

ВОЗРАСТНЫЕ И ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КРОЛИКОВ

Д.Д. АДЖИЕВ¹, С.А. РУМЯНЦЕВ², Г.И. ПРОНИНА^{3,4}, Н.А. САПОЖНИКОВА¹

¹ ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии департамента здравоохранения города Москвы»;

² ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

³ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства»;

⁴ ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»)

Несмотря на многофакторность оксидант-антиоксидантных взаимодействий в организме, следует определить антиоксидантный статус как суммарный баланс процессов генерации свободных радикалов и активность систем ферментативной и неферментативной линий защиты организма. В связи с этим важной диагностической проблемой является выбор адекватных показателей, отражающих обе составляющие. Очевидно, что эти показатели должны быть стабильными и множественными. Однако при этом возникает и другая проблема, связанная с выбором интегрированных показателей, которые упрощают информационную оценку антиоксидантного статуса организма.

Целью работы явилось исследование интенсивности процессов перекисного окисления липидов и изменения состояния антиоксидантной системы у интактных кроликов разных возрастных групп и пола в постнатальном онтогенезе.

Исследования проводили на 30 кроликах (15 самцов и 15 самок), находившихся в условиях биоклиники. Кровь отбирали у животных в возрасте 60, 120 и 180 сут. В плазме крови определяли содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, а также неферментативных антиоксидантов токоферола и ретинола. В гемолизатах оценивали активность антиоксидантных ферментов: глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы. Так, активность СОД, КАТ, ГП, ГР и концентрация ДК и МДА в отдельных случаях достоверно понизилась по всем изучаемым группам животных к концу эксперимента. По содержанию холестерина, триглицеридов и глюкозы показаны половые различия самцов и самок кроликов в липидном и энергетическом спектре плазмы крови. В возрасте 180 сут. увеличение холестерина, триглицеридов и глюкозы у самцов составило 13,1%, 37,4% (при $P \leq 0,001$) и 14,1%; соответственно у самок – 17,2%, 37,8% (при $P \leq 0,001$) и 15,8%. В возрасте 120 и 180 сут. у животных наблюдалось недостоверное снижение всех показателей по сравнению со значениями, полученными в 60-суточном возрасте. Содержание токоферола у самцов в 120 и 180 дней увеличивалось на 17,9 (при $P \leq 0,001$) и 21,2% (при $P \leq 0,001$), ретинола – на 45,5% (при $P \leq 0,01$) и на 63,6% (при $P \leq 0,01$) по отношению к начальным (60 сут.) значениям. Аналогично у самок отмечали достоверное увеличение концентрации токоферола на 20,7% (при $P \leq 0,001$) и 23,3% (при $P \leq 0,001$), ретинола – на 30,8% (при $P \leq 0,05$) в 180 дней.

Таким образом, показано влияние возраста и пола на показатели перекисного и липидного обмена, содержание в плазме крови жирорастворимых витаминов А и Е, активность основных ферментов антиоксидантной защиты животных. По содержанию холестерина и триглицеридов установлены половые различия самцов и самок кроликов в липидном спектре плазмы крови, что в свою очередь позволило определить удельный вес отдельных факторов системы АОС-ПОЛ в онтогенезе кроликов.

Ключевые слова: кролики, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, холестерол, триглицериды.

Введение

Одним из универсальных механизмов повреждения клеток является свободно-радикальное окисление, но вместе с тем это процесс, необходимый для нормального функционирования клеток. Характер же модификации фосфолипидного слоя биологических мембран, энергетического и пластического обеспечения клеток, активности их транспортных и рецепторных систем, возбудимость клетки и многие внутриклеточные метаболические процессы определяются состоянием процессов липопероксидации в условиях нормы [6, 7, 13, 16, 18, 19, 28, 33]. В литературе отмечены единичные данные по половым и возрастным различиям интенсивности процессов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов у некоторых видов животных, однако комплексного исследования, отражающего основные показатели интенсивности процессов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов у кроликов различного пола и возраста, не проводилось [1]. Вследствие этого изучение влияния пола и возраста на активность ключевых ферментов антиоксидантного метаболизма и показателей липидного обмена крови кроликов является актуальным.

Цель исследований заключалась в определении референтных границ значений для основных показателей антиоксидантного гомеостаза у кроликов разного пола и возраста.

Методика исследования. Работа выполнена с использованием как современных, так и классических методов исследования (биохимические и гематологические анализы) с применением автоматических и полуавтоматических анализаторов нового поколения.

Объектами исследований являлись породы крупных кроликов мясошкуркового направления советская шиншилла. В опытах участвовали 30 особей кроликов, которые были разделены на 2 группы: 15 самцов и 15 самок. В группе самок не было беременных и лактирующих животных. Для изучения возрастной динамики кроликов был выбран диапазон времени, оптимальный как для лабораторных исследований (60–180 дн.), так и для производственного применения животных (120–180 дн.). Опыт, в который были отобраны крольчата в 60-дневном возрасте со средней живой массой 1,5 кг, продолжался 120 дней и был разбит на три этапа (начало – возраст 60 дней, середина – 120 дней, окончание – 180 дней).

Подопытные животные находились в одинаковых условиях содержания и были клинически здоровы. Рацион удовлетворял потребности животных в основных нутриентах в соответствии с нормами кормления кроликов, разработанными сотрудниками ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева [12, 13]. Общая питательность рационов животных подопытных групп была одинаковой.

А. Подготовка биологического материала. Образцы гепаринизированной крови центрифугировали на стандартной лабораторной центрифуге при 3000 об/мин в течение 15 мин. Плазму тщательно отделяли от осадка эритроцитов. Гемолизаты готовили разведением эритроцитарной смеси дистиллированной водой (1:1, v/v), после чего замораживали при 10–15 °С.

Б. Методы определения. Физиологическое состояние животных определяли по биохимическим и морфологическим показателям крови. В возрасте 60, 120 и 180 сут. отбирали кровь методом пункции нижней краевой ушной вены в стерильные пробирки с антикоагулянтом гепарином.

Состояние здоровья животных оценивали по клиническим показателям: ректальной температуре, частоте сердечных сокращений, частоте дыхания, внешнему виду, а также поведению животных (общая активность, пищевое поведение, дефекация и состояние кала, груминг, социальное взаимодействие, наличие стереотипий). Для анализа клеточного состава крови использовали стабилизированную кровь. Подсчет клеток проводили на полуавтоматическом гематологическом анализаторе Abacus Junior Vet (использовался набор реагентов Diatron). Биохимические исследования плазмы крови проводили на автоматическом анализаторе открытого типа Labio 200 («Mindray Medical International Ltd., Китай») с фотометрическим детектированием (программное обеспечение Master Labio 200). Использовались реагенты компании «BIOCON Diagnostik GmbH» (Германия). Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по накоплению продуктов перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови. В качестве основных показателей антиоксидантной защиты определяли активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы эритроцитов.

В гемолизатах оценивали активность следующих антиоксидантных ферментов: глутатионредуктазы – на основе метода Tilbotson J. и Sauberlich H. [31] в адаптации для анализатора Labsystems FP-901 («Labsystems Diagnostics Oy», Финляндия) [10]; глутатионпероксидазы – согласно Mille G. [23] в модификации для анализатора FP-901 [17], каталазы (КАТ) – по Oshino N. с соавт. [25] в модификации Г.Ю. Мальцева и А.В. Васильева [9] с использованием алкогольдегидрогеназной ловушки, супероксиддисмутазы – в соответствии с описанием M. Nishikimi с соавт. [24] в модификации для FP-901 [9]. Концентрацию витаминов А и Е в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием концентрирующих патронов.

Содержание диеновых конъюгатов в плазме оценивали на основе классического метода, разработанного Z. Placer [27] в модификации В.Б. Гаврилова и М.И. Мишкорудной [5]. Содержание малонового диальдегида в плазме крови оценивали по методу M. Mihara с соавт. [22].

Полученные данные обрабатывали методами стандартной параметрической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

С уровнем потребления кислорода млекопитающими связано состояние антиоксидантной системы, основной функцией которой является поддержание на физиологическом уровне концентрации активных форм кислорода, необходимых для перекисного окисления липидов (ПОЛ), и ряда других биохимических процессов в клетке [7, 13, 18, 21].

Результаты измерений содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в различные периоды онтогенеза самцов и самок кроликов представлены в таблице 1.

В группе интактных животных обоего пола с возрастом отмечено достоверное снижение диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Диеновых конъюгатов до 31% и до 28% (при $p \leq 0,05$) – в 120 и 180 дней самцов, до 62,3% и до 59,9% (при $p \leq 0,05$) – самок кроликов; малонового диальдегида на 26,6% и на 25% у самцов ($p \leq 0,05$), на 43,2% и на 25,2% – у самок ($p \leq 0,05$) в 120 и 180 дней. Вероятно, антиоксидантная система молодых кроликов еще не является совершенной, а с возрастом происходит адаптация, и свободнорадикальное окисление липидов снижается.

**Содержание продуктов перекисного окисления липидов
в плазме крови самцов и самок кроликов**

Показатель	Единица измерения	Возраст, дней	Пол животных	
			Самцы	Самки
Диеновые конъюгаты	нмоль/мл	60	2,00±0,07	2,52±0,09
		120	1,38±0,08***	0,95±0,06***
		180	1,44±0,09***	1,01±0,06***
Малоновый диальдегид	нмоль/мл	60	1,28±0,06	1,11±0,05
		120	0,94±0,06***	0,63±0,05***
		180	0,96±0,04***	0,83±0,04***

Примечание. Здесь и далее на рисунках и в таблицах: 1)* – различия достоверны с $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,01$, *** – $P \leq 0,001$ по t-критерию при сравнении с возрастом 60 дней.

Следует отметить небольшую тенденцию увеличения содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида на старших возрастных сроках. Имеется некоторое различие содержания малонового диальдегида по мере взросления в зависимости от пола: у самцов оно осталось на том же уровне, у самок увеличилось в конце опыта на 31,8% по сравнению с серединой. Очевидно, по мере полового созревания в организме наблюдается усиление свободнорадикальных процессов, у самок процесс протекает интенсивнее.

Несмотря на то, что свободнорадикальное окисление липидов непрерывно протекает во всех тканях и органах человека и животных, оно не приводит к развитию радикального повреждения. В норме сбалансированная система антиоксидантной защиты протекает с крайне небольшой скоростью свободнорадикальных реакций (СРР) ПОЛ клеточных мембран и липопротеидов плазмы крови.

На сроках 120 и 180 дней понижение ДК самок превосходило аналогичный показатель самцов примерно на 31,3% и на 31,9% соответственно. Разница по концентрации МДА составила примерно 16,6% в 120 дней.

Система антиоксидантной защиты организма разделена на неферментативные и ферментативные звенья. В большей степени функцию быстрой инактивации свободных радикалов кислорода и азота выполняют неферментативные звенья. Ферментативные звенья относятся к терминальным системам длительной защиты организма [32].

В опытах исследовано содержание витаминов А (ретинола) и Е (токоферола) в плазме крови, относящихся к числу важнейших неферментативных антиоксидантов, реализующих свое действие в мембранной и липопротеиновой фазах [11, 17, 30].

Исследование в плазме крови кроликов содержания витаминов А и Е позволяет выявить возрастную закономерность, заключающуюся в достоверном увеличении содержания токоферола у самцов на 17,9% и на 21,2% при $p \leq 0,05$, ретинола на 45,5% и на 63,6% при $p \leq 0,05$ на сроках 120 и 180 дней по отношению к начальным значениям (в 60 дней). Эта возрастная динамика характерна и для самок: достоверное увеличение концентрации токоферола на 20,7% и на 23,3% на сроках

120 и 180 дней и ретинола на 30,8% в 180 дней (в 120 дней увеличение витамина А недостоверно и составляет 15,4% при $p \leq 0,05$) по отношению к началу опыта (табл. 2).

Таблица 2

**Содержание витаминов Е (альфа-токоферола) и А (ретинола)
в плазме крови самцов и самок кроликов**

Показатель	Единицы измерения	Возраст, дней	Пол животных	
			самцы	самки
Токоферол	мкг/мл	60	1,51±0,04	1,50±0,03
		120	1,78±0,05***	1,81±0,06***
		180	1,83±0,05***	1,85±0,09***
Ретинол	мкг/мл	60	0,22±0,013	0,26±0,017
		120	0,32±0,027**	0,30±0,025
		180	0,36±0,044**	0,34±0,029*

В проведенных исследованиях (табл. 2) характер изменения токоферолов и ретинола плазмы крови у самцов и самок кроликов был почти идентичным.

На уровне целого организма ферментативная система антиоксидантной защиты представлена эритроцитарной системой ферментов включая супероксиддисмутазу и каталазу в качестве начального звена защиты от перекиси водорода и супероксид-анион радикалов.

В таблице 3 представлены референтные значения активности основных ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов кроликов супероксиддисмутазы и каталазы по итогам трех серий эксперимента в зависимости от пола и возраста животных.

Таблица 3

**Активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы
эритроцитов кроликов (M±m)**

Показатель	Единицы измерения	Возраст, дней	Пол животных	
			самцы	самки
Супероксиддисмутазы	усл. ед/мл	60	1291 ± 24,7	1283 ± 17,7
		120	1179 ± 25,4**	1203 ± 34,1*
		180	1156 ± 26,0***	1126 ± 42,9**
Каталаза	кУ/мл	60	362 ± 10,3	364 ± 6,90
		120	344 ± 10,9	343 ± 15,6
		180	327 ± 10,5*	323 ± 12,4**

Анализ активности супероксиддисмутазы самцов кроликов в различные возрастные периоды показывает, что к концу опытного периода этот показатель достоверно снизился на 10,5% (на 8,7% – в середине), каталазы – на 9,7% ($p \leq 0,05$). Аналогичные и достоверные изменения наблюдаются и в возрастной динамике активности ферментов кроликов-самок – 12,2% (6,2% – в середине) и 11,3% в конце опыта соответственно ($p \leq 0,05$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии параллелизма между окислительными процессами и окислительным метаболизмом в расчете на единицу массы тела, которые, как известно, являются максимальными в юном возрасте и отчетливо проявляются как у самцов, так и у самок (табл. 3).

Комплекс ферментов – глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы – является важнейшей системой инактивации свободных радикалов, а точнее продуктов взаимодействия кислородных радикалов с органическими субстратами, преимущественно ненасыщенными жирными кислотами и образованием гидроперекисей. Реакцию восстановления гидроперекисей глутатионпероксидаза катализирует с помощью глутатиона [7, 12, 15, 21, 26]. В таблице 4 представлены данные об активности указанных ферментов в возрастной динамике самцов и самок кроликов.

Таблица 4

Активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы эритроцитов кроликов

Показатель	Единицы измерения	Возраст, дней	Пол животных	
			самцы	самки
Глутатионпероксидаза	мкмоль/мин мл	60	21,9±1,16	20,9±1,20
		120	18,8±0,92*	18,7±0,93
		180	17,6±0,97**	16,8±0,87**
Глутатионредуктаза	мкмоль/мин мл	60	2,32±0,10	2,36±0,07
		120	2,25±0,13	2,12±0,11
		180	2,15±0,11	1,91±0,10**

Следует отметить возрастное снижение активности обоих ферментов в динамике возраста: достоверное при $p \leq 0,05$ на 14,2% – самцы в возрасте 120 дней и на 19,6% – глутатионпероксидаза самцов и самок кроликов в конце эксперимента (на сроках 180 дней). Глутатионредуктазная активность также имеет достоверную тенденцию уменьшения к концу опыта на 19,1% у самок ($p \leq 0,05$) и недостоверно на 7,3% – у самцов (табл. 4). Скорее всего эти ферменты, как и супероксиддисмутазы и каталазы, отражают снижение удельного окислительного метаболизма с возрастом у кроликов того и другого пола.

В конвенциональных условиях содержания адаптационные возможности организма кроликов реализуются через энергетический обмен – главную составную часть органов и систем всех млекопитающих. Такое содержание животных приводит к вынужденной гиподинамии, связанной с ограничением локомоций. Ограниченная двигательная активность, характерная для клеточного содержания

животных, в свою очередь отражается на скелетной, мышечной, дыхательной и других системах организма (замедление их функциональности), что естественно приводит к снижению энергетических затрат. В свою очередь, для обеспечения метаболических процессов организма животных используется универсальный источник энергии – глюкоза.

Изменения в спектре липидного обмена, сдвиги в соотношении процессов синтеза и распада, в частности, можно проследить по содержанию холестерина и триглицеридов в крови животных. Как следует из данных таблицы 5, общее содержание холестерина и триглицеридов в крови самцов и самок кроликов в наших исследованиях с возрастом варьировалось. В конце эксперимента увеличение содержания холестерина в крови самцов кроликов составило 13,1%, 17,2% – у самок [1]. Исследование динамики содержания основного источника энергии для клеток – триглицеридов – также позволяет выявить возрастную закономерность, характерную для холестерина и заключающуюся в достоверном увеличении содержания на 37,4% при $p \leq 0,05$ у самцов, на 37,8% при $p \leq 0,05$ – у самок в конце опыта по отношению к началу [1, 2].

В таблице 5 представлены гендерные изменения концентрации холестерина, триглицеридов и глюкозы в динамике возраста.

Таблица 5

Содержание холестерина и триглицеридов в крови кроликов

Показатель	Единицы измерения	Возраст, дней	Пол животных	
			самцы	самки
Холестерол	ммоль/л	60	1,60±0,10	1,51±0,10
		120	1,62±0,11	1,59±0,04
		180	1,81±0,09	1,77±0,09
Триглицериды	ммоль/л	60	0,91±0,05	0,82±0,03
		120	1,04±0,05	0,87±0,06
		180	1,25±0,04***	1,13±0,04***
Глюкоза	ммоль/л	60	4,26 + 0,14	4,37 + 0,19
		120	4,54 + 0,09	4,69 + 0,18
		180	4,86 + 0,19	5,06 + 0,12

Состояние аэробного энергетического метаболизма в динамике возраста и пола отражают концентрации и соотношение глюкозы и ее метаболитов. Так, концентрация глюкозы возросла на 14,1% в конце опыта у самцов и на 15,8% – у самок.

Таким образом, онтогенез липидного обмена кроликов, где первостепенная роль отводится нарушениям механизмов окислительно-восстановительных процессов, сопровождающихся накоплением в крови перекисей липидов, сдвигом в соотношении процессов синтеза и распада холестерина и триглицеридов, у самцов и самок кроликов идентичен [1].

Заключение

Результаты исследования позволили выявить некоторые особенности формирования антиоксидантного статуса организма кроликов в онтогенезе. По мере взросления кроликов и совершенствования антиоксидантной системы из организма наблюдается снижение содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида.

На этапе полового созревания возрастные изменения сопровождаются повышением в крови концентрации продуктов перекисного окисления липидов, интенсивным использованием ферментов антиоксидантной защиты. При этом у самок некоторые изменения (в частности, концентрация продуктов ПОЛ и содержание холестерина) являются более выраженными, чем у самцов.

Библиографический список

1. *Аджиев Д.Д.* Антиоксидантный статус кроликов в половозрастной динамике и возможности его активации: Автореф. дис. ... д-ра биол. Наук. – М., 2017. – С. 8–11.
2. *Аджиев Д.Д.* Состояние основных параметров антиоксидантной системы крови у кроликов в половозрастной динамике / Д.Д. Аджиев, Г.Ю. Мальцев, С.А. Румянцев, Е.Н. Маляренко, Н.Ф. Заторская // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50(2). – С. 208–216.
3. *Балакирев Н.А.* Нормы и рационы кормления кроликов и нутрий / Н.А. Балакирев, В.С. Александрова, Ю.А. Калугин, В.Н. Александров. – Родники Моск. обл.: РАСХН ГНУ НИИ ПЗК им. В.А. Афанасьева, 2001. – С. 4–29.
4. *Балакирев Н.А.* Кролиководство / Н.А. Балакирев Е.А. Тинаева, Н.И. Тинаев, Н.Н. Шумилина. – М.: Колос, 2006. – С. 23–25.
5. *Гаврилов В.Б.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
6. *Ельцова Л.В.* Изучение фармакологической активности производных пирроло [1,2-[A]] бензимидазола, проявляющих антиоксидантные и антирадикальные свойства: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Волгоград, 2010. – С. 7–10.
7. *Зенков Н.К.* Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – М.: МАИК «Наука / Интерпериодика», 2001. – 342 с.
8. *Кения М.В.* Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М.В. Кения, А.И. Лукаш, Е.П. Гуськов // Успехи современной биологии. – 1993. – № 4. – С. 456–470.
9. *Мальцев Г.Ю.* Способ определения активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов на анализаторе открытого типа / Г.Ю. Мальцев, А.В. Васильев // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 2. – С. 56–58.
10. *Мальцев Г.Ю.* Оптимизация определения активности глутатионредуктазы эритроцитов человека на полуавтоматическом анализаторе / Г.Ю. Мальцев, Л.А. Орлова // Вопр. мед. химии. – 1993. – № 2. – С. 59–61.
11. *Мальцев Г.Ю.* Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г.Ю. Мальцев, Н.В. Тышко // Гигиена и санитария. – 2002. – № 2 – С. 69–72.
12. *Меньщикова Е.Б.* Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
13. *Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N. and Nardone A.* Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. – 2005. – № 88. – Pp. 2017–2026.

14. *Cadenas E.* and *Davies K.J.A.* Mitochondrial free radical gelleration, oxidative stress, and aging / *E. Cadenas and K.J.A. Davies* // *Free Radic. BioI. Med.* – 2000. – № 29. – Pp. 222–230.
15. *Chae H.Z. et al.* Protein glutathionylation in the regulation of peroxiredoxins: a family of thiol-specific peroxidases that function as antioxidants, molecular chaperones, and signal modulators / *H.Z. Chae, H. Oubrahim, J.W. Park, S.G. Rhee, P.B. Chock* // *Antioxid. Redox Signal.* – 2012. – Mar 15. – № 16(6). – Pp. 506–523.
16. *Ernster L.* and *Nordenbrand K.* Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.*, 1967. – № 10. – Pp. 574–580.
17. *Fisher A. et al.* Effect of selenium and vitamin E deficiency on differential gene expression in rat liver / *A. Fischer, J. Pallauf, K. Gohil, S.U. Weber, L. Packer, G. Rimbach* // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2001. – 285. – Pp. 470–475.
18. *Kannan K.* and *Jain S.K.* Oxidative stress and apoptosis / *K. Kannan and S.K. Jain* // *Pathophysiology.* – 2000. – № 7. – Pp. 153–163.
19. *Matsunami T., Sato Y., Sato T., Yukawa M.* Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Diabetic Rats under Hyperbaric Oxygen Exposure. *Physiol. Res.* – 2010. – № 59. – Pp. 97–104.
20. *May J.M., Qu, Z.C., Morrow J.D.* Interaction of ascorbate and alpha-tocopherol in resealed human erythrocyte ghosts. Transmembrane electron transfers and protection from lipid peroxidation. *J. Biol Chem.* – 1996. – May 3. – № 271(18). – Pp. 10577–10582.
21. *Mieyal J.J., Chock P.B.* Posttranslational modification of cysteine in redox signaling and oxidative stress: Focus on s-glutathionylation / *J.J. Mieyal, P.B. Chock* // *Antioxid. Redox Signal.* – 2012. – Mar 15. – № 16(6). – Pp. 471–475.
22. *Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K.* Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication and vitamin E deficiency // *Biochem. Med.*, 1980. – № 23(3). – Pp. 302–311.
23. *Mille G.* The purification and properties glutathione peroxidase of erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 1959. – № 244. – Pp. 502–506.
24. *Nishikimi M., Appaji N.A., Yagi K.* The occurrence of superoxide anion in the reaction phenazine methosulfate and molecular oxygen // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1972. – № 46 (2). – Pp. 849–854.
25. *Oshino N., Chance B., Sies H., Bucher N.* The role of H₂O₂ – generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors II. *Archive // Biochem and Biophys.* – 1973. – № 154. – Pp. 117–131.
26. *Pastore A., Federici G., Bertini E.* and *Piemonte E.* Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification / *A. Pastore, G. Federici, E. Bertini and E. Piemonte* // *Clinica Chimica Acta.* – 2003. – № 333. – Pp. 19–39.
27. *Placer Z.* Lipoperoxidation systeme im biologischen Material. 2. Mitt Bestinemand der Lipoperoxidationim Sangetier organismus. *Die Nahrung*, 1968. – № 12(6). – Pp. 679–684.
28. *Sharma N., Singh N.K., Singh O.P., Pandey V., Verma P.K.* Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. *Australasian Journal of Animal Sciences*, 2011 – № 24. – P. 4.
29. *Sordillo L.M., Aitken S.L.* Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 2009. – № 128. – P. 104–109.
30. *Surai P.F., Dvorska J.E.* Effect of selenium and vitamin E content of the diet on lipid peroxidation in breast muscle tissue of broiler breederhens during storage / *P.F. Surai, J.E. Dvorska* // *Proceedings of Australasian Poultry Science Symposium.* – 2002. – № 14. – P. 187–192.
31. *Tilbotson J., Sauberlich H.* Effect of riboflavin depletion and repletion on the erythrocyte glutathione reductase in the rat. *J. Nutrition.* – 1971. – № 101 (11). – Pp. 1459–1466.

32. *Turrens J.F.* Mitochondrial formation of reactive oxygen species / F. Julio Turrens // Affiliations Department of Biomedical Sciences, University of South Alabama, USA. The Physiological Society, 2003. – P. 1–8.

33. *Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M., Mazur M., Telser J.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007. – № 39(1). – Pp. 44–84.

AGE AND SEX CHARACTERISTICS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM OF RABBIT BLOOD

D.D. ADZHIYEV¹, S.A. RUMYANTSEV², G.I. PRONINA^{3,4}, N.A. SAPOZHNIKOVA¹

¹ Moscow Scientific and Practical Center for Dermatovenereology and Cosmetology of the Moscow Department of Health;

² Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov at the Ministry of Health of Russia;

³ All-Russian Scientific Research Institute of Irrigation Fish Farming;

⁴ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

Despite the multifactorial oxidant-antioxidant interactions in the body, it is necessary to determine the antioxidant status as the total balance of free radical generation processes and the activity of the enzymatic and nonenzymatic defense lines of the body. In this regard, an important diagnostic problem is the selection of adequate indicators that reflect both components. Obviously, these indicators should be stable and multiple. However, there is another problem associated with the selection of integrated indicators that simplify the information assessment of the antioxidant status of the body. The aim of this research work was to study the intensity of lipid peroxidation and changes in the antioxidant system in intact rabbits of different age groups and sex in postnatal ontogenesis. The studies were carried out on 30 (15 males and 15 females) rabbits in bioclinics. Blood was taken from animals aged 60, 120 and 180 days. The content of diene conjugates and Malon dialdehyde, as well as low-molecular antioxidants – tocopherol and retinol – were determined in blood plasma. The activity of antioxidant enzymes – glutathione reductase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase was evaluated in hemolysates. Thus, the activity of SOD, CAT, GP, GR and the concentration of DC and MDA in some cases significantly decreased in all studied groups of animals by the end of the experiment. The content of cholesterol, triglycerides and glucose shows the sexual differences between male and female rabbits in the lipid and energy spectrum of blood plasma. At the age of 180 days, the increase in cholesterol, triglycerides and glucose in males amounted to 13.1%, 37.4% (at $P \leq 0.001$) and 14.1%. Accordingly, for females: 17.2%, 37.8% (at $P \leq 0.001$) and 15.8%. At the age of 120 and 180 days there was an unreliable decrease in all indicators in animals as compared with the values obtained in the 60-day age. The content of tocopherol in males in 120 and 180 days increased by 17.9 (at $P \leq 0.001$) and 21.2% (at $P \leq 0.001$), retinol – by 45.5% (at $P \leq 0.01$) and 63.6% (at $P \leq 0.01$) as contrasted to to the initial (60 days) values. Similarly, females showed a significant increase in the concentration of tocopherol by 20.7% (at $P \leq 0.001$) and 23.3% (at $P \leq 0.001$), retinol – by 30.8% (at $P \leq 0.05$) in 180 days. Thus, the influence of age and sex on the indicators of peroxide and lipid metabolism, the content of fat-soluble vitamins A and E in blood plasma, the activity of the main enzymes of antioxidant protection of animals has been shown. According to the content of cholesterol and triglycerides, sexual differences between male and female rabbits in the lipid spectrum of blood plasma have been established. This, in turn, helped determine the specific weight of individual factors of the AOS-POL system in the ontogenesis of rabbits.

Key words: rabbits, lipid peroxidation, antioxidant system, malondialdehyde, diene conjugates, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, cholesterol, triglycerides.

References

1. *Adzhiyev D.D.* Antioksidantniy status krolikov v polovozrastnoy dinamike i vozmozhnosti yego aktivatsii [Antioxidant status of rabbits in sex and age dynamics and the possibility of its activation] // Self-review of DSc (Bio) thesis: 03.03.01. – Moscow. 2017: 8–11. (In Rus.)
2. *Adzhiyev D.D.* Sostoyaniye osnovnykh parametrov antioksidantnoy sistemy krovi u krolikov v polovozrastnoy dinamike [State of the main parameters of the antioxidant system of rabbit blood in sex and age dynamics] / D.D. Adzhiyev G.Yu. Mal'tsev, S.A. Rumyantsev Ye.N. Malyarenko, N.F. Zatorskaya // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2015; 50 (2): 208–216. (In Rus.)
3. *Balakirev N.A., Aleksandrova V.S., Kalugin Yu.A., Aleksandrov V.N. Balakirev N.A., Aleksandrova V.S., Kalugin Yu.A., Aleksandrov V.N.* Normy i ratsiony kormleniya krolikov i nutriy [Rates and rations for feeding rabbits and nutria]. RASKHN GNU NII PZK im. V.A. Afanas'yeva. – Rodniki, Mosk. Obl. 2001: 4–29. (In Rus.)
4. *Balakirev N.A., Tinayeva Ye.A., Tinayev N.I., Shumilina N.N.* Krolikovodstvo [Rabbit breeding]. “Kolos”. 2006: 23–25. (In Rus.)
5. *Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I.* Spektrofotometricheskoye opredeleniye sodержaniya gidroperekisey lipidov v plazme krovi [Spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxides in blood plasma]. Lab. Delo. 1983; 3: 33–35. (In Rus.)
6. *Yel'tsova L.V.* Izucheniye farmakologicheskoy aktivnosti proizvodnykh pirrolo [1,2-[A]] benzimidazola, proyavlyayushchikh antioksidantniye i antiradikal'niye svoystva [Study of the pharmacological activity of pyrrolo [1,2- [A]] benzimidazole derivatives exhibiting antioxidant and antiradical properties] // Self-review of DSc (Bio) thesis: 14.03.06. – Volgograd. 2010: 7–10. (In Rus.)
7. *Zenkov N.K., Lankin V.Z., Men'shchikova Ye.B.* Okislitel'niy stress: biokhimicheskiy i patofiziologicheskii aspekt [Oxidative stress: biochemical and pathophysiological aspects]. – M.: MAIK “Nauka/Interperiodika”. 2001: 342. (In Rus.)
8. *Keniya M.V., Lukash A.I., Gus'kov Ye.P.* Rol' nizkomolekulyarnykh antioksidantov pri okislitel'nom stresse [Role of low molecular weight antioxidants in oxidative stress]. Uspekhi sovr. Biologii. 1993; 4: 456–470. (In Rus.)
9. *Mal'tsev G. Yu., Vasil'yev A.V.* Sposob opredeleniya aktivnosti katalazy i superoksidismutazy eritrotsitov na analizatore otkrytogo tipa [Method for determination of erythrocyte catalase and superoxide dismutase activity on an open-type analyzer]. Vopr. med. khimii. 1994; 2: 56–58. (In Rus.)
10. *Mal'tsev G. Yu., Orlova L.A.* Optimizatsiya opredeleniya aktivnosti glutationreduktazy eritrotsitov cheloveka na poluavtomaticheskoy analizatore [Optimizing the determination of the activity of glutathione reductase in human erythrocytes on a semi-automatic analyzer]. Vopr. med. khimii. 1993; 2: 59–61. (In Rus.)
11. *Mal'tsev G. Yu., Tyshko N.V.* Metody opredeleniya sodержaniya glyutaciona i aktivnosti glutationperoksidazy v eritrotsitakh. Gigiyena i sanitariya [Methods for determining the content of glutathione and the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes]. 2002; 2: 69–72. (In Rus.)
12. *Men'shchikova Ye.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K.* Okislitel'niy stress. Prooksidanty i antioksidanty [Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants]. – M.: “Slovo”. 2006: 556. (In Rus.)
13. *Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N. and Nardone A.* Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci.; 2005; 88: 2017–2026.
14. *Cadenas E. and Davies K.J.A.* Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging / E. Cadenas and K.J.A. Davies // Free Radic. Biol. Med. 2000; 29: 222–230.
15. *Chae H.Z. et al.* Protein glutathionylation in the regulation of peroxiredoxins: a family of thiol-specific peroxidases that function as antioxidants, molecular chaperones,

- and signal modulators / H.Z. Chae, H. Oubrahim, J.W. Park, S.G. Rhee, P.B. Chock // Antioxid. Redox Signal. 2012. Mar 15; 16(6): 506–523.
16. *Ernster L.* and Nordenbrand K. Microsomal lipid peroxidation. Meth. Enzymol, 1967; 10: 574–580.
17. *Fisher A. et al.* Effect of selenium and vitamin E deficiency on differential gene expression in rat liver / A. Fischer, J. Pallauf, K. Gohil, S.U. Weber, L. Packer, G. Rimbach // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2001; 285: 470–475.
18. *Kannan K.* and Jain S.K. Oxidative stress and apoptosis / K. Kannan and S.K. Jain // Pathophysiology, 7. 2000: 153–163.
19. *Matsunami T., Sato Y., Sato T. Yukawa, M.* Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Diabetic Rats under Hyperbaric Oxygen Exposure. Physiol. Res., 2010; 59: 97–104.
20. *May J.M., Qu Z.C., Morrow J.D.* Interaction of ascorbate and alpha-tocopherol in resealed human erythrocyte ghosts. Transmembrane electron transfers and protection from lipid peroxidation. J. Biol Chem., 1996, May 3; 271(18): 10577–10582.
21. *Mieyal J.J., Chock P.B.* Posttranslational modification of cysteine in redox signaling and oxidative stress: Focus on s-glutathionylation / J.J. Mieyal, P.B. Chock // Antioxid. Redox Signal. 2012. Mar 15; 16(6): 471–475.
22. *Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K.* Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication and vitamin E deficiency. Biochem. Med., 1980; 23(3): 302–311.
23. *Mille G.* The purification and properties glutathione peroxidase of erythrocytes. J. Biol. Chem., 1959; 244: 502–506.
24. *Nishikimi M., Appaji N.A., Yagi K.* The occurrence of superoxide anion in the reaction phenazine methosulfate and molecular oxygen. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972; 46 (2): 849–854.
25. *Oshino N., Chance B., Sies H., Bucher N.* The role of H₂O₂ – generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors II. Archive. Biochem. and Biophys., 1973; 154: 117–131.
26. *Pastore A., Federici G., Bertini E.* and Piemonte E. Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification / A. Pastore, G. Federici, E. Bertini and E. Piemonte // Clinica Chimica Acta, 333. 2003: 19–39.
27. *Placer Z.* Lipoperoxydation systeme im biologischen Material. 2. Mitt Bestimmung der Lipoperoxidation im Sangetierorganismus. Die Nahrung, 1968; 12 (6): 679–684.
28. *Sharma N., Singh N.K., Singh O.P., Pandey V., Verma P.K.* Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. Australasian Journal of Animal Sciences, 2011; 24: 4.
29. *Sordillo L.M., Aitken S.L.* Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Vet. Immunol. Immunopathol, 2009; 128: 104–109.
30. *Surai P.F., Dvorska J.E.* Effect of selenium and vitamin E content of the diet on lipid peroxidation in breast muscle tissue of broiler breederhens during storage / P.F. Surai, J.E. Dvorska // Proceedings of Australian Poultry Science Symposium. 2002; 14: 187–192.
31. *Tilbotson J., Sauberlich H.* Effect of riboflavin depletion and repletion on the erythrocyte glutathione reductase in the rat. J. Nutrition, 1971, 101 (11): 1459–1466.
32. *Turrens J.F.* Mitochondrial formation of reactive oxygen species / Julio F. Turrens // Affiliations Department of Biomedical Sciences, University of South Alabama, USA. The Physiological Society. 2003: 1–8.
33. *Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M., Mazur M., Telser J.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007, 39 (1): 44–84.

Аджиев Джамал Джамалутдинович, заведующий виварием, доктор биологических наук, ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии департамента здравоохранения города Москвы», 127473, г. Москва, Ленинский проспект, д. 17; e-mail: adjiev-dd@mail.ru; тел.: (903) 117-93-01.

Румянцев Сергей Александрович, проректор по стратегическому развитию, заведующий кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; e-mail: s_roumiantsev@mail.ru; тел.: (903) 612-48-96.

Пронина Галина Иозеповна, заведующий лабораторией иммунофизиологических исследований гидробионтов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства», доктор биологических наук, 142460, Российская Федерация, Ногинский р-он, пос. Воровского, ул. Сергеева, д. 24; e-mail: gidrobiont4@mail.ru; тел.: (903) 173-62-47. Второе место работы: профессор кафедры физиологии, этологии и биохимии животных ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49; e-mail: gidrobiont4@mail.ru; тел.: (903) 173-62-47.

Сапожникова Наталья Александровна, заведующий централизованной клиничко-диагностической лабораторией ГБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии департамента здравоохранения города Москвы, 119071 г. Москва, Ленинский проспект, д. 17; e-mail: Sna_centр@mail.ru; тел.: (499) 558-58-28.

Jamal J. Adzhiyev, Head of the Vivarium, DSc (Bio), Moscow Scientific and Practical Center of Dermatovenerology and Cosmetology of the Moscow Department of Health. 17, Leninsky Ave., Moscow, 127473, Russian Federation; e-mail: adjiev-dd@mail.ru, phone: (903) 117-93-01.

Sergey A. Rumyantsev, Vice-Rector for Strategic Development, Head of the Department of Oncology, Hematology and Radiotherapy, the Pediatric Faculty, Russian National Medical Research University named after N.I. Pirogov, DSc (Med), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, 117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovityanova Str., 1; e-mail: s_roumiantsev@mail.ru, phone: (903) 612-48-96.

Galina I. Pronina, Head of the Laboratory of Immunophysiological Studies of Hydrobionts, All-Russian Research Institute of Irrigation Fish Farming, DSc (Bio), 142460, Russian Federation, Noginsk district, Vorovskogo village, Sergeyeva Str., 24; e-mail: gidrobiont4@mail.ru tel: (903) 173-62-47.

Professor, the Department of Animal Physiology, Ethology and Biochemistry, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Timiryazevskaya Str., 49, Moscow, 127550, Russia; e-mail: gidrobiont4@mail.ru, phone: (903) 173-62-47.

Natalia A. Sapozhnikova, Head of the Centralized Clinical and Diagnostic Laboratory, Moscow Scientific and Practical Center of Dermatovenerology and Cosmetology at the Moscow Department of Health, 119071, Russian Federation, Moscow, Leninskiy Ave., 17; e-mail: Sna_centр@mail.ru, phone: (499) 558-58-28.