

Crit. Care Med. — 1990. —  
view. — Berlin, 1987. —  
Clin. Obstet. Gynecol. —  
ne bordering experimental  
I. — P. 81—104.  
e electrocardiographic and  
xicology. — 1986. — 24,

Матеріал поступив  
в редакцію 18.01.94

УДК 577.125.33+161.2

А.В.Параніч, А.В.Копилов, В.П.Гугало, В.С.Назарець

## Антиокислювальна активність гомогенатів і ліпідів, вилучених з інтактних та ішемізованих органів щурів

На гомогенатах і ліпідах, виделенных из мозга, сердца и печени, исследовали антиокислительную активность (АО). Использовали модель термического автоокисления линетола в присутствии изучаемых образцов. Показано, что АО имеет тканевые особенности: в липидах сердца она выше, чем в мозгу. Ишемия органов приводит к практической потере этих свойств. Вклад липидов в общую АО ткани зависит от специфики органа и тем больше, чем менее разнообразна система нелипидных антиокислителей. Вклад липидов мозга в общую активность почти в 10 раз больше, чем в печени.

### Вступ

Нині є кілька шляхів дослідження антиокислювального стану в організмі, але вони, на жаль, погано взаємопоєднуються. Існує думка, що антиокислювальний (АО) гомеостаз активно підтримується [1, 7] багатьма системами на різних рівнях організації живих об'єктів: молекулярному, клітинному, тканинному та на рівні цілого організму. Закономірності регуляції, природно, значно відрізняються за механізмами дії. На модельних системах АО активність (АО) інтенсивно вивчається. Наукове та прикладне значення цих досліджень не має сумніву, оскільки реалізація ефектів, викликаних різними факторами, на мембранистому та молекулярному рівнях має неспецифічний характер [2, 4, 8]. Напрямок індукованих процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та їх інтенсивність, звичайно, визначаються хімічним складом тканин та особливостями обміну речовин [2].

Метою нашого дослідження було вивчення особливостей регуляції АО гомеостазу у тканинах щурів відразу, а також після тотальної ішемії органів і внеску ліпідів у загальну АО мозку, серця та печінки.

### Методика

Досліди проведені на молодих статево незрілих щурах лінії Вістар віком 1 міс. Тварин декапітували, швидко вилучали мозок, серце та печінку; половину кожного органу у вологій склянці заглиблювали у водяну баню з температурою 37 °C на 15 хв для відтворення умов тотальної ішемії [2]; другу половину органу відразу занурювали в рідкий азот. Після кріоподрібнення та розморожування тканин готували 10 %-й гомогенат на фосфатному буфері (рН 7,4), який потім використовували для дослідження АО у моделі термічного автоокислення лінетолу. Останній (фармакопейний) має у своєму складі етилові ефіри ненасичених жирних кислот, а саме: близько 15 % олеату, 15 % лінолеату, 57 % ліноленату та 9—11 % інших ефірів. Цей препарат зручніше використовувати ніж олеат, оскільки, виходячи з його складу, при автоокисленні у ньому ймовірне проходження практично всіх типів реакцій ПОЛ. Це дає можливість оцінити вплив усіх систем, що є у тканинах. Інкубаційні суміші готували так: 1) до 0,5 мл гомогенату додавали 0,2 мл лінетолу; 2) до 0,5 мл буферу додавали 0,2 мл лінетолу

(контроль); 3) до 0,5 мл буферу додавали 0,2 лінеголу та 10 мкг  $\alpha$ -токоферолу (стандартного інгібітора ПОЛ); 4) до 0,5 мл буферу додавали 0,2 мл лінеголу та 20 мкг  $\alpha$ -токоферолу. Всі проби інтенсивно перемішували й вміщували у повітряний термостат на 2 год при 50 °С. Паралельно так само досліджували ліпіди, вилучені екстрагуванням за Фолчем із тих самих тканин. У гомогенатах та екстрактах визначали вміст ліпідів за Меншиковим [10]. При розробці даної модифікації використано досвід інших авторів [5, 6, 14, 16–18, 20, 23]. Після закінчення інкубації відбирали аліквоти, розчиняли їх у гептані та реєстрували спектри поглинання на спектрофотометрі «Specord UV V15» у діапазоні від 200 до 300 нм. Крім того, визначали кількість ТБК-активних продуктів, накопичених в інкубаційній суміші [15]. Розраховували АОА за співвідношенням оптичної щільності хромофорів дослідних проб і лінеголу [12]. Отримані результати обробляли статистично, використовуючи критерій t Стьюдента [13].

### Результати та їх обговорення

На рис. 1 наведено типовий спектр поглинання екстрактів проб після термічного автоокислення, який демонструє гальмування ПОЛ ліпідами мозку (у контролі на 27 %) та  $\alpha$ -токоферолом (на 42 %). Це показує, що АОА ліпідів можливо оцінювати за даною методикою та порівнювати з вітаміном Е.

Відомо, що внаслідок ішемії активується ПОЛ з накопиченням у тканині великої кількості альдегідів [25], а також збільшується вміст у них вільних ненасичених жирних кислот [24]. Безумовно, що ці та інші зміни істотно впливають на АО гомеостаз й активність систем, що його регулюють [19]. Стійкість динамічної рівноваги залежить від усіх складових частин цих систем, причому роль жиророзчинних вітамінів, як неспецифічних стабілізаторів мембрани, може стати визначальною [9]. Здатність  $\alpha$ -токоферолу відновлюватися за рахунок аскорбінової кислоти [22] або убіхіону [21] може набувати особливої важливості за умов ішемії органу. Вивчення АОА ліпідів і гомогенатів тканин дозволило знайти частку ліпідів у загальній АОА тканини, а також тканинні особливості цього внеску. На рис. 2 наведено діаграми накопичення продуктів ПОЛ у модельних системах. Показано, що ліпіди тканин контрольних проб мають позитивні АО властивості, причому

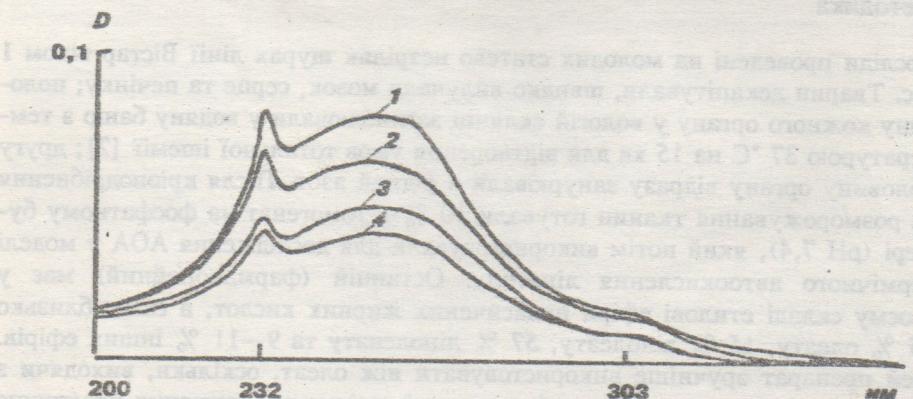


Рис. 1. Спектри поглинання екстрактів, отриманих із зразків у моделі термічного автоокислення: 1 — лінегол; 2 — лінегол з добавкою ліпідів мозку контрольних шурів; 3 — лінегол з добавкою 10 мкг  $\alpha$ -токоферолу; 4 — лінегол з добавкою 20 мкг  $\alpha$ -токоферолу. За віссю абсцис — довжина хвилі, нм; за віссю ординат — оптична щільність розчину.

у серці їх активні значення цього АОА ліпідів протиінактивації внаслідок чого утворюється відповідна реакція. Але ішемізованих тканин повністю втрачається вітамін Е, кількість якого відомо [11], підтверджується.

Після визначення АОА ліпідів, кількість ліпідів, зіставити ці знаряддя з внеском ліпідів у залізистини. У цих дослідів печінку та мозок маса серця у що одночасно вести з гомогенатах, і нарахувано, що внесок мозку майже у 10 разів менший, ніж печінки. Ця різниця не може бути абсолютною, що відомо, що велика кількість ліпідів природи, як  $\alpha$ -токоферол, беруть участь у збереженні активності білків. Саме тому внесок ліпідів більшою.

Таким чином, порівняно з мозком, АОА ліпідів має позитивні властивості. Іншими словами, індукцією органу із ліпідами в загальній АОА ліпідів у загальній АОА мозку.

A.V.Paranch, A.V.Kopylov  
THE ANTOXIDATIVE ACTIVITY OF LIPIDS ISOLATED FROM BRAIN AND LIVER IN ISCHEMIA-DAMAGED TISSUE

The antioxidative activity of lipids isolated from brain and liver was studied. The model of thermal autoxidation of linoleic acid was used. The antioxidative activity of lipids isolated from brain and liver in ischemia of the organs leads to the general antioxidative activity of lipids from the brain to liver.

University, Kharkov Ministry of Education of Ukraine

та 10 мкг  $\alpha$ -токоферу додавали інтенсивно пе-  
од при 50 °C. Паг-  
уванням за Фоль-  
к визначали вміст  
її використано  
кінчення інкубації  
ли спекти погли-  
оні від 200 до 300  
ктів, накопичених  
дношеннем оптич-  
Отримані резуль-  
Стюдента [13].

рактів проб після  
ня ПОЛ ліпідами  
). Це показує, що  
та порівнювати з

иченням у тканині  
міст у них вільних  
інші зміни істотно  
регулюють [19].  
зих частин цих си-  
к неспецифічних  
ність  $\alpha$ -токоферолу  
або убіхіону [21]  
значення АОА ліпідів  
загальній АОА тка-  
а рис. 2 наведено  
зах. Показано, що  
активності, причому

у серці їх активність у 2 рази більша, ніж у мозку, в свою чергу, значення цього показника було таким, як у  $\alpha$ -токоферолу. Збільшення АОА ліпідів протягом інкубації зразків свідчить про велику здатність їх до інактивації продуктів ПОЛ, внаслідок чого уриваються ланцю-  
гові реакції. Але ліпіди, вилучені з ішемізованих тканин, практично повністю втрачають АО властивості. Ймовірна причина цього — неможливість відновлення АО типу вітаміну Е, кількість якого, як відомо [11], під час ішемії зменшується.

Після визначення АОА гомогенатів і ліпідів, а також знаючи кількість ліпідів, ми мали нагоду зіставити ці значення та оцінити внесок ліпідів у загальну АОА тка-  
нини. У цих дослідах використано печінку та мозок, оскільки мала маса серця у щурів не дозволяла одночасно вести спостереження і на гомогенатах, і на ліпідах. Було ви-  
раховано, що внесок ліпідів в АОА мозку майже у 10 разів більший, ніж печінки. Ця оцінка, звичайно, не може бути абсолютною, оскільки відомо, що велика кількість сполук ліпідної природи, а серед них  $\alpha$ -то-  
коферол, беруть участь у регулю-  
ванні активності багатьох АО фер-  
ментів. Саме тому фізіологічна роль ліпідів в АОА може бути значно більшою.

Таким чином, було визначено, що ліпіди серця мають більшу АОА порівняно з мозком. Ішемія органів призводить до повної втрати ліпідами АО властивостей. Внесок ліпідів у загальну АОА тканини визначається спе-  
цифікою органу і він тим більший, чим менша різноманітність систем неліпідних АО, у тому числі й АО ферментів. Саме тому в мозку внесок ліпідів у загальну АОА майже у 10 разів більший ніж у печінці.

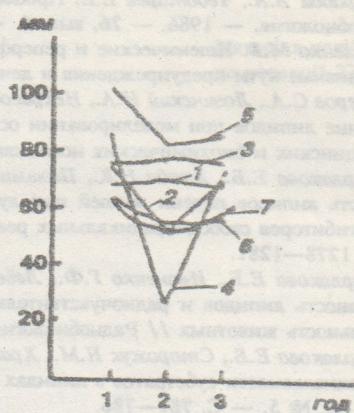


Рис. 2. Зміна вмісту первинних продуктів ПОЛ (амплітуда піку 232 нм при термічному автоокисленні зразків ліпідів, вилучених із тканин щурів контрольної серії та після ішемії органів: 1 — лінепол; 2 — лінепол з добавкою ліпідів мозку (контроль); 3 — лінепол з добавкою ліпідів серця (контроль); 5 — лінепол з добавкою ліпідів серця (ишемія); 6 — лінепол з добавкою 10 мкг  $\alpha$ -токоферолу; 7 — лінепол з добавкою 20 мкг  $\alpha$ -токоферолу. За віссю абсцис — час термічного автоокислення, год; за віссю ординат — амплітуда піку 232 нм, мм.

A.V.Paranych, A.V.Kopylov, V.P.Gugalo, V.V.Nazarets

#### THE ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF HOMOGENATES AND LIPIDS ISOLATED FROM INTACT AND ISCHEMIA-DAMAGED ORGANS OF RATS

The antioxidative activity of homogenates and lipids isolated from the brain, heart and liver was studied. The model of thermal autoxidation of linetolum in the presence of specimens studied was used. The antioxidative activity of lipids from the heart is higher than that of lipids from the brain. Ischemia of the organs leads to a practically complete loss of these qualities. The contribution of lipids to the general antioxidative activity of the tissue depends on the organ peculiarities. The contribution of lipids from the brain to the general activity is almost 10 times higher than that of lipids from the liver.

University, Kharkov Ministry  
of Education of Ukraine

термічного автоокислен-  
щурів; 3 — лінепол з  
перолу. За віссю абсцис

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аристархова С.А., Архипова Г.В., Бурлакова Е.Б. и др. Регуляторная роль взаимосвязи изменений в концентрации антиоксидантов и составе липидов клеточных мембран // Докл. АН СССР. — 1976. — 228, № 1. — С. 215—218.
2. Барабой В.А., Чеботарев Е.Е. Проблемы перекисного окисления в радиобиологии // Радиobiология. — 1986. — 26, вып. 5. — С. 591—597.
3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). — М.: Медицина, 1989. — 368 с.
4. Бугров С.А., Лозинский Н.А., Некрасов В.И. Антиоксидантная система и перекисное окисление липидов при моделировании острой гипоксии. — В кн.: Модельные системы в медицинских и биохимических исследованиях. — М.: Медицина, 1989. — С. 56—59.
5. Бурлакова Е.Б., Дзюба Н.К., Пальмина Н.П., Эмануэль Н.М. Антиокислительная активность липидов печени мышей при лучевой болезни и перевиваемом лейкозе и действие ингибиторов свободнорадикальных реакций // Докл. АН СССР. — 1965. — 163, № 5. — С. 1278—1281.
6. Бурлакова Е.Б., Иваненко Г.Ф., Лебенгарц Я.З., Шишкина Л.Н. Антиокислительная активность липидов и радиочувствительность. Сообщ. 4. Влияние диеты на радиочувствительность животных // Радиobiология. — 1977. — 17, вып. 2. — С. 216—220.
7. Бурлакова Е.Б., Сторожук Н.М., Храпова Н.Г. О взаимосвязи активности антиоксидантов и окисляемости субстратов в липидах природного происхождения // Биофизика. — 1988. — 33, № 5. — С. 781—786.
8. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Обидин А.Б. Показатели свободнорадикального окисления липидов и антирадикальной защиты мозга — нейрохимические корреляты развития общего адаптационного синдрома // Журн. высш. нерв. деятельности. — 1988. — 38, вып. 4. — С. 731—737.
9. Кондрусев А.И., Спирчев В.Б., Чертков К.С., Рымаренко Т.В. Витамины и ионизирующая радиация // Хим.-фарм. журн. — 1990. — 24, № 1. — С. 4—12.
10. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследований в клинике: Справочник. — М.: Медицина, 1987. — 365 с.
11. Паранич А.В., Солошенко Э.Н. Определение витамина Е (токоферола) в сыворотке крови больных лекарственной болезнью // Лаб. дело. — 1987. — № 9. — С. 682—685.
12. Промыслов М.Ш., Демчук М.Л. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови // Вопр. мед. химии. — 1990. — 36, № 4. — С. 9092.
13. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышеш. шк., 1973. — 352 с.
14. Салькова Е.Г., Амзашвили М.Г. Изучение антиокислительной активности экстрактов кукурузы яблок // Прикл. биохимия и микробиология. — 1987. — 23, вып. 5. — С. 686—691.
15. Спирчев В.Б., Матусис И.И., Бронштейн Л.М. Витамин Е. — В кн.: Экспериментальная витаминология. — Минск: Наука и техника, 1979. — 57 с.
16. Шишкина Л.Н., Бурлакова Е.Б., Дзюба Н.М. и др. Антиокислительная активность липидов и радиочувствительность. Сообщ. 1. Сезонные изменения антиоксидантной активности липидов и радиочувствительность мышей // Радиология. — 1974. — 14, вып. 1. — С. 35—38.
17. Шишкина Л.Н., Алексенко А.В., Пальмина Н.П., Бурлакова Е.Б. Антиокислительная активность липидов и радиочувствительность. Сообщ. 2. Изменения антиокислительной активности липидов и радиочувствительность мышей в течение дня // Там же. — 1976. — 16, вып. 4. — С. 39—43.
18. Шишкина Л.Н., Пальмина Н.П., Бурлакова Е.Б. Антиокислительная активность липидов и радиочувствительность. Сообщ. 3. Влияние направленного изменения антиокислительной активности липидов при введении синтетических антиоксидантов на радиорезистентность мышей // Там же. — Вып. 2. — С. 230—233.
19. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. The antioxidants of human extracellular fluids // Arch. biochem. and biophys. — 1990. — 280, № 1. — Р. 1—8.
20. Janero D.R., Burghardt B. Analysis of cardiac membrane phospholipid peroxidation kinetics as malondialdehyde: nonspecificity of thiobarbituric acid — reactivity // Lipids. — 1988. — 23, № 5. — Р. 452—458.
21. Kagan V., Serbinova E., Han D. et al. On the path from ubiquinol: chain breaking lipid peroxyl radical scavenging or vitamin E radical recycling? // Free Radical Biol. and Med. — 1990. — Suppl. № 1. — Р. 24.
22. Liebler D.C., Kaysen K.L., Kennedy T.A. Redox cycles of vitamin E: hydrolysis and ascorbic acid dependent reduction of 8-(alkyldioxi) tocopherones // Biochemistry. — 1989. — 28, № 5. — Р. 9772—9777.
23. Mieashita K., Takagi T. Catalytic effect of acetic acid on the autoxidation of methyl linoleate // Agric. Biol. Chem. — 1987. — 51, № 4. — Р. 1179—1181.

24. Nakamura K., Ichijo T. Inhibition of lipid peroxidation by fatty acids in the rat heart // Free Radical Biol. and Med. — 1990. — 9, № 2. — Р. 259—267.
25. Poli G., Biasi F., Ciriello V. Antioxidant activity of polyphenols against lipid peroxidation in rat heart after myocardial ischemia // Free Radical Biol. and Med. — 1990. — 9, № 2. — Р. 167—170.

Харків. ун-т М-ва освіти та науки України

24. Nakamura K., Ichihara K., Abiec Y. Effect of lidocaine on the accumulation of non-esterified fatty acids in the ischemic perfused rat heart // Eur. J. Pharmacol. — 1989. — 169. — P. 259—267.
25. Poli G., Biasi F., Chiarpotto E. et al. Lipid peroxidation in human diseases: evidence of red cell oxidative stress after circulatory shock // Free Radic. Biol. and Med. — 1989. — 6, № 1. — P. 167—170.

Харків. ун-т М-ва освіти України

Матеріал надійшов  
до редакції 22.12.93

я роль взаємосвязи  
точных мембран //

цибногеном // Ра-

(молекулярные ме-

— 368 с.

и перекисное окис-  
ление системы в ме-

— С. 56—59.

окислительная актив-  
ность лейкоцита и действие

965. — 163, № 5. —

окислительная ак-  
тивность на радиочувстви-

216—220.

ности антиоксидантов  
Биофизика. — 1988.

окисления  
стадии развития обще-

1988. — 38, вып. 4.

иммы и ионизирующую

2.  
ривочник. — М.: Ме-

дико в сыворотке крови  
С. 682—685.

суммарной антиокси-  
990. — 36, № 4. —

1973. — 352 с.

ности экстрактов ку-  
пл. 5. — С. 686—691.

: Экспериментальная

активность липидов  
итной активности ли-

вым 1. — С. 35—38.

окислительная актив-  
ность антиоксидантной актив-

же. — 1976. — 16,

активность липидов  
ния антиокислитель-

е на радиорезистент-  
aids // Arch. biochem.

peroxidation kinetics as  
pids. — 1988. — 23,

breaking lipid peroxyl  
and Med. — 1990. —

hydrolysis and ascorbic  
stry. — 1989. — 28,

of methyl linoleate //