



УДК 619:618:591.2:577.175.1

І.В. ПАРАЩЕНКО, канд. вет. наук, доцент
М.І. ХАРЕНКО, докт. вет. наук, професор
Сумський національний аграрний університет

В.Й. ЛЮБЕЦЬКИЙ, докт. вет. наук, професор
Національний університет біоресурсів і
природокористування України, Київ

ВМІСТ ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН У КРОВІ КОРІВ ЗА РІЗНИХ СТАДІЙ СТАТЕВОГО ЦИКЛУ І СТАНУ СТАТЕВОЇ ФУНКЦІЇ



Висвітлено результати дослідження вмісту фактора некрозу пухлин у крові корів за різних стадій статевого циклу і стану статевої функції. Встановлено, що за розквіту жовтого тіла та в період передбачуваного проєструсу в сироватці крові вміст TNF- α істотно зростає відносно показника корів під час охоти, що пов'язано з функціональною перебудовою та ремоделюванням ендометрію. У тварин, які перехворіли на затримання посліду та метрит і знаходяться в стані анафродизії, рівень TNF- α у сироватці крові знижується щодо показника передбачуваного проєструсу.

Ендометрій корів – це складна багатокомпонентна система, для фізіологічної перебудови якої під час статевого циклу потрібна координація міжклітинної взаємодії, котра реалізується через систему короткодистантних факторів – цитокінів [8].

Відомо, що підготовка ендометрію до імплантації регулюється гонадальними гормонами й цитокінами, які ідентичні до факторів росту й продукуються епітеліальними клітинами ендометрію, макрофагами та лімфоцитами [16, 17].

Стадія збудження супроводжується експресією в тканинах ендометрію різноманітних класів цитокінів (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, TNF- α), які беруть участь у регуляції численних

типів міжклітинних взаємодій, стероїдогенезу, проліферації гранульозних клітин, ендометрію, росту фолікулів, та експресією рецепторів до гонадотропінів. Водночас десинхронізація процесів диференціювання клітин слизової оболонки матки (через цитокіновий дисбаланс) призводить до порушення імплантації, що зумовлює неплідність [10, 11, 15, 21].

Таким чином, дослідження цитокінового профілю крові в корів за різних стадій статевого циклу дасть змогу визначити інформативні критерії оцінки повноцінності статевої циклічності, запліднення, розвитку неплідності, а також розробити прогностичні тести ефективності стимуляції статевої функції.

Цитокіни – поліпептидні сполуки, що синтезуються різними типами клітин і виконують роль комунікаційних факторів міжклітинної взаємодії [8, 16]. Найбільш поліфункціональним цитокіном є продукований макрофагами, лімфоцитами, нейтрофілами, ендотеліоцитами фактор некрозу пухлин (TNF- α) із широким спектром біологічної активності, який бере участь у багатьох фізіологічних і патологічних процесах [9].

TNF- α виявляє множинний ефект щодо різних типів клітин за рахунок модуляції експресії генів ростових факторів, цитокінів, факторів транскрипції, рецепторів клітинної поверхні й гострофазних протеїнів, стимулює катаболізм, активує синтез лізосомальних протеїназ і дегрануляцію нейтрофілів, пригнічує колагенсинтетичну активність фібробластів, виявляє прокоагуляційний, цитотоксичний ефект [5, 9].

Активність TNF- α залежить від концентрації відповідних рецепторів на поверхні клітин-мішеней, наявності циркулюючих антагоністів і концентрації самого цитокіну [2]. TNF- α діє на



© І.В. Парашенко, М.І. Харенко, В.Й. Любецький, 2013



клітину-мішень завдяки високоспецифічним мембранним рецепторам (трансмембранним глікопротеїнам), у яких позаклітинна частина відповідає за зв'язування з окремим цитокином [6]. Вплив TNF- α на клітини реалізується через рецептори, що експресуються на поверхні більшості клітин організму. Взаємодія TNF- α з рецепторами зумовлює активацію факторів трансскрипції, які є регуляторами генів широкого спектра медіаторів, таких як IL-1, IL-6, IL-8, простагландини, гормони [4, 6, 13].

TNF- α бере участь у репарації пошкоджень різної етіології, активуючи проліферацію фібробластів, ендотеліальних та епідермальних клітин, продукування ними IL-6, IL-8, IL-1 β , колагену й фібронектину, які забезпечують захист клітин [14, 22].

TNF- α , подібно до IL-1 і IL-6, є потужним стимулятором синтезу білків гострої фази під час пошкодження тканин, тому навіть незначне підвищення вмісту TNF- α у крові викликає мобілізацію енергетичних запасів і стимулює захисні реакції організму [3, 9, 22].

Окрім того, TNF- α має здатність індукувати процес апоптозу імунокомпетентних клітин, клітин сполучної тканини, а також циркулюючих і ексудативних нейтрофілів через активацію клітинних каспаз, які руйнують внутрішньоклітинні компоненти [5, 19].

Взаємодія TNF- α з поверхневими рецепторами викликає різні ефекти (цитотоксична дія й пригнічення росту

або стимуляція проліферації й диференціації), що залежить від типу клітин і їх фізіологічного стану, через існування цитотоксичних і проліферативних типів клітинних рецепторів [12].

За фізіологічної вагітності TNF- α знаходиться в децидуальних клітинах матки й трофобласті, бере участь в імунологічному нагляді й регуляції тканинного диференціювання й кровотворення, а наприкінці вагітності активує біосинтез простагландинів, сприяючи початку родової діяльності [18]. Встановлено, що в крові вагітних корів концентрація TNF- α досягає максимальних значень, поступово знижуючись до кінця вагітності та в післяродовий період [1].

Істотне збільшення вмісту TNF- α у крові самиць при порушенні відтворної функції свідчить про його участь у регуляції репродуктивних процесів, оскільки високий рівень зазначеного цитокину зумовлює активацію біосинтезу естрогенів через зниження експресії ферментів, що забезпечують утворення стероїдів, зокрема 17- β естрадіолу. Наявність великої кількості прозапальних цитокинів (у т. ч. TNF- α) у складі фолікулярної рідини свідчить про подібність основних фізіологічних механізмів розвитку овуляції та запальної реакції [7].

Зокрема за гострого й хронічного метриту в корів спостерігається значне збільшення прозапальних цитокинів (TNF- α , IL-1), що може спричинити зниження продукування лептину,

а також (через нівелювання дії інгібіторів ароматази) посилює перетворення тестостерону в естроген, провокуючи патологічне збільшення синтезу естрогенів [7, 20].

Мета роботи – з'ясувати роль TNF- α у розвитку й прояві статевої циклічності та визначити зміни концентрації TNF- α у сироватці крові корів за різних стадій статевого циклу і стану ендометрію.

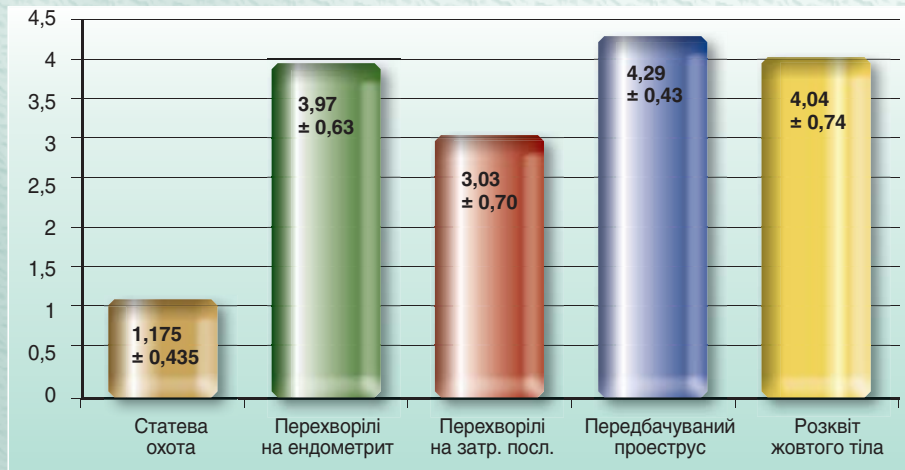
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводились у ВАТ ПЗ «Михайлівка» Лебединського району Сумської області на коровах чорнорябої та швіцької порід і в СФГ «Віталія» Буринського району Сумської області на коровах симентальської і бурої молочної порід.

Для визначення динаміки фактора некрозу пухлин у сироватці крові за різних стадій статевого циклу корів віком 3–10 років було поділено на групи. До групи 1 (n=11) увійшли корови, в яких реєстрували охоту (прояв рефлексу нерухомості), групи 2 (n=20) – тварини на 7–8-му добу статевого циклу (розквіт жовтого тіла), групи 3 (n=19) – корови на 17–18-ту добу статевого циклу (передбачувана тічка). Крім того, ми сформували дві групи клінічно здорових корів, які перехворіли на затримання посліду (n=14) й ендометрит (n=17) і знаходились у стані анафродизії.

У сироватці крові тварин дослідних груп визначали концентрацію TNF- α





Концентрація TNF-α у сироватці крові залежно від стану статеві функції в корів

методом твердофазного імуоферментного ELISA аналізу з використанням тест-системи Peninsula laboratories Inc (США). Отриманий цифровий матеріал було оброблено методами варіаційної статистики з використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з результатів досліджень, поданих на діаграмі, статеві охота в корів супроводжується істотним зниженням умісту TNF-α у сироватці крові порівняно з 7–8-ю добою статеві циклу (розквіт жовтого тіла) майже в 3,4 рази ($P < 0,001$) – з $4,04 \pm 0,74$ до $1,175 \pm 0,435$ пг/мл відповідно.

Водночас концентрація TNF-α у сироватці крові корів на 17–18-ту добу статеві циклу (передбачуваний проєструс) лише проявляла тенденцію до зростання щодо 7–8-ї доби статеві циклу в 1,06 рази – з $4,04 \pm 0,74$ до $4,29 \pm 0,43$ пг/мл відповідно, тоді як порівняно із періодом охоти показник зріс у 3,6 рази ($P < 0,001$).

Підвищення вмісту TNF-α у сироватці крові корів можна пояснити тим, що стадія проліферації супроводжується активним розмноженням клітинних елементів функціонального шару ендометрію з експресією цього цитокіну, що стимулює проліферацію й диференціацію клітин слизові оболонки матки, ініціює продукування інших цитокінів і простагландинів, забезпечує плейотропний ефект щодо

клітин різних типів, зумовлює активацію біосинтезу естрогенів через зниження експресії ферментів, які забезпечують утворення стероїдів [3], що в цілому деталізує процес ремоделювання міжклітинного матриксу під час різних стадій статеві циклу й оптимізує умови для нідації зиготи [2, 11].

Рівень TNF-α у тварин, які перехворіли на метрит і затримання посліду, був нижчим майже в 1,03 рази ($3,97 \pm 0,63$) і 1,33 рази ($3,03 \pm 0,70$) відповідно до аналогічного показника корів на 7–8-му добу статеві циклу (розквіт жовтого тіла), тоді як порівняно з 17–18-ю добою (передбачуваний проєструс) ця різниця становила 1,09 і 1,42 рази відповідно. Це, очевидно, пов'язано з відсутністю активної проліферації й диференціації клітин слизові оболонки матки, а також низькою здатністю ендометрію до нідації.

Тим часом уміст TNF-α у сироватці крові корів, які перехворіли на метрит і затримання посліду, порівняно з періодом охоти, навпаки, був вірогідно вищим у 3,3 і 2,6 рази відповідно.

Високий рівень TNF-α у сироватці крові тварин, які перехворіли на метрит і затримання посліду, можна пояснити наявними процесами дезорганізації сполучнотканинного матриксу ендометрію, що певною мірою підтверджується нашими попередніми дослідженнями, в яких було з'ясовано, що в корів у стані анафродизії спостерігається істотне зниження концентрації в плазмі крові сполучнотканин-

них маркерів ендометрію – глікопротеїнів і глікозаміногліканів [7], що, очевидно, зумовлено зниженням числа секреторних клітин ендометрію через індукцію їх апоптичної загибелі в умовах експресії TNF-α як основного чинника апоптозу.

ВИСНОВКИ

1. За розквіту жовтого тіла та в період передбачуваного проєструсу в сироватці крові вміст TNF-α істотно зростає щодо показника корів під час статевої охоти, що пов'язано з функціональною перебудовою і ремоделюванням ендометрію.

2. У тварин, які перехворіли на метрит і затримання посліду та знаходяться в стані анафродизії, рівень TNF-α в сироватці крові знижується відносно показника передбачуваного проєструсу в 1,09 і 1,42 рази відповідно.

Перспектива подальших досліджень – необхідність з'ясування зв'язку між системами цитокінів і сполучної тканини у патогенетичних механізмах розвитку неплідності корів та опрацювання на цій основі обґрунтованих методів корекції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Власенко С.А.** Вміст окремих цитокінів у крові корів з акушерськими, гінекологічними та гнійно-некротичними враженнями в ділянці пальця / С.А. Власенко, М.В. Рубленко // *Наук. вісник НУБіП України.* – 2009. – № 136. – С. 289–294.
2. **Ермолова Н.В.** Особенности гомеостаза ростовых факторов в перитонеальной жидкости и сыворотке крови у пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Н.В. Ермолова // *Известия высших учебных заведений. Спецвыпуск.* – 2006. – С. 54–57.
3. **Кевра М.К.** Фактор некроза опухолей: регуляция продукции в организме / М.К. Кевра // *Медицинские новости.* – 1995. – № 6. – С. 12–25.
4. **Кричевская О.А.** Фактор некроза опухоли α и его растворимые рецепторы при ревматических заболеваниях: клиническое и патогенетическое значение / О.А. Кричевская, Н.Г. Клюквина, Е.Н. Александрова // *Научно-*



- практическая ревматология. – 2005. – № 2. – С. 43–46.
5. **Лазоренко А.Б.** Роль фактора некрозу пухлин та модифікованого цитрулінованого віментину в розвитку імунозалежного запалення сполучнотканинних утворень копит у коней / А.Б. Лазоренко, В.Й. Іздепський // Ветеринарна медицина України. – 2012. – № 1 (191). – С. 27–31.
 6. **Никитина Л.А.** Роль матриксних белков, цитокинов і факторів ангиогенеза маточно-плацентарного комплексу в регуляції імплантації і плацентации / Л.А. Никитина, Е.М. Демидова, В.Е. Радзинский // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 3 – С. 5–10.
 7. **Паращенко І.В.** Динаміка гексоз, сполучених із білком, глікозаміногліканів та глікопротеїнів у плазмі крові корів за різних стадій статевого циклу та стану статевої функції / І.В. Паращенко // Вісник Сум. нац. аграр. ун-ту. – 2011. – № 2 (29). – С. 116–119.
 8. **Светлаков А.В.** Особенности гормонального статуса у женщин с абдоминально-висцеральним ожирением / А.В. Светлаков // Проблемы репродукции. – 2001. – № 3. – С. 16–18.
 9. **Симбирцев А.С.** Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – № 2. – С. 16–22.
 10. **Хонина Н.А.** Регуляторные факторы и цитокины в сыворотке и фолликулярной жидкости у женщин при контролируемой овариальной гиперстимуляции / Н.А. Хонина, И.В. Айзикович, Е.Я. Шевела // Цитокины и воспаление. – 2005. – № 2. – С. 438–444.
 11. **Bornstein S.R.** Cytokines and steroidogenesis / S.R. Bornstein, H.I. Rutkowski, I.R. Vrezas // Mol. Cell. Endocrinol. – 2004. – Vol. 215. – № 1–2. – P. 135–141.
 12. **Bullimore D.W.** Endometriosis is sustained by tumor necrosis factor-alpha / D.W. Bullimore // Med. Hypotheses. – 2003. – Vol. 60 (1). – P. 84–88.
 13. **Cyclic** changes in the primate oviduct and endometrium. The Physiology Reprod. / [R.M. Brenner, O.D. Slayden]. – New York: Raven Press, 2002. – P. 541–569.
 14. **Gupta S.** Norfloxacin therapy for hepatopulmonary syndrome: a pilot randomized controlled trial / S. Gupta, M. Afghan, L. Lilly et al. // Clin. Gastroenterol. and Hepatol. – 2010. – Vol. 8 (12). – P. 1095–1098.
 15. **Hannan N.J.** Coexpression of fractalkine and its receptor in normal human endometrium and in endometrium from users of progestin-only contraception supports a role for fractalkine in leukocyte recruitment and endometrial remodeling / N.J. Hannan, R.L. Jones, H.O. Critchley // J. Clin. Endocrin. Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 6119–6129.
 16. **Maxwell K.N.** The incidence of both serious and minor complications in young women undergoing oocyte donation / K.N. Maxwell, I.N. Cholest // Fertil. Steril. – 2008. – Vol. 89. – P. 2165–2171.
 17. **Rosenwaks Z.** Interleukin-1 levels in the supernatant of conditioned media of embryos grown in autologous endometrial coculture: correlation with embryonic development and outcome after in vitro fertilization / Z. Rosenwaks // Amer. J. Reprod. Immun. – 2000. – Vol. 43 (1). – P. 314–320.
 18. **Seli E.** Pathogenesis of endometriosis / E. Seli, M. Berkkanoglu, A. Arici // Obstet. Gynec. Clin. North Am. – 2003. – Vol. 30 (1). – P. 41–61.
 19. **Strasser A.** Apoptosis signaling / A. Strasser, L. O'Connor, V. Dixit // Annu. Rev. Biochem. – 2000. – Vol. 69. – P. 217–245.
 20. **Wu M.Y.** The role of cytokines in endometriosis / M.Y. Wu, H.N. Ho // Am. J. Reprod. Immunol. – 2003. – Vol. 49 (5). – P. 285–297.
 21. **Wu R.Z.** Macrophage contributions to ovarian function / R.Z. Wu, K.H. Van der Hoek, N.K. Ryan // Hum. Reprod. Update. – 2004. – Vol. 10. – № 2. – P. 119–133.
 22. **Zhang H.** Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / H. Zhang, D. Han, Z. Zhao // World J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13 (25). – P. 3500–3507.

Одержано 6.03.2013

Содержание фактора некроза опухолей в крови коров при различных стадиях полового цикла и состояния половой функции.

И.В. Паращенко, Н.И. Харенко, В.И. Любецкий

В статье отражены результаты исследования содержания фактора некроза опухолей в крови коров при различных стадиях полового цикла и состояния половой функции. Установлено, что в период расцвета желтого тела и в период предполагаемого проэструса в сыворотке крови содержание TNF-α существенно увеличивается относительно показателя коров во время половой охоты, что связано с функциональной перестройкой и ремоделированием эндометрия. У животных, переболевших эндометритом и задержанием последа и находящихся в состоянии анафродизии, уровень TNF-α в сыворотке крови снижается относительно показателя предполагаемого проэструса.

The content of tumor necrosis factor in the blood of cows at different stages of the sexual cycle and the state of the sexual function.

I.V. Paraschenko, M.I. Kharenko, V.I. Liubetskyi

The article is a study contents of tumor necrosis factor in the blood of cows at different stages of the sexual cycle and the state of the sexual function. It is established that in the heyday of the corpus luteum and during the alleged proestrus serum TNF-α content undergoes a significant increase in the relative rate of cows during the hunt, which is associated with functional restructuring and remodeling of the endometrium. The animals recover from endometritis and detention of the placenta and in a state anafrodizii level of TNF-α in serum reduced the relative rate expected proestrus. ○

