

**ВЛИЯНИЕ ФАЗ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ЦИКЛА
НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРООКСИДАНТНО-
АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА У СВИНОК**

**С. А. Усенко, А. М. Шостя, А.С. Сябро, В. Г. Слинько,
В. И. Березницкий, Е. В. Чухлеб, О. Г. Мороз**

Полтавская государственная аграрная академия, г. Полтава, Украина

Введение

Поскольку особенности физиологии репродуктивной системы человека изучить сложно с точки зрения этики, целесообразно проводить первичные соответствующие исследования на животных. Наиболее подходящим для этих исследований считается организм свиньи (*Sus scrofa domesticus*) в связи с её аналогией с человеком на физиологическом и молекулярном уровнях, ведь именно у них развивается эпителиохориальный вид плаценты с гистотрофным типом питания эмбрионов, продолжительность которого длится в течение всего периода беременности (супоросности). Существуют мнения, что изучение особенностей и закономерностей метаболических процессов в системе «мать-плод» этого вида животных, поможет решить проблемы физиологии репродукции млекопитающих. По экспериментальным данным известно, что активные формы кислорода имеют большое значение в обеспечении созревания яйцеклеток, выживаемости и подвижности спермиев [6]. Во время беременности организм матери находится под влиянием оксидативного стресса, который приводит к нарушениям процессов развития плаценты, плодов и преждевременным родам [7, 5, 8]. Для решения этой проблемы необходимо разработать программы антиоксидантного питания на основе глубокого понимания механизма и их специфического действия [9]. В этом направлении перспективными являются исследования особенностей формирования прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза (ПАГ) в критические периоды эмбрионального развития, что позволит глубже понять важные процессы репродуктивной функции у животных и человека для разработки методов регуляции их воспроизводительной способности.

Цель работы

Целью работы было установить особенности формирования прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза у свинок в разные периоды полового цикла и беременности.

Материалы и методы исследования

В опытах по принципу аналогов использовано 5 клинически здоровых свинок миргородской породы возрастом 8 месяцев и массой тела 125–130 кг. В свинок проводили забор крови натошак в разные периоды воспроизводительного цикла: лютеальная фаза, эструс, на 15, 20, 30, 60, 90, 104, 113 сутки беременности и через 12 часов после опороса. Состояние прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза (ПАГ) в крови исследовали по активности ксантиноксидазы (КСО) [1], концентрацию диеновых конъюгатов (ДК) [4], содержанием ТБК-активных

соединений [4]. Оценивали уровень антиоксидантной защиты по активности супероксиддисмутаза (СОД) [4], активностью каталазы (КТ) [3], содержанием восстановленного глутатиона [4], аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот (АК) [4], содержанием витамина А и концентрацию витамина Е [2].

Результаты исследований

Данные эксперимента свидетельствуют, что в крови циклирующих свинок в фазе эструса по сравнению с лютеальной, наблюдается существенная перестройка метаболических процессов в направлении ускорения течения перекисного окисления. Это подтверждается повышением активности про-оксидантного энзима КСО на 30,5 % ($p < 0,05$), что существенно ускорило гемолиз эритроцитов на 16,5 %. Такие изменения сопровождаются увеличением содержания ДК в 2,1 ($p < 0,01$) и ТБК-активных комплексов 1,3 раза (см. таблицу).

При этом наблюдалась ускорения функциональной активности антиоксидантных ферментов: СОД на 10,3 % и снижение КТ – 33,2 %. Именно в этот период выявлено существенное использование восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты, а также поступлением в кровь витамина А и Е. Первые 15 суток развития беременности характеризовались дальнейшим напряженным ходом процессов перекисного окисления, что проявлялось в активизации энзимов: КСО – 33 % и СОД – 55,7 %, увеличении концентрации ДК – 89,8 % ($p < 0,05$), ТБК-активных комплексов на 53,8 % ($p < 0,05$), а также ускоренное использования низкомолекулярных антиоксидантов – снижении содержания восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты соответственно на 40 % ($p < 0,05$) и 31,2 % ($p < 0,01$) по сравнению с лютеальной фазой.

Состояние ПАГ в крови свинок миргородской породы в течении воспроизводственного цикла $M \pm m$ (n=10)

Показатели ПАГ	Фазы воспроизводственного цикла								
	Люте-альная	Эструс	Сутки беременности						Через 12 часов после родов
			15	30	60	60	104	113	
Перекисная резистентность эритроцитов. %	13,95 +2,01	16,25 +1,67	16,95 +1,95	14,10 +1,71	12,25 +2,77	13,03 +1,59	17,95 +2,85	19,07 +2,39	17,29 +2,77
Ксантиноксидаза, мккат/сек .л	27,86 ±1,81	36,35* ±3,31	37,05 ±3,96	40,60* ±4,17	35,35** ±3,28	33,55 ±2,98	35,15 ±2,98	38,25* ±3,45	31,85 ±3,73
Супероксиддис-мутаза од.акт/мл	0,29 ±0,031	0,32 ±0,03	0,45 ±0,073	0,63* ±0,112	0,58* ±0,093	0,71** ±0,117	0,75* ±0,153	0,82** ±0,14	0,69* ±0,13
Каталаза, H ₂ O ₂ /хв.л	1,93 +0,12	1,29 +0,08	1,77 +0,08	1,70 +0,09	2,06 ±0,06	1,06*** +0,07	1,23*** +0,06	1,06*** ±0,08	1,46** +0,07
Восстановлен-	0,55	0,44	0,37*	0,33*	0,42	0,29*	0,35*	0,31**	0,28**

ный глутатион, мкмоль/л	+0,04	+0,09	+0,06	0,07	+0,095	+0,08	+0,07	+0,06	+0,05
Аскорбиновая кислота, мкмоль/л	18,29 +1,38	15,09 +1,38	11,58** +1,34	12,57* +1,59	11,58* ±2,13	13,65 +1,69	10,56** +1,72	9,78*** ±1,29	10,21** +1,45
Дегидроаскор- биновая кислота, мкмоль/л	12,71 +1,42	18,59* +1,44	16,35 +1,91	13,92 +1,67	14,66 ±1,56	15,78 +2,06	14,22 ±1,90	15,42 ±2,19	12,41 ±1,82
Витамин А, мкмоль/л	1,95 ±0,38	2,35 ±0,23	1,62 ±0,25	1,44 ±0,26	1,86 ±0,24	1,21 ±0,21	1,09 ±0,18	1,19 ±0,23	0,91* ±0,20
Витамин Е, мкмоль/л	0,87 ±0,22	1,05±0,24	0,94 ±0,25	0,79 ±0,17	0,88 ±0,15	0,58 ±0,09	0,49 ±0,08	0,36 ±0,08	0,32* ±0,07
Диеновые конъю- гаты, ммоль/л	1,76 ±0,19	3,68** ±0,403	3,34* ±0,48	3,30** ±0,39	2,83* ±0,42	2,26 ±0,36	3,09* ±0,38	3,23* ±0,42	1,28 ±0,43
ТБК-активные комплексы, мкмоль/л	12,82 +1,39	16,43 +2,47	19,72* +2,68	20,74* +2,75	15,35 +2,11	13,72 +1,81	14,43 +1,45	16,85 +2,16	11,47 +1,43
ТБК-активные комплексы после инкубации, мкмоль/л	14,15 +1,39	23,60* +3,51	21,75* +2,61	21,75* +2,61	16,43 +1,89	17,25 +1,89	16,18 +1,83	19,84 +2,64	12,58 +1,43

* $P < 0,05$. ** $P < 0,01$. *** $P < 0,001$ по сравнению с показателями лютеальной фазы.

По окончании первого месяца беременности, интенсивность протекания процессов перекисного окисления достигает наибольшей интенсивности, что подтверждается максимальным уровнем функциональной активности прооксидантного энзима, генератора активных форм кислорода – КСО и содержания вторичных продуктов пероксидации – ТБК-активных комплексов. Это сопровождается дальнейшим ростом уровня СОД и постоянным снижением содержания восстановленного глутатиона, аскорбиновой кислоты, витаминов А и Е.

В течение второго месяца беременности в организме свинок наблюдалось снижение интенсивности пероксидации липидов – уменьшение активности КСО на 13,0 %, содержания ДК – 14,2 и ТБК-комплексов – 26,0 %, а также устойчивости эритроцитов к перекисного гемолиза – 13,1 %. В результате установлено повышение ёмкости системы антиоксидантной защиты за счёт роста активности КТ на 21,2 %, содержания восстановленного глутатиона – 27,3 %, витамина А – 29,2 % и витамина Е – 11,4 %. По окончании 90-го дня супоросности свинок происходило незначительное повышение содержания аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот, а также существенное снижение витамина А в 1,5 раза и витамина Е в 1,5 раза, что очевидно связано с ростом депонированных функций печени плодов до этих веществ. В свинок перед родами наблюдалось смещение ПАГ в направлении интенсификации пероксидации за счёт увеличения активности КСО ($p < 0,05$) и СОД ($p < 0,01$), что сопровождалось накоплением содержания

дегидроаскорбиновой кислоты, диеновых конъюгатов ($p < 0,05$) и ТБК-активных комплексов, а также снижением концентрации низкомолекулярных антиоксидантов: восстановленного глутатиона ($p < 0,01$) и витамина Е. Очевидно, такие метаболические изменения привели к снижению уровня устойчивости эритроцитов к перекисного гемолиза.

В послеродовой период отмечено снижение индикативных показателей интенсивности пероксидации липидов: ДК в 2,5 и ТБК-активных комплексов в 1,5 раза. В результате установлено повышение уровня функциональной активности КТ на 37,7 %. Такие изменения происходили на фоне уменьшения концентрации витамина А на 23,5 % и витамина Е – 11 %, что является свидетельством их ведущей роли в обеспечении адаптационных процессов в послеродовой период для свиноматок и поросят. Полученные материалы исследований свидетельствуют о том, что в крови свинок в течение воспроизводственного цикла наиболее лабильными среди энзимов является КСО и СОД, где максимальные значения обнаружено перед родами, а также низкомолекулярные антиоксиданты, витамины А и Е в послеродовой период, по сравнению с лютеальной фазой.

Таким образом, установлены особенности формирования ПАГ в крови свинок, в целом имеют близкую динамику протекания процессов пероксидации в миометрии и эндометрии беременных свиноматок. Выявленные закономерности ускорения данных процессов совпадают с ведущей ролью активных форм кислорода в обеспечение оплодотворения, имплантации и плацентации эмбрионов, защитой плодов от окислительного стресса, подготовкой и проведением родов. Выявленные изменения состояния ПАГ у свинок в зависимости от периода воспроизводственного цикла в полной мере подтверждают гипотезу о циклической лабильности гомеостаза метаболических процессов в их организме, а именно определенными периодическими колебаниями, обусловленные изменением их физиологического состояния, направленные на поддержание физиологической нормы протекания процессов пероксидации [4].

Заключение

В крови свинок в период эструса ускоряются процессы перекисного окисления: растет активность ксантиноксидазы, повышается содержание диеновых конъюгатов и ТБК-активных соединений в 1,3 раза. Эти изменения сопровождаются снижением резистентности эритроцитов к перекисному гемолизу и ростом уровня антиоксидантной защиты – активности супероксиддисмутазы, витаминов А и Е. При этом у свинок перед родами наблюдается смещение ПАГ в направлении интенсификации пероксидации, а именно за счет увеличения активности КСО и СОД. Эти изменения происходят на фоне ускорения процесса перекисного окисления – увеличение концентрации диеновых конъюгатов и ТБК-активных комплексов, и снижение содержания низкомолекулярных антиоксидантов: восстановленного глутатиона и витамина Е. Формирования прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в крови свинок определяется фазами воспроизводительного цикла.

Литература

1. Визначення активності ксантиноксидазної активності реакції тимуса щурів / І. К. Кісельова [та інш.] // Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка. – К., 2005. – 28 с.
2. Сучасні методики досліджень у свинарстві / ред. В. П. Рибалко. – Полтава, 2005. – 228 с.
3. Методы лабораторного определения общей перекисной разрушающей активности ферментов растений / А. К. Величко [и др.] // Весн. Пензенского гос. пед. ун-та. – 2009. – Т. 14 (18). – С. 44–48.
4. Шабунин, С. В. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления в системе антиоксидантной защиты организма / С. В. Шабунин. – Воронеж, 2010. – С. 36–37, 51–52.
5. Физиологические аспекты метаболизма в системе мать-плацента-плод свиньи : монография / В. Ф. Коваленко [и др.]. – Полтава, 2012. – 204 с.
6. Boronate probes for the detection of hydrogen peroxide release from human spermatozoa / M. S. Purdey [and etc.] // Free Radic Biol Med. – 2015. – Vol. 81. – P. 69–76.
7. Different enzymatic antioxidative pathways operate within the sheep caruncular and intercaruncular endometrium throughout the estrous cycle and early pregnancy / K. H. Al-Gubory [etc.] // Theriogenology. – 2017. – Vol. 99. – P. 111–118.
8. Free Radicals and Antioxidants Status in Pregnancy: Need for Pre- and Early Pregnancy Assessment / S. O. Ogbodo [etc.] // Am. J. Med. and Med. Sc. – 2014. – Vol. 4 (6). – P. 230–235.
9. Oxidative stress in pregnancy and reproduction / K. Duhig [etc.] // Obstet Med. – 2016. – Vol. 9 (3). – P. 113–116.____