

УДК: 591.2: 636.4: 619: 618.7

АКТИВНОСТЬ ПРОТЕАЗ, ФОСФАТАЗ, АМИНОТРАНСФЕРАЗ ЭНДОМЕТРИЯ СВИНОМАТОК В НОРМЕ И ПРИ ОСТРОМ ПОСЛЕРОДОВОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

Сеин О.Б., Трубников Д.В.

*Курская государственная сельскохозяйственная академия
имени профессора И.И. Иванова*

На основании биохимических исследований получены новые сведения о функционировании протеаз, аминотрансфераз и фосфатаз клеток эндометрия свиноматок в динамике полового цикла, а также при наличии острого катарального воспаления.

Одной из актуальных проблем ветеринарной науки и практики остается проблема повышения плодовитости свиноматок. Ее решение сдерживается из-за широкого распространения среди маточного поголовья болезней репродуктивных органов, из которых особое место занимают неспецифические заболевания матки, развивающиеся в послеродовой период. Нередко эти заболевания принимают массовое распространение и приводят к бесплодию. В связи с этим не случайно терапии и профилактике послеродовых заболеваний уделяется большое внимание. Однако лечение и профилактика могут быть успешными только в том случае, если раскрыт патогенез заболевания, детально изучены морфологические, иммунологические, биохимические и другие изменения в организме сопровождающие болезнь.

Известно, что в воспалительный процесс вовлекаются многие биохимические компоненты, среди которых особую значимость представляют ферментные системы. Усовершенствование и разработка новых методических подходов к обнаружению ферментов и определению их активности позволили расширить представления о роли этих веществ в функционировании органов и тканей, а также в развитии патологических состояний в организме животных [10, 11, 8].

В то же время сведения об активности ферментов в органах репродуктивной системы свиноматок не многочисленны и зачастую носят противоречивый характер. Это, в свою очередь, приводит к недооценке роли ферментов в патогенезе заболеваний половых органов и неправильному подходу к лечению.

Принимая во внимание актуальность и научно-практическую значимость указанной проблемы, целью настоящей работы являлось определение активности протеолитических ферментов, аминотрансфераз и фосфатаз эндометрия свино-

маток в зависимости от стадии полового цикла, а так же развития острого воспаления.

Материалом для исследований являлись матки свиноматок крупной белой породы здоровых и больных острым послеродовым эндометритом, которые отбирали непосредственно после убоя. Животные подбирались по принципу аналогов с учетом возраста, массы тела, стадии полового цикла, условий содержания и кормления, а также характера воспалительного процесса.

Стадии полового цикла определяли по внешнему состоянию яичников (наличию и величине фолликулов и желтых тел), а также на основании гистологических исследований эндометрия. При постановке диагноза заболевания учитывали анамнез, результаты клинического обследования, гематологического анализа, данные визуальной оценки общего состояния матки и ее слизистой оболочки.

Для исследований отбирали навески эндометрия массой по 10 г путем среза из различных участков рогов матки: в области 1-й, 2-й, и 3-й трети рогов. Маточную слизь собирали соскобом с поверхности эндометрия.

Определение активности ферментов проводили в гомогенате из эндометрия и внутриматочной слизи. Эндометрий получали механическим путем из разных участков рогов матки (1-, 2- и 3-я трети. Навески массой 10г гомогенизировали в 50 мМ трис-НС1 буфере, рН 7,4 при 12000 об в мин в течении 5 минут. Маточную слизь собирали соскобом с поверхности эндометрия.

Определение активности протеолитических ферментов в гомогенате и субклеточных фракциях проводили методом Ансона [12]. При этом активность ферментов определяли по приросту тирозина, который измеряли спектофотометрически, и выражали в мкм тирозина/мг белка/мин.

Концентрацию белка в гомогенате и субклеточных фракциях проводили методом Варбурга и Кристиана [4].

Активность аминотрансфераз (АСТ, АЛТ) в гомогенате определяли методом Райтмана-Френкеля [5], выражали её в моль/мг белка/мин.

Щелочную фосфатазу (ЩФ) и кислую фосфатазу (КФ) устанавливали методом Бодански, [7, 9] обозначали её в моль/мг белка/мин.

Полученные в ходе исследований данные подвергались биометрической обработке на ПЭВМ с использованием пакета прикладных программ [1, 2, 3, 6].

В ходе проведенных исследований было установлено, что в период стадии возбуждения полового цикла активность кислых протеаз была достоверно выше, чем в стадии уравнивания, и ниже, чем в стадии торможения. При этом наибольшая активность была выявлена во 2-й трети рогов матки ($3,61 \pm 0,08$ мкмоль тирозина/мг белка/мин), а наименьшая – в 1-й трети ($2,86 \pm 0,04$).

В стадии торможения регистрировалась максимальная активность кислых протеаз, которая наиболее выраженной отмечалась во 2-й трети рогов матки ($4,20 \pm 0,09$). В то же время показатель активности этих ферментов в маточной слизи ($3,29 \pm 0,08$ мкмоль тирозина/мг белка/мин) не имел достоверных отличий от такового, полученного в период стадии возбуждения ($3,24 \pm 0,08$ мкмоль тирозина/мг белка/мин).

В период стадии уравнивания активность протеолитических ферментов в тканях всех участков матки колебалась в границах от $1,61 \pm 0,07$ до $2,14 \pm 0,04$ мкмоль тирозина/мг белка/мин. При этом наименьшее ее значение регистрировалось в тканях 1-й трети рогов матки, а максимальная – во 2-й трети рогов матки. Что касается исследуемых ферментов в маточной слизи, то в период стадии уравнивания она была максимальной ($4,38 \pm 0,06$ мкмоль тирозина/мг белка/мин) по сравнению с другими стадиями полового цикла. Увеличение протеолитической активности маточной слизи в стадии уравнивания, по-видимому, связано с вакуолярной дегенерацией клеток и выходом ферментов во внеклеточную среду.

Наибольшая активность кислых протеаз, не зависимо от стадии полового цикла, отмечалась во 2-й трети рогов матки, что можно объяснить развитой сетью артерий и большим количеством маточных желез в этой части эндометрия.

Результаты определения активности щелочной фосфатазы показали, что в период стадии возбуждения полового цикла она была достоверно выше, чем в стадии уравнивания, и ниже, чем в стадии торможения. Так, в 1-й трети рогов

матки активность этого фермента составляла $25,4 \pm 1,40$ ммоль/мг белка/мин, что достоверно выше, чем во 2-й трети – ($15,2 \pm 0,98$ ммоль/мг белка/мин), и не имела отличий от 3-й трети – ($22,3 \pm 1,59$ ммоль/мг белка/мин.). Что касается активности ЩФ в маточной слизи, то в стадии возбуждения она была меньше ($9,5 \pm 0,17$ ммоль/мг белка/мин), чем в период других стадий ($12,7 \pm 0,52$ – $24,4 \pm 1,14$ ммоль/мг белка/мин).

Во время стадии торможения активность ЩФ была достоверно выше ($p < 0,05-0,01$), чем в период других стадий и колебалась в пределах от $41,72 \pm 3,52$ до $49,88 \pm 3,38$ ммоль/мг белка/мин. В зависимости от локализации в рогах матки достоверных отличий в активности этого фермента выявлено не было. Активность ЩФ в маточной слизи во время этой стадии имела наиболее высокий показатель $24,4 \pm 1,14$ ммоль/мг белка (в мин).

Активность ЩФ в стадии уравнивания полового цикла была относительно низкой. Так, в 1-й трети рогов матки она составляла $11,04 \pm 0,46$, во 2-й трети – $9,7 \pm 0,25$ и в 3-й трети – $9,57 \pm 0,18$ ммоль/мг белка/мин. При этом разность между установленными показателями была недостоверной ($P > 0,05$). В маточной слизи активность данного фермента в стадии уравнивания была выше, чем в стадии возбуждения ($12,70 \pm 0,52$ ммоль/мг белка/мин).

При исследований активности общей кислой фосфатазы нами было установлено, что во время стадии возбуждения в 1-й трети рогов матки активность этого фермента была достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в других участках, и составляла $13,12 \pm 0,41$ ммоль/мг белка/мин. Во 2-й ($17,30 \pm 0,69$) и в 3-й третях рогов матки ($18,34 \pm 0,71$ ммоль/мг белка/мин) достоверных отличий между выявленными показателями активности обнаружено не было. Активность общей КФ в маточной слизи в стадии возбуждения полового цикла имела наименьшее значение ($15,62 \pm 0,98$ ммоль/мг белка/мин) по сравнению с другими стадиями.

Активность общей КФ в стадии торможения была относительно высокой. В 1-й трети рогов матки она составляла $20,60 \pm 0,90$, во 2-й трети – $22,20 \pm 0,81$ и в 3-й трети – $18,41 \pm 0,81$ ммоль/мг белка/мин. В маточной слизи активность общей КФ в стадии торможения не имела достоверных отличий ($p > 0,05$) от стадии возбуждения и составляла $17,47 \pm 1,21$ ммоль/мг белка/мин.

В стадии уравнивания полового цикла активность общей КФ в 1-й трети рогов матки была достоверно ниже ($13,24 \pm 0,61$), во 2-й трети выше ($22,46 \pm 0,80$), а в 3-й трети ($18,41 \pm 0,81$ ммоль/мг белка/мин) она не имела достоверных отличий по сравнению с аналогичными показа-

телями во время стадии торможения. Активность общей КФ в маточной слизи в стадии уравнивания была достоверно выше ($21,58 \pm 0,89$ ммоль/мг белка/мин), чем в других стадиях.

При определении ферментативной активности простатической кислой фосфатазы в различных участках эндометрия в зависимости от стадии полового цикла было установлено, что во время стадии возбуждения наибольшая активность простатической КФ наблюдалась во 2-й трети рогов матки ($4,1 \pm 0,2$ ммоль/мг белка/мин). При этом в маточной слизи активность этого фермента в стадии возбуждения имела низкие значения по сравнению с другими стадиями полового цикла и составляла $4,7 \pm 0,3$ ммоль/мг белка/мин.

Активность простатической КФ в стадии торможения была относительно высокой. Так, в 1-й трети рогов матки она составляла $10,6 \pm 0,2$ во 2-й трети – $13,3 \pm 0,4$ и в 3-й трети – $6,9 \pm 0,2$ ммоль/мг белка/мин. Активность простатической КФ маточной слизи ($5,5 \pm 0,3$ ммоль/мг белка/мин) в этой стадии не имела достоверного различия ($p > 0,05$) от стадии возбуждения.

В стадии уравнивания было установлено, что активность простатической КФ в 1-й ($5,5 \pm 0,2$), во 2-й ($6,9 \pm 0,2$) и в 3-й третях рогов матки ($7,1 \pm 0,2$ ммоль/мг белка в мин) была достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в стадии торможения. Что касается маточной слизи, то активность протатической КФ в стадии, уравнивания, была выше ($7,0 \pm 0,2$), чем в другие стадии.

Результаты исследований АЛТ и АСТ показали и, что активность данных ферментов зависит от места локализации в рогах матки и стадии полового цикла.

В тканях эндометрия стадии возбуждения активность АСТ и АЛТ была наибольшей и соответственно составляла в 1-й трети рогов матки – $5,7 \pm 0,2$ и $5,4 \pm 0,2$; во 2-й трети – $5,8 \pm 0,2$ и $6,4 \pm 0,1$ и в 3-й трети – $4,4 \pm 0,1$ и $6,4 \pm 0,2$ ммоль/мг белка в мин. В маточной слизи активности АСТ имела наименьшее значение ($4,4 \pm 0,1$), а АЛТ ($3,2 \pm 0,2$ ммоль/мг белка в мин), наоборот, была достоверно выше ($p < 0,05$), чем в стадии уравнивания.

Высокий активность аминотрансфераз в стадии возбуждения полового цикла, по-видимому, связана с пролиферативными процессами и усиленной секреторной активностью маточных желез, которые сопровождаются активацией биосинтеза белков и аминокислот при участии аминотрансфераз.

Активность АСТ в стадии торможения по сравнению с соответствующим показателем в стадии возбуждения была ниже в 1-й трети рогов матки ($3,85 \pm 0,06$ ммоль/мг белка/мин), чем во 2-

й ($5,82 \pm 0,17$) и 3-й третях ($4,44 \pm 0,14$ ммоль/мг белка/мин). В маточной слизи активность АСТ в период стадии торможения составляла $3,34 \pm 0,18$ ммоль/мг белка/мин, что не имело достоверных отличий от её активности в другие стадии полового цикла ($3,22 \pm 0,17$ – $4,48 \pm 0,11$ ммоль/мг белка/мин).

Уровень активности АЛТ в стадии торможения полового цикла был достоверно ниже во всех участках рогов матки по сравнению с аналогичным показателем в стадии возбуждения. При этом в зависимости от локализации в матке его максимальный уровень отмечался во 2-й трети рога ($5,6 \pm 0,1$ ммоль/мг белка/мин). Активность АЛТ в маточной слизи в стадии торможения имела наибольшее значение ($5,4 \pm 0,1$) по сравнению с соответствующим показателем в другие стадии полового цикла ($3,85 \pm 0,09$ – $4,40 \pm 0,14$ ммоль/мг белка/мин).

При определении активности АСТ в стадии уравнивания она была выше во 2-й и в 3-й третях рогов матки ($4,59 \pm 0,13$ – $4,79 \pm 0,15$ ммоль/мг белка/мин), а в 1-й трети ниже ($4,34 \pm 0,11$) по сравнению с аналогичными показателем в стадии торможения полового цикла. В маточной слизи в период стадии уравнивания активность АСТ имела более высокое значение ($4,48 \pm 0,11$), чем в другие стадии полового цикла ($3,22 \pm 0,17$ – $3,34 \pm 0,18$ ммоль/мг белка/мин).

Активность АЛТ в стадии уравнивания полового цикла не имела достоверных отличий в 1-й и 2-й третях рогов матки и колебалась в пределах $4,65 \pm 0,15$ – $5,34 \pm 0,17$, а в 3-й трети была выше ($4,77 \pm 0,17$), чем соответствующий показатель в стадии торможения $3,72 \pm 0,13$ ммоль/мг белка/мин). В маточной слизи активность этого фермента имела наименьшее значение и составляла $3,85 \pm 0,09$ ммоль/мг белка/мин.

В ходе определения ферментов слизистой оболочки матки при остром послеродовом серозно-катаральном эндометрите у свиноматок были выявлены характерные изменения. Так, активность кислых протеаз при остром эндометрите у свиноматок достоверно повышалась ($p < 0,05$). Наиболее выраженное повышение этого показателя отмечалось во 2-й трети рогов матки, где он составлял $5,90 \pm 0,17$ мкмоль тирозина/мг белка/мин.

Что касается кислых фосфатаз, то при остром эндометрите достоверно ($p < 0,05$) повышается активность общей и простатической КФ во всех участках рогов матки по сравнению с аналогичным показателем у здоровых животных. Так, отмечено увеличение активности этого фермента в 1-й трети рогов матки – в 9 раз, во 2-й – в 11 раз и в 3-й – в 6 раз. Активность простатической формы КФ при эндометрите увеличивалась в 1-й

трети рогом матки в 8,4 раза, во 2-й – в 15 раз и в 3-й – в 5,8 раза, по сравнению со здоровыми свиноматками.

Наши исследования показали, что при остром эндометрите отмечается достоверное снижение активности ЩФ во всех участках рогов матки и в маточной слизи. При этом активность ЩФ составляла в 1-й трети рогов матки $2,5 \pm 0,1$, во 2-й трети $3,04 \pm 0,04$ и в 3-й трети $2,3 \pm 0,1$ ммоль/мг белка/мин, что соответственно в 4,5, 3 и 4 раза ниже аналогичных показателей у здоровых животных. В данном случае снижение активности ЩФ вероятно связано с нарушением трансмембранного переноса глюкозы и других сахаров в результате резкого уменьшения энергетического обмена и активности транспортных систем при развитии острого воспаления.

Активность АЛТ в эндометрии и маточной слизи при остром эндометрите достоверно увеличивалась по сравнению со здоровыми животными. Отмечено, что в 1-й трети она была выше в 1,6 раза, во 2-й трети в 1,4 раза и в 3-й трети в 1,6 раза. Активность АЛТ в маточной слизи больных эндометритом животных также была более высокой и превышала этот показатель в 2,1 раза по сравнению со здоровыми свиноматками. Такое увеличение активности АЛТ, по видимому, связано с механизмами обезвреживания аммиака, образующегося в очаге воспаления при острой гипоксии и усиленном распаде аминокислот.

Полученные данные при исследовании АСТ свидетельствуют, что достоверных отличий между показателями активности этого фермента при остром эндометрите и у здоровых животных в 1-й трети рогов матки выявлено не было. Однако во 2-й и 3-й третях рогов матки у больных свиноматок наблюдалось снижение его активности. В маточной слизи при воспалительном процессе повышение активности АСТ было незначительным и составляло $(4,7 \pm 0,2)$ ммоль/мг белка/мин).

Таким образом, проведенный комплекс исследований показал существенную роль внутри-

клеточных ферментных систем слизистой оболочки матки как у здоровых животных, так и у больным острым послеродовым эндометритом.

Установленные закономерности изменения активности ферментов в эндометрии в зависимости от стадии полового цикла и развития острого воспалительного процесса могут быть использованы для разработки способов коррекции патологических состояний с использованием различных химических и биологических препаратов, оказывающих модулирующее влияние на активность ферментов, а также в виде биохимических тестов, позволяющих оценивать уровень активности ферментов в тканях слизистой оболочки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Варфоломеев С.Д. и др. //Биокенетика. - М. 1999 -С.716.
2. Геккелер К. и др. Аналитические и препаративные лабораторные методы. - М.: Мир, 1994. С.416.
3. Деффель К. Статистика и аналитическая химия. - М.: Мир, 1994. С.286.
4. Досон Р. и др. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. - С. 464.
5. Колб В.Г. и др. //Здравоохранение Белоруссии. - 1976.№ 9. С. 62.
6. Крутов В.И. и др. Основы научных исследований.
7. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. - М.: Медицина, 1987. - С. 209.
8. Серов и др. Воспаление. - М.: Медицина, 1995. - С. 30.
9. Тиц Н.У. Клиническая оценка лабораторных тестов. - М.: Медицина, 1986. - С. 207.
10. Усольцева В.А. Ферменты и их клиническое значение. – Иваново, 1969. - С.35.
11. Шехтер А.Б. Современные проблемы регенерации. - Йошкар – Ола, 1987. - С. 48.
12. Anson M.L.J. //Gen. Physiol. 1938. V.22 P.79.

THE ACTIVITY OF PROTEASE, POSPHATASE, AMINOTRANSFERASE OF ENDOMETRIUM OF SOWS IN THE NORM AND WITH ACUTE POST – FARROW ENDOMETRITIS

Sein O.B., Trubnikov D.V.

Kursk state agricultural academy

On the basis of biochemical research there was received new information on the functioning of protease, aminotransferase and posphatase of the endometrium cells of sows in the dynamics of sex cicle, having acute cataral inflammation.