

СОДЕРЖАНИЕ РЕТИНОЛА, α -ТОКОФЕРОЛА И ГЛУТАТИОНА В ОРГАНАХ КАБАНА (*SUS SCROFA* L.), ОБИТАЮЩЕГО НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ

© 2023 г. И. А. Зайцева^{1,2,*}, И. В. Баишникова¹, Д. В. Панченко¹, С. Н. Калинина^{1,2},
Т. Н. Ильина¹, Е. П. Антонова¹

¹Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ “Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия

²Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

*e-mail: ira.irmita@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.03.2023 г.

После доработки 07.04.2023 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

Фенотипическая пластичность и устойчивость к климатическим условиям позволили кабану (*Sus scrofa* L.) расширить свой исторический ареал, отодвинув его северную границу. В процессах адаптации животных к обитанию на периферии ареала в условиях севера большое значение имеет обеспеченность витаминами А и Е, которые являются природными антиоксидантами, а также выполняют в организме ряд других биологических функций и необходимы для роста, размножения и поддержания иммунитета. Цель данного исследования состояла в изучении содержания ретинола, α -токоферола, и низкомолекулярного антиоксиданта глутатиона (GSH) в печени, почках, сердце, скелетной мышце, легких и селезенке кабанов ($n = 65$) в возрасте от 0.5 года до 8 лет, обитающих на северо-западе России. Полученные результаты указывают на то, что исследованные животные практически не отличались по обеспеченности ретинолом от кабанов, обитающих в центре и на юге Европы, но характеризовались более низким уровнем α -токоферола в изученных органах, что связано, вероятно, с ограниченностью кормовых ресурсов и суровыми климатическими условиями в холодный период года на севере. Уровни витаминов и GSH в большинстве органов и тканей были сопоставимы у сеголетков и взрослых животных. С возрастом наблюдалось накопление ретинола и α -токоферола в печени и почках, а также α -токоферола в сердце кабанов, что характерно и для других видов млекопитающих. Повышение уровня GSH было зафиксировано в легких у животных в возрасте старше 5 лет. Выявленный витаминный статус, который сформировался у кабана в условиях северо-запада России, и особенности возрастной динамики исследуемых показателей могут являться одним из свидетельств успешной адаптации этого вида к обитанию на северной периферии ареала, что подтверждается ростом его численности.

Ключевые слова: кабан, ретинол, α -токоферол, глутатион, витаминный статус, периферия ареала

DOI: 10.31857/S0044452923030105, **EDN:** YICWRG

ВВЕДЕНИЕ

Дикий кабан (*Sus scrofa* L.) является важным звеном в цепях взаимодействия природных объектов, его роль в биоценозах носит разносторонний характер. На северо-западе России этот вид появился в середине прошлого столетия, и на сегодняшний день его численность в Республике Карелия составляет около 1.5 тыс. особей [1, 2]. Существование кабана на данной территории лимитируют нивальный и трофический (крайняя скудость естественных кормов) факторы [1]. Однако фенотипическая пластичность, способность адаптироваться к меняющимся условиям окружающей среды, высокая репродуктивная успешность и устойчивость к климатическим условиям [3, 4] позволяют виду выживать и увеличивать свою численность. Ключевую роль в

поддержании обменных процессов в организме играет питание, поэтому всеядность кабана во многом обеспечивает выживание вида в экстремальных северных условиях. Среди животных, не впадающих в зимнюю спячку, кабан считается одним из наиболее приспособленных к накоплению жировых резервов. Он способен аккумулировать до 20–25% жира, который представляет собой ценнейший запас питательных веществ, а также защищает организм от переохлаждения [5]. Эта способность является, вероятно, одним из факторов, благоприятствующих наблюдаемой экспансии кабана на северо-запад России, которая может быть объяснена многолетними (вековыми) периодически колебаниями ареала и численности вида [2].

В природно-климатических условиях Севера одним из показателей адаптационных резервов ор-

ганизма является обеспеченность жирорастворимыми витаминами А и Е, которые поступают в организм с пищей и играют важную роль во многих биологических процессах [6]. Витамин А доставляется в ткани в виде ретинола и осуществляет свои функции преимущественно посредством двух метаболитов – ретиналя и ретиноевой кислоты [7]. Ретиналь необходим для зрения, участвует в синтезе пигмента родопсина. Ретиноевая кислота – наиболее активная форма витамина А – регулирует экспрессию генов и участвует в пролиферации и дифференцировке клеток, процессах роста, развития, размножения, иммунных реакциях [8]. Витамин Е является важнейшим природным антиоксидантом, иммуномодулирующим и противовоспалительным агентом принимает участие в клеточном сигналинге и регуляции транскрипции генов [9]. Основной биологически активной формой этого витамина является α -токоферол. Кроме того, благодаря антиоксидантным свойствам [10, 11], витамины А и Е участвуют в адаптационных реакциях организма, препятствуя чрезмерной активации процессов свободнорадикального окисления, например, при воздействии холода [12]. Важный вклад в функционирование антиоксидантной системы (АОС) вносит восстановленный глутатион (GSH, γ -глутамил-цистеинил-глицин) – самый распространенный тиол живых клеток. Он играет роль в реализации многих клеточных функций, зачастую посредством регуляции редокс-гомеостаза клетки, которая заключается во взаимопревращении восстановленной сульфгидрильной и окисленной дисульфидной форм [13]. Также GSH является ко-фактором антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионредуктазы, а также участвует в восстановлении α -токоферола и аскорбиновой кислоты [13, 14].

Биохимические маркеры витаминного статуса и уровень GSH могут рассматриваться в качестве критерия оценки адаптационной приспособленности к природным и климатическим условиям Севера [6]. Уровни витаминов в тканях животных могут информировать об адекватности или недостаточности их поступления с пищей. На основании этих данных возможно будет дать практические рекомендации, которые могут использоваться при организации управления популяцией того или иного вида. Поскольку кабан является ресурсным видом, внимание исследователей сфокусировано в основном на изучении содержания витамина Е в мышечной ткани как антиоксиданта, улучшающего качество этого продукта [15–19]. В то же время сведения об уровне витаминов А и Е в других органах, в том числе и тех, с которыми связан метаболизм этих нутриентов в организме, в литературе немногочисленны [20]. Ранее нами было проведено пилотное исследование антиоксидантного и витаминного статусов у кабанов, обитающих в одном

из районов Карелии [21]. В данной работе представлены результаты расширенного исследования содержания ретинола (витамин А), α -токоферола (витамин Е), а также GSH в органах и тканях кабанов разного возраста и пола, охватившего три района северо-запада России (Лахденпохский и Сортавальский районы Республики Карелия и Приозерский район Ленинградской области).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биологический материал был получен от кабанов, добытых в результате легальной охоты, поэтому для исследования не требовалось одобрения биоэтического комитета ИБ КарНЦ РАН. Сроки охоты в Республике Карелия и Ленинградской области были определены в соответствии с Приказом Минприроды России (от 16.11.2010 г. № 512 “Об утверждении Правил охоты”), Указом главы Республики Карелия (от 20.09.2012 г. № 122 “Об определении параметров осуществления охоты в охотничьих угодьях на территории Республики Карелия, за исключением особо охраняемых природных территорий федерального значения”) и Постановлением губернатора Ленинградской области (от 29.12.2012 г. № 145-пг “Об определении видов разрешенной охоты и параметров осуществления охоты на территории Ленинградской области”). Охота проводилась в Карелии с 1 июня по 31 декабря, а в Ленинградской области с 1 июня по 28 (29) февраля. Лабораторные исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

Объект исследования. Исследование проведено на кабанах обоих полов в возрасте от 0.5 до 8 лет, обитающих в Лахденпохском и Сортавальском районах Республики Карелия и Приозерском районе Ленинградской области. Всего исследовано 65 животных, которые были разделены на следующие возрастные группы: 1 – поросята или сеголетки (6–10 мес, $n = 26$), 2 – подсвинки (1 год, $n = 12$), 3 – молодые (2–3 года, $n = 8$), 4 и 5 – взрослые (4 года, $n = 10$ и 5–8 лет, $n = 9$ соответственно). Возраст животных оценивали по прорезыванию зубов, форме и стачиванию клыков, резцов, а также щечных зубов [21]. Кабаны, добытые в Сортавальском районе ($n = 12$), находились на полувольном содержании. Отбор биологического материала (печень, почки, сердце, скелетная мышца, легкие и селезенка) проводили у кабанов, легально добытых в период охоты с августа по февраль 2018–2020 гг. (77% животных были добыты в холодный период с октября по февраль). Образцы тканей для исследования отбирали в течение 2–4 ч после гибели животных, далее замораживали и хранили до проведения анализа при температуре – 80°C.

Методы. Для определения содержания витаминов навески тканей (100 мг) гомогенизировали в 0.9 мл 0.25 М раствора сахарозы (рН 7.4), содержащей 0.001 М динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА- Na_2). В конические полиэтиленовые пробирки вносили 0.25 мл гомогената и добавляли 0.25 мл 0.025% раствора бутилокситолуола в этаноле, после чего тщательно смешивали содержимое пробирки для осаждения белков. Затем добавляли 0.5 мл 0.0125% раствора бутилокситолуола в н-гексане, энергично встряхивали в течение 5 минут, центрифугировали 10 минут при 3000 g и оставляли образцы на холоде (4°C) в течение 40 мин. В гексановом слое на микроколоночном жидкостном хроматографе “Миличром-6” (Россия) с УФ-детектором определяли концентрации α -токоферола и ретинола при длине волны 292 и 324 нм соответственно. Использовали хроматографическую колонку с прямой фазой (КАХ-5-80-4, Россия), элюирование проводили в изократическом режиме, скорость потока элюента 200 мкл/мин. Элюентом служила смесь гексана с изопропанолом в соотношении 98.5 : 1.5. Для построения калибровочных кривых использовали стандартные растворы ретинола и α -токоферола (Sigma, США), расчет содержания витаминов проводили методом внешнего стандарта.

Для определения содержания GSH 50 мг ткани гомогенизировали в 2 мл 0.02 М ЭДТА- Na_2 . После центрифугирования (15 мин при 5000 g) 1 мл супернатанта смешивали с 4 мл дистиллированной воды и 1 мл 50% трихлоруксусной кислоты. Смесь периодически встряхивали в течение 10–15 мин, затем центрифугировали 15 мин при 3000 g. После центрифугирования 1 мл супернатанта смешивали с 2 мл 0.4 М трис-буферного раствора, добавляли 0.1 мл реактива Элмана и встряхивали смесь. Оптическую плотность измеряли спектрофотометрически ($\lambda = 412$ нм, СФ 2000, Россия) и выражали в мкмоль/г белка. Содержание белка определяли по методу Лоури [23] с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

Статистическая обработка данных. Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами статистики в программах MS Excel и Statgraphics Plus 5.0. Для оценки различий между возрастными группами животных использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Для оценки влияния факторов “возраст” и “пол” применяли двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Влияние пола на исследуемые показатели изучали в тех возрастных группах, где это было возможно. В связи с тем, что достоверного влияния этого фактора обнаружено не было, данные по самкам и самцам для каждой возрастной группы объединены. Для выявления зависимостей и их характера между изучаемыми показателями

использовали корреляционный анализ. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. Результаты представлены в виде бокс-плотов с обозначением медиан, верхнего и нижнего квартилей, а также выпадающих значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание ретинола, α -токоферола и GSH в органах и тканях кабанов разного возраста представлено на рис. 1–3. Самое высокое содержание ретинола у исследованных кабанов обнаружено в печени, в остальных органах его уровень был значительно ниже (рис. 1). Дисперсионный анализ выявил влияние возраста на уровень ретинола в печени ($F_{(4,58)} = 4.52$, $\eta^2 = 22.75\%$, $p < 0.01$): у кабанов 3-й и 5-й возрастных групп этот показатель был достоверно выше, чем у сеголетков ($p < 0.05$). Кроме того, в почках у 2–3-летних кабанов уровень витамина был выше, чем у подсвинков, а в возрасте 5–8 лет этот показатель существенно снижился, по сравнению с особями 2–3-х лет ($p < 0.05$).

Уровень α -токоферола в органах и тканях кабанов в исследованные возрастные периоды различался незначительно (рис. 2). Более высокие значения наблюдались в печени, за исключением животных старшей возрастной группы, у которых самое значительное содержание витамина было зафиксировано в селезенке. Дисперсионный анализ выявил влияние возраста на уровень α -токоферола в сердце ($F_{(4,57)} = 3.50$, $df = 4$, $\eta^2 = 19.58\%$, $p < 0.05$): у животных 4 лет и старше этот показатель был значительно выше, чем у сеголетков ($p < 0.05$). Кроме того, в печени и в почках содержание α -токоферола у 4-летних животных было выше, чем у кабанов первого года жизни ($p < 0.05$).

Наиболее высокий уровень GSH у кабанов обнаружен в сердце и легких (рис. 3). В большинстве исследованных органов не было отмечено возрастных изменений содержания глутатиона. Дисперсионный анализ выявил влияние возраста на уровень GSH в легких ($F_{(3,17)} = 6.07$, $df = 3$, $\eta^2 = 49.48$, $p < 0.005$): у животных самой старшей возрастной группы этот показатель был значительно выше по сравнению с сеголетками и 4-летними кабанями.

Корреляционный анализ показал наличие взаимокompенсаторных (положительных и отрицательных) связей между исследуемыми показателями (рис. 4). Наибольшее число корреляций наблюдается у кабанов 4–8 лет. Обнаруженные зависимости были преимущественно положительными. Среди отрицательных корреляций обращает на себя внимание связь между содержанием ретинола и α -токоферола в скелетной мышце, которая была выявлена у животных первого года жизни и 4–8 лет.

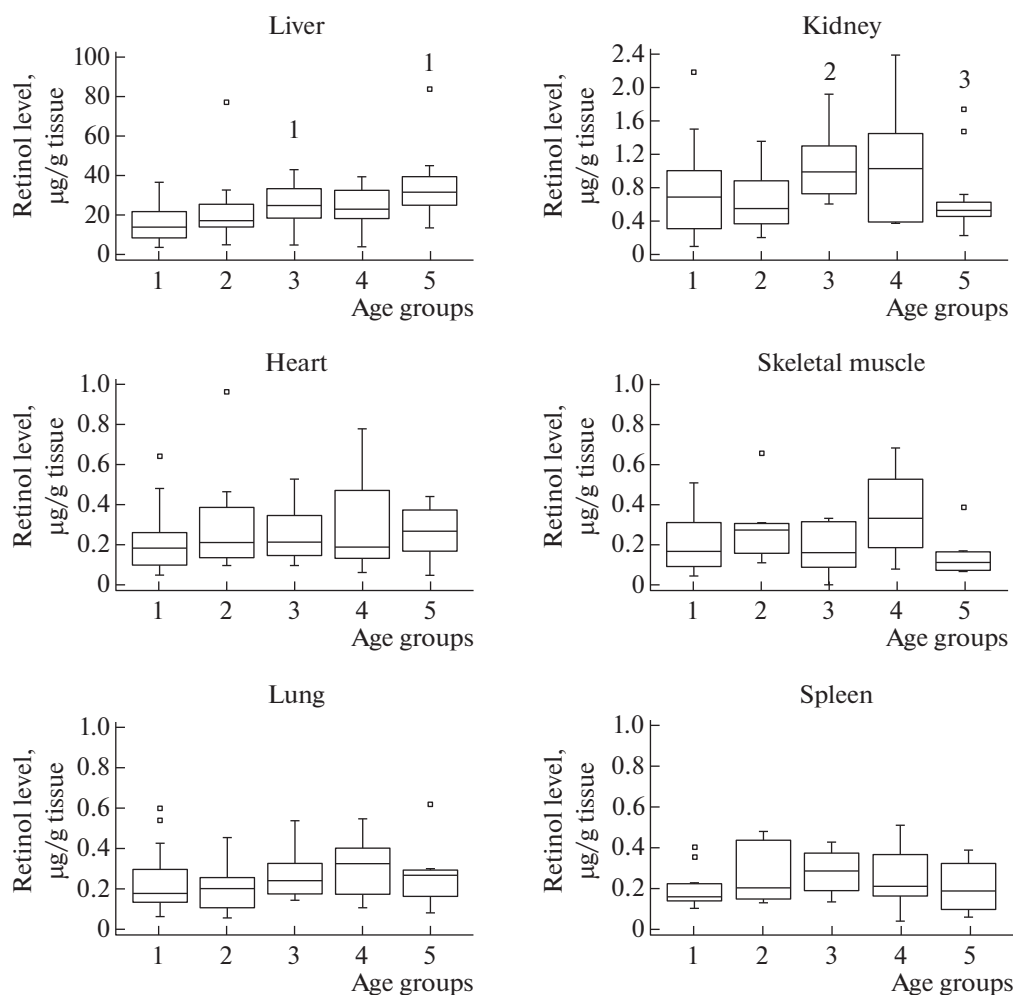


Рис. 1. Содержание ретинола в органах кабанов, обитающих на северо-западе России.

По оси абсцисс – возрастные группы (1–6–10 мес, 2–1 год, 3 – 2–3 года, 4–4 года, 5–5–8 лет); по оси ординат – содержание ретинола, мкг/г ткани. Рисунок: бокс-плоты с обозначением медиан (—), верхнего и нижнего квартилей (▭), статистического диапазона, а также выпадающих значений (□). Цифрами над бокс-плотами (1, 2, 3) обозначены достоверные различия по сравнению с соответствующими возрастными группами (U -критерий Манна–Уитни, $p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интерес к изучению уровня витаминов А и Е в организме животных, обитающих в естественных условиях, связан с важностью этих нутриентов для нормального роста, развития, размножения, поддержания иммунитета, а также их участием в адапционных процессах [8–11]. Особенно значимой их роль становится для видов на северной границе ареала в холодный период года, когда активизируется липидный обмен, с которым тесно связан метаболизм исследуемых витаминов. Суровые климатические условия (низкие температуры, глубокий снег) являются наиболее важным фактором, ограничивающим распространение кабана [24]. Геномными исследованиями установлено, что у северных популяций кабана в основе адаптации к холоду лежат процессы, связанные с термогенезом,

регуляцией дифференцировки жировых клеток и развития жировой ткани [25]. Эта ткань является одним из основных депо витаминов А и Е в организме, хотя эти резервы α -токоферола малодоступны и мобилизуются очень медленно [26]. В то же время имеются данные об участии этих витаминов в регуляции уровня и функционировании жировых запасов [26, 27].

Печень играет основную роль в гомеостазе витамина А: в гепатоцитах ретинол, который образуется из поступающих с кровью ретинолиловых эфиров, либо связывается с ретинол-переносящим белком и доставляется в ткани, либо вновь этерифицируется и аккумулируется в липидных каплях звездчатых клеток печени, где у большинства млекопитающих хранится 50–80% всего витамина А в организме [11]. Содержание ретинола в печени исследованных

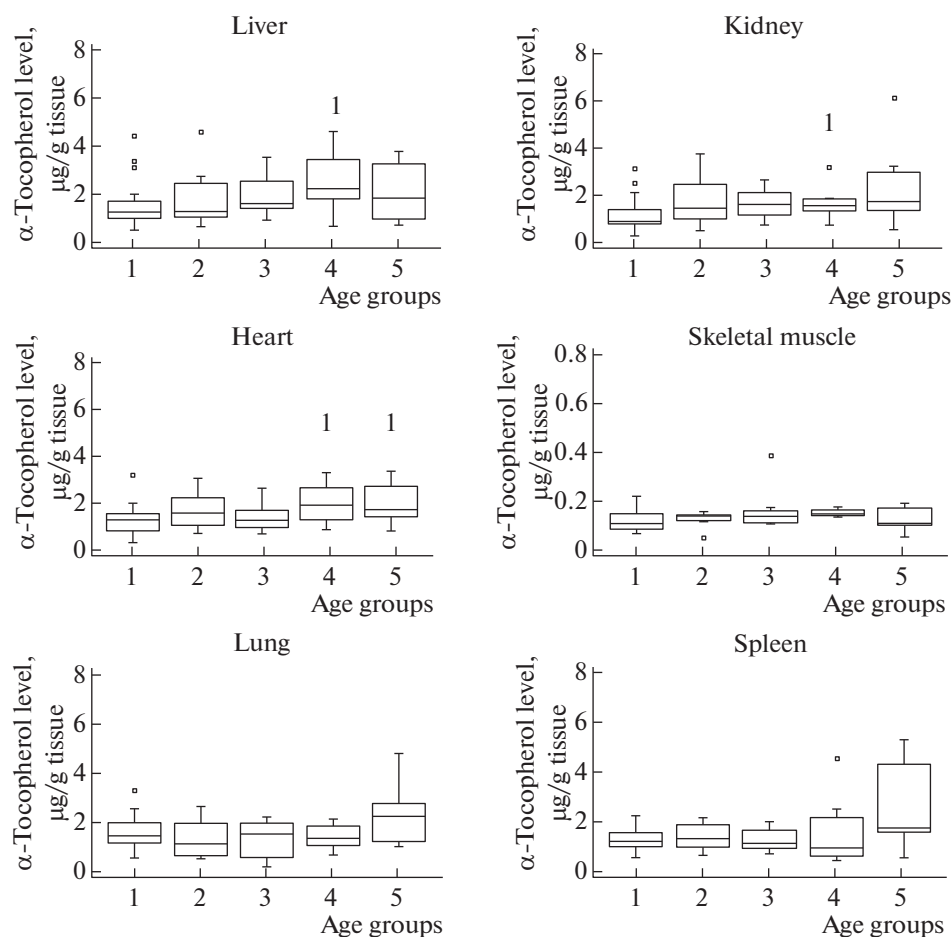


Рис. 2. Содержание α -токоферола в органах кабанов, обитающих на северо-западе России.

По оси абсцисс – возрастные группы (1–6–10 мес, 2–1 год, 3–2–3 года, 4–4 года, 5–5–8 лет); по оси ординат – содержание ретинола, мкг/г ткани. Рисунок: бокс-плоты с обозначением медиан (—), верхнего и нижнего квартилей (▭), статистического диапазона, а также выпадающих значений (□). Цифрой над бокс-плотами (1) обозначены достоверные различия по сравнению с соответствующей возрастной группой (U -критерий Манна–Уитни, $p < 0.05$).

нами кабанов разного возраста составляло в среднем от 15.39 ± 1.66 до 36.43 ± 6.75 мкг/г. Сопоставимый уровень ретинола в печени (27.17 мкг/г) наблюдался у взрослых и более низкий (3.79 мкг/г) у неполовозрелых кабанов, обитающих в Испании [20]. Среди других органов и тканей, где содержание ретинола было значительно ниже, наиболее высокие показатели были отмечены в почках (в среднем 0.63 ± 0.10 – 1.09 ± 0.23 мкг/г), которые играют важную роль в рециркуляции витамина А [28]. В сердечной и скелетной мышцах, легких и селезенке у кабанов разного возраста уровень ретинола в среднем составлял от 0.15 ± 0.04 до 0.39 ± 0.22 мкг/г. В скелетной мышце диких кабанов, обитающих в Европе, содержалось от 0.01 до 1.11 мкг/г ретинола [15, 17]. У взрослой домашней свиньи (*Sus scrofa domestica*) регулярное получение сбалансированного рациона обеспечивает более высокий уровень ретинола в печени (115.89 мкг/г), хотя в почках и легких его содержание сравнительно ниже, чем у ис-

следованных нами животных (0.27 и 0.07 мкг/г соответственно) [29].

Установленный нами уровень ретинола у кабанов на северо-западе России был сопоставимым с таковым у животных, обитающих в более мягких климатических условиях, а также у домашних свиней, что может свидетельствовать об адекватном поступлении витамина А с пищей. Это подтверждается также повышением с возрастом содержания ретинола в печени и почках исследованных кабанов. Известно, что витамин А активно используется организмом в период роста и развития, после чего часть этого нутриента накапливается в депонирующих органах [11]. Кабаны растут до 4–7 лет, но с 3-го–4-го года жизни темпы прироста уже незначительны [5]. Существенное снижение уровня ретинола в почках кабанов самой старшей возрастной группы может быть связано со структурными и функциональными изменениями этих органов, которые наблюдаются с возрастом [30].

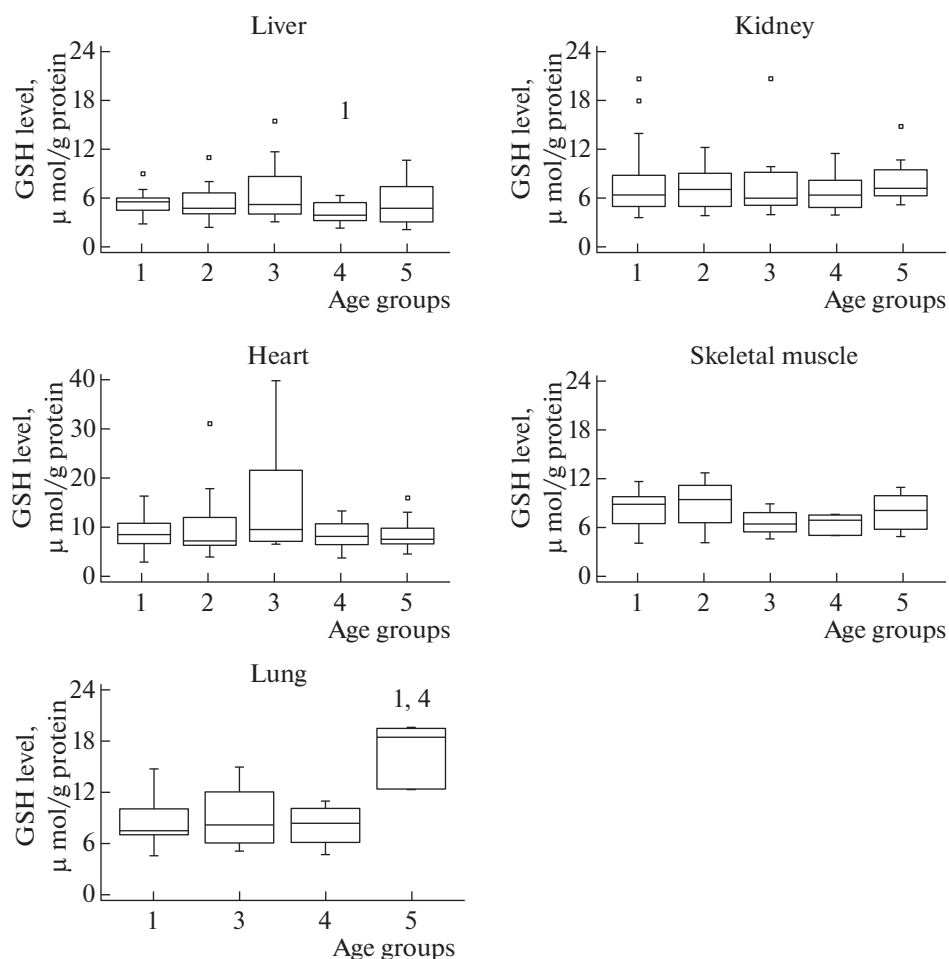


Рис. 3. Содержание GSH в органах кабанов, обитающих на северо-западе России.

По оси абсцисс – возрастные группы (1–6–10 мес, 2–1 год, 3–2–3 года, 4–4 года, 5–5–8 лет); по оси ординат – содержание ретинола, мкг/г ткани. Рисунок: бокс-плоты с обозначением медиан (—), верхнего и нижнего квартилей (▭), статистического диапазона, а также выпадающих значений (□). Цифрами над бокс-плотами (1, 4) обозначены достоверные различия по сравнению с соответствующими возрастными группами (*U*-критерий Манна–Уитни, $p < 0.05$).

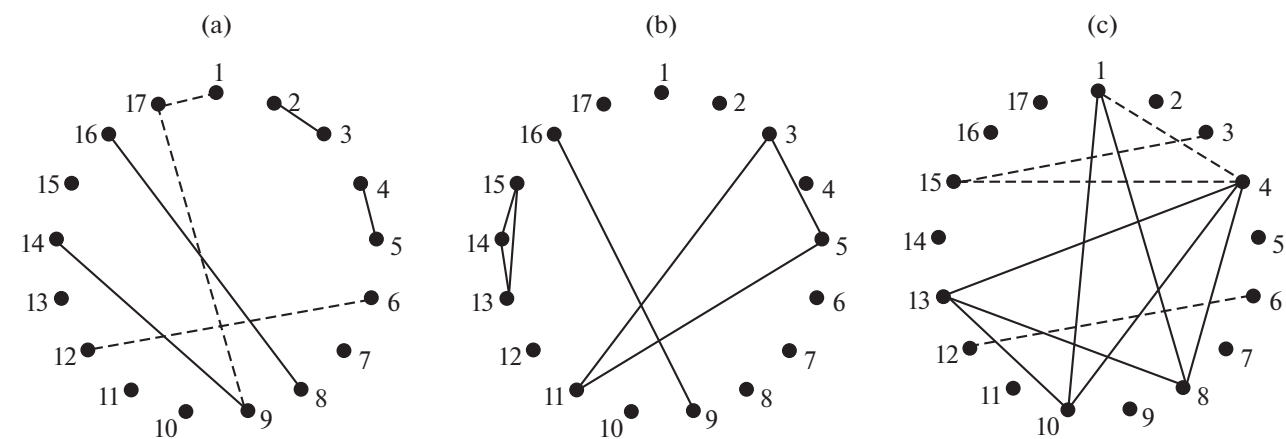


Рис. 4. Корреляционные связи между изученными показателями у кабанов разных возрастных групп.

(а) – кабаны первого года жизни, (б) – кабаны 1–3 лет, (с) – кабаны 4–8 лет; 1–содержание ретинола в печени, 2 – почках, 3 – сердце, 4 – легких, 5 – селезенке, 6 – скелетной мышце, 7 – содержание α -токоферола в печени, 8 – почках, 9 – сердце, 10 – легких, 11 – селезенке, 12 – скелетной мышце, 13 – содержание GSH в печени, 14 – почках, 15 – сердце, 16 – легких, 17 – скелетной мышце; сплошная линия – положительная корреляция, пунктирная линия – отрицательная корреляция ($p < 0.05$).

Содержание α -токоферола в исследованных органах и тканях кабанов разного возраста различалось незначительно. Наиболее высоким этот показатель был в печени (в среднем для животных разных возрастных групп от 1.59 ± 0.18 до 2.53 ± 0.37 мкг/г), что связано с регулирующей ролью органа в метаболизме витамина Е [31]. В скелетной мышце содержание α -токоферола в исследованные возрастные периоды составляло в среднем от 1.22 ± 0.09 до 1.76 ± 0.43 мкг/г. В литературе приводятся данные о более значительном уровне α -токоферола у кабанов, обитающих в регионах с теплым климатом: содержание витамина в печени животных в Испании составляло 17.57 мкг/г [32], в скелетной мышце кабанов в Португалии 15.50–19.20 мкг/г [16], тогда как в Германии этот показатель в скелетной мышце несущественно превышал полученные нами значения и составлял 1.20–4.70 мкг/г [15]. У домашней свиньи в мышечной ткани содержалось от 3.25 до 5.31 мкг/г α -токоферола [18, 33].

Основными факторами, определяющими более низкое содержание α -токоферола у кабанов, обитающих на северо-западе России, являются скудные кормовые ресурсы и суровые климатические условия в холодный период года. В исследуемом регионе основным источником витамина Е для животных являются зеленые части дикорастущих растений, а также некоторые сельскохозяйственные культуры, тогда как в условиях более мягкого климата у животных есть возможность употреблять превосходящие в питательном отношении плоды дуба, бука, каштана, лещины и различных фруктовых деревьев [34], что позволяет накапливать большее количество витамина. Следует, однако, отметить, что в тех районах, где были добыты исследованные нами кабаны, проводятся мероприятия по подкормке животных в зимний период. Низкое содержание селена в природных объектах (почва, вода, растения) Карелии [35] также может являться фактором, который негативно сказывается на статусе витамина Е у исследованных животных. Все антиоксиданты в организме функционируют согласованно, а этот элемент в составе различных селенопротеинов является важнейшим компонентом антиоксидантной системы [36]. Основная стратегия выживания кабана зимой связана со снижением уровня метаболизма, прекращением роста, уменьшением потребления корма, экономным расходованием жировых запасов, “гнездостроительством” и “коллективной терморегуляцией” [5]. Однако повышенные энергетические потребности, связанные с низкими температурами, ветром и глубоким снегом [37], способствуют активному расходованию α -токоферола. Кроме того, поскольку для обитающих в естественных условиях животных характерна более высокая двигательная активность, их мышцы содержат большее количество волокон, в которых преобладает аэробный метаболизм [38],

что также повышает интенсивность окислительных процессов и использование α -токоферола.

Поскольку витамин Е в биологических мембранах связан с липидами, его уровень в тканях зависит от их количества [39]. С возрастом наблюдается накопление липидов в тканях организма [15, 40], с этим и может быть связано зафиксированное в нашем исследовании увеличение уровня α -токоферола в печени, почках и сердце у кабанов старше 4 лет. Повышение содержания витамина в этих органах в ходе онтогенеза происходило постепенно, поскольку значимые различия у старшей возрастной группы обнаружены только с животными первого года жизни. Отсутствие возрастных изменений уровня α -токоферола в скелетной мышце согласуется с данными Dannenberger и соавт. [15], тогда как Quagesma и соавт. [16] обнаружили более высокое содержание витамина у взрослых кабанов по сравнению с сеголетками, что авторы связывают с различиями в привычках питания и скорости метаболизма у молодых и взрослых животных. Полученные нами результаты также свидетельствуют о большей вариабельности уровня α -токоферола в организме животных старшего возраста, связанные, вероятно, с такими факторами, как доступность и питательная ценность кормовых ресурсов, климатические условия и физиологическое состояние животного.

В процессе адаптации организма к воздействию низких температур значительную роль играет система антиоксидантной защиты [41]. Один из ее важнейших неферментативных компонентов, GSH, участвует в регуляции свободнорадикальных процессов, а также в модуляции синтеза ДНК и иммунной функции. У млекопитающих постоянство этого трипептида в клетках поддерживается следующими механизмами: синтез из простых молекул (*de novo*), транспорт экзогенного GSH через плазматические мембраны и восстановление из окисленной формы [42]. Наиболее интенсивный синтез GSH осуществляется в печени [43]. У кабанов на протяжении исследованных нами периодов онтогенеза статус GSH в органах и тканях практически не менялся, за исключением легких, где у животных самого старшего возраста (5–8 лет) его уровень значительно повысился. В этот же период в легких наблюдалось увеличение содержания α -токоферола, хотя различия с другими возрастными группами не были достоверными. Повышение содержания GSH может происходить как за счет активизации его синтеза при воздействии активных форм кислорода и азота [14], так и благодаря интенсивному поглощению и использованию циркулирующего GSH альвеолярными клетками [44]. Увеличение уровня витамина Е в легких в случае необходимости происходит при его мобилизации из других тканей [45]. Легкие непосредственно подвергаются действию кислорода воздуха, а также различных газов, обладающих оксидативным эффектом. Так-

же в тканях легких содержится высокое количество ненасыщенных жирных кислот, которые выступают в качестве субстрата для перекисного окисления липидов [46]. Есть сведения о важной роли легких в процессе адаптации к холоду [47]. Все это может способствовать повышению потребности легких в антиоксидантах у животных старшего возраста, обитающих в северных условиях. Продолжительность жизни кабана в природе редко превышает 10–12 лет, хотя в неволе может достигать 20 лет [5]. Проведенный нами корреляционный анализ выявил увеличение количества связей между изученными показателями у животных 4–8 лет, что может свидетельствовать о повышении функциональной нагрузки на антиоксидантную систему с возрастом.

В нашем исследовании уже на первом году жизни у кабанов содержание ретинола, α -токоферола, а также GSH в большинстве органов и тканей было сопоставимо с таковым у взрослых животных. При рождении содержание исследуемых витаминов в организме млекопитающих довольно низкое [8], а лимитирующим фактором для синтеза GSH является доступность аминокислоты цистеина [48]. Рост и развитие детенышей в большой степени зависят от условий питания, а также уровня зараженности гельминтами, но наиболее интенсивно поросята растут в течение первых месяцев жизни [5]. В этот период у молодняка домашних свиней наблюдаются значительные колебания в уровне токоферола [49]. Животные этого возраста чувствительны к воздействию холода, так как имеют плохую терморегуляцию из-за отсутствия у них бурой жировой ткани (БЖТ). Установлено [50], что около 20 миллионов лет назад в семействе Suidae был нарушен ген разобщающего белка 1 (UCP1), который экспрессируется в митохондриях БЖТ и играет важную роль в термогенезе, разобщая окисление и фосфорилирование. Предполагается, что причиной стало отсутствие или слабый отбор по этому механизму в теплом климате, а дикий кабан — единственный вид свиней, приспособившийся к умеренному климату и выработавший компенсаторные механизмы для адаптации к холоду. Так, среди копытных лишь для этого вида характерно строительство термозащитных “гнезд” для родов. Из-за меньших размеров, ограниченных резервов тела и относительно более высоких метаболических потребностей молодые особи наиболее восприимчивы к суровым условиям [37], на северо-западе России смертность в первые месяцы жизни может составлять от 34 до 70% [2]. При этом важную роль в обеспечении устойчивости организма играет состояние антиоксидантной системы, в том числе обеспеченность витаминами А и Е. Установлено, что у молодняка домашних свиней интенсивность роста после отъема связана с содержанием витамина Е в крови в подсосный период [51]. Возраст исследованных нами сеголетков составлял

около 6–10 мес. Хотя, как уже говорилось, кабаны продолжают расти до 4–7 лет [5], можно предположить, что становление основных систем, с которыми связан метаболизм витаминов А и Е у кабана происходит в течение первых 6 мес жизни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования было определено содержание ретинола, α -токоферола и GSH в органах и тканях кабанов разного возраста, обитающих на северо-западе России. Уровень витамина Е в организме изученных животных несколько ниже, по сравнению с животными, проживающими в регионах с более мягким климатом, что, вероятно, связано с ограниченностью кормовых ресурсов и климатическими условиями в холодный период года. Вместе с тем по обеспеченности ретинолом исследованные животные мало отличались от кабанов, обитающих в Европе. Содержание ретинола, α -токоферола и GSH в большинстве органов и тканей у сеголетков было сопоставимо с таковым у взрослых животных. С возрастом наблюдалось накопление витаминов А и Е в печени и почках, а также витамина Е в сердце кабанов, что характерно и для других видов млекопитающих. Повышение уровня GSH было зафиксировано в легких у животных в возрасте старше 5 лет. Выявленный статус витаминов и GSH, который сформировался у кабана в условиях северо-запада России, и особенности возрастной динамики исследуемых показателей могут являться одним из свидетельств успешной адаптации этого вида к обитанию на северной периферии ареала, что подтверждается ростом его численности.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (тема FMEN-2022-0003).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея исследования (Д.В.П., С.Н.К.), сбор биоматериала (Д.В.П.), проведение лабораторных анализов, обработка данных (И.А.З., И.В.Б., Т.Н.И., Е.П.А.), написание манускрипта (И.А.З., И.В.Б.), редактирование манускрипта (все авторы).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Панченко ДВ, Данилов ПИ, Тирронен КФ, Паасиваара А, Красовский ЮА (2019) Особенности распределения копытных млекопитающих в пределах карельской части Зеленого пояса Фенноскандии. Труды Карельского научного центра РАН 4: 119–128. [Panchenko DV, Danilov PI, Tirronen KF, Paasivaara A, Krasovsky YuA (2019) Features of ungulates distribution in the Karelian part of the Green Belt of Fennoscandia. Trans Karelian Res Centre RAS 4: 119–128. (In Russ)]. <https://doi.org/10.17076/them997>
2. Данилов ПИ, Панченко ДВ (2012) Расселение и некоторые особенности экологии кабана за северным пределом его исторического ареала в европейской части России. Экология 1: 48–54. [Danilov PI, Panchenko DV (2012) Settlement and some features of the boar ecology beyond the northern limit of its historical range in the European part of Russia. Ecology 1: 48–54. (In Russ)].
3. Castillo-Contreras R, Mentaberre G, Aguilar XF, Conejero C, Colom-Cadena A, Ráez-Bravo A, González-Crespo C, Espunyes J, Lavín S, López-Olvera JR (2021) Wild boar in the city: Phenotypic responses to urbanization. Sci Total Environ 773: 145593. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145593>
4. Żmijewski T, Modzelewska-Kapituła M (2021) The influence of age and sex on carcass characteristics and chemical composition of the longissimus thoracis et lumborum muscle in wild boars (*Sus scrofa*). Arch Anim Breed 1: 199–210. <https://doi.org/10.5194/aab-64-199-2021>
5. Данилкин АА (2002) Свиные (Suidae) М. ГЕОС [Danilkin AA (2002) Pigs (Suidae) M. GEOS. (In Russ)].
6. Корчина ТЯ, Корчин ВИ (2014) Витамины и микроэлементы: особенности северного региона. Ханты-Мансийск. Новости Югры. [Korchina TY, Korchin VI (2014) Vitamins and trace elements: features of the northern region. Khanty-Mansiysk. Ugra news. (In Russ)].
7. Van der Loo B, Labugger R, Aebischer CP, Bachschmid M, Spitzer V, Kilo J, Altwegg L, Ullrich V, Lüscher TF (2004) Age-related changes of vitamin A status. J Cardiovasc Pharmacol 1: 26–30. <https://doi.org/10.1097/00005344-200401000-00005>
8. Debier C, Larondelle Y (2005) Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. Br J Nutr 2: 153–174. <https://doi.org/10.1079/bjn20041308>
9. Azzi A (2018) Many tocopherols, one vitamin E. Mol Aspects Med 61: 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.06.004>
10. Brigelius-Flohé R (2002) The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. Am J Clin Nutr 4: 703–716. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.4.703>
11. Blomhoff R, Blomhoff HK (2006) Overview of retinoid metabolism and function. J Neurobiol 7: 606–630. <https://doi.org/10.1002/neu.20242>
12. Zhang Y, Zhao Y, Li C, Wang L, Tian F, Jin H (2022) Physiological, Immune Response, Antioxidant Capacity and Lipid Metabolism Changes in Grazing Sheep during the Cold Season. Animals 12: 2332. <https://doi.org/10.3390/ani12182332>
13. Калинина ЕВ, Чернов НН, Новичкова МД (2014) Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. Успехи биологической химии 54: 299–348. [Kalinina EV, Chernov NN, Novichkova MD (2014) The role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes. Uspehi biologicheskoy himii 54: 299–348. (In Russ)].
14. van Haaften RIM, Haenen GRMM, Evelo CTA, Bast A (2003) Effect of vitamin E on glutathione-dependent enzymes. Drug Metab Rev 35 (2–3): 215–253. <https://doi.org/10.1081/DMR-120024086>
15. Dannenberger D, Nuernberg G, Nuernberg K, Hagemann E (2013) The effects of gender, age and region on macro- and micronutrient contents and fatty acid profiles in the muscles of roe deer and wild boar in Mecklenburg-Western Pomerania (Germany). Meat Sci 1: 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.010>
16. Quaresma MAG, Alves SP, Trigo-Rodrigues I, Pereira-Silva R, Santos N, Lemos JPC, Barreto AS, Bessa RJB (2011) Nutritional evaluation of the lipid fraction of feral wild boar (*Sus scrofa scrofa*) meat. Meat Sci 89: 457–461. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.05.005>
17. Soriano A, Sánchez-García C (2021) Nutritional composition of game meat from wild species harvested in Europe. Intech Open. <https://doi.org/10.5772/intechopen.97763>
18. Ortiz A, García-Torres S, González E, De Pedro-Sanz EJ, Gaspar P, Tejerina D. (2020) Quality traits of fresh and dry-cured loin from Iberian x Duroc crossbred pig in the Montanera system according to slaughtering age. Meat Sci 170: 108242. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108242>
19. Lebreton B, Lenoir H, Fonseca A, Riquet J, Mercat MJ. (2021) Finishing season and feeding resources influence the quality of products from extensive-system Gascon pigs. Part 2: muscle traits and sensory quality of dry-cured ham. Animal 15 (8): 100305. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100305>
20. Rodríguez-Estival J, Álvarez-Lloret P, Rodríguez-Navarro AB, Mateo R (2013) Chronic effects of lead (Pb) on bone properties in red deer and wild boar: Relationship with vitamins A and D3. Environ Pollut 174: 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.019>
21. Калинина СН, Панченко ДВ, Баишикова ИВ, Антонова ЕП, Илюха ВА, Шакун ВВ, Зайцева ИА (2020) Антиоксидантный и витаминный статусы кабана *Sus scrofa* L. (Artiodactyla) на периферии ареала (Республика Карелия). Труды Кольского научного центра РАН 11 (2–8 (8)): 83–92. [Kalinina SN, Panchenko DV, Baishnikova IV, Antonova EP, Ilyukha VA, Shakun VV, Zaytseva IA (2020) Antioxidant and vitamin status in wild boar *Sus Scrofa* L. (Artiodactyla) on the range periphery (Republic of Karelia). Transactions Kola Science Centre 11 (2–8 (8)): 83–92. (In Russ)]. <https://doi.org/10.37614/2307-5252.2020.2.8.008>
22. Клевезаль ГА (2007) Принципы и методы определения возраста млекопитающих М. Т-во научных изданий КМК. [Klevezal GA (2007) Principles and methods of age determination of mammals M. KMK Sci Press Ltd. (In Russ)].

23. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randan RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 (1): 265–275.
24. Markov N, Economov A, Hjeljord O, Rolandsen CM, Bergqvist G, Danilov P, Dolinin V, Kambalin V, Kondratov A, Krasnoshapka N, Kunnasranta M, Mamontov V, Panchenko D, Senchik A (2022) The wild boar *Sus scrofa* in northern Eurasia: a review of range expansion history, current distribution, factors affecting the northern distributional limit, and management strategies. *Mammal Rev* 52 (4): 519–537.
<https://doi.org/10.1111/mam.12301>
25. Chen J, Jakovlić J, Zhong J, Jia Y, Thi TNT, Sablin M, Xia S, Yang H, Šprem N, Yang G, Jianlin H (2022) Whole-Genome Sequencing Reveals Positive Selection on Genes and Variants underlying the Climatic Adaptation of Cold-region Wild Boar. *Authorea*.
<https://doi.org/10.22541/au.165942186.69235808/v1>
26. Landrier JF, Marcotrichino J, Tourniaire F (2012) Lipophilic Micronutrients and Adipose Tissue Biology. *Nutrients* 4: 1622–1649.
<https://doi.org/10.3390/nu4111622>
27. Bonet ML, Ribot J, Palou A (2012) Lipid metabolism in mammalian tissues and its control by retinoic acid. *Biochim Biophys Acta* 1821: 177–189.
<https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2011.06.001>
28. Raila J, Willnow TE, Schweigert FJ (2005) Megalin-Mediated Reuptake of Retinol in the Kidneys of Mice Is Essential for Vitamin A Homeostasis. *J Nutr* 135: 2512–2516.
<https://doi.org/10.1093/jn/135.11.2512>
29. Sun T, Surlles RL, Tanumihardjo SA (2008) Vitamin A concentrations in piglet extrahepatic tissues respond differently ten days after vitamin A treatment. *J Nutr* 138: 1101–1106.
<https://doi.org/10.1093/jn/138.6.1101>
30. O'Sullivan ED, Hughes J, Ferenbach DA (2017) Renal aging: causes and consequences. *J Am Soc Nephrol* 28: 407–420.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2015121308>
31. Traber MG (2007) Vitamin E regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr* 27: 347–362.
<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093819>
32. Rodríguez-Estival J, Taggart MA, Mateo R (2011) Alterations in vitamin A and E levels in liver and testis of wild ungulates from a lead mining area. *Arch Environ Contam Toxicol* 60: 361–371.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.010>
33. Niculita P, Popa EM, Ghidurus M, Turtoi M (2007) Effect of vitamin E in swine diet on animal growth performance and meat quality parameters. *Polish J Food Nutr Sci* 57 (1): 125–130.
34. Кульпин АА (2008) Особенности биотопического распределения и питания кабана (*Sus Scrofa* L.) на севере европейской части России. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского 2: 82–86. [Kulpin AA (2008) Peculiarities of biotopic distribution and feeding of wild boar (*Sus Scrofa* L.) in the north of the European part of Russia. Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod 2: 82–86. (In Russ)].
35. Вапиров ВВ, Чаженгина ЕА (2019) Селеновый статус природных объектов Республики Карелия. Экологическая геология: теория, практика и региональные проблемы. Мат-лы VI Международной научно-практической конференции 16–19. [Вапиров ВВ, Чаженгина ЕА (2019) Selenium status of environmental sites the Republic of Karelia. Ecological geology: theory, practice and regional problems. Materials of the VI International Scientific and Practical Conference 16–19. (In Russ)].
36. Surai PF (2003) Selenium-vitamin E interactions: does 1+1 equal more than 2? In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*. Proc. of Alltech's 19th Annual Symposium (Lyons TP and Jacques KA, eds.). Nottingham University Press, Nottingham, UK, 59–76.
37. Parker KL, Barboza PS, Gillingham MP (2009) Nutrition integrates environmental responses of ungulates. *Funct Ecol* 23: 57–69.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01528.x>
38. Babicz M, Kasprzyk A (2019) Comparative analysis of the mineral composition in the meat of wild boar and domestic pig. *Ital J Anim Sci* 18 (1): 1013–1020.
<https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1610337>
39. Raederstorff D, Wyss A, Calder PC, Weber P, Eggersdorfer M (2015) Vitamin E function and requirements in relation to PUFA. *Br J Nutr* 114 (8): 1113–1122.
<https://doi.org/10.1017/S000711451500272X>
40. Zhao L, Zou X, Feng Z, Luo C, Liu J, Li H, Chang L, Wang H, Li Y, Long J, Gao F, Liu J (2014) Evidence for association of mitochondrial metabolism alteration with lipid accumulation in aging rats. *Exp Gerontol* 56: 3–12.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.02.001>
41. Kaushik S, Kaur J (2003) Chronic cold exposure affects the antioxidant defense system in various rat tissues. *Clin Chim Acta* 333 (1): 69–77.
[https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(03\)00171-2](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(03)00171-2)
42. Смирнов ЛП, Суховская ИВ (2014) Роль глутатиона в функционировании систем антиоксидантной защиты и биотрансформации (обзор). Уч запис Петрозаводск гос универ 6: 34–40. [Smirnov LP, Sukhovskaya IV (2014) Glutathione role in antioxidant protection and in functioning of biotransformation system (review). Proceed Petrozavodsk State Univ 6: 34–40. (In Russ)].
43. Kulinsky VI, Kolesnichenko LS (2009) The glutathione system. I. Synthesis, transport, glutathione transferases, glutathione peroxidases. *Biochem (Moscow) Supplement Series B: Biomed Chem* 3(2): 129–144.
<https://doi.org/10.1134/s1990750809020036>
44. Esposito L, Tafuri S, Cocchia N, Fasanelli R, Piscopo N, Lamagna B, Eguren V, Amici A, Iorio EL, Ciani F (2021) Assessment of living conditions in wild boars by analysis of oxidative stress markers. *J Appl Anim Welf Sci* 1: 64–71.
<https://doi.org/10.1080/10888705.2020.1790365>
45. Elsayed NM (2001) Antioxidant mobilization in response to oxidative stress: a dynamic environmental-nutritional interaction. *Nutrition* 17: 828–834.
[https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00646-3](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00646-3)
46. Kolleck I, Sinha P, Rüstow B (2002) Vitamin E as an Antioxidant of the Lung Mechanisms of Vitamin E Delivery to Alveolar Type II Cells. *Am J Respir Crit Med* 166(12): S62–S66.
<https://doi.org/10.1164/rccm.2206019>

47. Yudin NS, Larkin DM, Ignatieva EV (2017) A compendium and functional characterization of mammalian genes involved in adaptation to Arctic or Antarctic environments. *BMC Genetics* 18: 33–43. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0580-9>
48. Rasch I, Görs S, Tuchscherer A, Viergutz T, Metges C, Kuhla B (2020) Substitution of Dietary Sulfur Amino Acids by DL-2-Hydroxy-4-Methylthiobutyric Acid Reduces Fractional Glutathione Synthesis in Weaned Piglets. *J Nutr* 150 (4): 722–729. <https://doi.org/10.1093/jn/nxz272>
49. Moreira I, Mahan DC (2002) Effect of dietary levels of vitamin E (all-rac- α -tocopheryl acetate) with and without added fat on weanling pig performance and tissue α -tocopherol concentration. *J Anim Sci* 80: 663–669. <https://doi.org/10.2527/2002.803663x>
50. Berg F, Gustafson U, Andersson L (2006) The uncoupling protein 1 gene (UCP1) is disrupted in the pig lineage: a genetic explanation for poor thermoregulation in piglets. *PLoS Genet* 2 (8): e129. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020129>
51. Buchet A, Belloc C, Leblanc-Maridor M, Merlot E (2017) Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs. *PLoS ONE* 12 (5): e0178487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487>

THE CONTENT OF RETINOL, α -TOCOPHEROL AND GLUTATHIONE IN THE TISSUES OF WILD BOAR (*SUS SCROFA* L.), INHABITING THE NORTHWEST OF RUSSIA

I. A. Zaitseva^{a,b,#}, I. V. Baishnikova^a, D. V. Panchenko^a,
S. N. Kalinina^{a,b}, T. N. Ilyina^a, and E. P. Antonova^a

^a*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia*

^b*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

[#]*e-mail: ira.irmita@yandex.ru*

Phenotypic plasticity and resistance to climatic conditions allowed the wild boar (*Sus scrofa* L.) to expand its historical range, pushing its Northern border. In the processes of adaptation of animals to living on the periphery of the range in the conditions of the North, the status of vitamins A and E, which are natural antioxidants, and also perform a number of other biological functions in the body and are necessary for growth, reproduction and maintenance of immunity, is of great importance. The purpose of this study was to investigate the content of retinol, α -tocopherol, and the low-molecular-weight antioxidant glutathione (GSH) in the liver, kidney, heart, skeletal muscle, lung and spleen of wild boars ($n = 65$) aged 0.5 to 8 years, living in the Northwest of Russia. The results obtained indicate that the studied animals practically did not differ from the wild boars living in the centre and south of Europe in terms of retinol availability, but were characterized by a lower level of α -tocopherol in the studied tissues, which is probably due to the limited food resources and harsh climatic conditions in the cold season in the North. The levels of vitamins and GSH in most tissues were comparable in piglets and adult animals. There was an accumulation of retinol and α -tocopherol in the liver and kidney, as well as α -tocopherol in the heart of wild boars with age, which is typical for other mammalian species. An increase in the level of GSH was found in the lung of animals over 5 years of age. The revealed vitamin status, which was formed in the wild boar in the conditions of the Northwest of Russia, and the peculiarities of the age dynamics of the studied indicators, may be one of the evidences of the successful adaptation of this species to inhabit in the Northern periphery of the range, which is confirmed by the growth of its population.

Keywords: wild boar, retinol, α -tocopherol, glutathione, vitamin status, antioxidant, periphery of the range