

УДК:591.3.615

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ МАТЬ-ПЛОД ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ НИТРИТНОЙ ГИПОКСИИ

© 2009 Д.У. Черкесова, Д.Н. Магомедгаджиева, А.И. Рабаданова
Дагестанский государственный университет
Статья получена 06.10.2009 г.

В модельных экспериментах на крысах изучено влияние хронической внутриутробной нитритной гипоксии на организм матери и плода. Выявлены изменения массовых и линейных параметров внутренних органов плодов, показателей перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты, содержания фосфолипидов, холестерина, а также белоксинтезирующей функции в постнатальном онтогенезе.

Ключевые слова: гипоксия, нитриты, крысы, плод, фосфолипиды, холестерин, белок

Проблема патогенеза внутриутробной гипотрофии плода является актуальной в перинатальной медицине и экспериментальной биологии. Одной из причин отставания развития плода является гипоксия различной этиологии, переживаемая материнским организмом во время беременности. Для изучения механизмов патогенеза внутриутробной задержки развития используются различные экспериментальные модели внутриутробной гипоксии: содержание животных в гипобарической камере [23], в среде нейтрального азота [3], частичная перевязка преплацентарных сосудов [4]. Учитывая, что факторы, загрязняющие среду обитания становятся ведущими в развитии внутриутробной гипоксии и гипотрофии плода [16], существует необходимость всестороннего изучения характера их воздействия на организм матери и плода.

В настоящей работе для экспериментального моделирования внутриутробной гипоксии использовали широко распространенный в современной среде обитания человека гипоксант – нитрит натрия. Токсическое действие этого соединения связано с метгемоглобинообразующим эффектом, развитием гемической и гистотоксической гипоксии, тяжесть которой определяется дозами нитрита натрия [7]. Превышение допустимых концентраций нитритов в естественных источниках поступления их в организм представляет определенную угрозу для потомства и может быть фактором риска развития гипотрофии плода.

Целью данной работы явилось изучение линейно-массовых параметров тела плодов и внутренних органов, показателей окислительно-антиоксидантной системы и липидного

обмена у самок крыс и плодов при внутриутробной нитритной гипоксии, а также особенности развития и белоксинтезирующая функция тканей различных органов в постнатальном онтогенезе.

Материал и методы. Работа выполнена на 35 самках беспородных белых крыс массой 180-200 г. Беременность и подготовку к окоту проводили по рекомендации Ковалевского (1951). Во второй половине беременности ежедневно животным внутрибрюшинно вводили нитрит натрия в дозе 5 мг/100 г веса (доза, вызывающая гипоксию средней тяжести) [21]. Контрольным животным вводили 1 мл физиологического раствора. На 21 сутки под легким эфиром наркозом проводили декапитацию и чревосечение, извлекали матку, мозг, печень, плаценту. Фиксировали размеры помета, линейно-массовые параметры тела и внутренних органов. В крови и тканевых гомогенатах определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [1], суммарную антиоксидантную активность (САА) [5], активность каталазы (АК) [11], суммарные фосфолипиды (ФЛ) [13], холестерин (Х) [7], белок [22].

О развитии потомства в постнатальном онтогенезе судили по срокам реализации следующих признаков: отлипание ушей, оволосение, прорезывание зубов, реализации позы стояния. У новорожденных, 12-ти и 30-ти дневных крысят определяли также содержание белка [22] в тканевых гомогенатах внутренних органов. Полученные данные подвергали статистической обработке, достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента [14].

Результаты и обсуждение. Показано, что нитритная гипоксия не повлияла на индекс плодовитости самок крыс: в контрольной и опытной группах этот показатель имел сопоставимые значения (~44%). У самок, подвергшихся нитритной гипоксии отмечена внутриутробная гибель плодов, которая привела к снижению индекса беременности на 30% по сравнению с контролем. По числу крысят в

Черкесова Дилара Удубиевна, кандидат биологических наук, профессор кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: ashty06@mail.ru

Магомедгаджиева Джамиля Набиевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии, гистологии

Рабаданова Амина Ибрагимовна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, гистологии

помете при внутриутробной гипоксии не выявлены достоверно значимые различия. Размеры помета в контрольной и опытной группах варьировали от 3 до 10 крысят, что, очевидно, связано с тем, что не был произведен строгий отбор самок с учетом произведенных окотов.

У плодов, подвергшихся внутриутробно воздействию гипоксанта, были меньше масса (опыт – 4,9±0,08 г; контроль – 5,5±0,05 г) и длина тела (опыт – 58,1±0,9 мм; контроль – 61,9±1,2 мм), абсолютные значения массы сердца (опыт – 29,5±2,1 мг; контроль – 34,9±1,2 мг) и печени (опыт – 210,0±10,55 мг; контроль – 263,2±12,6 мг). В то же время у плодов, перенесших нитритную гипоксию, выше отношения массы мозга (контроль – 0,028; опыт – 0,029) и печени (контроль – 0,595; опыт – 0,601) к весу тела. Таким образом, выявленные изменения линейно-массовых показателей плодов позволяют судить о развитии внутриутробной гипотрофии.

Согласно современным представлениям, пусковым механизмом нарушений в функциональной системе мать-плод при гипоксии являются изменения окислительно-антиоксидантного гомеостаза материнского организма [10]. Показатели окислительно-антиоксидантной системы и липидного обмена тканей самок крыс и плодов при внутриутробной нитритной гипоксии представлены в табл. 1. Увеличение содержания МДА в мозге (на 80%) и печени (на 70%) беременных самок, перенесших хроническую нитритную гипоксию, свидетельствует об активации процесса ПОЛ, что согласуется с представлением о его роли в патогенезе различных видов стресса [2]. Следовое количество МДА и высокий уровень САА и АК выявлены в плаценте. В мозге самок имеет место угнетение САА и особенно АК. Значительно возрастает количество МДА и более чем в 1,5 раза увеличивается АК в крови, что указывает на деструктивные процессы в эритроцитах, являющихся источником АК крови.

Таблица 1. Показатели окислительно-антиоксидантной системы и липидного обмена тканей самок (I) и плодов (II) при внутриутробной нитритной гипоксии (К – контроль; О-опыт; M±m; n_C=12; n_П=36)

Ткани	Варианты опытов	Малоновый диальдегид (нМоль/л)	Активность каталазы (мкМоль/л)	Суммарная антиоксидантная активность (%)	Фосфолипиды (мг%)	Холестерин (мг%)	
Мозг	I	К	60,0±2,79	0,074±0,002	54,5±3,2	5537±251,8	1877,8±212,9
		О	96,0±8,3*	0,03±0,001*	45,5±2,4*	4035,6±220,5*	1466,3±166,9
	II	К	26,0±3,5	0,96±0,02	81,8±8,5	1880,9±23,5	166,7±15,3
		О	40,0±7,1*	1,7±0,2*	77,3±1,9	1489,3±19,3*	229,8±16,9*
Печень	I	К	38,0±4,2	12,05±1,9	91,0±4,5	3739,8±240,1	280,6±82,8
		О	52,0±4,7*	11,4±0,8	81,2±6,3	3044,1±222,2	267,5±38,3
	II	К	28,0±3,7	14,1±2,1	50,0±1,8	1722,2±32,9	108,3±3,95
		О	76,0±5,8*	13,1±1,6	55,0±2,1	1189,6±29,9*	175,1±8,75*
Плацента	I	К	следы	0,28±0,08	79,0±2,3	-	200,7±34,2
		О	следы	0,31±0,04*	81,8±4,8	-	204,1±35,2
Сыворотка	II	К	18,0±2,2	0,05±0,01	-	-	
		О	40,0±4,3*	0,08±0,001*	-	-	

* - достоверные различия по отношению к контролю

Снижение содержания функционально важных компонентов неферментативного и ферментативного звеньев АОС как токоферола, глутатиона, аскорбиновой кислоты, антиперекисных и других ферментов при воздействии на организм нитросоединений отмечено в ряде работ [12, 19]. Нарушение окислительно-антиоксидантного равновесия в тканях беременных крыс, подвергшихся воздействию нитрита натрия, отражается на показателях липидного обмена: содержание ФЛ в мозге снизилось на 27,0%; в печени – на 18,6%, содержание Х в мозге уменьшилось на 22%. У плодов в условиях внутриутробной гипоксии адекватно повышению МДА в мозге возрастает

АК, что можно рассматривать как проявление компенсаторной реакции, направленной на сдерживание процессов ПОЛ. При этом отмечена тенденция к снижению САА. Накопление ТБК-активного продукта в печени на фоне незначительных изменений АК и САА указывает на напряжение системы антиоксидантной защиты этого органа. Особенностью липидного обмена плодов при внутриутробной нитритной гипоксии является уменьшение ФЛ мозга на 20,8% и печени - на 30,9%, увеличение содержания Х в мозге и печени на 38% и 62% соответственно. Холестерин, не обладая антирадикальной активностью, проявляет свойства структурного антиоксиданта, снижая доступность

жирнокислотных остатков ФЛ для свободно-радикальной атаки [9]. Увеличение содержания X в мозге и печени крысят, перенесших нитритную гипоксию, можно рассматривать как реакцию, направленную на поддержание целостности мембранных структур.

Изучение состояния потомства в постнатальном онтогенезе показало, что незрелость морфофункциональных систем в результате перенесенной гипоксии приводит к задержке развития в первые недели после рождения. Существует представление [15], что в развитии постнатальных проявлений внутриутробной гипоксии существенная роль принадлежит

нарушению синтеза макромолекул. Содержание белка в тканях крысят в различные сроки раннего постнатального онтогенеза представлены в табл. 2. У однодневных крысят, переживших внутриутробную гипоксию, содержание белка в печени, сердце и мозге составляет 64,1%; 95,2% и 93,9% от контрольных значений. Значительное угнетение белоксинтезирующей функции печени при хронической гипоксии, очевидно, связано с преобладанием в ней катаболических процессов. На возрастание окисления эндогенных субстратов и увеличение активности катепсинов при гипоксии плода указывают и данные литературы [20, 18].

Таблица 2. Содержание белка (мг/г сырой ткани) в различных тканях крысят в постнатальном онтогенезе (I – нормальное течение беременности; II – нитритная гипоксия)

Группы животных	Ткани					
	мозг		печень		сердце	
	I	II	I	II	I	II
новорожденные	56,1±0,1	52,7±2,0	115,0±1,4	73,8±0,4*	71,0±0,9	67,6±0,8
12-ти дневные	64,7±0,9	62,1±1,0	123,4±0,3	104,1±1,4*	129,3±0,5	124,7±1,0
30-ти дневные	89,7±0,9	86,2±1,4	132,5±1,0	123,0±0,94*	191,2±2,2	187,6±1

* - достоверные различия по отношению к контролю

Незначительные изменения содержания белка в мозге и сердце новорожденных крысят, по-видимому, связаны с компенсаторной реакцией этих органов на внутриутробную гипоксию. Компенсаторные механизмы, препятствующие повреждению мозга при гипоксии, включают метаболическую регуляцию мозгового кровообращения, изменение кровенаполнения мозга. Хроническая гипоксия у некоторых видов животных, связанная с задержкой внутриутробного развития, приводит к перераспределению сердечного выброса в пользу наиболее важных органов, таких как миокард, мозг, надпочечники [6]. Очевидно, что регуляция кровообращения плода, обеспечиваемая нейрогуморальными и гормональными механизмами, играет важную роль в защите жизненно важных органов при гипоксии. У 12-ти дневного потомства интактных крыс содержание белка возрастает в мозге, печени и сердце на 15,3; 7,3 и 81,6% соответственно. Значительное увеличение белка в сердце связано с тканевыми особенностями сердечной мышцы, где на долю миофибриллярных белков сердца приходится 21%, в печени же доля белков 30% сухого остатка составляет половину [8]. У 12-дневных крысят, перенесших внутриутробную гипоксию, достоверно значимое снижение белка происходит в печени. У 30-ти дневных интактных крысят происходит дальнейшее повышение белка в мозге на 38,6% и в сердце – на 48,1%, по сравнению с 12-ти дневными. В опытной группе 30-ти дневных крысят не выявлены статистически значимые различия в

содержании белка в этих органах. В печени месячных крысят, перенесших внутриутробную гипоксию, прирост белка составляет 18%, в то время как у интактных крысят –7%. Различие в степени увеличения белоксинтезирующей функции печени месячных крысят, по-видимому, является проявлением компенсаторной реакции, связанной с реализацией генетической программы на более поздних этапах онтогенеза у крысят, перенесших внутриутробную гипоксию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, А.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. - № 11. – С. 41-43.
2. Барабой, В.А. Перекисное окисление липидов и адаптация клетки при стрессе // Цитология. – 1991. - №5. – С. 87.
3. Вартанян, Н.М. Экспериментальная «модель» отставания развития плода //Акушерство и гинекология. – 1979. - №7. – С. 39-41.
4. Гончаренко, Е.Н. Функциональные и биохимические характеристики острой гипобарической гипоксии у новорожденных и взрослых крыс / Е.Н. Гончаренко, С.В. Атокова, С.В. Шестакова // Акушерство и гинекология. – 1999. - №3. – С. 51-59.
5. Демчук, М.Л. Процессы перекисного окисления липидов при черепно-мозговой травме / М.Л. Демчук, Л.И. Левченко, М.Ш. Промыслов // Нейрохимия. – 1990. – Т. 9, №1. – С. 108-110.
6. Жукова, Т.П. Особенности кровоснабжения мозга плода и новорожденного / Т.П. Жукова, Е.В. Сюткина // В кн. Гипоксия плода и новорожденного. – М.: Медицина, 1984. – С. 11-37.

7. *Иваницкая, Н.Ф.* Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введением нитрита натрия // Патол. физиол. – 1975. - №3. – С. 64-71.
8. *Иванов, И.И.* Введение в клиническую биохимию. – Л.: Медицина. 1969. – 492 с.
9. *Клебанов, Г.И.* Влияние холестерина на перекисное окисление липидов мембран липосом / *Г.И. Клебанов, Ю.О. Теселкин, К. Груне, Ю.А. Владимиров* // Биологические мембраны. – 1988. – 310. – С. 1072-1081.
10. *Коржова, В.В.* Воздействие абдоминальной декомпрессии на антенатальное развитие плода при гипоксии матери // Акушерство и гинекология. – 1970. - №7. – С. 66-67.
11. *Королюк, М.А.* Метод определения активности каталазы / *М.А. Королюк, Л.К. Иванова, И.Г. Майорова, В.А. Токарева* // Лаб. дело. – 1988. - № 4. – С. 44-47.
12. *Кропотов, А.В.* Фармакологическая коррекция гипоксических состояний / *А.В. Кропотов, В.П. Челонин, Н.В. Кропотова*. – Гродно, 1991. - Ч.3. – С. 432-433
13. *Кушманова, О.Д.* Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / *О.Д. Кушманова, Г.М. Ивченко*. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.
14. *Лакин, В.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 300 с.
15. *Майвеллис, М.Я.* Нарушение синтеза белков мозга как общее звено патогенеза врожденных поражений ЦНС. Тезисы докладов. В кн. IX Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы / *М.Я. Майвеллис, А.Л. Заблудовский, С.Н. Шихов*. – Ереван, 1983. – С. 68-69.
16. *Покровский, В.А.* Продовольственная безопасность России / *В.А. Покровский, Е.Н. Беляев, В.А. Тутельян* // Вест. РАМН. – 1996. - №1. – С. 9-12.
17. *Прохоров, А.М.* Большой энциклопедический словарь. М.: Советская энциклопедия, 1991. – Т. 2. – 429 с.
18. *Райвно, К.О.* Биохимические параметры гипоксии / *К.О. Райвно, А.Г. Антонов, Г.Я. Сафонова* // В кн. Гипоксия плода и новорожденного. М.: Медицина, 1984. – С. 91-115.
19. *Тиунов, Л.А.* Состояние мембранных антиоксидантов при нитритной интоксикации / *Л.А. Тиунов, В.В. Соколовский, Е.В. Костюшов* // Вопр. мед. химии. – 1994.- Т. 40. – С. 2-5.
20. *Федорова, Н.В.* Диагностика и лечение внутриутробной гипоксии плода. – М.: Медицина, 1982. – 180 с.
21. *Черкесова, Д.У.* Экспериментальная модель внутриутробной нитритной гипоксии / *Д.У. Черкесова, М.-С.А. Омаров* // Бюллетень. «Медицина. Наука и практика». ДНЦ РАМН. – 1995. - №1. – С. 44-46.
22. *Lowry, O.R.* Protein measurement with folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, №1. – P. 265-275.
23. *Zack H.T., Chang S.M. et.al. ?/ Zack H.T., Chang S.M. et.al. * Biol. Neonatal. 1984. V.46. P.10-13.

FUNCTIONAL CHANGES IN SYSTEM MOTHER-FETUS AT EXPERIMENTAL CHRONIC NITRITE HYPOXIA

© 2009 D.U. Cherkeseva, D.N. Magomedgadzhieva, A.I. Rabadanova
Dagestan State University
Article is received 2009/10/06

In modelling experiments on rats influence of chronic intra-uterine nitrite hypoxia on organism of mother and fetus is studied. Changes of mass and linear parameters of internal bodies of fetus, parameters of peroxide lipid oxidations and systems of antioxidant protection, phospholipids maintenances, cholesterol, and also protein synthesized functions in postnatal ontogenesis are revealed.

Key words: *hypoxia, nitrites, rats, fetum, phospholipids, cholesterol, protein*

Dilara Cherkeseva, Candidate of Biology, Professor at the Anatomy, Physiology, Hystology Department. E-mail: lone_78@mail.ru

Dzhamiliya Magomedgadgieva, Candidate of Biology, Associate Professor at the Anatomy, Physiology, Hystology Department
Amina Rabadanova, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Anatomy, Physiology, Hystology Department