



ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ У ОВЕЦ

А.А. Волнин (фото)

м.н.с. отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных

Р.А. Рыков

с.н.с. отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных

И.В. Гусев

к.б.н., в.н.с. отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных

ФГБНУ ВИЖ имени Л.К. Эрнста

С.Ю. Зайцев

д.б.н., д.х.н., профессор, заведующий кафедрой химии им. профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова

ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина

*Глутатионпероксидаза,
овцематки, молодняк,
бараны, продуктивное
здоровье, кровь,
референтные значения*

*Glutathione peroxidase,
ewes, young stock, rams,
productive health, blood,
referential data*

Глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.9) – селенсодержащий фермент, являясь внутриклеточным антиоксидантом, способен защищать клетки от потенциального вредного влияния свободных радикалов (активных форм кислорода: супероксид ион и перекись водорода) [1]. По крайней мере, четыре формы глутатионпероксидаз, содержащие селеноцистеин в активном центре, находятся в организме млекопитающих. Самый известный из них – глутатионпероксидаза-1. Активность этого изофермента хорошо изучена в крови домашних животных (овцы, крупный рогатый скот, лошади) [2], его активность можно рассматривать как непрямой метод определения селена в крови овец [3]. Считается, что уровень активности глутатионпероксидазы отражает доступность селена в рационе [4].

В крови овец более чем 80% от ферментативной активности глутатионпероксидазы локализовано в клеточной мембране эритроцитов, но некоторую активность также можно обнаружить и в плазме [2]. Измерение активности эритроцитарной глутатионпероксидазы используется при оценке антиоксидантного статуса [1, 2]. При этом активность глутатионпероксидазы рассматривается в качестве показателя, характеризующего способность удалять перекись водорода, образующуюся обычно в естественных условиях под воздействием супероксиддисмутазы или пероксидов, образующихся в результате оксидативной атаки свободных радикалов на клеточные мембраны или другие компоненты ткани [1].

Изменения активности глутатионпероксидазы может соответствующим образом повлиять на антиоксидантную защиту организма, а также на процессы клеточного метаболизма, и, тем самым, оказывать влияние на патологические процессы в организме животных, сигнализировать о развитии оксидативного стресса [2, 5]. Так, например, снижение активности глутатионпероксидазы в головном мозге мышей, экспериментально зараженных патологическим прионным

белком, происходит одновременно, или до развития неврологических симптомов у мышей [5].

В свою очередь, при использовании активности глутатионпероксидазы в качестве диагностического инструмента, для объективной оценки состояния продуктивного здоровья овец необходимо знать особенности этого показателя, обусловленные такими факторами, как возраст и пол животных. Данное исследование посвящено определению половозрастных особенностей активности глутатионпероксидазы у овец в условиях средней полосы России, изучению вариативной изменчивости этого показателя, определению референтного интервала активности глутатионпероксидазы у овец в летне-пастбищный период.

Материалы и методы

Исследование проводили в летне-пастбищный период в условиях физиологического двора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста» (55°26'32.0"N 37°28'55.1"E).

Исследовали цельную кровь, полученную от овец романовской породы, а также помесных овец (чистопородные и помесные животные не отличались по исследуемому показателю). Животные были разделены на 3 группы по половому и возрастному признакам: овцематки (n=45), молодняк в возрасте 5 месяцев – ярки (n=23) и бараны (n=20). Животные в группах были подобраны по возрасту, клинически здоровы, регулярно осматривались ветеринарным врачом, не подвергались лечению.

Активность глутатионпероксидазы определяли колориметрически, с помощью набора реактивов Randox (Великобритания). Концентрацию гемоглобина определяли с помощью анализатора ABX MICROS ABC Vet. (HORIBA ABX Diagnostics Inc, Франция).

Для оценки различий между группами использовали t-критерий Стьюдента. Вариативную

изменчивость исследовали с помощью коэффициента вариации. Классический 95% референтный интервал определяли непараметрическим методом, предложенным Harrell, Davis (1982) [6]. Проверку степени принадлежности полученных значений нормальному распределению выполняли по критериям Колмогорова – Смирнова, Шапиро – Уилка. Расчеты выполнены с использованием программ Microsoft Excel 2010 (Microsoft, США), Statistica 6 (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

Была определена активность глутатионпероксидазы в крови овцематок и молодняка (ярок и баранов). Сравнивалась активность глутатионпероксидазы у овцематок и ярок, а также у ярок и баранов одного возраста. Результаты исследования были выражены в единицах на грамм гемоглобина.

У баранов уровень активности глутатионпероксидазы был незначительно выше, чем у ярок. У овцематок наблюдалась значительно более высокая активность глутатионпероксидазы по сравнению с ярками ($p \leq 0,01$).

Средняя активность глутатионпероксидазы в группе овцематок составила 121,01 единиц на грамм гемоглобина, в группах ярок и баранов это значение было равно 94,1 и 101,52 единиц на грамм гемоглобина соответственно.

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Корректная интерпретация биохимических данных возможна при их сравнении с нормативными значениями (референтные величины), т.е. со значениями, полученными от здоровых животных в определенных условиях. В данном исследовании были определены референтные интервалы активности глутатионпероксидазы в летний период для овцематок, а также для молодняка в возрасте 5 месяцев (так как значимых различий между группами ярок и баранов установлено не было, для расчета референтного интервала

Таблица 1 – Активность глутатионпероксидазы в крови овец

Группы животных	Глутатионпероксидаза, Ед/г Нв	
	M±SD	Cv, %
Овцематки	121,01±36,89*	34,0
Ярки	94,10±31,97	34,0
Бараны	101,52±31,07	31,0

Примечание: * – $p \leq 0,01$; M – среднее значение; SD – стандартное отклонение; Cv – коэффициент вариации.

группы были объединены). По результатам исследования было установлено, что распределение показателей в группах овцематок и молодняка незначительно отличается от нормального. Распределение показателей активности глутатионпероксидазы в крови овцематок и молодняка показано на рисунках 1, 2.

Значение критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка показаны в таблице 2.

Достоверные референтные интервалы можно рассчитать в небольших выборках, используя

методы непараметрической статистики. Одним из наиболее эффективных методов для малых выборок является непараметрический метод, предложенный Harrell, Davis (1982) [7]. Референтные значения показателей активности глутатионпероксидазы в крови овцематок и молодняка овец показаны в таблице 2.

В данном исследовании была установлена высокая вариация активности глутатионпероксидазы среди исследованных животных. Коэффициент вариации был одинаков в группах овцема-

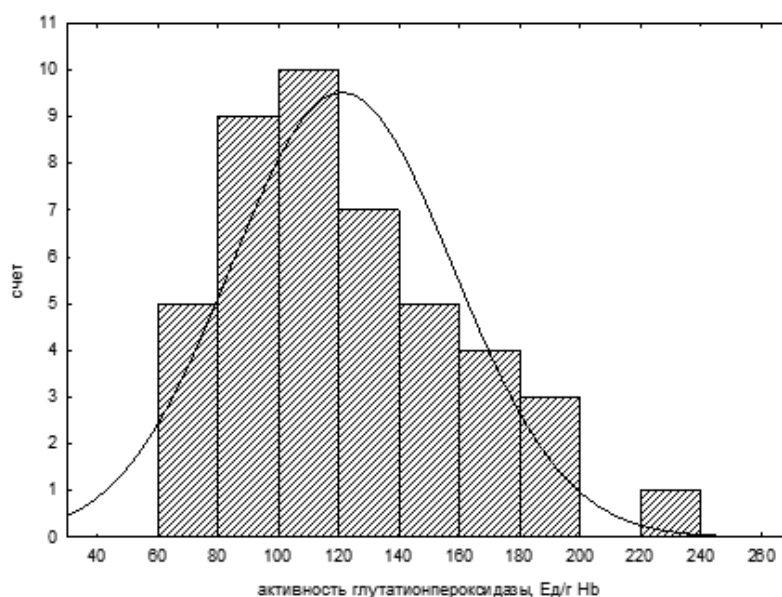


Рисунок 1 – Распределение показателей активности глутатионпероксидазы в крови у овцематок

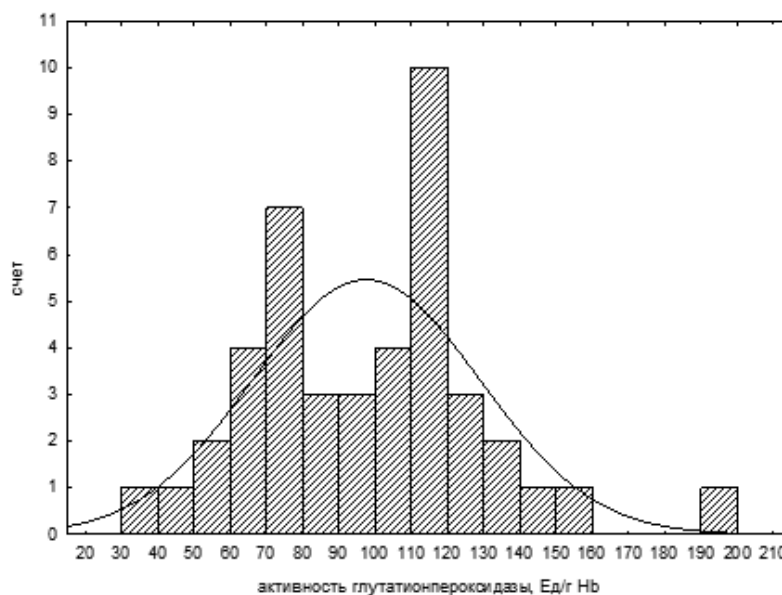


Рисунок 2 – Распределение показателей активности глутатионпероксидазы в крови у молодняка овец в возрасте 5 месяцев

Таблица 2 – Референтные значения активности глутатионпероксидазы

Показатель	Овцематки	Молодняк
Количество животных, n	44	45
Референтный интервал, Ед/г Нв	64,65-222,42	44,26-156,09
Среднее значение	121,01	97,41
Стандартное отклонение	36,89	31,01
Медиана	115,67	100,11
Критерий Колмогорова – Смирнова	0,056	0,073
Критерий Шапиро – Уилка	0,967	0,962

ток и ярк и составил 34%, для группы баранов значение коэффициента вариации было ниже на 3% по сравнению с ярками и овцематками и составило 31%. Активность глутатионпероксидазы характеризуется высокой индивидуальной изменчивостью и может значительно изменяться с течением времени, несмотря на постоянную диету [4].

Заключение

В результате проведенного исследования были определены возрастные различия активности глутатионпероксидазы в крови овец: у овцематок была установлена более высокая активность этого фермента по сравнению с молодыми животными ($p \leq 0,01$). Вариативная изменчивость по этому показателю была высокой во всех исследованных группах животных. Были рассчитаны референтные значения активности глутатионпе-

роксидазы у овцематок и молодняка овец в возрасте 5 месяцев в летний период. Референтный интервал для овцематок составил 64,65-222,42 единиц на грамм гемоглобина, для молодняка – 44,26-156,09 единиц на грамм гемоглобина. Полученные результаты имеют большую научно-практическую значимость, так как глутатионпероксидаза является маркером оксидативного стресса. Представленные данные могут быть использованы при оценке состояния антиоксидантной системы у овец, а также при мониторинге нарушений продуктивного здоровья у маточного поголовья и молодняка овец.

Благодарность

Исследование выполнено при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, проект № 7041ГУ/2015.

Литература

1. Abiaka C., Al-Awadi F., Olusi S. Effect of Prolonged Storage on the Activities of Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase, and Glutathione Peroxidase / *Clinical Chemistry*, 46, 4, 2000.
2. Gudmundsdóttir K.B., Kristinsson J., Sigurdarson S., Eiríksson T. and Jóhannesson T. Glutathione peroxidase (GPX) activity in blood of ewes on farms in different scrapie categories in Iceland / *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2008, 50:23, DOI: 10.1186/1751-0147-50-23.
3. Pavlata L., Misurova L., Pechova A., Husakova T., Dvorak R. Direct and indirect assessment of selenium status in sheep – a comparison / *Veterinarni Medicina*, 57, 2012, 5, 219–223.
4. Samsonj J., Jorgensojn J.T., WisharT.W. Glutathione pemxidase activity and selenium levels in Rocky Mountain bighorn sheep and mountain goats / *Can. J. Zool.*, 1989, 67, 2493-2496.
5. Wong B.S., Brown D.R., Pan T., Whiteman M., Liu T., Bu X., Li R., Gambetti P., Olesik J., Rubenstein R., Sy M.S. Oxidative impairment in scrapie-infected mice is associated with brain metals perturbations and altered antioxidant activities / *J Neurochem*, 2001, 79, 689-698. 10.1046/j.1471-4159.2001.00625.x.
6. Harrell, F.E., C.E. Davis A new distribution-free quantile estimator / *Biometrika*, 1982, 69, 635-640.
7. Vojta A. Hematological and biochemical reference intervals in Dalmatian pramenka sheep estimated from reduced sample size by bootstrap resampling / *Vet. Archive*, 2011, 81, 25-33.