

УДК 591.1:636 – 591.044

© 2010

Булавенко Р.В., кандидат сільськогосподарських наук

Полтавський національний технічний університет ім. Юрія Кондратюка

АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС ПЕЧІНКИ СВИНОМАТОК ТА ЇХ ПЛОДІВ

Рецензент – кандидат біологічних наук А.М. Шостя

Вивчена динаміка вмісту первинних (дієнових кон'югатів) і вторинних (малонового діальдегіду) продуктів перекисного окислення ліпідів і активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази) в печінці свиноматок у різні періоди відтворювального циклу, а також печінці шестидесяти-, дев'яностоденних плодів і новонароджених поросят. Встановлена залежність рівня ПОЛ та АОЗ у печінці дорослих тварин від їх фізіологічного стану, що проявляється в посиленні пероксидації та активності антиоксидантних ферментів. У результаті становлення функціональної діяльності печінки плоду зростає активність антиоксидантних ферментів, досягаючи у новонароджених поросят максимальних значень.

Ключові слова: антиоксиданти, ембріогенез, перекисне окислення ліпідів, печінка, плоди, свиноматка.

Постановка проблеми. Перебіг метаболічних процесів, що відбуваються у кожній аеробній клітині, як правило, включає перекисне окислення ліпідів (ПОЛ). Не виключено, що в природі це домінуючий шлях окислювальних реакцій, не дивлячись на можливість утворення вільних радикалів, які шкідливо діють на клітинні структури [4]. Одним із процесів, що найчастіше викликає виникнення шкідливих радикальних реакцій, є розпад гідроперекисів ліпідів, що утворюються в результаті перекисного окислення поліненасичених жирних кислот. Продукти ПОЛ є активними окислювачами – вони пошкоджують клітинні мембрани й органели, порушують перебіг метаболічних процесів тощо [2, 9].

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Відносна безпека перекисного окислення забезпечується наявністю ферментних і неферментних механізмів, що попереджують і усувають наслідки окислювальних пошкоджень. Вони є складовою частиною системи антиоксидантного захисту організму [1, 4].

Експериментальні дослідження вказують на певний взаємозв'язок антиоксидантного статусу та перекисного окислення ліпідів із фізіологічними й біохімічними процесами в тканинах тварин [8].

Одним із органів, функціонування якого відображає загальний стан організму, є печінка. Вона виконує понад 500 метаболічних функцій і тому відіграє важливу роль в обміні речовин [6].

Гепатоцити печінки можуть підлягати перекисному окисленню, що супроводжується утворенням шкідливих продуктів, серед яких – дієнові кон'югати та малоновий діальдегід. Поряд із цим, у печінці синтезуються окремі антиоксидантні ферменти: каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, супероксиддисмутаза, блокада яких викликає клітинні мутації [6].

У літературі ще недостатньо даних про вивчення перебігу процесів ПОЛ у печінці сільськогосподарських тварин у різні періоди онтогенезу. Вивчення цього питання дає змогу розкрити відповідні закономірності обмінних процесів в організмі матері та плодів і може використовуватися у вирішенні низки проблем із розробки ефективних способів регуляції ембріогенезу. Тому в наших дослідженнях першочергово вивчали динаміку процесів перекисного окислення ліпідів та рівня антиоксидантного захисту у печінці свиноматок і плодів.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження виконані в лабораторії фізіології та біохімії ІСв УААН та агрокомбінаті з виробництва свинини "Калита" Броварського району Київської області.

У дослідах використано 63 нормально розвинені свинки великої білої породи, відібраних за принципом аналогів – за віком (8-9 місяців) та живою масою (125-130 кг).

Частину тварин (40 голів) було забито в такі періоди відтворювального циклу: статевий спокій, охота, на 10-у, 15-у, 20-у, 30-у, 60-у та 90-у добу поросності – по 5 голів із кожної групи.

Відразу ж після забою відбирали зразки печінки у свиноматок (із лівої латеральної частки), 60- і 90-денних плодів та новонароджених поросят.

Для оцінки рівня вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у досліджуваних тканинах визначали концентрацію первинних продуктів пероксидації – дієнових кон'югатів (ДК),

вторинних продуктів пероксидації, ТБК-реагуючих продуктів, до яких належить малоновий диальдегід (МДА) [3, 7].

Про стан системи антиоксидантного захисту свідчила активність ферментів каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази [5, 10, 11].

Отриманий цифровий матеріал був підданий математичній обробці згідно з програмою Microsoft Excel за допомогою комп'ютера IBM PC Pentium III у середовищі Windows 2000.

Обчислювалися стандартні статистичні показники, зокрема середнє арифметичне (М), його стандартна похибка (м). Статистична вірогідність різниці між середніми показниками визначалася за допомогою довірчого рівня (р) за таблицею, базуючись на вирахованому стандартному відхиленні (t – критерій Ст'юдента-Фішера). Різницю між середніми вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати досліджень. Вміст дієнових кон'югатів у печінці свиноматок впродовж від-

творювального циклу коливався в значних межах. Мінімальні показники відзначені у період статевого спокою, максимальні – на 60-у добу поросності (табл.1). У період охоти спостерігається збільшення концентрації ДК, після чого – незначний спад на 10-у добу і знову зростання в період імплантації (15-а доба).

Від 20-ї доби ембріогенезу до кінця другого місяця поросності вміст досліджуваного показника зростає, залишаючись на високому рівні протягом третього місяця поросності.

У печінці плодів на протязі третього місяця ембріогенезу спостерігається зростання досліджуваного показника на 9,09%, а при народженні – на 32,58% порівняно з 60-ю добою (табл. 2).

Загальною закономірністю вмісту малонового диальдегіду в печінці свиноматок є збільшення його в період охоти порівняно зі статевим спокоєм, зменшення на 10-у та 15-у добу, зростання у другу половину поросності з незначним спадом до її кінця (табл. 1).

1. Динаміка показників ПОЛ-АОЗ у печінці циклюючих та порослих свиноматок

Досліджувані показники	Періоди відтворювального циклу								
	СС, n=8	ОХ, n=6	добы поросності						
			10-а, n=8	15-а, n=10	20-а, n=10	30-а, n=10	60-а, n=10	90-а, n=10	
Дієнові кон'югати, нмоль/г	163,18	*	*	**				***	***
Малоновий диальдегід до інкубації, нмоль/г	34,11	***			**	**	**		
Малоновий диальдегід після інкубації, нмоль/г	44,80	***		*	***	***	***	***	66,00*
Приріст малонового диальдегіду, %	31,32	***		*	***	***	***	***	***
Каталаза, одиниці активності	107,68	***		***	**	**	*		
Глутатіонпероксидаза, одиниці активності	1,11	1,34	***	***	*	*	*	*	1,1
Глутатіонтрансфераза, одиниці активності	0,12	0,14	***	***	*	*	*	*	0,11

Примітка: 1. СС – статевий спокій, ОХ – статева охота.

2. Ступінь ймовірності різниці порівняно зі статевим спокоєм:

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

2. Динаміка показників ПОЛ-АОЗ у печінці плодів та новонароджених поросят, $M \pm t, p$.

Досліджувані показники	Доби ембріогенезу		Новонароджені поросята	Порівняно з 60-ю добою, %	
	60-а, n=30	90-а, n=30		90-а	115-а
Дієнові кон'югати, нмоль/г	212,22 ±4,18	230,42 ±5,18	280,03 ±4,57	109,09	*
Малоновий диальдегід до інкубації, нмоль/г	97,94 ±1,37	119,87 ±1,88	124,15 ±2,08	122,40	126,76
Малоновий диальдегід після інкубації, нмоль/г	113,41 ±1,87	153,33 ±2,64	162,73 ±2,58	135,2	*
Приріст малонового диальдегіду, %	16,08 ±0,55	27,90 ±0,83	31,27 ±0,87	*** 173,56	*** 194,48
Каталаза, одиниці активності	44,27 ±2,7	71,45 ±1,88	100,4 ±4,41	** 161,40	*** 226,79
Глутатіонпероксидаза, одиниці активності	0,995 ±0,054	1,12 ±0,056	1,4 ±0,14	112,22	** 140,28
Глутатіонтрансфераза, одиниці активності	0,105 ±0,006	0,118 ±0,006	0,16 ±0,013	112,40	** 151,42

Динаміка вмісту малонового диальдегіду в печінці плодів характеризується зростанням від другого до третього місяця ембріогенезу, досягаючи максимальних значень у печінці новонароджених поросят.

Каталазна активність печінки досить висока й коливається в широких межах. Найменші її показники виявлені на 15-у добу поросності, найбільші – в період охоти. З початком поросності активність ферменту знижується майже в 6 разів на 15-у добу. В період плацентації (20-30-а доба) каталазна активність зростає, а до 90-ї доби поросності поступово зменшується (табл. 1).

У печінці плодів від 60-ї до 90-ї доби ембріогенезу спостерігається різке зниження активності каталази. Однак у новонароджених цей показник зростає на 41,07% порівняно з показниками 60-ї доби.

Активність глутатіонпероксидази (ГПО) у печінці холостих та поросних свиноматок змінювалася таким чином: від періоду статевих спокою до охоти вона зростала на 20,73% і продовжувала збільшуватися протягом перших 15-и діб поросності, досягаючи максимальних значень (табл. 1).

Після закінчення періоду імплантації спостерігається різке, більше, ніж удвічі, зменшення глутатіонпероксидазної активності, на 30-у добу незначне зростання, а в подальшому – її зниження аж до кінця поросності. На 90-у добу зареєстрований мінімум.

Найменші показники глутатіонтрансферазної (ГТР) активності печінки матері зафіксовані двічі:

в період статевих спокою та на 90-у добу поросності, максимальні – на 15-у добу.

З настанням періоду охоти у свинок досліджуваній показник зростає на 22,07%. Після запліднення він продовжує збільшуватися, досягаючи максимуму на 15-ту добу, після чого поступово спадає до 90-ї доби.

У печінці плодів значних коливань активності глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази не спостерігається, хоча виявлена тенденція до збільшення її в процесі росту плоду (табл. 2).

У період новонародженості відмічено статистично достовірне зростання активності ГПО і ГТР на 20,28 і 51,42%, порівняно з 60-ю добою відповідно.

Як свідчать наведені дані, в період охоти у печінці свиноматок спостерігається збільшення концентрації продуктів пероксидації, що можна пояснити активізацією метаболічних процесів у цей час, що відбивається на стані системи антиоксидантного захисту; активність антиоксидантних ферментів також зростає. Особливо це стосується каталази – основного фермента у знешкодженні пероксиду водню, оскільки – за даними окремих дослідників при стресі печінка виробляє близько 75% пероксиду водню усього організму [10].

Із настанням вагітності, у першу її декаду, концентрація дієнових кон'югатів залишається на високому рівні, а вміст малонового диальдегіду (до, після інкубації та приріст) зменшується. Такий дисбаланс між вмістом первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів свідчить, що завдяки захисним антиоксидантним механізм

мам відбувається вчасне знешкодження наслідків пероксидації.

Критичний період імплантації (15-а доба) характеризується збільшенням вмісту дієнів разом зі зростанням приросту малонового діальдегіду, що свідчить про напруження системи антиоксидантного захисту.

Падіння каталазної активності у печінці в ці періоди компенсується посиленням функціонуванням глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази.

Концентрація первинних і вторинних продуктів ПОЛ під час плацентарної (20-30 доба) зростає ще більше; це супроводжується активізацією каталази. Вміст дієнових кон'югатів продовжує збільшуватися до кінця другого місяця ембріогенезу, як і МДА до та після інкубації, хоча приріст його до цього часу вже зменшується. Така динаміка відображає посилення окислювальних процесів у тканинах печінки у другій половині вагітності, що підтверджується й іншими експериментами [1]. Активність досліджуваних антиоксидантів у даній період знижується, що може бути наслідком становлення функціональної активності печінки плоду й транспортування їх від організму матері до тканин останнього. Наші дані щодо зниження вмісту у печінці свиноматок вітамінів-антиоксидантів у другій половині вагітності узгоджуються з дослідженнями А.М. Шості [11].

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Бурнев В.А., Сытников А.М., Высоколян Э.И. [и др.] Состояние липидной пероксидации, антиокислительной активности и маточно-плацентарного кровотока у женщин с хронической угрозой прерывания беременности // Тезисы III Всесоюз. конф. "Биоантиоксидант". – Т. 2. – М., 1989. – С. 208.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 272с.
3. Воскресенский О.Н. Влияние природных биоантиоксидантов на патологические процессы, связанные со старением//Итоги науки и техники. Серия: Общие проблемы биологии. – М.: ВИНТИ.– 1986. – С. 183-201.
4. Евстегнеева Р.П. Биоантиоксиданты как регуляторы перекисного окисления // Тезисы докладов V Международной конференции "Биоантиоксиданты". – 18-20 ноября 1998. – С. 7.
5. Методы исследования в профпатологии. / Под ред. О.Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – 208 с.

У передродовий і родовий періоди знижується антиоксидантний захист у печінці свиноматок з одночасним падінням пероксидації. У печінці плодів спостерігається зростання активності каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази, яке можна пояснити підготовкою організму плоду до аеробного дихання після народження.

Рівень перекисного окислення ліпідів у печінці новонароджених поросят досить високий, як і активність антиоксидантних ферментів, що, очевидно, пов'язано з адаптаційними механізмами до пошкоджуючих факторів зовнішнього середовища.

Висновки: 1. Рівень вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів та активність антиоксидантної системи в печінці свиноматок характеризується високою лабільністю й обумовлений їх фізіологічним станом.

2. Вагітність сприяє посиленню антиоксидантного статусу в результаті накопичення у печінці матері первинних та вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, особливо у критичні періоди ембріогенезу.

3. Зі становленням функціональної діяльності печінки плоду активність антиоксидантних ферментів зростає, досягаючи максимальних значень у новонароджених.

6. Мусил Я., Новакова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах (пер. с англ.). – М.: Мир, 1981. – 216 с.
7. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині /Беркало Л.В., Бабович О.В., Боброва Н.О. [та ін.] // Під. ред. Кайдашева І.П., Катрушова О.В., Соколенко В.М. – Полтава, 1996. – 271 с.
8. Шостя А.М. Особливості динаміки вмісту вітамінів антиоксидантної дії в різних тканинах свиноматок та плодів. Дис... канд. біол. наук, УААН, 1998. – 203 с.
9. Янович В.Г., Лагодюк П.З. Обмен липидов у животных в онтогенезе. – М.: Агропромиздат, 1991. – 316 с.
10. Kraus P., Gross B. Particle-Bound Glutathione-S-Transferases // Enzyme. – 1979. – V. 24. – №3. – P. 205-208.
11. Mills G.C. J. Biol. Chem. – V. 234. – №3. – 1994. – P. 502-506.