

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМ. CANIDAE

© 2019 г. С. Н. Сергина^{1,*}, В. А. Илюха¹, И. В. Баишникова¹, Е. П. Антонова¹

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ “Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия

*E-mail: cvetnick@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.07.2018 г.

После доработки 07.08.2018 г.

Принята к публикации 15.08.2018 г.

Целью работы являлось исследование уровня тканевых антиоксидантов у трех близкородственных, но различающихся по экологическим особенностям видов семейства Canidae – енотовидной собаки (*Nyctereutes procyonoides*), лисицы (*Vulpes vulpes*) и песца (*V. lagopus*) трех возрастных групп: неполовозрелые (0.5 лет), половозрелые (1.5–3.5 года) и стареющие (4.5–5.5 лет). Показана видоспецифичность некоторых изученных показателей – более высокие уровни α -токоферола в печени и почках у енотовидных собак и песцов, антиоксидантных ферментов в почках у песцов, а также глутатиона (GSH) в печени, почках и сердце у лисиц по сравнению с другими видами. Установлено, что у изученных видов животных антиоксидантная защита органов отличается относительной стабильностью. При старении у енотовидных собак происходит увеличение уровня ретинола в сердце, у лисиц значительные изменения претерпевает только активность супероксиддисмутазы в почках и содержание GSH в печени и сердце. У песцов этот процесс сопровождается увеличением содержания ретинола в печени и токоферола в почках, а также снижением уровня GSH в почках. Помимо этого, отмечается влияние пола на антиоксиданты органов песцов. Результаты исследования, как и данные, полученные на других видах животных, свидетельствуют о гетерохронности возрастных изменений антиоксидантной защиты в органах хищных млекопитающих. При этом уровни одних антиоксидантов увеличиваются, тогда как других – снижаются, хотя, по всей видимости, в целом система не снижает своей функциональности. Эколого-физиологические черты, присущие разным видам животных, вероятно, определяют адаптивный потенциал вида и влияют на изученные показатели антиоксидантной защиты тканей органов животных в позднем постнатальном онтогенезе.

Ключевые слова: *Vulpes vulpes*, *Vulpes lagopus*, *Nyctereutes procyonoides*, антиоксиданты, витамины, поздний постнатальный онтогенез, старение, гомеостаз

DOI: 10.1134/S0044452919010108

ВВЕДЕНИЕ

В основе выдвинутой Д. Харманом в 1956 г. [1] свободно-радикальной теории старения лежит положение о том, что с возрастом в результате ухудшения функционального состояния митохондрий повышается образование активных форм кислорода (АФК), и наряду с этим снижается надежность системы эндогенных антиоксидантов. Эти процессы приводят к окислительным повреждениям клеточных структур, включая перекисное окисление липидов (ПОЛ) мембран, инактивацию ферментов, окисление белков и повреждение ДНК, что способствует развитию возрастных патологий. Показано, что продукция АФК увеличивается во многих стареющих тканях [2], тогда как изменения уровня окислительных повреждений макромолекул [3–5] и антиоксидантов [2, 4, 6, 7] в процессе онтогенеза различаются.

Объектами биогеронтологических исследований являются, в основном, лабораторные животные, однако изменения физиологических функций в процессе онтогенеза значительно варьируют как внутри видов, так и между ними [5, 8]. Использование немодельных объектов способствует выявлению механизмов, регулирующих старение в генетически гетерогенных популяциях долгоживущих видов [9]. Существует лишь несколько работ, посвященных возрастным модификациям уровня антиоксидантов у диких [10] или домашних животных, испытывающих влияние внешних условий среды [11].

Поскольку разводимые в неволе представители семейства Canidae – енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*), лисица (*Vulpes vulpes*) и песец (*V. lagopus*) не утратили сезонности биологических ритмов физиологических функций (в том числе линьки, размножения и обмена веществ), выявленные у

них закономерности могут быть экстраполированы на обитающих в природе представителей данных видов [12]. Помимо этого, виды сформировались в различных эколого-географических условиях, что делает их интересными объектами исследования в плане изучения физиолого-биохимических адаптаций. Лисица характеризуется самым обширным ареалом обитания по сравнению с другими видами из отряда Carnivora, песец является выходцем из суровых условий высоких широт, тогда как родина енотовидной собаки, в природе впадающей в зимний сон, – Восточная Азия. Одомашненный представитель этого же семейства – собака *Canis familiaris* – является идеальной моделью старения, но исследования возраст-ассоциированных изменений антиоксидантов у этих животных проводятся прежде всего с целью изучения нейродегенеративных заболеваний.

Ранее нами было показано, что у песцов дефицитивный профиль активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) (НФ 1.15.1.1) и каталазы (НФ 1.11.1.6) формируется уже в раннем постнатальном онтогенезе и в дальнейшем (к 4.5-летнему возрасту) его изменений не наблюдается [7]. Однако сравнительно-видовые исследования показателей тканевой антиоксидантной защиты в позднем постнатальном онтогенезе хищных млекопитающих ранее не проводились. Ввиду недостаточной изученности влияния возраста на гомеостаз-поддерживающие системы у хищных млекопитающих, целью нашего исследования явилось изучение уровня некоторых антиоксидантов в тканях у енотовидных собак, лисиц и песцов трех возрастных групп: неполовозрелые (0.5 лет), половозрелые (1.5–3.5 года) и стареющие (4.5–5.5 лет).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук” с соблюдением международных принципов Директивы Евросоюза 2010/63/EU о гуманном отношении к животным и правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [13].

Объектами исследования явились представители семейства Canidae енотовидные собаки (*Nyctereutes procyonoides*), лисицы (*Vulpes vulpes*) и песцы (*V. lagopus*) трех возрастных групп: неполовозрелые (0.5 лет), половозрелые (1.5–3.5 лет) и стареющие (4.5–5.5 лет). Животные содержались на общехозяйственном рационе согласно рекомендациям для этих видов, вода предоставлялась *ad libitum*. Обменная энергия вычислялась на основе табличных значений пищевых ингредиентов. Состав пищи был следующим (г/418 кДж обменной энергии): мясные субпродукты (5–10), костные субпродукты (6–10), рыбная мука (15–20), рыбный

фарш (3–5), зерновые (14.5–15.5), овощи (8–10), сухие дрожжи (2), жир (1–2). К основному рациону добавляли 15 мг витамина Е на зверя.

Образцы тканей органов отбирали в период планового забоя животных на звероферме, органы замораживали и хранили до анализа при -25°C . В образцах печени, почек и сердца были проанализированы содержание α -токоферола и ретинола методом ВЭЖХ [14], активности антиоксидантных ферментов СОД и каталазы, а также содержание восстановленного глутатиона (GSH) – спектрофотометрически.

Хроматографическое разделение α -токоферола и ретинола осуществляли на микроколоночном жидкостном хроматографе “Милихром 6” с ультрафиолетовым детектором, элюентом служила смесь гексана с изопропанолом (98.5:1.5). Для построения калибровочных кривых использовали стандартные растворы ретинола и α -токоферола (“Sigma”, США).

Для определения активности антиоксидантных ферментов и содержания белка гомогенаты тканей готовили в 0.05 М фосфатном буферном растворе (рН 7.0). После центрифугирования при 6000 г в течение 15 мин в полученных супернатантах спектрофотометрически измеряли активность ферментов: СОД – по модифицированной адренохромной методике [15], а каталазы – по количеству разложенной H_2O_2 [16]. За 1 усл. ед. активности СОД принимали количество фермента, способное затормозить реакцию автоокисления адреналина на 50%, а за 1 ед. активности каталазы принимали количество мкмоль H_2O_2 , разложенной за 1 мин. Содержание белка определяли по методу Лоури [17] с использованием в качестве стандарта бычьего сывороточного альбумина. Удельную активность антиоксидантных ферментов рассчитывали на 1 мг белка.

Содержание GSH определяли по методу Элмана [18] и выражали в мкмоль/г ткани. Для этого готовили гомогенаты тканей органов в 0.02 М ЭДТА- Na_2 , после центрифугирования (в течение 15 мин при 5000 г) к супернатантам добавляли 50% ТХУ для осаждения белков, затем вновь центрифугировали (15 мин при 3000 г). В полученных супернатантах после добавления 0.4 М трис-буферного раствора и реактива Элмана (рН полной реакционной смеси составлял 8.0) спектрофотометрически ($\lambda = 412$ нм) определяли уровень GSH.

Полученные данные обрабатывали общепринятыми статистическими методами, используя пакеты программ MS Excel и Statgraphics. Для оценки влияния факторов “вид”, “возраст” и “пол” на изученные показатели применяли одно- и многофакторный анализ (ANOVA / MANOVA). Статистически значимыми считали различия с $p < 0.05$.

Таблица 1. Активность антиоксидантных ферментов ($M \pm s.e.m.$) в тканях органов трех видов собачьих разного возраста

Активность СОД, у.е. /мг белка				
Вид животных	Возраст, годы; n	Ткани органов		
		Печень	Почки	Сердце
Енотовидная собака	0.5 ($n = 14, 7 \sigma, 7 \varphi$)	4.75 ± 0.61	2.35 ± 0.19	3.05 ± 0.42
	1.5–3.5 ($n = 9, 2 \sigma, 7 \varphi$)	3.84 ± 0.65	2.84 ± 0.20	1.73 ± 0.34
Лисица	0.5 ($n = 13, \varphi$)	1.86 ± 0.19	1.75 ± 0.21	3.10 ± 0.35
	1.5–3.5 ($n = 10, \varphi$)	2.07 ± 0.32	4.94 ± 1.50	но
	4.5–5.5 ($n = 8, \varphi$)	2.13 ± 0.15	$1.44 \pm 0.20^*$	2.33 ± 0.49
Песец	0.5 ($n = 16, 6 \sigma, 10 \varphi$)	2.10 ± 0.27 ($\sigma: 1.48 \pm 0.12$; $\varphi: 2.47 \pm 0.38$)	3.54 ± 0.31 ($\sigma: 3.85 \pm 0.51$; $\varphi: 3.35 \pm 0.40$)	2.56 ± 0.37
	1.5–3.5 ($n = 18, 4 \sigma, 14 \varphi$)	2.30 ± 0.16 ($\sigma: 1.80 \pm 0.27$; $\varphi: 2.45 \pm 0.17$)	3.05 ± 0.27 ($\sigma: 4.61 \pm 0.20$; 2.60 ± 0.22)	2.24 ± 0.38
	4.5–5.5 ($n = 11, 5 \sigma, 6 \varphi$)	$1.79 \pm 0.15^{\#}$ ($\sigma: 1.72 \pm 0.08$; $\varphi: 1.87 \pm 0.31$)	$3.93 \pm 0.26^{\#}$ ($\sigma: 4.21 \pm 0.34$; $\varphi: 3.69 \pm 0.37$)	1.69 ± 0.07
Активность каталазы, у.е. /мг белка				
Вид животных	Возраст, годы; n	Ткани органов		
		Печень	Почки	Сердце
Енотовидная собака	0.5 ($n = 14, 7 \sigma, 7 \varphi$)	9.84 ± 1.09	1.35 ± 0.13	0.46 ± 0.09
	1.5–3.5 ($n = 9, 2 \sigma, 7 \varphi$)	10.71 ± 1.49	2.09 ± 0.34	0.22 ± 0.05
Лисица	0.5 ($n = 13, \varphi$)	4.37 ± 0.40	1.23 ± 0.08	0.37 ± 0.05
	1.5–3.5 ($n = 10, \varphi$)	3.72 ± 0.43	3.64 ± 1.38	но
	4.5–5.5 ($n = 8, \varphi$)	4.51 ± 0.21	1.42 ± 0.09	0.31 ± 0.03
Песец	0.5 ($n = 16, 6 \sigma, 10 \varphi$)	4.71 ± 0.36	2.83 ± 0.48 ($\sigma: 3.73 \pm 0.87$; $\varphi: 2.30 \pm 0.52$)	0.37 ± 0.04
	1.5–3.5 ($n = 18, 4 \sigma, 14 \varphi$)	4.84 ± 0.30	2.23 ± 0.29 ($\sigma: 3.67 \pm 0.42$; $\varphi: 1.83 \pm 0.27$)	0.31 ± 0.04
	4.5–5.5 ($n = 11, 5 \sigma, 6 \varphi$)	5.42 ± 0.53	$3.02 \pm 0.44^{\#}$ ($\sigma: 3.80 \pm 0.39$; $\varphi: 2.24 \pm 0.64$)	0.37 ± 0.05

Примечание (здесь и в таблице 2): *, # – влияние возраста и пола соответственно достоверно (ANOVA) в том же органе у одного и того же вида при $p < 0.05$; но – показатель не определяли. В случаях, где выявлено достоверное влияние пола, приведены результаты для обоих полов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований выявлена видоспецифичность уровней изученных антиоксидантов. Среди исследованных видов более высокая активность СОД зафиксирована в печени у енотовидной собаки (ANOVA, $p < 0.001$), а каталазы – в печени енотовидной собаки, а также в почках песца (ANOVA, $p < 0.001$) (табл. 1). Содержание токоферола было выше в печени и почках у енотовидных собак и песцов, чем у лисиц (ANOVA, $p < 0.001$ и $p < 0.05$, соответственно) (табл. 2). Более

высокий уровень GSH характерен для всех изученных органов лисиц по сравнению с песцами (ANOVA, $p < 0.001$) (табл. 2). Не выявлено значимых межвидовых различий в уровне ретинола в тканях трех исследованных видов (ANOVA, $p > 0.05$) (табл. 2).

Показана ткане- и видоспецифичность возрастных изменений изученных показателей (табл. 1, 2, 3). В табл. 3 отражены результаты многофакторного дисперсионного анализа по влиянию факторов “возраст” и “пол” на изученные показатели только в случаях, когда влияние факторов было статисти-

Таблица 2. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов ($M \pm s.e.m.$) в тканях органов трех видов собачьих разного возраста

Ретинол, мкг/г ткани				
Вид животных	Возраст, годы; n	Ткани органов		
		Печень	Почки	Сердце
Енотовидная собака	0.5 ($n = 14, 7 \sigma, 7 \text{♀}$)	10.68 ± 3.24	19.61 ± 6.62	0.31 ± 0.11
	1.5–3.5 ($n = 3, 1 \sigma, 2 \text{♀}$)	20.28 ± 5.22	193.40 ± 163.08	$0.97 \pm 0.13^*$
Лисица	0.5 ($n = 12, \text{♀}$)	35.34 ± 30.97	202.87 ± 54.89	0.44 ± 0.10
	1.5–3.5 ($n = 5, \text{♀}$)	10.94 ± 7.04	383.57 ± 189.89	0.51 ± 0.20
	4.5–5.5 ($n = 7, \text{♀}$)	2.64 ± 1.79	275.16 ± 122.87	0.46 ± 0.14
Песец	0.5 ($n = 8, 2 \sigma, 6 \text{♀}$)	10.79 ± 5.17	190.76 ± 54.52	0.26 ± 0.13
	1.5–3.5 ($n = 5, \text{♀}$)	0.38 ± 0.05	153.75 ± 13.66	0.23 ± 0.06
	4.5–5.5 ($n = 2, \text{♀}$)	$44.58 \pm 8.11^*$	337.91 ± 258.79	0.81 ± 0.01
α -Токоферол, мкг/г ткани				
Вид животных	Возраст, годы; n	Ткани органов		
		Печень	Почки	Сердце
Енотовидная собака	0.5 ($n = 14, 7 \sigma, 7 \text{♀}$)	35.91 ± 16.57	112.12 ± 28.18	8.83 ± 1.51
	1.5–3.5 ($n = 3, 1 \sigma, 2 \text{♀}$)	17.71 ± 2.93	65.34 ± 29.79	1.75 ± 0.04
Лисица	0.5 ($n = 12, \text{♀}$)	11.93 ± 0.65	20.48 ± 3.59	5.96 ± 0.82
	1.5–3.5 ($n = 5, \text{♀}$)	12.56 ± 0.48	10.26 ± 2.43	3.96 ± 1.10
	4.5–5.5 ($n = 8, \text{♀}$)	12.22 ± 0.97	24.68 ± 7.28	5.44 ± 0.85
Песец	0.5 ($n = 16, 6 \sigma, 10 \text{♀}$)	22.19 ± 3.30 ($\sigma: 27.96 \pm 3.15; \text{♀}: 18.74 \pm 4.72$)	95.72 ± 24.04	19.00 ± 4.41 ($\sigma: 23.68 \pm 7.56; \text{♀}: 16.19 \pm 5.51$)
	1.5–3.5 ($n = 11, 4 \sigma, 7 \text{♀}$)	23.18 ± 4.80 ($\sigma: 33.16 \pm 3.66; \text{♀}: 17.48 \pm 6.44$)	155.15 ± 43.01	25.07 ± 5.58 ($\sigma: 43.57 \pm 4.96; 15.81 \pm 5.61$)
	4.5–5.5 ($n = 10, 4 \sigma, 6 \text{♀}$)	$28.14 \pm 1.76^{\#}$ ($\sigma: 29.35 \pm 2.56; \text{♀}: 27.17 \pm 2.59$)	$221.59 \pm 29.98^*$	$30.72 \pm 5.74^{\#}$ ($\sigma: 39.23 \pm 1.46; \text{♀}: 22.21 \pm 10.18$)
GSH, мкмоль /г ткани				
Вид животных	Возраст, годы; n	Ткани органов		
		Печень	Почки	Сердце
Лисица	0.5 ($n = 5, \text{♀}$)	17.92 ± 0.57	27.00 ± 1.23	24.76 ± 1.48
	1.5–3.5 ($n = 8, \text{♀}$)	12.10 ± 1.36	15.78 ± 3.79	16.51 ± 2.21
	4.5–5.5 ($n = 2, \text{♀}$)	$18.70 \pm 0.74^*$	25.72 ± 1.88	$23.11 \pm 0.20^*$
Песец	0.5 ($n = 13, 4 \sigma, 9 \text{♀}$)	14.35 ± 2.08 ($\sigma: 7.87 \pm 0.39; \text{♀}: 17.22 \pm 2.45$)	13.51 ± 1.93 ($\sigma: 7.96 \pm 0.44; 16.28 \pm 2.33$)	16.83 ± 1.88 ($\sigma: 12.20 \pm 1.28; 19.15 \pm 2.39$)
	1.5–3.5 ($n = 12, 4 \sigma, 8 \text{♀}$)	13.66 ± 1.94 ($\sigma: 8.28 \pm 0.16; \text{♀}: 16.35 \pm 2.41$)	11.66 ± 1.99 ($\sigma: 7.45 \pm 0.29; \text{♀}: 13.76 \pm 2.73$)	16.27 ± 1.96 ($\sigma: 10.84 \pm 0.23; \text{♀}: 18.98 \pm 2.43$)
	4.5–5.5 ($n = 9, 5 \sigma, 4 \text{♀}$)	$11.31 \pm 0.52^{\#}$ ($\sigma: 11.03 \pm 0.91; \text{♀}: 11.65 \pm 0.44$)	$4.67 \pm 0.40^{*\#}$ ($\sigma: 4.78 \pm 0.74; \text{♀}: 4.53 \pm 0.25$)	$12.70 \pm 0.30^{\#}$ ($\sigma: 12.65 \pm 0.36; \text{♀}: 12.75 \pm 0.55$)

чески значимым. У енотовидной собаки выявлено увеличение уровня ретинола в сердце с возрастом (табл. 2, 3). У лисицы зафиксированы снижение активности СОД в почках (табл. 1, 3) и V-образные

возрастные изменения уровня GSH в печени и сердце: снижение показателя в возрасте 1.5–3.5 лет по сравнению с неполовозрелыми особями и дальнейшее его повышение к 4.5–5.5 годам (табл. 2, 3).

Таблица 3. Результаты MANOVA по влиянию факторов “возраст” и “пол” на исследуемые показатели в тканях собак

Вид	Показатель	Ткань	Фактор вариации	df	F	P	Сила влияния, η^2
Енотовидная собака	Содержание ретинола	Сердце	Возраст	1	6.18	0.027	32.18
Лисица	Активность СОД	Почки	Возраст	2	4.95	0.014	26.13
		Печень	Возраст	2	7.44	0.008	55.35
Песец	Содержание GSH	Сердце	Возраст	2	4.35	0.038	42.06
		Печень	Пол	1	5.71	0.022	11.72
	Активность СОД	Почки	Пол	1	9.87	0.003	16.68
		Печень	Пол	1	12.31	0.001	23.10
	Активность каталазы	Почки	Пол	1	4.49	0.043	11.83
		Печень	Пол	1	4.49	0.043	11.83
	Содержание α -токоферола	Почки	Возраст	2	3.79	0.035	17.65
		Сердце	Пол	1	9.23	0.005	21.01
	Содержание ретинола	Печень	Возраст	2	15.64	0.001	66.63
			Пол	1	6.23	0.030	1.33
Почки		Пол	1	9.90	0.004	22.05	
		Возраст	2	5.41	0.011	20.24	
Содержание GSH	Почки	Пол	1	6.32	0.018	11.82	
		Сердце	Пол	1	7.10	0.013	17.22

У песца наблюдается увеличение уровня ретинола в печени и токоферола в почках, а также снижение содержания GSH в почках (табл. 2, 3). Помимо этого, у песца было обнаружено влияние пола на возрастные изменения изученных антиоксидантов (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Видовая специфика изученных показателей. В ходе исследования нами были выявлены видовые различия в уровнях изученных антиоксидантов у близкородственных представителей семейства Canidae. Песцы и енотовидные собаки характеризовались более высоким уровнем антиоксидантных ферментов и витамина Е в печени и почках по сравнению с лисицами, что, вероятно, связано со специфическими перестройками обмена веществ у этих видов, которые наблюдаются в осенне-зимний период подготовки к зиме [19]. Так, известно, что как в природе, так и в условиях неволи масса накапливаемой животными осенью жировой ткани уменьшается в ряду енотовидные собаки – песцы – лисицы [20, 21]. Более высокий уровень антиоксидантов у первых двух видов, очевидно, способствуют защите от потенциально возможного повышения уровня ПОЛ.

Поскольку животные содержались на одном и том же рационе, видовые различия уровня витамина Е, очевидно, связаны с особенностями накопле-

ния этого нутриента у разных видов [21]. Для организма млекопитающих витамин Е крайне важен, поскольку, являясь мощным антиоксидантом, он защищает мембраны клеток животных от перекисной деструкции [22]: при его дефиците поступающие с пищей окисленные полиненасыщенные жирные кислоты вызывают анемию и разрушение эритроцитов, задержку роста, депигментацию волос, мышечную дистрофию и смерть. Отмечают, что уровень витамина Е в печени типично полярного вида – песца, но не лисицы, коррелирует с содержанием жира в этом органе [21]. Более высокий уровень GSH в тканях лисицы по сравнению с песцом, вероятно, определяется более высоким уровнем метаболизма у вида [23].

Наряду с этим не выявлено достоверных межвидовых различий в уровне ретинола в тканях Canidae, что согласуется с отмеченными ранее [24] особенностями метаболизма этого витамина у изученных видов. Очень высокое (по сравнению с другими видами млекопитающих) содержание ретинола в почках Canidae связано с экскрецией его большого количества (до 60% ежедневного потребления) с мочой в целях возможной защиты от интоксикации витамином А.

Возрастные изменения изученных показателей. Данные по возрастным изменениям уровней антиоксидантов у человека и других видов млекопитающих достаточно противоречивы, что обусловлено целым рядом факторов (видовой принадлежно-

стью, полом, возрастным диапазоном исследований, тем, какие органы исследуются, и др.). Отмечают либо относительную стабильность показателей антиоксидантной защиты в течение жизни [4, 7], либо смешанный паттерн возрастных изменений – увеличение уровня одних и снижение других [2, 6]. Результаты нашего исследования, проведенного на хищных млекопитающих семейства Canidae, также свидетельствуют о гетерохронности возрастных изменений изученных антиоксидантов в печени, почках и сердце.

У енотовидной собаки не выявлено изменений изученных показателей, кроме уровня ретинола, увеличение которого в сердце может рассматриваться как адаптивный механизм, направленный на повышение резистентности липидов мембран клеток миокарда к перекисному окислению. Такая особенность ретинола и эфиров ретинила была показана ранее на крысах [25].

У лисицы не зафиксировано возрастных изменений уровня каталазы и витаминов, но отмечено постепенное снижение активности СОД в почках и V-образное изменение уровня GSH в печени и сердце. Данные частично согласуются с результатами других исследований, в которых показано, что с возрастом у крыс активность СОД в печени и почках снижается [3], тогда как содержание GSH в печени остается относительно стабильным в течение постнатального онтогенеза, а активности GSH-зависимых ферментов увеличиваются [6].

Максимальные возрастные изменения низкомолекулярных антиоксидантов были отмечены у песца. В отличие от енотовидной собаки и лисицы, у этого вида с возрастом выявлено увеличение уровня ретинола в печени и токоферола в почках, а также снижение содержания GSH в почках, что может свидетельствовать об активном участии GSH в антиоксидантной защите ткани, в том числе и в реакциях регенерации антиоксидантных витаминов С и Е. В то же время у песца состояние ферментативного компонента системы антиоксидантной защиты остается достаточно стабильным. Нами не выявлено достоверного влияния возраста на активность СОД в органах песца, что согласуется с результатами других исследований, в которых активность как СОД, так и каталазы не менялась с возрастом у крыс [4].

Ранее было показано возрастное увеличение уровня витамина Е в тканях у хищника Арктики – полярного медведя, что, по мнению авторов, является отражением изменения рациона у взрослых особей и/или связано с нагрузкой поллютантами [10]. Результаты других исследований также свидетельствуют о накоплении токоферола в органах стареющих крыс [4]. Токоферол защищает мембраны клеток от перекисной деструкции и непосредственно взаимодействует с АФК. Совместно с аскорбатом витамин Е способствует включению се-

лена в состав активного центра ГПО, тем самым активизируя ферментативную антиоксидантную защиту. Вероятно, увеличение в тканях песцов уровня токоферола, который обладает мембрано-стабилизирующим эффектом и способностью экономить потребление кислорода клетками в митохондриях, носит адаптивный характер, поскольку с возрастом тканеспецифически увеличивается чувствительность мембранных липидов к перекисному окислению [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что универсальных механизмов старения не существует окислительные повреждения клеточных структур, наблюдаются практически у всех живых организмов за немногими исключениями, такими, в частности, как голый землекоп (*Heterocephalus glaber*). Вид характеризуется высоким уровнем окислительного стресса и наряду с этим высокой продолжительностью жизни [26].

Различные комбинации множества механизмов возрастных нарушений могут заметно отличаться друг от друга между таксонами и даже иногда среди близких видов [26]. Некоторые из них наблюдаются только у одного или нескольких близкородственных видов, имеющих определенную физиологическую уязвимость или подвергающихся воздействию сходных экологических факторов. Обнаруженные нами межвидовые различия изученных показателей, по всей видимости, являются отражением эволюционно сложившихся взаимоотношений между организмом и средой обитания у разных видов. Уникальной особенностью енотовидной собаки является способность вида впадать в зимний сон, в связи с чем для этих животных характерны более значительные сезонные колебания массы тела по сравнению с лисицей и песцом. Лисица, имеющая очень обширный географический ареал и конкурирующая на его северной границе с песцом, типично полярным видом, несмотря на некоторые преимущества, все же уступает ему в адаптациях к холоду [27].

Возрастные изменения антиоксидантов в тканях животных, в частности накопление витаминов и повышение активности антиоксидантных ферментов, по-видимому, являются компенсационным механизмом, уравнивающим связанный с возрастом окислительный стресс и представляющий собой саморегулируемую защитную адаптацию.

В относительно крупных таксонах, таких как птицы, млекопитающие, летучие мыши и сумчатые, существуют вполне определенные закономерности между скоростью старения и такими показателями, как размер тела, уровень смертности и скорость метаболизма. Темпы старения, очевидно, контролируются генетически, но таким образом,

чтобы реагировать на действие отбора [26]. Объекты нашего исследования также различаются по уровню обмена веществ: лисица характеризуется более высоким метаболизмом по сравнению с песцом [23], а песец – по сравнению с енотовидной собакой [19]. Максимальная продолжительность жизни исследуемых видов в неволе достигает 7–8 лет для енотовидных собак, 10–12 лет для лисиц и 8–10 лет для песцов. В природе у енотовидных собак зафиксирован высокий уровень смертности среди неполовозрелых особей и особей старше 5 лет, а средняя продолжительность жизни лисиц и песцов в естественных условиях составляет 3 года [27]. Половозрелыми все животные становятся в 9–11 мес., максимальная продуктивность енотовидной собаки и песца приходится на 2–3-летний возраст, тогда как лисица приносит больше щенков в 3–5 лет [7, 27]. К 5 годам жизни показатели воспроизводства песца достоверно снижаются, но репродуктивная способность сохраняется до 6 лет [7].

Результаты нашей работы согласуются с данными других исследователей [2, 4] и свидетельствуют о гетерохронности возрастных изменений антиоксидантной защиты в органах хищных млекопитающих: уровни одних антиоксидантов увеличиваются, тогда как других – снижаются, при этом, по всей видимости, в целом система не снижает своей функциональности. Асинхронность изменений функционирования разных органов и систем с возрастом продемонстрирована на диких и лабораторных млекопитающих, а также на человеке [9]. Помимо этого, эколого-физиологические черты, присущие разным видам животных, вероятно, определяют адаптивный потенциал вида и влияют на возрастные особенности антиоксидантной защиты тканей органов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”. Авторы выражают благодарность к.вет.н. И.И. Окуловой (ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова, г. Киров) и к.б.н. З.С. Ручкиной (ФГУП “Русский соболь”, Московская обл.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0052).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Harman D.* Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry // *J. Gerontol.* 1956. V. 11. P. 298–300.
2. *Sohal R.S., Arnold L.A., Sohal B.H.* Age-related changes in antioxidant enzymes and prooxidant generation in tissues of the rat with special reference to parameters in two insect species // *Free Rad. Biol. Med.* 1990. V. 9. № 6. P. 495–500.
3. *Cand F., Verdetti J.* Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, and lipid peroxidation in the major organs of the aging rats // *Free Rad. Biol. Med.* 1989. V. 7. P. 59–63.
4. *Matsuo M., Gomi F., Dooley M.M.* Age-related alterations in antioxidant capacity and lipid peroxidation in brain, liver, and lung homogenates of normal and vitamin E-deficient rats // *Mech. Ageing Dev.* 1992. V. 64. P. 273–292.
5. *Gaál T., Speake B.K., Mezes M., Noble R.C., Surai P.F., Vajdovich P.* Antioxidant parameters and ageing in some animal species // *Comp. Haematol. Int.* 1996. V. 6. P. 208–213.
6. *Elbarbry F., Alcorn J.* Ontogeny of glutathione and glutathione-related antioxidant enzymes in rat liver // *Res. Vet. Sci.* 2009. V. 87. № 2. P. 242–244.
7. *Илюха В.А.* Антиоксидантные ферменты в физиологических адаптациях млекопитающих (Сравнительно-видовой, онтогенетический и прикладной аспекты): Автореф. докт. дис. Сыктывкар, 2004.
8. *Lemaître J.-F., Gaillard J.-M., Lackey L.B., Clauss M., Müller D.W.* Comparing free-ranging and captive populations reveals intra-specific variation in aging rates in large herbivores // *Exp. Gerontol.* 2013. V. 48. P. 162–167.
9. *Nussey D.H., Froy H., Lemaître J.-F., Gaillard J.-M., Austad S.N.* Senescence in natural populations of animals: Widespread evidence and its implications for biogerontology // *Ageing Res. Rev.* 2013. V. 112. P. 214–225.
10. *Bechshoft T., Sonne C., Jakobsen J., Rigét F.F., Born E.W., Letcher R.J., Jenssen B.M., Dietz R.* Vitamins A and E in liver, kidney, and whole blood of East Greenland polar bears sampled 1994–2008: reference values and temporal trends // *Polar Biol.* 2016. V. 39. P. 743–754.
11. *Christensen L.L., Selman C., Blount J.D., Pilkington J.G., Watt K.A., Pemberton J.M., Reid J.M., Nussey D.H.* Marker-dependent associations among oxidative stress, growth and survival during early life in a wild mammal // *Proc. R. Soc. B.* 2016. V. 283. № 1840. P. 20161407. doi: 10.1098/rspb.2016.1407
12. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. CITES-listed Species Database: Fauna. Châtelaine-Genève, Switzerland, 1998.

13. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации / Под ред. Ю.Б. Белоусова. М., Российское общество клинических исследователей, 2005.
14. Скурихин В.Н., Двинская Л.М. Определение α -токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // С.-хоз. биол. 1989. № 4. С. 127–129.
15. Misra H.P., Fridovich F. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. 1972. V. 247. № 10. P. 3170–3175.
16. Bears R.F., Sizer I.N. A spectral method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase // J. Biol. Chem. 1952. V. 195. P. 133–140.
17. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randan R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. № 1. P. 265–275.
18. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent // Anal. Biochem. 1968. V. 25. P. 192–205.
19. Korhonen H., Harri M., Asikainen J. Thermoregulation of polecat and raccoon dog: a comparative study with stoat, mink and blue fox // Comp. Biochem. Physiol. 1983. V. 74A. № 2. P. 250–230.
20. Ильина Е.Д. Звероводство. М., 1975.
21. Rouvinen K. Dietary effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on body fat composition and health status of farm-raised blue and silver foxes // Acta Agric. Scand. 1991. V. 41. № 4. P. 401–414.
22. Naudí i Farre A., Jove Font M., Ayala Jove M.V., Portero Otín M., Barja G., Pamplona Gras R. Membrane lipid unsaturation as physiological adaptation to animal longevity // Front. Physiol. 2013. V. 4. № 372. P. 1–13. doi: 10.3389/fphys.2013.00372
23. Klir J.J., Heath J.E. Metabolic rate and evaporative water loss at different ambient temperatures in two species of fox: the red fox (*Vulpes vulpes*) and the arctic fox (*Alopex lagopus*) // Comp. Biochem. Physiol. 1992. V. 101A. № 4. P. 705–707.
24. Schweigert F.J., Buchholz I. Vitamin A metabolism in carnivores with special reference to fur bearing animals // Scientifur. 1995. V. 19. № 4. P. 305–307.
25. Ciaccio M., Valenza I., Tesoriere L., Bongiorno A., Albiero R., Livrea M.A. Vitamin A inhibits doxorubicin-induced membrane lipid peroxidation in rat tissues *in vivo* // Arch. Biochem. Biophys. 1993. V. 302. № 1. P. 103–108.
26. Cohen A.A. Aging across the tree of life: The importance of a comparative perspective for the use of animal models in aging // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.05.028>
27. Sillero-Zubiri C., Hoffmann M., Macdonald D.W. Canids: foxes, wolves, jackals and dogs. The World Conservation Union, 2004.

Age-Related Changes in the Tissue Antioxidant System of Canids

S. N. Sergina^{a,#}, V. A. Ilyukha^a, I. V. Baishnikova^a, and E. P. Antonova^a

^a Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

[#]E-mail: cvetnick@yandex.ru

The study was aimed at determining tissue antioxidant levels in three closely related albeit ecologically different Canidae species: the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*), the silver fox (*Vulpes vulpes*) and the blue fox (*Vulpes lagopus*), aged 0.5 (juvenile), 1.5–3.5 (adult) and 4.5–5.5 (aging) years. Some tested parameters were found to be species-specific: as compared to other species, raccoon dogs and blue foxes exhibited higher α -tocopherol levels in the liver and kidneys, blue foxes were characterized by a higher activity of the antioxidant enzymes in the kidneys, while silver foxes had higher glutathione (GSH) levels in the liver, kidneys and heart. The antioxidant defense system in all organs of the tested species was distinguished by a relative stability. In raccoon dogs, the retinol level in the heart increased with age, while in silver foxes it is only superoxide dismutase (SOD) activity in the kidneys and the GSH level in the liver and heart that underwent significant alterations with age. In blue foxes, aging was accompanied by an increase in the liver retinol and the kidney α -tocopherol levels as well as a decrease in the kidney GSH level. Besides, sex differences were found in antioxidant levels in blue foxes. Our results are consistent with the data obtained by other authors for other animal species, indicating a mixed pattern of age-related changes in the antioxidant defense system of the carnivorous mammals. While some antioxidants increase and the other decrease, the functionality of the whole system does not appear to be disturbed. Ecological and physiological features of different mammalian species may determine the adaptive potential of animals, affecting the tested indicators of the antioxidant defense system in the late postnatal ontogenesis.

Key words: *Vulpes vulpes*, *Vulpes lagopus*, *Nyctereutes procyonoides*, antioxidants, vitamins, late postnatal ontogenesis, aging, homeostasis