

ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2001 г. М.И. Рецкий, В.С. Бузлама*, Л.В. Шанаева*

Воронежский государственный университет

** Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии*

У разных представителей наземных (коровы, свиньи) и морских (тюлени, дельфины) млекопитающих изучены показатели, характеризующие интенсивность течения процессов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы организма. Показано, что между представителями этих двух групп животных имеются существенные различия в функционировании указанных систем. Более высокая интенсивность процессов перекисного окисления липидов, обусловленная особенностями экологической ниши, которую заняли морские млекопитающие в процессе эволюции, обусловила развитие у них и более мощной, по сравнению с наземными животными, системы антиоксидантной защиты организма.

Интенсивность освоения Мирового океана, с которым по праву связывают будущее человечества постоянно возрастает. Наряду с техническими средствами в освоении континентального шельфа Мирового океана в настоящее время уже используют, а в будущем во все большей мере будут к этому привлекаться высокоорганизованные обитатели морских глубин – морские млекопитающие [1]. По аналогии с наземными животными они могут быть использованы человеком в различных областях его деятельности и быть объектами доместикации [2]. Это предполагает их отлов в дикой природе и содержание в стационарных условиях вольерного или бассейнового типа, которые могут служить и демонстрационными учреждениями (зоопарки, дельфинарии, океанариумы и т.п.). В связи с этим практически все стресс-факторы, характерные для современной технологии содержания домашних животных, в той или иной мере имеют место при содержании в неволе морских млекопитающих [3]. Это прежде всего стрессовые ситуации, связанные с отловом и фактом пленения животных, транспортировкой их к местам постоянного содержания, принудительным кормлением в первые месяцы содержания в неволе [3,4].

С особенностями функционирования у морских млекопитающих дыхательной системы, их кислородного режима [5], характера терморегуляции [6] и питания и других физиологических систем связаны и особенности липидного [7], электролитного [8], углеводного [9] и других видов обмена у этих животных.

В настоящее время все большее внимание исследователей привлекают процессы перекисного (сво-

боднорадикального) окисления липидов (ПОЛ) и состояние системы антиоксидантной защиты (АОЗ) организма в связи с признанием их решающей роли в регуляции структурно-функциональных свойств биологических мембран, которые являются определяющими в переходе клетки и организма в целом из одного метаболического состояния в другое.

В соответствии с этим состояние процессов ПОЛ и системы АОЗ имеют существенное значение не только для нормальной физиологии и биохимии организма, но и могут выступать как ключевое универсальное звено механизмов адаптивных реакций [10].

Изменения в системе АОЗ и процессах ПОЛ у человека и животных в условиях гипоксии, реоксигенации, гипероксии [10], а также после рождения [11,12], сопряженные с радикальными изменениями кислородного режима организма, являются фенотипическим проявлением функционального состояния антиоксидантного статуса, как генетически детерминированного соотношения прооксидантных и антиоксидантных систем у животных, эволюционно сформировавшихся в однотипных условиях среды обитания, определяющих принципиально схожий характер кислородного метаболизма.

Получить приемлемые доказательства генетической детерминированности функционального состояния, а также соотношения прооксидантных и антиоксидантных систем, сформировавшихся в процессе эволюции в зависимости от экологических условий существования того или иного вида животных, до настоящего времени не представлялось возможным. Это связано с отсутствием

в отечественной и зарубежной литературе данных о сравнительном изучении процессов перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы у млекопитающих, имеющих существенные межвидовые различия в кислородных режимах, обусловленных экологическими условиями обитания вида. Указанные положения и определили общую направленность работы, выбор объектов исследования и методических подходов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 12 гренландских тюленях (*Histiophoca groenlandica*), 20 черноморских афалинах (*Tursiops truncatus*) и 10 дальневосточных белухах (*Delphinapterus leucans*), 30 коровах и 48 свиньях.

Исследования на морских млекопитающих проведены на базе океанариума Тихоокеанского института рыбного хозяйства и океанографии (г. Владивосток), Калининградского зоопарка (г. Калининград), Морской биологической базы и Утришского дельфинария Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (пос. М.Утриш Новороссийского района Краснодарского края). Исследования на коровах (3-4 лактации) и свиньях (в возрасте 4-6 мес.) проведены в животноводческих хозяйствах Воронежской области.

Материалом для проведения исследований служила стабилизированная гепарином кровь и сыворотка крови. Полученный биоматериал замораживали и хранили в жидком азоте до проведения биохимических исследований в условиях лабораторий.

Для оценки состояния процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма методами, описанными [13] опре-

деляли: содержание в крови конъюгированных диенов и кетодиенов (ед.опт.пл./мг липидов); малонового диальдегида (мкМ/л); восстановленного глутатиона (мМ/л); витамина Е в сыворотке крови (мкМ/л); ферроксидазную активность церулоплазмينا в сыворотке крови (мкМ бензохинона/лмин); активность супероксиддисмутазы в эритроцитах (отн.ед./мг гемоглобина); каталазы в крови (мМ H₂O₂ /лмин); пероксидазы в крови (усл.ед./л.); глутатионпероксидазы в крови с использованием в качестве субстрата гидроперекиси изопропилбензола (мМ восстановленного глутатиона/лмин); глутатионредуктазы в крови (мкМ окисленного глутатиона / лмин); содержание НЭЖК в сыворотке крови (мкМ/л).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что у наземных и водных млекопитающих интенсивность процессов ПОЛ и показатели, характеризующие состояние системы АОЗ существенным образом различаются (табл.1). Эти межвидовые различия обусловлены, главным образом, эволюционно детерминированными особенностями кислородного режима животных.

Так, два вида наземных млекопитающих (коровы и свиньи), имея сходный характер кислородного режима, существенно не отличаются друг от друга по показателям, отражающим интенсивность течения процессов свободнорадикального окисления липидов и состояние системы АОЗ. В то же время можно отметить некоторые видовые особенности, относящиеся, в основном, к показателям системы АОЗ организма. У свиней, в отличие от коров более низкая активность

Таблица 1.

Показатели ПОЛ и системы АОЗ у наземных и морских млекопитающих

| Показатели | Виды животных | | | |
|-----------------------|---------------|-----------|------------|------------|
| | Коровы | Свиньи | Тюлени | Дельфины |
| Конъюгированные диены | 0,10±0,20 | 0,10±0,20 | 0,15±0,30 | 0,20±0,40 |
| Кетодиены | 0,03±0,08 | 0,03±0,08 | 0,06±0,12 | 0,10±0,20 |
| Малоновый диальдегид | 1,0±1,5 | 0,5±1,0 | 1,5±2,5 | 1,5±2,5 |
| Глутатион | 0,5 ± 0,8 | 0,4 ± 0,7 | 0,8 ± 1,5 | 0,8 ± 1,5 |
| Витамин Е | 10,0±20,0 | 4,0 ±8,0 | 20,0±40,0 | 20,0±40,0 |
| Церулоплазмин | 150 ± 450 | 500 ±1000 | 200 ± 400 | 400 ± 800 |
| Супероксиддисмутаза | 1,5±3,5 | 1,0±3,0 | 5,0±8,0 | 5,0±9,0 |
| Каталаза | 30,0±40,0 | 45,0±60,0 | 10,0±20,0 | 10,0±20,0 |
| Пероксидаза | 40,0±60,0 | 45,0±65,0 | 80,0±120,0 | 80,0±120,0 |
| Глутатионпероксидаза | 10,0±20,0 | 8,0±15,0 | 60,0±85,0 | 60,0±100,0 |
| Глутатионредуктаза | 200 ± 400 | 250 ± 450 | 400 ± 700 | 450 ±1000 |

СОД сочетается с более высокой активностью в сывотке крови церулоплазмину, что, вероятно, дополняет действие этих двух компонентов (внутриклеточного и внеклеточного) системы АОЗ, обеспечивая более эффективное обезвреживание супероксидных радикалов. Также не выявлено существенных различий в показателях, характеризующих интенсивность процессов ПОЛ и состояние системы АОЗ между разными видами морских млекопитающих.

В тоже время выявлены довольно существенные различия между наземными и морскими животными. У ластоногих и китообразных средний уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ в крови примерно в 1,5-2,0 раза выше, чем у коров и свиней, что свидетельствует о более высокой интенсивности протекания у них процессов ПОЛ.

Система антиоксидантной защиты морских млекопитающих характеризуется высоким содержанием в крови эндогенных биоантиоксидантов, в частности, глутатиона и витамина Е. Ныряющим животным свойственна и более высокая активность супероксиддисмутазы, пероксидазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы.

Различия в интенсивности течения процессов ПОЛ и состоянии системы АОЗ между наземными и водными млекопитающими объясняются, на наш взгляд, рядом обстоятельств.

Существенную роль в этом играют особенности структуры пищевого рациона морских животных, включающего, в основном, рыбу и некоторое количество беспозвоночных. Кроме этого для морских млекопитающих, в отличие от наземных, свойственно более интенсивнее течение обмена липидов, являющихся основным источником энергообеспечения у этих животных при нырянии [14]. При этом для китообразных и ластоногих характерен более высокий уровень в крови НЭЖК [7]. Если у свиней их содержание в норме составляет 50-150, а у крупного рогатого скота – 200-500, то у китообразных и ластоногих их концентрация в сывотке крови колеблется в пределах 900 – 1500 мкМ/л. Различия в липидном спектре между наземными и морскими животными объясняются характером липидов, поступающих с пищей. Основу жировой части рациона морских млекопитающих составляет жир рыб и морских животных, имеющий высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот [15, 16]. Такие особенности липидного спектра крови морских млекопитающих обуславливают наличие значительного количества субстрата для свободнорадикального окисления, которому подвержены, в основном, ненасыщенные жирные кислоты. О высокой степени ненасыщенности липидов в крови кито-

образных и ластоногих косвенно свидетельствуют результаты определения уровня конъюгированных диеновых связей, так как измеряемая при 232 нм оптическая плотность гептановых экстрактов из крови является суммой оптических плотностей сопряженных двойных связей (собственно первичных продуктов ПОЛ) и изолированных двойных связей, характеризующих ненасыщенность общего пула жирных кислот и не являющихся продуктами ПОЛ [17]. Однако определяющим фактором, способствующим более интенсивному протеканию процессов ПОЛ у морских млекопитающих, по сравнению с наземными, являются особенности кислородного режима у этих животных.

Несмотря на ряд анатомо-морфологических, физиологических и биохимических особенностей организма, сформировавшихся в процессе эволюции [18], у китообразных и ластоногих при исследовательском (длительном) нырянии на протяжении дыхательного цикла резко изменяется кислородный режим: гипоксическое состояние при погружении под воду сменяется гипероксическим, вследствие реоксигенации, при возвращении на поверхность [5, 19].

Имеющиеся в настоящее время данные однозначно свидетельствуют о том, что как гипоксия любого генеза и в еще большей степени гипероксия ведут к образованию активных форм кислорода и активации процессов ПОЛ в организме. Причем, когда эти два явления сочетаются, т.е. когда вслед за достаточно длительной гипоксией в тканях возникает избыток кислорода, процессы ПОЛ активируются в еще большей степени [10]. Поэтому особенности кислородного режима морских млекопитающих, связанные с их кормовым и исследовательским нырянием в период бодрствования, составляющего для разных видов и особей от 50 до 70 % времени суток [20] являются мощным предрасполагающим фактором для постоянной активации процессов ПОЛ.

Достаточно высокая интенсивность этих процессов, обусловленная особенностями той экологической ниши, которую заняли морские млекопитающие в процессе эволюции обусловила и развитие у них более мощной, по сравнению с наземными животными, системы, контролирующей интенсивность свободнорадикального окисления липидов на основных его стадиях. Это обеспечивает высокую устойчивость ныряющих животных к избыточной активации перекисидации липидов в процессе жизнедеятельности в данных экологических условиях. Так, по сравнению с изученными видами наземных животных, у адаптированных к содержанию в неволе морских млекопитающих в 2-3 раза выше уровень в крови основных эндогенных биоантиоксидантов, а также активность большин-

ства антиоксидантных ферментов. Причем наибольшие различия установлены в отношении селеннезависимой ГПО, активность которой почти на порядок выше чем у наземных животных. Это, вероятно, связано с преобладанием в составе продуктов свободно-радикального окисления органических гидроперекисей, в отличие от перекиси водорода, образование которой у морских млекопитающих не столь значительно. На это также указывает более низкая (в 2-4 раза) активность каталазы, которая существенно зависит от концентрации субстрата [21].

Об эффективности функционирования системы АОЗ судить по величине соотношения активности основных ферментов и содержания эндогенных биоантиоксидантов с уровнем продуктов ПОЛ в организме животных [22]. Проведенные расчеты соотношения уровня первичных продуктов ПОЛ (конъюгированных диенов – КД) и некоторых показателей системы АОЗ (табл. 2) свидетельствуют о том, что морские млекопитающие значительно более устойчивы к чрезмерной интенсификации процессов перекисного окисления липидов, чем изученные виды наземных животных.

Таблица 2.

Соотношение уровня первичных продуктов ПОЛ и компонентов системы АОЗ в крови у разных видов млекопитающих

| Объект исследования | Соотношение | | |
|---------------------|-------------|--------|--------------|
| | СОД/КД | ГПО/КД | Витамин Е/КД |
| Свиньи | 1340 | 34 | 21 |
| Коровы | 3000 | 81 | 81 |
| Ластоногие | 4800 | 280 | 120 |
| Китообразные | 5000 | 270 | 100 |

На наш взгляд, это обусловлено эволюционно детерминированной функциональной избыточностью системы АОЗ у китообразных и ластоногих. В условиях активации процессов ПОЛ наличие мощного неферментативного звена и высокой активности ферментов системы АОЗ у морских животных обеспечивает эффективную регуляцию перекисидации липидов и препятствует значительному накоплению ее продуктов в организме дельфинов и тюленей. Установленные особенности системы АОЗ является одной из основ эволюционно сформировавшейся устойчивости морских млекопитающих к продолжительному апноэ в условиях выключения внешнего дыхания, развивающейся аноксии и гиперкапнии при нырянии [23]. Это обеспечивает возможность осуществления морскими млекопитающими своих жизненных функций в условиях постоянно меняющегося кислородного режима организма, обусловленного сменой состояний гипоксии и относительной гипероксии (реоксигенацией).

В целом сравнительный анализ результатов проведенных исследований различных звеньев системы АОЗ и показателей ПОЛ у наземных и морских млекопитающих свидетельствует, что между представителями этих двух групп животных существует ряд различий только количественного характера в функционировании указанных систем. С учетом имеющихся данных литературы о принципах формирования метаболических адаптаций к нырянию у морских млекопитающих [19, 24] представленные данные позволяют полагать, что эволюция системы антиоксидантной защиты у морских млекопитающих шла не столько по пути образования принципиально новых ферментных и неферментных систем, сколько по пути отбора новых свойств и качеств, а также изменения соотношения компонентов эволюционно более древних достаточно консервативных биохимических механизмов защиты организм от избыточного образования активных форм кислорода.

Примером использования у ныряющих животных эволюционно детерминированных особенностей механизмов антиоксидантной защиты, в осуществлении адаптивных реакций в стрессовых ситуациях, когда также развивается состояние относительной гипоксии из-за повышения потребности организма в кислороде может служить существенное увеличение активности каталазы в крови у морских животных как при длительном апноэ, в результате чего у них развивается состояние своеобразного «гипоксического стресса» [25], так и при развитии стресс – реакции в экстремальных ситуациях при отлове, иммобилизации и транспортировке. Наиболее важным следствием такого повышения активности каталазы, является разложение возросшего количества перекиси водорода и образование так называемого «эндогенного кислорода», который поступает в цепи энергетического метаболизма, и является дополнительным фактором обеспечения более эффективного использования ограниченного резерва кислорода в организме во время ныряния.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вуд Ф.Г. Морские млекопитающие и человек. Л. Гидрометеиздат. 1979. 264 с.
2. Земский В.А., Мишин В.Л. // Морские млекопитающие: Тез. докл. X Всесоюз. совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих. М. 1990. С.118-119.
3. Small R. J., Demaster D. P. // Marine Mammal Science. 1995. V. 11. P. 209-226.
4. Бобков А.В. // Морские млекопитающие: Тез. докл. X Всесоюз. совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих. М. 1990. С. 34-36.

ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

5. Колчинская А.З., Маньковская И.Н., Мисюра А.Г. Дыхание и кислородные режимы организма дельфинов. Киев. Наукова думка. 1980. 332 с.
6. Boily P., Kvadsheim P.H., Folkow L. P. // J. Theor. Biol. 2000. V. 207. № 3. P. 317-323.
7. Постоянова Н.И., Коротков С.В. // Физиология морских животных: Тез. докл. Всесоюз. конф. Апатиты. 1989. С.109-110.
8. Мухля А.М., Орлов М.М. // Морские млекопитающие: Тез. докл. X Всесоюз. совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих. М. 1990. С.202-203.
9. Heath M.E., Ridgway S.H. // Am. J. Physiol. 1999. V. 276. № 4. Pt.2. P. 1188-1194.
10. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических поражений сердца. М. Медицина. 1984. 270 с.
11. Погорелова Т.Н., Длужевская Т.С., Крукиер И.И. и др. // Клинич. лабор. диагностика. 1996. № 5. С. 27-29.
12. Huertas J.R., Palomino N., Ochoa J.J. // Biofactors. 1998. № 8. P. 133-137.
13. Бузлама В.С., Рецкий М.И., Мещеряков Н.П., Рогачева Т.Е. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов системы антиоксидантной защиты организма животных. Воронеж. 1997. 35 с.
14. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М. Мир. 1988. 568 с.
15. Innis S.M., Kuhnlein H.V., Kinloch D. // Lipids. 1998. V. 23. № 11. P. 1064-1068.
16. Резвухин А.И., Шалаурова И.Ю., Березовская-Е.В. // Вопр. мед. химии. 1996. Т. 42. № 1. С. 59-63.
17. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. ВИНТИ АН СССР. М. 1986. Т.18. 136 с.
18. Галанцев В.П. Эволюция адаптаций ныряющих животных. Л. Наука. 1977. 190 с.
19. Williams T.M., Haun J.E., Friedl W.A. // J. Exp. Biol. 1999. V. 202. Pt. 20. P. 2739-2748.
20. Мухаметов Л.М., Олесенко А.И., Полякова И.Г. // Физиология морских животных: Тез. докл. Всесоюз. конф. Апатиты. 1989. С. 104-105.
21. Мирошниченко О.С. // Биополимеры и клетка. 1992. Т. 8. № 6. С. 3-25.
22. Ланкин В.З. // Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии: Матер. симпоз. М. Наука. 1976. С. 108-110.
23. Драч А.С., Мисюра А.Г., Прудникова Е.В. // Морские млекопитающие: Тез. докл. X Всесоюз. совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих. М. 1990. С. 90-91.
24. Коваленко С.Г. // Морские млекопитающие: Тез. докл. X Всесоюз. совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих. М. 1990. С. 140-141.
25. Галанцев В.П., Коваленко С.Г., Камардина Т.А. // Физиология морских животных: Тез. докл. Всесоюз. конф. Апатиты. 1989. С. 88-89.