

## БИОДОСТУПНОСТЬ КАРОТИНОИДОВ

ШАШКИНА М.Я., ШАШКИН П.Н., СЕРГЕЕВ А.В.

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей Онкологического  
научного центра им. Н.Н. Блохина, РАМН  
115478, Москва, Каширское шоссе д.24 тел./факс (095) 3242404

Дан анализ поэтапного процесса усвоения каротиноидов в (КАРОТИНОИДЫ\*) животном организме в зависимости от различных факторов внешней и внутренней среды.

Выяснение механизмов усвоения Каротиноиды может иметь как теоретическое, так и практическое значение. Оно позволит направленно модифицировать состав лекарственных препаратов, пищевых добавок и диетического питания на основе Каротиноиды, а также разработать рекомендации по дозам и режиму их применения для различных категорий населения.

**Ключевые слова:** биодоступность, каротин, витамин А, каротиноиды.

Биодоступность или биоусвоение в идеале выражается как отношение количества усвоенного организмом вещества, которое вызывает биологический или фармакологический ответ, к общей принятой дозе. Однако количественная оценка фармакологического ответа довольно сложна. Биодоступность лекарств обычно определяют по концентрации активных ингредиентов в плазме крови после их применения, основываясь на том, что фармакологический эффект лекарства есть функция его концентрации в биофазе, т.е. в среде взаимодействия с рецептором [1].

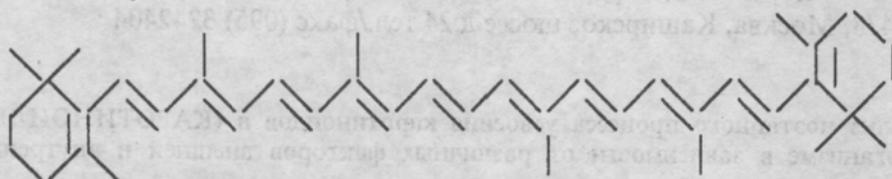
Каротиноиды (Каротиноиды) являются природными веществами, биосинтез которых осуществляется растениями и некоторыми микроорганизмами. Человек и животные не способны их синтезировать и должны регулярно получать их с пищей, так как Каротиноиды выполняют в организме целый ряд жизненно-важных функций [2]. Длительное время считалось, что их основная функция в животном организме обусловлена превращением в витамин А [3], который участвует в процессах фоторецепции, регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. Исходя из этого, биодоступность Каротиноиды исследовали на вит. А-дефицитных животных. В настоящее время убедительно показано, что Каротиноиды обладают и другими ценными специфическими свойствами, не связанными с А-витаминной активностью. В живых организмах они действуют как фотопротекторы и антиоксиданты, на молекулярном и клеточном уровне предотвращают трансформации, индуцированные окислителями, генотоксическими веществами, рентгеновским и УФ-излучением. Поддерживают стабильность генома и резистентность организма к мутагенезу и канцерогенезу. Увеличивают иммунокомпетентность и контактное взаимодействие клеток, участвуют в регуляции

---

\* СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ: β-каротин, ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография, ДОГ - β-каротин-15-15'-диоксигеназа, Каротиноиды - каротиноид, КРКСБ - клеточный белок, связывающий ретиноевую кислоту, КРСБ - клеточный ретинол-связывающий белок, ЛВП - липопротеины высокой плотности, ЛНП - липопротеины низкой плотности, ЛОНП - липопротеины очень низкой плотности, РАР - ретинальдегидредуктаза, Рд - ретиноид, РСБ - ретинол-связывающий белок, РЭ - ретинилэфир, ХМ - хиломикроны.

экспрессии гена коннексина-43 [4]. Способствуют экономному расходованию антиоксидантных витаминов и ферментов, проявляют антистрессорные свойства [2,5,6,7].

Известно около 600 различных Каротиноиды, из них только 10% обладают про-А-витаминной активностью. Наиболее распространенным в природе и хорошо изученным является  $\beta$ -каротин. Он составляет 20-30% от суммы природных Каротиноиды. Все исследования по биодоступности и метаболизму Каротиноиды проведены в основном с использованием  $\beta$ -каротина. Симметричная структура молекулы, состоящая из двух остатков А с сопряженной системой  $\pi$ -связей, делает его уникальным с химической и биологической точек зрения: (см. схему):



В организме взрослого человека в среднем содержится 100-200 мг  $\beta$ -каротина, из них 80% депонируется в жировой ткани, 10% - в печени, около 1% содержится в плазме и 9% - в других органах и тканях (надпочечники, репродуктивные органы, мозг, легкие, сердце, почки, селезенка). Эпидемиологические и экспериментальные исследования убедительно показали, что снижение потребления и усвоения  $\beta$ -каротина, низкий уровень его в плазме повышают риск возникновения рака, катаракты, сердечно-сосудистых и некоторых дегенеративных заболеваний [5,7,8,9].

Биодоступность препаратов и пищевых добавок Каротиноиды в основном оценивают классическим методом по концентрации их в плазме крови [6,10,11,12]. Однако в отличие от других биологически активных веществ и лекарственных средств, такая оценка осложняется целым рядом факторов. Во-первых, не учитывается их биоконверсия в ретиноиды (Рд). Радиоизотопным методом с использованием меченного  $^{13}\text{C}$   $\beta$ -каротина на людях показано, что только треть абсорбированной радиоактивности находится во фракции интактного  $\beta$ -каротина, остальное обнаруживается во фракции ретинилэфиров (РЭ), т.е.  $\beta$ -каротин до поступления в кровь подвергается биоконверсии в ретинол, и, частично, в другие биологически активные Рд [13,14].

Сложности при экспериментальном исследовании Каротиноиды возникают из-за отсутствия надежной животной модели, а также из-за этических ограничений по использованию изотопных методов исследования и модельного гиповитаминоза у людей [15].

Вопросам биодоступности и метаболизма  $\beta$ -каротинов посвящен целый ряд сообщений и обзоров, появились работы методологического характера, предусматривающие использование более безопасных методов исследования, в том числе высокоразрешающей изотопной масс-спектрометрии [7, 13, 16,17].

В настоящее время известно, что усвоение Каротиноиды происходит в несколько этапов: микронизация и эмульгирование в желудочно-кишечном тракте, всасывание в тонком кишечнике, частичная биоконверсия  $\beta$ -каротинов в ретинол, транспорт  $\beta$ -каротина через лимфатическую систему и воротную вену в печень, а затем в кровь и распределение по органам и тканям.

Рассмотрим подробнее этапы усвоения Каротиноиды и факторы, влияющие на них.

#### Микронизация и эмульгирование.

Микронизация и эмульгирование происходят в процессе переваривания пищи в желудочно-кишечном тракте. Убедительно показано, что биодоступность  $\beta$ -каротиноидов из соков, овощей (особенно сырых) невысокая по сравнению с чистым препаратом. Например, биодоступность  $\beta$ -каротиноидов из моркови

составляет 10-20%, из брюквы - 0,1% от чистого  $\beta$ -каротина [18,19]. Это объясняется тем, что Каротиноиды в растениях, в том числе в овощах, находятся в комплексе с белками, что затрудняет их высвобождение. Для повышения высвобождения необходима предварительная кулинарная обработка (измельчение, пропаривание, щадящее подогревание, но не слишком сильное во избежание изомеризации с потерей биологической активности). При использовании препаратов или пищевых добавок на основе чистого  $\beta$ -каротина в виде напитков, масляных растворов или суспензий с размером частиц 2-3 микрона можно достичь высокой степени усвоения [18,20], если не использовать комплексообразующие вещества. Так, биодоступность  $\beta$ -каротина таблеток циклокара, где он находится в комплексе с циклодекстрином, в 2 раза ниже, чем из масляной дисперсии [21]. Каротиноиды, являясь липофильными веществами, плохо всасываются без эмульгирования. Эмульгирование Каротиноиды, как и липидов, происходит в тонком кишечнике в присутствии желчных кислот с образованием липидных мицелл.

Жиры, стимулируя желчевыделение и образование липидных мицелл, повышают биодоступность  $\beta$ -каротина [16,20], поэтому полезность так называемых "водорастворимых" форм проблематична. Биодоступность  $\beta$ -каротина на фоне высокожировой диеты (более 60 г/день) в 2 раза выше, нежели на фоне низкожировой [16]. Отрицательное влияние на биодоступность оказывают и вещества, связывающие желчные кислоты или разрушающие структуру мицелл: алкоголь, пектины, растительные волокна. Так, при добавлении в корм цыплятам 7% растительных волокон (лигнин, метилцеллюлоза) биодоступность  $\beta$ -каротина снижалась на 20-30%, а при добавлении высокометоксилированных пектинов (цитрусового или яблочного, содержащего 8% метоксильных групп) - на 50% из-за усиленной экскреции желчных кислот и жиров. В то же время низкометоксилированные пектины- полигалактуроновая кислота, яблочный пектин, содержащий 2% метоксильных групп, - не оказывали отрицательного влияния на биодоступность  $\beta$ -каротина [22]. Усвоение  $\beta$ -каротина нарушается также при различных заболеваниях желчевыводящих путей и желудочно-кишечного тракта.

#### **Всасывание или абсорбция.**

Каротиноиды, как и частично гидролизованные липиды, например, жирные кислоты, моно- и диглицериды, всасываются в тонком кишечнике путем пассивной абсорбции при контакте липидных мицелл с клеточной мембраной кишечного эпителия.  $\beta$ -Каротин появляется в лимфе одновременно с вновь абсорбированным жиром. Предполагают, что Каротиноиды и липиды вместе транспортируются через мембрану и внутри клеток слизистой оболочки тонкого кишечника. Пока не ясно, существуют ли специфические механизмы транспорта Каротиноиды через мембрану в клетку и внутри нее, а также конкурентное всасывание между различными Каротиноиды и между липидами и Каротиноиды. Обнаруженный антагонизм между кантаксантином и  $\beta$ -каротином, возможно, связан с конкурентной абсорбцией [20]. Степень всасывания Каротиноиды зависит также от абсорбционной способности слизистой кишечника и снижается при ее нарушении, патологии или истощении организма [15].

Предпринимаются попытки методом регрессионного анализа выявить влияние на абсорбцию "каротинового статуса" организма, базисного уровня  $\beta$ -каротина в плазме, антропологических данных, но результаты неоднозначны. Предполагают, что при всасывании может проявляться насыщение или так называемый "потолочный эффект". Всасывание нарушается при дефиците цинка, фолиевой кислоты, белково-энергетическом истощении организма [15]. Вычислена скорость абсорбции  $\beta$ -каротина слизистой оболочкой кишечника. У человека она составляет 38-120 нг/час/100 см кишечника, у хорьков - 54 [23]. После абсорбции возможны потери Каротиноиды вместе с эпителиальными клетками, которые из-за короткого полупериода жизни постоянно слущиваются, и, попадая в кишечный проток, выводятся из организма. Из кишечника Каротиноиды частично

реабсорбируются. Именно этим объясняют волновое повышение уровня  $\beta$ -каротина в плазме крови и появление двух пиков через 24 и 36 (48) часов после однократной дозы [20,21]. Каротиноиды, не всосавшиеся в слизистой тонкого кишечника, выводятся из организма в неизменном виде с фекалиями. По количеству выделившихся Каротиноиды также иногда судят о степени их биодоступности. В слизистой тонкого кишечника происходит частичное ферментативно регулируемое превращение Каротиноиды в Рд.

#### **Транспорт $\beta$ -каротина из слизистой кишечника в печень.**

У людей транспорт  $\beta$ -каротина из кишечника осуществляется исключительно липопротеинами, главным образом, их неполярным ядром - хиломикронами (ХМ) и липопротеинами очень низкой плотности (ЛОНП). ХМ и ЛОНП переносят  $\beta$ -каротин из кишечника через лимфатическую систему в грудной проток. Липопротеинлипаза гидролизует триглицеридное ядро ХМ с образованием ХМ остатков, которые захватываются печенью, где и депонируются [20]. Пики концентраций  $\beta$ -каротина в ХМ и ЛОНП обнаруживаются через 4-6 часов после его приема  $\beta$ -каротина. Аналогично, с появлением пика в лимфе через 6 часов, осуществляется транспорт  $\beta$ -каротина у молочных телят [24]. Дефицит липопротеинов может лимитировать транспорт  $\beta$ -каротина.

#### **Транспорт Каротиноиды из печени в кровь.**

У людей из печени в кровь Каротиноиды транспортируется липопротеинами низкой плотности (ЛНП) и частично липопротеинами высокой плотности (ЛВП), тогда как у хорьков наблюдается обратная ситуация [25]. В условиях голодания до 75% Каротиноиды плазмы находятся во фракции ЛНП, остальное - в ЛВП, и, в меньшей степени, в ЛОНП [20]. У пациентов с высоким уровнем холестерина и с гипотиреозом наблюдается тенденция повышения уровня Каротиноиды в плазме [13]. Появление  $\beta$ -каротина в липопротеиновых фракциях по времени сопоставимо с вновь абсорбированными триглицеридами из той же пищи. Максимум концентрации  $\beta$ -каротина в плазме крови человека наблюдается через 24-48 часов после приема препарата во фракции ЛНП и через 16-48 часов - в ЛВП. Через 7-9 дней уровень  $\beta$ -каротина в плазме снижался до исходного [26]. Более позднее по сравнению с такими жирорастворимыми витаминами, как А и Е, появление  $\beta$ -каротина в крови наблюдалось и у молочных телят, причем, максимум отмечался через 24 часа после приема. Более полярный Каротиноиды - кантаксантин, принятый в той же дозе, появлялся в крови телят значительно раньше - через 9 часов, но его максимальная концентрация в сыворотке была в 10 раз ниже, чем концентрация  $\beta$ -каротина, что говорит о его низкой биодоступности [24]. Более низкая биодоступности кантаксантина и *цис*-формы  $\beta$ -каротина отмечалась в экспериментах на хорьках [14,27].

Сравнение *цис*- $\beta$ -каротина и *транс*- $\beta$ -каротина проведено на добровольцах при назначении препарата из водоросли *Dunaliella bardawil*, состоящего из равных количеств *цис*- и полностью *транс*-изомеров  $\beta$ -каротина. Через 2 недели после ежедневного приема препарата концентрация *транс*- $\beta$ -каротина в плазме возрастала в 4 раза, через месяц в моноядерных клетках - в 2-3 раза, в то же время *цис*- $\beta$ -каротина в клетках крови не был обнаружен, а в плазме повышение его составило 10% от уровня *транс*-изомера [28]. Для объяснения этого выдвигаются различные гипотезы [26]. Низкая биологическая активность *цис*-изомеров  $\beta$ -каротина обнаружена в эксперименте на крысах [29]. Считают, что изомеризация *транс*-формы  $\beta$ -каротина в *цис*-, которая может происходить при технологических операциях, таких как термическая обработка, снижает биодоступность и биологическую активность  $\beta$ -каротина [20]. О биодоступности других каротиноидов имеются единичные сообщения. Так, отмечается хорошая биодоступность  $\beta$ -каротина и  $\alpha$ -каротина из фруктово-ягодного концентрата, содержащего 8,5 мг  $\beta$ -каротина, 3,5 мг  $\alpha$ -каротина и 0,5 мг ликопина. Через 2 недели у добровольцев

уровень  $\beta$ -каротина и  $\alpha$ -каротина в плазме крови возрастал в 2-3 раза по сравнению с базовым, но уровень ликопина повышался незначительно [30].

Не обнаружено повышения уровня ликопина в плазме крови добровольцев после употребления неподогретого томатного сока, где ликопин содержится в виде полностью *транс*-изомера. После приема подогретого сока концентрация ликопина повышалась до 200 нмол/л с максимумом через 24-48 часов и периодом полувыведения 2-3 дня. Соотношение *транс*- и *цис*-изомеров было 2:1. Нагревание томатного сока сопровождалось не только высвобождением ликопина из белковых комплексов, но и изомеризацией 20-30% *транс*-изомера в *цис*-формы [26]. В отличие от  $\beta$ -каротина, *цис*-формы ликопина хорошо абсорбируются. Отмечен высокий уровень *цис*-формы ликопина - 58-73% от суммы ликопина в сыворотке крови пациентов после употребления томатов и томатной пасты с содержанием 9-21% *цис*-изомера и 79-91% - *транс*-изомера ликопина [31].

#### **Биоконверсия Каротиноиды.**

Биоконверсия или превращение Каротиноиды в витамин А в организме происходит по двум механизмам: путем расщепления молекулы по центральной  $\pi$ -связи с образованием ретинола или эксцентрическим расщеплением по периферическим  $\pi$ -связям с образованием апо-каротиналей и ретиноевых кислот [13,23]. Биоконверсия основной массы Каротиноиды происходит по первому механизму, поэтому рассмотрим его подробнее на примере  $\beta$ -каротина и под термином "биоконверсия" в дальнейшем будем подразумевать превращение  $\beta$ -каротина в ретинол.

Абсорбированный  $\beta$ -каротин в слизистой тонкого кишечника подвергается окислительному расщеплению по центральной  $\pi$ -связи под влиянием молекулы кислорода и фермента  $\beta$ -каротин-15-15'-диоксигеназы (ДОГ) с образованием ретиналя, который восстанавливается в ретинол в присутствии фермента ретинальдегидредуктазы (РАР). Образующийся ретинол этерифицируется насыщенными жирными кислотами в РЭ, вероятно, с участием ацил-КоА и фермента ацил-КоА-ретинилтрансферазы [13]. Степень и скорость биоконверсии регулируются активностью ДОГ и клеточным ретинол-связывающим белком (КРСБ). Возможно существование внутриклеточных транспортных механизмов, направляющих Каротиноиды к расщепляющим ферментам [20]. ДОГ расщепляет многие Каротиноиды, включая  $\beta$ -апо-каротинали, только с образованием ретиналя. ДОГ выделен из цитозоля кишечника и печени в 1965 г. и охарактеризован двумя независимыми группами. В очищенном виде он нестабилен, имеет оптимум рН 7,5-8,5,  $K_m$  в интервале 2-10 мМ, ингибируется ионами железа, хелатирующими агентами и сульфгидрил-связывающими веществами. Активность ДОГ зависит от статуса витамина А и от содержания белков в пище. Она снижается при низком потреблении белков. Таким образом, расщепление Кд регулируется гомеостатически, поэтому даже при употреблении высокой дозы Каротиноиды не наблюдается гипервитаминоза А [17]. Выдвигается гипотеза, что процесс расщепления  $\beta$ -каротина может регулировать КРСБ II типа, предотвращая избыточный синтез витамина А [20]. Потребности организма в витамине А в значительной мере удовлетворяются за счет Каротиноиды пищи. У человека более 50% витамина А образуется из Каротиноиды и, частично, из ретиноидов, содержащихся в мясных продуктах пищи в виде РЭ. РЭ абсорбируются слизистой кишечника и на ворсинках гидролизуются с образованием ретинола. Дальнейшее превращение ретинола в РЭ происходит аналогично выше рассмотренному процессу.

#### **Транспорт РЭ в печень.**

Ретинил эфиры, образовавшиеся из Каротиноиды и Рд, связываются с ХМ и транспортируются через лимфу в общий кровоток, где происходит липолитическое удаление триглицеридов. ХМ остатки, обогащенные холестерином и РЭ, практически полностью поступают в печень, по-видимому, путем рецепторного эндоцитоза. В печени происходит лизосомальная деградация остатков, гидролиз РЭ

и последующая ретерификация с образованием гепатических РЭ, главным образом в виде пальмитатов. Печеночные РЭ депонируются в паренхимной и непаренхимной тканях печени, локализуясь в липидных каплях звездчатых клеток [13]. Резервы витамина А в печени составляют около 90% от общего количества (200 мг) в организме [32].

#### **Мобилизация витамина А из печени в кровь.**

Из печени в кровь витамин А поступает после гидролиза РЭ в виде ретинола в комплексе с ретинолсвязывающим белком (РСБ) и преальбумином в эквимолярных соотношениях [13].

Мобилизация ретинола - регулируемый процесс, который контролируется, главным образом, скоростью синтеза и секреции РСБ. Дефицит ретинола специфически блокирует секрецию РСБ. Синтез и метаболизм РСБ находятся также под эндокринным контролем. Уровни РСБ и преальбумина в плазме могут служить эффективным клиническим тестом функционального статуса печени. РСБ синтезируется, секретируется паренхимными клетками печени и быстро комплексируется с ретинолом и преальбумином. РСБ выделен в 1968 г. и хорошо изучен в ряде лабораторий. РСБ человека имеет мол. массу 21000-22000, состоит из одной полипептидной цепи, на которой имеется определенный участок для связывания 1 молекулы ретинола. Из плазмы млекопитающих и птиц выделены близкие по структуре РСБ. Дефицит белка и цинка в рационе задерживает синтез РСБ, а при дефиците РСБ нарушается мобилизация ретинола из печени и выход его в кровь. В норме содержание РСБ в крови взрослых мужчин - 47 мкг/мл, у женщин - 42 мкг/мл. В транспорте ретинола вместе с РСБ участвует преальбумин (мол. масса 53000) концентрация которого в крови взрослого составляет 200-300 мкг/мл [13]. Предполагают, что преальбумин предохраняет РСБ от почечной фильтрации и экскреции с мочой. ПА также участвует в связывании и транспорте тиреоидных гормонов. РСБ обеспечивает соллобализацию гидрофобных молекул ретинола, защиту их от окисления, транспорт и перенос ретинола в ткани. По-видимому, РСБ предотвращает мембрано-токсическое действие свободного ретинола. Ретинола в свободном виде, в крови не обнаружен. Нормальные уровни ретинола в крови - 0,5-0,6 мкг/мл, что составляет 1% от общего количества, в других органах и тканях, не считая печень - около 9% [32]. 90% витамина А в плазме находится в виде ретинола и 10% - в виде РЭ. Транспорт РЭ в крови осуществляется В-липопротеинами.

На уровень ретинола в плазме крови влияют физиологические, диетические (пищевые), клинические и генетические факторы. У новорожденных его содержание минимальное и достигает обычных количеств к 1-4 годам. Общая концентрация ретинола в печени пропорциональна его количеству, поступающему с пищей, но эта зависимость не совсем линейна. Когда резерв ретинола в печени достигает 80 мкг/г, значительно возрастает выделение метаболитов А с желчью. При низком потреблении витамина А резервирование его в печени низкое, так как большая часть поступающего в организм ретинола используется для выполнения его биологических функций. Когда содержание витамина А в печени находится в интервале 20-300 мкг/г, уровень витамина А в крови контролируется гомеостатически. При понижении концентрации витамина А в печени ниже 20 мкг/г уровень ретинола в плазме резко снижается, а при превышении 300 мкг/г - резко увеличивается. При усиленном поступлении витамина А в кровь его концентрация может превышать 3 мкг/мл, в этом случае витамин А в плазме содержится главным образом в виде РЭ, т.е. за исключением сильного дефицита или избытка, уровень витамина А не является индикатором обеспеченности организма [32]. При избыточном поступлении ретинола в организм наблюдается насыщение тканей, так называемый "потолочный эффект" с явлениями токсичности.

Нами показано, что после приема высоких доз (1 млн. МЕ) ретинилацетата у доноров и онкологических больных наблюдается значительное повышение уровня ретинола в плазме крови через 3-6 часов с нормализацией через 24-48 часов [33]. При этом отмечается изменение функциональных показателей печени, особенно

выраженное у больных. Повышается активность аланин- и аспартаттрансферазы, снижается уровень пролиферативной активности клеток. В то же время не обнаружено повышения уровня ретинола в плазме крови после приема сверхвысокой дозы  $\beta$ -каротина - 2000 мг, тогда как физиологическая потребность организма составляет 5-6 мг. Уровень  $\beta$ -каротина в плазме повышался в 2 раза с максимумом через 24 часа и сохранялся в течение недели. При этом не замечено изменений функциональной активности печени и других токсических нарушений [33]. Эти данные подтверждают гипотезу о гомеостатическом блокировании избыточного синтеза витамина А из  $\beta$ -каротина.

#### Транспорт Каротиноиды и ретинола в органы и ткани.

До настоящего времени нет ясности в механизмах переноса Каротиноиды во все ткани, кроме печени. Происходит ли транспорт их ХМ перед поступлением в печень или Каротиноиды поступают в другие ткани из печени через кровь? Неизвестны факторы, влияющие на поступление Каротиноиды в ткани и рециклизацию их из тканей в кровь, а также механизмы мобилизации, биоконверсии и взаимопревращения Каротиноиды, депонированных в печени и жировой ткани.

Наблюдаются значительные видовые отличия в усвоении и распределении Каротиноиды в животном организме. Пока неизвестно, происходит ли их взаимопревращение и в каких органах оно может осуществляться. Существует мнение, что интактный  $\beta$ -каротин способны усваивать только люди и некоторые виды животных (рогатый скот, лошади, птицы, хорьки), а, так называемые "беложирные" животные, у которых не депонируется  $\beta$ -каротин в жировой ткани (мышцы, крысы, кролики, собаки, козы, овцы) усваивают  $\beta$ -каротин только после его биоконверсии. У таких животных в плазме крови  $\beta$ -каротин не обнаруживается или обнаруживается в следовых количествах без ответа на физиологические дозы [20,34,35]. Хотя, при длительном применении или после однократного приема массивных доз, удается обнаружить кратковременное повышение уровня  $\beta$ -каротин в плазме грызунов и, особенно, в печени [34,36,37].

Shapiro с соавт. [38] исследовали накопление  $\beta$ -каротина в органах и тканях крыс при длительном (20 недель) добавлении его в корм в количестве 0,002-0,02-0,2%. Наибольшую концентрацию  $\beta$ -каротина обнаружили в печени с максимумом через 2 недели. После отмены препарата уровень  $\beta$ -каротина в тканях быстро снижался. В надпочечниках и яичниках обнаружена концентрация  $\beta$ -каротина 38 и 15 мкг/г соответственно, но насыщения не было достигнуто в течение всего периода наблюдения. После отмены препарата уровень  $\beta$ -каротина медленно снижался. В других органах и тканях (легкие, сердце, почки, кожа, мозг, мышцы) концентрация  $\beta$ -каротина была значительно ниже: 0,029-0,35 мкг/г, - в жировой ткани БК не обнаружен. Насыщение плазмы происходило очень быстро - через 3 дня (у людей обычно через 12 суток), достигая концентрации 0,25 мкг/мл, которая оставалась постоянной в течение кормления, но быстро снижалась после отмены препарата.

В наших экспериментах [37] не удалось зафиксировать повышения уровня  $\beta$ -каротин в плазме крови мышей и крыс при длительном обогащении потребляемого ими корма, тогда как в печени уровень  $\beta$ -каротина возрастал соответственно в 1,5 и 6 раз. При однократном применении высоких доз  $\beta$ -каротина, мг/кг: 10 (поросята), 250 (собаки), 1000 (крысы), 1800 (мышь) - наблюдалось кратковременное появление  $\beta$ -каротина в плазме поросят и собак с максимумом через 24-48 часов (5,6 мкг/дл), крыс - через 1,5 часа (8,4 мкг/дл), мышь - через 10 и 30 минут (27,3 и 20,2 мкг/дл) [36]. Очевидно, при использовании высоких доз  $\beta$ -каротина может пассивно всасываться и транспортироваться через лимфу в печень и другие органы. Добавление 0,5 г/кг  $\beta$ -каротина в корм цыплятам в течение 6 недель сопровождалось повышением его уровня в плазме в 4 раза, но основная масса  $\beta$ -каротина аккумуляровалась в печени, особенно в митохондриях [39]. Одновременно обнаружено достоверное повышение в печени уровня витамина Е - в

4 раза и А - в 7 раз, в митохондриях - соответственно в 1,4 и 3,8 раза. В плазме концентрация этих витаминов не изменялась. Интересно, что на фоне низкой концентрации β-каротина в мембранах, молярное отношение вит. Е: β-каротин оставалось постоянным - 80:1 - как в контроле, так и в опыте. Нахождение β-каротин в мембранах клеток и сопутствующее повышение в них витамина Е при кормлении птиц β-каротином свидетельствует об участии последнего совместно с витамином Е в защите мембран от окислительного повреждения и более экономном расходовании витамина Е, в результате чего его уровень в печени возрастает. Увеличение же концентрации витамина А в печени объясняется превращением или биоконверсией. Целый ряд исследований, посвященных изучению процессов биоконверсии [17,40], убедительно показали, что превращение в витамин А принятого с пищей β-каротина происходит в стенке тонкого кишечника, а не в печени, как считали ранее. При парентеральном введении β-каротина не происходит его биоконверсии даже у вит. А-дефицитных животных, хотя в печени уровень β-каротина повышается.

Ретинол поступает в органы и ткани с кровью в виде комплекса с РСБ и преальбумином. Предполагают, что рецепторы клеточных мембран воспринимают только комплекс ретинола с РСБ, а не свободный ретинол. В клетках ретинол ферментативно окисляется до ретиналя и ретиноевой кислоты. Ретиналь занимает ключевое положение в обмене А, необратимо окисляясь в ретиноевую кислоту или подвергаясь обратимому восстановлению в ретинол. Из различных тканей животных и печени человека выделены водорастворимые внутриклеточные белки, связывающие ретинол и ретиноевая кислота (КРСБ и КРКСБ) с мол. массой 14600, имеющие участок для связывания 1 молекулы ретинол или ретиноевая кислота. Белки имели гомологичную структуру, но отличались между собой по иммунологическим показателям и обладали ретиноид-лиганд-связывающей специфичностью. В то же время отличия КРСБ от РСБ были значительны. При исследовании распределения КРСБ в тканях крысы более высокие уровни его обнаружены в печени, почках и репродуктивных органах [13]. Ретинол и ретиноевая кислота выводятся из организма с мочой и фекалиями в виде глюкуронидов или продуктов декарбокислирования.

#### **Взаимопревращение Каротиноиды в организме.**

Имеются единичные данные о том, что в организме рыб могут превращаться в β-каротин некоторые дигидро- и дикетопроизводные β-каротина: атаксантин (3,3'-дигидрокси-4,4'-дикето-β-каротин), кантаксантин (4,4'-дикето-β-каротин), изозеаксантин (4,4'-дигидрокси-β-каротин), а также возможно превращение лютеина (3,3'-дигидрокси-β-каротин) через ангидролютеин в дегидроретинол [17]. Но механизмы этих восстановительных реакций неизвестны и не идентифицированы ферменты, участвующие в этих превращениях. Нет сведений и о превращении β-каротина в другие Каротиноиды у животных и человека.

Помимо β-каротина, в плазме крови людей методом ВЭЖХ обнаружены другие Каротиноиды: α-каротин, ликопин, зеаксантин, криптоксантин, лютеин и ряд неидентифицированных Каротиноиды (Табл. 1) [21,41]. Те же Каротиноиды, но в других соотношениях найдены в органах и тканях [41]. Считается, что профиль Каротиноиды в плазме зависит от присутствия их в пище.

#### **Факторы, влияющие на биодоступность Каротиноиды.**

Поэтапный анализ процесса усвоения Каротиноиды показывает его зависимость от множества факторов, связанных как с составом, качеством и кулинарной обработкой пищи, так и с состоянием организма, особенно наличием патологических нарушений желудочно-кишечного тракта и других органов (табл. 2). От степени биодоступность Каротиноиды зависит обеспеченность ими организма, что определяется по концентрации Каротиноиды в крови.

У людей обнаружены значительные индивидуальные различия в уровне  $\beta$ -каротина в плазме крови, как до, так и после приема каротинсодержащих препаратов [18,20,21,42,43].

Выявлены возрастные, половые и региональные различия. Например, у жителей Германии средний уровень  $\beta$ -каротина в плазме крови составляет (мкг/дл): 60 - у мужчин и 72 - у женщин; в Японии: в регионе Джакумо - 36,4 и 64, в Ширакава - 27,8 и 45,5, соответственно [10,32]. Уровень  $\beta$ -каротина в плазме крови, как правило, ниже у пожилых людей.

Уровень  $\beta$ -каротина в плазме крови значительно ниже у курящих, алкоголиков, онкологических и кардиологических больных [12,44,45,46]. При обследовании групп риска рака ротовой полости Stich e.a. [11], применив тест "слущенных клеток", обнаружили также снижение концентрации  $\beta$ -каротина в эпителии слизистой оболочки ротовой полости у курящих и употребляющих алкоголь. Низкий уровень Каротиноиды в крови связан не только с их дефицитом в пище или низкой биодоступности, но и усиленным расходом в условиях неконтролируемого свободно-радикального окисления.

Таблица 1. Содержание каротиноидов в сыворотке крови человека [21]

Каротиноиды	Концентрация каротиноидов (n = 20)			Концентрация каротиноидов (n = 14)		
	М $\pm$ $\sigma$ , мкг/дл	Пределы колебаний, мкг/дл	% от суммы каро- тиноидов	М $\pm$ $\sigma$ , мкг/дл	Пределы колебаний, мкг/дл	% от суммы каротин оидов
$\beta$ - каротин	21,4 $\pm$ 12,2	5,1 - 52,9	25,2	31,3 $\pm$ 14,8	7,6 - 57,9	20,2
Лютеин + зеаксантин	19,5 $\pm$ 6,3	11,9 - 40,7	23,0	28,4 $\pm$ 9,7	12,5 - 45,8	18,4
Ликопин	14,3 $\pm$ 12,2	0 - 41,0	16,9	39,5 $\pm$ 20,9	10,4 - 80,9	25,5
$\alpha$ -каротин	6,9 $\pm$ 5,6	1,2 - 19,7	8,1	2,2 $\pm$ 1,8	следы-6,0	1,4
Криптоксантин +прекрипто- ксантин	5,5 $\pm$ 2,9	0 - 12,4	6,4	20,0 $\pm$ 19,1	5,1-70,3	12,9
Неидентифици- рованные каротиноиды	17,4 $\pm$ 5,6	9,8 - 26,4	20,5	33,9 $\pm$ 19,8	11,8-75,7	21,9
Сумма каротиноидов	84,8 $\pm$ 28,5	31,3-131,2	100	154,8 $\pm$ 46,1	26,4-242,5	100

Пока неизвестно, почему 10-20% практически здоровых людей различных регионов уровень  $\beta$ -каротина в плазме крови не повышается в ответ на его пероральное применение [18,20,21,42]. У таких людей, как правило, ниже концентрация  $\beta$ -каротина и других Каротиноиды в плазме и выше, как полагают, риск возникновения рака, сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний [42].

Culter [47], проанализировав большой массив экспериментальных и теоретических данных, выдвинул гипотезу, что длительность жизни различных видов может определяться теми же факторами, что и чувствительность к раку. Поскольку имеется много данных о том, что  $\beta$ -каротина и ретинол могут быть важными антиканцерогенными веществами, он исследовал их уровень в плазме как функцию продолжительности жизни и показал, что имеется положительная корреляция между уровнем  $\beta$ -каротина в плазме крови (но не ретинола) и продолжительностью жизни приматов с коэффициентом корреляции  $r=0,926$  ( $p<0,01$ ). Не исключено, что при более глубоком исследовании будет обнаружена

Таблица 2. Диетические и недиеетические факторы, влияющие на всасывание и использование каротиноидов [20]

ФАКТОРЫ			
N	Диетические факторы	N	Недиетические факторы
1.	Перевариваемость пищевого матрикса	1.	Заболевания кишечника, сопровождающиеся плохой абсорбцией
2.	Размер частиц пищи	2.	Кишечные паразиты
3.	Уровень жира, секреция желчных кислот	3.	Гормональный статус
4.	Антиоксидантный уровень, особенно уровень витамина Е	3.1.	Тиреоидные гормоны
5.	Уровень и тип пищевого волокна	3.2.	Другие?
6.	Уровень каротина в пище	4.	Взаимодействие с лекарствами
7.	Взаимодействие с другими Каротиноиды	4.1.	Этанол и другие индукторы цитохромов Р450
8.	Уровень и статус белка	4.2.	Холестирамин
9.	Статус железа и цинка	4.3.	Другие?
10.	Уровень и статус витамина А	5.	Болезни печени и почек
	Другие?		

подобная корреляция между концентрацией  $\beta$ -каротина у индивидуумов и продолжительностью их жизни. Это не означает, что нужно стремиться к неоправданно высокому уровню  $\beta$ -каротина в плазме. Коррекция должна быть разумной, удовлетворяющей физиологические потребности организма. Избыточное длительное потребление любого питательного, а тем более биологически активного вещества, сопровождается нарушением физиологического равновесного состояния организма. Не удивительно, что интервенционные исследования  $\beta$ -каротина в комплексе с витамином Е в Финляндии дали негативные результаты. Там в течение 5-8 лет курящим ежедневно назначали дозу  $\beta$ -каротина (без учета Каротиноиды пищи), превышающую физиологическую потребность в 4 раза. Это сопровождалось ростом концентрации  $\beta$ -каротина в плазме почти в 20 раз и превышало максимальные уровни здоровых людей в 4-5 раз [48].

Влияние сигаретного дыма на организм еще предстоит изучить, так же как причины дефицита Каротиноиды в крови курящих, способы их коррекции и сверхвысокие уровни после длительного назначения массивных доз  $\beta$ -каротина. Известно, что сигаретный дым в газовой фазе *in vitro* разрушает в плазме Каротиноиды, витамина Е и ретинола [49]. Возможно, у курящих нарушается регуляция процессов усвоения Каротиноиды на этапах депонирования или транспорта из крови в другие органы.

По нашим данным, у курящих даже после 1,5 месяца приема умеренных доз  $\beta$ -каротина в комплексе с витаминами Е и С уровень  $\beta$ -каротина в плазме крови возрастал в несколько раз. В первый год после начала рандомизированных исследований в группе, принимающей витаминный препарат, на фоне позитивных изменений состояния здоровья было больше отказов от курения вообще или сокращений количества выкуриваемых сигарет, чем в группе, принимающей плацебо [50].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** 1. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о влиянии различных факторов экзогенного и эндогенного характера на биодоступность Каротиноиды, что необходимо учитывать как при разработке новых пищевых добавок и фитопрепаратов на их основе, так и медицинских рекомендаций по назначению и использованию их в качестве адаптогенных средств.

2. В процессе эволюции в организме сформировалась система регуляции поступления и усвоения Каротиноиды при участии метаболических ферментов и транспортирующих белков. Однако, механизмы весьма сложны и во многом еще неясны.

Неизвестны процессы взаимопревращения различных Каротиноиды, а также Каротиноиды и Рд в печени и других органах и тканях, причины меж-, внутривидовых и индивидуальных вариаций процессов всасывания и транспорта.

Требуются дополнительные исследования механизмов усвоения Каротиноиды для того, чтобы направленно менять их биологическую активность.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Цагарейшвили Г.В. (1986). Технологические аспекты повышения биодоступности действующих веществ и лекарственных средств. Тбилиси.
2. Карнаухов В.Н. (1988). Биологические функции каротиноидов. Москва; 197.
3. Moore Th. (1930). *Biochem. J.* 24, 692-702.
4. Zhang L.X., Cooke R.V., Bertram J.S. (1992). *Cancer Res.*, 52(15), 5702-5712.
5. Каротиноиды в онкологии (1992). Материалы симпозиума ОНЦ РАМН. Москва.
6. Сергеев А.В., Вакулова Л.А., Шашкина М.Я., Жидкова Т.А. (1992). *Вопр. мед. химии*, № 6, 8-12.
7. Canfield L.M., Krinsky N.I., Olson J.A. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.* 691, 295.
8. Hankin J.H., Marchand L.L., Kolonel L.N., Wilkens L.R. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.* 691, 68-75.
9. Ziegler R.G. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 110-119.
10. Shibata A., Sasaki R., Ito Y. et al. (1989). *Int. J. Cancer*, 44, 48-52.
11. Stich H.F., Hornby A.P., Dunn B.P. (1986). *Int. J. Cancer*, 37, 389-393.
12. Suzuki S., Sasaki R. et al. (1991). *РЖ "Онкология"*; 1ж478.
13. Goodman D.S. (1984). *J. Nat. Cancer Inst.*, 73(6), 1375-1379.
14. Parker R.S., Swanson J.E., Marmor B. et al. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 86-95.
15. Solomons N.W., Bulux J. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 96-109.
16. Dimitrov N.V., Meyer Ch., Ullrey D.E. et al. (1988). *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, 298-304.
17. Olson J.A. (1989). *J. Nutr.*, 119, 105-108.
18. Brown E.D., Micozzi M.S., Craft N.E. et al. (1989). *Am. J. Clin. Nutr.*, 49(6), 1258-1265.
19. Masaki K., Doi T., Ynge K. et al. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 290-292.
20. Erdman J.W., Bierer T.L., Gugger E.T. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 76-85.
21. Якушина Л.М., Малахова Э.Н., Шкарина Т.Н. и др. (1995). *Вопр. мед. химии*, 41(4), 36-41.
22. *Dietary fiber reduces  $\beta$ -carotene utilization* (1987). *Nutr. Rev.* 45(11), 350-352.
23. Krinsky N.I., Wang X.D., Tang G., Russell R.M. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 167-175.
24. Bierer T.L., Merchen N.R., Nelson D.R., Erdman J.W. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 226-228.
25. Ribaya-Mercado J.D., Lopez-Miranda J., Ordovas J.M. et al. (1994). *Ann. N Y Acad. Sci.*, 691, 232-237.
26. Stahl W., Schwartz W., Sies H. (1993). *Int. Symp. on Antioxidants and Disease Prevention*. Stockholm, Sweden; pp. 23-24.
27. White W.S., Peck K.M., Ulman E.A., Erdman J.W. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 229-231.
28. Tamai H., Murata T., Morinobu T. et al. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 238-240.
29. Weiser H., Riss G., Biesalski H.K. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 223-225.
30. Carughi A., Hooper F. (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, 691, 244-245.
31. Clinton S., Emenhiser C., Schwartz S. et al. (1996). *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 5(10), 823-833.
32. Olson J.A. (1984). *J. Nat. Cancer Inst.* 73(6), 1439-1444.

33. *Сергеев А.В.* (1986). Иммунофармакология и механизм действия неспецифических противоопухолевых иммуномодуляторов. Дисс. докт. мед. наук. М.; 265-275.
34. *Скурихин В.Н., Шабает С.В.* (1996). Методы анализа витаминов А, Е, Д и каротина в кормах, биологических объектах и продуктах животноводства. Химия. М.; 86.
35. *Ribaya-Mercado J.D., Holmgren S.C., Fox J.G., Russell R.M.* (1989). *J. Nutr.* **119**, 665-668.
36. *Шелепова В.М., Шашкин П.Н., Шашкина М.Я. и др.* (1992). *Вопр. мед. химии*, №6, 25-27.
37. *Шелепова В.М., Шашкин П.Н., Шеренетиева Н.И. и др.* (1992). Материалы симпозиума "Каротиноиды в онкологии". М.; 120-125.
38. *Shapiro S.S., Mott D.J., Machlin L.J.* (1984). *J. Nutr.*, **114**, 1924-1933.
39. *Maayne S.T., Parker R.S.* (1986). *Lipids.*, **21**, 164-169.
40. *Glover J., Goodwin T.W., Morton R.A.* (1948). *Biochem. J.*, **43**(4), 512-518.
41. *Parker R.S.* (1989). *J. Nutr.* **119**, 101-104.
42. *Bowen P.E., Garg V., Stacewicz-Sapuntzakis M. et al.* (1994). *Ann. NY Acad. Sci.*, **691**, 241-243.
43. *Tangney Ch.C., Shekelle R.B., Raynor W. et al.* (1987). *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**, 764-769.
44. *Polan P.R., Mikal M.S., Basu J., Romney S.L.* (1991). *Nutr. Cancer.*, **15**(1), 13-20.
45. *Smith A.H., Waller K.D.* (1991). *Am. J. Epidemiol.* **133**(7), 661-671.
46. *Stahelin H.B., Gey K.F., Eichholzer M., Ludin E.* (1991). *Am. J. Clin. Nutr.* **53**(Suppl. 1), 265S-269S.
47. *Culter R.G.* (1984). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 7627-7631.
48. *Heinonen O.P., Albanes D.* (1994). *New Engl. J. Med.*, **330**(15), 1029-1035.
49. *Handelman G., Packer L., Gross C.* (1996). *Am. J. Clin. Nutr.*, **63**(4), 559-565.
50. *Levshin V., Drozhachikh V., Sergeev A., Shashkina M., Mkrtychjan T.* (1997). *Vesio chemoprofilaktika. Materials of the Conference. Vilnius, Lithuania*, 22.

Поступила 29.04.98г.

#### BIOLOGICAL AVAILABILITY OF CAROTENOIDS

M.YA. SHASHKINA, P.N. SHASHKIN, A.V. SERGEEV

Blokhin Cancer Research Centre, Russian Academy of  
Medical Sciences, Moscow 115478, Kashirskoye Shosse 24  
phone/fax (095) 3242404

The review analysis of the gradual process of the assimilation of carotenoids in the living organism depending upon various factors of both external and internal environment is given.

Elucidation of intime mechanisms of uptake of carotenoids can be of both theoretical and practical significance. It will allow to modify the composition of carotenoids-based drugs, dietary additives and balanced diets, to work out the recommendations on its dosage regimen for different groups of people.

**Key Words:** biological accessibility, canotene, vitamin A, carotenoids.