

Влияние различных форм хрома на обмен химических элементов в организме крыс линии Wistar

Е.В. Шейда, к.б.н., С.В. Лебедев, д.с.-х.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ, ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН; И.З. Губайдуллина, мл.н.с., В.А. Рязанов, к.с.-х.н., И.А. Гавриш, н.с., ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН

Для нормального роста и развития организма необходима правильная организация сбалансированного полноценного питания. При этом не последнюю роль играет наличие в рационе необходимого количества минеральных веществ, которые являются структурным материалом для всех тканей и органов и оказывают влияние на все обменные процессы в организме [1].

Установлено, что одним из незаменимых микроэлементов для организма животных является хром. Хром содержится в тканях всех органов живого организма и участвует в обмене белков, жиров и углеводов, в процессах кроветворения, в ферментативном и гормональном обменах, в остеогенезе [2, 3].

Известно, что в организме человека хром накапливается в печени, селезёнке, костях. У животных, в частности у крыс, он накапливается в почках, селезёнке, костях, печени и тестикулах, причём некоторые авторы отмечают, что только печень способна обеспечить клиренс хрома.

В ряде зарубежных работ проведено сравнение накопления хрома в тканях органов в зависимости от органической формы. Авторы указывают, что у свиней наиболее активно хром накапливается при пероральном введении трипиколината хрома (в печени накапливается 0,002% от введённой дозы) по сравнению с пропионатом хрома и метионин-хромом [5].

Высокое накопление хрома в почках характерно для трёх органических форм: диникотинат-диглицината, диникотинат-дигистидината, пиколината. Триглицинат хрома имеет близкие к трипиколинату значения [4].

Однако до настоящего времени метаболизм хрома в организме животных изучен недостаточно, отсутствуют сведения по содержанию хрома в кормах, а также не известны дозы и нормы данного элемента для различных видов животных и половозрастных групп. Необходимо заметить, что очень скудны данные по влиянию на рост, развитие и продуктивность животных различных форм хрома: органических и неорганических солей и ультрадисперсных частиц.

Цель работы — изучить влияние различных форм хрома на обмен химических элементов в организме.

Материал и методы исследования. Экспериментальная часть работы была выполнена в соответствии с протоколами Женевской конвенции, принципами надлежащей лабораторной практики «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals» (Руководство по уходу и использованию лабораторных животных; National Academy Press Washington, D.C. 1996).

Исследование проводили на 105 белых крысах-самцах линии Wistar массой 70–80 г в стандартных условиях лаборатории биологических испытаний и экспертиз ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

Рацион животных (ГОСТ Р 50258-92) соответствовал правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Суточный рацион (ОР) включал: рис полированный варёный – 30 г; сахарозу – 1 г; соевый концентрат – 1,25 г; масло растительное рафинированное – 1 г. Минеральную обеспеченность осуществляли путём добавления смеси жир- и водорастворимых витаминов. Крысы содержались в отдельных клетках со свободным доступом к воде и корму.

На основании ранее установленного положительного действия хрома на организм животных в эксперименте исследуемые дозы хрома составляли 300 и 500 мкг/кг корма. После подготовительного периода (7 сут.) животных разделили на семь групп ($n = 15$). Крысы контрольной гр. содержались на ОР, I гр. – ОР с добавлением НЧ Cr_2O_3 в дозе 300 мкг/кг корма (НЧ 300), II гр. – ОР с добавлением CrCl_3 в дозе 300 мг/кг (CrCl_3 300), III гр. – ОР с добавлением пиколината хрома (CrPic) в дозе 300 мг/кг (CrPic 300), IV гр. – ОР с добавлением НЧ Cr_2O_3 в дозе 500 мкг/кг корма (НЧ 500), V гр. – ОР с добавлением CrCl_3 в дозе 500 мг/кг (CrCl_3 500), VI гр. – ОР с добавлением CrPic в дозе 500 мг/кг (CrPic 500).

В качестве источников хрома использовались:

1. Ультрадисперсные частицы (УДЧ) хрома, полученные методом плазмохимического синтеза (ООО «Платина», г. Москва; $d = 91$ нм; удельная поверхность $9 \text{ м}^2/\text{г}$; Z-потенциал $93 \pm 0,52$ мВ, содержали 99,8% Cr). Препараты наночастиц диспергировали в физиологическом растворе с помощью УЗДН-2Т (НПП «Академприбор», Россия) (35 кГц, 300 Вт, 10 мкА, 30 мин.).

2. Неорганическая форма Cr в форме хлорида хрома ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, содержащий 19,5% Cr) ч.д.а. (АО «Реахим», Россия).

3. Пиколинат хрома (содержит 10% органического хрома, ЗАО «Эвалар», Алтайский край, г. Бийск, Россия).

На 21-е сутки после декапитации крыс под нембуталовым наркозом (5 особей из каждой группы) проводился отбор биосубстратов для ана-

лиза. Концентрацию хрома определяли в начале и в конце эксперимента путём измельчения всех тканей и систем организма крыс, корма и фекалий с последующим озолением с использованием микроволновой системы разложения Multiwave 3000 («Anton Paar», Австрия). Элементный состав изучали методами атомно-эмиссионной спектрометрии (Optima 2000 V, «PerkinElmer», США) и масс-спектрометрии (Elan 9000, «PerkinElmer», США). Лабораторная часть исследования выполнена в Испытательном центре БСТ РАН (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 02.12.15).

Результаты исследования. На фоне практически одинакового расхода корма за период эксперимента (830 ± 17 г/гол) добавление в рацион крыс CrPic 500 мкг/кг и НЧ Cr_2O_3 500 сопровождалось увеличением массы животных на 22,6 и 22,2% ($P < 0,05$) и снижением соотношения брюшного жира к массе тела. Масса печени и почек существенно не отличалась от контрольных значений. Аналогично дополнительное включение Cr (0,2 мг) в рацион увеличило среднесуточный прирост массы без повышения расхода корма и нивелировало отложение жира. О сходном влиянии органических и наночастиц хрома по сравнению с минеральной его формой в рационе на ростовые показатели сообщалось ранее [6].

Механизм действия микроэлементов на организм основан на скорости их всасывания и выведения. При нормальной экскреции менее чем 1 мкг в сутки хром выводится с мочой, фекалиями, через кожу и волосы [7].

Ранее в исследованиях была описана способность наночастиц хрома стимулировать ростовые показатели, увеличивая при этом отложение металла в мышцах, сердце, печени и почках [8]. Это происходит за счёт способности лучшего поглощения Cr из наночастиц в кишечнике. Так, из-за небольшого размера Cr может проникать в кровеносные капилляры и поглощаться клетками. Всосавшийся хром связывается в основном с трансферрином, распределяется по тканям в зависимости от химического состояния, в котором элемент поступил в организм, выводится с мочой и фекалиями в форме ацетатных и цитратных комплексов в течение четырёх суток в количестве 60–90% от поступившего хрома.

В проведённом исследовании установлен положительный баланс в накоплении хрома при использовании в рационе CrPic в дозах 300 и 500 мкг/кг, что сравнимо с результатами исследований Wangetal [9]. Биодоступность НЧ Cr достигла большего положительного баланса при дозе 500 мкг/кг и была выше контроля на 81,6%. В остальных группах усвояемость хрома животными находилась в диапазоне от 4,3 до 7,5% с наименьшим значением при использовании CrCl_3 (табл.).

Чтобы избежать искажения в интерпретации данных, связанных с оценкой действия различных

Влияние различных форм хрома на морфометрические показатели и усвояемость хрома в организме крыс линии Wistar (n=15; X±Sx)

Показатель	Группа						
	конт- рольная	I	II	III	IV	V	VI
Начальная масса тела, г	69,3±2,95	114,2±2,8	75,5±2,88	87,9±1,19	101,8±7,63	81,1±3,13	100,3±5,5
Живая масса в конце опыта, г	118,6±3,5	149,3±0,1	131,2±9,86	146,7±7,01	152,3±6,3*	123,3±4,17	151,5±6,5*
Масса печени, г	5,55±0,49	5,03±0,43	6,88±0,43	7,9±0,45*	6,5±0,32	6,23±0,67	6,7±0,45
Масса почек, г	1,2±0,08	1,13±0,06	1,15±0,16	1,43±0,27	1,23±0,19	1,43±0,23	1,53±0,22*
Внутренний жир, г / отношение к массе	1,33±0,21 2	1,21±0,1 1,06	1,8±0,37* 1,38	1,63±0,21 1,12	1,25±0,09 0,82	1,37±0,79 1,12	2,1±0,3* 1,39
Прирост, г	49,3±1,1	35,1±0,9*	55,7±1,2	58,8±2,3*	50,5±1,35	42,2±0,95	51,2±1,32
Концентрация в рационе Cr, мг/кг	0,13	0,43	0,43	0,43	0,63	0,63	0,63
Концентрация Cr в кале, мг/кг	0,97± 0,007	3,18± 0,128***	3,27± 0,18***	2,75± 0,055***	3,3± 0,13***	4,83± 0,24***	4,02± 0,74***
Концентрация Cr в теле, мг/кг	0,18±0,5	0,054±0,3*	0,051±0,3*	0,064±0,4	0,21±0,4	0,060±0,2*	0,090±0,3*
Усвояемость Cr, %	6,7±0,3	7,57±0,4*	4,9±0,6*	20,2±1,1**	34,5±1,3*	4,3±0,9*	20,2±1,6

Примечание: результаты являются статистически достоверными: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001

форм микроэлементов на организм, особенно в концентрации, превышающей биотическую, необходимо использовать маркеры, исключающие скрытые токсические эффекты. Они связаны с нарушением обмена веществ, выражающемся в накоплении жира как защитного механизма.

Проведенный мультиэлементный анализ показывает, что дополнительное включение в рацион лабораторным животным НЧ хрома в дозе 300 мкг/кг способствовало достоверному повышению в их организме таких элементов, как кальций в 2,38 раза (P<0,01), фосфор – в 15 раз (P<0,01) и снижению хрома в 3,6 раза (P<0,01) относительно контроля. Среди токсичных элементов следует отметить достоверное повышение стронция относительно контрольной группы в 2,81 раза (P<0,001) (рис. 1).

Введение в рацион хлорида хрома в дозе 300 мкг/кг привело к достоверному повышению в организме животных Р в 9,04 раза (P<0,01), В – в 7,77 раза (P<0,001) и снижению Cr в 2,00 раза (P<0,05), также Fe – в 1,57 раза (P<0,05) по отношению к контролю. Следует отметить, что дополнительное введение хлорида хрома в рацион способствовало снижению в организме лабораторных животных концентрации токсичных элементов. Так, содержание кадмия уменьшилось в 2,00 раза, свинца – на 25,0%, олова – на 37,9% и стронция – на 25,2% в сравнении с контрольной группой (рис. 2).

Включение в рацион экспериментальным животным пиколината хрома в дозе 300 мкг/кг корма привело к достоверному повышению в их организме фосфора, кальция и калия на 98,4% (P<0,001), 49,2 (P<0,05) и на 44,1% (P<0,05) соответственно относительно контроля. Среди эссенциальных элементов повышение составило: бора – в 3,00 раза (P<0,01), кобальта – в 4,2 раза (P<0,05), лития – в 5,55 раза (P<0,05), марганца – на 40,2% (P<0,05), никеля – в 11,1 раза (P<0,001), кремния – в 2,24 раза (P<0,05) и цинка – на 44,5% (P<0,01) относительно показателей в контрольной группе (рис. 3).

Увеличение дозировки НЧ хрома, хлорида хрома и пиколината хрома до 500 мкг/кг (рис. 4–6) привело к достоверному повышению в организме животных IV, V и VI опытных гр. такого макроэлемента, как фосфор – в 12,8 раза (P<0,01), на 95,9% (P<0,001) и в 14,7 раза (P<0,01) соответственно по отношению к контрольной группе. В V опытной гр. хлорид хрома способствовал накоплению кальция в организме крыс, превышая контроль в 3,47 раза (P<0,01).

У животных V и VI опытных гр. наблюдалась схожая с I и II опытными гр. картина – это достоверное снижение хрома в 3,00 и 2,00 раза (P<0,05) относительно контроля. Среди токсичных элементов выявлено достоверное накопление стронция в организме крыс IV, V и VI опытных гр., что в абсолютном значении составляло 8,79; 14,9 и 12,2 мкг/гол на фоне снижения олова в V гр. на 28,9 % (P<0,05). У животных IV опытной гр. наблюдалось накопление алюминия на 45,5% (P<0,01), а у крыс VI опытной гр. – накопление свинца практически в 2,0 раза (P<0,05).

Среди эссенциальных элементов следует отметить накопление бора и марганца в организме особей IV опытной гр., что в 2,44 раза (P<0,001) и на 45,1% (P<0,05) соответственно достоверно превышало контрольные значения. У крыс V гр. наблюдалось достоверное превышение Si в 2,2 раза (P<0,01) и Zn на 40,4% (P<0,05) по сравнению с контрольной группой, в VI гр. выявлено достоверное снижение йода в 4,5 раза (P<0,05).

Судя по полученным данным, избыточное потребление некоторых минералов или дополнительное введение их в рацион может нарушить гомеостатический баланс и вызвать токсические побочные эффекты в организме животных. В то же время среди минеральных элементов существует много метаболических взаимосвязей, которые способствуют вариациям степени физиологического ответа на дефицитные или токсичные уровни химических элементов в рационах [10]. Эти отноше-

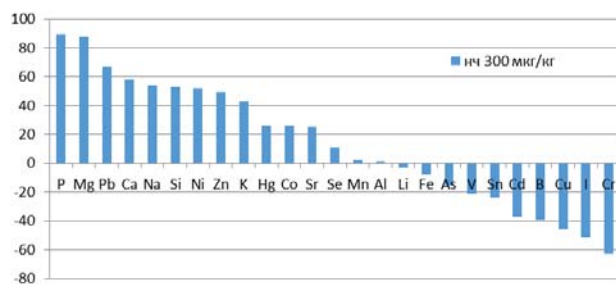


Рис. 1 – Разница по величине пулов макро- и микроэлементов в тканях тела лабораторных животных относительно контроля после введения НЧ Cr, 300 мкг/кг

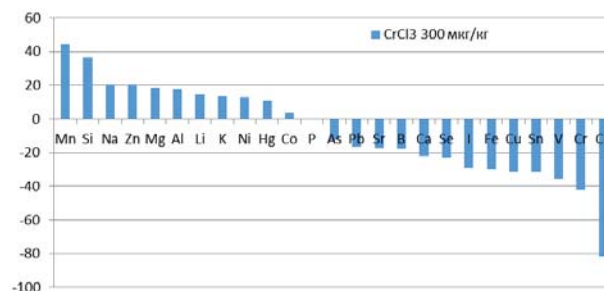


Рис. 2 – Разница по величине пулов макро- и микроэлементов в тканях тела лабораторных животных относительно контроля после введения CrCl₃, 300 мкг/кг

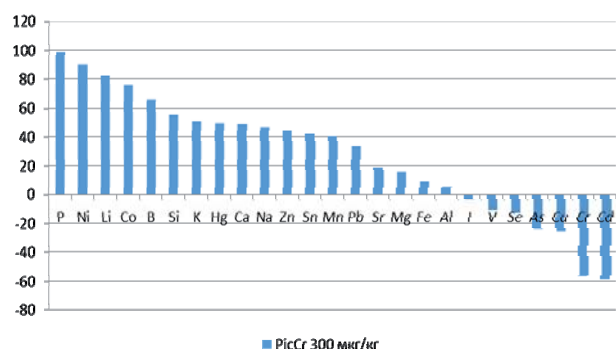


Рис. 3 – Разница по величине пулов макро- и микроэлементов в тканях тела лабораторных животных относительно контроля после введения NiCr, 300 мкг/кг

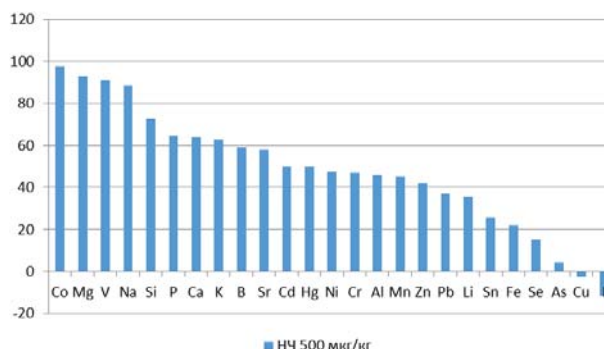


Рис. 4 – Разница по величине пулов макро- и микроэлементов в тканях тела лабораторных животных относительно контроля после введения НЧ Cr, 500 мкг/кг

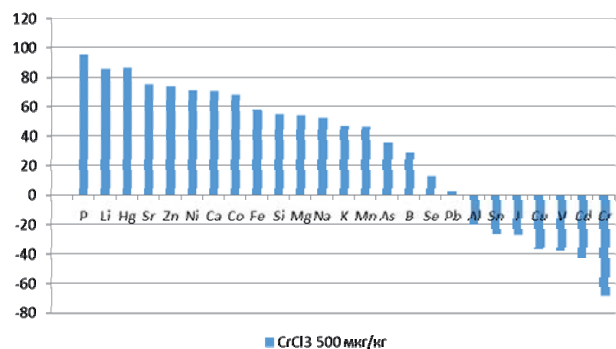


Рис. 5 – Разница по величине пулов макро- и микроэлементов в тканях тела лабораторных животных относительно контроля после введения CrCl₃, 500 мкг/кг

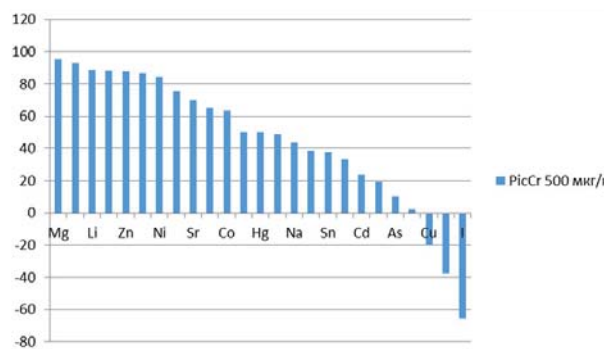


Рис. 6 – Разница по величине пулов макро- и микроэлементов в тканях тела лабораторных животных относительно контроля после введения NiCr, 500 мкг/кг

ния затрудняют определение оптимального уровня питания для отдельных элементов, необходимых для людей и домашних животных. В результате этого рекомендуемый уровень питания любого элемента следует рассматривать в зависимости от уровня других необходимых питательных веществ.

Сообщалось, что цинк, обычно принимаемый для стимуляции иммунной системы, ослабляет функцию иммунной системы и снижает уровень кальция. Однако мы обнаружили обратный эффект. Так, наряду с достоверным повышением содержания кальция в теле при внесении хрома в виде хлорида и пиколината при дозе 300 мкг/кг

наблюдалось увеличение содержания цинка в теле, что может являться прообразом для создания кандидатной технологии преодоления эффекта антагонизма медь – цинка и увеличения их содержания при некоторых состояниях животных, связанных, например, с поеданием высокофитиновой диеты, ведущей к дефициту данных элементов.

Принято считать, что избыток железа, алюминия или магния препятствует поглощению фосфора за счёт образования нерастворимых фосфатов. Однако мы показали, что введение НЧ 300 или НЧ 500 мкг/кг сопровождалось повышением уровня фосфора в теле, что позволяет рассматривать НЧ

хрома как препараты, позволяющие изменять абсорбцию фосфора в теле. Также интересен тот факт, что у животных всех опытных групп наблюдалось накопление фосфора. Однако у крыс, принимавших CrCl_3 300, было обнаружено уменьшение количества железа в теле, что доказывает антагонизм фосфора и CrCl_3 за сайты связывания [11].

Элементы, относящиеся к токсичным и с не выясненной ролью, такие как кадмий, свинец, стронций, накапливались при внесении НЧ 300, в то время как внесение CrCl_3 300 вело к уменьшению содержания олова, стронция, свинца и кадмия.

Обмен минеральных веществ при внесении дополнительного хрома в рацион стоит рассматривать и с позиции биодоступности хрома из различных источников [12].

Широко обсуждаются причины низкой биодоступности неорганических Cr, которые, вероятно, связаны с образованием нерастворимых Cr-оксидов, связывающихся с природными хелатообразующими соединениями в кормах, интерференцией ионных форм других минералов (Zn, Fe) (9, 49, 51), а также медленное превращение неорганического Cr в биологически активную форму и неоптимальное количество ниацина. Также поглощение Cr из пищи усиливается наличием в рационе питания аминокислот, аскорбиновой кислоты, высокого содержания углеводов, оксалата и аспирина, тогда как фитаты и антациды (гидрокарбонат натрия, гидроксид магния) снижают концентрацию Cr в крови и тканях [13].

Трёхвалентный Cr имеет тенденцию накапливаться в эпидермальных тканях (волосах) и в костях, печени, почках, селезёнке, лёгких и толстой кишке. Накопление в других тканях, особенно в мышцах, по-видимому, строго ограничено или не существует [14]. При применении НЧ 500 и PicCr 300 выведение хрома не наблюдалось.

Вывод. Степень влияния хрома на его содержание в теле крыс выражается следующим образом: $\text{PicCr 500} = \text{CrCl}_3$ 300 < CrCl_3 500 < НЧ 300. Введение хрома в дозе 300 мкг/кг независимо от

формы элемента характеризуется накоплением P, Ca, K, B, Mn, Si, Zn и снижением Cd, Pb, Sr. Отличительной особенностью высокой дозы хрома является накопление Sr, Al, Pb, что характеризует его как элемент с высокой степенью участия в минеральном обмене.

Литература

1. Георгиевский В.И., Анненков Б.Н., Самохин В.Т. Минеральное питание животных. М.: Колос, 1779. 470 с.
2. Калашников А.П., Щеглов В.В., Клейменов Н.И. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. М., 2003. 422 с.
3. Кокорев В.А., Гурьянов А.М., Пибалкина Н.И. Оптимизация минерального питания сельскохозяйственных животных // Зоотехния. 2004. № 7. С. 12–16.
4. Мараховский Ю.Х. Адекватность статистического анализа для получения научно обоснованных, достоверных результатов в исследованиях по клинической медицине // ArsMedicus. 2009. № 4.
5. Lindemann M.D. Effect of chromium source on tissue concentration of chromium in pigs// M.D. Lindemann, G.L. Cromwell, H.J. Monegue, K.W. Purser// J. AnimSci. 2008. № 4. P. 1910–1914.
6. Kornegay E.T., Wang Z., Wood C.M., Lindemann M.D. Supplemental chromium picolinate influences nitrogen balance, dry matter digestibility, and carcass traits in growing-finishing pigs // Journal of animal science. 1997. 75(5). 1319–1323.
7. Miller K.P., Wang L., Benicewicz B.C., Decho A.W. Inorganic nanoparticles engineered to attack bacteria // Chemical Society Reviews. 2015. № 44 (21): 7787–7807.
8. Ranhotra G.S and Gelroth J.A. Effects of high Chromium baker's yeast on glucose tolerance and blood lipids in rats // Cereal Chemistry. 1986. № 63: 411–413.
9. Wang M.Q., Xu Z.R. Effect of chromium nanoparticle on growth performance, carcass characteristics, pork quality and tissue chromium in finishing pigs // Asian Australasian Journal of Animal Sciences. 2004. № 17(8): 1118–1122.
10. Tebbe A.W., Wyatt D.J., Weiss W.P. Effects of magnesium source and monensin on nutrient digestibility and mineral balance in lactating dairy cows // Journal of dairy science. 2018. № 101(2): 1152–1163.
11. Urberg M and Gemel M.B. Evidence for synergism between Chromium and nicotinic acid in the control of glucose tolerance in elderly humans // Metabolism. 1987. № 36: 896–899.
12. Sahin N, Onderci M. Chromium and its influence on the metabolic processes in the body of quail // Br Poult Sci. 2007. № 48(5): 385–92.
13. Hamid O., Chamni M., Ghari H., Asghar A., Hassan M. Effects of Chromium (III) Picolinate Nanoparticles Supplementation on Growth Performance, Organs Weight and Immune Function in Cyclic Heat Stressed Broiler Chickens // Kafkas Univ Vet Fakderg. 2016. № 1:1 – 12.
14. Ellen G, Vanloon J.W and Tolsma K. Cooper, chromium, manganese, nickel and zinc in kidneys of cattle, pigs and sheep and in chicken livers in the Netherlands // Zeitschriftfur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung. 1989. № 189: 534–537.