

УДК 591.133.16:[577.161.1+577.161.3]

**ВЗАИМОСВЯЗЬ  $\alpha$ -ТОКОФЕРИЛХИНОНА И УБИХИНОНА  
В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ С ДЕФИЦИТОМ ВИТАМИНА А  
В РАЦИОНЕ**

**В. И. Дудин<sup>1</sup>, А. С. Ушаков<sup>1</sup>, С. В. Грищук<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – ГНУ «ВНИИ физиологии, биохимии и питания  
сельскохозяйственных животных»

г. Боровск, РФ

(Россия, Калужская область, 249013, г. Боровск, пос. институт

e-mail: bifip@kaluga.ru)

<sup>2</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28

e-mail: ggau@ggau.by)

*Ключевые слова:*  $\alpha$ -токоферилхинон, убихинон, дефицит витамина А, печень животных.

*Аннотация.* Обнаружена обратная зависимость между длиной срединного среза правой медиальной доли печени и концентрацией  $\alpha$ -токоферилхинона в этих срезах, а также обратная корреляционная зависимость между временем бодрствования после ночного сна и коэффициентами корреляции между ними у боровсков и у свинок.

**INTERRELATION OF  $\alpha$ -TOKOFERILKHXINONA I UBIKHINONA  
IN THE LIVER OF ANIMALS WITH DEFICIENCY  
OF VITAMIN A IN THE DIET**

**V. I. Dudin<sup>1</sup>, A. S. Ushakov<sup>1</sup>, S. V. Grishchuk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – GNUS of all-union scientific research institute of physiology

biochemistry and delivery of farm animals. Borovsk, Russian Federation

(Russia, Kaluga region, 249013, Borovsk, settlement institute

e-mail: bifip@kaluga.ru)

<sup>2</sup> – UO «Grodno State Agricultural University»

Grodno, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 230008, Grodno, Tereshkova St., 28

e-mail: ggau@ggau.by)

**Key words:** *α-tokoferilkhinon, ubikhinon, deficiency of vitamin A, liver of animals.*

**Summary.** *Inverse relation between length of a median cut of the right medial share of a liver and concentration of a α-tokoferilkhinon in these cuts, and also inverse correlative relation between wakefulness time after a night dream and coefficients of correlation between them is found in borovk and in epidemic parotitis.*

*(Поступила в редакцию 15.06.2016 г.)*

**Введение.** Относительные уровни витамина А в питании человеческих популяций, когда клинические признаки и симптомы дефицита или токсичности отсутствуют, представляет методические трудности. Часто используемые показатели включают диетическое потребление витамина А, уровень сыворотки и адаптацию к темноте, все они имеют ограничения по точности, особенно, когда применяются к маленьким детям. Новые и разрабатываемые неклинические показатели включают относительный ответ или его модификацию, а также конъюнктивальную импрессионную цитологию и изотопное разведение для определения общих резервов тела. Эти методы, все из которых являются перспективными, требуют дополнительной работы с целью проверки их чувствительности, специфичности и прогностической перспективы в качестве индикаторов относительных состояний истощения витамина А для индивидуумов и популяций в условиях различного сильно варьирующего А-витаминного питания. В настоящее время наиболее надежная оценка А-витаминного питания обеспечивается, когда используется комбинация методов [1].

Классификация ксерофтальмии традиционно используется для выявления групп населения с дефицитом витамина А. В настоящее время куриная слепота и темновая адаптометрия предложены в качестве методов оценки А-витаминной обеспеченности населения, хотя глазные характеристики и функциональные испытания до сих пор используются в районах, где дефицит витамина А протекает в тяжелой форме. В этом случае субклинический дефицит витамина А протекает чаще. Концентрация ретинола в сыворотке, грудном молоке до сих пор используется для изучения риска дефицита витамина А. Тем не менее у здоровых лиц концентрация ретинола в сыворотке гомеостатически контролируется и не снижается до тех пор, пока запасы ретинола в печени не станут опасно низкими. Кроме того, в сыворотке крови концентрация ретинола и ретинолсвязывающего белка резко снижаются во время инфекции. Соотношение ретинолсвязывающего белка и трансретинола может помочь определить, что в сыворотке крови концентрация ретинола подавлена инфекцией [2].

34 бессимптомных ребенка в возрасте 5-35 мес были обследованы в целях сравнения техники конъюнктивальных цитологических отпечат-

ков с тестом относительного ответа дозы при определении субклинического дефицита витамина А. Из 34 детей 26 (76,5%) имели от умеренного до заметно недостаточного энергопротеинового питания. Только 3 ребенка (9%) имели ненормальные конъюнктивальные цитологические отпечатки, в то время как 23 (68%) имели ненормальный относительный ответ дозы. Таким образом, этот тест не может считаться действительным показателем субклинической недостаточности витамина А в этой группе населения [3]. Добавки витамина А вводят детям развивающихся стран при контактах в момент иммунизации. В этом случае рекомендуется доза витамина А 50 000 МЕ. Дозы 100 000 МЕ рекомендуется для детей в возрасте 0,5-1 год. Эффективность этих доз не была должным образом проверена.

Поросята являются хорошей моделью для детей, т. к. имеют ту же живую массу, похожую желудочно-кишечную анатомию и потребность в витамине А. Кастрированные поросята мужского пола от свиноматок, получавших диету, истощенную по витамину А, в течение 1 (соотношение А) или 3 (соотношение В) беременностей и лактационных циклов были определены наугад для получения 1-й или 4-кратной дозы витамина А (МЕ: 25000, 50000 или 100000), при отъеме в 9-14 сут. Обедненную витамином А диету скармливали поросьятам перед убоем в течение 10 сут. Сывороточную концентрацию ретинола определяли на 1,2,4,7. и 10 сут жизни поросят. При обоих соотношениях доза в 25000 МЕ не приводит к изменению резервов ретинола  $> 0,07$  мкм/г печени. Модель на поросятах подтверждает, что добавление инфантам моложе, чем 6 мес. доза ретинола в 50000 МЕ дает более высокую эффективность по уменьшению дефицита по сравнению с дозой в 25000 МЕ [4].

Известно, что дефицит витамина А у животных ведет к увеличению количества убихинона, возможно, как следствие его повышенного синтеза в организме [5].

**Цель работы:** рассмотреть коррелятивную взаимосвязь ряда родственных соединений в разных точках срединной части правых медиальных долей печени свинок и боровков с гиповитаминозом А, а также явление гиперреакции у цыплят при различной Е-витаминной обеспеченности.

**Материал и методика исследований.** Опыт по изучению связи между распределением ряда веществ в ткани печени А-гиповитаминозных свиней и временем бодрствования после ночного сна, проводили на 6 подсвинках (3 свинки+3 боровка) в возрасте 5 мес и живой массой 58-60 кг. Животные с 30-суточного возраста потребляли кормосмесь без специальных добавок ретинола (витамин А). В течение последних двух недель в корм добавляли D,L- $\alpha$ -токоферолацетат (250 мг/кг). Убой проводили по одной свинке и одному боровку в 7

(сразу после ночного сна), 9 и 11 ч утра в течение 3-х смежных дней. При убое печень быстро вынимали и готовили продольный срез правой медиальной части толщиной 1,5 см. Образцы для анализа отбирали в 16 точках каждого среза печени (рисунок 1).

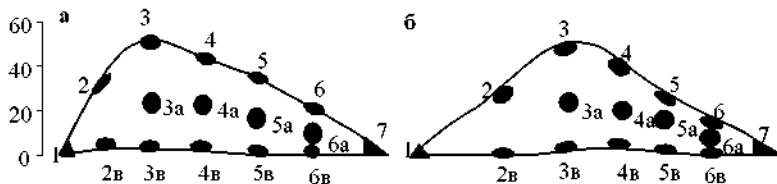


Рисунок 1 – Профиль срединных продольных срезов левой (а) и правой (а, б) медиальных долей печени свиней и места взятия проб для анализа (толщина, мм)

В экспериментах с определением убихинона и убихинола их идентификацию проводили путем снятия УФ-спектров (рисунок 2). При этом получили неоднозначные результаты при изучении взаимосвязи между убихиноном и убихинолом в различных точках срединного продольного среза правой медиальной доли печени в связи со временем бодрствования.

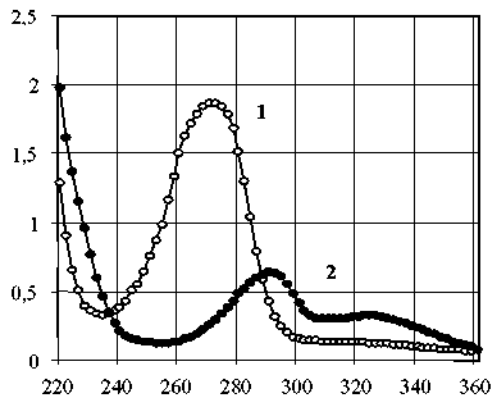


Рисунок 2 – УФ-спектры убихинона (1) и убихинола(2) в остановленном потоке элюента (у – абсорбция, х – длина волны, нм)

Определение веществ выполняли с помощью отечественного высокоэффективного жидкостного хроматографа «Милихром», с УФ-детектором:  $\alpha$ -токоферол – 294 нм,  $\alpha$ -токоферилацетат – 284 нм, убихинон – 270 нм, убихинол – 290 нм,  $\alpha$ -токоферилхинон – 268 нм, ретинол и ретинилпальмитат – 324 нм [6].

**Результаты исследований и их обсуждение.** История открытия витамина Е изложена одним из его авторов, профессором Гербертом Ивенсом (Herbert M. Evans) в 1962 г., на симпозиуме в его честь [7]. К началу 20-х гг. науке уже были известны несколько витаминов. Их добавление к полдосуцишенным рационам приводило к удовлетворительным результатам, однако иногда животные страдали нарушениями функции размножения. Вскоре после обнаружения этого факта в 1922 г. Ивенс и Бишоп (Bishop K.S.) опубликовали ряд работ, в которых продемонстрировали существование жирорастворимого фактора, присутствующего в зародышах пшеницы, салате латук и в травяной муке из люцерны.

После практически 100-летней истории изучения вряд ли можно сомневаться, что витамин Е, как таковой, в основной части своей функции проявляет антиоксидантные свойства в масштабах, важных для организма и достаточно заметных для исследователей. Нам удалось убедиться, что витамин Е осуществляет свою функцию, возможно, за счет превращения в  $\alpha$ -токоферилхинон. В опыте на цыплятах с дефицитом витамина Е в рационе мы обнаружили (рисунок 3), что отсутствие витамина Е ведет к нарушению закономерностей роста.

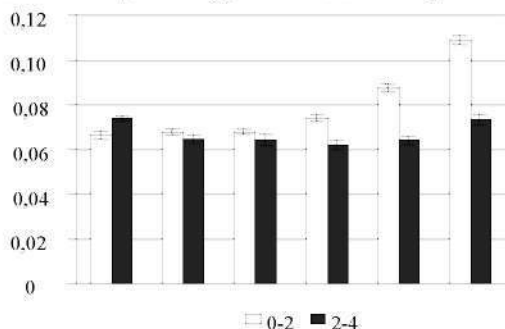


Рисунок 3 – Относительная скорость роста цыплят в периоды 0-2 и 2-4 – недельного возраста в связи с дефицитом витамина Е и добавками в рацион его препарата или синтетического антиоксиданта этоксилина

$[y - K = \ln W_2 - \ln W_1 / t_2 - t_1, (8);$  слева направо: 1 – ОП, 2 – ОП + 150 мг этоксилина, 3 – ОП + 10 мг D,L- $\alpha$ -токоферилацетата на 1 кг корма, 4 – ОП + 50 мг D,L- $\alpha$ -токоферилацетата на 1 кг корма, 5 – ОП + 150 мг D,L- $\alpha$ -токоферилацетата на 1 кг корма, 6 – коммерческий рацион]

Нарушения закономерностей роста характеризуются усилением его относительной скорости в период от 2-х до 4-недельного возраста, возможно, как следствие гиперреакции на базе кратковременной задержки роста, возникающей в результате дефицита витамина Е в период до

2-недельного возраста. При этом нормализация процессов роста зависит от добавок препарата витамина Е, но не синтетического антиоксидлителя, что хорошо объясняется степенью удовлетворения потребности в витамине Е до 2-недельного возраста цыплят, более высокой, чем в последующий период. Эти материалы не позволяют заключить, насколько близко витамин Е стоит к механизмам гиперреакции или к поддержанию кривой роста в норме, но то, что он обладает специфической жизненно важной функцией, эти сведения однозначно подтверждают.

Известно, что  $\alpha$ -токоферилхинон является антиоксидантом гораздо более мощным, чем  $\alpha$ -токоферол [9]. Препарат находит применение в терапевтической практике при лечении атаксии Фридриха [10].  $\alpha$ -токоферол после его превращения в  $\alpha$ -токоферилхинон в дыхательной цепи восстанавливается в  $\alpha$ -токоферилхинол, являющийся еще более мощным антиоксидантом. Первую прикидку в направлении выяснения, чем определяется интенсивность окисления  $\alpha$ -токоферола в  $\alpha$ -токоферилхинон в том или ином участке печени мы сделали при анализе взаимосвязи между средней концентрацией  $\alpha$ -токоферилхинона в срезе органа и длиной среза, как одной из характеристик роста этого органа (рисунок 4). Обнаруженная обратная зависимость может быть рассмотрена в качестве одной из предпосылок для дальнейшего рассмотрения  $\alpha$ -токоферилхинона, как регулятора роста животных тканей.

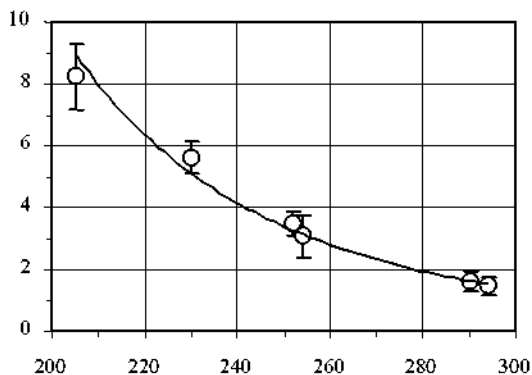


Рисунок 4 – Коррелятивная взаимосвязь между длиной среза (x) правой медиальной доли печени и средними концентрациями  $\alpha$ -токоферилхинона (y) в этом срезе у свинок и боровков в течение 3-х недель получавших D,L- $\alpha$ -токоферилацетат в количестве 250 мг на 1 кг корма (n=16)

Как показали наши исследования (таблица), между боровками и свинками существует большая разница в общем фоне  $\alpha$ -токоферола в

печени в пользу свинок, однако, боровки, возможно в связи с относительно низкой концентрацией, предоставили для анализа гораздо более интересную картину внутривисцерального распределения  $\alpha$ -токоферола. Вероятно, что форма среза имеет циркодианные колебания, но особенных различий в метаболизме витамина Е или витамина А мы не обнаружили. Обнаруженные различия между половыми группами могли быть обусловлены гормональным дисбалансом в эндокринной иерархии в связи с кастрацией. Может быть, в данном случае это не касается регуляции липидного обмена, т. к. в отличие от хряков, свинок и боровки склонны к большому ожирению.

Таблица – Концентрация  $\alpha$ -токоферола, свободного  $\alpha$ -токоферилхинона, свободного и эстерифицированного ретинола, окисленного убихинона продольного среза правой медиальной доли печени свинок и боровков (диафрагмальная сторона), в течение 3-х недель получавших D,L- $\alpha$ -токоферилацетат в количестве 250 мг на 1 кг корма в условиях А-гиповитаминоза ( мкг/г сырого образца  $\pm$ SEM).

Точки отбора проб	Свинки	Боровки
1	2	3
<b><math>\alpha</math>-токоферол</b>		
1	89,55 $\pm$ 6,73	18,14 $\pm$ 3,50
2	95,43 $\pm$ 10,7	24,81 $\pm$ 3,46
3	100,96 $\pm$ 19,75	15,38 $\pm$ 3,99
4	109,20 $\pm$ 22,45	18,62 $\pm$ 6,03
5	101,70 $\pm$ 24,46	18,06 $\pm$ 0,84
6	108,43 $\pm$ 20,57	23,34 $\pm$ 1,13
7	121,97 $\pm$ 16,55	28,50 $\pm$ 0,22
<b><math>\alpha</math>-токоферилхинон</b>		
1	8,14 $\pm$ 1,71	4,88 $\pm$ 1,44
2	3,15 $\pm$ 0,56	2,35 $\pm$ 1,05
3	3,30 $\pm$ 0,23	5,78 $\pm$ 4,04
4	2,66 $\pm$ 0,45	5,45 $\pm$ 4,36
5	4,56 $\pm$ 1,23	4,83 $\pm$ 2,17
6	3,25 $\pm$ 6,70	4,03 $\pm$ 2,58
7	3,94 $\pm$ 1,05	1,79 $\pm$ 0,29
<b>Убихинон</b>		
1	34,44 $\pm$ 2,57	35,3 $\pm$ 0,76
2	29,80 $\pm$ 3,22	31,79 $\pm$ 5,39
3	29,71 $\pm$ 1,08	30,59 $\pm$ 3,92
4	25,79 $\pm$ 2,81	31,34 $\pm$ 6,06
5	29,31 $\pm$ 1,60	35,92 $\pm$ 4,14
6	29,04 $\pm$ 3,13	31,61 $\pm$ 3,98
7	27,76 $\pm$ 3,07	31,47 $\pm$ 4,4

Продолжение таблицы

1	2	3
<b>Ретинол свободный</b>		
1	1,42±0,44	1,53±0,39
2	1,37±0,22	1,88±0,16
3	1,26±0,27	1,81±0,10
4	1,39±0,41	2,08±0,33
5	1,40±0,13	1,80±0,19
6	1,47±0,29	1,90±0,22
7	2,18±0,51	2,03±0,12
<b>Ретинол эстерифицированный</b>		
1	10,0±0,74	11,82±1,15
2	9,43±0,71	10,06±0,39
3	9,36±0,45	10,6±0,46
4	10,28±1,03	11,48±0,78
5	9,17±1,69	10,66±0,98
6	8,68±1,41	9,33±0,95
7	8,59±0,97	10,83±1,50

Можно предположить также, что гормональные изменения при кастрации специфично задевают функцию витамина Е, но при этом не следует без внимания оставлять состояние А гиповитаминоза у подопытных свиней. Проведенные исследования не дают основания считать, что витамин А в печени количественно связан с метаболизмом  $\alpha$ -токоферилхинона. Его уровень в этом органе указывает на состояние умеренного А-гиповитаминоза у подопытных свиней без особенных различий между боровками и свинками. Из этого вытекает, что витамин А может рассматриваться как агент, в больших дозах способный влиять на обмен витамина Е, либо такое действие происходит за пределами концентрации ретинола и его эфиров в рамках физиолого-биохимических последствий А-гиповитаминоза. У свинок концентрация  $\alpha$ -токоферола в срезе печени в проксимо-дистальном направлении претерпевала практически одинаковые изменения, увеличиваясь независимо от того, диафрагмальная или абдоминальная сторона среза подвергалась анализу. У боровков изменения концентрации  $\alpha$ -токоферола в проксимо-дистальном направлении носят резко выраженный характер. Логично допустить, что изначально доставка  $\alpha$ -токоферола в любой участок печени количественно приблизительно одна и та же, и все зависит от интенсивности его метаболизации, которая может быть неодинаковой, находясь в зависимости от биохимической ситуации.

Снижение фонда  $\alpha$ -токоферола в том или ином участке печени могло происходить за счет окисления в  $\alpha$ -токоферилхинон. Судя по нашим данным, изменения концентрации свободного  $\alpha$ -токоферилхинона в проксимодистальном направлении были гораздо более кон-



трастными, чем соответствующие изменения концентрации  $\alpha$ -токоферилахинола. В целом нарушение прямой связи между концентрациями  $\alpha$ -токоферилахинона и убихинона вполне могло быть следствием проявления А-гиповитаминоза. В связи с этим можно предположить, что сопряжение концентраций  $\alpha$ -токоферилахинона и убихинона в печени зависит от поступления кислорода в организм животных (рисунок 5).

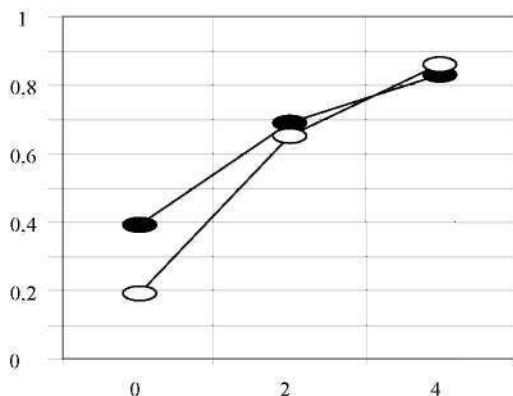


Рисунок 5 – Коррелятивная зависимость между концентрациями  $\alpha$ -токоферилахинона и убихинона в продольном срезе правой медиальной доле печени свинок (черный маркер) и боровков (бесцветный маркер) в зависимости от времени бодрствования после ночного сна (x) (n=16)

Здесь мы также наблюдали переход от прямой зависимости к обратной в отношении пары убихинон и убихинол (рисунок 6). Можно было бы предположить, что и в отношении  $\alpha$ -токоферилахинона существует окислительно-восстановительная пара, однако  $\alpha$ -токоферилахинол чрезвычайно быстро реагирует на содержание кислорода, в связи с чем можно предположить, что сопряжение концентраций  $\alpha$ -токоферилахинона и убихинона в печени регулируется поступлением кислорода в организм животных, и в организме эти вещества регулируются одним и тем же способом, т. е. через дыхательную цепь.

$\alpha$ -Токоферилахинон выводится из организма и его концентрация в тканях не столь стабильна, как у убихинона, что подтверждает участие  $\alpha$ -токоферилахинона в регуляторных процессах.

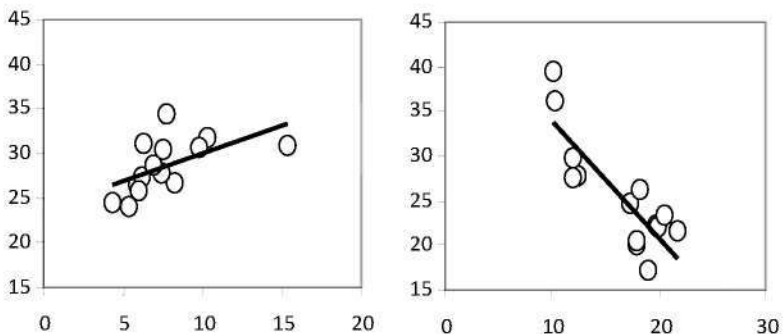


Рисунок 6 – Взаимосвязь между концентрациями в разных точках продольного среза правой медиальной доли печени (мкг/г) между убихиноном (y) и убихинолом (x) у свиньи, убитой через 2 ч (слева) или через 4 ч (справа) после ночного сна

Из литературы известно, что  $\alpha$ -токоферилхинон и  $\alpha$ -токоферол как антиоксиданты блокируют перекисное окисление без влияния на стимуляцию синтеза простаноидов 12-тетрадеcanoилфлорбол-13-ацетатом. При этом снижение численности клеток было гораздо более высоким (72%) в линии фибробластов человека, по сравнению с линией гладких мышц морских свинок (30%) в линии из фибробластов человека [11].

**Заключение.** Таким образом, исследования показали, что для витамина E на базе анализа явления гиперреакции (усиление роста после кратковременной его задержки) обнаружено существование специфической биологической функции витамина E. Помимо этого установлена взаимосвязь между витамином E и его ростовыми эффектами. Обнаружена обратная зависимость между длиной срединного среза правой медиальной доли печени и концентрацией  $\alpha$ -токоферилхинона в этих срезах. Показана также обратная корреляционная зависимость между временем бодрствования после ночного сна и коэффициентами корреляции между ними у боровков и у свинок. Интерес представляет также коррелятивная связь между убихинолом (x) и убихиноном (y) в правой медиальной доле печени у свиньи, убитой через 2 ч (прямая) и через 4 ч (обратная зависимость) после ночного сна. Перестройка одного типа в другой происходит в течение 2 ч. Все эти результаты получены на фоне А-гиповитаминоза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Underwood, B. A. Dose-response tests in field surveys / B. A. Underwood // J. Nutrit. - 1990. - Vol. 120, Suppl. 11 - P. 1455-1458.
2. Tanumihardjo, S. A. Assessing vitamin status: past, present and future / S. A. Tanumihardjo // J. Nutrit. - 2004. - Vol. 134. - P. 290-293.

3. Abdel, R. Risk of hepatitis E virus infections among some schistosomiasis patients in Egypt / R. Abdel, M. A Massound, M. A. Kamel // *J. Egypt. Soc. Parasitol.* - 1995. - Vol. 25, N. 1. - P. 115-23.
4. Surles, R. L. One-time graded doses of vitamin A to weanling piglets enhance hepatic retinol but do not always prevent vitamin A deficiency/ R. L. Surles, A. R. Mills Valentine, S. A. Tanumihardjo // *Am. J. Clin. Nutr.* - 2007. - Vol. 86, N. 4. - P. 1043-53.
5. Edwin, E. E. The effect of vitamin A on ubiquinone and ubiquinone in the rat and its relation the effective vitamin E / E. E. Edwin, J. Bunjan, J. Green // *The British Journal of Nutrition.* - 1962. - Vol. 16, N. 1. - P. 135-149.
6. Дудин, В. И. Биохимия витамина Е и связанных с ним биологически активных веществ / В. И. Дудин. - М.: Изд. РАСХН, 2004. - 255 с.
7. Evans, H. M. The Pioneer History of Vitamin E. *Vitamins and Applications* / H. M. Evans // *Symposiums on Vitamin E and Metabolism in Honour.* - London. - 1962. - Vol. 20. - P. 397-387.
9. Hawi, A. Use of an adaptive study design in single ascending-dose pharmacokinetics of A0001( $\alpha$ -tocopherylquinone) in healthy male subjects / A. Hawi, S. Heald, T. Sciascia // *J. Clin. Pharmacol.* - 2012. - Vol. 52, N. 1. - P. 65-67.
10. Linch, D.R. A0001 in Friedreich ataxia: biochemical characterization and effects in a clinical trial / D.R. Linch, S.M. Willi, R.B. Wilson // *Moy Disord.* - 2012. - Vol. 27, N. 8. - P. 1026-33.
11. Morisaki, N. Role of prostanoids and lipid peroxides as mediators of the 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate effect on cell growth / N. Morisaki, I. D. Tomei, G. E. Milo // *Lipids.* - 1985. - Vol. 20, N. 9. - P. 602-10.