

Связь свободно-радикальных процессов с содержанием витамина Е в печени и надпочечниках белых крыс разного возраста

А. В. Паранич, Н. И. Погожих

Известно, что каждому органу присуща определенная интенсивность метаболизма, а это, в свою очередь, определяет интенсивность свободнорадикальных (СР) процессов в них. Контроль над этими процессами осуществляется антирадикальными системами клетки, к которым относятся ферментативные системы: глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза и др., а также отдельные антиоксиданты: аскорбиновая кислота, токоферол, ретинол и др. Наибольшей антирадикальной активностью обладает α -токоферол (ТФ), выполняющий разнообразные функции в клетке, связанные, в частности, с регуляцией работы ферментативных антиокислительных систем (глутатионпероксидаза — глутатионредуктаза) [16] на уровне синтеза этих ферментов, а также, возможно, супероксиддисмутазы, поскольку ее активность в митохондриях резко снижается при дефиците витамина Е [17]. В связи с локализацией в липидном слое мембран в качестве структурного компонента [2, 11, 12] ТФ защищает другие элементы мембран от атаки СР [3, 18]. Тем самым ТФ обеспечивает высокую функциональную активность мембран клеток.

К органам с интенсивным метаболизмом относятся печень, железы внутренней секреции. Среди последних известны такие (гипофиз, надпочечники), на образование гормонов которых существенно влияет ТФ [10]. Для надпочечников характерна максимальная концентрация ТФ по сравнению с другими тканями [12]. Дефицит ТФ у самцов крыс 130-дневного возраста сопровождается снижением на 30 % уровня тестостерона и кортикостерона в крови по сравнению с нормой [19]. В этих условиях нарушается целостность мембран клеток вследствие усиленного перекисного окисления липидов (ПОЛ) [20]. Известно, что с возрастом изменяется как интенсивность свободнорадикальных процессов, так и обеспеченность организма антиоксидантами. Потребность в антиоксидантах неодинакова в разные возрастные периоды. Она максимальна в период роста и зрелости и снижается у старых животных [6, 7]. Между процессами генерации СР и защитными реакциями существует равновесие, которое поддерживается как ферментативными системами, так и отдельными антиоксидантами, одним из которых является ТФ. Свободнорадикальное окисление протекает наиболее интенсивно до полового созревания [6].

Целью работы было изучение возрастных изменений интенсивности СР процессов в печени и надпочечниках крыс линии Вистар разного возраста и содержания в этих органах ТФ.

Методика

Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар следующих возрастных групп: 2-недельных, 1, 3, 12, 24-месячных. Животных содержали в условиях вивария на обычном лабораторном рационе. За 18—20 ч до декапитации животных лишали воды и пищи. Органы быстро извлекали, очищали, взвешивали и исследовали в них содержание α -токоферола и интенсивность СР процессов. Концентрацию ТФ определяли методом Эммери — Энгель с применением тонкослойной хроматографии [15], спектрофотометрические измерения выполняли на приборе Спекол-10 непосредственно на хроматограммах в нашей модификации [8]. Для определения интенсивности СР процессов брали органы животных сразу после декапитации (время от обезглавливания до измерения СР не превышало 4 мин). Образец (один надпочечник, кусочек печени из середины большой доли органа) взвешивали и помещали в рабочий отсек ЭПР-спектрометра РЭ 1301 в стеклянном капилляре. Интенсивность сигнала сравнивали с эталоном (рубин, уголь) [1, 13]. Результаты исследований подвергали статистической обработке по Стьюденту [9].

Результаты и их обсуждение

В результате исследований обнаружено существенное отличие интенсивности образования СР, g -фактор которого составлял 2,00. Сигнал ЭПР с такой характеристикой возникает от полуокисленных флавинов и семихиноновых форм убихинонов [6, 7]. Так, в печени с увеличением возраста животного интенсивность образования СР увеличивается, достигая максимума в период полового созревания, затем снижается до минимума в годовалом возрасте, а к старости снова увеличивается (табл. 1). В надпочечниках же наблюдалась иная закономерность — максимальное количество СР зарегистрировано у двухнедельных крыс, минимальное — в период полового созревания. Во второй же половине онтогенеза сохранялся постоянный уровень СР процессов. Необходимо отметить, что скорость снижения интенсивности сигнала ЭПР вплоть до полного исчезновения в печени выше, чем в надпочечниках, в три раза: в печени он угасал полностью через 5 мин, а в надпочечниках — через 15.

Таблица 1. Интенсивность СР процессов в печени и надпочечниках крыс разного возраста, спин/г

Возраст животного	Печень	Надпочечники
2 нед	$1,20 \cdot 10^{17}$	$2,06 \cdot 10^{18}$
1 мес	$9,12 \cdot 10^{16}$	$2,25 \cdot 10^{17}$
3 мес	$1,00 \cdot 10^{21}$	$6,00 \cdot 10^{13}$
12 мес	$6,00 \cdot 10^{13}$	$8,33 \cdot 10^{16}$
24 мес	$2,35 \cdot 10^{16}$	$7,86 \cdot 10^{16}$

Таблица 2. Концентрация ТФ в печени и надпочечниках крыс разного возраста, мкг/г

Возраст животного	Печень	Число опытов	Надпочечники	Число опытов
2 мес	$65,55 \pm 5,57$	8	$869,99 \pm 177,55$	6
1 мес	$76,90 \pm 4,60$	9	$692,16 \pm 88,86$	6
3 мес	$79,73 \pm 8,04$	11	$559,52 \pm 72,25$	11
12 мес	$74,23 \pm 10,55$	10	$406,13 \pm 114,30$	10
24 мес	$87,05 \pm 10,07$	9	$430,66 \pm 41,38$	11

Примечание. Число опытов составляло 5.

Сопоставляя результаты изучения интенсивности СР процессов с результатами изучения содержания ТФ в печени и надпочечниках, необходимо отметить существенное его различие. Так, в надпочечниках животных всех возрастных групп в 5—14 раз ТФ больше, чем в печени (табл. 2). С возрастом в печени концентрация этого витамина практически не изменяется, в то время как в надпочечниках наблюдается снижение уровня этого показателя, выраженное в начальный период постнатального развития и до полового созревания. В дальнейшем концентрация ТФ в надпочечниках стабилизируется.

Известно, что при снижении метаболической активности печени уменьшается и число свободных радикалов в ней [4] так же, как и в надпочечниках [5]. С увеличением же метаболической активности органов увеличивается интенсивность СР процессов и активируются ферментативные системы инактивации СР. Известно также, что изменение скорости дыхания не коррелирует с накоплением продуктов ПОЛ [14]. Низкое содержание ТФ в печени, вероятно, обеспечивает достаточную скорость СР процессов в этом органе регулированием работы как ферментов дыхательной цепи (ингибирование дыхания митохондрией печени Е-авитаминозных крыс предотвращается ТФ [17]), так и ферментов антиоксидантных систем, эффективность которых существенно выше, чем ТФ. Высокая концентрация ТФ в надпочечниках свидетельствует, вероятно, о непосредственном участии этого витамина в инактивации СР в этом органе. Так, чем выше интенсивность СР процессов, тем больше концентрация ТФ в надпочечниках. С возрастом эти сопряженные показатели параллельно снижаются.

Таким образом, имеется тесная связь между интенсивностью СР процессов в печени и надпочечниках, выражающаяся в соответствии высокой концентрации ТФ интенсивному образованию СР. Такая связь характерна для надпочечников, где этому витамину, вероятно, принад-

лежит важная роль. В печени, где содержание ТФ существенно ниже, он выполняет и эффекторную и регуляторную функции по отношению к СР и ферментным антиоксидантным системам. По мере старения крыс происходят изменения интенсивности СР процессов, отражающие возрастные особенности развития организма (максимальное число свободных радикалов в печени в период полового созревания) при неизменном содержании ТФ в печени. В надпочечниках с возрастом наблюдается параллельное снижение концентрации ТФ и числа свободных радикалов в период первой половины онтогенеза и стабилизация этих показателей в зрелости и старости.

1. Блюменфельд Л. А., Воеводский В. В., Семенов А. Г. Применение электронного парамагнитного резонанса в химии // Новосибирск: Сиб. отд.-ние АН СССР, 1962.— 239 с.
2. Бурлакова Е. Б., Кухтина Е. Н., Сарычева И. К. и др. О влиянии боковой фитильной цепи токоферолов на окислительные реакции, протекающие в липидах // Биохимия.— 1982.— 47, № 6.— С. 987—992.
3. Ерин А. Н., Спирин М. М., Табидзе Л. В., Каган В. Е. Образование комплексов α -токоферола с жирными кислотами. Возможный механизм стабилизации биомембран витамином Е // Биохимия.— 1983.— 48, вып. 11.— С. 1855—1861.
4. Мартыненко Ф. П., Береговская Н. Н., Поликарпова Н. И., Юрковская Т. Н. Воздействие тиреоидных гормонов и соматотропина на состояние свободных радикалов, железосерных белков и цитохрома Р 450 в печени // Пробл. эндокринологии.— 1982.— 28, № 3.— С. 69—71.
5. Микоша А. С., Береговская Н. Н. Снижение интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р 450, адренodoxина и свободных радикалов под воздействием *o,n*-дихлорфенилдихлорэтана в коре надпочечных желез собак // Пробл. эндокринологии.— 1983.— 29, № 5.— С. 62—64.
6. Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Роль свободно-радикальных реакций окисления в молекулярных механизмах старения живых организмов. // Успехи химии.— 1984.— 52, вып. 3.— С. 353—372.
7. Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Молекулярные механизмы замедления старения антиоксидантами // Общие проблемы биологии.— М., 1984, С. 6—43. (Итоги науки и техники / ВИНТИ; Т. 4).
8. Паранич А. В. Ускоренный метод контроля пищевой ценности полуфабрикатов для питания // Проблемы индустриализации общественного питания: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф.— Харьков, 1984.— С. 330—331.
9. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика // Минск: Вышэйш. школа, 1973.— 352 с.
10. Свищук А. А., Басалкевич Е. Д. Получение и физиологическая активность токоферолов и их аналогов // Витамины. Биохимия витамина Е и селена.— Киев: Наук. думка, 1975, вып. 8.— С. 157—163.
11. Спиричев В. Б., Конь И. Я. Жирорастворимые витамины и мембраны // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева.— 1978.— 23, № 4.— С. 425—434.
12. Спиричев В. Б., Матусис И. И., Бронштейн Л. М. Витамин Е // Экспериментальная витаминология.— Минск: Наука и техника, 1979.— С. 18—57.
13. Пиккеринг У. Ф. Современная аналитическая химия.— М.: Химия, 1977.— 560 с.
14. Baumgartner W. A., Hill V. A., Wright E. T. Anomalous vitamin E effects in mitochondrial oxidative metabolism // Mech. Ageing and Develop.— 1978.— 35, N 5.— P. 311—328.
15. Bieri J. G., Prival E. L. Determination of vitamin E in serum blood by TLC // Proc. Exp. Biol. and Med.— 1965.— 120, N 2.— P. 554—557.
16. Combs G. F. Influences of dietary vitamin E and selenium on the oxidant defense system of the chick // Poultry Sci.— 1981.— 60, N 9.— P. 1727—1733.
17. Flamigni F., Guarneri C., Toni R., Caldarera C. M. Effect of oxygen radicals on heart mitochondrial function in α -tocopherol deficient rabbits // Int. J. Vitam. and Nutr. Res.— 1982.— 52, N 4.— С. 402—406.
18. Fragata M., Bellemare F. Model of single oxygen scavenging by α -tocopherol in bio-membranes // Chem. and Phys. Lipids.— 1980.— 27, N 2.— P. 93—99.
19. Lees D., Barnes M. McC., Cox J. E. Testosterone and cortocosterone concentrations in the plasma of rats deficient in vitamin E // J. Reprod. and Fert.— 1982.— 66, N 2.— P. 543—545.
20. Malsumura Y., Ohno Y., Miyawaki N. et al. Effect of vitamin E-deficiency on renin release from renin granules // J. Pharm. Dyn.— 1982.— 5, N 12.— P. 1030—1032.

Харьков, ин-т обществ. питания
М-ва торговли УССР

Поступила 15.07.85