

## РОЛЬ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ВИТАМИНА А И БЕТА-КАРОТИНА

**Любина Екатерина Николаевна**, доктор биологических наук, профессор кафедры «Биология, химия и технология хранения и переработки продукции растениеводства» ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1. тел.: 8-8422-55-9516

**Ключевые слова:** минеральные элементы, витамин А, бета-каротин, перекисное окисление, антиоксиданты.

В статье представлены материалы исследований, которые углубляют и расширяют имеющиеся в биохимии представления о роли минеральных элементов, участвующих в системе антирадикальной защиты организма в качестве кофакторов ферментов в зависимости от обеспеченности животных витамином А.

### Введение

Согласно современным представлениям, многие жизненно важные метаболические и физиологические процессы, протекающие в организме, тесно связаны со свободно-радикальным окислением (СРО), которое влияет на физико-химические свойства биологических мембран, их проницаемость, структуру, что отражается на обмене веществ, функциональном состоянии клеток и организма в целом. Свободные радикалы участвуют в поддержании гомеостаза аэробных организмов, аккумуляции и биотрансформации энергии, обеспечивают защитные функции, в частности, детоксикацию чужеродных соединений, влияют на иммунитет [1-2].

В то же время повышение производства сверхреакционноспособных свободных радикалов приводит к повреждению структур как отдельных биомолекул (липидов, белков, нуклеиновых кислот), так и биологических мембран, вызывая мутагенное действие, подавляя активность энергетических процессов. В результате чего возникают многочисленные нарушения работы тканей и органов, приводящие к дестабилизации гомеостаза и возникновению ряда хронических заболеваний [3].

В нормально функционирующих клетках, находящихся в кислородсодержащем окружении, содержание продуктов свобод-

но-радикального окисления находится на крайне низком уровне, несмотря на обилие субстратов перекисного окисления липидов, что свидетельствует о наличии защитной системы. Так, в живых организмах постоянное образование метаболитов липопероксидации уравновешено их дезактивацией с помощью мощной многокомпонентной антиоксидантной системы (АОС), основная функция которой – регуляция свободно-радикальных процессов, а как следствие этого, – сохранение целостности тканей и органов.

Известно, что в случае недостаточной активности антиоксидантной системы организма одним из наиболее эффективных способов защиты клеток от повреждающего действия окислителей является введение экзогенных антиоксидантных средств [4]. В том числе стимуляция ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты может быть успешно осуществлена путем введения с кормом витаминных препаратов. Актуальным представляется оптимизация антиоксидантного статуса с помощью витамина А и его предшественника бета-каротина, которые обладают широким спектром биологических свойств.

На многие стороны обмена веществ оказывают влияние минеральные вещества [5-6]. За последние десятилетия XX века и первые годы текущего столетия была по-

казана их роль в системе антирадикальной защиты организма в качестве кофакторов ферментов и «ловушек» свободных радикалов [7-8].

Витамин А и каротиноиды оказывают влияние на многие стороны обмена веществ, в том числе на минеральный обмен. Однако отмечается недостаточность экспериментальных данных по выявлению взаимосвязей между интенсивностью процессов перекисного окисления липидов, активностью системы антиоксидантной защиты, концентрацией микроэлементов, входящих в активные центры основных антиоксидантных ферментов, на фоне применения различных форм витамина А и бета-каротина, что определяет актуальность такой работы.

#### **Объекты и методы исследований**

Для решения поставленной задачи были проведены эксперименты на базе свинокомплекса хозяйства «Стройпластмассагропродукт» Ульяновского района Ульяновской области на свиноматках крупной белой породы. По принципу аналогов были сформированы четыре группы животных, которые содержались на хозяйственных рационах при соблюдении зоотехнических и ветеринарных требований. Супоросные и лактирующие свиноматки всех групп получали одинаковый основной рацион (ОР). Первая (контрольная) группа получала ОР без дополнительных добавок. С 87-го дня супоросности и в течение лактации свиноматки 2-й, 3-й и 4-й групп дополнительно к основному рациону получали очищенный витамин А, каротинсодержащий препарат «Бетацинол» и витамин А с гепатопротектором соответственно. Выпаивание препаратов производилось с молочной сывороткой 10-дневными курсами из расчета: витамин А, витамин А с гепатопротектором – по 0,3 мл на животное для супоросных, 0,55 мл – подсосным свиноматкам; бетацинол – 2 мл для супоросных, 3 мл – подсосным свиноматкам на животное в сутки.

Состояние процесса свободнорадикального окисления у свиноматок оценивали по содержанию в сыворотке крови малонового диальдегида [9]; функционирование антиоксидантной системы - по активности

ферментов: каталазы [10]; глутатионредуктазы [11]; супероксиддисмутазы [12]; церулоплазмина [13].

Материалом для исследований обеспеченности организма свиноматок микроэлементами являлась кровь, взятая у трех животных из каждой группы, на 94 сутки супоросности и 35 сутки лактации из сосудов хвоста. Также проводилось изучение элементного состава крови свиноматок. Исследование концентрации минеральных элементов проводили с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии по методам, описанным в справочном пособии под ред. Б.Д. Кальницкого [14].

#### **Результаты исследований**

В результате проведенных исследований установлено, что в группе, где супоросным маткам скармливали витамин А, показатель интенсивности реакций перекисного окисления липидов, оцениваемый нами по уровню малонового диальдегида (МДА), образующегося при кипячении в кислой среде метаболитов пероксидации, был ниже на 8,90% ( $P > 0,05$ ); в группе, где животные получали «Бетацинол», - на 9,42% ( $P > 0,05$ ); в группе, где свиноматки получали витамин А с гепатопротектором, - на 25,65% ( $P < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой.

В подсосный период у лактирующих животных второй, третьей и четвертой опытных групп уровень МДА снизился на 3,68%, 5,52% и 9,81% соответственно по сравнению с контролем, хотя это понижение не было статистически достоверным.

Более значительное снижение уровня МДА у свиноматок, получавших витамин А с гепатопротектором как в период супоросности, так и в период лактации, полагаем, связано с присутствием дигидрохверцетина, который является эффективным антиоксидантом.

Повышение интенсивности реакций перекисного окисления липидов у животных контрольной группы видимо является следствием усиления процессов генерации активных форм кислорода в тканях. Это можно объяснить тем, что их антиоксидантные системы не справляются с проявлением повреждающего действия свободных ради-

**Активность ферментов АОС в сыворотке крови свиноматок  
( $M \pm m$ ,  $n=3$ )**

Физиологическое состояние	1 группа (контроль)	2 опытная группа	3 опытная группа	4 опытная группа
Супероксиддисмутаза (СОД), ед.ак. $\times 10^{-2}$				
Супоросные свиноматки	49,22 $\pm$ 7,21	80,29 $\pm$ 15,13	51,38 $\pm$ 9,54	83,74 $\pm$ 15,18
Лактирующие свиноматки	64,94 $\pm$ 8,21	87,55 $\pm$ 14,51	64,13 $\pm$ 7,91	81,41 $\pm$ 10,21
Глутатионредуктаза (ГР), мкмоль/счл				
Супоросные свиноматки	0,05 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01
Лактирующие свиноматки	0,08 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01*
Каталаза, мкмоль $H_2O_2$ /лхс $\times 10^3$				
Супоросные свиноматки	7,26 $\pm$ 0,26	13,76 $\pm$ 1,17**	13,60 $\pm$ 1,31**	12,86 $\pm$ 0,43***
Лактирующие свиноматки	25,74 $\pm$ 3,61	27,06 $\pm$ 1,02	25,58 $\pm$ 2,95	30,83 $\pm$ 1,66
Церулоплазмин (ЦП), мг/л				
Супоросные свиноматки	156,04 $\pm$ 8,12	158,95 $\pm$ 5,25	169,16 $\pm$ 5,26	180,83 $\pm$ 2,92*
Лактирующие свиноматки	210,00 $\pm$ 22,02	277,08 $\pm$ 42,36	320,83 $\pm$ 17,68*	239,16 $\pm$ 27,82

\* $P < 0,05$  в сравнении с контрольной группой,

\*\* $P < 0,01$  в сравнении с контрольной группой,

\*\*\* $P < 0,001$  в сравнении с контрольной группой.

калов и перекисных соединений.

Применение воднодиспергированных форм ретинола в рационах супоросных и лактирующих свиноматок оказало существенное влияние на активность ферментов антиоксидантной системы защиты организма (табл.1). Установлено повышение активности супероксиддисмутаза, церулоплазмина, каталазы и глутатионредуктазы у маток, получавших витамин А и витамин А с гепатопротектором во все исследуемые периоды, что в целом отражает активацию ферментного звена антиоксидантной системы защиты, направленную на поддержание гомеостаза организма.

При введении в корма супоросных и лактирующих свиноматок бета-каротина в составе «Бетацинола» выявлено повышение активности церулоплазмина и каталазы. Однако на активность супероксиддисмутаза и глутатионредуктазы в сыворотке крови маток воднодиспергированная форма бета-

каротина влияния не оказала.

Таким образом, проведенные исследования показали, что интенсивность свободно-радикальных процессов находилась в прямой зависимости от применяемых воднодиспергированных форм бета-каротина, витамина А и его сочетаний с биофлавоноидами. Так, у свиноматок контрольной группы период супоросности и лактации сопровождался активацией ПОЛ, о чем свидетельствует повышение в сыворотке крови этих животных концентрации МДА и снижение активности ферментов - супероксиддисмутаза, церулоплазмина, каталазы, предупреждающих образование перекисей и разрушающих их. Полученные данные свидетельствуют о дисбалансе в состоянии системы антиоксидант – прооксидант у маток, что особенно важно в последнюю треть беременности и в период лактации, так как срыв физиологической системы АОС влечет за собой чрезмерную активацию свободно-

радикального окисления и может привести к развитию до- и послеродовой патологии.

Известно, что оксидативному повреждению могут подвергаться любые органы и ткани. Согласно существующему представлению о единстве структуры и функции, повреждение тканей свободными радикалами должно найти свое отражение в изменении их минерального обмена. Действительно, в ходе проведенного анализа проб сыворотки крови супоросных и лактирующих свиноматок были установлены сдвиги их элементного состава при применении воднодиспергированных форм бета-каротина, витамина А и его комбинации с биофлавоноидами.

Так, применение воднодиспергированных форм витамина А, бета-каротина и комбинации витамина А с биофлавоноидами повысило уровень цинка в сыворотке крови супоросных свиноматок второй, третьей и четвертой опытных групп на 9,09%, 9,09% и 24,81% соответственно в сравнении с аналогами из контрольной группы. Выявленная тенденция сохранилась у животных и в период лактации.

Результаты определения содержания селена в сыворотке крови показали, что у маток второй, третьей и четвертой опытных групп его уровень в крови во все исследуемые периоды был значительно выше, по сравнению с контролем.

Концентрация железа в сыворотке крови у супоросных животных третьей и четвертой опытных групп была выше на 9,94% и 23,77% по сравнению с матками из контрольной группы. Сходная направленность изменений по уровню железа у животных этих групп установлена и в период лактации.

Что касается содержания кобальта, марганца и йода, то у животных не выявлено определенной направленности в изменении их уровня под влиянием воднодиспергированных форм витамина А, бета-каротина и комбинации витамина А с биофлавоноидами: наблюдались колебания как в сторону повышения, так и в сторону понижения их концентрации.

Таким образом, наиболее выраженные различия в элементном статусе иссле-

дованных групп свиноматок выявлены по содержанию цинка, меди, железа и селена.

Установлена сопряженность изменений между содержанием некоторых из этих микроэлементов и активностью ферментов в крови. Так, уровень меди в крови супоросных и лактирующих маток коррелировал с активностью церулоплазмينا ( $r=0,63$ ;  $P<0,05$  и  $r=0,54$ ) и с активностью СОД ( $r=0,46$  и  $r=0,38$ ); концентрация железа - с активностью каталазы ( $r=0,53$  и  $r=0,55$ ). Также у супоросных животных выявлена коррелятивная зависимость между уровнем селена в сыворотке крови и обеспеченностью маток витамином А, которую определяли по содержанию ретинола в печени новорожденных поросят ( $r=0,73$ ;  $P<0,01$ ) [15]. Поскольку большинство из этих микроэлементов входят в состав металлоферментов антиоксидантной системы организма, возможно, изменение их концентрации можно рассматривать как способ регуляции интенсивности процессов перекисного окисления в последнюю треть супоросности и в период лактации.

Более низкое содержание у маток контрольной группы цинка, меди, селена и железа можно считать началом формирования антиоксидантной недостаточности с учетом повышения уровня малонового диальдегида и снижения количества элементов, содержащихся в активных центрах ферментов антиоксидантной системы защиты организма.

### Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что активность ферментов антиоксидантной защиты организма сопряжена с уровнем микроэлементов в крови, а также то, что усиление процессов перекисидации протекает на фоне пониженного содержания микроэлементов, входящих в активные центры ферментов антиоксидантной защиты. Выявлены взаимосвязи функционирования системы антиоксидантной защиты, процессов перекисного окисления липидов, содержания микроэлементов и А-витаминного статуса в организме свиней, что раскрывает роль ретинола и бета-каротина как регуляторных факторов,

оптимизирующих уровень свободных радикалов.

### Библиографический список

1. Галочкин, В.А. Антиоксидантный статус организма свиноматок и их потомства при использовании минеральных и органических форм селена / В.А. Галочкин, Т.С. Кузнецова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2000. - №2. - С. 51.

2. Абрамченко, В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве / В.В. Абрамченко.- СПб.: ДЕАН, 2001. – 400с.

3. Влияние комплекса антиоксидантных препаратов на продуктивность птицы родительского стада и качество инкубационных яиц / Г.И. Боряев, Е.В. Здороваева, Ю.Н. Федоров, Ю.В. Кравченко // Нива Поволжья. - 2012. - №3. - С.49-55.

4. 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.

5. Шленкина, Т.М. Особенности возрастных изменений минерального профиля крови под воздействием различных добавок/ Т.М. Шленкина, И.И. Стеценко, Н.А. Любин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2010. - №3 (23). – С.72-79.

6. Любин, Н.А. Биохимические закономерности формирования костной ткани свиней под воздействием минеральных добавок / Н.А. Любин, И.И. Стеценко, Т.М. Шленкина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - №4. – С.57-64.

7. Герасименко, В.В. Особенности воздействия лактобактериоцикла на обмен меди в организме гусят / В.В. Герасименко // Материалы II международной научно-практической конференции: сборник статей. – Оренбург: ИПК ГОУ ОГУ, 2006. – С. 212-123.

8. Кудрявцев, А.В. Микроэлементы в иммунологии и онкологии / А.В. Кудрявцев, О.В. Громова.- ГЭОТАР Медиа, 2007. – 544с.

9. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лабораторное дело.-1988. - №11. - С.41-43.

10. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии: справочник. Том 1.- СПб, 1998. - 396с.

11. Асатиани, В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани . - М.,1969. - С.607-610.

12. Nishikimi, M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen / M. Nishikimi, N. Appa, K. Yagi // Biochem.Biophys. Res.Commun.-1972.- Vol.46.- P.949-326.

13. Горячковский, А.М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский .- Одесса, 1998. – 608с.

14. Кальницкий, Б.Д. Методы биохимического анализа: справочное пособие / под ред. Б.Д. Кальницкого. -Боровск, 1997.- 356 с.

15. Любина, Е.Н. Перекисное окисление липидов и система антиоксидантной защиты у свиноматок при использовании новых воднодиспергированных препаратов витамина А и бета-каротина /Е.Н. Любина, В.А. Галочкин // Проблемы биологии продуктивных животных.-2012.-№1. -С. 37-46 .