

A. I. Masyuk, E. N. Dolgova

## A POSSIBLE MECHANISM OF THE BILE SECRETION REGULATION BY HYDROCORTISONE

Hydrocortisone has been studied for its effect on the bile secretion in rat under normal conditions and malfunction of hormonal induction mechanisms due to specific inhibitors of protein synthesis by actinomycin D, cycloheximide and pyromycin. The character of changes in bile flow rate, observed as a response to hydrocortisone injection, depends on the intensity of transcription and translation processes in the rat liver cells.

Institute of Physiology of University,  
Ministry of Higher and Secondary Special Education  
of the Ukrainian SSR, Kiev

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойков П. Я., Шевченко Н. А., Сидоренко Л. И., Тодоров И. Н. Соотношение биосинтеза внутриклеточных и экспортных белков в клетках печени крыс в процессе индукции пролиферации циклогексимидом // Биохимия. — 1984. — 49, № 9. — С. 1470—1477.
2. Есипенко Б. Е., Долгова Е. Н., Масюк А. И. О роли белоксинтезирующей системы гепатоцитов в желчеотделении // Физиол. журн. СССР. — 1986. — 72, № 4. — С. 528—532.
3. Комиссаренко В. П., Минченко А. Г., Тронько Н. Д., Молекулярные механизмы действия стероидных гормонов. — К.: Здоров'я, 1986. — 191 с.
4. Лесюк И. И. Роль коры надпочечников в регуляции желчеотделительной функции печени: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1970. — 16 с.
5. Лященко П. С. О влиянии гидрокортизона на внешнесекреторную функцию печени // Пробл. физиол. гипоталамуса. — 1972. — 6. — С. 89—93.
6. Масюк А. И., Островская Г. В., Долгова Е. Н. Активность Na, K-АТФазы плазматических мембран гепатоцитов при нарушении желчеотделительной функции печени ингибиторами синтеза белка // Физиол. журн. — 1989. — 35, № 1. — С. 40—44.
7. Мертвецов Н. А. Гормональная регуляция экспрессии генов. — М.: Наука, 1986. — 207 с.
8. Минченко А. Г. Биосинтез митохондриальных белков у адrenaлэктомированных крыс: влияние гидрокортизона // Пробл. эндокринологии. — 1987. — 33, № 6. — С. 51—55.
9. Минченко А. Г. Зависимое от времени стимулирующее действие гидрокортизона на биосинтез митохондриальных РНК в печени крыс // Там же. — 1989. — 37, № 5. — С. 72—77.
10. Тодоров И. Н., Галкин А. П. Об особенностях биосинтеза РНК в клетках печени крыс в условиях продолжительного подавления биосинтеза белка циклогексимидом // Мол. биология. — 1975. — 2. — С. 81—104.
11. Miner P. B., Sutherland E., Simon F. R. Regulation of hepatic sodium plus potassium-activated adenosine triphosphatase activity by glucocorticoids in the rat // Gastroenterology. — 1980. — 79, N 2. — P. 212—221.

Науч.-исслед. ин-т физиологии Киев. ун-та  
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил  
в редакцию 25.06.88

УДК 577.161.2

А. В. Паранич, Л. А. Чайкина

## Влияние алиментарных факторов на образование первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов

Как известно, увеличение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) происходит при обогащении рациона ненасыщенными жирными кислотами (НЖК), дефиците витамина Е, а также при избытке антиоксидантов, в частности, витаминов: С, Е, А. Так, например, опти-

© А. В. ПАРАНИЧ, Л. А. ЧАЙКИНА, 1990.



мальная доза витамина Е, обеспечивающая антиоксидантный эффект при скормлинии НЖК, составляет 200 мг/кг, более высокие его дозы вызывают прооксидантный эффект [12]. Однако не всегда отклонение от оптимальной дозы антиоксидантов сопровождается гиперпродукцией липопероксидов. Так, при изучении ряда параметров синдрома раннего старения в условиях дефицита витамина Е у одного из мутантов *Neurospora crassa* не изменилось количество малонового диальдегида (МДА) [16]. В мозгу мышей, содержащихся на диетах, десятикратно обогащенных витамином Е, также не наблюдалось патологических изменений количества перекисей липидов и флюоресцирующих продуктов ПОЛ — липопигментов (ЛП) [22]. Подобные расхождения экспериментальных данных объясняются рядом причин, среди которых наиболее важными являются следующие: особенности химического состава НЖК (количество и расположение двойных связей), что определяет пути их метаболизма [14], и, в частности, накопление пигмента старения — липофусцина [21]; физиологические факторы, обуславливающие возрастные особенности активности эндогенного НАДФ·Н-зависимого «антиоксидантного фона», который снижает чувствительность старых животных к Е-гиповитаминозу [20] вследствие активации ферментативных антиокислительных систем [5]. Эти физиологические механизмы проявляются и в сезонной ритмике интенсивности ПОЛ — количество МДА в тканях животных варьирует в период весна — осень от 0,12 до 0,043 ед. экст./г ткани [1], обеспечивая утилизацию продуктов ПОЛ в процессе адаптационной перестройки мембран [6].

Целью нашей работы было выявление влияния физиологической дозы витамина Е на развитие процесса ПОЛ в условиях содержания животных на рационе, обогащенном НЖК.

### Методика

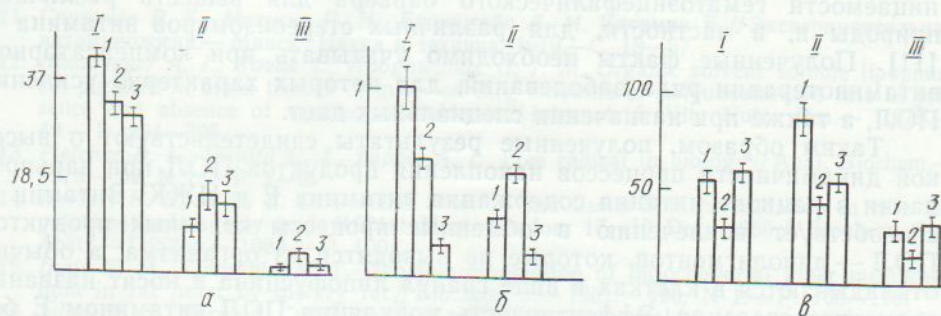
В экспериментах использовали самок крыс линии Вистар 3-месячного возраста. Учитывая высокую динамичность и короткое время обновления пула жирных кислот в фосфолипидах мембран (11 сут) [15], трем группам животных в течение 12 сут скормливали диеты, различающиеся содержанием НЖК и витамина Е. В качестве источника НЖК использовали рыбу, поскольку в жире рыб содержатся в основном *n*-3-полиненасыщенные жирные кислоты (линоленовая кислота 18:3 *n*-3), метаболизм которых достаточно изучен [19]. Первая группа — контроль — получала стандартный сбалансированный рацион вивария; вторая — только рыбу *ad libitum*; третья — рыбу с добавлением витамина Е в виде фармакопейного масляного раствора  $\alpha$ -токоферилацетата (30 %-ный раствор) из расчета 60 мг витамина Е на 1 кг корма. После декапитации животных в плазме крови, в печени и мозгу определяли следующие показатели: содержание  $\alpha$ -токоферола методом Emmeri — Engel с использованием тонкослойной хроматографии [9] и диеновых конъюгатов — спектрофотометрически по оптической плотности при длине волны 233 нм [4]; интенсивность флюоресценции липопигментов методом Fletcher — Tappel с использованием в качестве стандарта раствора хининсульфата (1 мкг/мл в 0,1 н растворе  $H_2SO_4$ ). Полученные результаты обрабатывали методами математической статистики по Стьюденту и парных сравнений [10].

### Результаты и их обсуждение

На рисунке представлены результаты исследования влияния жирнокислотного состава диеты и витамина Е на содержание диеновых конъюгатов, флюоресцирующих липопигментов и  $\alpha$ -токоферола в печени, мозгу и плазме крови крыс. По совокупности этих параметров оценивали интенсивность и направленность ПОЛ, а также антиокислительный статус организма. Анализ полученных результатов показывает, что в тканях исследуемых органов животных контрольной группы наибольшая интенсивность ПОЛ характерна для печени, если судить по накоплению первичных (диеновые конъюгаты) и содержанию конечных (липигменты) продуктов ПОЛ.



Известно, что избыточное поступление НЖК приводит к пропорциональному накоплению жирорастворимых пигментов [7, 12]. Поэтому можно было ожидать увеличения количества липопигментов во всех тканях крыс второй группы. Однако такая закономерность в случае исследования ткани печени не наблюдалась. Уменьшение содержания первичных и конечных продуктов ПОЛ в печени этих крыс наряду со снижением содержания витамина Е указывает на преимущественную утилизацию НЖК на пластические нужды, а не на усиление ПОЛ. До-



Показатели интенсивности и направленности перекисного окисления липидов в тканях печени (I), мозга (II) и в плазме крови (III) у животных контрольной группы (1), содержащихся на жирнокислотной диете (2), и на той же диете с добавлением витамина Е (3):

а — концентрация диеновых конъюгатов, нмоль/г; б — концентрация липопигментов, ед. экст./г; в — удельная концентрация  $\alpha$ -токоферола, мкг/г.

полнительное введение витамина Е (третья группа) оказывало существенное влияние на содержание конечных продуктов ПОЛ — липопигментов. Наши наблюдения позволяют предположить возможность вовлечения в обменные процессы таких конечных продуктов ПОЛ, как липопигменты, по крайней мере, в молодом возрасте. Этот процесс сопровождался полным восстановлением антиокислительного статуса организма, за исключением ткани мозга, где увеличение содержания витамина Е было менее выраженным.

В отличие от печени в мозгу животных, получавших рыбную диету, наблюдалась интенсификация ПОЛ на начальных этапах и на этапе усиленного накопления липопигментов, что согласуется с общим представлением о влиянии НЖК на ПОЛ. Введение в рацион витамина Е (третья группа) не оказывало влияния на начальный этап ПОЛ (стадия образования диеновых конъюгатов), но существенно снижало содержание конечного продукта (липопигментов). Поскольку полного восстановления содержания витамина Е до значений контроля не наблюдалось, то можно предположить, что в мозгу витамин Е утилизируется при компенсации перекисных повреждений.

Снижение содержания витамина Е в плазме крови крыс, получавших диету, обогащенную НЖК, свидетельствует о существенном ослаблении антиокислительного статуса организма в целом. По данным литературы известно, что добавление витамина Е животным в состоянии Е-гиповитаминоза без выраженных клинических признаков предупреждает накопление липофусцина в тканях [7, 8]. В нашем эксперименте введение в рацион крыс дополнительного количества витамина Е полностью восстанавливало содержание его в плазме крови и печени и на 35 % в мозгу по сравнению с животными второй группы.

Полученные нами результаты наглядно показывают существенные отличия роли витамина Е в тканях различных органов. А именно: в печени вклад этого витамина как антиокислителя выражен слабее, особенно на начальных этапах ПОЛ, возможно, вследствие высокой активности специфических ферментативных систем, что согласуется с данными литературы [2]. В ткани мозга больше заметна функция  $\alpha$ -токоферола именно как антиокислителя, поскольку известно, что особой



чувствительностью к Е-авитаминозу отличаются ткани с низкой активностью цикла пентоз, в частности нервная [3].

Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что составом диеты можно эффективно влиять на адекватность окислительных и антиокислительных процессов. Причем достижение динамического равновесия между субстратами ПОЛ, продуктами ПОЛ и антиокислителями обнаруживает тканевую специфичность. В мозгу это равновесие восстанавливается медленнее, вероятно, вследствие ограниченной проницаемости гематоэнцефалического барьера для веществ различной природы и, в частности, для различных стереоизомеров витамина Е [11]. Полученные факты необходимо учитывать при компенсаторной витаминотерапии ряда заболеваний, для которых характерно усиление ПОЛ, а также при назначении специальных диет.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой динамичности процессов накопления продуктов ПОЛ при варьировании в рационе питания содержания витамина Е и НЖК. Витамин Е способствует вовлечению в обменные процессы конечных продуктов ПОЛ — липопигментов, которые не выводятся из организма, а обычно откладываются в клетках в виде гранул липофусцина и носят название пигментов старения. Эффективность модуляции ПОЛ витамином Е более выражена в мозгу, однако восстановление количества витамина Е после алиментарного дефицита происходит медленнее, чем в плазме крови и печени. Полученные результаты имеют важное значение для изучения физиологических механизмов регуляции антиокислительного равновесия у животных в норме и при различных патологических процессах, сопровождающихся усилением ПОЛ.

A. V. Paranich, L. A. Chaikina

#### INFLUENCE OF ALIMENTARY FACTORS ON THE FORMATION OF PRIMARY AND FINAL PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION

In blood plasma, liver, and brain of pubertal female Wistar line rats the level of diene conjugates, fluorescent lipopigments and vitamin E were studied as a function of different diets: control, fish and fish with addition of vitamin E. The obtained results show that in the brain tissue the role of vitamin E as an antioxidant is more pronounced, but dynamical equilibrium between the oxidation substrates and antioxidants after alimentary deficiency of vitamin E is restored in the nervous tissue more slowly than in the liver and blood plasma. In the organism of young animals fluorescent pigments are not accumulated in form of inert products, but behave as normal metabolites.

A. M. Gorky University, Ministry of Higher and Secondary Special Education of the Ukrainian SSR, Kharkov

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безуглый Ю. В., Карелина В. И., Стороженко Л. В., Воскресенская Л. К. Морфологические и биохимические исследования показателей СРО и его ингибирования у животных // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии (Материалы симпозиума по витаминам антиоксидантного действия). — М.: Наука, 1981. — С. 37—39.
2. Бурлакова Е. Б., Аристархова С. А., Храпова Н. Г. Антиоксидантная функция токоферола и возможность его замены синтетическими ингибиторами. Витамины // Биохимия витамина Е и селена. — Киев: Наук. думка, 1975. Вып. 8. — С. 30—36.
3. Воскресенский О. Н. Биоантиоксиданты и перекисное окисление липидов. Витамины — антиоксиданты и системность биологического ингибирования ПОЛ биополимеров // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. — М.: Наука, 1981. — С. 6—9.
4. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33—36.
5. Лемешко В. В., Калиман П. А., Никитченко Ю. В. Возрастные особенности перекисного окисления липидов в печени крыс // Докл. АН УССР. Сер. Б. — 1981. — № 2. — С. 81—83.



6. Лемешко В. В., Никитченко Ю. В. Содержание гидроперекисей липидов в сердце и печени крыс разного возраста // Укр. биохим. журн.— 1986.— 58, № 6.— С. 22—27.
7. Обухова Л. К. Свободнорадикальные механизмы старения в биологической эволюции // Итоги науки и техники. Общие проблемы биологии.— М.: ВИНТИ, 1986.— Т. 5.— С. 36—68.
8. Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Молекулярные механизмы замедления старения антиоксидантами // Там же, 1984.— Т. 4.— С. 44—81.
9. Паранич А. В., Солошенко Э. Н. Определение витамина Е в сыворотке крови больных лекарственной болезнью // Лаб. дело, 1987.— № 9.— С. 682—685.
10. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика.— Минск: Высшая школа, 1973.— 352 с.
11. Спиричев В. Б., Матусис И. И., Бронштейн Л. М. Витамин Е. // Экспериментальная витаминология.— Минск: Наука и техника, 1979.— С. 18—57.
12. Blaauwboer A. J., Novak L., Hooghwinkel G. J. M. Organic solvent soluble lipofuscin pigment in brain tissues of mice fed large amounts of polyunsaturated fats in presence and absence of various antioxidants // Internat. J. Vit. Nutr. Res.— 1979.— 49.— P. 294—305.
13. Fletcher B. L., Dillard C. J., Tappel A. L. Free radical in biology // Anal. Biochem.— 1973.— 52, N 1.— P. 1—9.
14. Herbert K. E., Wills E. D. Platelet function and tissue lipid peroxidation in rats fed polyunsaturated fatty acids // 621st Meet. London, 17—19 Dec., 1986 // Biochem. Soc. Abstr.— London.— 1986.— P. 100.
15. Innis S. M., Clandinin M. T. Dynamic modulation of mitochondrial inner membrane lipid in rat heart by dietary fat // Biochem. J.— 1981.— 193, N 1.— P. 155—176.
16. Islam M. S., Nessa A. Cell biology of aging. 111 Malondialdehyde as an index of free radical reactions in the early senescent mutants of *Neurospora crassa* and study of the effect of free radical scavengers on malondialdehyde contents // Cell Biol. Int. Rep.— 1984.— 8, N 5.— P. 217—220.
17. Kruk P., Enesco H.  $\alpha$ -tocopherol reduces fluorescent age pigment in heart and brain of young mice // Experientia.— 1981.— 37, N 12.— P. 1301—1302.
18. Manohar M., Balasubramanian K. A. Antioxidant enzymes in rat gastrointestinal tract // Indian J. Biochem. and Biophys.— 1986.— 23, N 5.— P. 274—278.
19. Spector A. A., Burns C. P. Biological and therapeutic potential of membrane lipid modification in tumors // Cancer Res.— 1987.— 47, N 7.— P. 4529—4537.
20. Sundboom J., Olson J. A. Effect of aging on the storage and catabolism of vitamin A in mice // Exp. Gerontology.— 1984.— 19, N 4.— P. 257—265.
21. Tappel A. L. Protection against free radical lipid peroxidation reactions // Pharmacological Intervention Aging Process.— New York, 1978.— P. 111—131.
22. Yang N. Y., Desai I. D. Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins in rats // J. Nutr.— 1977.— 107, N 8.— P. 1418—1426.

Харьков. ун-т им. А. М. Горького  
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил  
в редакцию 25.05.90

УДК 612.11+612.014

В. П. Мищенко, И. П. Кайдашев, А. В. Катрушов,  
Ю. И. Силенко, О. И. Цевржинский

### **Влияние нейтрофильных лейкоцитов на состояние липидной пероксидации в эритроцитах и его физиологическое значение**

В настоящее время остается много неясного в механизмах разрушения стареющего эритроцита. Известно, что мало измененные эритроциты разрушаются в селезенке, а значительно измененные и нагруженные антителами — в печени. Однако спленэктомия не удлиняет жизни эритроцитов. Остается неясным, изменение каких компонентов клетки имеет значение для их разрушения.

Во многих работах по изучению качественного состава красной крови после спленэктомии отмечается его изменение и значительное увеличение числа нейтрофилов на 10-е сутки после операции [3].

© В. П. МИЩЕНКО, И. П. КАЙДАШЕВ, А. В. КАТРУШОВ, Ю. И. СИЛЕНКО,  
О. И. ЦЕВРЖИНСКИЙ, 1990.