТ1 (77,4 $\pm$ 2,57 %) і, навпаки, висока АСТ2 (22,5 $\pm$ 2,57 %). Для антральної рідини з фолікулів іншого розміру характерна майже однакова величина значень, відповідно, АСТ1 – 87,9–88,2 % і АСТ2 – 11,7–12,1 %. Різниця між максимальним і мінімальним вмістом ізозимів статистично вірогідна ( $p < 0,05$ ).

Не виявлено змін вмісту ізозимів АСТ в антральній рідині фолікулів «раннього жовтого тіла» – різниця 0,8–3,7 % знаходиться в межах похибки середнього арифметичного.

Кореляційне відношення за вмістом АСТ1 для антральної рідини з фолікулів яєчників «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» позитивне середньої сили ( $\eta = 0,557$  і  $0,456$ ) і для АСТ2 – негативне ( $\eta = 0,557$  і  $0,456$ ).

Для антральної рідини з малих фолікулів яєчника за «гіпофункції» характерний низький вміст АСТ1 ( $78,1 \pm 1,26$  %) і високий АСТ2 ( $21,9 \pm 1,96$  %), порівняно з аналогами за фізіологічних станів.

Таким чином, в тканинах репродуктивних органів за гіпофункції яєчника підвищена активність ЛДГ, на фоні пониженої активності ензимів малатаспартатного шунта, характеризує дефіцит субстратів і низьку інтенсивність окисно-відновних процесів пов'язаних з ресинтезом АТФ та порушення фізіологічних функцій. Одночасно, високий вміст АСТ2 в тканинах яєчника та матки за «фолікулярного росту» статевої залози свідчить про інтенсивне перетворення аспартату в оксалоацетат і, ймовірно, використання субстратів для забезпечення енергетичних й синтетичних потреб в репродуктивних органах корів.

Зміни активності ензимів в тканинах яєчника за гіпофункції у антральній рідині фолікулів проявляються найвищим вмістом ЛДГ5 ( $p < 0,05-0,01$ ), що характеризує здатність клітин фолікулів утилізувати вуглеводи переважно анаеробним гліколізом. Поряд з цим, середні величини вмісту ізозимів МДГ, за вказаних умов, свідчать про потенційну здатність забезпечувати розвиток ооцита.

Результати досліджень опубліковані в працях [236, 237, 238].

### 3.3. Вміст розчинних протеїнів в тканинах репродуктивних органів та антральній рідині фолікулів яєчників корів

Вміст загального протеїну, його окремих фракцій в тканинах репродуктивних органів залежать від стадій статевого циклу і характеризують інтенсивність репродуктивної функції, ріст і дозрівання фолікулів, якість ооцитів та розвиток плода [239, 240, 241, 242, 243]. Тому, досліджували протеїни в тканинах яєчника і ендометрію за фізіологічного стану та гіпофункції статевої залози.

Аналіз вмісту розчинного протеїну в тканині яєчників залежно від фізіологічного стану статевої залози свідчить про високу величину значення за «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» (9,5–10,4 мг/мл) та на 17,9–25,0 % ( $p < 0,05$ ) нижчий за «пізнього жовтого тіла» (табл. 3.18). За гіпофункції

Таблиця 3.18

#### Вміст розчинного протеїну в репродуктивних органах корів, мг/мл

Тканина	«раннього жовтого тіла»		«пізнього жовтого тіла»		«фолікулярного росту»		гіпофункції		η
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
яєчника	22	9,5±0,74	9	7,8±0,32	19	10,4±0,92*	8	10,2±1,33	0,250
ендометрію	5	10,1±1,01	7	9,0±0,69	4	8,7±0,95	6	11,1±0,55	0,529
Антральна рідина з фолікулів діаметром (мм)									
> 7	3	39,8±5,68	13	20,8±4,74	25	25,9±3,48	-	-	-
4-7	3	31,2±0,34	10	28,0±4,88	17	26,9±3,50	-	-	-
4 <	4	36,3±4,06**	10	28,3±5,49*	19	27,1±3,24**	4	11,5±2,84	
η		0,411		0,216		0,031		-	-

яєчника в тканині вміст загального протеїну становив 10,2±1,33 мг/мл і був на рівні тканини за «фолікулярного росту». Кореляційне відношення для вмісту

розчинного протеїну в тканині яєчників за фізіологічного стану і гіпофункції слабе ( $\eta = 0,250$ ).

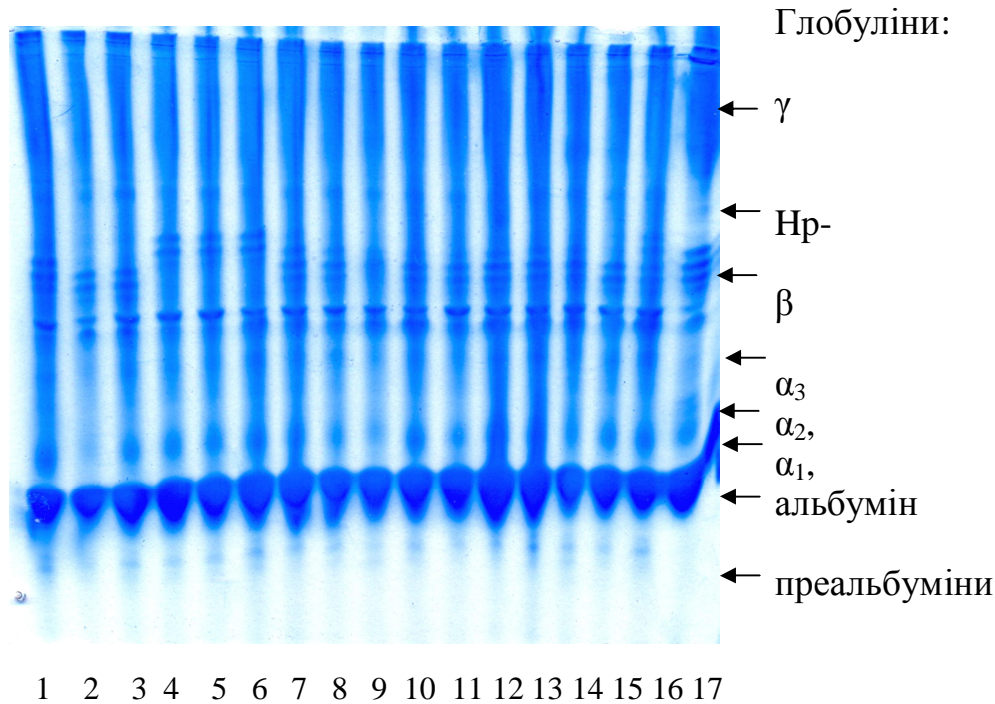
Вміст розчинного протеїну в ендометрії також залежав від фізіологічного стану статевої залози. Зокрема, низька величина характерна для слизової оболонки за «фолікулярного росту» ( $8,7 \pm 0,95$  мг/мл), вища на 3,4 % за «пізнього жовтого тіла» і ще на 13,9 % більша за «раннього жовтого тіла». Найвищий вміст розчинного протеїну у ендометрії встановлено за гіпофункції яєчника –  $11,1 \pm 0,55$  мг/мл. Кореляційне відношення за зміни фізіологічного стану і гіпофункції яєчника для вмісту розчинного протеїну в ендометрії середньої сили ( $\eta = 0,529$ ).

Оцінюванням вмісту розчинного протеїну в антральній рідині встановлено, що найвища величина значення ( $31,2$ – $39,8$  мг/мл) не залежно від розміру фолікула характерна для яєчників корів за «раннього жовтого тіла». При цьому, найвищий вміст загального протеїну встановлено у антральній рідині з великого фолікула ( $39,8 \pm 5,68$  мг/мл). Для антральної рідини фолікулів до 7 мм яєчника «пізнього жовтого тіла» характерний однаковий вміст розчинного протеїну ( $28,0$  мг/мл) і на  $7,5$ – $7,2$  мг/мл нижчий з більшого за розміром. У антральній рідині з яєчника «фолікулярного росту» зі збільшенням розміру фолікулів проявляється тенденція до зниження на  $0,2$ – $1,2$  мг/мл вмісту загального протеїну. Найнижча величина значення досліджуваного показника характерна для антральної рідини з малих фолікулів яєчника за гіпофункції ( $11,5 \pm 2,84$  мг/мл). Різниця між величинами значень для аналогів за фізіологічних станів і гіпофункції становить  $57,6$  –  $68,4$  % ( $p < 0,05$ – $0,01$ ).

Отже, за гіпофункції яєчника, порівняно до фізіологічних станів, підвищений вміст загального протеїну в ендометрії та вірогідно нижчий ( $p < 0,05$ – $0,01$ ) в антральній рідині.

Електрофорезом в 7,5 % ПААГ тканин репродуктивних органів встановлено фракції розчинних протеїнів, які відносно рухливості білків

сироватки крові позначили як: преальбуміни, альбумін і глобуліни:  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\alpha_3$ -,  $\beta$ -, гаптаглобінів (Hr-),  $\gamma$ - (рис. 3. 15). Дослідженням вмісту фракцій розчинних



**Рис. 3.15. Розчинні протеїни тканин репродуктивних органів корів:** яєчника: 1–4 – фолікулярний ріст; 5, 7, 9 – раннє жовте тіло; 11, 12 – пізнє жовте тіло; 13 – гіпофункція; ендометрії: 6, 8, 10 – раннє жовте тіло; 14, 15 – пізнє жовте тіло; гіпофункція – 16; 17 – сироватка крові.

протеїнів встановлено, що у тканині статевої залози зі зміною фізіологічного стану яєчників: «раннє жовте тіло» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» вміст преальбумінів поступово знижується з  $5,7 \pm 1,05$  % на  $0,8$ – $1,1$  % (табл. 3.19). На противагу, вміст альбуміну підвищується на  $2,5$ – $3,3$  %. Одночасно, вищі величини значень  $\alpha$ - і  $\beta$ -глобулінів (відповідно,  $\alpha_1$ –  $1,1$ – $2,0$  %,  $\alpha_2$  –  $0,3$ – $0,2$  %,  $\alpha_3$  –  $0,8$ – $1,0$  % і  $\beta$  –  $0,3$ – $2,8$  %;  $p < 0,05$ ) встановлені за «пізнього жовтого тіла», порівняно з іншими фізіологічними станами яєчника. Вміст гаптаглобінів (Hr-) високий за «фолікулярного росту», нижчий на  $0,4$  % ( $p < 0,05$ ) за «пізнього жовтого тіла» і найменший за «раннього жовтого тіла» ( $1,0 \pm 0,13$  %;  $p < 0,01$ ), а вміст  $\gamma$ -глобулінів, навпаки, на  $6,0$  і  $6,5$  % зменшується за зміни фізіологічного стану статевої залози: «раннє жовте тіло» → «пізнє



Таблиця 3.19

**Вміст розчинних протеїнів в тканинах репродуктивних органів,  $M \pm m$** 

Фракції протеїнів		Тканина за стану статевої залози; вміст протеїнів, %				$\eta$	
		ФР	ПЖТ	РЖТ	ГФ		
Яєчника, n=		19	15	15	6		
глобуліни	$\gamma$ -	12,6 $\pm$ 2,10	13,1 $\pm$ 2,03	19,1 $\pm$ 2,03	14,2 $\pm$ 3,27	0,327	
	Hp -	1,6 $\pm$ 0,18**	1,2 $\pm$ 0,08	1,0 $\pm$ 0,13	1,2 $\pm$ 0,40	0,346	
	$\beta$ -	8,4 $\pm$ 1,30	8,7 $\pm$ 1,41*	5,9 $\pm$ 1,22	8,4 $\pm$ 2,81	0,204	
	$\alpha$ -	$\alpha_3$	2,4 $\pm$ 0,39	3,2 $\pm$ 0,51	2,2 $\pm$ 0,58	4,4 $\pm$ 0,87*	0,356
		$\alpha_2$	1,3 $\pm$ 0,14	1,6 $\pm$ 0,36	1,4 $\pm$ 0,23	1,6 $\pm$ 0,37	0,126
		$\alpha_1$	2,9 $\pm$ 2,53	4,0 $\pm$ 0,76	2,0 $\pm$ 0,47	4,5 $\pm$ 1,33	0,342
альбумін		66,1 $\pm$ 2,53	63,6 $\pm$ 3,43	62,8 $\pm$ 3,26	60,3 $\pm$ 2,61	0,167	
преальбуміни		4,6 $\pm$ 1,12	4,9 $\pm$ 1,07	5,7 $\pm$ 1,05	5,1 $\pm$ 1,62	0,100	
Ендометрій, n=		11	9	14	7	-	
глобуліни	$\gamma$ -	13,6 $\pm$ 2,82	15,9 $\pm$ 3,14	19,1 $\pm$ 3,24*	7,1 $\pm$ 1,65	0,408	
	Hp -	1,3 $\pm$ 0,39	1,6 $\pm$ 0,18	1,1 $\pm$ 0,16	1,1 $\pm$ 0,05	0,272	
	$\beta$ -	10,1 $\pm$ 1,81	7,4 $\pm$ 1,52	7,9 $\pm$ 1,25	7,4 $\pm$ 1,92	0,225	
	$\alpha$ -	$\alpha_3$	2,6 $\pm$ 0,64	2,0 $\pm$ 0,35	2,7 $\pm$ 0,59	2,8 $\pm$ 0,63	0,176
		$\alpha_2$	1,2 $\pm$ 0,19	1,7 $\pm$ 0,32	1,5 $\pm$ 0,28	1,8 $\pm$ 0,36	0,209
		$\alpha_1$	3,2 $\pm$ 0,41	3,8 $\pm$ 0,76	2,6 $\pm$ 0,49	4,3 $\pm$ 1,51	0,252
альбумін		58,2 $\pm$ 3,50	55,9 $\pm$ 3,71	54,8 $\pm$ 3,22	69,3 $\pm$ 4,00*	0,180	
преальбуміни		9,0 $\pm$ 3,56	11,7 $\pm$ 3,69	9,9 $\pm$ 3,69	6,8 $\pm$ 3,28	0,148	

жовте тіло» → «фолікулярний ріст». За гіпофункції яєчника, порівняно з фізіологічними станами, в тканині не виявлено вірогідних змін вмісту преальбумінів, альбуміну,  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінів, а різниця між величинами значень знаходилась в межах похибки середнього арифметичного. Тільки в зоні рухливості  $\alpha_3$ -глобулінів встановлено на 1,2–2,2 % ( $p < 0,05$ ) вищий вміст вказаної фракції. Аналіз кореляцій фракцій розчинних протеїнів в тканині

статевої залози за зміни фізіологічних станів яєчника: «раннє жовте тіло» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» середньої сили ( $\eta=0,324-0,389$ ) – для  $\alpha_1$ -глобулінів – криволінійне з максимумом за «пізнього жовтого тіла», Нр – позитивне та  $\gamma$ -глобулінів – негативне. Одночасно з урахуванням фізіологічного стану і гіпофункції статевої залози кореляційне відношення вмісту окремих фракцій розчинних протеїнів тканини змінюється і є за силою: середньою ( $\eta = 0,327-0,356$ ) з вмістом  $\alpha_1$ - і  $\alpha_3$ -, Нр- та  $\gamma$ -глобулінів і слабкою ( $\eta = 0,100-0,204$ ) – з преальбумінів, альбуміну і  $\beta$ - глобулінів.

Таким чином, за гіпофункції в тканині яєчника вищий вміст  $\alpha_3$ -глобулінів ( $p < 0,05$ ), порівняно з фізіологічними станами статевої залози.

Вміст розчинних протеїнів в ендометрії також залежав від фізіологічного стану яєчника. Висока величина значення преальбумінів встановлена за «пізнього жовтого тіла» ( $11,7\pm 3,69$  %) і нижча на 1,8–2,9 % за «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту». Вміст альбуміну майже не відрізнявся і становив 54,8–58,2 %, а різниця між величинами значень знаходилась в межах похибки середнього арифметичного. Вміст глобулінів в ендометрії змінювався залежно від фізіологічного стану яєчника. Зокрема,  $\alpha_1$ -глобуліни низькі ( $2,6\pm 0,49$  %) за «раннього жовтого тіла» і вищі на 0,6 % за «фолікулярного росту» та на 1,2 % за «пізнього жовтого тіла». Вміст  $\alpha_2$ -глобулінів понижений за «фолікулярного росту» і вищий на 0,3–0,5 % за інших фізіологічних станів. Вміст  $\alpha_3$ -глобулінів високий за «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» ( $2,6-2,7$  %), а за «раннього жовтого тіла» на 0,6–0,7 % нижчий. Вміст  $\beta$ -глобулінів підвищений за «фолікулярного росту» ( $10,1\pm 1,81$  %) і понижений ( $2,2-2,7$  %) за «раннього» та «пізнього жовтого тіла», а  $\gamma$ -глобулінів – вищий ( $19,1\pm 3,24$  %) за «раннього жовтого тіла» і на 3,2–5,5 % нижчий за «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту». Вміст Нр-глобінів високий за «пізнього жовтого тіла» ( $1,6\pm 0,18$  %), нижчий на 0,3–0,5 % за «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла». Незважаючи на значні коливання величин показників залежність вмісту окремих фракцій розчинних протеїнів у ендометрії від

фізіологічного стану – слабка ( $\eta = 0,089-0,248$ ).

За гіпофункції яєчника, порівняно з фізіологічними станами, в ендометрії понижений на 2,2–4,9 % вміст преальбумінів, на 6,5–12,0 % ( $p < 0,05$ )  $\gamma$ -глобулінів і на 0,2–0,5 % ( $p < 0,05$ ) Нр-глобінів та підвищений на 11,1–14,5 % ( $p < 0,05$ ) альбуміну,  $\alpha$ -глобулінів (відповідно,  $\alpha_1$ - 0,5–1,7 %,  $\alpha_2$ -0,1–0,6 %,  $\alpha_3$ - 0,1–0,8 %;  $p < 0,05$ ). Вміст  $\beta$ -глобулінів в ендометрії за гіпофункції яєчника не відрізнявся від величин значень встановлених за фізіологічних станів.

Однак, вміст  $\gamma$ -глобулінів в слизовій матки за гіпофункції, порівняно зі змінами за фізіологічних станів яєчників, відрізнявся і був нижчим на 6,5–12,0 % ( $p < 0,01$ ). Кореляційне відношення за вмістом  $\gamma$ -глобулінів в ендометрії за фізіологічних станів і гіпофункції яєчника середньої сили ( $\eta = 0,408$ ).

Отже, в тканині ендометрію за гіпофункції яєчника підвищений вміст альбуміну ( $p < 0,05$ ) і понижений  $\gamma$ -глобулінів ( $p < 0,01$ ), порівняно з фізіологічними станами статевої залози.

Аналіз розчинних протеїнів в антральній рідині у зв'язку з розміром фолікула і з урахуванням фізіологічного стану яєчника свідчить про слабку залежність вмісту фракцій за фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту» (табл. 3.20). Величини значень окремих фракцій в антральній рідині залежно від розміру фолікулів вірогідно не відрізнялися, оскільки різниця знаходилась в межах похибки середнього арифметичного. Кореляційне відношення за розміром фолікула яєчника «фолікулярного росту» для фракцій розчинних протеїнів в антральній рідині слабке ( $\eta = 0,031-0,223$ ).

Аналогічні результати отримані за аналізу фракцій протеїнів з «пізнього жовтого тіла». Кореляційне відношення за розміром фолікула яєчника «пізнього жовтого тіла» для фракцій розчинних протеїнів в антральній рідині слабке ( $\eta = 0,00-0,170$ ).

Аналіз вмісту розчинних протеїнів антральної рідини з фолікулів яєчника «раннього жовтого тіла» свідчить про понижений вміст преальбумінів за розміру більше 7 мм ( $3,6 \pm 1,46$  %) і вищий на 3,6–4,6 % за меншого 7 мм. На

Таблиця 3.20

Вміст розчинних протеїнів в антральній рідині фолікулів,  $M \pm m$ 

Фракції протеїнів		Розмір фолікула, мм				
		4 <	4-7	> 7	$\eta$	
«фолікулярного росту», n=17						
глобуліни	$\gamma$ -	14,5±4,37*	14,1±4,39	15,0±4,53	0,044	
	Hp -	1,0±0,30	0,9±0,27	0,9±0,32	0,031	
	$\beta$ -	19,5±2,46	14,4±2,14	16,0±2,54	0,223	
	$\alpha$ -	$\alpha 3$	1,7±0,50	2,1±0,71	1,9±0,64	0,063
		$\alpha 2$	2,3±1,02	3,3±1,37	2,3±0,94	0,109
		$\alpha 1$	3,4±1,28	2,4±0,67	2,7±0,61	0,118
альбумін		54,5±5,07	59,5±4,25	56,6±4,69	0,114	
преальбуміни		3,3±0,73	3,1±0,7	3,6±0,91	0,077	
«пізнього жовтого тіла», n=14						
глобуліни	$\gamma$ -	10,4±3,81	9,7±4,18	13,6±5,23	0,109	
	Hp -	0,8±0,32	0,8±0,30	0,8±0,24	0,000	
	$\beta$ -	16,4±3,07	18,1±3,28	16,9±3,54	0,063	
	$\alpha$ -	$\alpha 3$	3,0±0,82	2,6±0,87	3,3±0,75	0,094
		$\alpha 2$	2,9±1,07	4,5±2,01	3,4±1,26	0,126
		$\alpha 1$	2,1±0,58	1,5±0,36	1,6±0,31	0,170
альбумін		60,4±4,52	58,7±4,76	56,3±5,41	0,100	
преальбуміни		4,0±1,36	4,0±1,26	4,4±1,55	0,044	
«раннього жовтого тіла», n =14						
глобуліни	$\gamma$ -	4,7±1,74	10,5±3,59	10,6±3,85	0,336	
	Hp -	0,7±0,11	0,6±0,16	1,0±0,42	0,232	
	$\beta$ -	20,9±5,56	18,2±4,46	19,2±5,13	0,089	
	$\alpha$ -	$\alpha 3$	2,6±1,04	1,5±0,15	2,2±0,61	0,258
		$\alpha 2$	2,2±1,37	2,5±1,20	2,7±0,87	0,083
		$\alpha 1$	2,2±0,36	3,5±1,54	2,5±0,66	0,236
альбумін		59,5±3,56	55,1±4,53	58,3±4,78	0,176	
преальбуміни		7,2±3,47	8,2±3,34	3,6±1,46	0,303	
гіпофункції, n =7						
глобуліни	$\gamma$	13,2±3,62	-	-	-	
	Hp	1,2±0,22	-	-	-	
	$\beta$	12,4±3,53	-	-	-	
	$\alpha$ -	$\alpha 3$	2,6±0,61	-	-	-
		$\alpha 2$	1,6±0,19	-	-	-
		$\alpha 1$	1,7±0,29	-	-	-
альбумін		59,1±4,77	-	-	-	
преальбуміни		8,4±3,21	-	-	-	

противагу за дослідження  $\gamma$ -глобулінів встановлено: висока величина значення (10,5–10,6 %) за більше 4 мм і на 5,8–5,9 % нижча за меншого діаметру

фолікулів.

Кореляційне відношення за розміром фолікула яєчника «раннього жовтого тіла» для преальбумінів і  $\gamma$ -глобулінів в антральній рідині середньої сили ( $\eta = 0,303-0,336$ ), а для інших фракцій – слабке ( $\eta = 0,083-0,258$ ).

За гіпофункції яєчника в антральній рідині з малих фолікулів величини значень вмісту фракцій розчинних протеїнів становлять (%): преальбуміни –  $8,4 \pm 3,21$ , альбумін –  $59,1 \pm 4,77$  і глобуліни –  $\alpha_1 - 1,7 \pm 0,29$ ,  $\alpha_2 - 1,6 \pm 0,19$ ,  $\alpha_3 - 2,6 \pm 0,61$ ,  $\beta - 2,4 \pm 3,53$ , Нр –  $1,2 \pm 0,22$ ,  $\gamma - 13,2 \pm 3,62$  і вірогідно не відрізняються, порівняно з аналогами за фізіологічних станів.

Таким чином, за гіпофункції в тканині яєчника вищий вміст  $\alpha_3$ -глобулінів ( $p < 0,05$ ), а в ендометрії – підвищений вміст альбуміну ( $p < 0,05$ ) і понижений  $\gamma$ -глобулінів ( $p < 0,01$ ), порівняно з фізіологічними станами статевої залози.

Результати досліджень опубліковані в працях [244].

### **3.4. Кореляції між концентраціями гормонів у крові та тканинах репродуктивних органів і активністю ензимів**

#### **3.4.1. Зв'язок концентрацій гонадотропінів у плазмі крові з стероїдними гормонами у тканинах репродуктивних органів корів.**

В зв'язку зі значною мінливістю величин значень досліджуваних показників та неоднозначною залежністю від фізіологічного стану статевої залози, досліджували кореляції між гонадотропними і стероїдними гормонами й біохімічними показниками в плазмі крові й тканинах репродуктивних органів корів.

Аналіз кореляцій між концентрацією гонадотропінів у плазмі крові і стероїдними гормонами в тканинах репродуктивних органів свідчить, що зі збільшенням концентрації ЛГ в плазмі крові зростали естрадіол, прогестерон та тестостерон в тканині яєчника (табл. 3.21). При цьому, концентрація E2 за

Таблиця 3.21

**Зв'язок між концентрацією гонадотропінів в плазмі крові та стероїдними  
гормонами в тканинах репродуктивних органів корів**

Концентрація гормонів	ЛГ, МО/л						η
	< 1,2		1,2 – 2,4		> 2,4		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
Естрадіол, пг/мл	3	11,7±1,52	7	18,1±4,60	5	49,8±7,20***	0,540
Прогестерон, нг/мл	3	21,3±5,05	7	26,4±6,41	5	57,2±5,41**	0,478
Тестостерон, нг/мл	3	21,7±6,22	7	13,4±5,51	5	40,0±6,03**	0,585
<b>ендометрій</b>							
Естрадіол, пг/мл	3	3,0±0,47	7	9,0±1,16***	5	10,0±2,48	0,561
Прогестерон, нг/мл	3	36,3±8,50	7	60,7±12,26**	5	10,0±2,70	0,435
Тестостерон, нг/мл	3	26,0±9,74	7	38,7±7,29	5	28,6±9,00	0,282
<b>ФСГ, МО/л</b>							
-	< 0,5		0,5-1,0		> 1,0		-
<b>яєчник</b>							
Естрадіол, пг/мл	4	42,0±8,15	7	27,7±6,04	5	11,2±1,18	0,397
Прогестерон, нг/мл	4	27,5±7,45	7	27,7±5,32	5	48,4±7,35	0,304
Тестостерон, нг/мл	4	26,0±11,1	7	24,6±8,79	5	16,8±3,83	0,194
<b>ендометрій</b>							
Естрадіол, пг/мл	4	8,3±2,65	7	9,6±1,56	5	4,8±1,53	0,434
Прогестерон, нг/мл	4	18,7±6,78	7	64,6±12,24	5	14,0±2,38	0,480
Тестостерон, нг/мл	4	32,5±8,59	7	29,3±7,21	5	37,6±9,00	0,184

менше 1,2 МО/л ЛГ низька (11,7±1,52 пг/мл), за збільшення до 2,4 МО/л підвищується на 33,4 % і за більше 2,4 МО/л максимальна (49,8±7,2 пг/мл).

Кореляційне відношення за ЛГ в плазмі крові для концентрації E2 в тканині яєчника середньої сили позитивне (η = 0,540).

Відносно зростання концентрації вказаного гонадотропного гормону в плазмі крові для П в тканині яєчника: величина значення майже не змінюється (21,3–26,4 нг/мл) до 2,4 МО/л і зростає в 2 рази за більше 2,4 МО/л ЛГ. Кореляційне відношення за ЛГ в плазмі крові для концентрації П в тканині яєчника середньої сили позитивне ( $\eta = 0,478$ ).

Подібні зміни встановлені за дослідження впливу ЛГ на концентрацію Т в тканині статевої залози. За менше 1,2 МО/л концентрація Т –  $21,7 \pm 6,22$  нг/мл, за збільшення до 2,4 МО/л знижується на 8,3 нг/мл і за більше 2,4 МО/л знову на 66,5 % ( $p < 0,01$ ) підвищується. Кореляційне відношення за ЛГ в плазмі крові для концентрації Т в тканині яєчника середньої сили криволінійне ( $\eta = 0,585$ ). ЛГ в плазмі крові проявляє вплив на концентрацію стероїдних гормонів у ендометрії. Зокрема, за підвищення з мінімальної величини (менше 1,2 МО/л) до 2,4 МО/л ЛГ в плазмі крові концентрація Е2 підвищується з  $3,0 \pm 0,47$  пг/мл на 66,7 % ( $p < 0,001$ ) до  $9,0 \pm 1,16$  пг/мл і залишається без змін за більше 2,4 МО/л. Кореляційне відношення за ЛГ в плазмі крові для концентрації Е2 в тканині ендометрію середньої сили позитивне ( $\eta = 0,561$ ).

Від концентрації ЛГ в плазмі крові залежить вміст П в ендометрії. Так, за менше 1,2 МО/л гонадотропіну встановлено  $36,3 \pm 8,50$  нг/мл стероїдного гормону, збільшення до 2,4 МО/л призводить до зростання на 40,2 % концентрації П, величина значення якого на 83,6 % ( $p < 0,01$ ) знижується за більше 2,4 МО/л ЛГ. Кореляційне відношення за ЛГ в плазмі крові для концентрації П в тканині ендометрію середньої сили криволінійне ( $\eta = 0,435$ ) з максимальною величиною показника за 1,2–2,4 МО/л ЛГ.

Концентрація ЛГ в плазмі крові слабо впливає на вміст Т в ендометрії, оскільки за мінімального і максимального значень гонадотропіну вміст Т в межах 26,0–28,6 нг/мл, а за 1,2–2,4 МО/л ЛГ вищий на 10,1–12,7 нг/мл (26,1–32,9 %;  $p > 0,05$ ). Кореляційне відношення за ЛГ в плазмі крові для концентрації Т в тканині ендометрію слабкої сили ( $\eta = 0,282$ ).

Таким чином, підвищення концентрації ЛГ в плазмі крові характеризує

зростання в тканині яєчника всіх стероїдних гормонів ( $p < 0,01$ ), а в ендометрії – існує оптимальна величина гонадотропного гормону (1,2–2,4 МО/л) за якої проявляються високі концентрації Е2 і П.

Концентрація стероїдних гормонів в тканинах репродуктивних органів залежить від вмісту ФСГ в крові корів. Встановлено, що з підвищенням концентрації ФСГ вміст Е2 і Т в тканині яєчника знижуються, а П – підвищується. Зокрема, за менше 0,5 МО/л ФСГ концентрація Е2 –  $42,0 \pm 8,15$  пг/мл, а Т –  $26,0 \pm 11,10$  нг/мл, за збільшення до 1,0 МО/л величини значень знижуються, відповідно, 34,1 і 5,4 %, і за більше 1,0 МО/л ФСГ менші від максимальних на 73,4 ( $p < 0,01$ ) і 35,4 %. Концентрація П до 1,0 МО/л ФСГ становить 28,0 нг/мл, за більше 1,0 МО/л зростає на 42,2 %. Кореляційне відношення за концентрації ФСГ в плазмі крові для Е2 і П в тканині яєчника середньої сили, відповідно, негативне ( $\eta = 0,397$ ) і позитивне ( $\eta = 0,304$ ). За концентрацією ФСГ для Т кореляційне відношення слабке ( $\eta = 0,194$ ).

Аналогічно, в ендометрії концентрація Е2 знижується відносно підвищення ФСГ в плазмі крові. Так, до 1,0 МО/л концентрація Е2 в межах 8,3–9,6 пг/мл, а за більше 1,0 МО/л знижується на 42,2–50,0 % ( $p < 0,05$ ). Концентрація П максимальна ( $64,6 \pm 12,24$  нг/мл) за 0,5–1,0 МО/л ФСГ і нижча на 71,1 та 78,4 % відповідно, за менше 0,5 і більше 1,0 МО/л ( $p < 0,01$ ). Концентрація Т в ендометрії незалежно від класів варіаційного ряду ФСГ в плазмі крові – 29,3–37,6 нг/мл, різниця – 8,3 нг/мл знаходиться в межах похибки середнього арифметичного. Кореляційне відношення за ФСГ для концентрацій: Е2 – негативне середньої сили ( $\eta = 0,434$ ), П – криволінійне з оптимумом за 0,5–1,0 МО/л ( $\eta = 0,480$ ) і Т – слабке ( $\eta = 0,184$ ).

Отже пропорційне підвищення концентрації ФСГ в плазмі крові корів характеризує в досліджених тканинах зниження концентрації Е2, а П – в тканині яєчника – зростання, в ендометрії – існує оптимум гонадотропіну (0,5–1,0 МО/л) за якого проявляється максимальна величина значення.

Результати досліджень опубліковані в праці [245].



### 3.4.2. Зв'язок концентрацій гормонів у плазмі крові з активністю ензимів у тканинах репродуктивних органів корів

Підвищення концентрації ФСГ в плазмі крові корів проявляє зв'язок з активністю ензимів в тканинах репродуктивних органів. Зокрема до 0,5 МО/л активність ЛДГ і МДГ в тканині яєчника низькі (відповідно,  $28,2 \pm 8,15$  і  $0,7 \pm 0,17$  мкМ/хв×мг протеїну), за збільшення до 1,0 МО/л активність ЛДГ зростає майже в два рази (1,8 рази) і залишається майже на цьому ж рівні за більше 1,0 МО/л (табл. 3.22). Активність МДГ за вказаних умов максимальна

Таблиця 3.22

#### Зв'язок між концентрацією ФСГ в плазмі крові та активністю ензимів у тканинах репродуктивних органів корів

Ензим, × мг протеїну	ФСГ, МО/л						η
	< 0,5		0,5–1,0		> 1,0		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
яєчник							
ЛДГ, мкМ/хв	4	$28,2 \pm 8,15$	7	$49,9 \pm 9,35$	5	$44,8 \pm 6,01$	0,405
МДГ, нМ/хв	4	$0,7 \pm 0,17$	7	$0,8 \pm 0,22$	5	$1,1 \pm 0,39$	0,234
АСТ, мкМ/хв	4	$99,2 \pm 10,13^{**}$	7	$52,1 \pm 6,82$	5	$53,4 \pm 8,63$	0,468
СОД, МО	4	$20,9 \pm 4,12$	7	$19,6 \pm 3,03$	5	$13,7 \pm 4,15$	0,331
ГПО, мкМ/хв	4	$0,5 \pm 0,09$	7	$0,4 \pm 0,07$	5	$0,5 \pm 0,12$	0,307
КАТ, мМ/хв	4	$1,2 \pm 0,04^{***}$	7	$1,0 \pm 0,04$	5	$0,8 \pm 0,05$	0,794
ендометрій							
ЛДГ, мкМ/хв	4	$33,8 \pm 3,58$	6	$29,6 \pm 10,13$	3	$28,1 \pm 9,55$	0,116
МДГ, нМ/хв	4	$0,9 \pm 0,25$	6	$0,8 \pm 0,14$	4	$1,0 \pm 0,16$	0,185
АСТ, мкМ/хв	4	$148,7 \pm 12,97$	6	$137,0 \pm 12,65$	4	$169,1 \pm 3,13^*$	0,322
СОД, МО	4	$14,2 \pm 4,26$	6	$13,4 \pm 2,39$	4	$17,1 \pm 0,80$	0,252
ГПО, мкМ/хв	4	$0,5 \pm 0,05$	7	$0,4 \pm 0,04$	4	$0,4 \pm 0,04$	0,353
КАТ, мМ/хв	4	$0,7 \pm 0,06$	6	$0,6 \pm 0,05$	4	$0,7 \pm 0,09$	0,280

( $1,1 \pm 0,39$  мкМ/хв×мг протеїну) за більше 1,0 МО/л ФСГ. На відміну від вказаних ензимів активність АСТ за низької концентрації ФСГ (0,5 МО/л) максимальна ( $99,2 \pm 10,13$  мкМ/хв×мг протеїну), а за більше 0,5 МО/л нижча на 46,2–47,5 % ( $p < 0,01$ ). Концентрація ФСГ в плазмі крові проявляє зв'язок з активністю ензимів антиоксидантного захисту в тканині яєчника. Зокрема, за менше 0,5 МО/л активність СОД і КАТ – високі, відповідно,  $20,9 \pm 4,12$  МО×мг протеїну і  $1,2 \pm 0,04$  мМ/хв×мг протеїну, а за більше 1,0 МО/л нижчі на 34,5 і 33,3 % ( $p < 0,001$ ). Активність ГПО зі зміною концентрації ФСГ в плазмі крові знаходилася в межах 0,4–0,5 мкМ/хв×мг протеїну.

Кореляційне відношення за концентрацією ФСГ в плазмі крові для ЛДГ в тканині яєчника позитивне середньої сили ( $\eta = 0,405$ ) і негативне для АСТ та СОД – середньої сили (відповідно,  $\eta = 0,468$  і  $0,331$ ), а КАТ – сильне ( $\eta = 0,794$ ). Від концентрації ФСГ в плазмі крові слабо залежала активність досліджених ензимів в тканині ендометрію. Зі збільшенням від менше 0,5 до 1,0 МО/л і більше активність ЛДГ – 28,1–33,8 мкМ/хв×мг протеїну, різниця становить 5,7 мкМ/хв×мг протеїну і знаходиться в межах похибки середнього арифметичного. Аналогічні результати отримані при аналізі залежності ензимів антиоксидантного захисту в тканині ендометрію з ФСГ в плазмі крові.

Від концентрації ЛГ в плазмі крові залежала активність досліджених ензимів в тканинах репродуктивних органів. Так, за менше 1,2 та більше 2,4 МО/л активність ЛДГ  $35,0$  мкМ/хв×мг протеїну в тканині яєчника, а за 1,2–2,4 МО/л вища на 39,6 % ( $p < 0,05$ ; табл. 3.23). На противагу, активності МДГ і СОД низькі за 1,2–2,4 МО/л та вищі на 61,6 і 47,6 % ( $p < 0,05$ ) та 50,0 і 46,7 % ( $p < 0,05$ ), відповідно, за менше 1,2 та більше 2,4 МО/л. Активність АСТ, ГПО та КАТ низькі за менше 1,2 МО/л і зростають, відповідно, на 59,9 ( $p < 0,05$ ), 60,0 ( $p < 0,05$ ) і 20,0 % ( $p < 0,05$ ) за більше 1,2 МО/л ЛГ. Кореляційне відношення в тканині яєчника за концентрацією ЛГ в плазмі крові середньої сили позитивне з активністю АСТ, ГПО і КАТ – (відповідно,  $\eta = 0,332$ ,  $0,368$  і  $0,580$ ) та криволінійне з ЛДГ, МДГ і СОД ( $\eta = 0,483$ ,  $0,400$  і  $0,546$ ).

Таблиця 3.23

**Зв'язок між концентрацією ЛГ в плазмі крові та активністю ензимів у  
тканинах репродуктивних органів корів**

Ензим, × мг протеїну	ЛГ, МО/л						η
	< 1,2		1,2 – 2,4		> 2,4		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
яєчник							
ЛДГ, мкМ/хв	3	35,4±9,79	5	58,6±5,45*	8	35,9±8,43	0,483
МДГ, нМ/хв	3	1,3±0,81	5	0,5±0,15	8	1,0±0,20	0,400
АСТ, мкМ/хв	3	31,3±7,69	5	78,0±12,12*	8	60,5±6,25	0,332
СОД, МО	3	22,4±0,14*	5	11,8±3,37	8	22,1±2,94	0,546
ГПО, мкМ/хв	3	0,2±0,04	5	0,5±0,10*	8	0,5±0,08	0,368
КАТ, мМ/хв	3	0,8±0,01	5	1,0±0,08*	8	1,1±0,05	0,580
ендометрій							
ЛДГ, мкМ/хв	3	28,6±9,15	6	35,6±9,44	3	22,8±7,29	0,268
МДГ, нМ/хв	3	0,9±0,14	6	1,0±0,14	4	0,9±0,18	0,157
АСТ, мкМ/хв	3	155,4±6,47	6	137,1±11,76	4	166,2±8,89	0,300
СОД, МО	3	15,7±0,73	6	14,6±3,12	4	17,0±1,08	0,188
ГПО, мкМ/хв	3	0,3±0,05	6	0,4±0,04	5	0,5±0,04*	0,574
КАТ, мМ/хв	3	0,8±0,05*	6	0,6±0,05	4	0,7±0,09	0,435

Виявлено слабку залежність активності ЛДГ, ензимів трансамінування і СОД в тканині ендометрію від концентрації ЛГ в плазмі крові корів. Кореляційне відношення за ЛГ для вказаних ензимів не перевищує  $\eta = 0,300$ . Одночасно, зі зростанням концентрації вказаного гонадотропного гормону підвищується активність ГПО. Зокрема, за менше 1,2 МО/л активність ензиму низька ( $0,3\pm 0,05$  мкМ/хв×мг протеїну), а за більше 2,4 МО/л зростає на 40,0 % ( $p < 0,05$ ). Активність КАТ понижена ( $0,6\pm 0,05$  мМ/хв×мг протеїну) за концентрації 1,2–2,4 МО/л і вища на 25,0 ( $p < 0,05$ ) і 14,3 %, відповідно, за

менше 1,2 і більше 2,4 МО/л. Кореляційне відношення за ЛГ середньої сили для ГПО в тканині ендометрію позитивне ( $\eta = 0,574$ ), а КАТ – криволінійне ( $\eta = 0,435$ ). Таким чином, концентрація гонадотропних гормонів в плазмі крові характеризує інтенсивність метаболізму в тканинах репродуктивних органів корів. Підвищення концентрації ФСГ в плазмі крові зумовлює активування гліколізу в тканині яєчника (ЛДГ;  $\eta = 0,405$ ) і гальмує переамінування аспартату (АСТ;  $\eta = 0,468$ ) й активності ензимів, які перетворюють  $O_2^{\bullet-}$  (СОД;  $\eta = 0,331$ ) та  $H_2O_2$  (КАТ;  $\eta = 0,794$ ). Пропорційне підвищення концентрації ЛГ в плазмі крові проявляється в тканині яєчника зростанням перетворення аспартату (АСТ;  $\eta = 0,332$ ) і активності ензимів, які утилізують  $H_2O_2$  (ГПО і КАТ, відповідно,  $\eta = 0,368$  і  $0,580$ ) та за оптимуму якого (1,2–2,4 МО/л) максимально високий рівень гліколізу (ЛДГ;  $\eta = 0,483$ ), перетворення оксалоацетату (МДГ;  $\eta = 0,400$ ) та  $O_2^{\bullet-}$  (СОД;  $\eta = 0,546$ ).

Слабкий вплив проявляють гонадотропні гормони в плазмі крові на інтенсивність метаболізму в ендометрії. Виключенням є залежність ензимів, що перетворюють  $H_2O_2$  від концентрації ЛГ: пропорційне підвищення гонадотропіну в плазмі крові характеризує зростання активності ГПО ( $\eta = 0,574$ ), а максимальна КАТ – проявляється за менше 1,2 МО/л ( $\eta = 0,435$ ).

Аналіз залежності активності ензимів в репродуктивних органах від концентрації E2 в плазмі крові корів свідчить, що активність ЛДГ, ензимів трансамінування, СОД і ГПО в тканині яєчника проявляють слабку кореляцію –  $\eta = 0,113$ – $0,281$  (табл. 3.24). Однак, встановлена середньої сили залежність ( $\eta = 0,426$ ) активності КАТ від вказаного стероїдного гормону. Зокрема, активність ензиму 1,1 мМ/хв×мг протеїну характерна для концентрації E2 до 55,0 пг/мл і нижча на 18,2 % ( $p < 0,05$ ) за більше 55,0 пг/мл.

Аналогічно, виявлено слабку залежність між концентрацією E2 в плазмі крові та активністю ЛДГ, СОД і КАТ в тканині ендометрію.

Кореляційне відношення за концентрації стероїдного гормону для вказаних ензимів в межах  $\eta = 0,060$ – $0,268$ .

Таблиця 3.24

**Зв'язок між концентрацією естрадіолу в плазмі крові та активністю  
ензимів у тканинах репродуктивних органів корів**

Ензим, × мг протеїну	Естрадіол, пг/мл						η
	< 45,0		45,0 - 55,0		> 55,0		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
ЛДГ, мкмоль/хв	5	39,2±6,25	4	45,7±6,44	7	43,9±8,73	0,120
МДГ, нмоль/хв	5	0,8±0,25	4	1,0±0,34	7	0,9±0,27	0,113
АСТ, мкмоль/хв	5	78,0±11,58	4	51,4±7,2	7	61,9±7,58	0,236
СОД, МО	5	19,4±2,93	4	21,3±4,28	7	15,3±3,74	0,281
ГПО, мкмоль/хв	5	0,5±0,10	4	0,4±0,11	7	0,5±0,09	0,163
КАТ, ммоль/хв	5	1,1±0,07*	4	1,1±0,07	7	0,9±0,06	0,426
<b>ендометрій</b>							
ЛДГ, мкмоль/хв	4	37,8±3,68	4	29,6±7,50	5	25,5±5,76	0,268
МДГ, нмоль/хв	5	0,8±0,20	4	0,7±0,16	5	1,1±0,09	0,476
АСТ, мкмоль/хв	5	158,5±10,49	4	118,1±15,07	5	165,6±5,84*	0,487
СОД, МО	5	15,1±3,45	4	14,7±1,12	5	14,2±2,97	0,060
ГПО, мкмоль/хв	5	0,5±0,05	4	0,4±0,06	6	0,4±0,03	0,314
КАТ, ммоль/хв	5	0,7±0,09	4	0,7±0,05	5	0,6±0,05	0,265

За концентрації E2 45,0–55,0 пг/мл встановлено понижену активність МДГ, АСТ і ГПО, відповідно, 0,7±0,16 нМ/хв×мг протеїну 118,1±15,07 мкМ/хв×мг протеїну і 0,4±0,06 мкМ/хв×мг протеїну. За менше 45,0 і більше 55,0 пг/мл стероїдного гормону величини активності МДГ і АСТ вищі, відповідно, на 12,5–25,5 і 28,7–36,3 % (p < 0,05). Кореляційне відношення за концентрації E2 в плазмі крові для активності МДГ, АСТ і ГПО в тканині ендометрію криволінійне середньої сили (відповідно, η = 0,476, 0,487 і 0,314).

Отже, за підвищення концентрації Е2 в плазмі крові знижується активність КАТ в тканині яєчника ( $\eta = 0,426$ ), а в ендометрії максимальні величини значень активності МДГ і АСТ (відповідно,  $\eta = 0,476$  і  $0,487$ ) проявляються більше 55 пг/мл і ГПО ( $\eta = 0,314$ ) за менше 45,0 пг/мл стероїдного гормону. Концентрація Т в плазмі крові корів проявляє середньої сили залежність з активністю МДГ, СОД та ГПО в тканині статевої залози. Так, за менше 0,15 пг/мл гормону активність МДГ та СОД високі (відповідно,  $1,6 \pm 0,38$  нМ/хв $\times$ мг протеїну і  $24,4 \pm 1,69$  МО $\times$ мг протеїну), а ГПО, навпаки, низька ( $0,3 \pm 0,03$  мкМ/хв $\times$ мг протеїну; табл. 3.25). Збільшення концентрації Т

Таблиця 3.25

**Зв'язок між концентрацією тестостерону в плазмі крові та активністю ензимів у тканинах репродуктивних органів корів**

Ензим, $\times$ мг протеїну	Тестостерон, нг/мл						$\eta$
	< 0,15		0,15 - 0,30		> 0,30		
	n	M $\pm$ m	n	M $\pm$ m	n	M $\pm$ m	
яєчник							
ЛДГ, мкМ/хв	3	35,2 $\pm$ 6,04	6	45,8 $\pm$ 8,64	7	43,6 $\pm$ 9,28	0,177
МДГ, нМ/хв	3	1,6 $\pm$ 0,38*	6	0,9 $\pm$ 0,29	7	0,6 $\pm$ 0,12	0,530
АСТ, мкМ/хв	3	62,5 $\pm$ 12,03	6	67,1 $\pm$ 11,31	7	62,7 $\pm$ 11,00	0,050
СОД, МО	3	24,4 $\pm$ 1,69*	6	19,5 $\pm$ 3,52	7	14,3 $\pm$ 3,47	0,423
ГПО, мкМ/хв	3	0,3 $\pm$ 0,03	6	0,5 $\pm$ 0,10	7	0,5 $\pm$ 0,09	0,300
КАТ, мМ/хв	3	1,1 $\pm$ 0,11	6	1,1 $\pm$ 0,06	7	1,0 $\pm$ 0,06	0,276
ендометрій							
ЛДГ, мкМ/хв	3	22,1 $\pm$ 6,68	4	22,3 $\pm$ 9,29	7	37,7 $\pm$ 7,07	0,401
МДГ, нМ/хв	3	1,2 $\pm$ 0,07*	5	1,0 $\pm$ 0,17	7	0,7 $\pm$ 0,14	0,456
АСТ, мкМ/хв	3	153,9 $\pm$ 19,48	5	173,5 $\pm$ 6,92*	7	131,1 $\pm$ 17,95	0,471
СОД, МО	3	16,2 $\pm$ 2,23	5	19,1 $\pm$ 1,88*	7	11,1 $\pm$ 2,21	0,595
ГПО, мкМ/хв	3	0,4 $\pm$ 0,04	6	0,5 $\pm$ 0,04	7	0,4 $\pm$ 0,04	0,396
КАТ, мМ/хв	3	0,6 $\pm$ 0,01	5	0,7 $\pm$ 0,09	7	0,7 $\pm$ 0,04	0,295

до 0,3 нг/мл призводить до зниження активності МДГ на 43,8 % і СОД на 20,1 %, а ГПО зростає на 40,0 %. За максимальної концентрації гормону (більше 0,3 нг/мл) активність ензимів, відповідно, становить  $0,6 \pm 0,12$  нМ/хв×мг протеїну,  $14,3 \pm 3,47$  МО×мг протеїну і  $0,5 \pm 0,09$  мкМ/хв×мг протеїну. Різниця між максимальною і мінімальною активністю ензимів статистично вірогідна для СОД і МДГ ( $p < 0,05$ ). Кореляційне відношення за концентрацією Т для МДГ і СОД негативне ( $\eta = 0,530$  і  $0,423$ ). За іншими дослідженими ензимами зі зміною концентрації стероїдного гормону в плазмі крові сила кореляційного відношення не перевищує  $\eta = 0,276$ .

Аналіз залежності від концентрації Т в плазмі крові активності ензимів в ендометрії свідчить, що до 0,3 нг/мл активність ЛДГ в межах 22,0 мкМ/хв×мг протеїну, а за більше 0,3 нг/мл підвищується на 41,4 %. Аналогічно, активність МДГ, АСТ, СОД і ГПО за концентрації Т до 0,3 нг/мл в межах, відповідно, 1,0–1,2 нМ/хв×мг протеїну, 153,9–173,5 мкМ/хв×мг протеїну, 16,2–19,1 МО×мг протеїну, а за більше 0,3 нг/мл знижується на 41,7 %, 24,5 % і 41,9 % ( $p < 0,05$ ). Більш висока активність ГПО ( $0,5 \pm 0,04$  мкМ/хв×мг протеїну) в тканині ендометрію проявляється за 0,15–0,3 нг/мл Т в плазмі крові. Кореляційне відношення за концентрації стероїдного гормону для активності ензимів в тканині ендометрію середньої сили ( $\eta = 0,396$ – $0,595$ ): ЛДГ – позитивне, МДГ, АСТ і СОД – негативне.

Таким чином, підвищення концентрації Т в плазмі крові характеризує у тканині яєчника знижене перетворення оксалоацетату (МДГ;  $\eta = 0,530$ ) і  $O_2^{\cdot-}$  (СОД;  $\eta = 0,423$ ), а в ендометрії – підвищене використання вуглеводів (ЛДГ  $\eta = 0,401$ ) і знижений рівень трансамінування (МДГ і АСТ, відповідно,  $\eta = 0,456$  і  $0,471$ ) та перетворення  $O_2^{\cdot-}$  (СОД;  $\eta = 0,595$ ).

Концентрація П в плазмі крові проявляє вплив на активність ензимів в тканині яєчника. Зокрема, активність ЛДГ до 60,0 нг/мл в межах 30,3–42,2 мкМ/хв×мг протеїну, а за більше 60,0 нг/мл підвищується на 26,3–41,8 % ( $p < 0,05$ ; табл. 3.26). На противагу, за менше 40,0 нг/мл активність МДГ, СОД і

Таблиця 3.26

**Зв'язок між концентрацією прогестерону в плазмі крові та активністю  
ензимів у тканинах репродуктивних органів корів**

Ензим, × мг протеїну	Прогестерон, нг/мл						η
	< 40,0		40,0–60,0		> 60,0		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
яєчник							
ЛДГ, мкМ/хв	3	42,2±8,63	6	30,3±9,45*	6	57,2±6,11	0,541
МДГ, нМ/хв	3	0,4±0,21	6	1,2±0,29*	6	0,9±0,25	0,432
АСТ, мкМ/хв	3	72,6±5,11	6	60,3±7,95	6	59,6±11,30	0,116
СОД, МО	3	10,8±4,93	6	20,4±3,61	6	21,1±2,73	0,448
ГПО, мкМ/хв	3	0,5±0,14	6	0,5±0,08	6	0,4±0,08	0,342
КАТ, мМ/хв	3	0,9±0,05	6	1,1±0,08	6	1,1±0,06*	0,438
ендометрій							
ЛДГ, мкМ/хв	3	42,4±3,34**	3	15,3±5,44	6	32,4±9,54	0,488
МДГ, нМ/хв	3	0,7±0,20	4	1,1±0,11	6	1,0±0,14	0,415
АСТ, мкМ/хв	3	114,8±19,78	4	166,7±9,12*	6	156,9±9,34	0,465
СОД, МО	3	15,1±1,19	4	17,2±1,16	6	14,8±3,06	0,201
ГПО, мкМ/хв	3	0,4±0,05	5	0,4±0,04	6	0,4±0,05	0,181
КАТ, мМ/хв	3	0,8±0,07	4	0,6±0,06	6	0,7±0,06	0,411

КАТ в тканині яєчника низькі, відповідно, 0,4±0,21 нМ/хв×мг протеїну, 10,8±4,93 МО×мг протеїну і 0,9±0,05 мкМ/хв×мг протеїну, а за більше 40,0 нг/мл підвищуються на 55,6–66,7 % (p < 0,05), 47,1–48,9 % і 18,2 % (p < 0,05). Кореляційне відношення за концентрацією П в плазмі крові для ензимів тканини яєчника середньої сили (η = 0,342–0,541): ЛДГ, МДГ, КАТ і СОД позитивне, а ГПО – негативне.

Концентрація П в плазмі крові характеризує активність ензимів тканини ендометрію. Зокрема, за менше 40,0 нг/мл активність МДГ і АСТ низькі



( $0,7 \pm 0,20$  нМ/хв×мг протеїну,  $114,8 \pm 19,78$  мкМ/хв×мг протеїну), а за більше 40,0 нг/мл зростають, відповідно, на 30,0–36,4 % і 26,9–31,2 % ( $p < 0,05$ ). Активність ЛДГ найнижча ( $15,3 \pm 5,44$  мкМ/хв×мг протеїну) за 40, 0–60,0 нг/мл П, а за менше 40,0 та більше 60,0 нг/мл вища, відповідно, 64,0 % ( $p < 0,01$ ) і 52,8 %. За низької концентрації П активність КАТ висока ( $0,8 \pm 0,07$  мМ/хв×мг протеїну), а за більше 40,0 нг/мл знижується на 12,5–25,0 %. Кореляційне відношення за концентрацією П в плазмі крові для ензимів тканини ендометрію середньої сили ( $\eta = 0,411$ – $0,488$ ): МДГ і АСТ – позитивне, КАТ – негативне, а ЛДГ – криволінійне.

Отже, за пропорційного підвищення в плазмі крові прогестерону: для тканини яєчника характерне зростання інтенсивності гліколізу (ЛДГ;  $\eta = 0,541$ ), перетворення оксалоацетату (МДГ;  $\eta = 0,432$ ) і зростання активності СОД та КАТ (відповідно,  $\eta = 0,448$  і  $0,443$ ) і зниження активності ГПО ( $\eta = 0,342$ ); для тканини ендометрію – зростання активності ензимів трансамінування (МДГ і АСТ;  $\eta = 0,415$  і  $0,465$ ), зниження КАТ ( $\eta = 0,411$ ), а ЛДГ проявляє криволінійну залежність ( $\eta = 0,488$ ) з високими величинами за менше 40,0 і більше 60 нг/мл стероїдного гормону.

### **3.4.3. Кореляції між концентрацією гормонів і активністю ензимів у тканинах яєчників та ендометрію**

Оскільки ЛГ і ФСГ зв'язуються і діють через власні рецептори на обмінні процеси в репродуктивних органах досліджували в тканинах кореляції між концентрацією гонадотропних гормонів та активністю ензимів.

Встановлено, що від збільшення в тканині яєчника концентрації ФСГ (від менше 0,4 до 0,8 і більше мМО/мл) активність ензимів трансамінування, антиоксидантного захисту та ЛДГ слабо змінюються (табл. 3.27). Сила кореляційного відношення за концентрацією ФСГ для досліджених ензимів не перевищує  $\eta = 0,289$ . На противагу, зі збільшенням вказаного гормону в

**Зв'язок між концентрацією ФСГ і активністю ензимів в тканинах  
репродуктивних органів**

Ензим, × мг протеїну	ФСГ, мМО/мл						η
	< 0,4		0,4 – 0,8		> 0,8		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
ЛДГ, мкМ/хв	16	37,5±5,11	8	38,5±9,71	4	40,9±7,55	0,055
МДГ, нМ/хв	20	0,8±0,15	11	0,8±0,17	5	0,6±0,25	0,120
АСТ, мкМ/хв	18	63,3±10,20	11	71,0±6,60	7	66,5±11,36	0,083
СОД, МО	22	18,2±1,92	14	22,2±1,92	8	17,5±2,73	0,244
ГПО, мкМ/хв	23	0,6±0,05	20	0,5±0,07	10	0,4±0,07	0,289
КАТ, мМ/хв	22	1,2±0,08	14	1,4±0,10	9	1,3±0,23	0,192
<b>ендометрій</b>							
-		< 0,2		0,2-0,4		> 0,4	-
ЛДГ, мкМ/хв	4	29,5±5,94	4	28,7±13,95	7	38,2±5,87	0,233
МДГ, нМ/хв	4	1,2±0,05***	4	1,2±0,11	7	0,5±0,11	0,821
АСТ, мкМ/хв	4	159,1±14,26	4	161,6±5,79	9	123,0±19,86	0,376
СОД, МО	4	18,3±2,72	4	13,0±3,43	7	11,8±2,34	0,404
ГПО, мкМ/хв	5	0,4±0,06	4	0,4±0,04	9	0,4±0,04	0,047
КАТ, мМ/хв	4	0,7±0,06	4	0,6±0,06	7	0,7±0,06	0,222

ендометрії до 0,4 мМО/мл ФСГ активність МДГ становить 1,2 нМ/хв×мг протеїну, а за більше 0,4 мМО/мл знижується на 58,4 % ( $p < 0,001$ ).

Аналогічні зміни встановлені при дослідженні активності АСТ відносно підвищення концентрації ФСГ в тканині ендометрію: до 0,4 мМО/мл величина значення 159,1–161,6 мкМ/хв×мг протеїну, а за більше 0,4 мМО/мл нижча на 22,7–25,9 %. Активність СОД максимальна (18,3±2,72 МО×мг протеїну) за менше 0,2 мМО/мл, нижча на 29,0 % за збільшення до 0,4 мМО/мл і ще на

35,6 % менша за більше 0,4 мМО/мл ФСГ.

Кореляційне відношення за концентрацією ФСГ в тканині ендометрію для активності ензимів негативне: МДГ – сильне ( $\eta = 0,821$ ), АСТ і СОД середньої сили (відповідно,  $\eta = 0,376$  і  $0,404$ ). За іншими дослідженими ензимами вплив вказаного гонадотропного гормону в тканині ендометрію слабкий, сила кореляційного відношення не перевищує  $\eta = 0,233$ .

Отже, концентрація ФСГ в тканині яєчника зі слабкою силою впливає на величини досліджуваних біохімічних показників. Однак, пропорційне підвищення вказаного гормону в тканині ендометрію характеризує гальмування активності ензимів трансамінування (МДГ і АСТ, відповідно,  $\eta = 0,821$  і  $0,376$ ) і СОД ( $\eta = 0,404$ ).

Аналіз кореляцій між концентрацією ЛГ і активністю ензимів в тканині яєчника свідчить про слабку залежність. Сила кореляційного відношення між вказаними показниками не перевищує  $\eta = 0,287$  (табл. 3.28). Одночасно, встановлена середньої сили залежність між концентрацією ЛГ в тканині ендометрію та активністю ЛДГ і ГПО. Зокрема, до 4,0 мМО/мл гормону активність ЛДГ в межах 24,8–31,4 мкМ/хв×мг протеїну, а зі збільшенням до 4,0 і вище мМО/мл зростає на 37,6–50,7 %.

Активність ГПО мінімальна ( $0,3 \pm 0,03$  мкМ/хв×мг протеїну) за пониженої концентрації ЛГ в ендометрії (менше 2,0 мМО/мл), зростає на 40,0 % ( $p < 0,001$ ) за підвищення концентрації до 4,0 мМО/мл і залишається майже без змін ( $0,4 \pm 0,06$  мкМ/хв×мг протеїну) за більше 4,0 мМО/мл.

Кореляційне відношення за концентрації ЛГ в тканині ендометрію для активності ЛДГ і ГПО позитивне середньої сили (відповідно,  $\eta = 0,432$  і  $0,393$ ).

Таким чином, концентрація ЛГ в тканині яєчника зі слабкою силою впливає на величини значень досліджуваних показників. Проте, пропорційне підвищення гонадотропного гормону в тканині ендометрію стимулює гліколіз (ЛДГ;  $\eta = 0,432$ ) і активує ГПО ( $\eta = 0,393$ ).

**Зв'язок між концентрацією ЛГ і активністю ензимів в тканинах  
репродуктивних органів**

Ензим, × мг протеїну	ЛГ, мМО/мл						η
	< 1,0		1,0–2,0		> 2,0		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
ЛДГ, мкМ/хв	14	32,9±6,22	10	45,6±5,31	4	38,6±6,32	0,272
МДГ, нМ/хв	18	0,8±0,16	12	0,8±0,21	6	0,6±0,14	0,098
АСТ, мкМ/хв	17	62,4±5,94	12	78,1±8,06	7	55,5±9,29	0,213
СОД, МО	20	21,7±2,08	16	16,6±2,08	10	19,0±1,49	0,279
ГПО, мкМ/хв	24	0,5±0,05	23	0,4±0,05	12	0,6±0,11	0,287
КАТ, мМ/хв	20	1,2±0,09	17	1,3±0,14	10	1,4±0,14	0,102
<b>ендометрій</b>							
-	< 2,0		2,0–4,0		> 4,0		-
ЛДГ, мкМ/хв	10	31,4±6,32	2	24,8±13,75	4	50,3±6,74	0,432
МДГ, нМ/хв	9	1,0±0,14	3	0,9±0,20	4	0,7±0,18	0,249
АСТ, мкМ/хв	11	136,6±14,16	3	170,5±3,82	4	137,0±17,46	0,259
СОД, МО	9	12,7±1,93	3	17,6±0,93	4	14,7±4,61	0,279
ГПО, мкМ/хв	12	0,3±0,03	3	0,5±0,03 <sup>***</sup>	7	0,4±0,06	0,393
КАТ, мМ/хв	9	0,7±0,04	3	0,7±0,12	4	0,7±0,08	0,196

Оскільки за дії гонадотропних гормонів на клітини репродуктивних органів стимулюється синтез і виділення стероїдних гормонів, досліджували зв'язок між тестостероном, прогестероном і естрадіолом та активністю ензимів тканин яєчника і ендометрію. Встановлено, що концентрація Т проявляє вплив на активність ензимів тканин яєчника і ендометрію (табл. 3.29). Зокрема, у тканині яєчника до 30,0 нг/мл активність МДГ висока (1,0 нМ/хв×мг протеїну), за 30,0–45 нг/мл знижується на 60,0 % ( $p < 0,01$ ) і за більше 45,0 нг/мл

Таблиця 3.29

**Зв'язок між концентрацією тестостерону і активністю ензимів в тканинах  
репродуктивних органів**

Ензим, × мг протеїну	Тестостерон, нг/мл						η
	< 30		30–45		> 45		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
ЛДГ, мкМ/хв	14	43,4±5,34	5	27,7±5,55	10	35,2±8,16	0,265
МДГ, нМ/хв	15	1,0±0,20 <sup>**</sup>	9	0,4±0,06	12	0,7±0,15	0,422
АСТ, мкМ/хв	16	67,4±9,49	7	89,7±11,4 <sup>*</sup>	13	52,3±7,55	0,327
СОД, МО	17	15,8±2,03	14	17,2±1,85	15	25,4±1,65 <sup>***</sup>	0,525
ГПО, мкМ/хв	27	0,4±0,05	15	0,6±0,08 <sup>*</sup>	17	0,5±0,05	0,313
КАТ, мМ/хв	17	1,1±0,08	15	1,5±0,14 <sup>*</sup>	15	1,3±0,13	0,330
<b>ендометрій</b>							
-	< 30		30–45		> 45		-
ЛДГ, мкМ/хв	5	23,0±8,15	5	34,1±8,31	6	46,9±7,04 <sup>*</sup>	0,482
МДГ, нМ/хв	5	1,1±0,12 <sup>*</sup>	4	0,5±0,23	7	1,0±0,12	0,538
АСТ, мкМ/хв	5	170,7±8,25 <sup>*</sup>	5	128,5±13,06	8	133,3±8,42	0,364
СОД, МО	5	19,4±1,87 <sup>*</sup>	4	9,5±3,61	7	12,9±1,90	0,575
ГПО, мкМ/хв	7	0,4±0,05	6	0,4±0,05	9	0,4±0,04	0,186
КАТ, мМ/хв	5	0,7±0,05	4	0,7±0,08	7	0,6±0,05	0,391

становить  $0,7 \pm 0,15$  нМ/хв×мг протеїну. Активність АСТ максимальна ( $89,7 \pm 11,4$  мкМ/хв×мг протеїну) за вмісту гормону 30,0–45 нг/мл і нижча на 24,9 та 41,7 % ( $p < 0,05$ ), відповідно, за менше 30,0 і більше 45,0 нг/мл Т.

Активність СОД пропорційно зростає з підвищенням концентрації Т. Так, за менше 30,0 нг/мл гормону  $15,8 \pm 2,03$  МО×мг протеїну ензиму, за збільшення до 45 нг/мл підвищується на 8,2 % і за більше 45 нг/мл вища на 37,8 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з початковим значенням.

Активність КАТ максимальна ( $1,5 \pm 0,14$  мМ/хв×мг протеїну) за більше 30,0–45,0 нг/мл Т і нижча, відповідно, на 26,3 та 13,4 %, відповідно, за менше 30,0 і більше 45,0 нг/мл Т. Одночасно, за менше 30,0 нг/мл Т активність ГПО низька ( $0,4 \pm 0,05$  мкМ/хв×мг протеїну), за 30,0–45,0 нг/мл зростає на 33,4 % ( $p < 0,05$ ) і залишається майже без змін ( $0,5 \pm 0,05$  мкМ/хв×мг протеїну) за більше 45,0 нг/мл. Кореляційне відношення за концентрації Т в тканині яєчника для активності ензимів середньої сили ( $\eta = 0,313-0,525$ ): МДГ і АСТ – негативне, а СОД, ГПО і КАТ – позитивне.

Дослідження залежності активності ензимів залежно від концентрації Т в тканині ендометрію свідчить про неоднозначну силу та напрямок кореляцій. Зокрема, за пропорційного підвищення концентрації стероїдного гормону в класах варіаційного ряду активність ЛДГ зростає на однакову величину ( $11,0$  мкМ/хв×мг протеїну) і за більше 45,0 нг/мл максимальна ( $46,9 \pm 7,04$  мкМ/хв×мг протеїну). Активність МДГ низька ( $0,5 \pm 0,23$  нМ/хв×мг протеїну) за 30,0–45,0 нг/мл Т, і вища на 50,0 - 55,6 % ( $p < 0,05$ ) за менше 30,0 і більше 45,0 нг/мл. За менше 30,0 нг/мл активність АСТ максимальна ( $170,7 \pm 8,25$  мкМ/хв×мг протеїну), а за більше 30,0 нг/мл знижується 22,0–24,8 % ( $p < 0,05$ ). Аналогічно, активність СОД залежно від концентрації Т в тканині ендометрію: за менше 30,0 нг/мл максимальна ( $19,4 \pm 1,87$  МО×мг протеїну), а за більше 30,0 нг/мл нижча на 33,6–51,1 % ( $p < 0,05$ ).

Активність КАТ до 45,0 нг/мл в тканині ендометрію становить  $0,7$  мМ/хв×мг протеїну, а за більше 45,0 нг/мл стероїдного гормону менша на 14,3 %. Кореляційне відношення за концентрації Т для активності ензимів середньої сили ( $\eta = 0,364-0,575$ ): ЛДГ – позитивне, АСТ, СОД і КАТ – негативне, МДГ – криволінійне.

Отже, підвищення концентрації тестостерону в тканинах репродуктивних органів характеризує: в яєчнику – зниження активності ензимів трансамінування (МДГ і АСТ, відповідно,  $\eta = 0,422$  і  $0,327$ ) та зростання активності ЕАЗ (СОД, ГПО і КАТ  $\eta = 0,313-0,525$ ); в ендометрії – активування

гліколізу (ЛДГ;  $\eta = 0,482$ ), зниження переамінування аспартату (АСТ;  $\eta = 0,364$ ) й активності СОД і КАТ ( $\eta = 0,575$  і  $0,391$ ), а інтенсивне перетворення оксалоацетату в малат МДГ ( $\eta = 0,538$ ) протікає за менше 30,0 і більше 45,0 нг/мл стероїдного гормону.

Аналіз кореляцій між Е2 і активністю ензимів в тканині яєчника свідчить про позитивну залежність СОД і КАТ. Зокрема, за менше 20,0 пг/мл активність ензиму в межах 15,5–18,4 МО×мг протеїну, а за більше 20,0 пг/мл зростає на 15,6–28,9 % ( $p < 0,05$ ; табл. 3.30). Активність КАТ проявляє подібну залежність:

Таблиця 3.30

**Зв'язок концентрації естрадіолу з активністю ензимів в тканинах яєчників і ендометрію**

Ензим, × мг протеїну	Естрадіол, пг/мл						$\eta$
	< 10		10–20		> 20		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
ЛДГ, мкМ/хв	8	40,1±7,66	9	44,5±5,88	11	31,8±7,39	0,256
МДГ, нМ/хв	13	0,6±0,14	10	0,7±0,20	13	0,9±0,20	0,188
АСТ, мкМ/хв	12	79,5±6,89	10	59,9±8,11	14	59,5±6,74	0,228
СОД, МО	13	18,4±2,61	11	15,5±2,24	22	21,8±1,66*	0,315
ГПО, мкМ/хв	15	0,5±0,05	19	0,5±0,07	25	0,5±0,06	0,057
КАТ, мМ/хв	13	1,1±0,05	12	1,2±0,16	22	1,5±0,11***	0,361
<b>ендометрій</b>							
-	< 5		5–10		> 10		-
ЛДГ, мкМ/хв	6	33,2±8,99	4	48,1±11,07	6	29,3±5,18	0,366
МДГ, нМ/хв	6	0,9±0,19	4	0,8±0,12	6	0,9±0,17	0,177
АСТ, мкМ/хв	6	163,9±7,94*	5	108,9±16,96	7	147,7±7,71	0,449
СОД, МО	6	16,5±2,95	4	12,2±3,33	7	13,1±2,11	0,277
ГПО, мкМ/хв	7	0,4±0,05	7	0,4±0,04	8	0,3±0,04	0,285
КАТ, мМ/хв	6	0,8±0,03***	4	0,5±0,04	6	0,7±0,05	0,677

до 20,0 пг/мл E2 активність ензиму – 1,1–1,2 мМ/хв×мг протеїну, а за більше 20,0 пг/мл зростає на 20,0–26,7 % ( $p < 0,001$ ). Кореляційне відношення за концентрацією гормону для активності СОД і КАТ в тканині статевої залози середньої сили позитивне ( $\eta = 0,315$  і  $0,361$ ), а за іншими дослідженими ензимами сила впливу слабка і не перевищує  $\eta = 0,256$ . Аналіз впливу концентрації E2 в ендометрії на активність ензимів свідчить, що за 5,0–10,0 пг/мл  $48,1 \pm 11,07$  мкМ/хв×мг протеїну ЛДГ, а за менше 5,0 та більше 10,0 пг/мл нижча, відповідно, на 31,0 і 39,1 %. На противагу активність АСТ та КАТ за концентрації гормону 5,0–10,0 пг/мл низька, відповідно,  $108,9 \pm 16,96$  мкМ/хв×мг протеїну та  $0,5 \pm 0,04$  мМ/хв×мг протеїну, а за менше 5,0 і більше 10,0 пг/мл вищі на 33,6 ( $p < 0,05$ ) і 26,3 % та 37,5 ( $p < 0,001$ ) і 28,6 ( $p < 0,01$ ) %. Таким чином, за підвищення концентрації естрадіолу в тканинах репродуктивних органів: в яєчнику – зростає активність СОД і КАТ (відповідно,  $\eta = 0,315$  і  $0,361$ ), а в ендометрії – активність гліколізу (ЛДГ;  $\eta = 0,366$ ) максимальна за 5–10 пг/мл, АСТ ( $\eta = 0,449$ ) за менше 5,0 і більше 10,0 пг/мл, а КАТ ( $\eta = 0,677$ ) за менше 5,0 пг/мл стероїдного гормону.

Концентрація П в тканинах репродуктивних органів впливає на активність ЛДГ і МДГ. Зокрема, за низької концентрації гормону (менше 10,0 нг/мл) в тканині яєчника активність ЛДГ висока ( $42,8 \pm 6,33$  мкМ/хв×мг протеїну), за підвищення до 20,0 нг/мл знижується на 47,9 % ( $p < 0,05$ ) і за більше 20,0 нг/мл знову підвищується на 42,6 % (табл. 3.31). Активність МДГ низька ( $0,5 \pm 0,12$  нМ/хв×мг протеїну) за менше 10,0 нг/мл і зростає на 44,5 – 50,0 % за більше 20,0 нг/мл. Кореляційне відношення за концентрацією П для активності ензимів середньої сили: ЛДГ – криволінійне ( $\eta = 0,311$ ) і МДГ – позитивне ( $\eta = 0,331$ ). Для інших ензимів вплив дослідженого гормону слабкий ( $\eta = 0,168$ – $0,238$ ).

Вплив П на активність ензимів трансамінування і антиоксидантного захисту в тканині ендометрію відрізняється. Так, активність МДГ, АСТ і СОД



до 20,0 нг/мл П в межах, відповідно, 0,7–0,8 нМ/хв×мг протеїну, 126,9–134,1 мкМ/хв×мг протеїну і 10,4–13,6 МО×мг протеїну, а за більше 20,0 нг/мл

Таблиця 3.31

**Зв'язок концентрації прогестерону з активністю ензимів в тканинах  
яєчників і ендометрію**

Ензим, × мг протеїну	Прогестерон, нг/мл						η
	< 10,0		10,0–20,0		> 20,0		
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
<b>яєчник</b>							
ЛДГ, мкМ/хв	11	42,8±6,33*	4	22,3±5,05	12	38,8±7,00	0,311
МДГ, нМ/хв	15	0,5±0,12	6	1,0±0,28	15	0,9±0,18	0,331
АСТ, мкМ/хв	16	78,7±6,39	4	63,5±7,99	13	61,4±8,02	0,212
СОД, МО	19	19,5±1,52	6	15,7±3,48	16	21,4±2,32	0,238
ГПО, мкМ/хв	27	0,4±0,06	9	0,5±0,08	17	0,5±0,06	0,189
КАТ, мМ/хв	20	1,3±0,11	6	1,1±0,06	16	1,3±0,10	0,168
<b>ендометрій</b>							
-	< 10,0		10,0–20,0		> 20,0		-
ЛДГ, мкМ/хв	5	34,3±8,00	6	43,4±5,90	3	39,9±14,38	0,214
МДГ, нМ/хв	4	0,8±0,23	6	0,7±0,17	4	1,1±0,11	0,373
АСТ, мкМ/хв	5	134,1±13,77	7	126,9±8,96	4	169,1±9,51**	0,341
СОД, МО	4	13,6±3,47	6	10,4±2,49	4	18,7±2,44*	0,494
ГПО, мкМ/хв	7	0,4±0,05	8	0,4±0,04	5	0,4±0,07	0,056
КАТ, мМ/хв	4	0,8±0,04	6	0,7±0,05	4	0,7±0,09	0,218

підвищуються на 27,3–36,4, 20,7–25,0 і 27,3–44,4 % ( $p < 0,05$ ). Кореляційне відношення за концентрацією П для активності МДГ, АСТ і СОД позитивне середньої сили ( $\eta = 0,341–0,494$ ). За концентрацією вказаного гормону для активності інших досліджених ензимів кореляційне відношення в межах  $\eta = 0,056 – 0,218$ .

Таким чином, пропорційне підвищення концентрації прогестерону в тканинах репродуктивних органів характеризує: яєчника – активування перетворення оксалоацетату в малат (МДГ;  $\eta = 0,331$ ) і високу активність гліколізу (ЛДГ;  $\eta = 0,311$ ) за менше 10,0 і більше 20,0 нг/мл; а в ендометрії – активування ензимів трансамінування (МДГ і АСТ;  $\eta = 0,373$  і  $0,341$ ) та активності СОД ( $\eta = 0,494$ ).

### **3.5. Дослідження гормон-продукуючої здатності клітин антральної рідини фолікулів, отримання сировини для прототипу препарату зі стимулювання відтворної функції самиць та її вплив на репродуктивні органи лабораторних тварин і відновлення статевого циклу корів**

Відомо, що клітини гранульози і кумулюсу синтезують андрогени, естрогени і прогестерон [246]. При цьому, для антральної рідини невеликих фолікулів характерна вища концентрація андрогенів, для великих – естрогенів, а для передовуляторних – прогестерону та атретичних – андрогенів [247, 248].

Тому, для культивування і отримання сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самок відбирали антральну рідину з клітинами гранульози з фолікулів більше 7 мм.

Встановлено, що концентрація гормонів у антральній рідині становила (0 доба): Т –  $22,9 \pm 0,91$  і П –  $67,1 \pm 3,02$ , а Е2 –  $1,3 \pm 0,11$  нг/мл (табл. 3.32). Після додавання середовища культивування та інкубування гранульози впродовж 2–3 діб концентрація Е2 менша на 29,8 %, порівняно з 0 добою (антральною рідиною). На 7–8 доби культивування клітини підвищують інтенсивність синтезу гормону на 22,2%, а на 14–16 доби його концентрація подвоюється і становить  $2,3 \pm 0,75$  нг/мл. Рівень інтенсивності синтезу Е2 клітинами гранульози утримується впродовж 30–32 діб. На 60 добу досліджень інтенсивність утворення естрогену знижується до  $1,1 \pm 0,49$  нг/мл. Отримані результати узгоджуються з дослідженнями, які свідчать про стабільну

**Інтенсивність синтезу стероїдних гормонів культурою клітин гранульози,  
M±m**

Гормони	Концентрація гормонів, нг/мл					
	Тривалість культивування, доби					
	0	2–3	7–8	14–16	30–32	60
Естрадіол	1,3±0,11	0,9±0,18	1,1±0,39	2,3±0,75	2,4±0,62	1,1±0,49
Тестостерон	22,9±0,91	1,4±0,93	0,2±0,03	0,8±0,32	0,4±0,01	0,2±0,04
Прогестерон	67,1±3,02	12,0±6,32	9,3±2,10	5,0±1,15	2,9±1,24	69,6±5,23

продукцію E2 клітинами гранульози впродовж 7–13 діб [249].

При аналізі концентрації Т встановлено зниження на 93,6 % на 2–3 доби культивування, порівняно з 0 добою. На 7–8 доби культивування концентрація Т ще на 85,8 % знижується (0,2±0,03 нг/мл), порівняно з 2–3 добами, а при збільшенні тривалості інкубування (більше 16 діб) залишається в межах 0,2–0,8 нг/мл. Концентрація П у фолікулярній рідині (0 доба) 67,1±3,02 нг/мл, через 2–3 доби культивування клітини знижується на 82,1 % і вірогідно не змінюється на 7–8 доби. На 14–32 доби культивування концентрація П знаходиться в межах 2,9–5,0 нг/мл, а на 60 добу на 95,9 % зростає.

Дію отриманої сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції апробували на самках мишей.

Встановлено, що внутрішньом'язове введення 0,1 мл середовища з мінімальною дозою комплексу стероїдних гормонів (за E2 - 70 пг/мл) забезпечує збільшення маси матки та яєчників самок мишей більше ніж у 2 рази (табл. 3. 33). Використання середовища з вищим вмістом комплексу стероїдних гормонів (за E2: 0,24, 0,46, 1,08 нг/мл) призводить до аналогічних результатів: маса матки + яєчники вища контролю у 1,8–1,9 рази.

Про ефективність дії комплексу стероїдних гормонів синтезованих гранульозою свідчать наведені рисунки матки та яєчників піддослідних

Таблиця 3.33

**Маса репродуктивних органів самок білих безпородних мишей за стимулювання гормонами, які синтезовані культурою клітин гранульози**

Група тварин	n	Об'єм проби, мл	Концентрація естрадіолу в дозі, нг/мл;	Маса матки + яєчники, г
Контроль	3	0,1	-	0,44 ± 0,24
Дослід 1	3	0,1	0,07	0,94 ± 0,01
Дослід 2	3	0,1	0,24	0,80 ± 0,01
Дослід 3	3	0,1	0,46	0,79 ± 0,01
Дослід 4	3	0,1	1,08	0,85 ± 0,02

самок мишей після внутрішньом'язового введення 0,1 мл сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самок (середовища культивування клітин гранульози впродовж 14–16 діб (рис. 3.16).



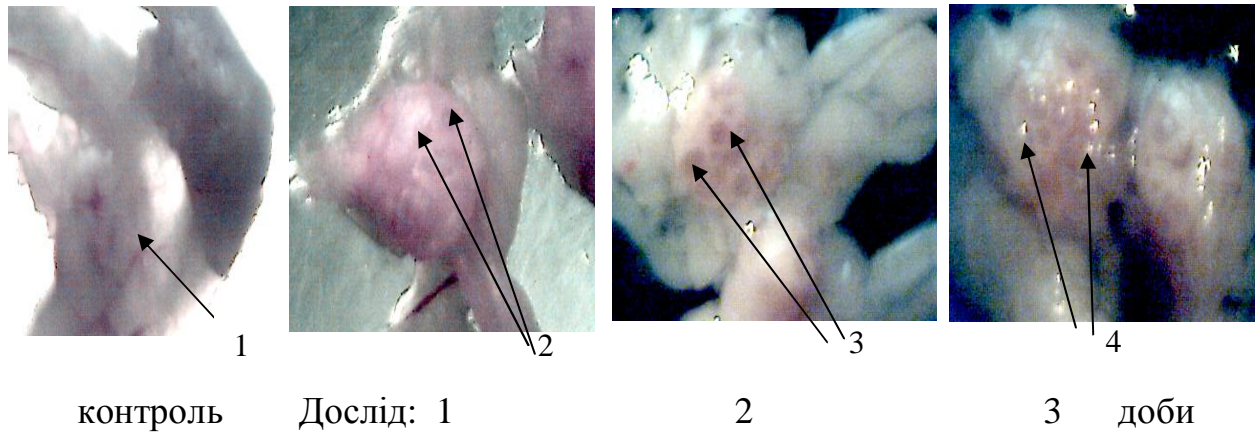
А

К

Д

**Рис. 3.16. Репродуктивні органи і яєчники мишей:** А – загальний вигляд репродуктивних органів мишей піддослідних груп; яєчники груп самок: К – контрольної; Д – дослідної

Подібні результати отримані за введення 0,1 мл (70 пг/мл E2) сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самок статевно незрілих щурів (рис. 3.17). При цьому, характерним є збільшення



**Рис. 3.17. Яєчники піддослідних самок щурів за введення сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції: 1 – яєчник; антральні фолікули: 2 – малі; 3 і 4 – великі.**

числа та розміру видимих антральних фолікулів у статевих залозах впродовж 3 днів досліджень.

Встановлене збільшення маси репродуктивних органів і числа антральних фолікулів відбувалось на фоні змін концентрації гормонів у плазмі крові. Так, концентрація ФСГ підвищується на 58,2 %, ЛГ – 28,8 % ( $p < 0,05$ ), Т – 37,3 %, П – 20,8 % (табл. 3.34). Концентрація Е2 в контрольній і дослідній групах не

Таблиця 3.34

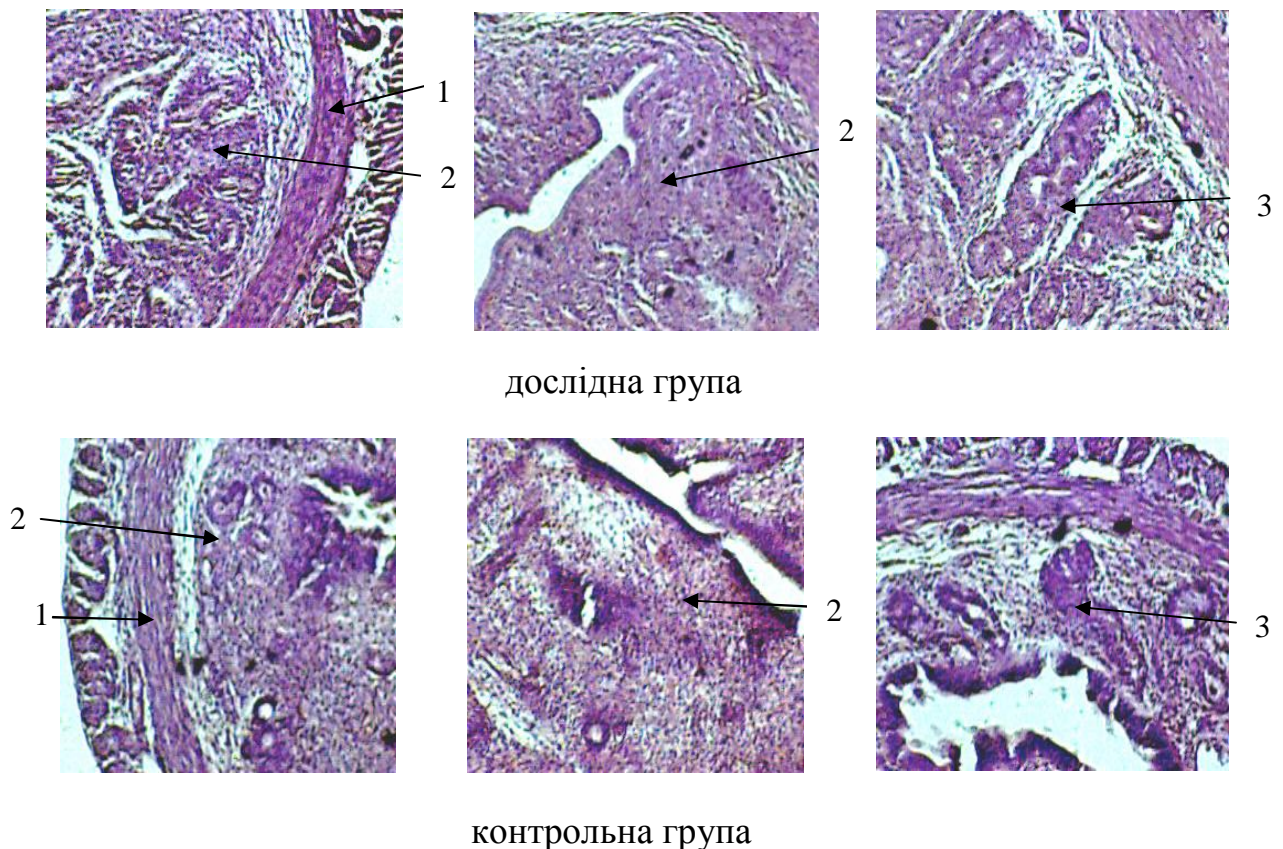
#### Концентрація гормонів в плазмі крові піддослідних мишей

Гормони	Контроль, n=3	Дослід, n=4
	М±m	М±m
ФСГ, МО/л	0,23±0,07	0,55±0,18
ЛГ, МО/л	13,4±0,57	18,8±2,12*
Тестостерон, нг/мл	6,4±3,21	10,2±5,22
Естрадіол, пг/мл	42,7±17,78	39,0±10,46
Прогестерон, нг/мл	43,5±5,15	54,9±1,54

відрізняється і становить 39,0–42,7 пг/мл.

Як впливає з результатів досліджень, для проявлення комплексної дії стероїдних гормонів (естрадіол+прогестерон+тестостерон), які синтезовані культурою клітин гранулози, на репродуктивні органи самок білих безпородних мишей достатньо використати 0,1 мл внутрішньом'язево середовища культивування з вмістом 70 пг/мл E2. Збільшувати дозу препарату (за концентрацією E2) не доцільно, оскільки відповідь статевих органів самок аналогічна, мінімальній концентрації введеного комплексу гормонів.

Мікроскопічним дослідженням матки за дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самок встановлено збільшення товщини стінки міометрію і ендометрію та величини маточних залоз, порівняно з контрольною групою (рис. 3. 18).



**Рис. 3. 18.** Мікроструктура матки мишей піддослідних груп: 1 – м'язова і 2 – слизова оболонки, 3 – слизова оболонка з залозами). Гематоксилін-еозин  $\times 100$ .

Для клінічного випробування ефективності дії сировини з виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок (розчин для ін'єкцій) відібрано корів-аналогів за живою масою і продуктивністю (n=20), які за аналізом первинних записів техніка зі штучного осіменіння не приходили в охоту більше 90 діб, а ректальними дослідженнями – встановлена гіпофункція яєчників. З відібраних корів сформували дві групи – контрольну і дослідну по 10 голів у кожній. Коровам контрольної групи вводили внутрішньом'язово 2 мл Естрофану (препарат порівняння), а тваринам дослідної групи, аналогічно, застосовували 20 мл сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок (досліджуваний препарат). При відсутності ознак тічки повторно вводили препарат на 11 добу після першої ін'єкції.

За апробування ефективності дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції корів (розчин для ін'єкцій) виявлено, що з 10 корів, двохразове внутрішньом'язове введення у дозі 20 мл/гол відновлює статевий цикл 60,0 % (6 голів) тварин. При цьому, за одноразового введення сировини проявляли феномени стадії збудження статевого циклу: тічку, загальну реакцію і статеву охоту 4 корови (40,0 %) та після другого – ще 2 тварини (20,0 %). За застосування препарату порівняння (Естрофану) після одноразового введення феномени стадії збудження статевого циклу (тічку, збудження і статеву охоту) виявлено у 3 корів (30,0 %), а після другого – у 2 тварин (20,0 %). Після застосування лікування і штучного осіменіння корів у піддослідних тварин діагностована вагітність. Таким чином, введення сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції корів у дозі 20 мл/гол ефективніше впливає на відновлення статевого циклу корів, що проявляється феноменами (тічкою, загальною реакцією і статевою охотою) стадії збудження, а після штучного осіменіння – вищою заплідненістю.

Результати досліджень опубліковані в праці [250]

## РОЗДІЛ 4.

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Інтенсивний розвиток молочного скотарства визначається численними факторами, одним з яких є відтворна функція корів. Своєю чергою, на відтворну здатність тварин впливають: вирощування, дотримання науково-обґрунтованих норм годівлі і утримання корів в період лактації, тільності, родів і після отелення. За забезпечення вищенаведених умов на 15–20 доби після родів в яєчниках дозрівають фолікули, що проявляється послідовністю окремих феноменів статевого циклу (тічка, загальне статеве збудження, охота і овуляція) [251, 252]. Перебіг статевого циклу знаходиться під контролем нервової системи і регулюється гонадотропними та стероїдними гормонами [253]. При цьому, існує як прямий, так і обернений зв'язок між концентраціями гонадотропінів у крові і стероїдних гормонів в тканинах репродуктивних органів. Своєю чергою, гормони впливають на рецептори клітин і активують сигнальні шляхи, які забезпечують використання субстратів та ресинтез АТФ.

Зокрема, нашими дослідженнями встановлено, що для тканин репродуктивних органів і антральної рідини фолікулів яєчників корів характерна активність ЛДГ, МДГ і АСТ. Виявлено, що активність ензимів забезпечується ізозими (в порядку зростання номеру від зони рухливості маркерного барвника) ЛДГ: ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3, ЛДГ4 і ЛДГ5; АСТ: АСТ1 і АСТ2; МДГ: МДГ1, МДГ2 і МДГ3. Вказані каталітично активні протеїни відрізняються електрофоретичною рухливістю, інтенсивністю та площею зафарбування, що свідчить про різну локалізацію в структурних елементах клітинах і участь в перетвореннях субстратів. Величини значень вмісту ізозимів ензимів залежать від фізіологічного стану статевої залози і тканин репродуктивних органів, що характеризує їх значення у відтворній функції



впродовж статевого циклу корів. Так, більша частина активності ЛДГ в тканинах яєчника і ендометрію та антральній рідині забезпечується ЛДГ1 (29,7–67,7 %), МДГ – МДГ1 і МДГ2 (18,9–60,9 %). Відрізняється вміст ізозимів АСТ: у тканинах більше АСТ2 (78,8–97,7 %), а у антральній рідині АСТ1 (72,8–88,2 %).

Дія гормонів та активування ензимів проявляється коливаннями вмісту розчинних протеїнів та їх окремих фракцій в тканинах репродуктивних органів і антральній рідині фолікулів яєчників корів.

Зміни інтенсивності окисних процесів та швидкості ресинтезу АТФ супроводжується утворенням активних форм Оксигену (АФО). Як впливає з результатів досліджень для тканин репродуктивних органів і антральної рідини фолікулів яєчників корів характерна активність ензимів антиоксидантного захисту. Ензими, за розділення в електричному полі проявляються ізозимами, які характеризують їх сумарну активність: по 5 смуг каталітично активних протеїнів СОД і ГПО та 2 – КАТ. Смуги ізозимів відрізняються електрофоретичною рухливістю й інтенсивністю та площею зафарбування, що вказує на неоднозначну їх участь в забезпеченні антиоксидантного захисту. Основну частину активності СОД, ГПО і КАТ в тканині яєчника і ендометрію забезпечують, відповідно, СОД2 (38,0–58,4 %), ГПО3 (38,0–74,8 %) і КАТ2 (74,4–88,7 %), а на інші ізозими припадає 4,3–19,9 %. На відміну від тканин, вміст ізозимів досліджених ензимів антиоксидантного захисту в антральній рідині значною мірою залежить як від фізіологічного стану яєчника, так і розміру фолікулів з яких вона отримана.

Дослідженнями динаміки гонадотропних гормонів у плазмі крові встановлено, що концентрація ФСГ підвищується зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннє» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст» і, відповідно, досягає максимуму, що характеризує стимулювання росту фолікулів. При цьому, максимальна концентрація ЛГ в плазмі крові виявляється за «пізнього жовтого тіла». Підвищення концентрації ЛГ в крові характеризує

передовуляторну хвилю гонадотропіну, яка забезпечує підготовку фолікула до овуляції і активує клітини гранульози до диферинцювання їх в жовте тіло [254].

Незважаючи на відсутність вірогідних різниць концентрацій стероїдних гормонів у плазмі крові корів залежно від фізіологічного стану яєчника (величин значень яких знаходились в межах: тестостерону – 0,2–0,5 нг/мл, прогестерону – 53,1–62,0 нг/мл і естрадіолу – 45,4 –9,4 пг/мл) нами виявлено, що зі зміною фізіологічного стану статевої залози: «раннього жовтого тіла» → «пізнього жовтого тіла» → «фолікулярного росту» проявляється тенденція до підвищення тестостерону і зниження концентрації прогестерону. При цьому, концентрація естрадіолу висока за «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» (55,9–59,4 пг/мл) і нижча на 23,3–23,6 % за «пізнього жовтого тіла» і гіпофункції. Результати досліджень узгоджуються з твердженням, що овуляція протікає на фоні підвищених концентрацій E2 і ЛГ [255]. Ймовірно, більшість піддослідних корів характеризувалась двома чи трьома хвилями гонадотропінів, які стимулювали ріст фолікулів і, відповідно, перебіг статевого циклу – ріст і дозрівання ооцитів, овуляцію домінуючого фолікула й розвиток та інволюцію жовтого тіла. Своєю чергою, вказані зміни впливають на концентрації стероїдних гормонів і визначають значну мінливість величин досліджуваних показників [256]. Однак, за високої концентрації ФСГ в плазмі крові виявляється знижене число фолікулів в яєчниках, а підвищення E2 не викликає зворотну відповідь секреції гонадотропіну впродовж їх росту [257]. Автори констатують, що окрім досліджених показників (ФСГ, ЛГ, E2, інгібін та ІФР-1) присутні ще й інші чинники, які забезпечують ріст числа фолікулів.

За гіпофункції яєчника, на фоні середньої величини значення ФСГ ( $0,9 \pm 0,11$  МО/л), встановлена вірогідно нижча концентрація ЛГ в плазмі крові, антральній рідині й тканині яєчника корів свідчить про дисбаланс гонадотропінів в організмі та асинхронну дію їх на функцію статевої залози. При цьому відомо, що понижена концентрація ЛГ зумовлює атрезію фолікулів [258].

Проте, підвищення концентрації ЛГ стимулює синтез андрогенів, які, своєю чергою, беруть участь у внутрішньоклітинній регуляції функцій гранульози через вплив на експресію ФСГ-рецептора, інсуліноподібного фактору росту-1 (IGF-1) та ген ароматази [259]. Синтез андрогенів у яєчнику забезпечують клітини теки, які експресують функціональні ЛГ-рецептори на етапах росту преантрального фолікула [260]. Однак, на відміну від фізіологічних станів, в плазмі крові корів за гіпофункції яєчника встановлено невисоку концентрацію тестостерону ( $0,3 \pm 0,04$  нг/мл) та низькі – прогестерону ( $35,1 \pm 7,43$  нг/мл) і естрадіолу ( $46,2 \pm 7,50$  пг/мл). Понижена концентрація тестостерону в плазмі крові за гіпофункції яєчника, порівняно з фізіологічним станом «фолікулярного росту», характеризує недостатній синтез стероїдного гормону клітинами теки і, як випливає з результатів досліджень [261, 262, 263], є показником пониженої відтворної функції. Крім того, низька концентрація E2 в плазмі крові характерна для високопродуктивних корів з ановуляторним циклом [264].

Отже, за гіпофункції статевої залози дисбаланс гонадотропних гормонів в плазмі крові проявляється низькими концентраціями естрадіолу та прогестерону. Відомо, що понижена концентрація андрогенів (в т.ч. тестостерону) характеризує атрезію фолікулів та апоптоз клітин гранульози. Андрогени також інгібують експресію рецепторів ЛГ і гальмують ріст та розвиток фолікулів у яєчниках [265].

Встановлені зміни концентрацій гормонів у плазмі крові за патології статевої залози характеризують порушення обмінних процесів у тканинах репродуктивних органів (яєчнику і ендометрії) та фолікулах (клітинах теки і гранульози).

У тканинах репродуктивних органів, залежно від фізіологічного чи патологічного (гіпофункції) станів статевої залози, існують особливості поширення і нагромадження гормонів. Зокрема, в тканині яєчника концентрація ФСГ не залежить від фізіологічного стану статевої залози, що свідчить про

нечутливість вказаного гонадотропного гормону до метаболічних станів (відсутність різниці в тканинах між фізіологічними станами статевої залози і гіпофункції) [264]. Проте, в тканині ендометрію за «пізнього жовтого тіла» існує максимальна величина значення ФСГ. Доведено, що за зростання як концентрації ФСГ, так і ФСГ-рецепторів в міометрії (очевидно, і в ендометрії) підвищується чутливість тканини до дії гормону та супроводжується вищою скоротливою активністю матки [266]. Слід зауважити, що в тканині ендометрію за гіпофункції яєчника підвищена концентрація ФСГ, а в антральній рідині понижена, порівняно з аналогами за фізіологічних станів, і становить  $0,5 \pm 0,03$  МО/л.

Одночасно, висока концентрація ЛГ характерна для тканини яєчника за «фолікулярного росту» свідчить про поступове нагромадження гормону в структурах статевої залози, порівняно з плазмою крові, в якій висока величина значення виявляється за «пізнього жовтого тіла». І навпаки, максимальна концентрація ЛГ в ендометрії за «пізнього жовтого тіла» свідчить, що поширення і нагромадження гонадотропних гормонів у репродуктивних органах корів (статевої залози і ендометрію) за зміни фізіологічного стану яєчника зумовлені розвитком сітки кровоносних судин і толерантністю тканин до їх дії (присутності та здатності рецепторів зв'язувати гормони). Поряд з цим, однакова концентрація ЛГ в тканині яєчника за гіпофункції та «раннього жовтого тіла» вказує на понижене утворення гонадотропіну в організмі корів, що своєю чергою, характеризує зростання швидкості лютеїнізації клітин гранульози і синтез прогестерону. Дане твердження ґрунтується на результатах досліджень з яких випливає, що за недостатньої концентрації ЛГ зростає швидкість лютеїнізації клітин гранульози [267].

У тканині статевої залози за «раннього жовтого тіла» встановлена максимальна концентрація тестостерону свідчить про потреби сформованої структури – жовтого тіла в субстраті для синтезу прогестерону. Однак, концентрація прогестерону проявляє тенденцію до пропорційного зростання зі

зміною фізіологічного стану яєчника: «раннього» → «пізнього жовтих тіл» → «фолікулярного росту», що характеризує вплив ЛГ не тільки на структури (фолікули), але й на тканину яєчника. Одночасно, концентрація естрадіолу за «пізнього жовтого тіла» висока (25,4 пг/мл), нижча на 19,7 % за «раннього жовтого тіла» і на 30,0 % за «фолікулярного росту».

Зниження концентрації тестостерону в тканині ендометрію зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннього» → «пізнього жовтих тіл» → «фолікулярного росту» свідчить про використання вказаного гормону для утворення інших стероїдних гормонів (прогестерону і естрадіолу) клітинами фолікулів. При цьому, підвищення концентрації естрадіолу в ендометрії за фізіологічного стану яєчника «пізнього жовтого тіла», ймовірно, зумовлена дією ФСГ і ростом фолікулів та синтезом вказаного стероїдного гормону клітинами гранульози. Зміни призводять до зростання як концентрації естрадіолу в ростучих фолікулах, так і транспорту кров'яним руслом в матку і, зокрема, в ендометрій. Аналогічно, вища концентрація прогестерону в ендометрії за «фолікулярного росту» зумовлена впливом ЛГ на домінуючий фолікул та дією на рецептори матки, що супроводжується інтенсивним ростом епітелію і виділенням секретів маткових залоз.

Зміни стадій статевого циклу (фізіологічного стану яєчників) на фоні впливу гонадотропінів і синтезу стероїдних гормонів характеризуються коливаннями інтенсивності метаболізму в тканинах репродуктивних органів. Так, динаміка активності ЛДГ в тканині яєчника і ендометрію свідчить про активування процесів ресинтезу АТФ гліколізом зі зміною фізіологічного стану статевої залози: «раннє» → «пізнє жовті тіла» → «фолікулярний ріст». При цьому, підвищений вміст ЛДГ1 характеризує перевагу аеробного шляху окиснення вуглеводів з вищими величинами значень за стану статевої залози «пізнього жовтого тіла» і «фолікулярного росту», і навпаки, про вищу активність анаеробного шляху за «раннього жовтого тіла» (висока величина значення ЛДГ4). Особливістю тканини ендометрію за фізіологічного стану

яєчника «фолікулярного росту» є зниження вмісту ізозимів ЛДГ, які характеризують анаеробний шлях окиснення вуглеводів (ЛДГ4 та ЛДГ5), порівняно з іншими фізіологічними станами, статистично вірогідне ( $p < 0,05-0,001$ ).

Встановлена підвищена активність АСТ в тканині яєчника і ендометрії за «пізнього жовтого тіла», порівняно з іншими фізіологічними станами, характеризує зростання перетворення аспартату в оксалоацетат і, в загальному, синтетичних процесів, які забезпечують підготовку статевої залози до росту і виділення домінуючого фолікула й дозрівання ооцита, а матки (ендометрію) – до запліднення, приживлення та розвитку ембріона. При цьому, за фізіологічного стану статевої залози «фолікулярного росту» низький вміст АСТ1 і високий АСТ2 свідчить інтенсивне перетворення аспартату в цитозолі та характеризує потребу тканин яєчника і ендометрію як в структурних елементах, так і утворенні оксалоацетату.

Активність МДГ в тканинах репродуктивних органів корів максимальна за фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту». При цьому, встановлені величини значень вмісту ізозимів МДГ свідчать, що в тканинах статевої залози, не залежно від фізіологічного стану, інтенсивно протікають процеси перетворення у цитозолі оксалоацетату в малат, від 26,5–56,7 % якого поступає в мітохондрії. Подібно, у тканині ендометрію основна частина ізозимів МДГ за фізіологічних станів яєчника характеризує перевагу перетворення субстратів у цитозолі.

Поряд з залежністю активності ензимів від фізіологічного стану статевої залози змінюються вміст та окремі фракції протеїну в тканинах репродуктивних органів. Зокрема, підвищені величини значень вмісту розчинного протеїну в тканині статевої залози за «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» зумовлені структурними перебудовами за впливу гонадотропних і стероїдних гормонів. Одночасно, зниження вмісту преальбумінів і  $\gamma$ -глобулінів у тканині яєчників зі зміною фізіологічного стану: «раннє» → «пізнє жовті тіла» →

«фолікулярний ріст» характеризує активування процесів як синтезу структурних елементів клітин тканин, так і їх транспорту. Про вказане свідчить зростання транспортного протеїну – альбуміну. Вищі величини значень  $\alpha$ - і  $\beta$ -глобулінів (відповідно,  $\alpha_1$ - 1,1–2,0 %,  $\alpha_2$ -0,3–0,2 %,  $\alpha_3$ - 0,8–1,0 % і  $\beta$ - 0,3–2,8 %; ( $p < 0,05$ ) в тканині за «пізнього жовтого тіла» характеризують структурну перебудову статевої залози і стимулювання зростання фолікулів за зниженого інгібуючого впливу жовтого тіла. Одночасно, підвищення вмісту гаптоглобінів (Hr-;  $p < 0,05$ – $0,01$ ) в тканині статевої залози зі зміною фізіологічного стану: «раннє» → «пізнє жовті тіла» → «фолікулярний ріст» характеризує стимулювання ангиогенезу та забезпечення киснем тканини яєчника.

Вміст розчинного протеїну в ендометрії також залежить від фізіологічного стану статевої залози та співпадає з величиною значення в тканині яєчника. При цьому, тканина ендометрію за «раннього жовтого тіла» характеризується вищим вмістом  $\gamma$ -глобулінів ( $19,1 \pm 3,24$  %), що вказує на синтез протеїнів з великим розміром молекули. В ендометрії за «фолікулярного росту» яєчника, порівняно з іншими фізіологічними станами, вміст розчинного протеїну найнижчий, що, ймовірно, визначається поступовим впливом гонадотропних і стероїдних гормонів на метаболізм та протеїнсинтезувальну здатність тканини. При цьому, характерне підвищення вмісту  $\beta$ -глобулінів свідчить про активування синтезу металотранспортуєчих протеїнів і, ймовірно підготовку ендометрію до запліднення. В тканині ендометрію за «пізнього жовтого тіла», порівняно з іншими фізіологічними станами, на фоні середнього вмісту загального протеїну, відбуваються перебудови слизової оболонки, на що вказує вищий вміст преальбумінів ( $11,7 \pm 3,69$  %),  $\alpha$ -глобулінів 1,7–3,8 %) і Hr-глобіну ( $1,6 \pm 0,18$  %).

За змін концентрацій гормонів і активності ензимів в репродуктивних органах активуються окисні процеси. Як впливає з результатів досліджень активність ензимів антиоксидантного захисту в репродуктивних органах і антральній рідині проявляють значні коливання і визначається фізіологічним

станом яєчника (стадіями статевого циклу) та процесами, які протікають в організмі корови [268]. Зокрема, динаміка СОД зі зміною фізіологічного стану у тканині яєчника з розвитком та інволюцією жовтого тіла і виділенням домінуючого фолікула характеризує зниження активності ензиму ( $p < 0,001$ ). Понижена активність СОД у тканині статевої залози за «фолікулярного росту», ймовірно, визначена дозріванням ооцитів і потребою в ослабленні антиоксидантного захисту [166, 168].

Подібно, активність КАТ в тканині яєчника «раннього жовтого тіла» максимальна ( $1,51 \pm 0,11$  мМ/хв $\times$ мг протеїну), нижча на 14,6 % за «фолікулярного росту» і ще менша (26,5 %;  $p < 0,01$ ) за «пізнього жовтого тіла». Незважаючи на вірогідність змін активності СОД і КАТ, відсотковий вміст їх ізозимів в тканині статевої залози не залежить від фізіологічного стану яєчника, що свідчить про фізіологічно зумовлене нагромадження  $O_2^-$  і  $H_2O_2$  як в цитозолі, так і в мітохондріях клітин.

На противагу, стабільна активність ГПО в тканині яєчника за фізіологічних станів характеризує помірне нагромадження продуктів пероксидного окиснення і є достатньою для забезпечення її фізіологічної функції. Однак, вірогідне зниження ( $p < 0,01$ ) ГПО1 в тканині яєчника за «раннього жовтого тіла», порівняно з іншими фізіологічними станами, вказує на інтенсивну перебудову структури статевої залози і розвиток жовтого тіла.

Оскільки ГПО1 є основним ензимом, відповідальним за перетворення  $H_2O_2$  [269], зниження вмісту ГПО1 в тканині яєчника може свідчити про активування пероксидних процесів як в цитозолі, так і мітохондріях [270]. Одночасно, підвищений вміст ГПО2, ймовірно, компенсує активність ГПО1 в тканині яєчника за «раннього жовтого тіла». Вміст ГПО3, який характеризує інтенсивність дозрівання статевих клітин, за фізіологічних станів яєчника майже не відрізняється, що характеризує здатність тканини на фізіологічному рівні забезпечувати ріст і розвиток структур статевої залози. Підвищений вміст ГПО4 в тканині яєчника за фізіологічного стану «пізнього жовтого тіла»,



враховуючи його роль, як єдиного ізозиму здатного знижувати пероксиди ліпідів у мембранах клітин [271], свідчить про ріст фолікулів і ооцитів. Поряд з цим, високий вміст ГПО5 в тканині яєчника «фолікулярного росту» може характеризувати зростаюче окисне навантаження й захист від утворення  $H_2O_2$ , на противагу тканинам «раннього» і «пізнього жовтого тіла».

В ендометрії не встановлено вірогідних змін активності ензимів антиоксидантного захисту залежно від фізіологічного стану яєчника, що вказує на фізіологічний перебіг окисних процесів. Аналогічно, в ендометрії не виявлено вірогідних змін вмісту ізозимів СОД і КАТ залежно від фізіологічного стану статевої залози. Однак, за фізіологічного стану яєчника «раннього жовтого тіла» вірогідно вищий вміст ГПО1, ГПО2 і ГПО4 в ендометрії може свідчити про зростання окисного навантаження та утворення  $H_2O_2$ , яке зумовлено структурними перебудовами тканини. Високий вміст ГПО3 в ендометрії за фізіологічного стану яєчника «фолікулярного росту» вказує на здатність ізозиму забезпечувати після овуляції виживання і запліднення ооцита в матці. Подібні зміни ізозимів ГПО (їх матричної РНК) встановлені в яйцепроводі корів впродовж статевого циклу [272].

Від фізіолого-біохімічних змін в організмі корів та тканинах репродуктивних органів залежать концентрації гормонів і активність ензимів антральної рідини. Так, концентрація ФСГ в антральній рідині за розміру фолікула до 7 мм – висока та не залежить від фізіологічного стану яєчника, а за більше 7 мм – з «раннього жовтого тіла» і «фолікулярного росту» знижується, що свідчить про вищу здатність ФСГ стимулювати ріст і зв'язуватись структурами малих фолікулів та спорідненість структур антральної рідини (клітин гранульози) малих фолікулів і слабкий вплив на домінуючий та вторинні антральні фолікули. Відомо, що ФСГ забезпечує розвиток клітин гранульози і синтез  $E_2$  та є необхідним для виживання та диференціювання фолікулів [273]. ФСГ-стимульовані клітини гранульози виробляють паракринні фактори: IGF-1 та інгібін, які стимулюють синтез прогестерону й андрогенів

[274; 275] та трансформуючий фактор росту –  $\beta$  (TGF), який знижує активність  $P_{450c17\alpha}$  [276]. TGF- $\beta$ , внутрішньофолікулярний синтез якого інгібується ЛГ, діє як стимулятор стероїдогенних генів ( $P_{450sc}$  та  $3\beta$ -гідроксистероїддегідрогенази), які необхідні для утворення прогестерону [277].

Після впливу ФСГ, який індукує рецептори ЛГ в клітинах гранульози, вони реагують на дію обох гонадотропінів, що необхідне для забезпечення фолікуло- та стероїдогенезу. При цьому, експресія ЛГ-рецепторів клітин гранульози забезпечує розвиток дозріваючого фолікула незалежно від фізіологічного зниження концентрації ФСГ перед овуляцією. Зокрема нами встановлено, що за зміни фізіологічного стану статевої залози: «раннє» → «пізнє жовті тіла» → «фолікулярний ріст» і фолікула до 7 мм збільшується концентрація ЛГ в антральній рідині. Характерним є максимальна величина ЛГ у антральній рідині фолікула більше 7 мм за «пізнього жовтого тіла» ( $1,7 \pm 0,15$  МО/л), що вказує на стимулювання дозрівання і виділення домінуючого фолікула (статевого циклу за одної хвили гонадотропінів). Нижчі величини значень ЛГ у великих фолікулах яєчників фізіологічних станів «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» свідчать про процеси, які властиві ростучим фолікулам (статевого циклу за двох чи трьох хвиль гонадотропінів).

Дія гонадотропінів зумовлює синтез стероїдних гормонів клітинами фолікулів і їх вплив визначається фізіологічним станом статевої залози. Так, динаміка концентрації тестостерону в антральній рідині свідчить, що не залежно від розміру фолікула, синтез стероїдного гормону зростає зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннє» → «пізнє жовті тіла» → «фолікулярний ріст». Однак, виявлена максимальна концентрація тестостерону ( $40,3 \pm 1,88$  нг/мл) у антральній рідині фолікула 4–7 мм за «пізнього жовтого тіла» вказує на його можливий потенційний ріст і здатність досягти стану домінуючого, чи на атрезію фолікула. Припущення ґрунтується на результатах досліджень, які стверджують, що здатність перетворення андрогенів в естрадіол

є маркером якості фолікула, а неможливість перетворення андрогенів в естрадіол може свідчити про ранню їх атрезію [278].

Концентрації естрадіолу і прогестерону зі зміною фізіологічного стану яєчника: «раннє» → «пізнє жовті тіла» → «фолікулярний ріст» зростають в антральній рідині з фолікулів більше 4 мм. За вказаних умов, клітини антральної рідини фолікулів менше 4 мм найбільше синтезують естрадіолу за фізіологічного стану статевої залози «раннього жовтого тіла» – ймовірна перша хвиля росту преантральних фолікулів, а за «пізнє жовтого тіла» і «фолікулярного росту» – знижують, що вказує на інгібуючу дію ростучих (вторинних антральних фолікулів). Подібними змінами концентрації прогестерону характеризуються й малі фолікули яєчників «раннього» та «пізнє жовтого тіла» в антральній рідині яких концентрація гормону однакова (46,6– 47,0 нг/мл) і нижча ( $p < 0,01$ ) за «фолікулярного росту». Як впливає з аналізу результатів досліджень, черговість стадій статевого циклу (фізіологічних станів яєчника) і, відповідно, дія гонадотропінів на структури фолікулів й коливання концентрацій стероїдних гормонів в антральній рідині характеризують процеси росту і атрезії фолікулів [279].

Синтез стероїдних гормонів забезпечується інтенсивністю використання субстратів та ресинтезом АТФ клітинами фолікула. Доведено, що у передовуляторних фолікулах високий вміст глюкози, яка використовується клітинами фолікула для забезпечення енергетичних потреб [230, 280]. Також у фолікулах встановлена присутність ензимів гліколізу, зокрема, лактатдегідрогенази. Нами виявлено, що у антральній рідині активність ЛДГ характеризує потреби енергії для росту і розвитку ооцитів, що проявляється пониженою активністю ензиму з великих фолікулів залоз «фолікулярного росту» (завершується ріст ооцита) та «раннього жовтого тіла» (атрезія фолікулів) і навпаки, високою – з «пізнє жовтого тіла» (інтенсивно ростучі фолікули і ооцити). Слід зауважити, що підвищена активність ЛДГ в фолікулярній рідині може бути й наслідком атретичних змін, що було виявлено

дослідженнями ензиму за атрезії фолікулів яєчників корів [112]. Динаміка ЛДГ у антральній рідині залежно від фізіологічного стану яєчника підтверджується тим, що глюкоза використовується для синтезу енергії і підтримання гомеостазу клітин, для дозрівання ядра та як субстрат для розвитку фолікулів [281]. При цьому, за збільшення розміру фолікула у яєчнику «фолікулярного росту» в антральній рідині проявляється тенденція до зростання вмісту ЛДГ1 та ЛДГ5, що характеризує баланс між аеробним і анаеробним шляхами гліколізу.

Крім гліколізу в клітинах антральної рідини інтенсивно використовуються й інші субстрати для забезпечення існування і синтезу біологічно важливих молекул. Відомо, що амінокислоти, такі як аланін, глутамат, гліцин, лейцин, лізин, метіонін та фенілаланін здатні використовуватись клітинами, забезпечуючи, таким чином, високий вміст глюкози у антральній рідині ростучих фолікулів. Крім того виявлено, що за умов низького вмісту глюкози глюкогенні амінокислоти розчеплюються до пірувату або проміжного продукту ЦТК для її синтезу, а за пониженого вмісту джерел енергії кетогенні амінокислоти перетворюються в ацетоацетат та ацетил-КоА які, своєю чергою, можуть включатися в ЦТК [282, 283].

Одним зі шляхів який характеризує зміни забезпечення енергетичних та інших потреб клітин залежно від фізіологічного стану яєчника є малат-аспартатний шунт. Так, потребу клітин теки, гранульози і ооцита в продуктах переамінування для росту і дозрівання характеризує висока активність АСТ і МДГ в антральній рідині з малих фолікулів яєчника «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту». При цьому, в антральній рідині великих фолікулів яєчника «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла» висока активність АСТ й підвищений вміст АСТ1 забезпечують ріст клітин фолікула. Напрямок процесу підтверджують вміст МДГ2 і МДГ3 — постачання і використання малату для функціонування циклу трикарбонових кислот і ресинтезу АТФ. При цьому, зниження вмісту МДГ1 за «пізнього жовтого тіла» компенсується підвищенням МДГ2. Крім того, у антральній рідині з фолікулів яєчника

«раннього жовтого тіла» високий вміст МДГ1 вказує на інтенсивне перетворення оксалоацетату в малат в цитозолі клітин і можливе постачання субстрату в мітохондрії, активування ЦТК та стимулювання росту ооцитів в фолікулах.

Зміни фізіологічного стану статевої залози і, відповідно, обмінних процесів, у фолікулах проявляються неоднаковим вмістом загального протеїну та його фракцій. Зокрема, найвищий вміст розчинного протеїну в антральній рідині з фолікулів яєчників корів (31,2–39,8 мг/мл) за «раннього жовтого тіла», очевидно, зумовлений зростанням процесів атрезії фолікулів: втратою цілісності мембран і виходом протеїнів цитозолу з клітин. Висновок підтверджується високим вмістом преальбумінів і  $\gamma$ -глобулінів в антральній рідині, що характеризує нагромадження як високо-, так і низькоелектрофоретично рухливих протеїнів за руйнування структурних протеїнів тканин. Ймовірно, за вказаного стану яєчника активуються протеїнази які присутні в тканинах яєчника і фолікулах [284]. На противагу, в антральній рідині з яєчника «фолікулярного росту» зі збільшенням розміру фолікулів проявляється тенденція до зниження (на 0,2–1,2 мг/мл) вмісту загального протеїну, що вказує на гальмування його синтезу та завершення дозрівання ооцитів. Подібний результат отримано за дослідженнями вмісту протеїну в антральній рідині за росту фолікулів в яєчниках корів [112]. Однак, вміст фракцій розчинних протеїнів в антральній рідині слабо залежить від розміру фолікула яєчників «фолікулярного росту» і «пізнього жовтого тіла», що характеризує як однакову протеїнсинтезуючу здатність їх клітин, так і проникливість мембран фолікула для протеїнів з крові.

Відомо, що оксидативний стрес, інтенсивне утворення АФО пригнічує ріст фолікула, експресію і активність ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази) [285].

Зростання вмісту АФО, яке зумовлено активуванням метаболізму, призводить до стимулювання активності ензимів ланки антиоксидантного

захисту. Активність вказаних ензимів в антральній рідині неоднозначно залежить як від фізіологічного стану яєчника, так і розміру фолікулів з яких вона отримана. Так, найвища активність СОД в антральній рідині з великих фолікулів яєчника «фолікулярного росту» свідчить про дозрівання ооцитів, а низька з меншого діаметру – про понижений антиоксидантний захист і можливість атрезії. При цьому, для антральної рідини малих фолікулів яєчника «пізнього жовтого тіла» зростання активності ензиму вказує на активування процесів вільнорадикального окиснення, які можуть бути зумовлені як атрезією фолікулів, так і ростом ооцитів. За подібного результату зміни активності СОД в антральній рідині з великих фолікулів яєчника «раннього жовтого тіла» характеризують активування процесів утворення  $O_2^-$  та атрезію фолікулів.

В антральній рідині, яка отримана з фолікулів різного діаметру одного і того ж фізіологічного стану статевої залози, вміст окремих ізозимів СОД вірогідно не відрізняється, що вказує на фізіологічно зумовлений рівень утворення  $O_2^-$  у цілісній структурі статевої залози. Однак, існування вірогідних різниць вмісту окремих ізозимів в фолікулах одного діаметру, але з різних за фізіологічним станом статевих залоз характеризує неоднакову інтенсивність окисних процесів як в цитозолі клітин, так і позаклітинному просторі.

Встановлена висока активність ГПО в антральній рідині не залежно від діаметру фолікулів яєчника «пізнього жовтого тіла», порівняно з іншими фізіологічними станами, вказує на активування процесів, які супроводжуються з одного боку, ростом ооцитів а, з другого, атрезією фолікулів. На противагу, за пропорційного зростання активності ГПО і розміру фолікулів, з яких отримана антральна рідина, яєчників «раннього» і «пізнього жовтого тіла» може вказувати на активування процесів утворення  $H_2O_2$  і атрезією фолікулів. Одночасно, встановлені відмінності між антральною рідиною одного і того ж фізіологічного стану яєчника свідчать про активування процесів утворення  $H_2O_2$  у великих фолікулах яєчника «фолікулярного росту» і може вказувати на дозрівання ооцита. Підвищення активності ГПО в антральній рідині зі

збільшенням розміру фолікулів встановлено і в інших дослідженнях [177].

Одночасно, пропорційне підвищення активності КАТ в антральній рідині зі збільшенням розміру фолікулів з статевих залоз «фолікулярного росту» та «раннього жовтого тіла» свідчить про зростаюче окисне навантаження. Однак, як випливає з досліджень підвищення вмісту і, відповідно, активності ензиму в середовищі заморожування забезпечує виживання клітин (гранульози й ооцита) фолікулів та частоту заплідень ооцитів [286]. Поряд з цим, встановлена понижена активність КАТ у антральній рідині з фолікулів 4–7 мм яєчника «пізнього жовтого тіла» характеризує помірне окисне навантаження і потенційну здатність до розвитку та дозрівання ооцита.

Вміст ізозимів КАТ у антральній рідині зі слабкою силою залежить як від розміру, так і фізіологічного стану яєчника, що свідчить про фізіологічний рівень перебігу окисних процесів і утворення  $H_2O_2$  на фізіологічному рівень.

Як випливає з результатів досліджень за гіпофункції статевої залози виникають порушення обмінних процесів на рівнях як цілого організму корови, так і репродуктивної системи. Зокрема, нами встановлено, що за гіпофункції яєчника за характерного малого числа фолікулів низька концентрація тестостерону в тканині статевої залози. Відповідно, за меншої кількості фолікулів і клітин гранульози, синтезування тестостерону і його перетворення в естрадіол понижене. Поряд з цим, за гіпофункції яєчника концентрація прогестерону не відрізняється від величин значень в тканині яєчника за фізіологічних станів. Зниження перетворення клітинами гранульози тестостерону в естрадіол зумовлено утворенням і нагромадженням прогестерону, що своєю чергою, ймовірно, пов'язане з частковим інгібуванням 17-гідроксилази в клітинах теки і, як результат, синтезується більше прогестерону і менше андрогенів.

В ендометрії за гіпофункції яєчника концентрація тестостерону і естрадіолу, відповідно,  $37,7 \pm 3,10$  нг/мл та  $7,5 \pm 1,24$  пг/мл і вірогідно не відрізняється від величин фізіологічних значень. Ймовірно, концентрації

вказаних стероїдних гормонів у тканині ендометрію знаходяться на рівні фонових величин, за яких не відбуваються структурні перебудови тканини. Проте, понижена концентрація прогестерону в ендометрії за гіпофункції яєчників свідчить про слабкий вплив ФСГ і ЛГ на структури статевої залози і, відповідно, нагромадження в тканині матки (ендометрію) вказаного стероїдного гормону.

Концентрації гормонів в тканинах впливають на активність досліджуваних ензимів. Зокрема, нами встановлено, що за гіпофункції яєчника активність ЛДГ у тканинах репродуктивних органів на рівні величин значень за фізіологічних станів («фолікулярного росту»), а отже й величина інтенсивності гліколізу. При цьому, в тканині статевої залози за гіпофункції вміст ізозимів ЛДГ (за виключенням ЛДГ2) знаходиться на рівні величин значень встановлених у яєчнику «раннього жовтого тіла».

Одночасно, у ендометрії за гіпофункції статевої залози величини вмісту ЛДГ1, ЛДГ2 понижені, а ЛДГ3, ЛДГ4 і ЛДГ5 підвищені, порівняно з фолікулярним ростом, що свідчить про перевагу анаеробного шляху окиснення вуглеводів і нагромадження лактату в тканині.

Крім того, у тканинах репродуктивних органів за гіпофункції яєчника низькі активності МДГ і АСТ вказують на гальмування процесів трансамінування і пониження синтетичних процесів. Понижена активність ензимів трансамінування в тканинах яєчника і ендометрії за гіпофункції статевої залози характеризує слабкий вплив гонадотропних і стероїдних гормонів та дефіцит субстратів для забезпечення функціонування репродуктивних органів на фізіологічному рівні. Підтверджується висновок результатами аналізу вмісту ізозимів МДГ в тканині статевої залози і ендометрію за гіпофункції яєчника: МДГ3 – вищий, а МДГ2 – нижчий, порівняно з фізіологічними станами. Ймовірно, за патології яєчника виникають порушення перетворення оксалоацетату в малат (чи синтез ліпідів *de novo*) в цитозолі клітин і дефіцит субстратів для ресинтезу АТФ в мітохондріях чи для



утворення стероїдних гормонів.

На фоні порушень активності ензимів пов'язаних як з використанням субстратів, так і їх постачанням для синтетичних процесів вміст загального протеїну в тканині яєчника за гіпофункції не відрізняється від величин значень встановлених за фізіологічних станів, що свідчить про збережену протеїнсинтезуючу здатність й постачання протеїнів з кров'ю до тканини. Проте, вищий вміст  $\alpha_3$ -глобулінів (на 1,2–2,2 %;  $p < 0,05$ ) в тканині статевої залози, порівняно з фізіологічними станами, може вказувати на активування протеїназ і розчеплення протеїнів.

Поряд з цим, найвищий вміст загального протеїну ( $11,1 \pm 0,55$  мг/мл) в ендометрії за вказаної патології яєчника характеризує дисбаланс у дії гормонів обмінних процесів і, зокрема, протеїнсинтезуючу здатність тканини. Понижений вміст преальбумінів, Нр ( $p < 0,05$ ) і  $\gamma$ -глобулінів та підвищений альбуміну ( $p < 0,05$ ) і  $\alpha$ -глобулінів ( $p < 0,05$ ) свідчить про дефіцит розчинних протеїнів як синтезованих власне тканиною, так і надходження складових (ліпідів і вуглеводів) для їх синтезу.

За зміни активності ензимів, які беруть участь у синтезі енергії та структурних компонентів клітин тканин репродуктивних органів, за гіпофункції яєчника низька інтенсивність окисних процесів і, відповідно, утворення АФО. За нагромадження активних форм Оксигену змінюється активність ензимів антиоксидантного захисту. Так, в тканині яєчника за гіпофункції, порівняно з фізіологічними станами, найнижчі величини значень ензимів антиоксидантного захисту свідчать про гальмування активності чи понижений синтез їх протеїнів та характеризують вищу уразливість тканини статевої залози до утворених АФО. Зокрема, понижений вміст СОД2 і підвищений СОД3 та ЕСОД характеризують дисбаланс утворення  $O_2^{\cdot -}$  в цитозолі і підвищене - в позаклітинному просторі. Аналогічно, менші величини значень ГПО1, ГПО4 і ГПО5 ( $p < 0,01$ ) у тканині яєчника за гіпофункції, порівняно з фізіологічними станами, свідчать про понижений рівень захисту мітохондрій і мембран клітин

від можливого утворення  $H_2O_2$  та нагромадження окисненої форми глутатіону, а збільшення вмісту ГПОЗ – зростаюче утворення  $H_2O_2$  ( $p < 0,05-0,01$ ) в цитозолі.

Для слизової матки за гіпофункції яєчника, порівняно з фізіологічними станами, характерні тенденційно нижча активність СОД та високі активності ГПО і КАТ, що свідчить про зростання процесів пероксидного окиснення ліпідів. При цьому, в ендометрії за гіпофункції яєчника встановлений понижений вміст СОД2, ГПО1, КАТ1 та підвищений СОД3, МСОД, ЕСОД, ГПО5 і КАТ2, порівняно з фізіологічними станами, свідчить про нагромадження в цитозолі клітин  $O_2^-$  і  $H_2O_2$  та зростання окисненої форми глутатіону з ймовірними змінами конформації протеїнів в тканині та зниженням відтворної здатності корів (дозрівання статевих клітин, запліднення й розвитку ембріонів).

В антральній рідині фолікулів за гіпофункції яєчника концентрації тестостерону, естрадіолу і прогестерону характеризують низький синтез стероїдних гормонів клітинами, що свідчить про порушення як прямого (чи дисбаланс) впливу ФСГ і ЛГ на структури фолікула, так і зворотного – на стимулювання (гальмування) стероїдними гормонами утворення гонадотропінів.

Понижений синтез стероїдних гормонів за гіпофункції яєчника протікає за низької активності ЛДГ в антральній рідині, що свідчить про слабку інтенсивність гліколізу та дефіцит вуглеводів для забезпечення ресинтезованим АТФ клітин. Своєю чергою, відсутність макроергічної сполуки характеризує потенційно нижчий ріст фолікулів. Підтверджується результат встановленим найвищим вмістом ЛДГ5 (на 0,8–5,5 %;  $p < 0,05-0,01$ ), який вказує на перевагу анаеробного гліколізу і нагромадження лактату в порожнині фолікулів, порівняно з аналогами за фізіологічних станів яєчників.

При цьому, підвищена активність АСТ у антральній рідині фолікулів яєчника за гіпофункції може характеризувати як альтернативний шлях

постачання субстратів для існування, так і вихід ензиму з клітин в екзоцелюлярний простір. Про ймовірність таких перетворень свідчить активність МДГ у антральній рідині, величина значення якої знаходиться на фізіологічному рівні ( $0,4 \pm 0,06$  нмоль/хв $\times$ мг протеїну), що вказує на можливість забезпечення функцій клітин фолікула. Однак, для антральної рідини з малих фолікулів яєчника за гіпофункції характерний понижений вміст АСТ1 і підвищений АСТ2, що свідчить про порушення постачання субстратів для росту фолікулів, порівняно з фізіологічними станами.

Підтверджується дефіцит субстратів у антральній рідині з фолікулів за патології яєчника найнижчою величиною вмісту загального протеїну ( $11,5 \pm 2,84$  мг/мл;  $p < 0,05-0,01$ ). Порушення синтетичних процесів, ймовірно, зумовлено втратою чутливості клітин фолікула до дії гонадотропних гормонів чи їх дефіциту. В підсумку, низький вміст загального протеїну та відсутність різниці вмісту фракцій розчинних протеїнів в антральній рідині за гіпофункції яєчника, порівняно з аналогами за фізіологічних станів, характеризує понижено інтенсивність протеїнсинтезуючих процесів у фолікулах.

За гіпофункції яєчників підвищена активність ензимів антиоксидантного захисту (СОД, ГПО і КАТ) антральної рідини малих фолікулів вказує на активування процесів і утворення надлишку  $O_2^-$  та  $H_2O_2$  та атрезію фолікулів. При цьому, підвищений вміст МСОД у антральній рідині малих фолікулів яєчника за гіпофункції, порівняно з аналогами за фізіологічних станів, свідчить про інтенсивне утворення  $O_2^-$  у мітохондріях клітин гранульози й, можливо, ооцита. Встановлені зміни окисного метаболізму і нагромадження цитотоксичного продукту Оксигену у мітохондріях порушує електронтранспортний ланцюг і, відповідно, знижує ресинтез АТФ, що характеризує понижено якість як статевої клітини, так і генеративну функцію яєчника. При цьому, для антральної рідини малих фолікулів за гіпофункції яєчника характерний високий вміст ГПО5 та понижений вміст ГПО1 і ГПО2, що свідчить про високе окисне навантаження на клітини і його структури.

В зв'язку зі значною мінливістю досліджуваних біохімічних показників в крові і тканинах репродуктивних органів корів залежно від фізіологічного стану статевої залози вивчали кореляції між концентраціями гормонів та активністю ензимів. Так, аналізом кореляцій встановлено, що зі збільшенням ФСГ в крові корів у тканині яєчника знижуються концентрації естрадіолу і тестостерону, а прогестерону – підвищується, що свідчить про стимулювання перетворення тестостерону в прогестерон. Поряд з цим, зростання концентрації ФСГ в плазмі крові корів характеризується активуванням процесів утворення АТФ у тканині яєчника, які проявляються підвищенням активності ЛДГ і МДГ та зниженням АСТ ( $p < 0,01$ ). Крім того, знижуються активності СОД і КАТ, що свідчить про антиоксидантні властивості гормону і здатність нормалізувати окисні процеси в тканині статевої залози.

Аналогічні зміни відбуваються і в ендометрії: з підвищенням ФСГ в плазмі крові знижується концентрація естрадіолу в тканині, а максимум прогестерону ( $64,6 \pm 12,24$  нг/мл) встановлено за  $0,5-1,0$  МО/л ФСГ. Слабкий вплив ФСГ проявляється на концентрацію тестостерону в ендометрії ( $\eta = 0,184$ ). Від концентрації ФСГ в плазмі крові слабо залежить активність досліджених ензимів в тканині ендометрію ( $\eta = 0,116-0,280$ ). Виключенням є АСТ і ГПО, величини яких максимальні, відповідно,  $169,1 \pm 3,13$  мкмоль/хв $\times$ мг протеїну ( $\eta = 0,322$ ) і  $0,5 \pm 0,05$  мкмоль/хв $\times$ мг протеїну ( $\eta = 0,353$ ) за більше  $1,0$  та менше  $0,5$  МО/л ФСГ.

Підвищення концентрації ЛГ в плазмі крові характеризує стероїдогенну здатність тканини яєчника - зростають концентрації тестостерону (кореляційне відношення криволінійне;  $\eta = 0,585$ ), прогестерону (позитивне;  $\eta = 0,478$ ) та естрадіолу (позитивне;  $\eta = 0,540$ ). При цьому, зростаюча концентрація ЛГ в плазмі крові характеризує в тканині яєчника підвищення активності АСТ, ГПО і КАТ, що свідчить про інтенсивне переамінування субстратів і зростання окисних процесів, які супроводжуються нагромадженням  $H_2O_2$ . Крім того, в плазмі крові існують оптимальні величини значень ЛГ ( $1,2-2,4$  МО/л) за яких

проявляються максимальна активність ЛДГ і низькі МДГ та СОД в тканині статевої залози.

Зростаюча концентрація ЛГ в плазмі крові також проявляє вплив і зумовлює в тканині ендометрію підвищення прогестерону (1,2 - 2,4 МО/л; кореляційне відношення криволінійне;  $\eta = 0,435$ ) і естрадіолу (позитивне;  $\eta = 0,561$ ) за незмінної концентрації тестостерону ( $\eta = 0,282$ ). Крім того, за зростання ЛГ у плазмі крові в тканині ендометрію підвищується активність ГПО і за 1,2–2,4 МО/л знижується КАТ.

Одночасно, підвищення концентрації тестостерону в плазмі крові корів характеризує в тканині статевої залози активування МДГ і ГПО та зниження активності СОД, що свідчить про зростання утворення  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Також, за підвищення концентрації тестостерону в плазмі крові зростають активності ЛДГ і АСТ й знижуються МДГ і СОД в тканині ендометрію, що вказує на стимулювання гліколізу й переамінування аспартату та зменшенням постачанням малату в мітохондрії і утворення  $\text{O}_2^{\cdot-}$ .

Підвищення концентрації прогестерону в плазмі крові характеризує в тканині яєчника зростання процесів гліколізу, дихання та утворення активних форм Оксигену:  $\text{O}_2^{\cdot-}$  і  $\text{H}_2\text{O}_2$  та можливе гальмування надлишком Гідрогену пероксиду активності ГПО. Крім того, підвищення концентрації прогестерону в плазмі крові проявляється в тканині ендометрію зростанням процесів трансамінування та постачання малату в мітохондрії й активування ресинтезу АТФ, частина синтезу якого протікає за участі аеробного гліколізу, з одночасним зниженням активності КАТ.

Поряд з цим встановлено, що зростання концентрації естрадіолу в плазмі крові корів проявляє негативну кореляцію ( $\eta = 0,426$ ) з активністю КАТ в тканині яєчника, що свідчить про проявлення антиоксидантних властивостей гормону. Поряд з цим, встановлена криволінійна залежність концентрації естрадіолу в плазмі крові корів з активністю МДГ, АСТ і ГПО, мінімальні величин значень яких проявляються за 45,0–55,0 пг/мл вказаного стероїдного

гормону.

Вплив концентрацій гормонів у тканинах репродуктивних органів та антральній рідині фолікулів на досліджувані біохімічні показники відрізняються, від встановлених у плазмі крові. В тканинах репродуктивних органів аналізом кореляцій між концентраціями гонадотропних гормонів і досліджуваними ензимами встановлено, що концентрація ФСГ в тканині яєчника зі слабкою силою корелює з активністю ензимів трансамінування, антиоксидантного захисту та ЛДГ (сила кореляційного відношення не перевищує  $\eta = 0,289$ ). Однак, зі збільшенням концентрації ФСГ в тканині яєчника знижується утворення  $O_2^{\cdot-}$ , що проявляється пониженою активністю СОД. Результат аналізу кореляцій підтверджується встановленим зниженням АФК у великих антральних фолікулах і гальмуванням апоптозу клітин гранульози за впливу ФСГ [287, 288, 157].

В тканині ендометрію зі збільшенням концентрації ФСГ зменшується активність МДГ і АСТ, що, своєю чергою, характеризує зниження інтенсивності процесів трансамінування і достатній рівень забезпечення клітин АТФ та здатність тканини забезпечити виживання ооцита, його запліднення і приживлення ембріона.

Слабка залежність встановлена між концентрацією ЛГ і активністю ензимів в тканині яєчника, що свідчить про короткочасну стимулювальну дію гонадотропного гормону на статеву залозу. Одночасно підвищення концентрації ЛГ в тканині ендометрію характеризує зростання активності ЛДГ та ГПО, що свідчить про активування гліколізу і зростання антиоксидантного захисту тканини від утворення  $H_2O_2$ .

Аналіз кореляцій між стероїдними гормонами і активністю досліджуваних ензимів в тканинах репродуктивних органів свідчить, що зростаюча концентрація тестостерону в тканині яєчника проявляє стимулювальний вплив на ензиматичну ланку антиоксидантного захисту (СОД, ГПО і КАТ –  $\eta = 0,313-0,525$ ) та гальмувальний на процеси трансамінування,

які опосередковано визначаються активністю АСТ і МДГ ( $\eta = 0,327$  і  $0,422$ ). Вказаний результат кореляцій свідчить про стимулювання тестостероном синтезу протеїнів ензимів антиоксидантного захисту і проявлення антиоксидантних властивостей та про забезпеченість клітин тканини статевої залози енергетичними і пластичними субстратами.

В тканині ендометрію за високої концентрації тестостерону стимулюється гліколіз (підвищується активність ЛДГ) і, очевидно, його анаеробний шлях, що проявляється зменшенням утворенням  $O_2^{\cdot-}$  та  $H_2O_2$  й відповідним зниженням активності СОД і КАТ. Поряд з цим, в тканині ендометрію існує оптимум концентрації тестостерону (30,0–45,0 нг/мл) за якої проявляється мінімальна активність МДГ ( $0,5 \pm 0,23$  нмоль/хв $\times$ мг протеїну).

За підвищення концентрації прогестерону в тканині яєчника зростає активність МДГ, що свідчить про активування перетворення оксалоацетату в малат в цитозолі та утворення з малату оксалоацетату в мітохондріях і стимулювання ЦТК. Одночасно забезпечується надходження в цитозоль  $НАД^+$  для активування ЛДГ. Однак, існує оптимум активності ЛДГ, яка найнижча за 10–20 нг/мл і висока за менше 10 нг/мл та більше 20 нг/мл прогестерону.

В тканині ендометрію до 20,0 нг/мл прогестерону понижені активності МДГ, АСТ і СОД, а за більше 20 нг/мл – зростають ( $p < 0,05$ – $0,01$ ), що вказує на активування трансамінування і постачання субстратів в дихальний ланцюг мітохондрій, який може бути джерелом  $O_2^{\cdot-}$  [289]. Своєю чергою генерування супероксиданіону стимулює активність СОД.

Підвищення концентрації естрадіолу в тканині яєчника супроводжується вірогідним ( $p < 0,05$ – $0,001$ ) зростанням активності СОД і КАТ, що, з одного боку, вказує на зростаючий антиоксидантний захист, а з другого - на надлишок утворених АФО в статевій залозі. Вказані зміни можуть характеризувати ріст домінуючого фолікула чи підготовку тканини статевої залози до утворення жовтого тіла.

В тканині ендометрію за концентрації естрадіолу 5,0–10,0 пг/мл

проявляється максимальна активність ЛДГ ( $48,1 \pm 11,07$  мкмоль/хв $\times$ мг протеїну) та низькі АСТ ( $108,9 \pm 16,96$  мкмоль/хв $\times$ мг протеїну) і КАТ ( $0,5 \pm 0,04$  ммоль/хв $\times$ мг протеїну), що вказує на перевагу гліколізу в тканині зі зниженням процесів трансамінування й утворення  $H_2O_2$ .

Встановлена відмінність впливу концентрацій гормонів у тканинах репродуктивних органів та антральній рідині на величини біохімічних показників, порівняно з плазмою крові, очевидно зумовлена зменшенням числа клітин гранульози у фолікулах та рецепторів в клітинах як гранульози і теки, так й яєчників та ендометрію, зниженою здатністю взаємодіяти гормонів з рецепторами, зміною чи дефіцитом факторів росту в тканинах і фолікулах.

Відомо, що клітини антральної рідини (теки, гранульози, кумулюсу) синтезують *in vitro* андрогени, естрогени і прогестерон [290]. При цьому, в культурі клітин антральної рідини впродовж культивування концентрація тестостерону поступово знижується і за більше 16 діб культивування коливається в межах 0,2–0,8 нг/мл. Отриманий результат узгоджується з даними про використання андрогенів клітинами гранульози для синтезу прогестерону і естрадіолу [291, 292]. Синтез естрадіолу на 14–16 доби в культурі клітин досягає майже в два рази вищої концентрації, ніж у фолікулярній рідині, й утримується на рівні впродовж 30–32 діб культивування. Концентрація прогестерону за культивування клітини антральної рідини знижується до 14–32 доби, а на 60 добу зростає. Результати досліджень узгоджуються з встановленим зменшенням синтезу естрадіолу клітинами гранульози за зниження концентрації андрогенів, зокрема, тестостерону і активності ароматази та підвищенням утворенням прогестерону [293].

Апробуванням на самках мишей дії отриманого середовища культивування, як сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції доведено, що за введення 0,1 мл середовища з мінімальною дозою стероїдних гормонів (за естрадіолом 70 пг/мл) збільшується маса матки та яєчників самок мишей більше ніж у 2 рази, а за використання



вищих доз (за естадіолом: 0,24, 0,46, 1,08 нг/мл) призводить до аналогічних результатів: маса матки + яєчники вища контролю у 1,8–1,9 рази. Аналогічні результати отримані за дії комплексу стероїдних гормонів застосованих на статеві незрілі самки щурів – встановлено збільшення числа та розміру видимих антральних фолікулів у статевих залозах впродовж 3 діб досліджень. Збільшення маси матки+яєчники за дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самок відбувалось за рахунок збільшення товщини стінки міометрію і ендометрію та величини маткових залоз, порівняно з контрольною групою. Результати досліджень узгоджується зі встановленим підвищенням інтенсивності синтезу протеїнів та прискоренням транспорту ооцитів у яйцепроводах самок щурів за введення екзогенного E2 [59]. Вказані зміни репродуктивних органів проявлялись на фоні підвищених концентрацій ФСГ і ЛГ, тестостерону і прогестерону в плазмі крові самок мишей, що свідчить про стимулювальний ефект введеного комплексу.

Ефективність дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок підтверджена відновленням репродуктивної функції корів за її застосування. Після двохразового внутрішньом'язового введення у дозі 20 мл/гол (розчин для ін'єкцій) виявлено, що з 10 корів у 6 тварин (60,0 %) проявляються ознаки феноменів стадії збудження статевих циклу і, після штучного осіменіння, діагностується тільність.

Очевидно сировина для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції самок забезпечує вищий відсоток відновлення статевих циклу, запліднення та тільності корів, порівняно з Естрофаном, завдяки присутності в її складі як стероїдних гормонів, так й компонентів, які входять в склад середовища культивування антральної рідини (еструсної сироватки та фолікулярної рідини) і протеїнів синтезованих клітинами теки та гранульози.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі узагальнено результати досліджень гормонального стану (гонадотропних і стероїдних гормонів) і активності й вмісту ізозимів лактатдегідрогенази, ензимів малат-аспартатного шунта і антиоксидантного захисту в тканинах репродуктивних органів за статевого циклу та гіпофункції яєчників корів. Теоретично обґрунтована й апробована можливість використання середовища культивування клітин антральної рідини фолікулів яєчників корів як сировини для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самиць.

1. У крові корів, залежно від фізіологічного стану яєчника, 0,7–1,6 МО/л ФСГ і 1,7–2,4 МО/л ЛГ, тестостерону і прогестерону 0,2–0,5 і 53,1–63,1 нг/мл відповідно та естрадіолу – 45,4–59,4 пг/мл; у тканинах репродуктивних органів (мл гомогенату): ФСГ і ЛГ відповідно 0,2–0,9 і 1,0–3,6 мМО, тестостерону та прогестерону – 18,0–43,4 і 10,3–91,2 нг та естрадіолу – 4,6–25,4 пг; антральній рідині: ФСГ і ЛГ, відповідно, 0,4–0,7 і 0,9–1,6 МО/л, тестостерону, прогестерону і естрадіолу (нг/мл) – 10,1–40,3, 6,3–92,8 і 9,2–33,0.

2. За гіпофункції яєчника, порівняно з фізіологічними станами, в плазмі крові корів концентрації ФСГ, ЛГ та прогестерону низькі ( $p < 0,05–0,01$ ); в тканині статевої залози: естрадіолу і тестостерону – понижені ( $p < 0,001$ ), в ендометрії ФСГ максимальна ( $p < 0,001$ ) і прогестерону – низька ( $p < 0,001$ ), а в антральній рідині фолікулів величини значень концентрацій всіх досліджених гормонів понижені ( $p < 0,05–0,001$ ).

3. Для тканин репродуктивних органів і антральної рідини за статевого циклу характерні, відповідно (хв×мг протеїну): 33,9–48,8 та 1,1–2,8 мкмоль ЛДГ, 0,6–1,0 та 0,3–1,6 нмоль МДГ, 66,5–132,0 та 35,7–88,1 мкмоль АСТ, 15,2–25,6 та 7,6–36,2 МО СОД, 0,036–0,054 та 0,035–0,38 мкмоль ГПО, 0,60–1,51 та 0,54–0,84 ммоль КАТ. За гіпофункції у тканині яєчника понижені активності ензимів антиоксидантного захисту і АСТ ( $p < 0,05–0,001$ ), ендометрію –

максимальна ЛДГ ( $49,6 \pm 5,44$  мкмоль/хв $\times$ мг протеїну) і низька МДГ ( $p < 0,01-0,001$ ), а у антральній рідині: вищі на  $50,0-61,6$  % активність КАТ і вміст МСОД й ГПО5 ( $p < 0,05$ ) та нижчий – ГПО2 ( $p < 0,05$ ).

4. У тканинах репродуктивних органів і антральній рідині фолікулів яєчників корів активність ЛДГ, СОД і ГПО проявляються 5 смугами каталітично активних протеїнів, МДГ – 3, АСТ і КАТ – 2. Основна частина активності ензимів у тканинах і антральній рідині припадає на ізозими СОД2 ( $38,0-58,4$  %), ГПО3 ( $38,0-74,8$  %), КАТ2 ( $74,4-88,7$  %), ЛДГ1 ( $29,7-67,7$  %), МДГ1 і МДГ2 ( $18,9-60,9$  %), АСТ: у тканинах більше АСТ2 ( $78,8 - 97,7$  %), а в антральній рідині – АСТ1 ( $72,8-88,2$  %).

5. Вміст загального протеїну в тканині яєчника зі слабкою силою корелює з фізіологічним станом статевої залози ( $\eta = 0,250$ ), а в ендометрії – з середньою ( $\eta = 0,529$ ). За гіпофункції в тканині яєчника вищий вміст  $\alpha_3$ -глобулінів ( $p < 0,05$ ), а в ендометрії вищий вміст альбуміну ( $p < 0,05$ ) та низький –  $\gamma$ -глобулінів ( $p < 0,01$ ). У антральній рідині фолікулів за гіпофункції яєчника вміст розчинних протеїнів низький ( $p < 0,05-0,01$ ).

6. Концентрація гонадотропінів у крові з неоднозначною силою корелює зі стероїдними гормонами у тканинах яєчника – ЛГ –  $\eta = 0,478 - 0,585$  і ФСГ – з естрадіолом та прогестероном ( $\eta = 0,397$  і  $0,304$ ) та у ендометрії: ЛГ – з естрадіолом і прогестероном ( $\eta = 0,561$  та  $0,435$ ) і ФСГ, відповідно,  $\eta = 0,434$  та  $0,480$ .

7. Концентрація ФСГ у крові виявляє сильний негативний зв'язок з активністю КАТ ( $\eta = 0,794$ ) у тканині яєчника, а з іншими дослідженими ензимами в тканинах за ФСГ і ЛГ – кореляція неоднозначна за напрямом середньої сили ( $\eta = 0,307-0,580$ ). Підвищення концентрації стероїдних гормонів у крові виявляє різну за напрямом середньої сили кореляцію з активністю досліджених ензимів в тканинах репродуктивних органів корів ( $\eta = 0,396-0,595$ ).

8. У тканині яєчника концентрації ФСГ і ЛГ зі слабкою силою корелюють з активністю досліджених ензимів (не перевищує  $\eta = 0,289$ ), у ендометрії – зі зростанням ФСГ знижується активність АСТ і СОД (відповідно,  $\eta = 0,376$  і  $0,404$ ), а з підвищенням ЛГ зростають ЛДГ і ГПО ( $\eta = 0,432$  і  $0,393$ ).

9. У тканині яєчника за підвищення концентрації тестостерону гальмується активність малат-аспартатного шунта ( $\eta = 0,327-0,422$ ) і активується ензиматична ланка антиоксидантного захисту ( $\eta = 0,313-0,525$ ), естрадіолу – зростає активність СОД і КАТ ( $\eta = 0,315$  і  $0,361$ ), прогестерону – знижується активність ЛДГ ( $\eta = 0,311$ ) і підвищується – МДГ ( $\eta = 0,331$ ). У ендометрії за підвищення концентрації тестостерону активується гліколіз (ЛДГ;  $\eta = 0,482$ ), гальмуються активності малат-аспартатного шунта, СОД і КАТ ( $\eta = 0,364-0,575$ ), естрадіолу – знижується активність ЛДГ, АСТ і КАТ ( $\eta = 0,366-0,677$ ), прогестерону – зростає активність малат-аспартатного шунта і СОД ( $\eta = 0,341-0,494$ ).

10. Сировина для виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції на основі середовища культивування клітин антральної рідини фолікулів яєчників корів за внутрішньом'язового введення самкам лабораторних тварин забезпечує більш ніж удвічі збільшення маси матки і статевих залоз, кількості й розміру видимих антральних фолікулів, а за гіпофункції яєчників корів у 60,0 % відновлює статевий цикл, що забезпечує після штучного осіменіння їх запліднення і тільність.

## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для отримання сировини (компоненту) з виготовлення препарату зі стимулювання репродуктивної функції самиць, слід культивувати клітини антральної рідини фолікулів корів упродовж 14–16 діб у середовищі RPMI-1640 (мас.%): клітин гранульозного шару фолікулів – 5–7 млн клітин/мл; еструсної сироватки корів 8–12; фолікулярної рідини – 10–12 %; гепарин (5 тис. од.) – 0,0005–0,0015; синтетичне середовище RPMI-1640 – до 100%.

2. Відновлення фізіологічної активності яєчників корів забезпечується завдяки введенню дворазово, внутрішньом'язово 20 мл/гол. компонента (сировини) препарату зі стимулювання репродуктивної функції самиць, отриманого за культивування антральної рідини впродовж 14–16 діб.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Захарова Т. В. Етіопатогенетичний зв'язок патології яєчників у корів з дисфункцією імунної системи та методи їх біокорекції //Атореф. канд. дис. вет. наук 16.00.07 – ветеринарне акушерство. — Львів, 2013. — 20 с.
2. Ордін Ю. М. Оцінка методів лікування корів за деяких функціональних розладів яєчників //«Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині». Матеріали Всеукраїнської науково–практичної інтернет–конференції (5–6 квітня 2016 р.). — Полтава, 2016. — С. 26–28.
3. Яблонський В. А. Проблема відтворення тварин: стан і перспективи / В. А. Яблонський // Вісник БДАУ. — Біла Церква, 2008. — Вип. 57. — С. 169–173.
4. Влізло В. В. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині та тваринництві / В. В. Влізло, Б. М. Куртяк, І. В. Вудмаска, О. І. Віщур, А. П. Петрук — Львів: СПОЛОМ, 2015. — 436 с.
5. Cheong S. H. Metabolic and Endocrine Differences Between Dairy Cows That Do or Do Not Ovulate First Postpartum Dominant Follicles / S. H. Cheong, O. G. Sá Filho, V. A. Absalón-Medina, S. H. Pelton, W. R. Butler, R. O. Gilbert // *Biology of Reproduction*. — 2016.— V. 94. — С. 1–11.
6. Бабань О. А. Гістологічні зміни в яєчниках корів при гіпофункції / О. А. Бабань, Г. Г. Харута, І. В. Папченко // *Ветеринарна медицина України* – 2009. – №5. – С. 26 – 29.
7. Кротких М. О. Окисно-відновні процеси в тканинах яєчника, матки та наднирникової залози корів і телиць залежно від стану репродуктивної системи. //Атореф канд. дис. вет. наук 03.00.13-фізіологія людини і тварин. — Львів, 2001. — 18с.
8. Мельничук Д. О. Ветеринарна клінічна біохімія / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. А. Томчук, В. І. Цвіліховський та ін. — Київ: НУБІП України, 2014. — 455 с.

9. Plant T. M. Hypothalamic control of the pituitary-gonadal axis in higher primates: key advances over the last two decades // *J Neuroendocrinol.* — 2008.— V.20. — P.719–726.
10. Bogerd J. Ligand-selective determinants in gonadotropin receptors // *Mol Cell Endocrinol.* — 2007. — V.260–262. — P. 144–152.
11. Lagerstrom M. C. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery / M. C. Lagerstrom, H. B. Schioth // *Natu Rev Drug Discov.* — 2008. — V. 7 — P. 339–357.
12. Huhtaniemi I. T. Mutations in human gonadotropin and gonadotropin-receptor genes / I.T. Huhtaniemi, A.P. Themmen // *Endocrine* — 2005. — V. 26 — P. 207–217.
13. George J. W. Current Concepts of Follicle-Stimulating Hormone Receptor Gene Regulation / J. W. George, E. A. Dille, L. L. Heckert // *Biology of Reproduction.* — 2011. — V. 84 (1). — P. 7–17.
14. Julie A. W. Differential Regulation of Human and Mouse Myometrial Contractile Activity by FSH as a Function of FSH Receptor Density // A.W. Julie, S.R. Guan, D. A. Santillan, B. F. Mitchell / *Biology of Reproduction.* — 2016. — V. 95. — C.1–10.
15. Fields M. J. Extragonadal Luteinizing Hormone Receptors in the Reproductive Tract of Domestic Animals / M. J. Fields, M. Shemesh // *Biology of Reproduction.* — 2004. — V.71. — P. 1412–1418.
16. Mishra S. A novel role of luteinizing hormone in the embryo development in cocultures / S. Mishra, Z.M. Lei, Ch.V. Rao // *Biol Reprod.* — 2003. — V.68. — P.1455–1462.
17. Gawronska B. Effect of estradiol and progesterone on oviductal LH-receptors and LH-dependent relaxation of the porcine oviduct / B. Gawronska, A. Stepien, A. J. Ziecik / *Theriogenology.* — 2000. — V 53. — P.659–672.

18. Gawronska B. Role of luteinizing hormone in control of oviduct function / B. Gawronska, A. Stepien, A.J. Ziecik // *Reprod Domest Anim.* — 2000. — V. 35. — P. 129–133.
19. Zheng M. Expression and localization of luteinizing hormone receptor in the female mouse reproductive tract / M. Zheng, H. Shi, D.L. Segaloff, B.J. Van Voorhis // *Biol Reprod.* — 2001. — V.64. — P.179–187.
20. Breen S. M. Ovulation involves the luteinizing hormone-dependent activation of G(q/11) in granulosa cells / S. M. Breen, N. Andric, T. Ping, F. Xie, S. Offermans, et al // *Mol. Endocrinol.* — 2013. — V.27. — P.1483–1491.
21. Ziecik A. J. Nongonadal LH receptors, their involvement in female reproductive function and a new applicable approach / A.J. Ziecik, G. Bodek, A. Blitek, M. Kaczmarek, A. Waclawik // *The Veterinary Journal.* — 2005. — V. 169. — P. 75–84.
22. Gawronska B. Estrogen-dependent expression of LH/hCG receptors in pig fallopian tube and their role in relaxation of the oviduct / B. Gawronska, T. Pauku, I. Huhtaniemi, G. Wasowicz, A.J. Ziecik // *J Reprod Fertil.* — 1999. — V.115. — P. 293–301.
23. Nancarrow C. D. Oviduct proteins in fertilization and early embryo development. / C.D. Nancarrow, J.L. Hill // *J Reprod Fertil Suppl.* — 1995. — V.49. — P.3–13.
24. Stepien A. LH/hCG receptors in the porcine uterus a new evidence of their presence in the cervix and myometrium / A. Stepien, K. Derecka, B. Gawronska, G. Bodek, L. Zwierzchowski et al // *J Physiol Pharmacol.* — 2000. — V. 51. — P. 917–931.
25. Behrman H. R. Prostaglandins in hypothalamo-pituitary and ovarian function // *Annu Rev Physiol.* — 1979. — V. 41. — P. 685–700.
26. Weems Y. S. Effect of luteinizing hormone (LH), pregnancy specific protein B (PSPB), or arachidonic acid (AA) on ovine endometrium of the estrous cycle or placental secretion of prostaglandins E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) and F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) and



- progesterone in vitro / Y.S. Weems, L. Kim, V. Humphreys, V. Tsuda, C.W. Weems // Prostaglandins. — 2003. — V. 71. — P. 55–73.
27. Shemesh M. Functional importance of bovine myometrial and vascular LH receptors and cervical FSH receptors / M. Shemesh, D. Mizrahi, M. Gurevich, Y. Stram, L.S. Shore et al // Semin Reprod Med. — 2001. — V. 19. — P. 87–96.
  28. Tal R. B. Gene expression for LH receptor, 17 alpha-hydroxylase and StAR in the theca interna of preantral and early antral follicles in the bovine ovary / B. TalR, Z. Roth // Reproduction. — 2005. — V. 129. — P. 453–461.
  29. Thompson J. G. The Ovarian Antral Follicle: Living on the Edge of Hypoxia or Not? / G.J. Thompson, H.M. Brown, K.L. Kind, D.L. Russell // Biology of Reproduction. — 2015. — V. 92. — P. 6153.
  30. Michael K. Skinner Regulation of primordial follicle assembly and development // Human Reproduction. — 2005. — V. 11(5). — P. 461–471.
  31. Calado A. M. Ultrastructural and cytochemical characterization of follicular cell types in bovine (*Bos taurus*) cumulus–oocyte complexes aspirated from small and medium antral follicles during the estrus cycle / A.M. Calado, E. Oliveira, A. Colaço, M. Sousa // Animal Reproduction Science. — 2011. — V. 123. — P. 23–31.
  32. Webb R. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle / R. Webb, B. Nicholas, J.G. Gong, B.K. Campbell, C.G. Gutierrez, et al // Reproduction. — 2003. — V. 61. — P. 71–90.
  33. Hunter M. G. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species / M.G. Hunter, R.S. Robinson, G.E. Mann R. Webb // Anim. Reprod. Sci. — 2004. — V. 82–83. — P. 461–477.
  34. Austin E. J. Alterations in Intrafollicular Regulatory Factors and Apoptosis During Selection of Follicles in the First Follicular Wave of the Bovine Estrous Cycle / E. J. Austin, M. Mihm, A.C.O. Evansb, P. G. Knightc, J.L.H. Irelandd. et al // Biology of Reproduction. — 2001. — V. 64. — P. 839–848.

35. Sunderland S. J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers / S. J. Sunderland, M. A. Crowe, M. P. Boland, J. F. Roche, J. J. Ireland // *J Reprod Fertil.* — 1994. — V.101 — P.547–555.
36. Wua J. Luteinizing Hormone Has a Stage-Limited Effect on Preantral Follicle Development In Vitro / Ji Wua, P. L. Nayudu, P. S. Kiesela, i H. W. Michelmannb // *Biol Reprod.* — 2000. — V. 63. — P. 320–327.
37. Beg M. A. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance / M. A. Beg, D. R. Bergfelt, K. Kot, O. J. Ginther // *Biol. Reprod.* — 2002. — V.66 — P.120–126.
38. Fulop C. Impaired cumulus mucification and female sterility in tumor necrosis factor-induced protein-6 deficient mice / C. Fulop, S. Szanto, D. Mukhopadhyay, T. Bardos, R.V. Kamath at all // *Development.* — 2003. — V. 130. — P. 2253–2261.
39. Vanderhyden B. C. Evaluation of members of the TGFbeta superfamily as candidates for the oocyte factors that control mouse cumulus expansion and steroidogenesis / B. C. Vanderhyden, E. A. Macdonald, E. Nagyova, A. Dhawan // *Reprod Suppl.* — 2003. — V. 61. — P.55–70.
40. Varani S. Knockout of pentraxin 3, a downstream target of growth differentiation factor-9, causes female subfertility / S. Varani, J.A. Elvin, C. Yan, J. DeMayo, F.J DeMayo // *Mol Endocrinol* — 2002. — V. 16. — P.1154–1167.
41. Ginther O. J. Selection of the dominant follicle in cattle / O. J. Ginther, M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, K. Kot // *Biol Reprod.* — 1996. — V.55. — P.1187–1194.
42. Carrière P. D. The role of pregnenolone-metabolizing enzymes in the regulation of oestradiol biosynthesis during development of the first wave dominant follicle in the cow / P. D. Carrière, D. Harvey, G. M. Cooke // *J. Endocrinol.* — 1996. — V.149. — P.233–242.

43. Xu Z. Z. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave / Z. Z. Xu, H. A. Garverick, G.W. Smith, M. F. Smith, S. A. Hamilton et al // *Biol. Reprod.* — 1995. — V.53. — P.951–957.
44. Mihm M. Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations alters key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers / M. Mihm, T. E. M. Good, J. L. H. Ireland, J. J. Ireland, P. G. Knight, J. F. Roche // *Biol. Reprod.* — 1997. — V.57 — P.1328–1337.
45. Irving-Rodgers H. F. Composition and morphology of the follicular basal lamina during atresia of bovine antral follicles / H. F. Irving-Rodgers, M. L. Mussard, J. E. Kinder and R. J. Rodgers // *Reproduction.* — 2002. — V. 123. — P. 97–106.
46. Jolly P. D. Morphological evidence of apoptosis and the prevalence of apoptotic versus mitotic cells in the membrana granulosa of ovarian follicles during spontaneous and induced atresia in ewes / P. D. Jolly, P. R. Smith, D. A. Heath, N. L. Hudson, S. Lun, et al // *Biol. Reprod.* — 1997. — V.56. — P.837–846.
47. Simpson E. R. Aromatization of androgens in women: current concepts and findings // *Fertil. Steril.* — 2002. — V. 77. — P.6–10.
48. Wang H. Effect of adrenal and ovarian androgens on type 4 follicles unresponsive to FSH in immature mice / H. Wang, K. Andoh, H. Hagiwara, L. Xiaowei, N. Kikuchi // *Endocrinology.* — 2001. — V. 142. — P. 4930–4936.
49. Hamel M. Androstenedione increases cytochrome P450 aromatase messenger ribonucleic acid transcripts in nonluteinizing bovine granulosa cells / M. Hamel, J. Vanselow, E. S. Nicola, C. A. Price // *Mol Reprod Dev.* — 2005. — V.70. — P. 175–183.
50. Hickey T. E. Androgens augment the mitogenic effects of oocyte-secreted factors and growth differentiation factor 9 on porcine granulosa cells / T. E.

- Hickey, D. L. Marrocco, F. Amato, L. J. Ritter et al // *Biol Reprod.* — 2005. — V. 73. — P. 825–832.
51. Gill A. Androgens promote maturation and signaling in mouse oocytes independent of transcription: a release of inhibition model for mammalian oocyte meiosis. / A. Gill, M. Jamnongjit, S.R. Hammes // *Mol Endocrinol.* — 2004. — V. 18. — P. 97–104.
52. Hampton J. H. Androgen receptor mRNA expression in the bovine ovary / J.H. Hampton, M. Manikkam, D.B. Lubahn, M.F. Smith, H.A. Garverick // *Domest Anim Endocrinol.* — 2004. — V. 27. — P. 81–88.
53. Juengel J. L. Oestrogen receptor alpha and beta, androgen receptor and progesterone receptor mRNA and protein localisation within the developing ovary and in small growing follicles of sheep / J. L. Juengel, D. A. Heath, L. D. Quirke, K. P. McNatty // *Reproduction.* — 2006. — V. 131. — P. 81–92.
54. Walters K. A. Androgen Actions and the Ovary / K. A. Walters, C. M. Allan, D. J. Handelsman // *Biology of Reproduction.* — 2008. — V. 78. — P. 380–389.
55. Markstrom E. Survival factors regulating ovarian apoptosis—dependence on follicle differentiation / E. Markstrom, E. C. Svensson, R. Shao, B. Svanberg, H. Billig // *Reproduction.* — 2002. — V. 23. — P. 23–30.
56. Cheng G. A role for the androgen receptor in follicular atresia of estrogen receptor beta knockout mouse ovary / G. Cheng, Z. Weihua, S. Makinen, S. Makela // *Biol Reprod.* — 2002. — V. 66. — P. 77–84.
57. 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, S. Wyler, D. Mecham // *Biology of Reproduction.* — 2008. — V. 78. — P. 173.
58. Orihuela P. A. Estradiol and progesterone change the protein synthesis pattern in the oviduct of pregnant but not cyclic rats / P. A. Orihuela, H. B. Croxatto // *Biol. Reprod.* — 1998. — V. 58. — P. 88.

59. Orihuelaa P. A. Disparate Effects of Estradiol on Egg Transport and Oviductal Protein Synthesis in Mated and Cyclic Rats / P. A. Orihuelaa, M. Ríos, H. B. Croxatto // *Biology of Reproduction*. — 2001. — V.65. — P.1232–1237.
60. Boice M. L. Identification and characterization of bovine oviductal glycoproteins synthesized at estrus / M. L. Boice, R. D. Geisert, R. M. Blair // *Biol Reprod*. — 1990. — V. 43. — P. 457–465.
61. Goff A. K. Steroid Hormone Modulation of Prostaglandin Secretion in the Ruminant Endometrium During the Estrous Cycle // *Biology of Reproduction*. — 2004. — V.71. — P. 11–16.
62. Mann G. E. Hormone control of prostaglandin F(2 alpha) production and oxytocin receptor concentrations in bovine endometrium in explant culture // *Domest Anim Endocrinol*. — 2001. — V. 20. — P.217–226.
63. Bazer F. W. The ovine oxytocin receptor promoter/enhancer region is responsive to estrogen receptor alpha / F. W. Bazer, J. A. Fleming, S. Safe, T. E. Spencer // *Biol Reprod*. — 2003. — V. 68. — P. 147.
64. Peluso J. J. Multiplicity of Progesterone's Actions and Receptors in the Mammalian Ovary // *Biology of Reproduction*. — 2006. — V. 75. — P. 12–8.
65. Kurita T. Paracrine regulation of apoptosis by steroid hormones in the male and female reproductive system / T. Kurita, Y. Z. Wang, A. A. Donjacour, C. Zhao, J. P. Lydon et al // *Cell Death Differ*. — 2001. — V. 8. — P.192–20.
66. Spencer T. E. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals / T. E. Spencer, G. A. Johnson, R. C. Burghardt, F. W. Bazer // *Biol Reprod*. — 2004. — V. 71. — P. 2–10.
67. O'Malley B. W. A life-long search for the molecular pathways of steroid hormone action // *Mol Endocrinol*. — 2005. — V.19. — P. 1402–1411.
68. Shao R. Expression of progesterone receptor (PR) A and B isoforms in mouse granulosa cells: stage-dependent PR-mediated regulation of apoptosis and cell proliferation / R. Shao, E. Markstrom, P. A. Friberg, M. Johansson, H. Billig // *Biol Reprod*. — 2003. — V. 68. — P.914–921.

69. Richards J. S. Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation, and luteinization / J. S. Richards, D. L. Russell, S. Ochsner, M. Hsieh, K. H. Doyle // *Recent Prog Horm Res.* — 2002. — V. 57. — P. 195–220.
70. Richards J. S. Ovulation: new dimensions and new regulators of the inflammatory-like response / J. S. Richards, D. L. Russell, S. Ochsner, L. L. Espey // *Annu Rev Physiol.* — 2002. — V. 64. — P. 69–92.
71. Moons D. S. Pituitary hypoplasia and lactotroph dysfunction in mice deficient for cyclin-dependent kinase-4 / D. S. Moons, S. Jirawatnotai, A. F. Parlow, G. Gibori, R. D. Kineman at all // *Endocrinology.* — 2002.—V. 143 — P. 3001–3008.
72. Moons D. S. Intact follicular maturation and defective luteal function in mice deficient for cyclin-dependent kinase-4 / D. S. Moons, S. Jirawatnotai, T. Tsutsui, R. Franks, A. F. Parlow at all // *Endocrinology.* — 2002. — V. 143. — P. 647–654.
73. Stouffer R. L. Progesterone as a mediator of gonadotrophin action in the corpus luteum: beyond steroidogenesis // *Hum Reprod Update.* — 2003. — 9. — P. 99–117.
74. Goyeneche A. A. Progesterone promotes survival of the rat corpus luteum in the absence of cognate receptors / A. A. Goyeneche, R. P. Deis, G. Gibori, C. M. Telleria // *Biol Reprod.* — 2003. — V. 68. — P.151–158.
75. Okuda K. Progesterone is a suppressor of apoptosis in bovine luteal cells / K. Okuda, A. Korzekwa, M. Shibaya, S. Murakami, R. Nishimura at all // *Biol Reprod.* — 2004. — V.71. — P. 2065–2071.
76. Bramley T. Non-genomic progesterone receptors in the mammalian ovary: some unresolved issues // *Reproduction.* — 2003. — V.125. — P. 3–15.
77. Peluso J. J. Membrane-initiated events account for progesterone's ability to regulate intracellular free calcium and inhibit rat granulosa cell mitosis /

- J. J. Peluso, G. Fernandez, A. Pappalardo, B. White // *Biol Reprod.* — 2002. — V.67. — P.379–385.
78. Peluso J. J. Characterization of a putative membrane receptor for progesterone in rat granulosa cells / J. J. Peluso, G. Fernandez, A. Pappalardo, B. A. White // *Biol Reprod.* — 2001. — V.65. — P.94–101.
79. Morrill G. A. The steroid-binding subunit of the Na/K-ATPase as a progesterone receptor on the amphibian oocyte plasma membrane / G. A. Morrill, J. Erlichman, R. Gutierrez-Juarez, A.B. Kostellow // *Steroids.* — 2005. — V.70. — P.933–945.
80. Losel R. Porcine spermatozoa contain more than one membrane progesterone receptor / R. Losel, A. Dorn-Beineke, E. Falkenstein, M. Wehling, M. Feuring // *Int J Biochem Cell Biol.* — 2004. — V. 36. — P. 1532–1541.
81. Jiang H. Large-scale generation and analysis of expressed sequence tags from porcine ovary / H. Jiang, K. M. Whitworth, N. J. Bivens, J. E. Ries, R. J. Woods et al // *Biol. Reprod.* — 2004. — V. 71. — P. 1991–2002.
82. Sasson R. Gonadotrophin-induced gene regulation in human granulosa cells obtained from IVF patients: modulation of steroidogenic genes, cytoskeletal genes and genes coding for apoptotic signalling and protein kinases / R. Sasson, E. Rimon, A. Dantes, T. Cohen, V. Shinder, A. Land-Bracha, A. Amsterdam // *Mol Hum Reprod.* — 2004. — 10. — P.299–311.
83. Peluso J. J. Progesterone regulates granulosa cell viability through a protein kinase G-dependent mechanism that may involve 14-3-3sigma / J. J. Peluso, A. Pappalardo // *Biol Reprod.* — 2004. — V.71. — P.1870–1878.
84. Bramley T. Non-genomic progesterone receptors in the mammalian ovary: some unresolved issues // *Reproduction.* — 2003. — V.125. — P.3–15.
85. Peluso J. J. Involvement of an unnamed protein, RDA288, in the mechanism through which progesterone mediates its antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells / J. J. Peluso, A. Pappalardo, G. Fernandez, C.A. Wu // *Endocrinology.* — 2004. — V.145. — P. 3014–3022.

86. O'Malley B.W. A life-long search for the molecular pathways of steroid hormone action // *Mol. Endocrinol.* — 2005. — V.19. — P. 1402–1411.
87. Boonyaratanakornkit V. Receptor mechanisms of rapid extranuclear signalling initiated by steroid hormones / V. Boonyaratanakornkit, D. P. Edwards // *Essays Biochem.* — 2004. — V.40. — P.105–120.
88. Shupnik M. A. Crosstalk between steroid receptors and the c-Src-receptor tyrosine kinase pathways: implications for cell proliferation // *Oncogene.* — 2004. — V.23. — P.7979–7989.
89. Cai Z. Expression and regulation of progesterin membrane receptors in the rat corpus luteum / Z. Cai, C. Stocco // *Endocrinology.* — 2005. — V.146. — P. 5522–5532.
90. Amsterdam A. Steroidogenesis and apoptosis in the mammalian ovary / A. Amsterdam, I. Keren-Tal, D. Aharoni, A. Dantes, A. Land-Bracha et al // *Steroids.* — 2003. — V.68. — P.861–867.
91. Peluso J. J. Expression and function of PAIRBP1 within gonadotropin-primed immature rat ovaries: PAIRBP1 regulation of granulosa and luteal cell viability / J. J. Peluso, A. Pappalardo, R. Losel, M. Wehling // *Biol. Reprod.* — 2005. — V.73. — P. 261–270.
92. Malhi P. S. Bovine Model for the Study of Reproductive Aging in Women: Follicular, Luteal, and Endocrine Characteristics / P.S. Malhi, G. P. Adams, J. Singh // *Biol. Reprod.* — 2005. — V. 73. — P.45–53.
93. Sartori R. Comparison of Ovarian Function and Circulating Steroids in Estrous Cycles of Holstein Heifers and Lactating Cows / R. Sartori, J. M. Haughian, R. D. Shaver, G. J. M. Rosa, M. C. Wiltbank // *J. Dairy Sci.* — 2004.—V. 87. — P.905–920.
94. Zachut M. Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows / M. Zachut, A. Arieli, H. Lehrer, N. Argov, U. Moallem // *Reproduction.* — 2008. — V. 135. — P. 683–692.



95. Waleed F. A. Alpha-linolenic acid protects the developmental capacity of bovine cumulus–oocyte complexes matured under lipotoxic conditions in vitro / F.A.Waleed, J. De Bie, O. Mohey-Elsaeed, E. Wydooghe, P. J. Bols // *Biology of Reproduction*. — 2017. — V. 96. — P.1181–1196.
96. Patel S. Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on the Ovary / S. Patel, C. Zhou, S. Rattan at all // *Biology of Reproduction*. — 2015. — V. 93 — P.1–9.
97. Sheldon I. M. Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle / I. M. Sheldon, J. Cronin, L. Goetze, G. Donofrio, H. J. Schuberth // *Biol. Reprod.* — 2009. — V. 81 (6). — P. 1025–1032.
98. Fraser H. M. Regulation and manipulation of angiogenesis in the primate corpus luteum / H. M. Fraser, S. F. Lunn // *Reproduction*. — 2001.—V. 121. — P. 355–362.
99. Robinson R.S. Angiogenesis and vascular function in the ovary / S. Robinson, K. J. Woad, A. J. Hammond, M. Laird, M. G. Hunter, G. E. Mann // *Reproduction*. — 2009. — V. 138. – P. 869–881.
100. [Choi](#) Y. The expression of CXCR4 is induced by the luteinizing hormone surge and mediated by progesterone receptors in human preovulatory granulosa cells / [Y. Choi](#), [J. Yeon](#), [P. Kalin](#), [W. Katherine](#), [L. Rosewell](#) // *Biology of Reproduction*. — 2017. — V. 96. — P. 1231–1243.
101. Abir R. Vascular endothelial growth factor A and its two receptors in human preantral follicles from fetuses, girls, and women / R. Abir , A. Ao, X.Y. Zhang , R. Garor , S. Nitke , B. Fisch // *Fertil Steril*. — 2010. — V. 93. — P. 2337–2347.
102. Bott R. C. KDR-LacZ-expressing cells are involved in ovarian and testis-specific vascular development, suggesting a role for VEGFA in the regulation of this vasculature / R. C. Bott, D. T. Clopton , A. M. Fuller , R. M. McFee , N. Lu at all // *Cell Tissue Res*. — 2010. — V. 342. — P. 117–130.

103. Stouffer R. L. Molecular control of ovulation and luteinization in the primate follicle / R. L. Stouffer, F. Xu, D. M. Duffy // *Front Biosci.* — 2007. — V.1. — P. 297–307.
104. Setarehbadi R. Adenosine deaminase activity during menses, follicular and luteal phases of the menstrual cycle / R. Setarehbadi, S. M. Hosseinipana, A. Vatannejad, M. Karimi, A. Vaisi-raygani et al // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* — 2011. — V. 155. — P.233–234.
105. Berisha B. Expression and localisation of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during the final growth of bovine ovarian follicles. / B. Berisha, D. Schams, M. Kosmann, W. Amselgruber // *J Endocrinol.* — 2000. — V.167. — P.371–382.
106. Soares S. R. Targeting the vascular endothelial growth factor system to prevent ovarian hyperstimulation syndrome / S. R. Soares, R. Gómez, C. Simón, J. A. García-Velasco, A. Pellicer // *Human Reproduction.* — 2008. — V.14(4). — P.321–333.
107. Jiang J. Y. Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles / J. Y. Jiang, G. Macchiarelli, B. K. Tsang, E. Sato // *Reproduction.* — 2003. — V.125. — P. 211–223.
108. Acosta T. J. Ginther 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 // *Biol. Reprod.* — 2004. — V. 71. — P. 502–507.
109. Thompson J. G. The Ovarian Antral Follicle: Living on the Edge of Hypoxia or Not? / J. G. Thompson, H. M. Brown, K. L. Kind, D. L. Russell // *Biology of Reproduction.* — 2015. — V. 92. — P. 53–61.
110. Brown H. M. Hemoglobin: a Gas Transport Molecule That Is Hormonally Regulated in the Ovarian Follicle in Mice and Humans / H. M. Brown, M. R. Anastasi, L. A. Frank, K. L. Kind et al // *Biology of Reproduction.* — 2015. — V. 92 — P.1–10 .

111. Baker M. E. Albumin, steroid hormones and the origin of vertebrates // *J Endocrinol.* — 2002. — V. 175. — P. 121 – 127.
112. Wise T. Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total protein, lysosomal enzymes, ions, steroids and ascorbic acid content in relation to follicular size, rank, atresia classification and day of estrous cycle // *J. Anim. Sci.* — 1987. — V. 64. — P. 1153–1169.
113. Hammond G. L. Access of reproductive steroids to target tissues // *Obstet Gynecol Clin North Am.* — 2002. — V.29. — P. 411–423.
114. Avvakumov G.V. Steroid-binding specificity of human sex hormone-binding globulin is influenced by occupancy of a zinc-binding site / G.V. Avvakumov, Y. A. Muller, G. L. Hammond // *J Biol Chem.* — 2000. — V. 275. — P. 25920–25925.
115. Hammond G. L. Diverse Roles for Sex Hormone-Binding Globulin in Reproduction // *Biol Reprod.* — 2011. — V.85. — P.431–441.
116. Hryb D. J. Sex hormone-binding globulin in the human prostate is locally synthesized and may act as an autocrine/paracrine effector / D. J. Hryb, A. M. Nakhla, S. M. Kahn, J. St George, N.C. Levy, et al // *J. Biol. Chem.* — 2002. — V. 277. — P. 26618–26622.
117. Pinos T. Identification, characterization and expression of novel sex hormone binding globulin alternative first exons in the human prostate / T. Pinos, A. Barbosa-Desongles, A. Hurtado, A. Santamaria-Martinez et al // *BMC Mol. Biol.* — 2009. — V.10. — P. 59.
118. Ng K. M. Evidence that fibulin family members contribute to the steroid-dependent extravascular sequestration of sex hormone-binding globulin / K. M. Ng, M. G. Catalano, T. Pinos, D. M. Selva, G. V. Avvakumov, F. Munell // *J. Biol. Chem.* — 2006. — V. 281. — P. 15853–15861.
119. Sharpe-Timms K. L. Differential expression and localization of de-novo synthesized endometriotic haptoglobin in endometrium and endometriotic

- lesions / K. L. Sharpe-Timms, E. A. Ricke, M. Piva // *Hum. Reprod.* — 2000. — V.15. — P. 2180–2185.
120. Berkova N. Haptoglobin is present in human endometrium and shows elevated levels in the decidua during pregnancy / N. Berkova, A. Lemay, D.W. Dresser, J.Y. Fontaine, J. Kerizit // *Molecular Human Reproduction.* — 2001. — V. 7. — P. 747–754.
121. Fayad T. Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 8 (LRP8) Is Upregulated in Granulosa Cells of Bovine Dominant Follicle: Molecular Characterization and Spatio-Temporal Expression Studies / T. Fayad, R. Lefebvre, J. Nimpf, D. W. Silversides, J. G. Lussier // *Biol. Reprod.* — 2007. — V.76. — P. 466–475.
122. Argov N. Lipid transport in the developing bovine follicle: messenger RNA expression increases for selective uptake receptors and decreases for endocytosis receptors / N. Argov, U. Moallem, D. Sklan // *Biol. Reprod.* — 2004. — V.71. — P. 479–485.
123. Zerbinattie C.V. Apolipoprotein A is a putative autocrine regulator of the rat ovarian theca cell compartment / C.V. Zerbinattie, L. P. Mayer, R. G. Audet, C. A. Dryer // *Biol Reprod.* — 2001. — V 64. — P.1080–1089.
124. Zerbinatti C. V. Apolipoprotein E peptide stimulation of rat ovarian theca cell androgen synthesis is mediated by members of the low density lipoprotein receptor superfamily / C. V. Zerbinatti, C. A. Dyer // *Biol Reprod.* — 1999. — V.61. — P. 665–672.
125. Devoto L. Christenson LK, Strauss JF. Control of human luteal steroidogenesis / L. Devoto, P. Kohen, M. Vega, O. Castro, R. R. Gonzalez // *Mol Cell Endocrinol.* — 2002. — V. 186. — P.137–141.
126. Argov N. Expression of mRNA of lipoprotein receptor related protein 8, low density lipoprotein receptor, and very low density lipoprotein receptor in bovine ovarian cells during follicular development and corpus luteum

- formation and regression / Argov N. Sklan D // *Mol Reprod.* — 2004. — V. 68. — P.169–175.
127. Sharma R. Utility of serum ЛДГ isoforms in the assessment of mycobacterium tuberculosis induced pathology in tb patients of sahariya tribe/ R. Sharma, S. Jain, R. N. K. Bamezai, P. K. Tiwari // *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* — 2010. — V. 25 (1). — P. 57–63.
128. Yochim J. M. Lactic Dehydrogenase Activity in the Uterus of the Rat During the Estrous Cycle and Its Relation to Intrauterine Oxygen Tension / J. M. Yochim, S. W. Clark // *Biology of Reproduction.* — 1971 — V. 5. — P. 146–151.
129. Clark S. W. Lactic Dehydrogenase in the Rat Uterus During Progestation, Its Relation to Intrauterine Oxygen Tension and the Regulation of Glycolysis / S. W. Clark, J. M. Yochim // *Biology of Reproduction.* — 1971. — V.5.— P.152–160.
130. Palmieri L. Citrin and aralar1 are  $Ca^{2+}$ -stimulated aspartate/glutamate transporters in mitochondria / L. Palmieri, B. Pardo, F. M. Lasorsa, A. del Arco, et al. // *The EMBO J.* — 2001. — V. 20. — P. 5060–5069.
131. Papadimitriou J. M. The ultrastructural localization of the isozymes of aspartate aminotransferase in murine tissues / J. M. Papadimitriou, P. Van Duijn // *The Journal of cell biology.* — 1970. — V. 47. — P. 84–98.
132. Биохимия / Под ред. Е. С. Северина. — Москва: Мир. — 2003. — С. 119–124.
133. Leung F. Y. Isolation and purification of aspartate aminotransferase isoenzymes from human liver by chromatography and isoelectric focusing / F.Y. Leung, A. R. Henderson // *Clin. Chem.* — 1981. — V.27. — №2. — P. 232–235.
134. Mitchell M. Disruption of Mitochondrial Malate-Aspartate Shuttle Activity in Mouse Blastocysts Impairs Viability and Fetal Growth / M. Mitchell,

- K. S. Cashma // *Biology of Reproduction*. — 2009. — V. 80 (2). — P. 295–301.
135. Assisi L. Enhancement of aromatase activity by D-aspartic acid in the ovary of the lizard / L. Assisi, V. Botte, A. D’Aniello, M. M. Di Fiore // *Podarcis s. sicula Reproduction*. — 2001. — V. 121. — P. 803–808.
136. Subramani E. NMR-based metabonomics for understanding the influence of dormant female genital tuberculosis on metabolism of the human endometrium / E. Subramani, M. Jothiramajayam, M. Dutta, D. Chakravorty et al // *Hum. Reprod.* — 2016. — V. 31. — P. 854–865.
137. Lane M. Gardner Mitochondrial Malate-Aspartate Shuttle Regulates Mouse Embryo Nutrient Consumption / M. Lane, D. K. Gardner // *The Journal of Biological Chemistry*. — 2005. — V. 280. — P. 18361–18367.
138. Sliwa D. Inactivation of mitochondrial aspartate aminotransferase contributes to the respiratory deficit of yeast frataxin-deficient cells / D. Sliwa, J. Dairou, J.-M. Camadro, R. Santos // *Biochemical Journal*. — 2012. — V. 441. — P. 945–953.
139. Minárik P. Malate Dehydrogenases - Structure and Function Gen / P. Minárik, N. Tomáková, M. Kollárová, M. Antalík // *Physiol. Biophys.* — 2002. — V. 21. — P. 257–265.
140. Daniš P. Hormone-dependent and hormone-independent control of metabolic and developmental functions of malate / P. Daniš, R. Farkas // *Endocrine regulations*. — 2009. — V. 43. — P. 39–52.
141. MacKenzie J. A. Ribosomes Specifically Bind to Mammalian Mitochondria via Protease-sensitive Proteins on the Outer Membrane / J. A. MacKenzie, R. M. Payne // *The Journal of Biological Chemistry*. — 2004. — V. 279. — P. 9803–9810.
142. Al-Harbi M. S. Tissue-specific isoenzyme variations in Arabian camel, *Camelus dromedaries* // *Advances in Bioscience and Biotechnology*. — 2012. — V. 3. — P. 863–868.

143. Zhou S. L. Differential expression analysis of porcine MDH1, MDH2 and ME1 genes in adipose tissues / S. L. Zhou, M. Z. Li, Q. H. Li, J. Q. Guan, X.W. Li // *Genet. Mol. Res.* — 2012. — V. 1. — P. 1254–1259.
144. Grant P. M. Comparison of the precursor and mature forms of rat heart mitochondrial malate dehydrogenase / P. M. Grant, S. L. Roderick, G.A. Grant, L. J. Banaszak, A. W. Strauss // *Biochemistry.* — 1987. — V. 26 — P. 128–34.
145. Yoon S.-J. Role of cytosolic malate dehydrogenase in oocyte maturation and embryo development / S.-J. Yoon, D.-B. Koo, J. S. Park, K.-H. Choi, Y.-M. Han, K.-A. Lee // *Fertility and Sterility.* — 2006. — V. 86. — P. 1129–1136.
146. Sharma R. Differential Regulation of Malate Dehydrogenase Isoenzymes by Hydrocortisone in the Liver and Brain of Aging Rats / R. Sharma, S. K. Patnaik // *Embryologia.* — 2008. — V. 24. — P. 501–505.
147. Guimaraes A. Glutamine and ornithine alpha-ketoglutarate supplementation on malate dehydrogenases expression in hepatectomized rats / A. Guimaraes, R.M.S. da Cunha, P.R.L. de Vasconcelos, S. B. Guimaraes // *Acta Cirurgica Brasileira.* — 2014. — V. 29. — P. 366–371.
148. Shyamal K. Activities of Glucose Metabolic Enzymes in Human Preantral Follicles: In Vitro Modulation by Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, Epidermal Growth Factor, Insulin-Like Growth Factor I, and Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 / K. Shyamal, R. Dalores, M. Terada // *Biology of Reproduction.* — 1999. — V. 60. — P. 763–768.
149. Collado-Fernandez E. Metabolism throughout follicle and oocyte development in mammals / E. Collado-Fernandez, H. M. Picton, R. Dumollard // *Int. J. Dev. Biol.* — 2012. — V. 56 — P. 799–808.
150. Боднар Ю. В. Активність окисних процесів та утворення гормонів клітинами гранульози яєчників корів. — Автореф. дис. канд. с.-г.н. за спеціальністю 03.00.04. — біохімія. — Інститут біології тварин НААН, Львів, 2016. — 20 с.

151. Купчинська С. С. Вміст малонового діальдегіду в гонадах самок сільськогосподарських тварин під час фізіологічних змін у статевому апараті та при патології // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Ґжицького. — 2015. — №.17 (3). — С.71–75.
152. Celik E. A comparative study on oxidative and antioxidative markers of serum and follicular fluid in GnRH agonist and antagonist cycles / E. Celik, O. Celik, B. Kumbak, E. Yilmaz, I. Turkcuoglu // J Assist Reprod Genet. — 2012. — V.29(11). — P.1175–1183.
153. El-Shahat K. H. Antioxidant capacity of follicular fluid in relation to follicular size and stage of estrous cycle in buffaloes / K.H. El-Shahat, M. Kandil // Theriogenology. — 2012. — V.77. — P.1513–1518.
154. Lund S. A. Mitogenic and antioxidant mechanisms of estradiol action in preovulatory ovine follicles: relevance to luteal function / S.A. Lund, J. Murdoch, E. A. Van Kirk, W.J. Murdoch // Biol. Reprod. — 1999. — V.61. — P.388–92.
155. Lapointe J. Antioxidant Defenses Are Modulated in the Cow Oviduct During the Estrous Cycle / J. Lapointe, B. Jean-François // Biol. Reprod. — 2002. — V.68. — P. 1157–1164.
156. Смолянінов Б. В. Процеси перекисного окиснення ліпідів: біологічна та патогенетична роль у функціонуванні живого організму / Б.В. Смолянінов, С.С. Купчинська // Аграрний вісник причорномор'я. — Одеса, 2012. — Вип. 62. — С.142–147.
157. Devine P. J. Roles of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Ovarian Toxicity / P. J. Devine, S. D. Perreault, U. Luderer // Biology of Reproduction. — 2012. — V. 86. — P. 2–27.
158. Johnson F. Superoxide dismutases and their impact upon human health / F. Johnson, C. Giulivi // Mol Aspects Med. — 2005. — V.26. — P.340–352.



159. Nozik-Grayck E. Extracellular superoxide dismutase / E. Nozik-Grayck, H. B. Suliman, C. A. Piantadosi // *Int J Biochem Cell Biol.* — 2005. — V.37. — P. 2466–2471.
160. Weydert C. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue / C. J. Weydert, J. J. Cullen // *Nat Protoc.* — 2010. — V.5(1). — P. 51–66.
161. Okado-Matsumoto A. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria / A. Okado-Matsumoto, I. Fridovich // *J Biol Chem.* — 2001. — V. 27. — P. 38388–38393.
162. Sturtz L. A. A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage / L. A. Sturtz, K. Diekert, L.T. Jensen, R. Lill, V.C. Culotta // *J Biol Chem.* — 2001. — V. 276. — P. 38084–38089.
163. Wong H.W.G. Manganous superoxide dismutase is essential for cellular resistance to cytotoxicity of tumor necrosis factor / H.W.G Wong, J. H. Elwell, L. W. Oberley, D. V. Goeddel // *Cell.* — 1989. — V. 58. — P. 923–931.
164. Ough M. Inhibition of cell growth by overexpression of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in human pancreatic carcinoma // *Free Radic Res.* — 2004. — V. 38 — P. 1223–1233.
165. Sandstrom J. The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase C and formation of variants with reduced heparin affinity / J. Sandstrom, L. Carlsson, S.L. Marklund, T. Edlund // *J Biol Chem.* — 1992. — V. 267 — P. 18205–18209.
166. Basini G. Reactive oxygen species and anti-oxidant defences in swine follicular fluids / G. Basini, B. Simona, S.E. Santini, F. Grasselli // *Reproduction, Fertility, and Development.* — 2008. — V. 20 — P. 269–274.
167. Sabatini L. Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization

- / L. Sabatini, C. Wilson, A. Lower, T. Al-Shawaf, J. G. Grudzinskas // *Fertility and Sterility*. — 1999. — V. 72 — P. 1027–1034.
168. Combelles C. M. Profiling of superoxide dismutase isoenzymes in compartments of the developing bovine antral follicles / C. M. Combelles, E. A. Holick, L. J. Paolella, D. C. Walker, Q. Wu // *Reproduction*. — 2010. — V. 139. — P. 871–881.
169. Matzuk M. M. Ovarian function in superoxide dismutase 1 and 2 knockout mice / M. M. Matzuk, L. Dionne, Q. Guo, T. R. Kumar, R. M. Lebovitz // *Endocrinology*. — 1998. — V. 139. — P. 4008–4011.
170. Combelles C. Spatial and temporal expression of the three isoforms of the antioxidant superoxide dismutase during bovine folliculogenesis and oogenesis / C. Combelles, S. Czerniak, R. Schiffer, D. Walker, J. Williams // *Biology of Reproduction*. — 2007. — V. 77. — P. 91–92.
171. Tatone C. Cellular and molecular aspects of ovarian follicle ageing / C. Tatone, F. Amicarelli, M. C. Carbone, P. Monteleone, D. Caserta // *Hum Reprod*. — 2008. — V. 14 — P. 131–142.
172. Sugino N. Hormonal Regulation of Copper-Zinc Superoxide Dismutase and Manganese Superoxide Dismutase Messenger Ribonucleic Acid in the Rat Corpus Luteum: Induction by Prolactin and Placental Lactogens / N. Sugino, M. Hirosawa-Takamori, L. Zhong, C. M. Telleria et al // *Reproduction*. — 1998. — V. 59 (3). — P. 599–605.
173. Шостя А. М. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у свиней. – Автореф. дис. д. с.-г н. за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин. – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького — Львів, 2015. — 47 с.
174. Covarrubias L. Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active? / L. Covarrubias, D. Hernandez-Garcia, D. Schnabel, E. Salas-Vidal, S. Castro-Obregon // *Developmental Biology*. — 2008. — V. 320 — P. 1–11.

175. Mills G. C. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme that protects hemoglobin from oxidative damage // *J. Biol. Chem.* — 1957. — V.229. — P. 189–197.
176. Imai H. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells / H. Imai, Y. Nakagawa // *Free. Radic. Biol. Med.* — 2003. — V.34. — P. 145–169.
177. Wu Q. Q. Combelles Characterization of the Catalase and Glutathione Peroxidase-1 Antioxidant System During Bovine Folliculogenesis / QiaQia Wu, C. Lam, D. Poljak, G. M. Van Deventer, C. P. Bradley at all // *Biol. Reprod.* — 2009. — V.81. — P. 581.
178. Paszkowski T. Selenium dependent glutathione peroxidase activity in human follicular fluid / T. Paszkowski, A.I. Traub, S.Y. Robinson, D. McMaster // *Clin Chim Acta.* — 1995. — V. 236. — P. 173–180.
179. Nicholls P. Enzymology and structure of catalases / P. Nicholls, I. Fita, P. C. Loewen // *Advances in inorganic chemistry.* — 2000.— V. 51. — P. 51–106.
180. Freitas M. O. PEX5 Protein Binds Monomeric Catalase Blocking Its Tetramerization and Releases It upon Binding the N-terminal Domain of PEX14 / M. O. Freitas, T. Francisco, T. A. Rodrigues, I. S. Alencastre, M. P. Pinto at all // *The Journal of Biological Chemistry.* — 2011. — V.286. — P. 40509-40519.
181. Nishikawa M. Inhibition of experimental pulmonary metastasis by controlling biodistribution of catalase in mice / M. Nishikawa, A. Tamada, H. Kumai, F. Yamashita, M. Hashida // *Int. J. Cancer.* — 2002. — V. 99. — P. 474–479.
182. Nelson K. K. Elevated Sod2 activity augments matrix metalloproteinase expression: evidence for the involvement of endogenous hydrogen peroxide in regulating metastasis // *Clin. Cancer Res.* — 2003. — V.9. — P. 424–432.

183. Peterson S. L. Changes in catalase activity and concentration during ovarian development and differentiation / S. L. Peterson, P. M. Stevenson // *Biochim Biophys Acta*. — 1992. — V.1135. — P.207–214.
184. Behl R. FSH induced stimulation of catalase activity in goat granulosa cells in vitro / R. Behl, R. S. Pandey // *Anim Reprod Sci*. — 2002. — V.70.— P.215–221.
185. Gupta S. Fluctuations in total antioxidant capacity, catalase activity, and hydrogen peroxide levels of follicular fluid during bovine folliculogenesis / S. Gupta, A. Choi, H. Y. Yu, S. M. Czerniak, E. A. Holick at all. // *Reprod. Fertil. Dev*. — 2011. — V. 23(5) — P. 673–680.
186. Giergiel M. Age-related Changes in Activity of Catalase in Selected Bovine Muscles / M. Giergiel, M. Jamiol, J. Wawrzykowski, M. Kankofer // *Acta Scientiae Veterinariae*. — 2015. — V. 43— P. 1285.
187. Carbone M. C. Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: characterization and age-dependent changes / M. C. Carbone, C. Tatone, M. S. Delle, R. Marci, D. Caserta // *Mol. Hum. Reprod*. — 2003 — V. 9. — P. 639–643.
188. Lapointe S. Binding of a Bovine Oviductal Fluid Catalase to Mammalian Spermatozoa / S. Lapointe, R. Sullivan, M.-A. Sirard // *Biol. Reprod*. — 1998. — V. 58. — P. 747–753.
189. Bausenwein J. Elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and of catalase activity in follicular fluid of obese women Mol / J. Bausenwein, H. Serke, K. Eberle, J. Hirrlinger, P. Jogschies // *Hum. Reprod*. — 2010. — V.16 (2) — P. 117–124.
190. Гузєватий О. Є. Оцінка функціонального стану ооцит-кумулюсних комплексів корів залежно від типу яєчника / О. Є. Гузєватий, В. В. Ясінський, Л. В. Смулка та ін. // *Вісник аграрної науки*. — 1995. — № 11. — С. 94–98.

191. Calado A. M. Ultrastructural and cytochemical characterization of follicular cell types in bovine (*Bos taurus*) cumulus–oocyte complexes aspirated from small and medium antral follicles during the estrus cycle / A. M. Calado, E. Oliveira, A. Colaço, M. Sousa // *An. Reprod. Sci.* — 2011. — V. 123. — P. 23–31.
192. 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. — P. 264–275.
193. Практическое руководство по энзимологии. — М.: Высшая школа, 1980. — С. 380.
194. Reitmann S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases / S. Reitmann, S. Frankel // *Amer. J. Clin. Path.* — 1957. — V. 28, No. 1. — P. 56–63.
195. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич, та ін.; за ред. В. В. Влізло — Львів: Сполом, 2012. — 764 с.
196. Чевари С. Н. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Н. Чевари, Т. А. Андян, Я. И. Штрэнгер // *Лаб. дело.* — 1991. — № 10. — С. 9–13.
197. Моин В. М. Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // *Лаб. дело.* — 1986. — №12. — С. 724–727.
198. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* — 1991. — №12. — С. 16–19.
199. Garbus J. Serum malate dehydrogenase isoenzymes as indicators of severe cellular injury / J. Garbus // *Clin. Chim. Acta.* — 1971. — V. 35. — P. 502–504.

200. Гааль Э. Электрофорез в разделении биологических макромолекул / Э. Гааль, Г. Медьеша, Л. Верецки. — М: Мир, 1982. — 446 с.
201. Alfano J. Isolation and characterization of a gene coding for a novel aspartate aminotransferase from rhizobium meliloti / J. Alfano, M. Kahn // *Journal of Bacteriology*. — 1993. — V. 175. — P. 4186–4196.
202. Beauchamp C. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels / C. Beauchamp, I. Fridovich // *Anal. Biochem.* — 1971. — V. 44. — P. 276–287.
203. Lin C. L. Activity staining of glutathione peroxidase after electrophoresis on native and sodium dodecylsulfate polyacrylamide gels / C. L. Lin, H. J. Chen, W. C. Hou // *Electrophoresis*. — 2002. — V. 23. — P. 513–516.
204. Weydert C. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue / C. J. Weydert, J. J. Cullen // *Nat. Protoc.* — 2010. — V. 5, №1. — P. 51–66.
205. Wodbury W. An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isozymes / W. Wodbury, A. K. Spencer, M. A. Stahmann // *Analyt. Biochem.* 1971. — V. 44, №. 1. — P. 301–305.
206. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: МГУ. — 1970. — С. 53–60.
207. Акимович М. М. Мікроструктура матки та інтенсивність споживання кисню мітохондріями ендометрію корів / М. Акимович, Д. Остапів, Ю. Мартин, Р. Сачко, О. Грабовська, А. Пилипець // *Біологія тварин*. — 2010. — Т. 12. — № 1. — С. 284–289.
208. Мартин Ю. В. Гістоморфологічні особливості та вміст класів ліпідів у яєчниках корів різного фізіологічного стану / Ю. В. Мартин, А. З. Пилипець, Р. Г. Сачко, І. М. Яремчук, М. М. Акимович, Н. В. Кузьміна // *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Збірник наукових праць*. Харків, 2011. — Вип. 23 (Ч. 2) Т. № 1. — С. 57–61.

209. Мартин Ю. В. Мікроструктура яєчників великої рогатої худоби залежно від віку / Ю. В. Мартин, Д. Д. Остапів, Р. Г. Сачко, А. З. Пилипець, М. М. Акимішин // Біологія тварин. — 2012. — Том 14. № 1-2. — С. 530–534.
210. Акимішин М. М. Мікроструктура матки та інтенсивність споживання кисню мітохондріями ендометрію корів / М. Акимішин, Д. Остапів, Ю. Мартин, Р. Сачко, О. Грабовська, А. Пилипець // Біологія тварин. — 2010. — Т. 12. — № 1. — С. 284–289.
211. Burns D. S. Numbers of Antral Follicles During Follicular Waves in Cattle: Evidence for High Variation Among Animals, Very High Repeatability in Individuals, and an Inverse Association with Serum Follicle-Stimulating Hormone Concentrations / D. S. Burns, F. Jimenez-Krassel, J. L.H. Ireland, P. G. Knight, J. J. Ireland // Biol. Reprod. — 2005. — V. 73. — P. 54–62
212. Malhi P. S. Bovine Model for the Study of Reproductive Aging in Women: Follicular, Luteal, and Endocrine Characteristics / P. S. Malhi, G. P. Adams, J. Singh // Biol. Reprod. — 2005. — V. 73. — P. 45–53.
213. Młynarczyk J. Adverse influence of coumestrol on secretory function of bovine luteal cells in the first trimester of pregnancy / J. Młynarczyk, M.H. Wróbel, J. Kotwica // Environ. Toxicol. — 2013. — V. 28. — P. 411–418.
214. Lonergan P. Maternal-embryo interaction leading up to the initiation of implantation of pregnancy in cattle / P. Lonergan, N. Forde // Animal. — 2014. — V. 1. — P. 64–69.
215. Barragan F. Human Endometrial Fibroblasts Derived from Mesenchymal Progenitors Inherit Progesterone Resistance and Acquire an Inflammatory Phenotype in the Endometrial Niche in Endometriosis / F. Barragan, J.C. Irwin, S. Balayan, D. W. Erikson, J.C. Chen et al // Biol. Reprod. — 2016. — V. 94. — P. 1–20.
216. Акимішин М. М. Концентрація естрадіолу в репродуктивних органах корів залежно від фізіологічного стану яєчників / М. Акимішин, Д. Остапів,

- R. Simonov, V. Vlizo // *Folia Veterinaria*. — Kosice, 2009. — V. 53(№1). — P. 115–117.
217. Cheong S. H. Metabolic and Endocrine Differences Between Dairy Cows That Do or Do Not Ovulate First Postpartum Dominant Follicles / S. H. Cheong, O. G. Sá Filho, V. A. Absalón-Medina, S. H. Pelton, W. R. Butler, R. O. Gilbert // *Biol. Reprod.* – 2016. – V. 94. – P. 1–11.
218. Wu Q. Q. Characterization of the Catalase and Glutathione Peroxidase-1 Antioxidant System During Bovine Folliculogenesis / Qia Qia Wu, C. Lam, D. Poljak, G. M. Van Deventer, C. P. Bradley at all // *Biol. Reprod.* — 2009. — V.81. —P. 581.
219. Lim J. Oxidative damage increases and antioxidant gene expression decreases with aging in the mouse ovary / J. Lim, U. Luderer // *Biol. Reprod.* – 2011. – V. 84. –P. 775–782.
220. Wang W. Mono-(2-Ethylhexyl) Phthalate Induces Oxidative Stress and Inhibits Growth of Mouse Ovarian Antral Follicles / W. Wang, Z. R. Craig, M. Basavarajappa, S. Hafner at all // *Biol. Reprod.* – 2012. – V. 87. – P. 6–152.
221. Ou X.-H. Maternal insulin resistance causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction in mouse oocytes / X.-H. Ou, S. Li, Z.-B. Wang, M. Li, S. Quan, F. Xing at all // *Human Reproduction*. – 2012. – V. 27. – P. 2130–2145.
222. Carbone M. C. Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: characterization and age-dependent changes / M. C. Carbone, C. Tatone, S. Delle Monache, R. Marci, D. Caserta, R. Colonna // *Molecular Human Reproduction* – 2003. – V. 9, No. 11. – P. 639–643.
223. Yant L. J. The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults / L. J. Yant, Q. Ran, L. Rao, H. Van Remmen, T. Shibatani, J.G. Belter, L. Motta at all // *Free Radic. Biol. Med.* – 2003. – V. 34(4). – P. 496–502.



224. Lapointe J. Antioxidant Defenses Are Modulated in the Cow Oviduct During the Estrous Cycle / J. Lapointe, J.-F. Bilodeau // *Biology of Reproduction*. – 2003. – V. 68, No. 4. – P. 1157–1164.
225. Matos L. Superoxide dismutase expression in human cumulus oophorus cells / L. Matos, D. Stevenson, F. Gomes, J. L. Silva-Carvalho, H. Almeida // *Molecular Human Reproduction*. – 2009. – V. 15. – P. 411–419.
226. Акимішин М. М. Активність ензимів антиоксидантного захисту в репродуктивних органах корів за норми та патології / М. Акимішин, Н. Кузьміна, Р. Сачко, Д. Остапів // *Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького*. — 2014. — Т. 16, № 2, Ч. 2. — С. 3–8.
227. Акимішин М. М. Активність і вміст ізозимів супероксиддисмутази в тканинах репродуктивних органів корів / М. Акимішин, Н. Кузьміна, Д. Остапів // *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок та Інституту біології тварин*. — 2017. — Вип. 18. — № 1. — С. 11–19.
228. Vlizlo V. V. The lipids content in cows ovaries of at different physiological state / V. Vlizlo, M. Akymyshyn, D. Ostapiv, A. Pylypets, O. Grabovs'ka, Y. Martyn, R. Sachko // *XXVI World Buiatrics Congress, Santiago, Chile*. — 2010. — <http://www.kenes.com/buiatrics/cd/pdf/1138.pdf>.
229. Butler S.T. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol / S. T. Butler, S. H. Pelton, W. R. Butler // *J Dairy Sci*. – 2006. – V. 89. – P. 2938–2951.
230. Józwik M. Concentrations of monosaccharides and their amino and alcohol derivatives in human preovulatory follicular fluid / M. Józwik, C. Teng, F. C. Battaglia // *Molecular Human Reproduction*. – 2007. – V. 13(11). – P. 791–796.
231. Harris S. E. Carbohydrate metabolism by murine ovarian follicles and oocytes grown in vitro / S. E. Harris, I. Adriaens, H. J. Leese, R. G. Gosden, H. M. Picton // *Reproduction*. – 2007. – V. 134. – P. 415–424.

232. Roy S. K. Activities of Glucose Metabolic Enzymes in Human Preantral Follicles: In Vitro Modulation by Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, Epidermal Growth Factor, Insulin-Like Growth Factor I, and Transforming Growth Factor  $\beta$ 11 / S. K. Roy, D. M. Terada // *Biol. Reprod.* – 1999. – V. 60(3). – P. 763–768.
233. Yoon S. J. Role of cytosolic malate dehydrogenase in oocyte maturation and embryo development / S. J. Yoon, D. B. Koo, J. S. Park, K. H. Choi, Y. M. Han, K. A. Lee // *Fertil. Steril.* – 2006. – V. 86. – P. 1129–1136.
234. Ying S. Effect of different levels of short-term feed intake on folliculogenesis and follicular fluid and plasma concentrations of lactate dehydrogenase, glucose, and hormones in Hu sheep during the luteal phase / S. Ying, Z. Wang, C. Wang, H. Nie, D. He, R. Jia et al // *Reproduction.* – 2011. – V. 142. – P. 699–710.
235. Zeng Hai-Tao. Prematuration with Cyclic Adenosine Monophosphate Modulators Alters Cumulus Cell and Oocyte Metabolism and Enhances Developmental Competence of In Vitro-Matured Mouse Oocytes / H.-T. Zeng, D. Richani, M. L. Sutton-McDowall, Z. Ren, J. E. J. Smitz, Y. Stokes et al // *Biol. Reprod.* – 2014. – V. 91. – P. 47.
236. Акимішин М. М. Особливості дихальної активності мітохондрій яєчників корів / М. М. Акимішин, Д. Д. Остапів, Р. Г. Сачко // *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.* — 2014. — Вип. 15. — № 1. — С. 175–179.
237. Акимішин М. М. Активність і вміст ізозимів малатдегідрогенази у тканинах яєчників і матки корів впродовж статевого циклу / М. М. Акимішин // *Біологія тварин.* — 2017. — Т. 19. — № 2 — С. 9–15.
238. Акимішин М. М. Активність та вміст ізозимів аспартатамінотрансферази в репродуктивних органах корів / М. Акимішин, Н. Кузьміна, Д. Остапів // *Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького.* — 2017. — Т. 19. — № 77. — С. 27–31.

239. Robertson D. M. Isolation of a 31 kDa form of inhibin from bovine follicular fluid / D. M. Robertson, F. L. de Vos, L. M. Foulds, R. I. McLachlan, H. G. Burger, F. J. Morgan et al // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 1986. – V. 44. – P. 271–277.
240. Orihuela P. A. Disparate Effects of Estradiol on Egg Transport and Oviductal Protein Synthesis in Mated and Cyclic Rats / P. A. Orihuela, M. Ríos, H. B. Croxatto // *Biol. Reprod.* – 2001. – V. 65. – P. 1232–1237.
241. Berkova N. Haptoglobin is present in human endometrium and shows elevated levels in the decidua during pregnancy / N. Berkova, A. Lemay, D. W. Dresser, J.-Y. Fontaine, J. Kerizit, S. Goupil // *Molecular Human Reproduction*. – 2001. – V. 7, No. 8. – P. 747–754.
242. Hammond G. L. Diverse Roles for Sex Hormone-Binding Globulin in Reproduction // *Biol. Reprod.* – 2011. – V. 85(3). – P. 431–441.
243. Bazer F. W. Contributions of an Animal Scientist to Reproductive Biology // *Biol. Reprod.* – 2011. – V. 85, No. 2. – P. 228–242.
244. Остапів Д. Білки сироватки крові корів та органів розмноження корів / Д. Остапів, В. Каплінський, Р. Сачко, М. Акимішин // *Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького*. – 2008. – Т 10. – №3.(38). – Ч. 2. – С.9–14.
245. Акимішин М. М. Зв'язок між фізіологічним станом яєчників та концентрацією естрадіолу у репродуктивних органах корів / М. М. Акимішин, Д. Д. Остапів, Р. Г. Сачко, О. С. Грабовська, Ю. В. Мартин // *Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького*. — 2009. — Т. 11. — № 2(41). — Ч. 1. — С. 9–14.
246. McNatty K. P. Steroidogenesis by the human oocyte-cumulus cell complex in vitro / K.P. McNatty, D.M. Smith, A. Makris, R. Osathanondh, K.J. Ryan // *Steroids*. — 1980. — V.35. — P.643–651.
247. Westergaard L. Steroid levels in ovarian follicular fluid related to follicle size and health status during the normal menstrual cycle in women /

- L. Westergaard, I. J. Christensen, K. P. McNatty // *Hum Reprod.* —1986. —V. 12. — P. 27–232.
248. Rodgers R. J. The morphological classification of bovine ovarian follicles / R. J. Rodgers, H. F. Irving-Rodgers // *Reproduction Advance.* — 2009. — P. 1–27.
249. Itoha T. Growth Antrum Formation and Estradiol Production of Bovine Preantral Follicles Cultured in a Serum-Free Medium / T. Itoha, M. Kacchia, H. Abea, Y. Sendaia, H. Hoshi // *Biology of Reproduction.* —2002.—V. 67. — P. 1099–1105.
250. Пат. 59121 України на корисну модель UA, МПК (2011/01): А61D7/00. Спосіб отримання естрогенів *in vitro* / Д. Остапів, Р. Сачко, Ю. Мартин, М. Акимішин, О. Грабовська, А. Пилипець.; заявник і патентовласник Інститут біології тварин. — № и 2010 10103; заявл. 16.08.2010; опубл. 10.05.2011, Бюл. № 9. — 4 с.
251. Косенко М. В. Відтворення молочного поголів'я / М. В. Косенко, Б. М. Чухрій, О. І. Чайковська // Львів: Українські технології, 2005. — 227 с.
252. Yániz J. Relationships between Milk Production, Ovarian Function and Fertility in High-producing Dairy Herds in North-eastern Spain / J. Yániz, F. López-Gatius, G. Bech-Sàbat, I. García-Ispuerto, B. Serrano, P. Santolaria // *Reproduction in Domestic Animals.* – 2008. – V. 43. – P. 38–43.
253. Смолянинов Б. В. Контроль и воспроизводительная функция самок сельскохозяйственных животных / Б. В. Смолянинов, М. А. Кротких // Одесса: СМІЛ. — 2004. – 196 с.
254. Stocco C. The Molecular Control of Corpus Luteum Formation, Function, and Regression / C. Stocco, C. Telleria, G. Gibori // *Endocrine Reviews.* — V. 28. — P. 117–149.
255. Kawashima C. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-

- producing dairy cows / C. Kawashima, S. Fukihara, M. Maeda, E. Kaneko, C. Amaya at all // *Reproduction*. — 2007. — V.133 — P. 155–163.
256. Sartori R. Comparison of Ovarian Function and Circulating Steroids in Estrous Cycles of Holstein Heifers and Lactating Cows / R. Sartori, J. M. Haughian, R. D. Shaver at all // *J. Dairy Sci.* — 2004. — V. 87 — P. 905–920.
257. Burns D. S. Numbers of Antral Follicles During Follicular Waves in Cattle: Evidence for High Variation Among Animals, Very High Repeatability in Individuals, and an Inverse Association with Serum Follicle-Stimulating Hormone Concentrations / D. S. Burns, J.-K. Fermin, L. H. Ireland at all. // *Biol. Reprod.* — 2005 — V. 73 — P. 54–62.
258. Lucy M. C. The bovine dominant ovarian follicle // *J. Anim. Sci.* — 2007. — V. 85 — P.89–99.
259. Luo W. Distinct regulation by steroids of messenger RNAs for FSHR and CYP19A1 in bovine granulosa cells / W. Luo, M. C. Wiltbank // *Biol. Reprod.* — 2006. — V. 75 — P. 217–225.
260. Erickson G. F. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships / G. F. Erickson, D. A. Magoffin, C. A. Dyer, C. Hofeditz // *Endocr. Rev.* — 1985. — V. 6 — P. 371–399.
261. Cheong S. H. Metabolic and Endocrine Differences Between Dairy Cows That Do or Do Not Ovulate First Postpartum Dominant Follicles / S. H. Cheong, O. G. Sá Filho, V. A. Absalón-Medina, S. H. Pelton, W. R. Butler, R. O. Gilbert // *Biol. Reprod.* — 2016. — V. 94. — P. 1–11.
262. Walters K. A. Androgen Actions and the Ovary / K. A. Walters, C. M. Allan D. J. Handelsman // *Biol. Reprod.* — 2008. — V. 78 — P. 380–389.
263. Walters K. A. Role of androgens in normal and pathological ovarian function // *Reproduction*. — 2015. — V. 149 — P.193–218.
264. Kawashima C. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-

- producing dairy cows / C. Kawashima, S. Fukihara, M. Maeda, E. Kaneko // *Reproduction*. — 2007. — V. 133 — P. 155–163.
265. Swain J. E. Direct Effects of Leptin on Mouse Reproductive Function: Regulation of Follicular, Oocyte, and Embryo Development / J. E. Swain, R. L. Dunn, D. McConnell, G.-M. Janis et al // *Biol. Reprod.* — 2004. — V. 71 — P. 1446–1452.
266. Stilley Julie A.W. Differential Regulation of Human and Mouse Myometrial Contractile Activity by FSH as a Function of FSH Receptor Density / A.W. Stilley Julie, G. Rongbin, D. A. Santillan, B.F Mitchell // *Biol. Reprod.* — 2016. — V. 95 — P. 1–10.
267. Smitz J. Endocrine profile in serum and follicular fluid differs after ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH in IVF patients / J. Smitz, A.N. Andersen, P. Devroey, J.- C. Arce // *Human Reproduction*. — 2007. — V. 22 — P. 676–687.
268. Lapointea J. Antioxidant Defenses Are Modulated in the Cow Oviduct During the Estrous Cycle / J. Lapointea, J.-F. Bilodeau // *Biol. Reprod.* — 2003. — V. 68. — P. 1157–1164.
269. Weydert C. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue / C. J. Weydert, J.J. Cullen // *Nat. Protoc.* — 2010. — V. 5(1) — P. 51–66.
270. Handy D. E. Glutathione Peroxidase-1 Regulates Mitochondrial Function to Modulate Redox-dependent Cellular Responses / D. E. Handy, E. Lubos, Y. Yang, J. D. Galbraith, N. Kelly, Y.-Y. Zhang // *The Journal of Biological Chemistry*. — 2009. — V. 284 — P. 11913–11921.
271. Covarrubias L. Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active? / L. Covarrubias, D. Hernandez-Garcia, D. Schnabel, E. Salas-Vidal, S. Castro-Obregon // *Developmental Biology*. — 2008. — V. 320. — P. 1–11.

272. Lapointea J. Antioxidant Defenses Are Modulated in the Cow Oviduct During the Estrous Cycle / J. Lapointea, J.-F. Bilodeau // *Biol. Reprod.* — 2003. — V. 68 — P. 1157–1164.
273. Fortune J. E. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle / J. E. Fortune, G. M. Rivera, M. Y. Yang // *Animal Reproduction Science.* — 2004. — V. 82–83. — P. 109–126.
274. Hillier S. G. Effect of recombinant inhibin on androgen synthesis in cultured human thecal cells / S. G Hillier, E. L. Yong, P. J. Illingworth, D. T. Baird et al // *Mol. Cell Endocrinol.* — 1991. — V. 75 — P. 1–6.
275. Campbell B. K. Inhibin A is a follicle stimulating hormone-responsive marker of granulosa cell differentiation, which has both autocrine and paracrine actions in sheep / B. K. Campbell, D. T. Baird // *J Endocrinol.* — 2001. — V. 169. — P. 333–345
276. Magoffin D. A. Estradiol-17 $\beta$ , insulin-like growth factor-I, and luteinizing hormone inhibit secretion of transforming growth factor  $\beta$  by rat ovarian theca-interstitial cells / D. A. Magoffin, D. Hubert-Leslie, R. J. Zachow // *Biol. Reprod.* — 1995. — V. 53 — P. 627–635.
277. Fournet N. Transforming growth factor- $\beta$  inhibits ovarian 17 $\alpha$ -hydroxylase activity by a direct noncompetitive mechanism / N. Fournet, S.R. Weitsman, R. J. Zachow, D. A. Magoffin // *Endocrinology.* — 1996. — V. 137 — P. 166–174.
278. Andersen Y. C. Characteristics of human follicular fluid associated with successful conception after in vitro fertilization // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1993. — V. 77. — P. 1227–1234.
279. Lucy M. C. The bovine dominant ovarian follicle // *J. Anim. Sci.* — 2007. — V. 85 — P. 89–99.

280. Dupont J. Scaramuzzi Insulin signalling and glucose transport in the ovary and ovarian function during the ovarian cycle / J. Dupont, J. Rex // *Biochemical Journal*. — 2016. — V. 473(11) — P. 1483–1501.
281. Sutton-McDowall M. L. The pivotal role of glucose metabolism in determining oocyte developmental competence / M. L. Sutton-McDowall, R. B. Gilchrist, J. G. Thompson // *Reproduction*. — 2010. — V. 139. — P. 685–695.
282. Leroy J. L. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows / J.L. Leroy, T. Vanholder, J.R. Delanghe at all // *Animal Reproduction Science*. — 2004 — V. 80. — P. 201–211.
283. Bertoldo M. J. Differences in the metabolomic signatures of porcine follicular fluid collected from environments associated with good and poor oocyte quality / M. J. Bertoldo, N.-D. Lydie, G. Nadine, D. Alexis at all // *Reproduction*. — 2013. — V. 146 — P. 221–231.
284. Kei M. The Identification of Novel Ovarian Proteases Through the Use of Genomic and Bioinformatic Methodologies / M. Kei, M.J. Murphy, M. Siddhartha, C. Dubay at all // *Biol. Reprod.* — 2006. — V. 75 — P. 823–835.
285. Wei W. Mono-(2-Ethylhexyl) Phthalate Induces Oxidative Stress and Inhibits Growth of Mouse Ovarian Antral Follicles / W. Wei, Z. R. Craig, M. S. Basavarajappa, K. S. Hafner, J. A. Flaws // *Biology of Reproduction*. — 2012. — V. 87. — P. 152.
286. Dinara S. Effects of supplementation with free radical scavengers on the survival and fertilization rates of mouse cryopreserved oocytes / S. Dinara, K. Sengoku, K. Tamate, M. Horikawa, M. Ishikawa // *Human Reproduction*. — 2001. — V.16 — P. 1976–1981.
287. Tsai-Turton M. Opposing effects of glutathione depletion and FSH on reactive oxygen species and apoptosis in cultured preovulatory rat follicles / M. Tsai-Turton, U. Luderer // *Endocrinology*. — 2006. — V. 147 — P. 1224–1236.



288. Hoang Y. D. Follicle-stimulating hormone and estradiol interact to stimulate glutathione synthesis in rat ovarian follicles and granulosa cells / Y. D. Hoang, B. N. Nakamura, U. Luderer // *Biol. Reprod.* — 2009. — V. 81 — P. 636–646.
289. Turrens J. F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species // *The Journal of Physiology.* — 2003. — V. 552. — P. 335–344.
290. Hirotsugu Y. Role of Ovarian Theca and Granulosa Cell Interaction in Hormone Production and Cell Growth During the Bovine Follicular Maturation Process / Y. Hirotsugu, H. Kumiko, T. Kimihisa, H. Yoshihisa // *Biol. Reprod.* — 1999. — V. 61 — P. 1480–1486.
291. Miller W. L. Molecular biology of steroid hormone synthesis // *Endocr Rev.* — 1988. — V. 9. — P. 295–318.
292. Silva J. M. Effect of Follicle-Stimulating Hormone on Steroid Secretion and Messenger Ribonucleic Acids Encoding Cytochromes P450 Aromatase and Cholesterol Side-Chain Cleavage in Bovine Granulosa Cells In Vitro / J. M. Silva, C. A. Price // *Biol. Reprod.* — 2000. — V. 62. — P. 186–191.
293. Couse J. F. Estrogen receptor- $\beta$  is critical to granulosa cell differentiation and the ovulatory response to gonadotrophins / J. F. Couse, M. M. Yates, B. J. Deroo, K. S. Korach // *Endocrinology.* — 2005. — V. 146. — P. 3247–3262.

## ДОДАТКИ

” ПОГОДЖЕНО “:

Директор ТзОВ “Пустомитим’ясо”

м. Пустомити, Львівської області



Адеєв О. О.

## А К Т

від 2 квітня 2008 року

на періодичний відбір матеріалу для проведення наукових досліджень у науково-виробничому центрі з вивчення пріонних інфекцій Інституту біології тварин УААН по завданню “Білки та гормони репродуктивних органів корів при фізіологічних та патологічних станах яєчників”.

Комісією в складі провідного наукового співробітника, д. с-г. н. Остапів Д. Д., аспіранта Акимішин М. М., головного ветеринарного лікаря ТзОВ “Пустомитим’ясо” Цьорох Б. М., проведений відбір матеріалу (матки, яєчників, крові, фолікулярної рідини) від великої рогатої худоби.

Керівник НВЦ з вивчення  
пріонних інфекцій

Влізло В. В.

Провідний науковий співробітник,  
д. с-г. н.

Остапів Д. Д.

Аспірант

Акимішин М. М.

Головний ветеринарний лікар  
ТзОВ “Пустомитим’ясо”

Цьорох Б. М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

Львівського національного

університету ветеринарної медицини та

біотехнологій імені С.З. Гжицького,

кандидат біологічних наук,

доктор філософії

Турко І. Б.

2017 р.

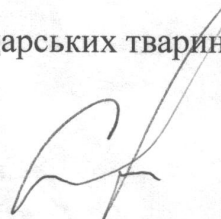
**КАРТКА ЗВОРОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ**

Викладені в дисертаційній роботі "Концентрація гормонів і активність ензимів у тканинах репродуктивних органів за статевого циклу та гіпофункції яєчників корів" результати вивчення концентрації гормонів, активності окремих ензимів в репродуктивних органах та антральній рідині впродовж статевого циклу і за гіпофункції яєчників корів та за стимулювання відтворної функції самок, прийняті для використання в навчальному процесі при вивченні курсу «Акушерство, гінекології та біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин» та наукових дослідженнях для розроблення ефективних способів відновлення репродуктивної функції самок.

Матеріали дисертаційної роботи дисертантки Інституту біології тварин НААН Акимішин М.М. розглянуто на засіданні кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин імені Г.В. Зверевої Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

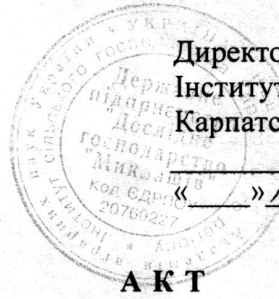
Протокол № 1 від 22 серпня 2017 р.

Завідувач кафедри акушерства, гінекології та  
біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин  
імені Г.В. Зверевої  
доктор ветеринарних наук, професор



В.Ю. Стефаник

Затверджую



Директор ДП «ДГ «Миклашів»  
Інституту сільського господарства  
Карпатського регіону НААН

Б.П. Савка  
«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 р.

## А К Т

про виробничу перевірку

1. Найменування науково-дослідної установи-розробника  
Інститут біології тварин НААН, лабораторія молекулярної біології та клінічної біохімії  
(НДІ, дослідна станція, відділ, лабораторія та ін.)
2. Найменування завершених робіт, поставлених на виробничу основу.  
Ефективність дії сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції корів (розчин для ін'єкцій)
3. Автори завершених робіт Остапів Д.Д., д.с.-г.н., Петрух І.М. к. в.н., Акимишин М.М., пров. фах.  
(П. І. П., посада, звання)
4. Завершені науково-дослідні роботи, рекомендовані до виробничої перевірки рішенням вченої ради \_\_\_\_\_  
(НДІ, дослідні станції та ін.)
5. Виробнича перевірка проводилась у ДП «ДГ «Миклашів» Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН (с. Миклашів, Пустомитівського р-ну, Львівської області)  
(найменування господарства, підприємства, його відомче підпорядкування; місцезнаходження: область)
6. Відповідальні за проведення виробничої перевірки: Остапів Д.Д., д.с.-г.н., Петрух І.М., к. в.н., Акимишин М.М., пров. фах.  
(П. І. П., установа, господарство, посада)
7. Умови проведення перевірки відповідали умовам утримання корів в зимово-стійловий період  
(господарсько-економічні, що відповідають встановленим вимогам)
8. Об'єм виробничої перевірки 20 голів корів  
(голів, тонн та ін.)
9. Терміни проведення 2013 р., лютий-травень  
(рік, місяць, початок і закінчення в кожному окремому випадку)
10. Методика виробничої перевірки: для виробничої перевірки було відібрано 20 корів української молочної черно-рябої породи, аналогів за віком і продуктивністю, які не приходили в охоту більше двох місяців після отелення. Тваринам дослідної групи (10 корів) внутрішньом'язово вводили сировину для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції корів у дозі 20 мл/голову. Повторне введення препарату проводили через 10-12 діб коровам, які не прийшли в охоту.  
(коротка характеристика прийнятого методу перевірки)
11. З яким контролем проводилось порівняння закінчених досліджень Тваринам контрольної групи (10 корів) вводили препарат «Естрофан» згідно настанови по застосуванню.
12. Результати, що характеризують ефективність робіт, що перевіряють, у порівнянні з контролем:
  - а) основні господарські показники за результатами перевірки: після двохразового введення сировини для виготовлення препарату зі стимулювання відтворної функції корів (розчин для ін'єкцій) 6 корів (60,0 %) прийшли в охоту  
(якість продукції, зниження собівартості та ін.)

б) обґрунтований розрахунок економічного ефекту \_\_\_\_\_

(ефект у гривнях на одиницю об'єму або на одиницю виробленої продукції)

13. Що рекомендується для освоєння у виробництві: з метою підвищення репродуктивної функції корів доцільно використати сировину для виготовлення у вигляді розчину для внутрішньом'язових ін'єкцій препарату зі стимулювання відтворної функції корів. Ветеринарний препарат за гіпофункції яєчників корів вводити двохразово, з інтервалом 10 – 12 діб у дозі 20 мл/голову.

(коротка і чітка рекомендація виробництву)

14. Відповідальні виконавці виробничої перевірки:

а) від наукової установи: Остапів Д.Д., д.с.-г.н., Петрух І.М. к. в.н., Акимішин М.М., пров. фах.

(П. І. П., посада, підпис)

б) від виробництва (господарства): заступник директора ДП «ДГ «Миклашів» Хомик Б.В., лікар ветеринарної медицини Возний Р.С.

(П. І. П., посада, підпис)



Остапів Д.Д.

Петрух І.М.

Акимішин М.М.

Хомик Б.В.

Возний Р.С.

Акт кладений

29 травня 2013 р.