

УДК 616.6.612.627.618.147.636.2.034

**СОДЕРЖАНИЕ ОБЩИХ ПРОТЕИНОВ, СЕРОМУКОИДОВ И
СИАЛОВЫХ КИСЛОТ В ФУНКЦИОНАЛЬНОМ СЛОЕ ЭНДОМЕТРИЯ
ВО ВРЕМЯ РАЗНЫХ СТАДИЙ ПОЛОВОГО ЦИКЛА И СОСТОЯНИИ
ПОЛОВОЙ ФУНКЦИИ КОРОВ**

Бондаренко И.В.

Лазоренко А.Б.

Краевский А.И.

Сумский национальный аграрный университет

В статье приведены результаты исследования концентрации общих протеинов, серомукоидов и сиаловых кислот в тканевых экстрактах функционального слоя эндометрия коров при различных стадиях полового цикла и состояния половой функции.

Установлено, что во время эструса у коров происходит максимальное физиологическое повышение содержания белков, сопровождающееся ростом концентрации в тканевых экстрактах эндометрия общих протеинов, серомукоидов и сиаловых кислот, тогда как у животных, переболевших эндометритом и задержанием последа, концентрация общих протеинов, серомукоид и сиаловых кислот в тканевых экстрактах функционального слоя эндометрия опускается до минимальных значений.

В современных условиях ведения животноводства, вопросы интенсификации воспроизводства стада остаются актуальными и обуславливают проведение тщательного и комплексного изучения физиологических механизмов регуляции воспроизводительной функции коров. Циклическую ремодуляцию функционального слоя слизистой оболочки матки, которая в дальнейшем обеспечивает nidацию зиготы, обеспечивают ферментативные процессы, протекающие скоординировано, каждый в соответствующее время, при определенном цитологическом окружении и уровне обмена протеинов. Интенсивность вышеупомянутых процессов зависит от функционального состояния матки во время разных стадий полового цикла и соотношения многочисленных классов белков эндометрия. В то же время, механизм регуляции пролиферации и секреции эндометрия остается недостаточно изученным [1,2].

Использование известных показателей морфологического и функционального состояния слизистой оболочки матки для коррекции половой цикличности и профилактики бесплодия, так же недостаточны. А получить исчерпывающий ответ на вышеуказанные аспекты возможно лишь при условии расширения представления о закономерности физиологических и патологических процессов эндометрия при разных стадиях его функциональной активности [3,4].

Несмотря на многочисленные исследования воспроизводительной способности и развития патологических изменений половой системы коров, до

сих пор отсутствует исчерпывающая информация о специфичности слизистой оболочки матки при физиологии размножения, что вызывает необходимость дальнейшего выяснения роли белкового обмена при бесплодии.

Важный компонент клеток и экстрацеллюлярного матрикса - белки. Последние являются катализатором многих биохимических процессов организма, участвуют в иммунной защите и регенерации клеток.

Белки слизистой оболочки матки, благодаря непрерывному синтезу и распаду, находятся в динамическом равновесии. Поскольку белок в тканях не аккумулируется, а является составной частью клеточных и внеклеточных структур, его количественный показатель достаточно информативен в процессах, протекающих в слизистой оболочке матки [2,5].

Ученые утверждают, что сложные процессы регенерации, реконструкции, а так же секреторная активность слизистой оболочки матки на протяжении полового цикла, осуществляется посредством взаимодействия стероидных гормонов, цитокинов и других биологически активных соединений с первично-белковой структурой рецепторного и секреторного аппарата клеток эндометрия. Во время феноменов и стадий полового цикла и при возникновении патологии воспроизводительной функции, в организме самки происходит активация биохимических процессов, сопровождающаяся нарушением обмена веществ, и в первую очередь, изменением обмена белков [1,3].

Белковый обмен высвечивает соотношение между синтезом и катаболизмом различных белковых фракций организма, характеризует глубину нарушений обменных процессов.

Протеиновый обмен тесно связан с обменом серомукоидов и сиаловых кислот, поскольку соединительнотканые структурные неколлагеновые белки, обеспечивают необходимую упорядоченность и морфологическое объединение ткани [6-8].

Известно, что группа серомукоидов объединяет около 14 различных белков, которые выполняют транспортную функцию, участвуют в патогенетических механизмах развития воспалительной реакции и местных пластических и иммунобиологических процессах [9].

В случае деградациии или разрушения соединительнотканного матрикса, уровень плазменных серомукоидов возрастает, поскольку является следствием деструкции соединительной ткани, задержки созревания коллагена и эластина, а так же частичного высвобождения гликозаминогликанов. Уменьшение концентрации серомукоидов наблюдается при развитии бесплодия, заболеваниях печени и эндокринной патологии [10].

Наряду с количественными изменениями серомукоидов одним из объективных показателей, характеризующих ход компенсаторных реакций и уровня деструктивных процессов в организме, является показатель концентрации сиаловых кислот. Они широко распространены в тканях как компонент гликолипидов, полисахаридов, глико- и мукопротеидов. Физиологическая роль сиаловых кислот до конца не выяснена, однако они выполняют много биологических функций. В частности, гликопротеиды,

имеющие в своем составе сиаловые кислоты, меньше подвергаются воздействию протеолитических ферментов[11]. Исследования ученых, доказывают, что неспособность организма продуцировать сиаловые кислоты вызывает гибель эмбриона из-за важности роли этого компонента в развитии и формировании последнего[12].

Увеличение количества сиаловых кислот, регистрирующееся после выхода последних из состава гликопротеидов во время усиленной пролиферации ткани (во время эструса функционального слоя эндометрия или в случае возникновения воспалительно-деструктивных процессов), отражает проявление компенсаторной и защитной реакции организма. Именно поэтому рост уровня серомукоид и сиаловых кислот в период ремоделирования соединительной ткани, имеет как диагностическое, так и прогностическое значение, поскольку свидетельствует о начале процесса дегградации ткани еще до клинического проявления [13,14].

Данные динамики содержания общих протеинов, серомукоид и сиаловых кислот функционального слоя эндометрия коров неполные, что вызывает необходимость дальнейшего выяснения роли белкового обмена в механизме развития дезинтеграции матрикса эндометрия. Это в свою очередь позволит определить состояние подготовки эндометрия к имплантации зиготы, и может служить метаболическим критерием качественной оценки стадий полового цикла.

Цель работы. Целью наших исследований было определение динамики содержания общих протеинов, серомукоид и сиаловых кислот в образцах функционального слоя эндометрия маточного поголовья коров во время разных стадий полового цикла.

Материалы и методы. Исследования проводились в ОАТ ПО «Михайловка» Лебединского района Сумской области на коровах чернопестрой и швицкой пород, а также в КФХ «Виталия» Буринского района Сумской области на коровах симментальской и бурой молочной породы.

Материалом для исследований были фрагменты слизистой оболочки матки, отобранные от вынужденно убитых коров без патологических изменений репродуктивной системы в возрасте 3-10 лет, во время эструса (n = 5), расцвета желтого тела (n = 5), предполагаемой течки (n = 5), и у клинически здоровых коров, которые не проявляли половую цикличность после перенесенного ними эндометрита (n = 5) и задержки последа (n = 5).

Образцы эндометрия (3-5 г) отбирали в области верхней трети рога матки. Для определения в тканевых экстрактах содержания общего белка, серомукоид и сиаловых кислот, фрагменты слизистой оболочки матки, промывали в физиологическом растворе и подвергали криоконсервации в пластиковых микропробирках при $-t 20^{\circ}\text{C}$.

Из полученных образцов эндометрия готовили тканевые экстракты с использованием 0,5 н раствора NaOH [15]. В дальнейшем гомогенат тканей центрифугировали при 3000 об / мин. в течение 15 мин. В надосадочной жидкости определяли содержание общего белка, серомукоидов и сиаловых кислот.

Содержание общего белка в тканевых экстрактах определяли биуретовым методом, содержание серомукоид - в тесте с фосфорно-вольфрамовой кислотой, сиаловых кислот - с уксусно-сернокислым реактивом по методу Гесса с использованием реагентов производства ЧП Даниш, г. Львов, Украина. Полученный цифровой материал обработан методами вариационной статистики с использованием параметрического t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований. Данные таблицы показывают, что содержание общего белка в тканевых экстрактах коров во время эструса возрастает на 31,2%; в сравнении с 7-8 днем полового цикла (расцвет желтого тела) и на 19,5% в сравнении с 17-18 днем полового цикла (предполагаемый проэструс). Содержание белка в период предполагаемого проэструса, также был на 10,5% выше в сравнении с показателем 7-8 дня полового цикла. Следует отметить, что аналогичные данные мы получили и при исследовании показателей крови в указанные периоды полового цикла [13,14]. Вероятно, это объясняется интенсификацией протеинового обмена, максимальным увеличением толщины функционального слоя эндометрия перед овуляцией в результате пролиферации, роста мышечного слоя матки и желез слизистой оболочки, а также увеличения содержания половых гормонов в клетках.

Уровень общего белка эндометрия коров переболевших эндометритом и задержанием последа был почти идентичным и составил $30,59 \pm 2,56 - 30,54 \pm 2,68$ г / л, соответственно, это достоверно ниже на 23,8% аналогичного показателя коров в охоте, и связано, по нашему мнению, с процессами деструкции функционального слоя эндометрия и снижения интенсивности метаболизма протеинов.

Содержание серомукоидов в тканевых экстрактах эндометрия коров во время эструса возрастал на 30,1% по сравнению с периодом расцвета желтого тела и на 18,6% относительно предполагаемого проэструса. Достоверный рост концентрации серомукоидов на 14,1% в период предполагаемого проэструса сравнительно с 7-8 днем полового цикла, можно объяснить активацией процессов структурно-функциональной трансформации эндометрия. [8].

Известно, что серомукоиды включают в себя белки острой фазы и ингибиторы металлопротеиназ ($\alpha 1$ -кислый гликопротеин, $\alpha 1$ -микроглобулин, $Zn\alpha 2$ -гликопротеин, $4Sa 2$ -гликопротеин, $8Sa 2$ -гликопротеин и $\beta 2$ -гликопротеин II) [9,10], поэтому количественный показатель содержания их в эндометрии во время разных стадий полового цикла, является отражением активности ремодуляции и коррекции катаболических металлопротеиназ, гликозидаз, сульфогидролаз, разрушающих протеогликаны, структурные гликопротеины и гликозаминогликаны матрикса. В то же время, эндометрий коров, переболевших эндометритом и задержанием последа, имел наименьшую концентрацию серомукоидов - $3,22 \pm 0,16$ и $3,28 \pm 0,12$ ммоль / л, соответственно, по сравнению с разными периодами полового цикла.

Таблица – Содержание протеинов, серомукоидов и сиаловых кислот в тканевых экстрактах функционального слоя эндометрия коров

Показатели	Стадии полового цикла			Коровы переболевшие:		P ₁ <	P ₂ <	P ₃ <	P ₄ <	P ₅ <
	0 день полового цикла (эструс), n=5	7-8 день полов. цикла (расцвет желт. тела) n=6	17-18 день полов. цикла (предпол-ый проэструс), n=5	эндометритом, n=5	задержанием послед, n=5					
Общий белок, г/л	68,44±1,13	25,51±2,13	45,50±2,37	30,59±2,56	30,54±2,7	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Серомукоиды, ммоль/л	5,48±0,20	3,83±0,13	4,46±0,22	3,22±0,16	3,28±0,12	0,001	0,01	0,01	0,001	0,001
Сиаловые кислоты, Ед. Гесса	106±7,96	35±4,08	79±7,64	33±4,35	30±3,16	0,001	0,05	н.д.	0,001	0,001

Примечание: P₁- 0 день полового цикла сравнительно с 7-8 днем полового цикла; P₂- 0 день полового цикла сравнительно с 17-18 днем полового цикла; P₃ -7-8 день полового цикла. сравнительно с 17-18 днем полового цикла; P₄ -0 день полового цикла по сравнению с клинически здоровыми животными переболевшими эндометритом; P₅- 0 день полового цикла по сравнению с клинически здоровыми животными переболевшими задержанием последа.

Содержание сиаловых кислот в эндометрии коров во время эструса возрастал почти на 67% по сравнению с периодом расцвета желтого тела и на 25,5% относительно предполагаемого проэструса.

Достоверно большее на 55,7% содержание сиаловых кислот эндометрия коров во время предполагаемого проэструса по сравнению с аналогичным показателем на 7-8 день полового цикла, может быть связано с существенным усилением пролиферации тканей функционального слоя эндометрия, и накоплением половых гормонов в клетках слизистой оболочки матки во время эструса, поскольку именно сиаловые кислоты определяют продолжительность циркуляции гормонов в клетках мишенях [5,6,12].

Концентрация сиаловых кислот в слизистой оболочке матки животных, переболевших эндометритом и задержанием последа находилась почти в одинаковых пределах - 33 ± 4,35 и 30 ± 3,16 Ед. Гесса и была достоверно ниже показателя коров во время эструса, что можно объяснить снижением метаболической активности, нарушением процессов пролиферации, низким содержанием необходимых для эструса стероидов в клетках постморбидного эндометрия [2,7,8].

Учитывая, что сиаловые кислоты в составе белково-углеводных соединений ткани, определяют не только время биodeградации, но и функциональную активность, мы определяли соотношение между концентрацией серомукоидов и сиаловых кислот как условный интегральный показатель активности метаболизма биополимеров экстрацеллюлярного матрикса эндометрия.

Так, данное соотношение в период максимальной функциональной активности эндометрия (эструс и проэструс) колебалось в пределах 0,05-0,06, соответственно, что отвечает одновременно максимальным значением концентрации и сиаловых кислот, и серомукоидов в слизистой оболочке матки. В то же время, в период расцвета желтого тела, индекс соотношения между серомукоидами и сиаловыми кислотами составляет - 0,1, что свидетельствует об ускорении элиминации сиаловых кислот из белковых соединений и, соответственно, сокращении периода их биodeградации а так же снижении функциональной активности эндометрия ткани. Интересным, по нашему мнению является то, что у коров переболевших эндометритом и задержанием последа и находящихся в состоянии анафродизии соотношение в эндометрии серомукоидов к сиаловых кислот, также составил 0,1. Итак, у коров в состоянии анафродизии переболевших эндометритом и задержанием последа, наблюдается торможение обменных процессов эндометрия схожим с прогестероновым блоком в период расцвета желтого тела здоровых животных.

Выводы и перспективы дальнейших исследований.

1. Во время эструса у коров наблюдается максимальное физиологическое ускорение обмена протеинов, сопровождаемое ростом концентрации в экстрактах эндометрия общих протеинов в $68,44 \pm 1,13$ г / л, серомукоидов - $5,48 \pm 0,20$ ммоль / л, сиаловых кислот - $106 \pm 7,96$ Ед. Гесса., тогда как у животных, переболевших эндометритом и задержанием последа, концентрация общих протеинов, серомукоидов и сиаловых кислот в тканевых экстрактах функционального слоя эндометрия достигает минимальных значений, снижаясь в 2,2; 1,7 и 3,3 раза, соответственно.

2. Соотношение между концентрацией серомукоидов и сиаловых кислот, как условный интегральный показатель активности метаболизма биополимеров экстрацеллюлярного матрикса эндометрия во время эструса и проэструса, составляет 0,05-0,06, тогда как у коров в состоянии анафродизии переболевших эндометритом и задержанием последа данный показатель составляет 0,1 что свидетельствует о снижении функциональной активности слизистой оболочки матки.

3. Перспективой дальнейших исследований является разработка на вышеизложенной основе обоснованных методов коррекции воспроизводительной способности коров.

Список литературы

1. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський – Житомир: «Полісся», 2011. – 288 с.

2. Watanabe I. Ultrastructure of the adhesion of bacteria to the epithelial cell membrane of three-day postnatal rat tongue mucosa: a transmission and high-resolution scanning electron microscopic study / I.Watanabe, K.OgawaII, M.Cavenaghi et al. // *Braz. Dent. J.*– 2007. – Vol.18. – №.4. – P. 346–351.

3. Василенко Т.Ф. Перспективы эффективного повышения воспроизводства продуктивных животных / Т.Ф. Василенко // *Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования, образование: Сб. трудов 4-й Междунар. научно-практ. конф. «Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности», 2-5 октября 2007 г., Санкт-Петербург, Россия.* – Санкт-Петербург: изд-во политехнического ун-та, 2007. – Т. 2. – С. 253–254.

4. Сахнюк В.В. Поліморбідність внутрішньої патології у високопродуктивних корів (експериментальне та теоретичне обґрунтування патогенезу, методів діагностики, лікування і профілактики): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. вет. наук: спец. 16.00.01 «Діагностика і терапія тварин» / В.В. Сахнюк – Біла Церква, 2009. – 38 с.

5. Бурлев В.А. Аутопаракринные нарушения регуляции ангиогенеза при пролиферативных формах заболеваний женской репродуктивной системы / В.А. Бурлев // *Акушерство и гинекология.* – 2006. – №3. – С.34–40.

6. Ольховская М.А. Биомаркеры «имплантационного окна» (обзор литературы). / М.А. Ольховская // *Проблемы репродуктологии.* – 2007. – №1 – С.72–77.

7. Aghajanova L. Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers, and transcriptomics / L. Aghajanova, H. Skottman, A. Stromberg et al. // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2008. – Vol.19. – P. 204–211.

8. Byung C.J. Expression of vascular endothelial growth factor-A and its receptor-1 in a luteal endometrium in patients with repeated in vitro fertilization failure / C.J. Byung, S.S. Chang // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol.91. – P. 528–534.

9. Кухта В.К. Белки плазмы крови патохимия и клиническое значение / В.К. Кухта, Э.И. Олецкий, А.Н. Стожаров – М.: Беларусь, 1986. – 60 с.

10. Макаренко О.В. Вплив нових вітчизняних анальгетиків на вміст серомукоїдів і сіалових кислот в умовах «ад'ювантного» артриту / О.В. Макаренко, В.Й. Мамчур // *Одеський медичний журнал.* – 2006. – №2 (94) – С.17–19.

11. Творогова М.Г. Диагностическое значение сиаловых кислот гликолипидов при гиперлипопротеинемиях / М.Г. Творогова, Т.А. Рожкова, В.П. Лупанова и др. // *Клин. лаб. диагностика.* – 1997. – № 7. – С. 19–22.

12. Yarema K.J. Characterizing glycosylation pathways / K.J. Yarema, C.R. Bertozzi // *Genome Biology.* – 2001. – № 2(5). – R. 1–10.

13. Паращенко І.В. Стан обміну компонентів сполучної тканини в плазмі крові корів залежно від стадії статевого циклу // *Науковий вісник луганського національного аграрного університету.* – 2011. - № 31 С.113.

14. Паращенко І.В. Динаміка білково-вуглеводних сполук у плазмі крові корів за різних стадій статевого циклу та стану статевої функції // *Матеріали*

науково-практичної конференції "Аграрна наука -виробництву" м. Біла Церква, БНУ (8-9 листопада 2012 р.) С.14.

15. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л.И. Слуцкий – М.: Медицина, 1969. – С. 76 – 135.

**THE CONTENTS OF TOTAL PROTEIN AND SIALIC ACID SEROMUCOID
THE FUNCTIONAL LAYER OF THE ENDOMETRIUM AT DIFFERENT
STAGES OF THE SEXUAL CYCLE OF SEXUAL FUNCTION AND
CONDITION OF COWS.**

Bondarenko I.V.

Sumy National Agrarian University

The results of the study concentrations of total protein, seromucoid and sialic acids in tissue extracts functional layer of the endometrium of cows at different stages of the sexual cycle status and sexual function. It was established that in estrus in cows is the maximum acceleration physiological metabolism of proteins, accompanied by increasing concentration in extracts of endometrial tissue total protein seromucoid, sialic acids, while the animals recover from endometritis and detention of manure, the concentration of total protein and sialic seromucoid acids in tissue extracts functional layer of the endometrium reaches its minimum.

Keywords: cows, proteins, seromukoidy, sialic acids, tissue extracts, endometrium.

Информация о авторах.

Бондаренко И.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры акушерства Сумского национального аграрного университета, Украина.

(Email – ira.bondarenko2016@yandex.ua)