

В.Ф.Коваленко, Р.В.Аніскіна-Левчук

Прооксидантно – антиоксидантний статус свиноматок і їх плодів

Изучена динамика ПОЛ – АОЗ в печени, миометрии, эндометрии свиноматок второй половинны супоросности, а также в плодных оболочках и печени плодов. Выявлено усиление процессов перекисаации в тканях матки матери на протяжении третьего месяца супоросности. Установлено локальное влияние плодов на динамику изучаемых процессов в стенке матки, что выражается в интенсификации ПОЛ с одновременным усилением антиоксидантной защиты.

ВСТУП

Дослідження останніх років свідчать про важливу роль зміни антиоксидантного статусу у фізіологічних процесах. Увага до вивчення активних форм кисню (АФК), що є ініціаторами вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО), продуктів перекисації, як пошкоджуючих агентів, елементів антиоксидантного захисту (АОЗ) клітини пояснюється важливою роллю цього метаболічного шляху у обміні речовин і енергії в живих організмах [16]. У процесі індивідуального розвитку постійно відбувається розпад і поновлення жирових структур, що включає і їх перекисне окиснення (ПОЛ) [1]. Продуктами ПОЛ є гідроперекиси ліпідів, які змінюють модифікацію мембран клітинних і субклітинних структур, викликають лізис і набухання мітохондрій, гемоліз еритроцитів, пошкодження цитохромів, істотно впливають на процеси проліферації та клітинного поділу [8, 10, 12, 19, 20]. Відносна безпека ПОЛ створюється завдяки наявності системи АОЗ, що включає вітаміни, ферменти та інші біологічно активні речовини [4, 6].

Існує взаємозв'язок процесів перекисації і змін періодів онтогенезу, ступеня функціонування репродуктивної системи та фізіологічного стану тварин [1, 7].

Практично відсутні дані про особливості динаміки процесів ПОЛ у свиноматок і їх плодів, недостатньо досліджена також динаміка вмісту ферментів-антиоксидантів у тканинах протягом відтворювального циклу. Тому в наших дослідженнях вивчали процеси ПОЛ – АОЗ у материнській і дитячій частині плаценти, печінці свиноматок і плодів. Вважаємо, що це сприятиме розкриттю відповідних закономірностей обмінних процесів і вирішенню низки проблем для розробки ефективних засобів регуляції ембріогенезу.

МЕТОДИКА

Дослідження виконано в лабораторії фізіології та біохімії відтворення ІС УААН та промислового комплексу з виробництва свинини комбінату “Калитянський” Броварського району Київської області.

У дослідах використано 10 клінічно здорових, нормально розвинених свиноматок великої білої породи, віком 12-14 міс, забитих на 60-ту та 90-ту добу поросності, по 5 голів у кожній групі.

Після забою тварин миттєво відбирали зразки тканин з лівої латеральної ділянки печінки, слизової та м'язової оболонок матки в

ділянках розташування нормально розвинених і загиблих плодів і між ними, з плодових оболонок, і з печінки 60- і 90-добових плодів.

У відібраних зразках вивчали активність ксантиноксидази, як одного з можливих джерел активних форм кисню [21].

Для оцінки рівня вільнорадикального ПОЛ у досліджуваних тканинах визначали концентрацію первинних продуктів пероксидації - дієнових кон'югатів (ДК) спектрофотометричним методом [4]; вторинних, ТБК-залежних продуктів, до яких належить малоновий діальдегід (МДА), за реакцією їх з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Виразували вміст МДА до та після інкубації, а також приріст його за період інкубації [11].

Рівень АОЗ оцінювали за активністю каталази (за одиницю активності брали 1 мкмоль H_2O_2 за 1 хв на 1 г) [9]; глутатіонпероксидази [18] та глутатіонтрансферази [17] (за одиницю активності обох ферментів приймали 1 ммоль G-SH за 1 хв на 1 г). Визначали концентрацію відновленого глутатіону за допомогою реактива Елмана (5,5-дитіобіс-2-нітробензойна кислота) [15].

Отримані результати обробляли статистичним методом із використанням критерію т Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як свідчать одержані результати, у печінці свиноматок протягом третього місяця поросності відбуваються значні зміни прооксидантно-антиоксидантного статусу. Так, зменшується активність ксантиноксидази, концентрація первинних і вторинних продуктів пероксидації. Одночасно знижується активність антиоксидантних ферментів, що може бути наслідком становлення в цей період функціональної активності печінки плоду. Наші результати узгоджуються з дослідженнями Шості щодо зменшення вмісту у печінці свиноматок вітамінів-антиоксидантів у другій половині вагітності [14].

У печінці плодів спостерігається підвищення активності каталази, глутатіонперок-

сидази та глутатіонтрансферази, яке можна пояснити підготовкою організму плоду до аеробного дихання після народження [5].

У тканинах материнської частини плаценти впродовж третього місяця поросності в системі ПОЛ - АОЗ не зафіксовано значних змін (табл.1). Динаміка перебігу процесів пероксидації в ендометрії та міометрії подібна, хоч м'язова оболонка рогів матки характеризується вищим вмістом первинних і вторинних продуктів ПОЛ і нижчим рівнем АОЗ, що можливо пов'язано зі значним підвищенням навантаження на цю тканину. А вже до кінця поросності істотно підвищується інтенсивність окисних процесів у міометрії та рівень використання кисню [10].

У слизовій оболонці рогів матки спостерігається статистично достовірне підвищення активності ксантиноксидази та незначне збільшення вмісту ДК і МДА. Встановлена динаміка свідчить про інтенсифікацію перекисних процесів наприкінці поросності та виснаження системи АОЗ і узгоджується з даними інших дослідників [2, 14]. Однак підвищення активності каталази в цей період сприяє вчасному запобіганню наслідків окисних пошкоджень, що особливо необхідне при підготовці до пологів [7].

Динаміка перекисного окиснення у плодових оболонках на протязі третього місяця ембріогенезу відзначається зменшенням активності ксантиноксидази та концентрації ДК і збільшення МДА (табл. 2). Одночасно спостерігається зниження активності досліджуваних антиоксидантних ферментів та вмісту відновленого глутатіону. З перебігом вагітності ферментативна функція плодових оболонок проявляється меншою мірою, що, очевидно, викликає збільшення рівня ПОЛ і зниження АОЗ у їх тканинах зі збільшенням строку поросності та пов'язане з накопиченням у них шкідливих продуктів метаболізму. У печінці ж плодів від 60-ї до 90-ї доби спостерігається паралельно зі збільшенням вмісту продуктів ПОЛ, посилюється активність АОЗ. Таке явище очевидно викликане тим, що у другій половині поросності печінка плоду сягає функціональної зрілості [3].

Таблиця 1. Динаміка процесів ПОЛ – АОЗ у тканинах свиноматок (M±m)

Показник	Ендометрій (n=30)		Міометрій (n=30)		Печінка (n=30)	
	Доба ембріогенезу		Доба ембріогенезу		Доба ембріогенезу	
	60-та	90-та	60-та	90-та	60-та	90-та
Дієнові кон'югати, нмоль/г	242,2±8,32	253,43±5,52	253,46±6,62	307,13±7,86	384,49±16,9	351,15±7,24
Малоновий діальдегід, нмоль/г до інкубації	47,41±0,89	41,14±0,65	46,98±0,89	40,61±0,75	63,67±2,27	36,76±0,53**
після інкубації	67,45±1,39	60,92±1,05	79,32±1,28	71,66±1,36	116,16±4,44	66,00±1,53**
Малоновий діальдегід, приріст,%	42,54±1,79	48,34±1,84	69,30±1,21	76,52±1,38	82,18±3,5	79,35±3,44
Відновлений глутатіон, нмоль/г	0,072±0,003	0,061±0,002	0,056±0,003	0,059±0,003	0,13±0,009	0,09±0,008*
Каталаза, ум.од.	49,91±2,44	56,82±2,53	32,78±2,5	34,32±1,48	137,83±6,31	125,78±9,4
Ксантиноксидаза, нкат/кг·с	17,72±0,52	38,84±1,06***	-	-	69,7±1,95	39,21±0,94**
Глутатіонпероксидаза, ум.од.	0,87±0,038	0,74±0,03	0,69±0,038	0,69±0,038	1,49±0,093	1,1±0,097*
Глутатіонтрансфераза, ум.од.	0,116±0,024	0,079±0,003*	0,073±0,004	0,076±0,003	0,169±0,012	0,117±0,01*

Примітка: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

Таблиця 2. Динаміка процесів ПОЛ – АОЗ у тканинах плодів (M±m)

Показник	Печінка (n=30)		Плодові оболонки (n=30)	
	Доба ембріогенезу		Доба ембріогенезу	
	60-та	90-та	60-та	90-та
Дієнові кон'югати, нмоль/г	211,22±4,18	230,42±5,18	258,97±10,96	236,4±7,62
Малоновий діальдегід, нмоль/г до інкубації	97,94±1,37	119,87±1,88	50,61±1,13	78,06±1,5**
після інкубації	113,41±2,64	153,33±2,64*	81,23±1,87	126,18±2,46**
Малоновий діальдегід, приріст,%	16,08±0,55	27,9±0,83***	58,78±1,85	61,41±1,4
Відновлений глутатіон, нмоль/г	0,083±0,004	0,092±0,005	0,107±0,005	0,071±0,004*
Каталаза, ум.од.	44,27±2,7	71,45±1,88**	58,05±3,23	31,6±1,63**
Ксантиноксидаза, нкат/кг·с	28,14±0,44	33,1±1,1	31,79±0,79	28,63±0,76
Глутатіонпероксидаза, ум.од.	0,995±0,054	1,12±0,056	1,3±0,063	0,86±0,054*
Глутатіонтрансфераза, ум.од.	0,105±0,006	0,118±0,006	0,137±0,007	0,092±0,006

* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

Таблиця 3. Динаміка ПОЛ у тканинах матки в місцях розміщення плодів, між ними та в ділянках ембріональної смертності (M±m)

Показник	Ділянки прикріплення плодових оболонок (n=30)		Ділянки між плодовими оболонками (n=10)		Ділянки в місцях розміщення загиблих плодів (n=10)	
	Доби поросності					
	60-та	90-та	60-та	90-та	60-та	90-та
Ендометрій						
Дієнові кон'югати, нмоль/г	242,2±8,32	253,43±5,52	144,28**±4,75	161,6**±7,69	302,9***±4,63	313,6***±5,13
Малоновий діальдегід, нмоль/г до інкубації	47,41±0,89	41,13±0,65	41,78±1,06	42,97±1,42	64,6*±2,72	62,73*±2,71
після інкубації	67,45±1,39	60,9±1,05	78,55±1,73	78,3±2,71	131,69***±6,09	128,08***±6,01
Малоновий діальдегід, приріст, %	42,54±1,78	48,33±1,84	88,5**±3,96	82,16**±2,76	103,76***±3,38	103,8***±2,96
Відновлений глутатіон, нмоль/г	0,071±0,003	0,061±0,002	0,082±0,005	0,098*±0,003	0,053±0,003	0,044±0,003
Каталаза, ум.од.	52,06±2,43	55,82±2,37	26,93***±1,48	25,06***±1,74	29,83***±1,31	44,30±2,96
Ксантиноксидаза, нкат/кг·с	17,72±0,52	38,84±1,06	13,97±0,61	24,32*±1,26	0	0
Глутатіонпероксидаза, ум.од.	0,87±0,03	0,74±0,03	1,00±0,067	1,19*±0,04	0,65±0,046	0,48*±0,064
Глутатіонтрансфераза, ум.од.	0,116±0,02	0,079±0,003	0,11±0,007	0,126*±0,005	0,069**±0,005	0,057*±0,005
Міометрій						
Дієнові кон'югати, нмоль/г	253,46±6,61	307,13±7,86	164,87**±6,61	143,44**±5,95	299,6±10,22	318,13±5,55
Малоновий діальдегід, нмоль/г до інкубації	46,98±0,89	40,61±0,75	30,45*±1,53	37,25±0,74	50,25±1,03	36,84±0,9
після інкубації	79,31±1,27	71,66±1,35	45,77**±2,77	57,01*±1,25	96,48±2,75	79,15±2,47
Малоновий діальдегід, приріст, %	69,3±1,21	76,52±1,38	49,83*±3,19	53,26*±3,24	91,86±2,88	113,85*±3,06
Відновлений глутатіон, нмоль/г	0,056±0,003	0,058±0,002	0,077±0,004	0,084*±0,004	0,052±0,004	0,074±0,004
Каталаза, ум.од.	32,54±2,47	34,95±1,46	9,05***±0,71	8,02***±0,41	22,37*±1,32	22,25*±1,45
Глутатіонпероксидаза, ум.од.	0,69±0,003	0,69±0,04	0,94±0,056	1,04*±0,054	0,56±0,07	0,90*±0,056
Глутатіонтрансфераза, ум.од.	0,073±0,004	0,075±0,003	0,096±0,005	0,109*±0,005	0,067±0,005	0,096*±0,006

* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 порівняно з показниками в ділянках прикріплення плодових оболонок.

У слизовій оболонці рогів матки активність ксантинооксидази та вміст первинних продуктів пероксидації на 60-ту і 90-ту добу ембріогенезу в місцях плацентарної переважали над міжплацентарними ділянками. Концентрація МДА після інкубації та його приріст були вищими в ділянках, вільних від плодових оболонок. Таку динаміку можна пояснити тим, що, завдяки узгодженому метаболізму між материнським організмом і плодом наслідки пероксидації усуваються. Це підтверджується і посиленням функціонування каталази в місцях плацентарної.

Динаміка перебігу ПОЛ у міометрії, в місцях прикріплення плодових оболонок і між ними, аналогічна такій в ендометрії, однак у міжплідних ділянках вміст і первинних, і вторинних продуктів пероксидації був достовірно меншим. Не виключено, що плід впливає на інтенсифікацію процесів пероксидації.

На 60-ту та 90-ту добу ембріогенезу в тканинах матки у ділянках знаходження загиблих плодів інтенсивність перекисних процесів суттєво переважає над місцями, де є живі, а саме: майже у 1,3 раза вищий вміст первинних продуктів пероксидації, у два – вторинних. Тим більше, в зонах ембріональної смертності знижений АОЗ.

Таким чином, рівень процесів ПОЛ – АОЗ у тканинах матері і плоду неоднаковий і змінюється залежно від періоду ембріогенезу: зі збільшенням строку поросності процеси пероксидації в організмі матері підвищуються, інтенсивність ПОЛ більша в ділянках загиблих плодів. Завдяки становленню функціональної активності печінки плоду та посиленню АОЗ його організму система мати – плід підтримується у нормі.

Особливості динаміки ПОЛ та активності АОЗ захисту у фізіологічній системі мати – плід підтверджують положення про загальний і локальний вплив плоду на обмінні процеси в тканинах матки.

V.F. Kovalenko, R.V. Aniskina – Levchuk

THE PROOXIDATION - ANTIOXIDATION STATUS OF "MOTHER – FOETUS" SYSTEM

Lipids peroxidation and the antioxidation defence in a liver, myometrium, endometrium of sows second half gestation, and also in foetal membranes and liver of foetuses was studied. The increase in peroxidation processes in the tissues of the uterus during the 3rd month of gestation was ascertained. The local influencing of foetuses on dynamics of studied processes in a wall of a uterus fixed depending, what is displayed in intensification of lipids peroxidation with increase in the antioxidation defence of the same time.

The UAAS Pig – Breeding Institute, Poltava

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Безуглий Ю.В. Динамика показателей антиоксидантной системы в онтогенезе. – В кн.: Биоантиоксиданты и свободнорадикальная патология. – Полтава, 1997. – С.44.
2. Бурнев В.А., Сытников А.М., Высоколян Э.И., Волобуев А.И. Состояние липидной пероксидации, антиокислительной активности и маточно-плацентарного кровотока у женщин с хронической угрозой прерывания беременности. – В кн.: Тезисы III Всесоюз. конф. "Биоантиоксидант". – Т. 2. - 1989. - С.208.
3. Васильева Г.З. Морфологические изменения в желудке, печени, длиннейшей мышце спины плодов свиней при различных источниках протеина в рационах свиноматок: Автореф. дисс... канд. биол. наук. - Львов, 1984. – 20 с.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - С.272.
5. Дубинина Е.Е., Таланова И.Ю., Бурмистров С.О., Шаблов Н.П. Ферменты антиоксидантной системы эритроцитов и некоторые показатели гемодинамики крови в первые сутки жизни новорожденных детей в норме и при паталогических гипоксических состояниях // Укр. біохім. журн. 1997. - № 4. – С.72-78.
6. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. Антиоксидантная активность сыворотки крови // Вестник РАМН. – 1999. - № 2. – С.15-22.
7. Коваленко В.Ф., Цебржинский О.И. Антиоксидантный статус крови свиней в онтогенезе // Зоотехния. - 1997. – № 4. - С.29-31.
8. Лукьянова Л.Д., Балмуханова Б.С., Уголев А.Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. - М.:Наука, 1982. – 298 с.

9. Методы исследования в профпатологии / Под ред. Архиповой А.Г. - М.: Медицина, 1988. - С.123-125.
10. Михайленко Е.Т., Курский М.Д., Чуб В.В. Биохимия родового акта и его регуляция. - К.:Здоров'я, 1980. - 184 с.
11. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині / Під ред. І.П.Кайдашева. - Полтава. -1996. - С.123-128.
12. Ранчалис В.П., Бальчунене Л.С. «Парадоксальное» действие тиоловых соединений // Вестник РАМН. - 1995. - N 1. - С.44-49.
13. Шавкун В.Е. Особенности обмена веществ между организмом свиноматки и плодами: Автореф. дис... д-ра. биол. наук. - Львов, 1970. - 30 с.
14. Шостя А.М. Особливості динаміки вмісту вітамінів антиоксидантної дії в різних тканинах свиноматок та плодів. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. - Полтава, 1998. - 18 с.
15. Ellman G.L. Tissue sulphyd groups // Arch. Biochem. - 1959. - № 82. - P.70-77.
16. Clemens M. R. Free radical, lipid peroxidation and antioxidanzsen // Munch, med. Wschr. - 1987. - 131, № 24. - S.472-474.
17. Kraus P., Gross B. Particle-Bound Glutathione-S-Transferases // Enzyme. - 1979. - 24, N3. - P.205-208.
18. Maged Y., Siegers C.-P. Interrelation between lipid peroxidation and other hepatotoxic events // Biochem. Pharmacol. - 1984. - 33, N 13. - P.2001-2003.
19. Mills G.C. The Purificaton of Glutathione Peroxidase of Erythrocytes // J. Biol. Chem. - 1954. - 234, N 3 - P.502-506.
20. Srivasta S.K., Ansari N.N., Lin S. The effect of oxidants on biomembranes and cellular // Mol. and Ctl. Biochem. - 1989. - N 1-2. - P.149-157.
21. Westerfeld W.W. Dietary factors related to liver xantine oxidase// Cancer Res. - 1950. - 10, № 8. - P.1961-1966.

Ин-т свинарства УААН, Полтава

*Матеріал надійшов
до редакції 2.07.2001*