

ТІОЛДІСУЛЬФІДНА СИСТЕМА В РАННЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ ПОРОСЯТ ЗА УМОВ УВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСНИХ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК ЕСЕНЦІЙНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

С. О. Шаповалов

Інститут тваринництва НААН

Встановлено, що порушення синтезу глутатіону, систем регулювання його рівня та збільшення розпаду може призвести до гемолізу еритроцитів. Показано, що введення композиції есенційних мікроелементів у ранньому постнатальному онтогенезі позитивно впливає на редокс-потенціал та тіолдісульфідний статус організму. Встановлено, що максимальний прояв тканинної специфічності редокс-потенціалу та тіолдісульфідного статусу організму поросят у ранньому постнатальному онтогенезі є у крові та печінці.

Із усіх свійських тварин поросята особливо чутливі до нестачі Феруму в ранньому постнатальному онтогенезі. Існують певні біологічні бар'єри, які перешкоджають переходу Феруму з крові свиноматки до ембріона. Тому поросята частіше, ніж інший молодняк, хворіють на аліментарну анемію [10, 11]. Одночасно з їх розвитком в організмі посилюються компенсаторно-приспосувальні процеси, спрямовані на поповнення крові еритроцитами і гемоглобіном, посилення регенерації та проліферації клітин у кістковому мозку, відповідно змінюється обмін речовин [2, 4]. Повнота прояву і потужність цих механізмів залежать не лише від величини малокрів'я, а й від швидкості його розвитку, рівня адаптаційної спроможності організму, а також об'єму крові в ньому. Швидкий розвиток патологічного процесу зменшує прояв адаптаційних механізмів, погіршує прогноз і потребує термінового й інтенсивного лікування [4].

Одну із важливих функцій підвищення життєздатності організму в ранньому постнатальному онтогенезі поросят відіграє тіолсульфідна система [5, 6]. Тіолвмісні сполуки — молекули, що мають у своєму складі HS-групи, широко представлені в клітині у вигляді трипептидуглутатіону й багаточисельних білків. Ці сполуки присутні в клітині у двох станах — відновленому (-HS) та окисненому (-SS-), причому концентрація HS-груп у кілька разів вища за концентрації SS-груп, тому що більшість тіолових білків має фізіологічну активність у відновленому стані, а глутатіон є основним компонентом редоксбуферної системи клітини, та підтримує в ній відновне середовище [4]. Система глутатіону виконує в організмі ряд фундаментальних функцій: захищає від окисного стресу, ксенобіотиків, регулює активність багатьох білків, бере участь у стабілізації клітинних мембран, синтезі ейкозаноїдів, синтезі ДНК, проліферації, редоксрегуляції експресії генів та ін. [1, 10]. Відновлений глутатіон (GSH) знижує утворення запальних цитокінів, інгібує апоптоз, може виконувати функції імуні- та нейромодулятора, бере участь у трансмембранному транспорті органічних речовин [2–4]. Тому пріоритетними є дані щодо впливу композиції есенційних мікроелементів на тіолову систему, пул глутатіону, активність глутатіонзалежних ферментів.

Матеріали і методи. Було сформовано 2 групи клінічно здорових поросят за принципом пар-аналогів (вік, маса, стать) по 6 голів у кожній. Всі групи перебували на підсосі в однакових умовах утримання. Поросятам дослідної групи вводили на 2, 7, 21, 30 добу 20 мг на 1 кг маси тіла препарату «Біотам», у якому є індивідуальні комплекси металів Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} з N-2,3-диметилфенілантраніловою (мефенаміною) кислотою. В 1 г препарату міститься: Zn^{2+} — 17 мг, Cu^{2+} — 3,7 мг, Co^{2+} — 0,35 мг, Cr^{3+} — 0,3 мг, Fe^{3+} — 14,5 мг, Mn^{2+} — 4 мг, N-2,3-диметилфенілантранілової кислоти — 412 мг, глюконат кальцію — 180 мг, та крохмаль, цукор, аеросил до 1 г. Природа і мольне співвідношення мікроелементів, які входять до композиції, відповідають їх складу у

металовмісних ферментах. Поросятам дослідної групи введено протягом досліду 500 мг препарату на голову. Кров брали на 1, 7, 14 добу експерименту безпосередньо із серця, стабілізували гепарином. Забій тварин здійснювали у віці 35 діб.

Вміст глутатіону в тканинах визначали за Штурманом Ц. М. сектроскопічно з утворенням забарвленого комплексу «аллоксан-305» [7]. Форми глутатіону в крові визначали за методом Вудварда і Фрі, описаному Петрунькіною А. М. [8]. Вміст глутатіону в тканинах та еритроцитах виражали в мг/%.

Результати й обговорення. Показано, що на 7 добу від народження концентрація загального глутатіону в крові знижується на 20–25 %, а на 35 добу — 80 %, з 14 по 35 добу — 50 % (табл. 1, 2). Рівень відновної форми глутатіону на 14 добу знижується до 30 %, а на 35 добу — у 2 рази, з 14 по 35 добу — на 60 %. Окиснена форма глутатіону на 14 добу знижується на 4 %, а на 35 добу — на 23 %, з 14 по 35 добу — на 18 %. Тіолдісульфідний статус крові поросят у ранньому постнатальному онтогенезі знижується на 7 добу на 23 %, а на 35 добу — до 70 %; у той час як у період з 14 по 35 добу — на 37 % ($P \leq 0,05$). Можна припустити, що після 7 доби життя йде активне порушення транссульфування адеметіоніна, що призводить до дефіциту ендогенних пептидів, а саме глутатіону.

Еритроцити відіграють ключову роль в міжорганному і міжтканинному обміні глутатіону і, виконуючи, таким чином, роль інтегративної системи, відображають стан загального редокс-статусу організму, в тому числі і стан редокс-статусу в ранньому постнатальному онтогенезі. У зв'язку з цим, зміни редокс-обміну в еритроцитах відображають у тій чи іншій мірі його зміни в інших клітинах.

На 7 добу після народження концентрація загального глутатіону в еритроцитах крові залишається на попередньому рівні, на 35 — знижується до 82 %, з 14 по 35 добу — на 80 %.

Таблиця 1

Вміст глутатіону в крові та еритроцитах новонароджених поросят (1 доба життя), мг%

Пул глутатіону	Кров	Еритроцити
Загальний	22,70±0,36	47,25±1,13
Відновний	16,94±0,92	40,11±3,21
Окиснений	5,76±0,32	7,44±0,09
ТДС (HS/SS)	5,75±0,08	6,89±0,25

Примітка: у цій та наступних таблицях * — вірогідно ($P \leq 0,05$) відносно тварин контрольної групи

Таблиця 2

Вміст глутатіону в крові за умов використання препарату «Біотам», мг%

Пул глутатіону	Вік попросят					
	контрольна			дослідна		
	7	14	35	7	14	35
<i>Кров</i>						
Загальний	19,30±1,74	15,60±0,95	10,40±0,89	24,20±1,40*	18,69±0,78*	14,15±0,84*
Відновний	15,90±1,02	12,35±2,12	7,65±0,15	20,16±0,58*	16,15±2,44	12,11±0,76*
Окиснений	3,40±0,07	3,25±0,04	2,75±0,03	4,04±0,81	2,54±0,05*	2,04±0,42
ТДС (HS/SS)	4,68±0,03	3,80±0,04	2,78±0,06	4,99±0,01*	6,36±0,07*	5,94±0,09*
<i>Еритроцити</i>						
Загальний	43,70±2,15	43,68±0,98	23,92±3,17	56,87±2,11*	46,53±1,12*	38,20±2,64*
Відновний	38,12±2,35	35,11±4,16	21,12±3,14	52,11±4,17*	41,15±1,18*	36,18±2,25*
Окиснений	5,58±0,09	8,57±2,10	2,80±0,02	4,76±0,07*	5,38±1,01	2,02±0,01*
ТДС (HS/SS)	6,83±1,04	4,10±0,08	7,54±2,40	10,95±0,08*	7,65±0,07*	17,91±1,4*

Рівень відновної форми глутатіону в еритроцитах крові на 14 добу знижується до 3,5 %, а на 35 добу — до 45 %, а з 14 по 35 добу — на 40 %. Окиснена форма глутатіону в еритроцитах крові на 14 добу знижується до 34 % проти зменшення її у цільній крові лише

на 4 %, а на 35 добу — у 2 рази, з 14 по 35 добу — у 4 рази. Тіолдісульфідний статус еритроцитів крові поросят в ранньому постнатальному онтогенезі знижується на 7 добу на 1,17 %, а на 35 добу підвищується до 10 %, з 14 по 35 добу підвищується на 45 % ($P \leq 0,05$).

У порівняльному аспекті вмісту глутатіону в цільній крові та еритроцитах встановлено наступне: в еритроцитах рівень загального глутатіону на 7, 14, 35 добу був вищим у 2,26, 2,80, 2,30 рази, рівень відновленого глутатіону — у 2,40, 2,84, 2,76 рази, рівень окисненого глутатіону — у 1,64, 2,64, 1,02 рази, рівень тіолдісульфідного статусу глутатіону — у 1,46, 1,08, 2,71 рази, відповідно ($P \leq 0,05$).

Тіолдісульфідна система (як білкові, так і низькомолекулярні компоненти) у ранньому постнатальному онтогенезі поросят реагує на прояв мікроцитарних анемії зміною свого окислювально-відновного стану, який характеризується співвідношенням концентрації HS-і-SS-груп (HS / SS), або тіолдісульфідним співвідношенням (ТДС). Чим більша вихідна величина ТДС, а саме буферна ємність цієї системи, тим вищий рівень резистентності організму. ТДС у крові на 35 добу знижується майже у 1,5 рази, а в еритроцитах дещо збільшується. Можливо, на 35 добу формуються регуляторні механізми, здатні накопичувати в еритроцитах відновлену форму глутатіону завдяки активації глутатіонсинтетази. У той же час у плазмі як депо міжклітинної речовини на 35 добу ТДС залишається низькою.

Що стосується впливу препарату, то показано, що у тварин дослідної групи на 7 добу рівень загального глутатіону в крові підвищується на 20 %, на 14 добу — на 16 %, а на 35 добу — на 26 %. Пул відновленого глутатіону був вищим на 7 добу на 21 %, на 14 добу — на 23 %, на 35 добу — на 35,6 %. У той же час відмічено зниження окисної форми глутатіону тільки на 14 добу на 37 %, а на 35 добу — на 34 %. Рівень ТДС підвищувався на 7, 14, 35 добу на 6,2, 40,2, 53,1 %, відповідно. Аналогічна картина виявлена і для еритроцитів, проте, слід зазначити, що вже на 7 добу рівень окисненого глутатіону зменшується на 17 %, на 14 добу — на 60 %, а на 35 добу — на 38 %. Таким чином, в еритроцитах активніше накопичується саме відновлена форма глутатіону — на 31 % порівняно з 7 добою. Рівень ТДС в еритроцитах крові поросят підвищувався на 7, 14, 35 добу на 37, 56, 47 %, відповідно ($P \leq 0,05$). Якщо ТДС може служити інтегральним показником адаптивних можливостей організму, або показником його неспецифічної резистентності, то можна припустити, що введення препарату в ранньому постнатальному онтогенезі сприяє його адаптогенним та імуномодуючим властивостям.

Одним з аспектів багатогранної проблеми оксидативного стресу є вивчення тканинспецифічних механізмів його перебігу [3, 10]. Відомо, що різні органи і їх тканини схильні до дії агентів, що викликають оксидативний стрес, і демонструють різну стійкість у процесі реалізації цього патологічного стану. На думку ряду дослідників, це обумовлено різним рівнем експресії антиоксидантних ферментів і особливостями метаболізму у різних тканинах [1, 4, 10, 11]. Особливості метаболізму різних типів клітин пов'язані зі стійкістю до окисного стресу через внутрішньоклітинний окисно-відновний потенціал (редокс-потенціал), який є похідним всіх біохімічних реакцій клітини і обчислюється через ставлення концентрації відновленого глутатіону до концентрації окисненого глутатіону. Після введення препарату рівень загального глутатіону в печінці поросят на 35 добу (табл. 3) був вищим на 3,2 %, в той же час рівень відновленого глутатіону був вищим на 12 %, а рівень окисненого — нижчим практично у 2 рази ($P \leq 0,05$).

Особливо слід зазначити, що максимальний вплив препарату на редокс-потенціал є в тканинах мозку: рівень загального глутатіону був вищим на 10 %, а рівень відновленого — на 27 %, у той же час рівень окисненого глутатіону був нижчим майже в 2,5 рази.

Статус ТДС був найвищим у крові. Рівень відновного глутатіону в серці був у тварин дослідної групи незначно вищим, натомість ТДС був вищим на 30 % ($P \leq 0,05$). Виявлена специфічність щодо концентрації глутатіону в тканинах 35-добових поросят. Слід зазначити, що рівень вмісту загального глутатіону в органах був у наступному порядку: печінка > серце > мозок > кров; проте порядок статусу ТДС у наступному: кров > печінка > мозок > серце.

Вміст глутатіону в органах 35 добових поросят при забої за умов використання препарату «Біотам», мг%

Орган	Контрольна			дослідна		
	Загальний	Відновний	Окиснений	Загальний	Відновний	Окиснений
Печінка	176,25±3,40	147,25±10,18	29,00±1,38	182,10±4,15*	167,16±2,17	14,94±0,12*
Мозок	54,17±2,11	40,18±3,18	13,90±4,16	60,35±3,15	55,18±2,19*	5,17±1,14*
Кров	10,40±0,89	7,65±0,15	2,75±0,03	14,15±0,84*	12,11±0,76*	2,04±0,03
Серце	67,18±0,09	59,14±0,04	8,04±0,06	66,17±0,24	60,47±0,03	5,70±0,01*
<i>ТДС — тіолдісульфідна система (HS/SS)</i>						
Печінка	5,07±1,12			11,18±2,12*		
Мозок	2,89±2,22			10,67±4,17*		
Кров	2,78±0,06			17,91±1,4*		
Серце	7,35±2,76			10,60±3,15*		

Редокс-потенціал безпосередньо пов'язаний зі ступенем оксидативного стресу, чим він нижчий, тим інтенсивніше проходять процеси перекисного окиснення біомолекул. Від величини внутрішньоклітинного редокс-потенціалу і, зокрема, від концентрації відновленого глутатіону залежать також і такі процеси, як, проліферація, поділ і апоптоз клітин. Якщо інтенсивний розвиток оксидативного стресу призводить до некрозу, то його повільний розвиток запускає механізми апоптозу [4]. У літературі є ряд суперечливих даних про залежність між редокс-потенціалом, показниками перекисного окиснення ліпідів і активністю антиоксидантних ферментів у різних тканинах і типах клітин. У наших дослідженнях показано, що ТДС максимально реалізується в кардіоцитах, нейроцитах та гепатоцитах, захищаючи ці клітини від пошкодження.

За умов розуміння цих механізмів можна припустити, що введення есенційних мікроелементів у ранньому постнатальному онтогенезі дозволить цілеспрямовано впливати на внутрішньоклітинні процеси шляхом активації тих чи інших генів з метою пом'якшення наслідків оксидативного стресу і запобігання його розвитку за небажаним сценарієм, а саме перешкодити запуску механізмів програмованої клітинної смерті.

ВИСНОВКИ

Введення композиції есенційних мікроелементів в ранньому постнатальному онтогенезі позитивно впливає на редокс-потенціал та тіолдісульфідний статус організму. Максимальний прояв тканинної специфічної редокс-потенціалу та тіолдісульфідного статусу організму поросят у ранньому постнатальному онтогенезі виявлено в печінці та крові.

Перспективи подальших досліджень. Встановлення референтних рівнів різних форм глутатіону та ТТС може бути використано як маркери антиоксидантної рівноваги в організмі поросят в ранньому постнатальному онтогенезі.

THIOLSULPHIDE SYSTEM IN EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS OF PIGLETS AT ADMINISTRATION OF COMPLEX ORGANIC COMPOUNDS OF ESSENTIAL OLIGOELEMENTS

S. O. Shapovalov

Institute of Stockbreeding of NAAS

SUMMARY

It is set that violation of synthesis of glutathione, increase of disintegration, and also violation of the systems of adjusting of its level can result in hemolyse of red corpuscles. It is rotined that introduction of composition of essential oligoelementss in early postnatal ontogenesis positively influences on redoks-potential and thiolsulphide status of organism. Found out tissue

specificity of redox-potential and thiolsulphide status of organism of piglets in early postnatal ontogenesis where it is set maximal.

ТИОЛДИСУЛЬФИДНАЯ СИСТЕМА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ ПОРОСЯТ ПРИ УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ЭСЕНЦИАЛЬНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

С. О. Шаповалов

Институт животноводства НААН

А Н Н О Т А Ц И Я

Установлено, что нарушение синтеза глутатиона, увеличение его распада, а также нарушение систем регуляции его уровня может привести к гемолизу эритроцитов. Показано, что введение композиции эссенциальных микроэлементов в раннем постнатальном онтогенезе положительно влияет на редокс-потенциал и тиолдисульфидный статус организма. Обнаружена тканеспецифичность редокс-потенциала и тиолдисульфидного статуса организма поросят в раннем постнатальном онтогенезе, где установлено, что максимальное их проявление находится в крови и печени.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Колесниченко Л. С. Система глутатиона эритроцитов и плазмы в патологии / Л. С. Колесниченко, В. И. Кулинский // 3 съезд биохим. общества. Тезисы. — С-Пб, 2002. — С. 178.
2. Кулинский В. И. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы. Нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Биохимия. — 2005. — Т. 70, № 1. — С. 33–50.
3. Турпаев К. Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / К. Т. Турпаев // Биохимия. — 2002. — Т. 67, Вып. 3. — С. 339–352.
4. Kocsis L. Method so monitoring oxidation-reduction balance and its potential role in diagnostics / L. Kocsis, A. Blazovics, Z. Pallai, J. Feher // Orv. Hetil. — 2004. — V. 14, № 145. — P. 761–767.
5. Hassan A. M. Glutathioneperoxidase activity in blood cells from aspirin- induced asthma patients / A. M. Hassan // Ann. Clin. Biochem. — 2003. — V. 4, № 40. — P. 369–373.
6. Hayes J. D. Glutathionetransferases / J. D. Hayes, J. U. Flanagan, I. R. Josef // Annu. Rev. Pharmacology. Toxicology. — 2005. — Vol. 45. — P. 51–88.
7. Штурман Ц. М. Метод определения глутатиона / Ц. М. Штурман, В. П. Артюх // Укр. биохим. журн. — 1970. — Т. 42, № 6. — С. 747–751.
8. Петрунькина А. М. Практическая биохимия / А. М. Петрунькина. — Л. : Медгиз, 1961. — С. 152–154.
9. Николадзе М. Г. Диагностика и профилактика анемии и иммунной недостаточности у поросят : автореферат диссертации кандидата вет.наук / М. Г. Николадзе. — Витебск, 2002. — 19 с.
10. Сенькив О. М. Взаимосвязь между активностью Г-6-ФДГ и содержанием восстановленного глутатиона крови поросят после отъема от свиноматки при разном уровне цинка в рационе / О. М. Сенькив, В. В. Снитинский // Біологія тварин. — 2008. — Т. 10, № 1–2. — С. 174.
11. Катаев А. С. Изменение микроэлементного гомеостаза в некоторых отделах головного мозга у крыс при назначении препарата Магне В6 / А. С. Катаев, О. А. Громова, А. В. Кудрин, А. Ю. Волков // Неврология и психиатрия им. С. С. Корсакова. — 2003. — № 5. — С. 47–49.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії живлення свиней, кандидат біологічних наук Бучко О. М.