

УДК 57.081.23

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ЙОД-ПОЛИФРУКТОЗАНА МЕТОДОМ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Даниленко А.Л., аспирант*,

Козлов В.Н., д.б.н.,

Максютов Р.Р., к.т.н.

Бакирский институт технологий и управления (филиал) ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления» в г. Мелеузе Республика Башкортостан

Тел. (34764) 3-07-72

Аннотация – в статье представлены материалы по изучению антиокислительных свойств йодсодержащей биологически активной добавки на основе полифруктозана. Методом хемилюминесцентного анализа установлено, что исследуемый комплекс проявляет антиоксидантные свойства в модельных тест-системах.

Ключевые слова - хемилюминесценция, свободнорадикальное окисление, активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, йод-полифруктозан.

Постановка проблемы. Свободнорадикальные реакции играют важную роль в течении физиологических процессов в клетках и развитии заболеваний. Нарушение гомеостатического соотношения процессов образования реактивных форм кислорода и активности антиоксидантных систем биохимической адаптации (ферментативной и неферментативной) приводит к оксидативному стрессу. Нарушения функционального состояния щитовидной железы сопровождаются патофизиологическими сдвигами в системе окислительного гомеостаза [1]. Окислительный стресс с накоплением в тканях и жидкостях активных форм кислорода (АФК) и вторичных продуктов окислительной модификации макромолекул обнаружен более чем при 100 болезнях, в том числе и при гипотиреозе [2]. В результате клинических и экспериментальных исследований накоплены обширные данные, свидетельствующие об активации процессов свободнорадикального окисления (СРО) как при гипо-, так и при гипертиреозе. В ряде исследований показано, что избыточная генерация АФК при гипотиреозе является важнейшим патогенетическим звеном в развитии зубных трансформаций.

©Даниленко А.Л., Козлов В.Н., Максютов Р.Р.

* Научный руководитель – д.б.н. Козлов В.Н.

Дефицит тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) при гипотиреозе может служить одним из факторов инициации неконтролируемых процессов СРО, что, в свою очередь, отягощает течение тиреоидной патологии. Следовательно, при реализации заместительной терапии йодсодержащими биологически активными добавками предпочтение следует отдавать органоминеральным комплексам, где прооксидантные свойства неорганических анионов йода (J) нивелируются антиоксидантами из группы биополисахаридов. Биоантиоксидантами называют вещества, которые тормозят процессы образования АФК в простых модельных системах, имитирующих наиболее распространенные реакции свободнорадикального окисления, сохраняющие эту способность при введении их в организм. Перспективным методом определения скорости свободнорадикального окисления является регистрация хемилюминесценции (ХЛ) – свечения, возникающего при взаимодействии свободных радикалов.

Анализ последних исследований. В данной работе была проведена оценка влияния биологически активной добавки (БАД) йодполифруктозана на процессы образования активных форм кислорода и свободнорадикального перекисного окисления липидов *in vitro*. БАД представляет собой соединение неорганической формы йода, в частности, калия йодида с органической матрицей – инулином [положительное решение о выдаче патента по заявке на изобретение за № 2011147656/13 от 23.11.2011]. Инулин – полифруктозан, состоящий из 30-36 остатков D-фруктозы и одного остатка глюкозы, соединённых гликозидными связями. Инулин относится к пребиотическим пищевым волокнам, проявляющим адьювантные свойства в отношении минеральных веществ, улучшая усвоение кальция, магния и железа. В отличие от аналогов, представляющих соединение йода с белком молока (патент РФ за № 2192150), йодполифруктозан характеризуется высокой степенью дисперсности, устойчивостью к седиментации в водных растворах, отсутствием побочных эффектов, а также совместимостью с технологиями пищевых производств. Рассматриваемый «йодполисахаридный» комплекс рекомендуется как для индивидуальной, групповой, так и массовой профилактики эндемического зоба и его трансформаций, в том числе при промышленном производстве хлебобулочных, кондитерских, макаронных и молочных продуктов в качестве источника йода.

В качестве 1-й модельной системы использовали 20 мл фосфатного буфера с добавлением цитрата натрия и люминола. Состав буфера: 20 мМ KH_2PO_4 , 10^5 мМ KCl, 50 мМ цитрат натрия, 10^{-5} М раствор люминола (pH = 7,5). В качестве инициатора добавлялся 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа. Окисление солей железа вело к появлению кислородных радикалов и сопровождалось ХЛ, усиливающейся

в присутствии люминола [3]. В качестве 2-й модельной системы использовали суспензию липопротеидов желтка куриных яиц, содержащей липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови. Желток смешивали с фосфатным буфером в соотношении 1:5, гомогенизировали, доводили содержание белка до 1 мг на мл дальнейшим разведением (в среднем 25 мл полученного гомогената на 1 л буфера) [4]. Методика приготовления йодсодержащего раствора для внесения в модельные системы заключалась в следующем: 1 г йод-полифруктозана растворяли в 500 мл дистиллированной воды. Для изучения антиоксидантной активности отбирали 0,1, 1,0 и 0,01 мл готового раствора, где соответственно содержалось 0,015, 0,15 и 0,0015 мкг йода. ХЛ измеряли прибором ХЛ-003, изготовленным в Межвузовской лаборатории технических систем медико-биологических исследований, включенным в регистр оборудования Медицинской промышленности России [5]. Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 MS Excel. Гипотезы о средних значениях проверяли с помощью t-критерия Стьюдента.

Формулирование целей статьи (постановка задач). Целью настоящей работы стало определение антиокислительной активности йод-полифруктозана в модельных тест-системах, где генерировались реакции образования активных форм кислорода и процессы перекисного окисления липидов.

Основная часть. На рисунке 1 приведена запись хемилюминесценции в 1-й модельной тест-системе, где генерировали образование АФК – супероксиданион радикал кислорода ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный (OH^{\cdot}) и гидропероксильный (O_2H^{\cdot}) радикалы. Добавление солей железа сопровождалось быстрой вспышкой, за которой следовало развитие медленной вспышки.

Как видно из таблицы 1, исследуемый йод-полифруктозан в объеме 0,01 мл не оказывал существенного влияния на интенсивность образования АФК: показатель светосуммы хемилюминесценции составил $19,33 \pm 1,13$ у.е., спонтанного свечения – $2,48 \pm 0,19$ у.е., амплитуды вспышки – $9,09 \pm 1,29$ у.е., максимальной светимости – $10,90 \pm 1,04$ у.е. против $20,55 \pm 1,78$ у.е., $2,99 \pm 0,37$ у.е., $11,01 \pm 1,45$ у.е. и $9,21 \pm 0,65$ у.е. соответственно в контроле. В более высокой концентрации (0,1 мл) БАД проявляла антиоксидантные свойства. При этом среднеарифметическое значение показателя светосуммы ХЛ в опыте (0,1 мл) составило $15,34 \pm 0,92$ у.е. ($p \leq 0,05$), тогда как в контроле – $20,55 \pm 1,78$ у.е. – снижение светосуммы на 25,3 %.

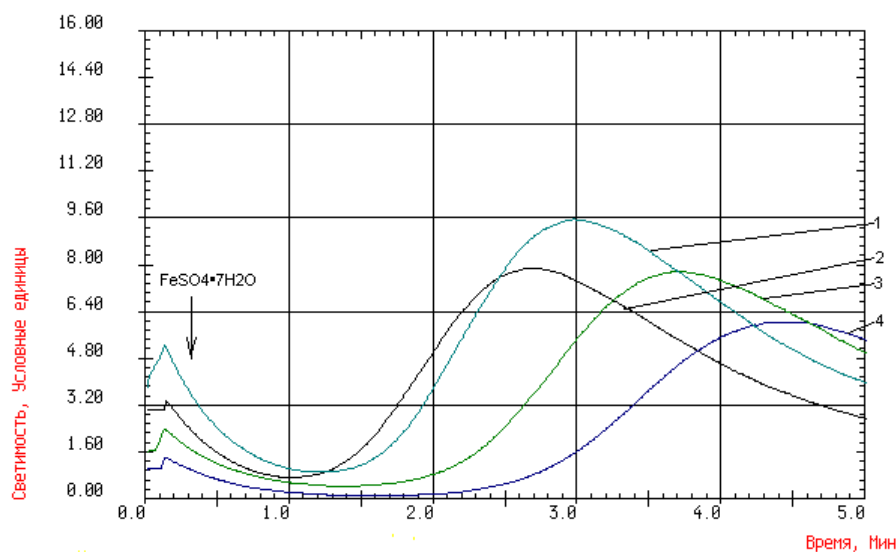


Рис. 1. Хемілюмінесценція в 1-й модельній тест-системі, де генерувалися процеси утворення АФК: контроль (1); при додаванні БАД йод-поліфруктозан: (2) 0,01мл; (3) 0,1 мл; (4) 1,0 мл.

Таблиця 1 Показатели хемілюмінесценції при додаванні БАД йод-поліфруктозан, ($M \pm m$; $n = 10$)

Умовля опыта	Об'єм добавки	Показатели хемілюмінесценції (у.е.)			
		светосумма	спонтанное свечение	амплитуда вспышки	максимальная светимость
контроль		$20,55 \pm 1,78$	$2,99 \pm 0,37$	$11,01 \pm 1,45$	$9,21 \pm 0,65$
йод-полифруктозан	1,0 мл	$12,80 \pm 0,67^{***}$	$1,23 \pm 0,03^{***}$	$8,36 \pm 0,78$	$6,65 \pm 0,08^{**}$
	0,1 мл	$15,34 \pm 0,92^*$	$2,64 \pm 0,26$	$8,12 \pm 0,91$	$8,92 \pm 0,15$
	0,01 мл	$19,33 \pm 1,13$	$2,48 \pm 0,19$	$9,09 \pm 1,29$	$10,90 \pm 1,04$

Примечание: * - различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,05$)

** - различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,01$)

*** - различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,001$)

На рисунке 2 представлена запись ХЛ липидов, выделенных из куриного желтка. Добавление солей железа в системы, содержащие липиды, инициирует процессы перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот. При этом возникает быстрая вспышка, далее следует небольшой латентный период, переходящий в медленную вспышку. Амплитуда быстрой вспышки зависит от содержания гидропероксидов липидов. Длительность латентного периода свечения характеризует антиокислительную активность, а величина светосуммы ХЛ опреде-

ляет способность липидов подвергаться окислению. В таблице 2 представлены средние значения показателей ХЛ 2-й модельной системы.

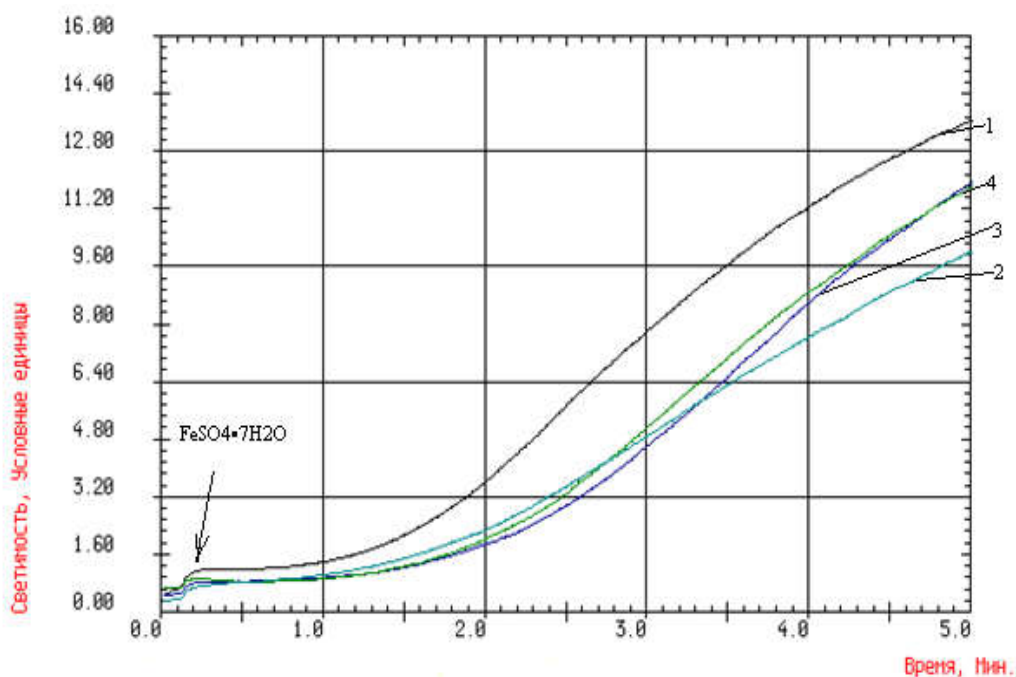


Рис. 2. Хемилюминесценция системы желточных липопропротеидов: контроль (1); при добавлении БАД йод-полифруктозан: (2) 1,0 мл; (3) 0,1 мл; (4) 0,01 мл.

Таблица 2 Показатели хемилюминесценции желточных липопропротеидов при добавлении БАД йод-полифруктозан, ($M \pm m$; $n = 10$)

Условия опыта	Объём добавки	Показатели хемилюминесценции (у. е.)			
		светосумма	спонтанное свечение	амплитуда вспышки	максимальная светимость
контроль		$36,66 \pm 3,29$	$1,26 \pm 0,15$	$4,46 \pm 0,64$	$14,62 \pm 2,02$
йод-полифруктозан	1,0 мл	$24,97 \pm 2,64^*$	$0,53 \pm 0,04^{***}$	$3,16 \pm 0,26$	$11,11 \pm 1,09$
	0,1 мл	$26,76 \pm 2,07^*$	$0,66 \pm 0,10^{**}$	$2,90 \pm 0,11^*$	$13,28 \pm 1,34$
	0,01 мл	$27,61 \pm 2,80^*$	$0,71 \pm 0,32$	$2,88 \pm 0,06^*$	$13,36 \pm 1,61$

Примечание: * - различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,05$)

** - различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,01$)

*** - различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,001$)

Из приведенных данных видно, что йод-полифруктозан снижает светосумму и максимальную амплитуду ХЛ желточных липопропротеидов и, следовательно, проявляет антиокислительные свойства в данной модельной системе. Как видно из результатов, представленных в

таблице 2, йод-полифруктозан в регламентированной суточной дозе (0,1 мл) снижает светосумму ХЛ на 27 %: с $36,66 \pm 3,29$ у.е. в контроле до $26,76 \pm 2,07$ у.е. ($p \leq 0,05$) в опытной серии. Анализируемое йод-содержащее органоминеральное соединение снижало показатель спонтанной светимости на 47,62 % ($p \leq 0,01$), амплитуды вспышки – 34,98 % ($p \leq 0,05$), а максимальной светимости на 9,17 %.

Выводы. Йод-полифруктозан в модельных тест-системах *invitro* проявляет антиоксидантные свойства – ингибирует генерацию АФК и процессы ПОЛ.

Выявлено наличие дозозависимого эффекта – с увеличением концентраций йодсодержащего органоминерального комплекса в среде инкубации снижается интенсивность процессов сверхслабого свечения, регистрируемых методом хемилюминесцентного анализа. В этой связи следует считать обоснованным применение йод-полифруктозана для профилактики йододефицитных заболеваний, сопровождающихся патофизиологическими сдвигами в функциональном состоянии окислительного гомеостаза [6].

Литература:

1. *Мамцев, А.Н.* Оценка качества молочного сырья методом хемилюминесцентного анализа [Текст] / *А.Н. Мамцев, Е.Е. Пономарёв* // Достижения науки и техники АПК. 2007. № 12. С. 33-35.

2. *Ахметов, А.С.* Про- и антиоксидантная система у больных гипотиреозом и её изменения под влиянием препаратов липоевой кислоты [Текст] / *А.С. Ахметов, Е.С. Белоножкина, И.И. Павлюченко, А.А. Басов* // Проблемы эндокринологии. 2007. № 5. С. 49-54.

3. *Колпикова, О.С.* Влияние некоторых препаратов, используемых в лечении цереброваскулярных расстройств, на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах [Текст] / *О.С. Колпикова, Р.Р. Фархутдинов, Р.В. Магжанов* // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2002. Т.102, № 8. С. 22-25.

4. *Клебанов, Г.И.* Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов [Текст] / *Г.И. Клебанов, И.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин, О.С. Комаров, Ю.А. Владимиров* // Лабораторное дело. 1988. № 5. С. 59-62.

5. *Фархутдинов, Р.Р.* Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилуциномере ХЛ 003 [Текст] / *Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдорадзе* // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: Сборник докладов. Москва. Россия. 14-15 сентября 2004 / Под общей ред. проф. Е.Б. Бурлаковой. Изд-во РУДН, 2005. С. 147-154.

6. Камілов, Ф.Х. Активность антиоксидантных ферментов и процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном гипотиреозе и коррекции тиреоидных сдвигов йодированным полисахаридным комплексом [Текст] / Ф.Х. Камілов, А.Н. Мамцев, В.Н. Козлов, Г.М. Абдуллина, О.В. Лобырева // Казанский медицинский журнал. 2012. № 1. С. 116-119.

ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ ЙОД-ПОЛІФРУКТОЗАНУ МЕТОДОМ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Даніленко А.Л., Козлов В.Н., Максютів Р.Р.

Анотація – в статті представлені матеріали по вивченню антиокислювальних якостей йодовмісної біологічно активної добавки на основі поліфруктозану, методом хемілюмінесцентного аналізу встановлено, що досліджувальний комплекс проявляє антиоксидантні якості в модельних тест-системах.

ASSESSMENT INDICATORS OF QUALITY AND SAFETY OF IODINE-POLYFRUCTOSANS METHOD CHEMILUMINESCENT ANALYSIS

A. Danilenko, V. Kozlov, R. Maksytov

Summary

The article presents materials on the study of the antioxidant properties of iodine-containing biologically active additives on the basis of polyfructosans. Method chemiluminescent analysis revealed that the studied complex exhibits antioxidant activity in model test systems.