

РЕДОКС-ПОТЕНЦІАЛ І ВМІСТ ГЛУТАТІОНУ В КРОВІ КОРІВ ПРИ ХВОРОБАХ ПЕЧІНКИ*Русак В.С., Чала І.В.**Житомирський національний агроєкологічний університет, м. Житомир*

Окисно-відновні реакції лежать в основі енергетичних процесів організму тварин. Одним з показників, що характеризують окисно-відновні процеси є окисно-відновний потенціал (редокс-потенціал, від англ. redox – reduction – oxidation reaction, Eh) – міра здатності хімічної речовини приєднувати електрони, тобто відновлюватись. [1, 2, 6]. Максимально високі позитивні значення редокс-потенціалів мають розчини кислот. Кров, як водний розчин, що містить електроліти, характеризується певними значеннями Eh, так для артеріальної крові людини розрахункове значення редокс-потенціалу становить – 57 мВ, а венозної – 7 мВ.

Для запобігання накопичення у клітинах окислених продуктів та з метою відновлення їх структури синтезується ряд продуктів, що володіють відновним потенціалом. Однією з найбільш важливих сполук з високим відновним потенціалом є трипептид глутатіон (γ – глутамілцистеїнілгліцин). Особливість цього трипептиду полягає у тому, що він містить незвичайний пептидний зв'язок між аміногрупою цистеїну та карбоксильною групою радикалу глютамінової кислоти. Така будова сприяє тому, що на поверхні даного пептиду знаходиться вільна сульфгідрильна група (-SH), тому молекули глутатіону позначають GSH і таку фракцію називають відновною. Відновний глутатіон має здатність легко віддавати протони Гідрогену і перетворюватись на окислену форму, при цьому дві молекули глутатіону утворюють між собою дисульфідні зв'язки у подвійній молекулі окисленого глутатіону (GSSG):



У клітинах концентрація відновних тіолових груп становить 5 ммоль. Відновний глутатіон є надзвичайно важливим реагентом при інактивації вільних радикалів, реакціях детоксикації фармацевтичних препаратів та ксенобіотиків [2, 3, 6]. Глутатіон є універсальним відновником для сполук, що утворилися у результаті патологічних процесів, зокрема запальних процесів у печінці. Як відомо, печінка виконує функції детоксикації, синтезу цілого ряду речовин, утилізації аміаку тощо. Саме печінка є тим органом, де зосереджені найбільш важливі метаболічні процеси. Одним з патологічних процесів, що збільшує напруженість окисно-відновних реакцій є кетоз, який при хронічному протіканні призводить до розвитку гепатодепресивного та цитолітичного синдромів у печінці. Накопичення кетонів тіл викликає цілий ряд метаболічних порушень, зокрема неповне окислення ліпідів, гальмування реакцій циклу Кребса, реакцій окислювального фосфорилування (синтез АТФ та інших макроергів), накопичення кислих продуктів: ацетооцтової кислоти, β – оксимасляної, молочної тощо. Розвиток вищевказаних явищ поряд з підвищенням метаболічного навантаження на печінку у високопродуктивних корів призводить до накопичення сполук, що мають високий ступінь окислення, до роз'єднання процесів окислення та фосфорилування і, як результату, до змін величини редокс-потенціалу [4].

Визначення редокс-потенціалу на даний момент не являється широко розповсюдженим методом лабораторної діагностики у ветеринарній медицині, разом з тим даний показник може бути використаний як важливий параметр для оцінки стану окисно-відновних реакцій в організмі тварин, ступеня накопичення окислених продуктів та наявності пулу відновних сполук. Визначення редокс-потенціалу є надзвичайно простим у виконанні методом і, на відміну від визначення лужного резерву, характеризує не лише стан однієї з буферних систем крові, а є загальним показником, що характеризує вміст продуктів метаболізму, що володіють потенційною здатністю приймати електрони (окислювати інші сполуки) та протони Гідрогену. Оскільки зміни редокс-потенціалу є мало вивченими, то його дослідження за умов розвитку різних патологічних явищ є важливим як у науковому так і практичному планах.

Мета роботи. Метою викладених у даній роботі досліджень було встановлення величини редокс-потенціалу крові та вмісту різних фракцій глутатіону у високопродуктивних дійних корів з клінічними ознаками функціональних порушень у печінці, обумовлених кетозом.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили на базі господарства ТОВ «Агросервіс», с. Івниця Андрушівського району Житомирської області. Для досліджень було сформовано дві групи дійних корів за принципом аналогів; при формуванні груп враховувались вік, молочну продуктивність, живу масу, фізіологічні параметри, зокрема стадію лактації та термін тільності. До контрольної групи були включені клінічно здорові тварини, до дослідної – тварини з ознаками кетозу, гепатодепресивного синдрому. Для біохімічних досліджень відбирали кров до годівлі з дотриманням правил асептики та антисептики. У крові визначали вміст загального білка біуретовим методом, вміст альбумінів – у реакції з бромкрезоловим зеленим, вміст глюкози та глобулінів – глюкозоксидазним методом, активність аспарагінтрансферази – методом Френкеля-Райтмана, активність глутаматдегідрогенази, вміст загального та відновного глутатіону з реактивом Елмана [4], рівень редокс-потенціалу – потенціометричним методом за допомогою іонметра лабораторного І-160МІ з використанням індикаторного електроду типу ЕРП-101 та електролітичного ключа. Вимірювання редокс-потенціалу проводили у насиченому розчині хлориду калію. У сечі визначали вміст кетонів тіл експрес-методом за допомогою індикаторних смужок. Одержані результати статистично опрацьовували із використанням критерію Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Дослідження проводились у декілька етапів, на початковому етапі виявляли тварин з клінічними ознаками порушень функцій печінки та клінічно здорові. Для оцінки функціонального стану печінки у крові тварин визначали вміст загального білка, співвідношення між альбумінами та глобулінами, активність аспарагінамінотрансферази (АСТ),

активність глутаматдегідрогенази (ГЛДГ), вміст загального білірубину, рівень редокс-потенціалу та вміст загального і відновного глутатіону, вміст окисленого визначали як різницю між загальним та відновним. Одержані результати представлені в таблиці.

Таблиця – Біохімічні показники та рівень редокс-потенціалу крові корів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група (клінічно здорові тварини)	Дослідна група (тварини з ознаками гепато-депресивного синдрому)
Загальний білок, г/л	82,7±6,3	89,5±7,1
Альбуміни, %	37,4±2,8	31,9±4,1
Співвідношення А/Г	0,83±0,19	0,55±0,08
Загальний білірубін, мкмоль/л	6,3±0,47	11,5±1,3
Глутатіон загальний, ммоль/л	1,29±0,09	1,20±0,08
Глутатіон відновний, ммоль/л	0,94±0,09	0,75±0,08
Глутатіон окислений, ммоль/л	0,35±0,05	0,45±0,05
Активність АСТ, Од/л	37,8±3,9	58,2±5,0
Активність ГЛДГ, Од/л	3,7±0,4	9,6±1,3
редокс-потенціал, мВ	+7,7±1,1	+15,6±2,01

Примітка: * – різниця між показниками контрольної та дослідної груп статистично достовірна на рівні $p < 0,05$.

Як видно з представлених результатів, у корів, що мали ознаки печінкової недостатності спостерігаються явища гіперпротеїнемії, причому збільшення вмісту загального білка спостерігалось на фоні зниження частки альбумінів і збільшенні частки глобулінів, що свідчить, з одного боку, про порушення синтезу альбумінів печінкою, з іншого – про збільшення частки глобулінів, що є ознакою запальних процесів. Про напруженість функціональних процесів у печінці свідчить зростання вмісту загального білірубину у крові хворих тварин майже вдвічі порівняно до їх контрольних аналогів. Також про порушення функцій печінки, зокрема про наявність цитолітичного синдрому, свідчать результати дослідження активності індикаторних ферментів, – як видно з представлених результатів, активність АСТ і, особливо, активність ГЛДГ, яка є мітохондріальним ферментом гепатоцитів, суттєво зростає, що свідчить про глибокий цитоліз та порушення структури мітохондрій, у яких здійснюється окислювальне фосфорилування. Про порушення у системі окиснення/відновлення свідчить вміст фракцій глутатіону – основного відновника крові та тканин. У крові хворих корів спостерігалось зростання частки окисленого глутатіону в 1,3 рази порівняно до контролю, що свідчить про зростання концентрації окислених продуктів. Щодо редокс-потенціалу, то позитивні значення даного показника свідчать про незначний надлишок окислених продуктів у крові здорових корів, що може пояснюватись високим рівнем метаболізму, притаманним високопродуктивним тваринам, разом з тим, у корів з гепатодепресивним синдромом спостерігається зростання майже вдвічі позитивних значень показника, що свідчить про збільшення у крові окислених продуктів, здатних приєднувати електрони.

Висновки. Таким чином, у високопродуктивних корів із ознаками гепатодепресивного синдрому, який виник у результаті кетозу, спостерігається порушення білоксинтезуючої функції печінки, високий рівень цитолізу гепатоцитів, що у свою чергу призводить до порушень метаболічних процесів, які відображаються в зменшенні відновної фракції глутатіону та зростанні позитивних значень редокс-потенціалу, що є ознакою накопичення у крові метаболітів з високим окислювальним потенціалом, які є потенційними ініціаторами порушення структури життєво важливих сполук.

Одержані результати досліджень дозволяють використовувати визначення редокс-потенціалу у сукупності з іншими показниками для характеристики стану окисно-відновних реакцій за різних фізіологічних та клінічних станів у тварин.

Список літератури

1. Участие тиолдисульфидной системы в редокс-регуляции нейтрофилов при окислительном стрессе in vitro и остром воспалении [Текст] / Т.В. Жаворонок [и др.] // Физиология и здоровье человека : сб. тр. 2-го съезда физиологов СНГ. – Кишинев, 2008. – С. 40.
2. Жаворонок, Т.В. Вклад глутатиона у редокс – регуляцію нейтрофильных гранулоцитов при окислительном стрессе in vitro [Текст] / Т.В. Жаворонок, Е.А. Степоява, Н.В. Рязанцева // Сибирский физиологический съезд : тез. докл. – Барнаул, 2008. – Т. 2. – С. 65.
3. Жаворонок, Т.В. Редокс-зависимые механизмы изменений функциональных свойств нейтрофилов при остром воспалении и окислительном стрессе [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.03; 03.01.04. / Жаворонок Татьяна Васильевна ; [Сибирский гос. мед. ун-т]. – Томск, 2012. – 32 с.
4. Методи ветеринарної клінічної лабораторної діагностики [Текст] : справочник / под ред. И.П. Кондрахина. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.
5. Чала, І.В. Відновний потенціал крові корів за умов утримання на територіях, забруднених радіонуклідами [Текст] / І.В. Чала // Вісн. ЖНАЕУ. – 2012. – №1 (30), т. 1. – С. 321–326.
6. Determination of Blood Total, Reduced and Oxidized Glutathione in Pediatric Subjects [Text] / A. Pastore [at al.] // Clin. Chem. – 2011. – Vol. 47, № 8. – P. 1467–1469.

REDOX-POTENTIAL AND GLUTATHIONE CONTENT IN COW BLOOD UNDER LIVER DISEASE

Rusak V.S., Chala I.V.

Zhytomyr National Agroecological University, Zhytomyr

It has been established that the heavy milking cows which have the signs of hepatodepressive syndrome show the increase of redox-potential is twice as much as those in clinically healthy, which testifies to accumulation of oxidized products. The essential increase of oxidized fraction of glutathione and the reduction of its reduced fraction as the result of intensive oxidizing process and accumulation of metabolism acid products in blood has been determined.