

энтеросорбентов препараты созданы в отделе изделий медицинского назначения Института проблем материаловедения АН УССР.

У неполовозрелых крыс 2-й — 4-й групп моделировали токсический гепатит по модифицированному авторами этой статьи способу — семикратным внутримышечным введением 50 %-ного масляного раствора четыреххлористого углерода (0,15 мл) через каждые 3 сут. Антитоксическую функцию печени оценивали по интенсивности окисления маркерного препарата амидопирина [3] и активности НАД·Н- и НАДФ·Н-зависимых оксидаз и редуктаз в микросомах печени [12]. Для получения фракции микросом супернатант после выделения митохондрий подвергали повторному центрифугированию в течение 30 мин при 15 000 G. Устойчивость плазматических мембран эритроцитов оценивали спектрофотометрически по интенсивности кислотного гемолиза эритроцитов [11]. Содержание общих липидов, холестерина, триглицеридов, β -липопротеинов (ЛП), глюкозы, мочевины, органоспецифических ферментов, в частности аланин- и аспартатаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ соответственно), щелочной фосфатазы, в крови определяли унифицированными методами с использованием наборов фирмы «Lachema» (Чехословакия). Общий белок определяли биуретовым методом, спектр белков — электрофорезом на бумаге. Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и гомогенатах печени судили по концентрации гидроперекисей липидов — ГПЛ [8] и малонового диальдегида — МДА [9], а об антиоксидантной защите (АОЗ) — по концентрации восстановленного глутатиона [14] и активности глутатионпероксидазы [13]. При морфологическом исследовании печени проводили окраску гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизон.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки печени обрабатывали 2,5 %-ным раствором глутаральдегида с последующей фиксацией 1 %-ным раствором осмиевой кислоты. Срезы контрастировали по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе типа «ЭММА-4».

Результаты исследований обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента. Различия считали достоверными при $P \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Систематическое введение 50 %-ного масляного раствора четыреххлористого углерода неполовозрелым белым крысам вызывало токсическое поражение печени с возникновением структурных изменений в ее ткани, нарушением антитоксической, белоксинтезирующей, липотропной, мочевинообразующей функций, что в целом позволяет говорить о наличии у животных субхронического гепатита.

Применение в качестве энтеросорбента угля типа АУВМ марки «Днепр-МН» стимулировало детоксицирующую функцию печени у животных с экспериментальной патологией. Об этом можно было судить по усилению биотрансформации маркерного препарата амидопирина. Концентрация основного метаболита амидопирина — 4-аминоантипирина (4-ААП) в печени у леченых животных была более чем в 2,5 раза выше, чем у нелеченых. Подтверждением интенсификации микросомального окисления является повышение активности НАД·Н-зависимых оксидаз и редуктаз, играющих существенную роль в биотрансформации ксенобиотиков в печени (табл. 1).

Наряду с усилением детоксицирующей функции печени под влиянием энтеросорбентов у леченых животных стабилизировались плазматические мембраны эритроцитов. Об этом можно было судить по увеличению времени кислотного гемолиза эритроцитов, снижению его пика и сдвигу вправо, появлению добавочных пиков на эритрограммах (рис. 1).

Результаты исследования влияния энтеросорбента разной модификации на некоторые виды обмена у крыс при моделированном субхроническом токсическом гепатите представлены в табл. 2. Судя по этим результатам, после введения волокнистого угля нормализовалась мочевинообразующая функция печени и значительно снизилась активность органоспецифического фермента АсАт. Аналогичное влияние на мочевинообразующую функцию печени оказывали таблетки угля с крахмалом в качестве наполнителя. Наиболее выраженный эффект был получен при использовании таблеток с поливиниловым спиртом. При применении энтеросорбента такой модификации нормализовалась

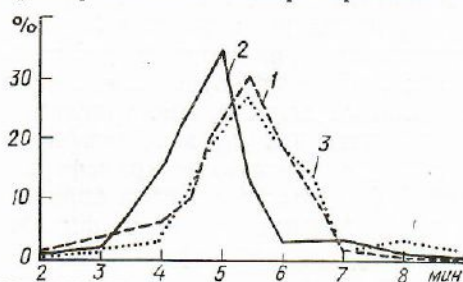


Рис. 1. Динамика относительной (%) устойчивости мембран эритроцитов у интактной крысы (1), у крысы с моделированным хроническим гепатитом (2), не получавшей в качестве энтеросорбента уголь типа АУВМ марки «Днепр-МН» и получавшей (3) в дозе 1000 мг/кг.

не только мочевинообразующая, но и белоксинтезирующая и липотропная функции печени: восстановились до значений нормы содержание в крови общих липидов, β -липопротеидов и активность щелочной фосфатазы. Такие изменения свидетельствуют об уменьшении повреждения мембран гепатоцитов.

Получены результаты, подтверждающие существенное влияние энтеросорбентов разной модификации на систему «ПОЛ—АОЗ» (табл. 3). Установлено, что использование волокнистого угля сопровождалось лишь снижением содержания МДА в печени и крови подопытных животных. Выраженное влияние на увеличение потенциала АОЗ оказывало использование таблеток угля с наполнителем крахмалом и, особенно, поливиниловым спиртом. При введении животным таблеток энтеросорбента, наполненных крахмалом, наблюдалось увеличение содержания восстановленного глутатиона и активация глутатионпероксидазы в ткани печени. При введении таблеток с поливи-

Таблица 1. Показатели антитоксической функции печени у крыс при моделированном гепатите, получавших уголь типа АУВМ марки «Днепр-МН» в качестве энтеросорбента

Группа животных	Концентрация 4-аминоантипирина в ткани печени, мкг/г	Активность НАД·Н-зависимых ферментов в белке микросом печени			
		НАД·Н-оксидаза, нмоль АД·мг ⁻¹ × мин ⁻¹	НАДФ·Н-оксидаза, нмоль АДФХ× мг ⁻¹ ·мин ⁻¹	НАД·Н-редуктаза, нмоль ДХФД× мг ⁻¹ ·мин ⁻¹	НАДФ·Н-редуктаза, нмоль ДХФНХ× мг ⁻¹ ·мин ⁻¹
Интактные крысы (1-я группа)	24,9±1,9	37,06±2,5	28,13±2,19	8,43±0,36	7,23±0,23
Крысы с моделированным субхроническим гепатитом:					
нелеченные (2-я группа)	5,0±0,8*	23,05±1,75*	16,90±2,72*	3,06±0,4*	6,46±0,66
леченные (3-я группа)	13,5±0,9*	28,13±1,19* ^Δ	18,12±1,32*	4,44±0,23* ^Δ	6,43±0,46

Примечания: ДХФД — 2,6-дихлорфенолиндофенол; здесь и в табл. 2 и 3 * достоверность отличий значений показателей по сравнению со значениями показателей 1-й группы при $P \leq 0,05$, ^Δ то же по сравнению со значениями показателей 2-й группы.

ниловым спиртом происходила полная нормализация содержания восстановленного глутатиона.

Гистологическое исследование ткани печени крыс с токсическим гепатитом, которым вводили энтеросорбент разной модификации, не выявило выраженной деструкции. При этом отмечались пролиферация звездчатых ретикулоэндотелиоцитов. Ультраструктура гепатоцита крысы при моделированном гепатите характеризовалась деструкцией митохондрий, снижением числа гранул гликогена (рис. 2, а). Положительное влияние энтеросорбента на ультраструктуру печени выражалось увеличением накопления гликогена в гепатоцитах, появлением признаков внутриклеточной регенерации, увеличением числа крист в митохондриях и цистерн в эндоплазматическом ретикулуме. В просветах капилляров выявлено увеличенное число крупных вакуолей и структур с мелкодисперсным содержимым, что указывает на активацию процессов метаболизма (см. рис. 2, б).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют прежде всего о явном детоксицирующем влиянии в качестве энтеросорбента волокнистого угля типа АУВМ марки «Днепр-МН» без наполнителя и с наполнителем (крахмалом или поливиниловым спиртом) на животных при экспериментальном гепатите. Наиболее выраженные положительные сдвиги были получены при использовании в качестве наполнителя поливинилового спирта. Вероятно, это может быть связано с конформационными изменениями молекул сорбента, вызванными их физико-химическим взаимодействием с молекулами наполнителей. По нашему мнению, в пользу этого предположения могут свидетельствовать

Таблица 2. Влияние энтеросорбентов на показатели некоторых видов обмена у неполовозрелых крыс при экспериментальном гепатите

Показатель	Интактные крысы (1-я группа)	Крысы с моделированным хроническим гепатитом			
		нелеченные (2-я группа)	леченные углем		
			волокнистым (3-я группа)	в виде таблеток с крахмалом (4-я группа)	в виде таблеток с поливиниловым спиртом (5-я группа)
Концентрация общего белка, г/л	70,9±4,9	71,44±5,18	71,2±4,2	73,3±4,3	84,1±5,2
Относительная концентрация, % общей:					
альбуминов:	46,5	33,6	33,1	35,7	48,6
α ₁	6,6	8,8	11,0	10,1	5,6
α ₂	11,3	11,9	14,5	14,0	11,4
β	17,2	20,6	19,5	17,6	18,6
γ	18,3	24,9	21,7	22,5	18,6
глобулинов	0,9±0,07	0,5±0,1*	0,5±0,06*	0,6±0,1*	0,94±0,04 ^Δ
Коэффициент аминин/глутамин					
Концентрация, ммоль/л					
глюкозы	4,5±0,6	2,8±0,3*	5,7±0,9	4,8±1,5	5,1±0,7 ^Δ
мочевины	7,5±1,0	4,5±0,3*	7,9±0,7 ^Δ	7,2±0,8 ^Δ	8,9±0,4 ^Δ
аланинаминотрансферазы	0,7±0,08	1,36±0,2*	0,9±0,01	1,4±0,3*	0,4±0,05 ^{*Δ}
аспартатамино-трансферазы	0,9±0,03	2,07±0,2*	1,3±0,2 ^Δ	1,7±0,3	0,19±0,01 ^{*Δ}
щелочной фосфатазы, мкмоль/л	0,5±0,15	1,88±0,3*	1,6±0,4*	0,9±0,2	0,5±0,19 ^{*Δ}
общих липидов, г/л	3,5±0,2	1,56±0,3*	2,8±0,6	2,5±0,6	3,5±0,4 ^Δ
β-липопротеинов, ед. опт. пл.	0,06±0,005	0,07±0,003	0,07±0,008	0,067±0,009	0,06±0,07
триглицеридов	0,45±0,06	0,68±0,08	0,66±0,04	0,75±0,09	0,95±0,07
холестерина	1,9±0,05	2,09±0,4	1,92±0,3	1,6±0,3	2,35±0,3

качественные различия влияния модифицированного угля на интенсивность образования ГПЛ в ткани печени животных с экспериментальным гепатитом. Если сам по себе уголь способствовал лишь снижению интенсивности образования ГПЛ, то модифицированный (крахмал или, особенно, поливиниловый спирт в качестве наполнителя) полностью нормализовывал концентрацию ГПЛ в ткани печени.

Существенной является возможность нормализации сдвигов, которые произошли в системе «ПОЛ—АОЗ» под влиянием угля, модифицированного поливиниловым спиртом. В связи с этим следует упомянуть о работе [5], в которой установлено, что применение в качестве энтеросорбента углей типа СКН у крольчат с экспериментальным гепатохолециститом приводит к активации свободнорадикального окисления, некомпенсируемой активацией АОЗ. Учитывая значимость АОЗ в поддержании гомеостаза клеток, следует, по-нашему мнению, целенаправленно изучать возможность регулирующего влияния сорбентов на эту систему: «ПОЛ—АОЗ».

Принципиальное значение для применения энтеросорбентов могут иметь полученные нами результаты, свидетельствующие о частичном или полном восстановлении функционирования мембранных структур клетки у животных с гепатитом, получавших энтеросорбенты. Как установлено нами, у животных, которым систематически вводили энтеросорбенты, наблюдали повышение устойчивости мембран эритроцитов к кислотному гемолизу, потенциала АОЗ, снижение активности органоспецифических ферментов АлАТ и АсАТ в крови.

Снижение активности НАДФ·Н-зависимых редуктаз является

Таблица 3. Влияние энтеросорбентов на активность системы «перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита» у крыс при экспериментальном гепатите

Показатель	Интактные крысы (1-я группа)	Крысы с моделированным хроническим гепатитом			
		ислеченные (2-я группа)	леченные углем		
			волокнистым (3-я группа)	в виде таблеток с крахмалом (4-я группа)	в виде таблеток с поливиниловым спиртом (5-я группа)
Кровь					
Концентрация гидроперекиси липидов, мкмоль/мг липидов	0,33±0,04	0,32±0,05	0,30±0,03	0,62±0,03* ^Δ	0,31±0,03
малонового альдегида, мкмоль/мг липидов	21,77±2,27	65,98±4,33*	44,60±4,08*	54,47±5,82* ^Δ	24,10±2,60
восстановленного глутатиона, мкмоль/мл эритроцитов	3,78±0,3	2,64±0,4	Нет свед.	2,10±0,4* ^Δ	3,30±0,17
Печень					
Концентрация, мкмоль/мг белка гидроперекиси липидов	130±5,7	71,0±6,5*	45,0±6,9* ^Δ	128,0±3,8	143,0±5,0
малонового альдегида	32,0±1,25	158,0±18,3*	110,0±22* ^Δ	125,0±31,4* ^Δ	24,2±2,7
восстановленного глутатиона	0,58±0,03	0,12±0,02*	0,18±0,02* ^Δ	0,36±0,05* ^Δ	0,55±0,04
глутатионпероксидазы	2,69±0,06	0,84±0,04*	0,82±0,08*	1,55±0,11* ^Δ	0,92±0,07*

косвенным доказательством ухудшения оксигенации клеток печени у животных с экспериментальным гепатитом. Повышение в этих условиях НАДФ·Н-зависимых оксидаз под действием энтеросорбента может рассматриваться с позиций усиления десатурации насыщенных жирных кислот и (как следствие) улучшения функциональных свойств мембран гепатоцитов. Последнее, вероятно, обуславливает нормали-



Рис. 2. Ультраструктура гепатоцита крысы с моделированным хроническим гепатитом (а), не получавшей в качестве энтеросорбента уголь типа АУВМ марки «Днепр-МН» и получавшей (б) в дозе 1000 мг/кг. Ув. 10 000.

зацию белоксинтезирующей и мочевинообразовательной функций печени. Действие подобного механизма повышения метаболической активности под влиянием энтеросорбентов согласуется с данными, свидетельствующими о способности энтеросорбентов повышать интенсивность транспорта веществ из крови в просвет кишки с помощью диффузии или железистого аппарата желудочно-кишечного тракта [2]. Можно полагать, что удаление такими путями токсических продуктов метаболизма восстанавливает функциональные свойства мембранных структур в первую очередь гепатоцитов, что отражается на повышении активности детоксикационной функции печени.

Таким образом, если при остром отравлении химическими агентами и пищевыми токсинами основным в механизме действия энтеросорбентов является прямое поглощение, что предотвращает последующую интоксикацию, то при хронических заболеваниях, характеризующихся постоянным наличием токсических продуктов обмена, на первый план выступает опосредованное нормализующее влияние энтеросорбентов на мембранные структуры клеток.

Полученные результаты экспериментов свидетельствуют о том, что в условиях моделированного гепатита у неполовозрелых крыс уголь типа АУВМ марки «Днепр-МН» и полученные из него препараты энтеросорбентов обладают детоксицирующим эффектом, нормализуя морфофункциональные сдвиги в мембранах гепатоцитов. Это обосновывает целесообразность их применения в комплексном лечении хронических гепатитов у детей.

M. L. Tarakhovsky, A. G. Tsytkun, V. P. Sergeev,
T. D. Zadorozhnaya, V. K. Tishchenko, V. F. Litvinov

EFFICIENCY OF ENTEROSORBENTS AND DETOXICATION MECHANISMS IN PREADOLESCENT ANIMALS WITH SIMULATED HEPATITIS

Different modifications of fibrous enterosorbent of the ACFM «Dnepr-MN» type exert a normalizing effect on the morphofunctional state of the liver of preadolescent rats with the model of toxic hepatitis. The distortion in the oxidation of lipids with peroxide and in the antioxidizing system protection removed, antitoxic liver function increases, which is confirmed by microsomal oxidation processes. A mediated effect of enterosorbents on the hepatocyte membrane structures is very significant for their detoxication effect.

P. M. Buiko Institute of Pediatrics,
Obstetrics and Gynecology, Ministry
of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андрианова И. П. Специфическое связывание холестерина при гемо-, плазмо- и энтеросорбции // Хроматография в биологии и медицине: Сборник научных трудов.— М., 1985.— С. 137—141.
2. Беляков Н. А., Соломенников А. В., Малахова М. Я. Динамика биохимических показателей крови при проведении энтеросорбции // Физиология человека.— 1989.— № 1.— С. 143—147.
3. Леоненко О. Б., Попов Т. А. Оценка НАДФ-зависимой монооксигеназной гидроксилирующей ферментной системы печени у лабораторных животных на уровне целостного организма: Метод. рекомендации.— К., 1981.— 10 с.
4. Лечение острых отравлений / Под ред. проф. М. Л. Тарашовского.— К.: Здоров'я, 1982.— 232 с.
5. Лукьянова Е. М., Бутылин Ю. П., Тарашовский М. Л. и др. Влияние энтеросорбции на функциональное состояние печени и поджелудочной железы и сопряженного с ним обмена веществ у крольчат с экспериментальным гепатохолециститом // Физиол. журн.— 1987.— 33, № 2.— С. 25—29.
6. Николаев В. Г., Пострелко В. М. Применение энтеросорбции для лечения абстинентного синдрома у больных хроническим алкоголизмом // Немедикаментозные методы лечения в клинической медицине.— М., 1982.— С. 27.
7. Николаев В. Г., Стрелко В. В., Коровин Ю. Д. и др. Теоретические основы и сферы практического применения метода энтеросорбции // Сорбционные методы детоксикации и иммунокоррекции в медицине.— Харьков, 1982.— С. 112—114.
8. Романова Л. А., Стальная И. Д. Метод определения гидроперексидов липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 64—66.
9. Стальная И. Д., Гаршивили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 66—68.
10. Терновой К. С., Бутылин Ю. П., Сакун Ю. М. Энтеросорбция в лечении заболеваний внутренних органов // Врачеб. дело.— 1987.— № 9.— С. 27—31.
11. Терсков И. А., Гительзон И. И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови.— Красноярск, 1959.— 237 с.

12. Cinti D. G., Moldeus P., Shenkman J. B. The role of the mitochondria in rat liver mixed function oxidation reactions // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1972.—47, N 5.— P. 1028—1035.
13. Olinescu R., Nita S. Influence of hemoproteins on glutathione peroxidase activity // Rev. Roum. Biochim.—1973.—10, N 2.— P. 119—125.
14. Sedlac I., Lidsay R. Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfhydryl group in tissues // Anal. Biochem.—1968.— N 25.— P. 192—205.

Киев. науч.-исслед. ин-т педиатрии,
акушерства и гинекологии им. Героя Сов. Союза
проф. П. М. Буйко М-ва здравоохранения Украины

Материал поступил
в редакцию 05.05.91

УДК 612.015.1+612.453.015

Н. Д. Тронько, В. М. Пушкарёв, И. С. Челнакова,
Л. В. Яровая, А. С. Микоша

Регуляция биосинтеза гормонов в надпочечных железах морских свинок ионами калия при действии дигидропиридинов

1. Анализ изменений стероидогенеза, вызываемых дигидропиридинами

Повышение концентрации K^+ в инкубационной среде от 3 до 8 ммоль/л усиливает биосинтез альдостерона срезами коры надпочечников морских свинок. Влияние модуляторов кальциевых каналов, ВАУ К 8644, нитрендипина и вновь синтезированного производного дигидропиридина — 2,6-диметил-3,5-ди (этоксикарбонил)-4-(3', 4'-диметоксифенил)-1, 4-дигидропиридин — ДГП-51, зависело от содержания K^+ в среде и концентрации модулятора. Образование альдостерона в среде, содержащей 3 ммоль/л K^+ возрастало только при добавлении ВАУ К 8644 50 нмоль/л. При высокой концентрации K^+ ДГП-51 снижал продукцию альдостерона, а нитрендипин (500 нмоль/л) усиливал. Усиленный синтез альдостерона в ответ на повышение уровня K^+ в среде предупреждался в присутствии ДГП-51, а также ВАУ К 8644 в низких концентрациях. ДГП-51 тормозил включение меченого холестерина в альдостерон, кортикостерон, гидрокортизон и кортизон при высоком содержании K^+ в среде (8—11 ммоль/л).

Введение

В процессах регуляции функции и метаболических процессов в клетке особая роль принадлежит ионам Ca [3]. Изменение входа и выхода ионов Ca , перераспределение Ca^{2+} между внутриклеточными структурами и связывание ионов белками создают сложную регуляторную систему, определяющую функциональную активность клеток. Не являются исключением в этом плане и эндокринные железы. Активация коры надпочечников кортикотропином, ангиотензином II и ионами K^+ в значительной мере обусловлена участием Ca^{2+} [6, 8, 9, 13]. Известно, что в клетках клубочковой зоны коры надпочечных желез преобладают кальциевые потенциалзависимые каналы Т-типа [9, 14]. Специфической особенностью этих каналов в адренокортикоцитах является их высокая чувствительность к дигидропиридинам.

Различные 1,4-дигидропиридины (ДГП), в частности, ВАУ К 8644, нитрендипин и нифедипин, применяли при выяснении роли кальциевых каналов в регуляции секреции кортикостероидов [4, 12, 13]. Образо-

© Н. Д. ТРОНЬКО, В. М. ПУШКАРЁВ, И. С. ЧЕЛНАКОВА, Л. В. ЯРОВАЯ,
А. С. МИКОША, 1991

вание альдостерона срезами надпочечников при добавлении ВАУ К 8644 не изменялось ни в низко-, ни в высококальциевой среде [4]. Однако биосинтез гормона диспергированными клетками активировался ВАУ К 8644 при субоптимальной концентрации K^+ и тормозился при оптимальной [11]. Сходные данные получены Balla и соавт. [7]. Необходимо отметить, что при концентрации K^+ 18 ммоль/л ВАУ К 8644 существенно подавлял образование гормона. Ранее нами исследовалась возможность применения вновь синтезированных ДГП для модулирования ответа коры надпочечников на K^+ [4]. Наиболее активным соединением оказался 2,6-диметил-3,5-ди-(этоксикарбонил)-4-(3',4'-диметоксифенил)-1,4-дигидропиридин (ДГП-51). Добавление 50 нмоль/л ДГП-51 полностью предупреждало стимуляцию синтеза альдостерона срезами надпочечников морских свинок [4]. Известно, что ингибиторы кальциевых каналов нитрендипин и нифедипин тормозят K^+ -зависимую активацию биосинтеза альдостерона [6, 10].

Таким образом, использование агонистов и антагонистов кальциевых каналов позволяет получить ценные сведения о значении ионов Са в регуляции секреции кортикостероидных гормонов. Важно отметить, что ДГП — ингибиторы кальциевых каналов (нитрендипин, нифедипин, фторидон) — широко применяются в качестве гипотензивных и антиаритмических лекарств. Их влияние на синтез альдостерона и его регуляцию может, с одной стороны, составлять существенное звено лечебных эффектов, с другой, — явиться осложнением при лечении.

Цель работы — изучение изменений биосинтеза кортикостероидных гормонов при варьировании концентрации K^+ и модулировании функции кальциевых каналов с использованием различных ДГП.

Методика

Опыты проведены на самцах морских свинок массой 250—350 г. Животных декапитировали между 10 и 11 ч, надпочечники очищали от жира и соединительной ткани, с максимальной полнотой удаляли медуллярную зону и готовили срезы, толщиной 0,5—0,8 мм. Срезы инкубировали в 1 мл среды, содержащей фосфатный буфер Кребса—Рингера, 20 ммоль/л $NaHCO_3$ (pH 7,6), 1—11 ммоль/л K^+ , 2 ммоль/л Ca^{2+} , 2 мг бычьего сывороточного альбумина (БСА) и производные 1,4-дигидропиридина (0—500 нмоль/л).

Для изучения скорости превращения $[^3H]$ -холестерина в стероиды срезы (10—30 мг) преинкубировали с меченым предшественником 30 мин при 37 °C, после чего в среду вносили необходимые добавки, и инкубация продолжалась еще 25 мин. На пробу вносили 1 МБк неопределенномеченого $[^3H]$ -холестерина. После инкубации пробу быстро охлаждали, срезы гомогенизировали в 2 мл буфера, содержащего 25 ммоль/л триэтанолamina (ТЭА)-HCl (pH 7,6), 25 ммоль/л KCl, 3 ммоль/л Mg-ацетата, 3 ммоль/л 2-меркаптоэтанол, 250 ммоль/л сахарозы, 0,1 ммоль/л фенилметилсульфонилфторида. Стероиды экстрагировали хлороформом. Перед хроматографированием в пробы вносили в качестве носителей стабильные гормоны. Разделение стероидов осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках марки SilufolUV 254. Хроматографирование проводили в двух направлениях, используя системы растворителей: хлороформ — этанол (97:3) и бензол — ацетон (65:35). Силикагель, содержащий стероиды, снимали с пластин, переносили во флаконы со сцинтилляционной жидкостью марки ЖС-8 и просчитывали радиоактивность в счетчике Mark III. Включение радиоактивных предшественников относили к 1 мг инкубированной ткани.

При определении образования альдостерона срезы (2—6 мг) инкубировали в течение 25 мин при 37 °C, гомогенизировали в буфере инкубации и измеряли концентрацию гормона с помощью радиоиму-