

## ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ОСНОВНЫМИ АНТИОКСИДАНТНЫМИ СИСТЕМАМИ КРОВИ ТЕЛЯТ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Г. А. Вашанов, Н. Н. Каверин

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 17.03.2009 г.

**Аннотация.** С помощью методов двумерной статистики установлены количественные и качественные различия в корреляционных связях между активностью супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы в крови телят. Анализ линейной корреляции выявил тандем СОД-КАТ как координированно действующую пару ферментов. Статистический анализ показал, что ГПО имеет устойчивую тенденцию к отрицательной корреляции с другими ферментами. Два фермента оказывают прямое влияние на третий каждый в отдельности или совместно.

**Ключевые слова:** супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы, кровь, телята.

**Abstract.** Quantitative and qualitative differences in linear correlations between superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GSR) and catalase (CAT) are determined in the calves blood by two-dimensional statistical methods. Paired linear correlation analysis indicate SOD-CAT tandem as the co-ordinate acting enzymatic pair. Statistical analysis shows that GPX has the steady tendency to negative correlation with other enzymes. Two enzymes influence on third enzymes both separately, and in common.

**Keywords:** superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, blood, calves.

### ВВЕДЕНИЕ

Успехи, достигнутые в области изучения физиологической роли биоантиоксидантов в разные периоды постнатальной адаптации животных, позволяют установить взаимосвязи, лежащие в основе их объединения в «функциональные» антиоксидантные системы, отдельные компоненты которых специализируются на поэтапном восстановлении активных форм кислорода и молекулярных продуктов свободнорадикального окисления липидов [1]. При этом особого внимания заслуживают зависимые изменения активности таких ключевых антиоксидантных ферментов крови как супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) и каталазы (КАТ).

Цель исследования заключалась в изучении взаимного влияния на проявление активности основных ферментов антиоксидантной защиты крови телят в период раннего постнатального онтогенеза и последующей оценке характера взаимосвязей между указанными энзимами с помощью методов корреляционного анализа.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили 77 телят первого месяца жизни, родившиеся в зимне-

весенний период от клинически здоровых коров в условиях животноводческого хозяйства ОАО «Воронежпищепродукт» (Новоусманский район, Воронежская область). Материалом служила цельная гепаринизированная кровь телят 1-, 10- и 30-суточного возраста, полученная в утренние часы до кормления методом пункции ярёмной вены.

Активность СОД (КФ 1.15.1.1) выражали в усл. ед. акт./мг гемоглобина; селензависимой ГПО (КФ 1.11.1.9) — в мМ GSH / (л×мин); ГР (КФ 1.8.1.7) — в мкМ GSSG/(л×мин); КАТ (КФ 1.11.1.6) — в мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(л×мин); содержание восстановленной формы глутатиона (GSH) рассчитывали в мМ/л [2].

Для каждой пробы проводили 2-кратные аналитические определения показателей. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием прикладной статистической программы “Statistica 5.0”. Достоверность отличий в значениях показателей оценивали методом парных сравнений, используя *t*-критерий Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно представленной на рис. 1 схеме СОД восстанавливает анион-радикал кислорода (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) до перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), которая в свою очередь восстанавливается каталазой до воды и молекулярного кислорода, либо ГПО до воды при непо-

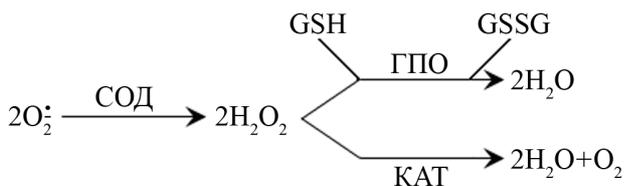


Рис. 1. Поэтапное восстановление молекулярного кислорода ферментами антиоксидантного комплекса крови телят

средственным участии GSH в качестве донора водорода [3].

Однако в действительности взаимодействия между данными ферментами могут быть значительно сложнее, чем это следует из схемы, и не только потому, что дисмутация  $\text{O}_2^{\cdot-}$  является не единственным источником образования перекиси водорода. Эти ключевые ферменты, по существу, управляют таким фундаментальным процессом, как регуляция основного потока активированных кислородных метаболитов в организме, и высту-

пают стратегически важной мишенью для многих регуляторных факторов эндогенного и экзогенного происхождения [4, 5].

Результаты первичной обработки данных выявили низкие величины ассиметрии и эксцесса. Это свидетельствует о том, что распределение активности данных ферментов существенно не отличается от нормального, или гауссовского распределения. Следовательно, к ним применимы параметрические способы анализа линейной корреляции [6].

При рассмотрении графиков возрастного изменения активности ферментов обращает на себя внимание перекрещивание прямых, свидетельствующее о своеобразном «противостоянии» ГПО к СОД и КАТ, активность которых синхронно снижалась с возрастом (рис. 2).

Аналогичные изменения характерны и для глутатионовой антиперекисной системы с той разницей, что позиционирование глутатионзависимой пероксидазы проявляется в отношении ГР и GSH (рис. 3).

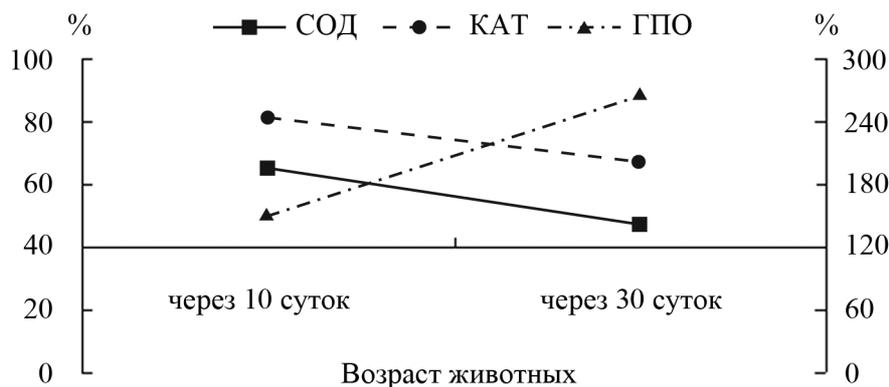


Рис. 2. Изменение активности ключевых ферментов антиоксидантой защиты в крови телят первого месяца жизни (в % к исходному уровню у новорождённых)

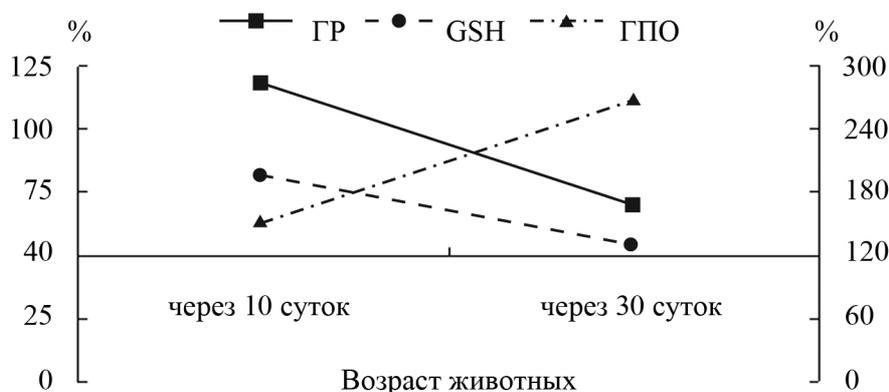


Рис. 3. Изменение активности антиоксидантов глутатионовой антиперекисной системы в крови телят первого месяца жизни (в % к исходному уровню у новорождённых)

Таблица 1  
Коэффициенты корреляции между активностью антиоксидантных ферментов в крови телят первого месяца жизни

Фермент	СОД	КАТ	ГПО	ГР
СОД	1,00	+0,90*	-0,53*	+0,34
КАТ		1,00	-0,70*	+0,74*
ГПО			1,00	-0,70*
ГР				1,00

Примечание: \* —  $P < 0,05$ .

При этом в условиях неонатального окислительного стресса высокий уровень GSH способствует также поддержанию постоянной скорости ферментативной дисмутации супероксидных анионов, образуя с СОД своеобразную антиоксидантную систему, которая препятствует избыточному образованию не только неорганической перекиси, но и реакционных тиольных радикалов.

Корреляционный анализ на основе расчёта коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ) показал, что между ферментами существуют устойчивые взаимосвязи (табл. 1).

Вероятная положительная линейная взаимосвязь существует между СОД и КАТ, КАТ и ГР. При этом в паре СОД-ГР обнаружена условно-вероятная положительная корреляция. Отрицательные корреляции отмечены во взаимодействиях между ГПО и остальными энзимами. Наиболее значимая статистически достоверная прямая зависимость установлена между активностью СОД и КАТ ( $r = +0,90$ ).

Одним из возможных объяснений таких отличий, вероятно, является так называемая пропускная способность «канала» ГПО, которая в действительности определяется не только активностью самого фермента, но и доступностью GSH. Возможно, это приводит к заниженным оценкам степени коррелируемости ГПО по сравнению с СОД и КАТ. Кроме того, более выраженная отрицательная корреляция в паре ГПО-КАТ вероятно обусловлена конкурентными отношениями этих ферментов за совместно используемые физиологические концентрации субстрата.

Следует отметить, что изучение линейных корреляций предполагает оценку эффекта лишь тех каналов, которые действуют только между ними и аппроксимированы строго по прямой. В действительности взаимодействия между СОД, КАТ и ГПО не ограничиваются лишь данным условием. При этом

два фермента оказывают влияние на третий каждый в отдельности или совместно через интегрирование их сигналов в некотором промежуточном блоке-интеграторе. Принимая во внимание аналогичные корреляции, установленные для соответствующих антиоксидантных ферментов некоторых тканей у лабораторных животных на разных стадиях индивидуального развития, следует признать, что СОД, КАТ и ГПО напрямую связаны друг с другом только через положительно действующие пути, но каналы их совместного влияния отличаются ингибирующим эффектом. Причем величина эффекта может быть соизмерима стимулирующему действию одного из ферментов [7, 8].

Таким образом, между тремя основными антиоксидантными ферментами крови телят существует чёткая возрастная зависимость в активности. Следует выделить тандем СОД-КАТ как координировано действующую пару ферментов. При этом ГПО держится в своеобразной «оппозиции», проявляя устойчивую тенденцию к отрицательной корреляции с другими ферментами.

В качестве показателя защитной эффективности антиоксидантных ферментов можно использовать соотношение активности СОД/ГПО, характеризующее системную взаимосвязь в действии антиоксидантов и отражающее изменение равновесия в ферментативной антиоксидантной защите (табл. 2).

Так, на протяжении первого месяца после рождения в крови телят это соотношение снижается. Существенное уменьшение показателя на 57,0 % и 82,3 % наблюдалось соответственно через 10 и 30 суток жизни относительно исходного уровня у телят суточного возраста. При этом синхронное, но менее выраженное снижение соотношения СОД/КАТ соответственно на 20,8 % и 29,2 % в анало-

Таблица 2  
Соотношение активности основных антиоксидантных ферментов в крови телят первого месяца жизни

Соотношение	Возраст животных, сутки		
	1	10	30
СОД/ГПО	3,05 ± 0,27* (100,0 %)	1,31 ± 0,13* (43,0 %)	0,54 ± 0,04 (17,7 %)
СОД/КАТ	0,24 ± 0,01* (100,0 %)	0,19 ± 0,02 (79,2 %)	0,17 ± 0,01 (70,8 %)

Примечание: \* —  $P < 0,05$  по сравнению с соотношением у животных в возрасте 30 суток. В скобках — % к уровню новорождённых телят.

гичные периоды онтогенеза дополнительно свидетельствовало об уменьшении токсической нагрузки на клетку супероксидного радикала, в избытке образующегося в её электронно-транспортной системе сразу после рождения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом при анализе взаимодействия ферментов-антиоксидантов крови телят необходимо отметить пропорциональную зависимость, сбалансированность и кооперативность в активности действия для предотвращения развития оксидативного стресса. Совместное действие определяется оксидантными факторами, а именно уровнем свободных радикалов кислорода, и возможно, пероксидом водорода. Ведь их совместное действие направлено на уменьшение содержания именно  $H_2O_2$ , что может, в свою очередь, вызывать ингибирование активности ферментов по принципу отрицательной обратной связи.

Это позволяет сделать вывод, что изменение баланса между клеточными антиоксидантами первой линии защиты (СОД) и второй (ГПО, КАТ) в пользу последней является ответственным за возрастное снижение уровня токсичных продуктов пероксидного окисления липидов, накопления окислительных повреждений в организме и, таким образом, предотвращения негативных последствий неонатального окислительного стресса.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рецкий М. И. Пероксидное окисление липидов и система антиоксидантной защиты в период ранней

постнатальной адаптации у телят / М. И. Рецкий [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 2004. — № 2. — С. 56—60.

2. Рецкий М. И. Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных / М. И. Рецкий [и др.] // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Часть III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных. Научное издание. — Москва : РАСХН, 2007. — С. 5—109.

3. Шаповал Г. С. Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активных форм кислорода / Г. С. Шаповал, В. Ф. Громова // Укр. біохім. журн. — 2003. — Т. 75, № 2. — С. 5—13.

4. Зенков Н. К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова — М. : МАИК «Наука / Периодика», 2001. — 343 с.

5. Сидоров И. В. Активные формы кислорода в окислительных процессах у животных и защитная регуляторная роль биоантиоксидантов / И. В. Сидоров, Н. А. Костромитинов // Сельскохозяйственная биология. — 2003. — № 6. — С. 3—14.

6. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М. : Высш. шк., 1990. — 352 с.

7. Мурадян Х. К. Коррелятивные связи между активностью супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы печени мышей / Х. К. Мурадян [и др.] // Укр. біохім. журн. — 2003. — Т. 75, № 1. — С. 33—37.

8. Соколовский В. В. Возрастные и органотканевые особенности состояния антиоксидантной системы белых крыс / В. В. Соколовский, В. Г. Макаров, В. М. Тимофеева // Журн. эволюц. биохимии и физиологии — 1988. — Т. 24, № 5. — С. 771—774.

---

*Вашанов Геннадий Афанасьевич* — профессор, заведующий кафедрой физиологии человека и животных Воронежского государственного университета; тел.: (4732) 207533, e-mail: vga@main.vsu.ru

*Vashanov Gennady A.* — professor, head of the department of human and animal physiology, Voronezh State University; tel.: (4732) 207533, e-mail: vga@main.vsu.ru

*Каверин Николай Николаевич* — ассистент кафедры физиологии человека и животных Воронежского государственного университета; тел.: (4732) 208-450, e-mail: kaverin@bio.vsu.ru

*Kaverin Nikolai N.* — assistant of the department of human and animal physiology, Voronezh State University; tel.: (4732) 208450, e-mail: kaverin@bio.vsu.ru