

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ α -ТОКОФЕРОЛА В ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ПРОЛОНГИРОВАНИИ ЖИЗНИ

Среди многочисленных* гипотез, объясняющих процесс старения, нельзя выделить одну, охватывающую все многообразие реализации генетической программы жизни и целый ряд адаптационных реакций, появляющихся с возрастом.

Экспериментальные подходы к продлению жизни высших позвоночных различны и нацелены на изучение действия на организм ряда факторов и среди них — калорийно-недостаточного питания, а также антиоксидантов [2, 6]. Исследования, проводимые в Институте биологии Харьковского университета под руководством академика АН УССР В. Н. Никитина, показали увеличение средней продолжительности жизни белых крыс линии Вистар на 40—80 % при содержании их на калорийно-недостаточной диете [5, 6]. Целый ряд антиоксидантов также увеличивают продолжительность жизни и среди них — α -токоферол (ТФ), основная функция которого, по-видимому, состоит в торможении свободнорадикальных процессов в клетке и, в частности в эритроцитах. Основная причина гемолиза эритроцитов — окисление SH-групп мембранных белков [2, 12]. Развитие E-авитаминоза не сопровождается изменением жирнокислотного состава липидов мембран эритроцитов [19], следовательно, и белковая, и липоидная составляющие биомембран при дефиците ТФ становятся легко доступными для свободных радикалов. В результате свободнорадикального окисления компонентов мембраны происходит ее дестабилизация [9] и, как результат, гемолиз эритроцитов. Результаты наших исследований [7] и данные литературы [15, 16, 17, 18] показывают возрастное повышение концентрации ТФ в плазме крови, коррелирующее с уровнем липидов крови.

В последнее время установлено, что ткани интактных животных имеют низкий, но вполне определенный уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ). Причем, для тканей с высокой метаболической активностью характерен и более высокий уровень ПОЛ. Важная роль в регуляции ПОЛ принадлежит ТФ [1]. Причем, высокое содержание витамина в корме приводит к снижению концентрации продукта ПОЛ — липофусцина, продолжающее до 12 мес возраста, а затем происходит резкое повышение до уровня контроля [13]. Однако увеличение количества антиокислителей в организме приводит к повышению окисляемости липидов, т. е. в норме в организме существует антиокислительный гомеостаз [3].

Мы изучали распределение α -токоферола в организме крыс разного возраста в норме и при калорийно-недостаточном питании.

Методика. Опыты проводили на крысах-самцах линии Вистар 1, 3, 12, 24 мес, содержащихся на обычном лабораторном рационе и на экспериментальной, сдерживающей рост диете [5] в летний период в условиях вивария. Уровень ТФ в рационе контрольных животных (норма) составлял 42 мг/кг, а подопытных — 21—23 мг/кг (по расчетным данным) и поддерживался на постоянном уровне посредством введения в корм проросшей пшеницы. За 18—20 ч до начала опыта крыс лишали воды и пищи. Животных декапитировали, кровь собирали в гепаринизированные пробирки, из которых часть использовали для определения степени спонтанного гемолиза эритроцитов (ССГЭ), а из остальной получали плазму. Органы быстро извлекали, взвешивали, замораживали в жидком азоте (-196°C), измельчали в ступке и образцы хранили до анализа в полиэтиленовых контейнерах в сосуде Дьюара. ССГЭ определяли по [10]. Содержание ТФ в органах изучали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) в модификации [11]. Результаты трехлетних исследований обработаны статистически по Стьюденту и методом парных сравнений [8].

Результаты. Данные, приведенные в табл. 1, показывают тенденцию к возрастному повышению ССГЭ у крыс в норме (контроль) и достаточную устойчивость мембран эритроцитов к гемолизу у животных с экспериментальным продлением жизни (опыт), у которых этот показатель практически не изменялся с возрастом и находился на уровне, характерном для крыс 3 мес в норме.

Полученные результаты о распределении ТФ в организме приведены в табл. 2—5. Обращает на себя внимание большая, по сравнению с контролем, концентрация витамина в плазме подопытных крыс во все исследованные возрастные периоды, хотя это различие проявляется в виде тенденции.

Таблица 1. Возрастные изменения степени спонтанного гемолиза эритроцитов у крыс в норме (контроль) и при пролонгировании жизни (опыт), $M \pm m$ (n)

Возраст (мес)	Степень спонтанного гемолиза эритроцитов (в % к полному)	
	Контроль	Опыт
1	$2,84 \pm 1,01$ (5)	—
3	$4,32 \pm 0,87$ (7)	$5,56 \pm 1,38$ (6)
12	$7,02 \pm 1,93$ (7)	$4,63 \pm 1,12$ (5)
24	$7,60 \pm 2,67$ (7)	$5,26 \pm 1,30$ (3)

Примечание. Различия: 1 мес, контроль / 3 мес, контроль, достоверно, $p < 0,02$.

Таблица 2. Влияние качественно различного питания на содержание ТФ в плазме крови, $M \pm m$ (n)

Возраст (мес)	Концентрация α -токоферола (мкг/мл)	
	Контроль	Опыт
1	$6,12 \pm 2,16$ (8)	—
3	$8,48 \pm 0,71$ (11)	$13,24 \pm 2,26$ (5)
12	$8,08 \pm 1,27$ (12)	$11,14 \pm 1,10$ (6)
24	$8,85 \pm 0,99$ (13)	$11,93 \pm 1,48$ (6)

Примечание. Различия: 1 мес, контроль / 3 мес, опыт, достоверно, $p < 0,05$; 1 мес, контроль / 24 мес, опыт, достоверно, $p < 0,05$.

Таблица 3. Динамика содержания ТФ в печени крыс в норме и при пролонгировании жизни, $M \pm m$ (n)

Возраст (мес)	Содержание α -токоферола			
	Контроль		Опыт	
	(мкг/г)	(мг/орган)	(мкг/г)	(мг/орган)
1	$76,90 \pm 4,60$ (9)	$0,18 \pm 0,01$ (9)	—	—
3	$79,73 \pm 8,04$ (11)	$0,50 \pm 0,04$ (11)	$91,68 \pm 19,54$ (6)	$0,18 \pm 0,04$ (6)
12	$74,23 \pm 10,55$ (10)	$0,94 \pm 0,12$ (10)	$98,02 \pm 45,39$ (5)	$0,25 \pm 0,10$ (5)
24	$87,05 \pm 10,07$ (9)	$1,08 \pm 0,15$ (9)	$89,42 \pm 26,17$ (5)	$0,30 \pm 0,09$ (5)

Примечание. Различия: 3 мес контроль / опыт, достоверно, $p < 0,001$; 12 мес контроль / опыт, достоверно, $p < 0,001$; 24 мес контроль / опыт, достоверно, $p < 0,001$.

Концентрация витамина E в печени (табл. 3) с возрастом мало менялась как в норме, так и в опыте, хотя у подопытных животных было обнаружено большее количество витамина по сравнению с контролем. К 24 мес уровень ТФ в этом органе оказался практически одинаковым в контроле и опыте. Содержание же ТФ в целой печени было достоверно ниже у подопытных крыс по сравнению с контролем за счет величины органа. При этом, тенденция к возрастному повышению содержания витамина в целой печени сохранилась и у крыс с задержанным ростом.

Концентрация ТФ в надпочечниках (табл. 4) контрольных животных к 12 мес снижалась и в дальнейшем мало менялась, а содержание в целом органе оставалось практически постоянным. У подопытных крыс в период адаптации к диете (3 мес) концентрация витамина снижалась на 14 % по сравнению с контролем, а в целом органе — почти

в два раза ($p < 0,05$) за счет величины органа. У крыс 12 мес концентрация ТФ была выше на 48 %, чем в контроле и достигала уровня, характерного для одномесячных крыс в норме, а содержание в целом органе не отличалось от наблюдаемого у контрольных животных 12 мес. У крыс 24 мес концентрация витамина была практически одинаковой, с некоторой тенденцией к снижению у подопытных (при пересчете на целый орган количество ТФ было значительно ниже, чем в контроле).

Таблица 4. Влияние экспериментальной диеты на содержание ТФ в надпочечниках $M \pm m$ (n)

Возраст (мес)	Содержание α -токоферолла			
	Контроль		Опыт	
	(мкг/г)	(мкг/орган)	(мкг/г)	(мкг/орган)
1	692,16 $\pm$ 88,86 (6)	14,03 $\pm$ 1,52 (6)	—	—
3	559,52 $\pm$ 72,25 (11)	31,27 $\pm$ 5,89 (11)	482,22 $\pm$ 77,56 (7)	15,24 $\pm$ 2,42 (7)
12	406,13 $\pm$ 114,30 (12)	27,66 $\pm$ 5,18 (10)	603,12 $\pm$ 185,14 (6)	21,29 $\pm$ 6,81 (6)
24	430,66 $\pm$ 41,38 (8)	31,77 $\pm$ 5,53 (11)	384,35 $\pm$ 66,28 (6)	13,84 $\pm$ 2,08 (7)

Примечание. Различия: 1 мес контроль / 12 мес контроль, достоверно, $p < 0,05$; 1 мес контроль / 24 мес контроль, достоверно, $p < 0,01$.

Таблица 5. Концентрация ТФ в эпидидимальном жире крыс при качественно различном питании, $M \pm m$ (n)

Возраст (мес)	Концентрация α -токоферолла (мкг/г)	
	Контроль	Опыт
1	73,12 $\pm$ 13,13 (5)	—
3	37,79 $\pm$ 6,03 (8)	148,72 $\pm$ 42,42 (5)
12	72,93 $\pm$ 12,68 (6)	230,28 $\pm$ 48,60 (5)
24	96,63 $\pm$ 19,76 (6)	83,20 $\pm$ 20,04 (6)

Примечание. Различия: 1 мес контроль / 3 мес контроль, достоверно, $p < 0,05$; 1 мес контроль / 3 мес опыт, достоверно, $p < 0,02$; 1 мес контроль / 12 мес опыт, достоверно, $p < 0,001$; 3 мес контроль / опыт, достоверно, $p < 0,05$; 12 мес контроль / опыт, достоверно $p < 0,02$.

Определение содержания ТФ в эпидидимальном жире (табл. 5) показало увеличение концентрации витамина с возрастом у крыс в контроле, причем при переходе животных на самостоятельное питание в одномесячном возрасте наблюдалось резкое снижение уровня витамина, продолжавшееся до полового созревания (3 мес). У подопытных крыс было обнаружено значительно большее количество ТФ в жировой ткани в возрасте 3 и 12 мес при значительно меньшем количестве жира, а у крыс 24 мес как в контроле, так и в опыте концентрация витамина была одинаковой. Исходя из того, что внутренний жир характеризуется более высокой насыщенностью, чем жир органов [18], а количество его у контрольных животных весьма велико, мы изучали содержание ТФ в нем с точки зрения возможной функции в качестве депо витамина. В связи с этим обращает на себя внимание высокое содержание витамина в жире подопытных крыс.

Данные об относительном содержании витамина в органах в пересчете на 100 г массы тела (табл. 6) показывают более высокую обеспеченность подопытных крыс по сравнению с контролем, причем в печени возрастные колебания отсутствовали у всех животных. С возрастом происходит значительное снижение уровня ТФ в надпочечниках, мало

Таблица 6. Относительное содержание ТФ в органах в пересчете на 100 г массы тела

Возраст (мес)	Печень		Надпочечники		Эпидидимальный жир	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	0,28	—	21,75	—	113,36	—
3	0,22	0,25	13,84	20,93	16,72	204,28
12	0,21	0,28	6,32	23,47	16,67	253,89
24	0,22	0,25	6,69	11,63	20,36	69,92

изменяющееся во второй половине онтогенеза (12, 24 мес) крыс в норме. У подопытных животных, особенно в 12 мес, этот показатель значительно выше, чем в контроле. Фактическое постоянство относительно содержания витамина в эпидидимальном жире крыс в контроле, начиная с 3 мес, при значительном возрастном ожирении, может свидетельствовать о прочном сохранении минимальной концентрации ТФ, необходимой для регуляции метаболизма в самой жировой ткани. Более высокий уровень ТФ в жире подопытных крыс, изменяющийся с возрастом, свидетельствует о большей лабильности уровня витамина, а также о легкой мобилизуемости значительных количеств его из жировой ткани в процессе обмена веществ, поскольку у 24 мес крыс уровень его оказался минимальным при сохранении высокой концентрации в других органах.

Обсуждение. При различном поступлении ТФ с кормом у контрольных и подопытных крыс обнаружены значительные перепады концентрации витамина в плазме крови. Так, у крыс контрольных групп, получавших 2,28 мг витамина *E* с кормом в сутки, в плазме крови определена одинаковая концентрация его независимо от возраста. Эритроциты этих животных с возрастом становились чувствительнее к гемолизирующим воздействиям (даже к спонтанному гемолизу), что может указывать на некоторые возрастные нарушения устойчивости мембран клеток крови. Следовательно, такой уровень витамина в крови с возрастом становится недостаточным для поддержания высокой резистентности эритроцитов к гемолизу. У подопытных же животных, получавших с кормом 0,14—0,26 мг витамина *E* в сутки, определена более высокая концентрация ТФ в крови и большая устойчивость эритроцитов к гемолизу во всех возрастных группах. Таким образом, у животных, находившихся на калорийно-недостаточной диете, концентрация ТФ в крови выше во всех возрастах по сравнению с контролем не только в количественном, но и в качественном отношении, поскольку эритроциты этих животных проявляют большую резистентность к гемолизу. Это может косвенно указывать на достаточную обеспеченность организма подопытных животных этим важным структурным компонентом мембран [9, 10]. Однако этот вывод не исключает объяснения высокой концентрации витамина в крови другими причинами — меньшим количеством крови по сравнению с контрольными крысами или повышенным транспортом ТФ, связанного с перераспределением его в самом организме [1].

При рассмотрении результатов распределения витамина в организме следует обратить внимание на более высокую концентрацию его в органах подопытных крыс. Например, в печени концентрация ТФ в норме с возрастом мало менялась, хотя общее содержание в целом органе неуклонно увеличивалось к старости за счет увеличения массы органа. У подопытных крыс отмечалась тенденция к повышению концентрации ТФ по сравнению с контролем во всех группах, не изменявшаяся с возрастом, и сохранялась тенденция к возрастному накоплению его в печени, хотя и на значительно более низком уровне, чем в контроле. Обращает на себя внимание факт высокого относительного содержания ТФ в печени крыс 12 мес с задержанным ростом, причем, уровень

его оказался таким же, как у одномесячных животных в контроле. Необходимо отметить, что по многим показателям обмена веществ эти группы сходны [5]. Данные литературы [13] показывают резкое увеличение содержания продукта ПОЛ — липофусцина в печени крыс 24 мес. В наших опытах наблюдалось в этот же период снижение концентрации ТФ в печени подопытных крыс до уровня контроля.

У этих животных, при значительно более низком уровне витамина в рационе, поглощение его оказывается более эффективным, чем в контроле и обеспеченность им организма выше, что подтверждает известный из литературы вывод [14] об обратной пропорциональной зависимости между поступлением и поглощением витамина в организме животных.

Известно, что кортикальная часть надпочечников содержит большое и непостоянное количество сложных липидов, отличающихся большой ненасыщенностью [4]. Поскольку надпочечники являются органом с высокой метаболической активностью, то и уровень свободнорадикальных процессов в них высок. У подопытных крыс этот орган значительно гипертрофирован [5], и, как показали наши исследования, темпы возрастного снижения уровня витамина у них значительно ниже, чем в контроле. Поскольку эти животные получают с кормом витамина Е меньше, чем контрольные, а функциональные характеристики у них выше и уровень ТФ в органах превышает контрольный, то, следовательно, эффективность использования резервов витамина у них выше. В результате инволютивные изменения у подопытных крыс начинаются не в 12 мес, как в контроле, а в 24 мес.

Таким образом, в ходе исследований у животных, находящихся в условиях, способствующих продлению жизни, обнаружена более высокая концентрация ТФ в плазме крови, печени и эпидидимальном жире. Содержание витамина в надпочечниках поддерживается постоянным и мало изменяется при калорийно-недостаточном питании, а также с возрастом. Лишь у подопытных крыс 12 мес, по многим показателям сходных с молодыми животными (1 мес) в норме, уровень ТФ в надпочечниках был значительно выше, чем у крыс других возрастных групп.

У подопытных крыс относительное содержание витамина (в пересчете на 100 г массы тела) оказалось значительно выше, чем в контроле, что может играть важную роль в пролонгировании жизни этих животных.

A. V. Paranich

AGE PECULIARITIES OF α -TOCOPHEROL DISTRIBUTION IN THE ORGANISM OF ALBINO RATS IN THE NORM AND WITH LIFE PROLONGATION

Experiments were carried out on Wistar male rats 1, 3, 12, 14 months old in summer. α -tocopherol concentration was determined by means of TLC, spontaneous erythrocyte hemolysis level (SEHL). A tendency to the age increase of the SEHL absent in tested animals was found in rats in the norm. The tocopherol amount in the adrenals did not vary with age (3-24 months) and did not depend on nutrition. The vitamin amount was considerably higher only in 12 month-old tested rats as compared with animals of other age groups and it was at the level of 1 month-old animals in the norm. In the tested animals the relative vitamin amount in the studied organs proved to be significantly higher than in the norm (calculating per 100 g of the body weight), which may be very important for prolongation of their life.

Institute of Public Nutrition, Kharkov

Список литературы

1. Богач П. Г., Курский М. Д., Кучеренко Н. Е., Рыбальченко В. К. Структура и функции биологических мембран. — Киев: Вища школа, 1981.—335 с.
2. Виленчик М. М. Генетически запрограммированные молекулярные механизмы предупреждения старения. — В кн.: Геронтология и гериатрия. Киев, 1977, с. 50—53.