

УДК 591.147:591.11:591.05+636.2

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ КЛЮЧЕВЫХ СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩИХ ГОРМОНОВ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ БИОМОЛЕКУЛ В КРОВИ КОРОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА

Патюков А.Г., Степанова И.П., Макарова Я.С., Мугак В.В.

ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации» (ГБОУ ВПО ОмГМУ Минздрава России), Омск, Россия (644043, Омск, ул. Ленина, 12), e-mail: omsk-osma.ru

Изучена взаимосвязь между уровнем адренокортикотропного гормона, кортизола и показателями про- и антиоксидантной систем крови, полученными с помощью ферментативного колориметрического метода у коров на разных стадиях репродуктивного цикла. Исследования выполнялись на коровах в возрасте 3–4 лет на разных стадиях репродуктивного цикла: 30-е сутки после отела, 3-й, 5-й, 7-й, 8-й месяцы стельности, 7–10-е сутки до отела, 10–15-е сутки после отела. Выявлено, что концентрация адренокортикотропного гормона сыворотки крови коров в первые 2 месяца стельности постоянна, к 5-му месяцу снижается, за 7–10 суток до отела повышается примерно в 3 раза, а на 10–15-е сутки после отела вновь резко снижается. Уровень кортизола повышен на протяжении первых 7 месяцев стельности. Самые низкие значения проокислительной способности сыворотки крови коров наблюдаются в период с 5-го по 8-й месяц стельности, перед отелом имеется тенденция к увеличению. Самая высокая антиокислительная способность наблюдается в крови коров в первые 3 месяца стельности, к 5-му месяцу происходит ее снижение, к 8-му месяцу – повышение, которое, однако, не достигает контрольных цифр, в предотельный период вновь снижение, а в послеродовой – повышение.

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление, антиоксидантная система крови, адренокортикотропный гормон, кортизол, крупный рогатый скот

THE RELATIONSHIP CONTENT KEY STRESS HORMONES LIMITING INDICATORS OF FREE RADICAL OXIDATION OF BIOMOLECULES IN BLOOD OF COWS AT DIFFERENT STAGES OF THE REPRODUCTIVE CYCLE

Patyukov A.G., Stepanova I.P., Makarova Y.S., Mugak V.V.

Omsk State Medical University, Ministry of Public Health, Russia (GBOU VPO OSMU Minzdrava Russia) Omsk, Russia (644043, Omsk, street Lenina, 12), e-mail: omsk-osma.ru

The interrelation between the level of adrenocorticotrophic hormone, cortisol, and pro- and antioxidant performance systems of blood obtained by enzymatic colorimetric method in cows in different stages of the reproductive cycle. Research carried out on cows aged 3 - 4 years at different stages of the reproductive cycle: 30 days after calving, 3rd, 5th, 7th, 8th months of pregnancy, 7-10 th day before calving, 10-15 days after calving. It was found that the concentration of serum adrenocorticotrophic hormone cows in the first 2 months of pregnancy is constant, the 5th month of declines for 7-10 days before calving increases about 3 times, and 10-15 days after calving again decreases dramatically. Cortisol levels increased during the first seven months of pregnancy. The lowest values of serum prookislitelnoy ability cows observed in the period from the 5th to the 8th month of pregnancy, before the property has a tendency to increase. The highest antioxidant capacity observed in the blood of cows during the first 3 months of pregnancy, the 5th month takes its decline for the 8th month - an increase which, however, does not reach the target figures, to decline again predotelny period and the postpartum - increase.

Keywords: free-radical oxidation, antioxidant system of blood adrenocorticotrophic hormone, cortisol, cattle

Проблема поддержания нормального функционирования материнского и плодового организма крупного рогатого скота при физиологическом и техногенном стрессе является актуальной. В стрессовых ситуациях организм наряду с соматомоторными и висцеромоторными защитными реакциями включает мощную эндокринную систему. Эндокринные железы с помощью выделения гормонов непосредственно, а также при

участии нервной, иммунной и тканевых контролирующих систем влияют на метаболизм в организме животных [1].

Острый и хронический стресс сопровождается повышением содержания в крови кортикотропин-рилизинг-гормона, увеличивающего выработку адренокортикотропного гормона (АКТГ), что ведет к снижению уровня гонадотропин-рилизинг гормона и, как следствие, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Запускается процесс активизации abortогенных цитокинов и отторжения плода. Адренокортикотропный гормон, являясь важнейшим регулятором синтеза и выделения гормонов коры надпочечников, стимулирует выработку кортизола, который в свою очередь ускоряет процессы глюконеогенеза из аминокислот, способствует накоплению гликогена в печени, повышает уровень глюкозы в крови, снижает использование глюкозы периферическими тканями, участвует в процессах адаптации организма к изменяющимся условиям среды [2].

Кортизол и АКТГ наряду с основными эффектами вызывают изменения в системе пероксидного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма. Развитие состояния физиологического стресса у коров при родах сопровождается активацией прооксидантной системы, вызывающей усиление процессов окислительной деструкции биоструктур. Это служит основной причиной поражения тканей, приводит к инактивации ряда ферментов, нарушению структуры и функции клеточной мембраны, ее рецепторного аппарата, ионных каналов [5].

На уровне органов и тканей действие стресс-системы ограничивают локальные стресс-лимитирующие системы, к которым, в частности, относится антиоксидантная система [3, 4].

Вместе с тем до сих пор недостаточно исследований по влиянию ключевых стресс-лимитирующих гормонов на процессы свободнорадикального окисления биомолекул.

Исследование посвящено оценке функционального состояния эндокринной системы и изучению взаимосвязи между уровнем стресс-гормонов и показателями про- и антиоксидантной систем крови коров на разных стадиях репродуктивного цикла с целью коррекции условий содержания и эксплуатации.

Материалы и методы

Исследования выполнялись на 70 клинически здоровых коровах в возрасте 3–4 лет на разных стадиях репродуктивного цикла: 30-е сутки после отела (контроль), 3-й, 5-й, 7-й, 8-й месяцы стельности, 7–10-е сутки до отела, 10–15-е сутки после отела.

Исследования крови проводились в лабораториях кафедры химии Омского государственного аграрного университета, кафедры нормальной, патологической физиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии.

Общая про- и антиокислительная способность сыворотки крови определялась с помощью ферментативного колориметрического метода, сущность которого состоит в ингибировании антиоксидантами цветной реакции тетраметил-бензидина с пероксидом водорода с помощью планшетного фотометра. В результате реакции происходит образование окрашенного в голубой цвет продукта, который при добавлении стоп-реагента превращается в соединение желтого цвета. Поглощение света раствором измеряют фотометрически при 450 нм на приборе «Мультискан». Про- и антиоксидантная активность количественно оценивается с помощью кинетической кривой.

Количественное определение уровня АКТГ и кортизола в сыворотке крови проводилось с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (тест Biomerica АСТН ELISA) на иммуноферментном анализаторе «Elisys Quattro» (Германия).

Статистический анализ данных производился с использованием непараметрических критериев (программы «Statistica for Windows», ver. 5.1 (StatSoft, Inc.), «Биостатистика» («Primer of Biostatistics», ver. 4.03, by Stanton A. Glantz)). Для выявления связи между количественными признаками использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследований и обсуждение

В результате проведенных исследований выявлено, что концентрация АКТГ сыворотки крови коров в первые 2 месяца стельности постоянна, к 5-му месяцу снижается примерно в 2 раза, с 5-го по 8-й месяцы сохраняется на достигнутом уровне, за 7–10 суток до отела повышается примерно в 3 раза, на 10–15-е сутки после отела вновь резко снижается (табл. 1).

Таблица 1

Содержание АКТГ в сыворотке крови коров при разных физиологических состояниях (пг/мл)

Показатель	Физиологическое состояние коров, n = 10						
	30-е сутки после отела (конт- роль)	3-й месяц стель- ности	5-й месяц стель- ности	7-й месяц стель- ности	8-й месяц стель- ности	7–10-е сутки до отела	10–15-е сутки после отела
Среднее значение	24,62	28,36	14,50	15,32	19,71	42,73	25,69
Стандартное отклонение	5,48	3,14	6,45	5,95	4,15	7,98	13,21
Медиана	25,28	28,51	12,9*	18,86	18,67	48,24*	19,37
25-й процентиль	18,74	26,62	11,09	9,75	16,82	34,23	15,90
75-й процентиль	28,28	30,41	15,64	19,78	21,46	48,73	33,75
Минимальное значение	17,47	23,33	7,97	7,97	14,54	33,75	13,61
Максимальное	34,25	32,79	24,91	20,25	27,10	46,73	48,31

значение							
<i>Примечание:</i> * – достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$)							

Уровень кортизола повышен на протяжении первых 7 месяцев стельности. Причем к 3-му месяцу уровень гормона возрастает примерно в 5 раз, к 5-му месяцу снижается (примерно в 3 раза), но все равно превышает контрольные цифры примерно в 2,5 раза (табл. 2). Полученные данные показывают, что в первый триместр стельности коров интенсивно осуществляется гормональная перестройка. На завершающем этапе стельности содержание гормона сопоставимо со значениями аналогичного показателя у нестельных коров.

Таблица 2

Содержание кортизола в сыворотке крови коров при разных физиологических состояниях
(нмоль/л)

Показатель	Физиологическое состояние коров, n = 10						
	30-е сутки после отела (конт- роль)	3-й месяц стель- ности	5-й месяц стель- ности	7-й месяц стель- ности	8-й месяц стель- ности	7–10-е сутки до отела	10–15-е сутки после отела
Среднее значение	27,36	210,42	67,57	78,51	31,78	30,11	28,45
Стандартное отклонение	4,22	147,66	5,40	39,72	4,99	10,47	7,71
Медиана	28,34	154,2*	66,6*	83,7*	31,24	32,24	25,90
25-й процентиль	24,38	117,70	63,44	38,18	29,07	24,99	21,89
75-й процентиль	31,13	203,45	69,78	116,3	33,93	36,47	35,15
Минимальное значение	20,46	101,33	62,28	36,99	22,88	14,98	20,35
Максимальное значение	32,68	499,50	75,69	117,2	42,39	41,90	42,38
<i>Примечание:</i> * – достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$)							

Таким образом, в результате проведенных исследований с помощью иммуноферментного твердофазного анализа установлена динамика содержания двух гормонов – АКТГ и кортизола сыворотки крови коров на разных стадиях репродуктивного цикла.

При изучении проокислительной способности сыворотки крови коров установлено, что самые низкие ее значения наблюдаются у животных в период с 5-го по 8-й месяц стельности, перед отелом имеется тенденция к ее увеличению, после отела высокие значения сохраняются (рис. 1).

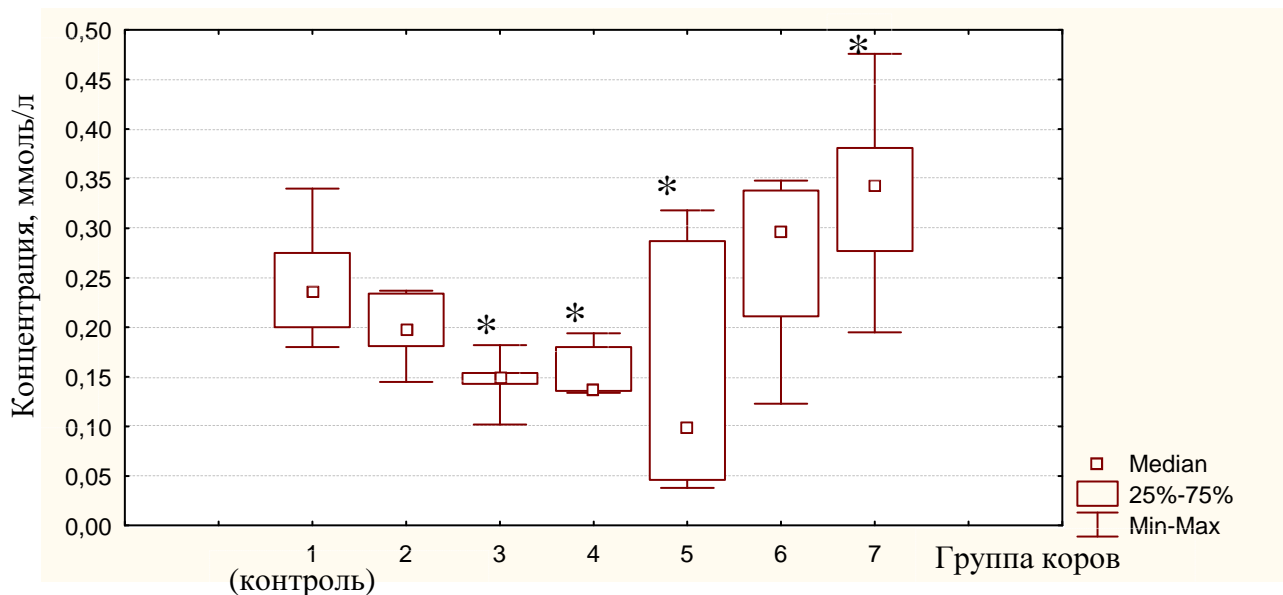


Рис. 1. Проокислительная способность сыворотки крови

Примечание: 1–7-я группа: 30-е сутки после отела (контроль); 3-й; 5-й; 7-й; 8-й месяцы стельности; 7–10-е сутки до отела; 10–15-е сутки после отела соответственно.

Самая высокая антиокислительная способность наблюдается в крови коров в первые 3 месяца стельности, к 5-му месяцу стельности происходит ее снижение примерно в 5 раз, к 8-му месяцу – повышение, которое, однако, не достигает контрольных цифр, в предотельный период имеется тенденция к снижению, а в послеродовой период – к повышению (рис. 2).

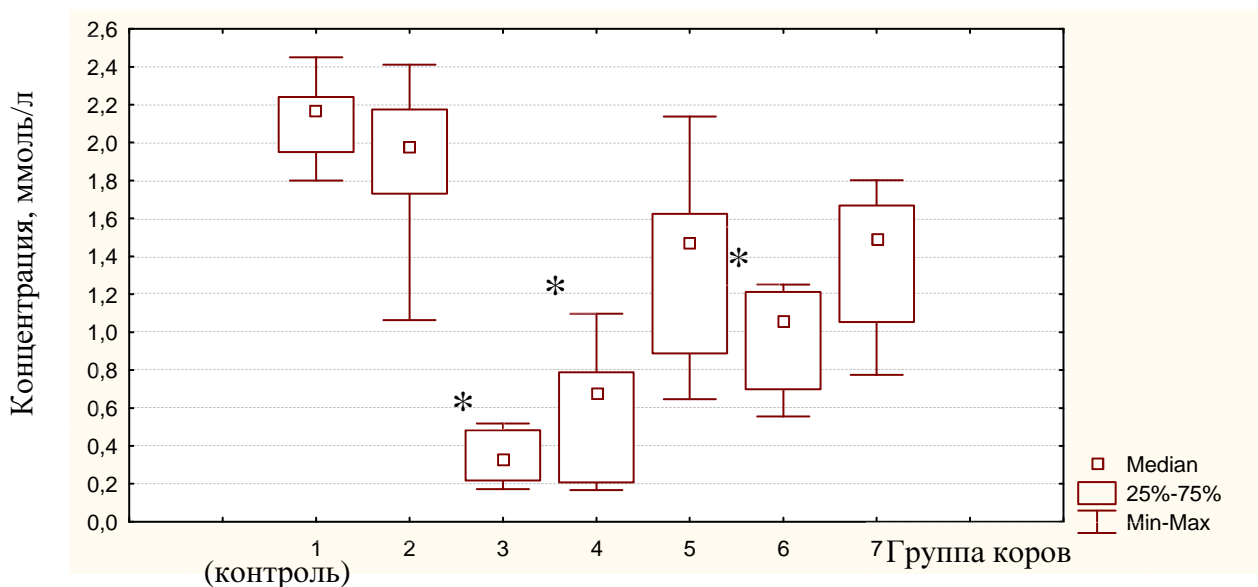


Рис. 2. Антиокислительная способность сыворотки крови коров

Примечание: 1–7-я группа: 30-е сутки после отела (контроль); 3-й; 5-й; 7-й; 8-й месяцы стельности; 7–10-е сутки до отела; 10–15-е сутки после отела соответственно.

При сопоставлении уровня стресс-гормонов с показателями про- и антиоксидантной систем крови выявлена корреляция в группах коров на 7-м и 8-м месяцах стельности в паре: АКТГ – проокислительная способность; в группе коров на 3-м месяце стельности в паре:

кортизол – проокислительная способность; в контрольной группе коров в паре: кортизол – антиокислительная способность (табл. 3).

Таблица 3

Корреляция уровня стресс-гормонов с показателями ферментативного колориметрического теста

Физиологическое состояние коров, n=10	Коэффициент корреляции Спирмена, r_s			
	АКТГ – проокислительная способность	Кортизол – проокислительная способность	АКТГ – антиокислительная способность	Кортизол – антиокислительная способность
30-е сутки после отела (контроль)	-0,336	-0,527	0,291	0,677*
3-й месяц стельности	0,249	0,673*	-0,087	0,632
5-й месяц стельности	0,425	-0,442	0,415	-0,521
7-й месяц стельности	0,821**	-0,440	-0,522	-0,413
8-й месяц стельности	0,656*	-0,292	0,448	0,115
7–10-е сутки до отела	0,544	-0,284	0,565	0,107
10–15-е сутки после отела	0,610	-0,507	-0,348	0,156
<i>Примечание: *,** – значимость коэффициента корреляции ($p < 0,05$; $p < 0,01$)</i>				

Заключение

Выявленные в ходе исследований гормон-метаболических взаимоотношений изменения функций гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы являются следствием изменения состояния материнского и плодового организма. Ускоренная секреция кортизола с 3-го по 7-й месяцы стельности приводит, в частности, к увеличению распада жиров, концентрации глюкопластических веществ, скорость поступления которых в этот период в органы и ткани материнского и плодового организма увеличивается.

Избыточная продукция свободных радикалов отмечается у стельных коров в пред- и послеотельный периоды, при этом антиоксидантная защита крови перед отелом снижается, после отела повышается.

Интенсивность свободнорадикальных реакций, протекающих в крови коров, сопряжена с повышением концентрации АКТГ и кортизола.

Данные об уровне гормонов в крови могут быть использованы для оценки функционального состояния эндокринной системы с целью сохранения здоровья коров и их потомства, а также коррекции условий содержания и эксплуатации.

Список литературы

1. Дворецкая Т.Н. Гормональный статус у коров и выделение гормонов с молоком на разных стадиях лактации: дис. ... канд. биол. наук / Т. Н. Дворецкая. – Боровск, 2001. – 154 с.
2. Макарова Я.С. Характеристика антиоксидантной системы и содержание стресс-гормонов крови крупного рогатого скота в связи с возрастом и физиологическим состоянием : дис. ... канд. биол. наук / Я.С. Макарова. – Троицк, 2010. – 162 с.
3. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф. З. Меерсон. – М.: Наука, 1981. – 278 с.
4. Мурадова Л.В. Уровень кортизола как показатель стрессового состояния животных / Л.В. Мурадова, М.В. Сиротина // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. – М.: Академия наук о земле, 2008. – Т. 2. – С. 78–80.
5. Степанова И.П. Интегральный подход к оценке функционирования физиологических систем детоксикации крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе : дис. ... д-ра биол. наук / И.П. Степанова. – Новосибирск, 2004. – 399 с.

Рецензенты:

Конвай В.Д., д.м.н., профессор кафедры математических и естественно-научных дисциплин ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, г. Омск;

Корпачева О.В., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Омск.