

Николаевич Л.Н., кандидат биологических наук, доцент  
Згировская А.А., кандидат биологических наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

## ЦИТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА КАРОТИНОИДОВ В УСЛОВИЯХ ПОСТУПЛЕНИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНИЗМ

### Резюме

Проведены исследования по изучению раздельного и сочетанного действия ликопина и  $\beta$ -каротина на фоне экспозиции нитрата свинца на апоптоз клеток различной функциональной специализации в организме. Показано, что ликопин оказывает более выраженное цитопротекторное действие по сравнению с  $\beta$ -каротином, а при их сочетании наблюдается кумулятивный эффект. Цитопротекторные свойства ликопина проявляются в клеточных популяциях различной специализации (кровь, костный мозг, тимус, селезенка) в условиях экспозиции нитратом свинца и выражаются в снижении уровня гибели клеток по механизму апоптоза.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, каротиноиды, ликопин,  $\beta$ -каротин, кровь, костный мозг, селезенка, тимус.

### Summary

Studies were conducted to study the separate and combined effects of lycopene and  $\beta$ -carotene against the background of exposure of lead nitrate to apoptosis of cells of various functional specialization in the body. It has been shown that lycopene has a more pronounced cytoprotective effect compared to  $\beta$ -carotene, and with their combined effect, a cumulative effect is observed. Cytoprotective properties of lycopene are manifested in cell populations of different specialization (blood, bone marrow, thymus, spleen) under the conditions of exposure to lead nitrate and are expressed in reducing the level of cell death by the mechanism of apoptosis.

**Keywords:** heavy metals, carotenoids, lycopene,  $\beta$ -carotene, blood, bone marrow, spleen, thymus.

Поступила в редакцию 15.02.2024 г.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время экологические проблемы охватили большинство основных производственных отраслей, в том числе и сельское хозяйство. Все больше вредных веществ выбрасывается с антропогенной деятельностью человека в окружающую среду, и, как следствие, происходит загрязнение продукции животноводства. Тяжелые металлы, обладая высокой токсичностью, имеют способность накапливаться в почве, растениях и в опасных концентрациях по пищевым цепям поступать в организм человека. Наиболее опасными признаны такие микроэлементы, как свинец, ртуть, кадмий, мышьяк, цинк, никель. Тяжелые металлы, попадая в живой организм и вступая во взаимодействие с ферментами, подавляют их активность. Особенно опасны тяжелые металлы из-за их способности к биоаккумуляции, т.е., накапливаясь в организме, они создают повышенную концентрацию [1]. Напри-

мер, пагубное действие избытка свинца на организм животного выражается в нарушении пищеварительной функции, резорбтивном эффекте в отношении клеток поджелудочной железы, нарушении нейровегетативных процессов, прогрессировании вегетососудистой дистонии, увеличении частоты сердечно-сосудистых заболеваний, ускорении старения сердца, обмена кальция. Кроме того, являясь антагонистом железа, свинец нарушает обмен гемоглобина, вызывая анемию, не связанную с дефицитом железа [2]. Наиболее чувствительны к соединениям свинца крупный рогатый скот, собаки, овцы, птицы, менее – лошади. Свинец накапливается в костях, головном мозге и паренхиматозных органах.

Следовательно, одним из инновационных направлений ветеринарной науки является применение каротиноидов в качестве фармакологической защиты генома соматических клеток в условиях поступле-

ния тяжелых металлов в организм животных. Критерием эффективности веществ с протекторными свойствами может быть снижение апоптотической гибели клеток в тканях организма.

После открытия феномена апоптоза и подтверждения экспериментальными данными его универсальности стало очевидным, что это явление может иметь прямое или опосредованное отношение к патогенезу широкого спектра заболеваний [3].

Из каротиноидов наибольшее внимание в настоящее время привлекают ликопин и  $\beta$ -каротин, которые являются мощными антиоксидантами [4]. Полипотентность ликопина объясняется множеством функций, которые он выполняет в организме человека. С одной стороны, является жирорастворимым антиоксидантом, который препятствует свободно-радикальному окислению липопротеидов, липидов в составе биомембран, обеспечивая тем самым нормальное функционирование ферментов и белков-переносчиков. Циркулируя в кровотоке в составе антиатерогенных липопротеидов низкой плотности, ликопин предотвращает образование модифицированных (наиболее атерогенных) липопротеидов и нормализует уровень холестерина в кровотоке, тормозя таким образом развитие склероза сосудов и обусловленных этим заболеваний. Многие каротиноиды увеличивают свою антиоксидантную активность при совместном действии с другими веществами, особенно с витаминами С и А. Например, ликопин имеет более высокую защитную активность при употреблении совместно с витаминами Е и С. Кроме того, в литературе отсутствуют данные о взаимодействии ликопина с другими каротиноидами, в частности с  $\beta$ -каротином.

**Цель работы** – изучение отдельного и сочетанного действия ликопина и  $\beta$ -каротина на фоне экспозиции нитрата свинца на апоптоз клеток различной функциональной специализации в организме экспериментальных животных.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Национальной академии наук Беларуси.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 190 крысах (самцы и самки) линии Wistar воз-

раста 2,5–3 месяцев средней массой 200 г. Животных содержали при 12-часовом световом режиме, на стандартном брикетированном корме, при свободном доступе к воде (экспериментально-биологическая клиника ИФБ НАН Беларуси). В экспериментах использовали 10%-ную суспензию ликопина и 30%-ную суспензию  $\beta$ -каротина на кукурузном масле («DSM Nutritional Products Ltd», France).

Ликопин вводили животным в дозах 0,07; 0,14 и 0,36 мг/кг/сутки (общие дозы – 1; 2 и 5 мг/кг ликопина соответственно),  $\beta$ -каротин – в дозе 1,07 мг/кг/сутки (общая доза составляла 15 мг/кг). Растворы ликопина,  $\beta$ -каротина и нитрата свинца вводили перорально зондом внутрижелудочно в течение 14 дней. Суспензии различных концентраций каротиноидов готовились непосредственно перед введением. В качестве мутагена использовали тяжелые металлы, в частности нитрат свинца. Нитрат свинца вводили в дозе 80 мг/кг в течение всего эксперимента, т.е. каждое животное весом 200 г получало 1 мг солей свинца в сутки ( $LD_{50}$  для крысы – 93 мг/кг). Контрольные животные получали кукурузное масло. Образцы проб ДНК клеточных популяций костного мозга, крови, тимуса и селезенки были проанализированы методом проточной цитофлуориметрии на Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, USA). Клеточные суспензии костного мозга, крови, тимуса и селезенки пропускали через капроновые фильтры. Пробирки центрифугировали в течение 5 мин при 1000 об/мин. Надосадочную жидкость отбирали до объема 1 мл в пробирке, после ресуспензирования осадка для пробы отбирали 200 мкл суспензии клеток, к которой добавляли 1 мл лизирующего раствора (Simultest IMK Plus<sup>TM</sup>, USA). Клетки подвергались лизису в течение 10 мин. После центрифугирования в течение 5 мин при 1500 об/мин удаляли надосадочную жидкость, осадок ресуспензировали в фосфатном буфере. Пробы отмывали трижды, фиксировали 70%-ным этанолом и хранили при температуре –20 °С. Перед анализом на приборе пробы ДНК отмывали от фиксатора фосфатным буфером, осадок ресуспензировали, добавляли 10 мкл РНКазы (10 мг/мл) и 200 мкл красителя этидиум бромид (50 мкг/мл). Пробы инкубировали в течение 30–40 мин

в темном месте и затем анализировали на проточном цитофлуориметре.

Клетки костного мозга, крови, тимуса и селезенки дифференцировали по количеству ДНК – диплоидные (2n2c), тетраплоидные (2n4c) и гиподиплоидные (апоптотические) (менее 2n2c). Уровень генетического апоптоза оценивали по частоте апоптотических клеток.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистики Microsoft Excel 2003Pro. Для определения достоверности изменений использовали t-критерий Стьюдента (с учетом дисперсии). Статистически значимыми считали различия при значении  $p < 0,05$ .

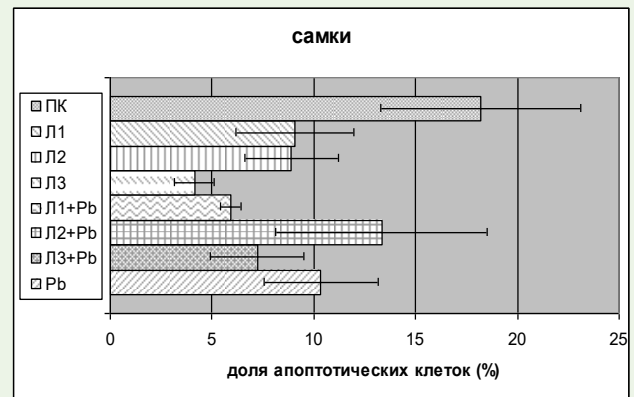
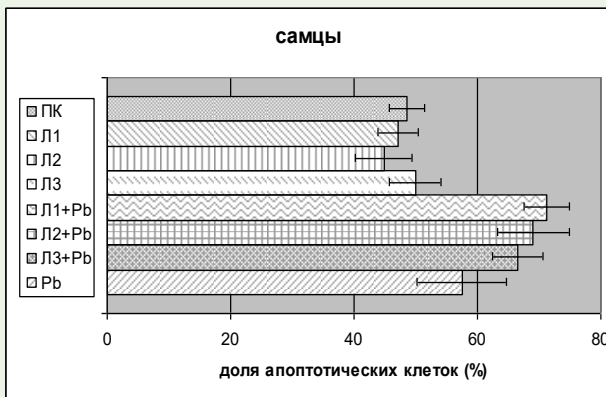
### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение морфометрических показателей (масса тела, абсолютная и относительная масса) тимуса после введения жирорастворимой субстанции ликопина, а также  $\beta$ -каротина в различных композициях с ликопином на фоне введения свинца показало, что масса тела и относительная масса тимуса у животных всех опытных групп достоверно не отличались от кон-

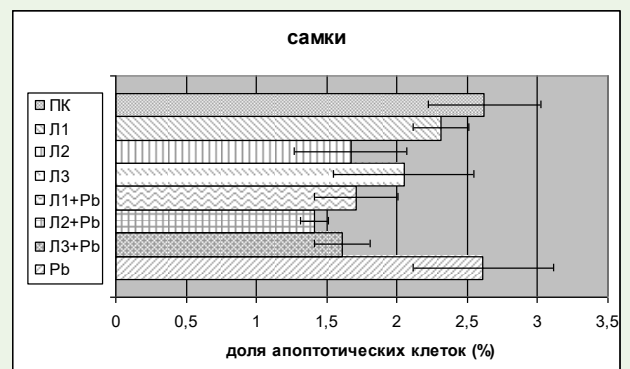
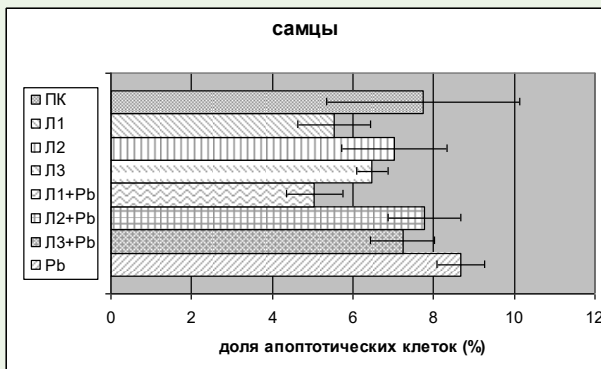
трольного уровня. Обнаружено изменение относительной массы селезенки. У самцов при введении ликопина в дозах 1 и 5 мг/кг этот показатель увеличивается, а при введении ликопина в дозе 2 мг/кг относительная масса селезенки значительно снижается у самок крыс и не изменяется у самцов по сравнению с контрольной группой.

Противоположный эффект наблюдается в условиях воздействия ликопина на фоне экспозиции нитрата свинца. В частности, относительная масса селезенки увеличивается при сочетанном введении свинца и ликопина в дозе 2 мг/кг и снижается при сочетанном введении нитрата свинца и ликопина в дозах 1 и 5 мг/кг как у самок, так и у самцов.

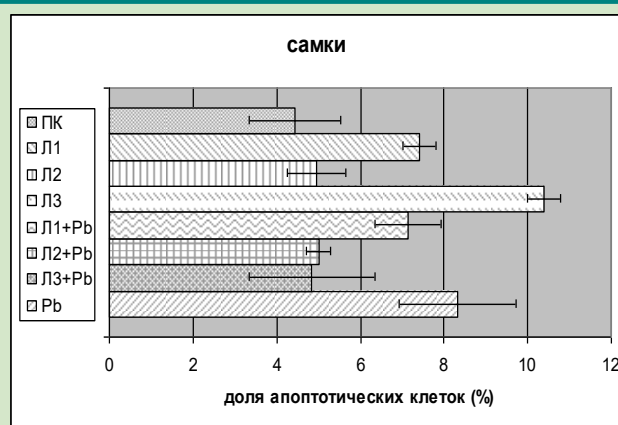
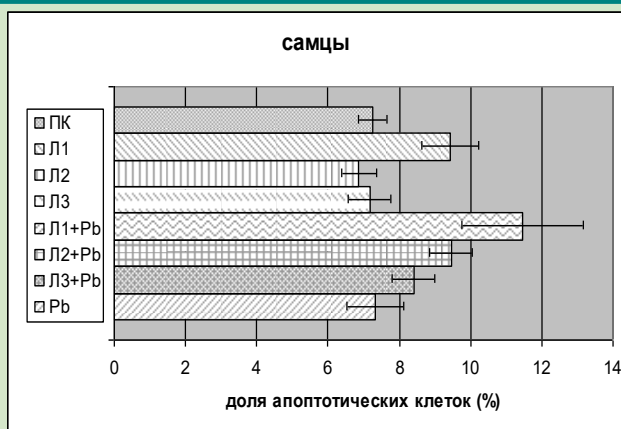
Анализ клеточной гибели по механизму апоптоза выявил разнонаправленные эффекты в костном мозге, крови, тимусе и селезенке животных после введения ликопина и  $\beta$ -каротина на фоне воздействия нитрата свинца (рисунок 1). В крови животных после введения ликопина в разных дозах наблюдается снижение доли апоптотических клеток по сравнению с контролем.



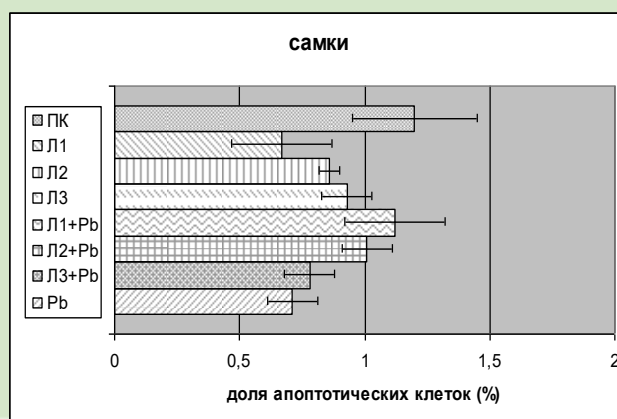
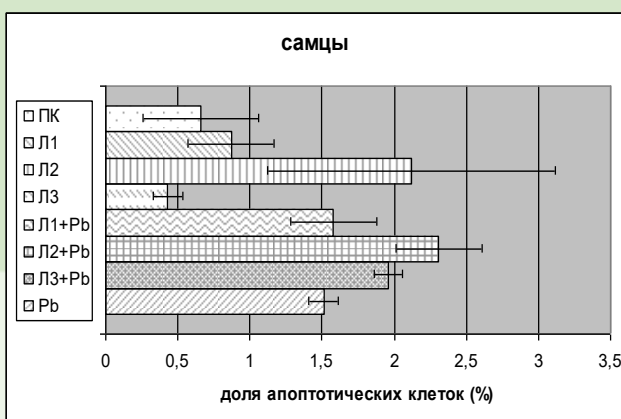
а



б



В



Г

ПК – контроль (кукурузное масло); Л1 – 1 мг/кг ликопина;  
Л2 – 2 мг/кг ликопина; Л3 – 5 мг/кг ликопина; Pb – 80 мг/кг нитрата свинца

**Рисунок 1 – Доля апоптотических клеток в клетках крови (а), костного мозга (б), селезенки (в) и тимуса (г) крыс, получавших различные концентрации ликопина на фоне введения нитрата свинца**

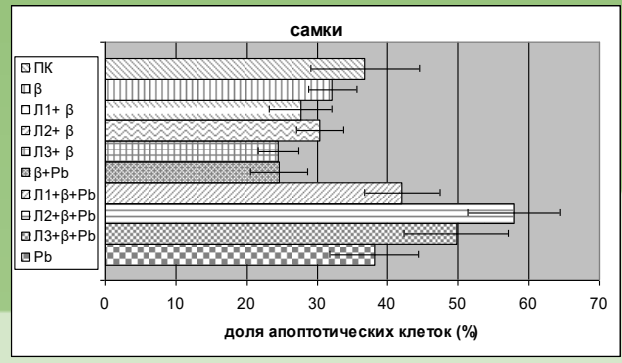
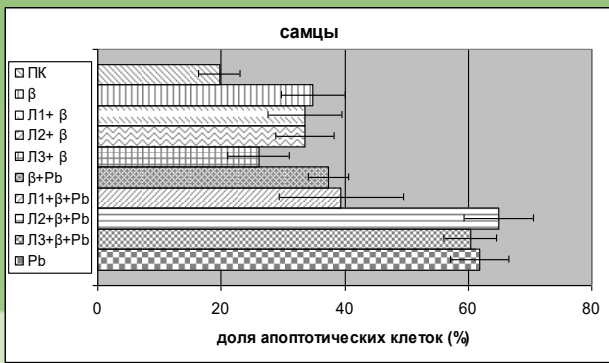
В костном мозге крыс после введения ликопина в дозах 1–5 мг/кг отмечено снижение гибели клеток как у самок, так и у самцов. В тимусе самцов крыс после введения ликопина в дозе 1 и 2 мг/кг наблюдается достоверное увеличение (на 231 %) апоптотических клеток, в то время как в тимусе самок их доля снижается по сравнению с контрольными животными.

В условиях введения ликопина животным обоего пола в селезенке самок и самцов наблюдается увеличение доли апоптотических клеток при дозах ликопина 1 мг/кг веса (на 29 % и 67 % соответственно) и при дозе ликопина 5 мг/кг – у самок

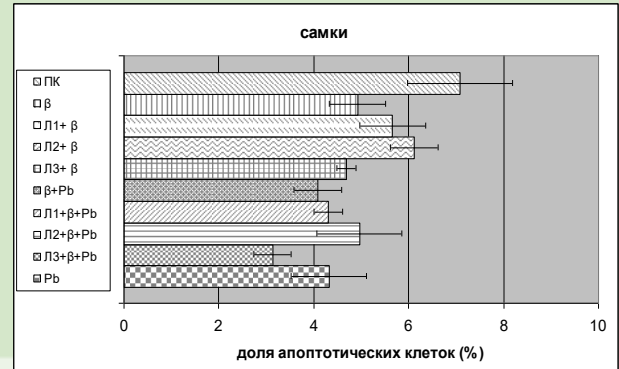
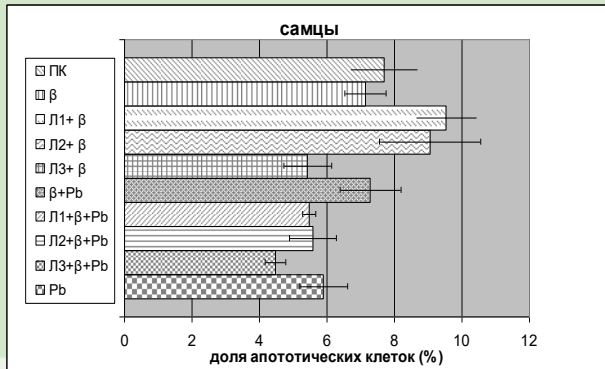
(на 135 %), а при введении ликопина в дозе 2 мг/кг наблюдается незначительное снижение гибели клеток по отношению к контролю.

Выявлены цитопротекторные свойства ликопина на фоне введения животным нитрата свинца, которые проявляются в снижении доли апоптотических клеток в костном мозге, крови, тимусе и селезенке крыс обоего пола.

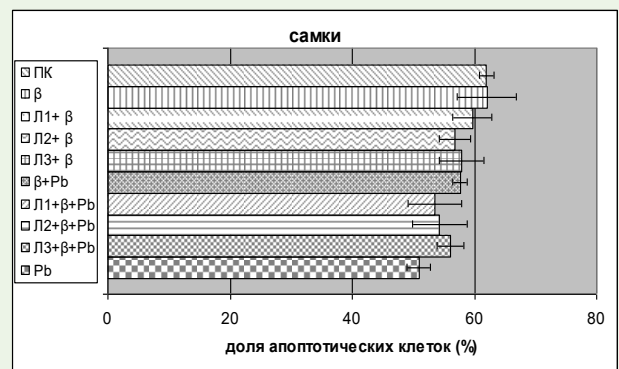
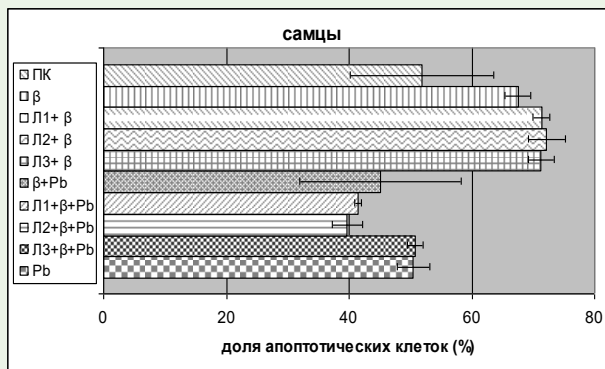
В условиях воздействия  $\beta$ -каротина доля апоптотических клеток снижается в костном мозге самок, а в крови, тимусе и селезенке не превышает контрольный уровень (рисунок 2).



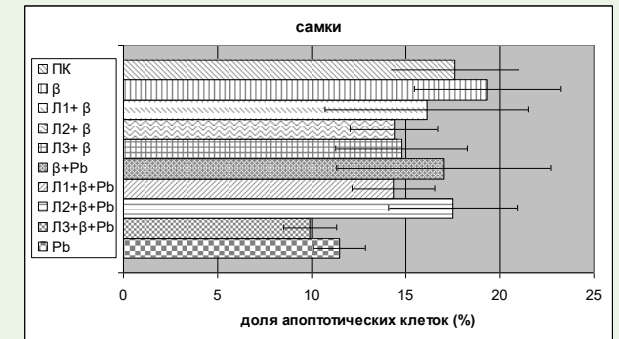
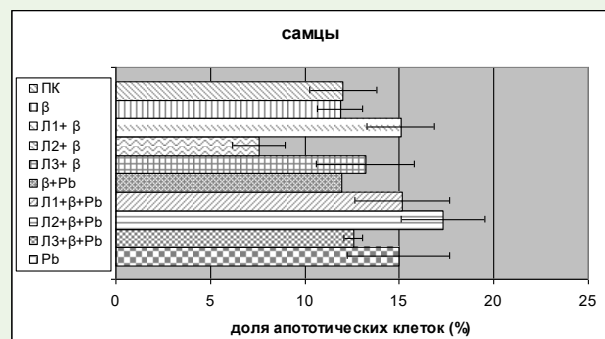
**а**



**б**



**в**



**г**

ПК – позитивный контроль (кукурузное масло); Л1 – 1 мг/кг ликопина; Л2 – 2 мг/кг ликопина; Л3 – 5 мг/кг ликопина; β – каротин 15 мг/кг; Pb – 80 мг/кг нитрата свинца

**Рисунок 2 – Доля апоптотических клеток в клетках крови (а), костного мозга (б), селезенки (в) и тимуса (г) крыс, получавших различные дозы ликопина и β-каротина на фоне введения нитрата свинца**



При сочетанном введении ликопина и  $\beta$ -каротина доля апоптотических клеток существенно снижается при дозе ликопина 5 мг/кг в костном мозге самцов и самок крыс и в тимусе самцов – при дозе ликопина 2 мг/кг по сравнению с контролем. Кроме того, цитопротекторный эффект проявляется во всех изученных клеточных популяциях при суммировании эффектов в условиях раздельного действия ликопина и  $\beta$ -каротина.

В условиях поступления в организм нитрата свинца при сочетанном действии ликопина (доза 5 мг/кг) и  $\beta$ -каротина доля апоптотических клеток резко снижается в костном мозге, тимусе и увеличивается в крови по сравнению с животными, которым вводили цитрат свинца.

Следовательно,  $\beta$ -каротин усиливает цитопротекторное действие ликопина.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ликопин оказывает более выраженное цитопротекторное действие по сравнению с  $\beta$ -каротином, а при сочетанном их действии наблюдается кумулятивный эффект. Цитопротекторные свойства ликопина проявляются в клеточных популяциях различной функциональной специализации (костный мозг, кровь, тимус, селезенка) также при экспозиции нитратом свинца и выражаются в снижении уровня гибели клеток по механизму апоптоза. Практическая значимость полученных результатов заключается в том, что ликопин и  $\beta$ -каротин могут быть включены в качестве цитопротекторов не только в состав лекарственных препаратов «двойного действия» лечебно-профилактической направленности с целью фармакологической защиты генома соматических клеток, но и в рацион сельскохозяйственных животных, особенно новорожденных телят в постнатальный период.

## СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Зигель, Х. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов / Х. Зигель, А. Зигель. – М.: Мир, 1993. – 368 с.
2. Беклишев, И. Б. Действие ионов свинца на некоторые свойства эритроцитов / И. Б. Беклишев, И. В. Стеценко. – Алма-Ата: Библиогр. ин-т физиологии, 1980. – С. 11–19.
3. Николаевич, Л. Н. Апоптоз: биологические и медицинские аспекты / Л. Н. Николаевич, Е. П. Демидчик // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2004. – № 2. – С. 99–110.
4. Биологические свойства каротиноидов и их применение в рационе питания сельскохозяйственных животных (обзор) / Л. Н. Николаевич [и др.] // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. – 2023. – № 1. – С. 53–59.

# ТРИКЛАМИЗОЛ

## противопаразитарный препарат

**СОДЕРЖИТ**  
триклабендазол,  
албендазол,  
левамизола  
гидрохлорид,  
лактозу

**ПРИМЕНЯЮТ**  
при ассоциативных  
гельминтозах крупного  
рогатого скота и  
диких парнокопытных  
животных групповым  
способом с кормом или  
подкормкой однократно

[WWW.BIEVM.BY](http://WWW.BIEVM.BY)