

УДК: 615. 272: 577. 81

©Козак М.В.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ УРОВНЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЯ ПОСЛЕ ГОНАДЭКТОМИИ И ВВЕДЕНИИ α - ТОКОФЕРОЛА.

М.В. КОЗАК

Астраханский государственный педагогический университет, 414056, Астрахань,
ул. Татищева, д. 20а, (рект.) факс: 25-17-18, эл. почта: astpedun@astranet.ru

Исследовали закономерности изменения уровня перекисного окисления липидов у самок и самцов белых крыс на фоне введения α -токоферола, после гонадэктомии и их сочетаний. С помощью дисперсионного анализа установлено наличие и сила влияния фактора половых различий при всех видах воздействия. Сделано предположение об участии α -токоферола в регуляции стероидного профиля животных, через его воздействие на гонадо- и адренокортикотропную функции гипофиза.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, α -токоферол, половые различия.

ВВЕДЕНИЕ. В последние десятилетия значительно возросло число исследований, посвященных анализу перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах и жидких средах. Механизмы этих процессов рассматриваются в монографии Ю.А.Владимирова и А.И.Арчакова [1] и А.И.Арчакова [2], а также в работах последних лет [3-6]. Выявлена группа агентов, непосредственно взаимодействующих со свободными радикалами, так называемые, истинные антиоксиданты: α -токоферол, гормоны: тироксин, стероидные гормоны и многочисленные синтетические соединения, такие как гидрохинон, нафтолы, ионол и другие.

Основной представитель липидных антиоксидантов – α -токоферол, является универсальным протектором всех клеточных мембран, независимо от типа ткани, что связано с его высокой антирадикальной активностью [7]. Круг возможных антиоксидантов расширился, когда было доказано [8], что ингибиторами ПОЛ являются собственно стероидные гормоны. Основные этапы и детали биосинтеза стероидных гормонов анализируются многими авторами [9-11]. В связи с этим, значительный интерес представляет исследование уровня

ПОЛ при различном стероидном профиле самцов и самок, а также при дополнительном введении природного антиоксиданта - α -токоферола. При исследовании влияния витамина Е на органы и ткани организма роль пола во внимание обычно не принимается. Вместе с тем существуют доказательства различия эффектов действия α -токоферола у самцов и самок животных [12, 13].

Целью нашей работы было исследование уровня ПОЛ самцов и самок белых крыс в норме, при введении фармакологических доз α -токоферола, а также после гонадэктомии.

МЕТОДИКА. Опыты поставлены летом на половозрелых белых крысах линии Вистар, средней массой: 260г (самцы) и 230г (самки), возраст животных – 1 год и пять месяцев. Животные содержались в виварии при температуре 20-22°C в стандартных лабораторных условиях (самцы и самки отдельно). В ходе эксперимента определяли фазы эстрального цикла [14,15]. Самки взяты в опыт в фазы диэструса и метаэструса. Установлено, что у самок циклические изменения концентрации эстрогенов в крови коррелируют с уровнем свободнорадикального окисления, достигающего максимума в период метаэструса и диэструса [8,16]. Поэтому наши исследования проводились в период относительного «гормонального покоя» самок, когда организм обладает наибольшей чувствительностью к воздействию экзогенных антиоксидантов.

Все животные (самцы и самки отдельно) были подразделены на группы:

- 1- контроль (К) – без воздействия;
- 2- пероральное введение 10% раствора α -токоферола (Е) в дозе 1 мг/ на 100 г массы животного - 14 дней [2,9].
- 3 - гонадэктомия (ГЭ), проведённая за две недели до начала опытов [15].
- 4 - гонадэктомия + введение α -токоферола (ГЭ+Е) на протяжении 2-х недель.

5 - ложная гонадэктомия (ЛГЭ), операция за две недели до начала опытов.

Исследовали уровни перекисного окисления липидов (ПОЛ) по количеству малонового диальдегида (МДА) в нмоль на 0,5 г сырого веса печени крыс [1, 17]. Параллельно определяли содержание ацилгидроперекисей (АГП) липидов в плазме крови в относительных единицах оптической плотности на 1 мл плазмы (при длине волны $\Delta 233$) [18]. Кроме того, определяли относительную массу надпочечников и гонад.

Животных декапитировали под хлоралгидратным наркозом (2,5% раствор, 1мл / 100г массы, в/бр).

Полученные результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента. Дисперсионный анализ проводили, используя стандартную компьютерную программу EXCEL-97 для WINDOWS.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты исследований показали, что количество МДА в гомогенатах печени у самцов во всех группах достоверно превышает значение этого показателя у самок (рис. 1). Введение α -токоферола в дозе, соизмеримой со средней терапевтической, привело к уменьшению уровня МДА у самцов почти вдвое, а у самок – более чем в 3 раза в сравнении с контролем ($P < 0,001$ в обоих случаях).

После гонадэктомии уровень МДА у самцов уменьшился незначительно (1,13 раза), а у самок в 1,67 раза ($P < 0,001$). Отмечен антиоксидантный эффект α -токоферола при введении его гонадэктомизированным самкам: уровень МДА уменьшился в 5 раз в сравнении с контролем ($P < 0,001$). У самцов уровень МДА в

этом варианте опыта снизился в 2,5 раза ($P < 0,001$). Ложная гонадэктомия сопровождалась недостоверными колебаниями уровня МДА как у самцов, так и у самок ($P > 0,05$).

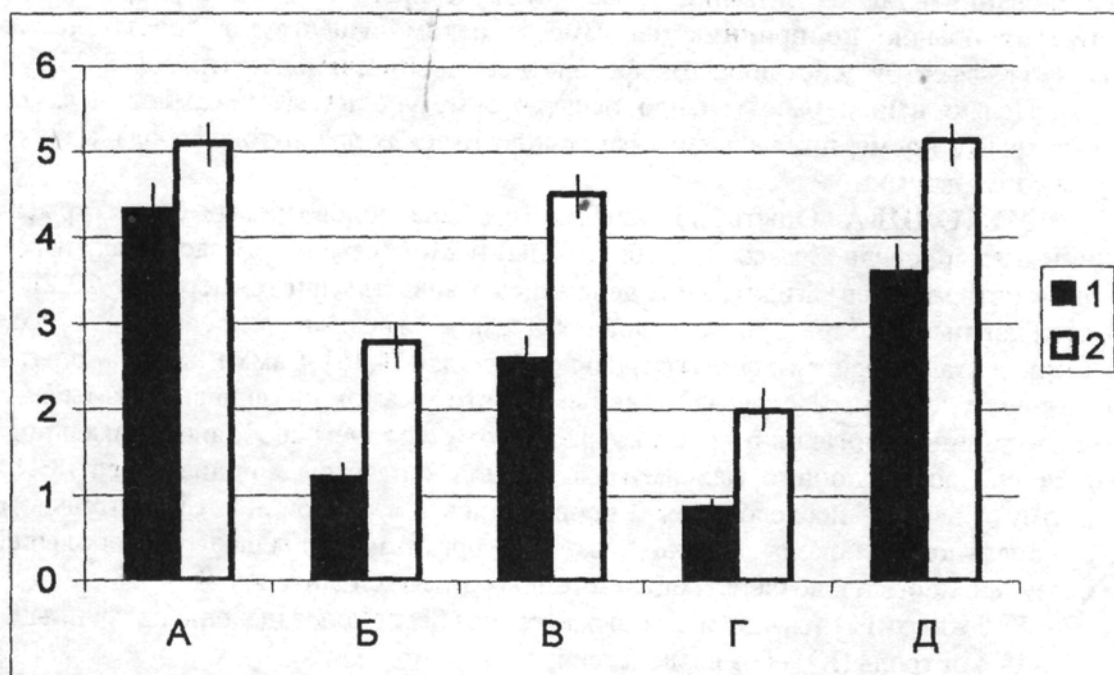


Рисунок 1

Уровень малонового диальдегида в гомогенатах печени белых крыс в нмоль на 0,5г сырого веса печени (1- самки, 2- самцы).

Обозначения: А- контроль, Б- α-токоферол, В- гонадэктомия, Г- гонадэктомия + α-токоферол, Д- ложная гонадэктомия.

Достоверность разности: в случаях Б, В, Г - $P < 0,001$; случае Д - $P > 0,05$.

У самцов во всех группах уровень АГП превышает величину этого показателя у самок (табл.1). Введение α-токоферола приводило к уменьшению уровня АГП у самцов в 1,3 раза, а у самок в 1,17 раза в сравнении с контролем ($P < 0,05$ в обоих случаях).

После гонадэктомии уровень АГП у самцов и самок уменьшился ($P < 0,05$). Отмечено усиление антиоксидантного эффекта α-токоферола при введении его гонадэктомизированным животным, при этом уровень АГП уменьшился вне зависимости от пола ($P < 0,05$). Ложная гонадэктомия сопровождалась недостоверными колебаниями уровня АГП у самцов и самок в сравнении с контрольными вариантами ($P > 0,05$).

Для выявления силы влияния половых различий в сочетании с различными экспериментальными воздействиями на уровень ПОЛ был применён метод дисперсионного анализа.

Сила влияния половых различий + воздействие ($\eta^2 x$) оказалась достоверно высокой во всех вариантах опыта при оценке изменения уровня АГП (табл. 2).

Таблица 1. Влияние α -токоферола, гонадэктомии и их комбинации на уровень ацилгидроперекисей липидов плазмы крови белых крыс ($\Delta 233$ на 1 мл плазмы).

Характер воздействия	Количество животных	Масса тела (г)	Уровень АГП
Самки			
Контроль	6	200	$4,46 \pm 0,18$
α -токоферол	7	196	$3,08 \pm 0,06^*$
Гонадэктомия	6	185	$3,26 \pm 0,13^*$
ГЭ + Е	8	208	$2,70 \pm 0,11^*$
ЛГЭ	4	193	$3,80 \pm 0,24$
Самцы			
Контроль	7	231	$5,3 \pm 0,11$
α -токоферол	7	280	$4,2 \pm 0,05^*$
Гонадэктомия	6	234	$4,3 \pm 0,08^*$
ГЭ + Е	7	255	$2,9 \pm 0,04^*$
ЛГЭ	4	217	$5,4 \pm 0,30$

Примечание: значимость различий $^* - P < 0,05$

Таблица 2. Сила влияния половых различий + экспериментальное воздействие на уровень АГП

Вид воздействия	$\eta^2 x$
α -токоферол	0,55*
Гонадэктомия	0,45*
ГЭ + Е	0,62*
ЛГЭ	0,29

Примечание: значимость различий $^* - P < 0,05$

Для выявления силы влияния каждого из экспериментальных факторов, а также, силы влияния пола животных на уровень ПОЛ проведён двухфакторный дисперсионный анализ результатов определения уровня малонового диальдегида в печени крыс (табл. 3).

Таблица 3. Расчёт силы влияния ($\eta^2 x$): экспериментальных воздействий и пола животных на уровень малонового диальдегида в печени крыс методом двухфакторного дисперсионного анализа

Вид воздействия	Фактор А (влияние экспериментального воздействия)	Фактор В (влияние пола животного)	Взаимодействие факторов АВ
1. Контроль		0,2*	
2. Витамин Е	0,3***	0,31***	0,7***
3. Гонадэктомия	0,22**	0,28**	0,52**
4. Гонадэктомия + Витамин Е	0,78***	0,07**	0,85**

Примечание: *** - $P < 0,001$; ** - $P < 0,01$; * - $P < 0,05$.

Таким образом, отмеченные нами изменения уровня ПОЛ, а также различия в реакции самок и самцов на воздействие α -токоферола и гонадэктомию подтвердились результатами дисперсионного анализа.

Известно, что с первых дней после гонадэктомии у белых крыс выявляются признаки адrenокортикотропной стимуляции [19,20]. Реакция аденогипофиза на удаление половых желёз определяется комплексной активацией его гонадотропной и адrenокортикотропной функцией. Последнее приводит, с первых дней опыта, к подъёму уровня глюкокортикоидов в крови [21], антиоксидантные свойства, которых могут создать снижение, наблюдаемое в нашем опыте.

Адреналовая система является важнейшим фактором, определяющим гормональный статус белых крыс [21]. Естественно ожидать, что аденогипофиз крыс обеспечивает высокую реактивность коры надпочечников при адаптации к изменению уровня стероидных гормонов в организме [21]. Морфологические и физиологические исследования [21,22] показали, что адrenокортикотропная стимуляция влечёт за собой морфофункциональные изменения коры надпочечников при «сцеплении» гонадотропной и адrenокортикотропной функций. Учитывая известную морфофункциональную перестройку надпочечников после гонадэктомии, интерес представляют половые различия во влиянии природного антиоксиданта α -токоферола в сравнении с эффектами гонадэктомии на относительную массу надпочечников с учётом различия стероидного профиля самцов и самок. Оказалось, что относительная масса надпочечников интактных самок ($0,023 \pm 0,0017\%$) вдвое превышает величину этого показателя самцов ($0,011 \pm 0,0045\%$) ($P < 0,001$), но не существенно изменяется при введении токоферола и гонадэктомии.

Изменение относительной массы гонад при воздействии токоферола оказалось достоверным только у самцов ($1,3 \pm 0,027\%$; в контроле - $1,7 \pm 0,083\%$, ($P < 0,001$).

Результаты опытов позволяют предположить участие α -токоферола в регуляции баланса половых стероидов, вероятно, за счет влияния на гонадотропную и адrenокортикотропную функции аденогипофиза.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов обнаружены статистически достоверные различия уровня перекисного окисления липидов у интактных самцов и самок белых крыс.

Половые различия уровня перекисного окисления липидов сохраняются, как при введении интактным животным α -токоферола, так и после гонадэктомии.

При введении α -токоферола уровень ацилгидроперекисей плазмы крови, а также содержание МДА существенно снижается как у самцов, так и у самок.

При дефиците половых гормонов, вызванном гонадэктимией, содержание ацилгидроперекисей и МДА также достоверно снижается у животных мужского и женского пола.

Обнаружено статистически значимое уменьшение относительной массы гонад самцов белых крыс после введения добавочных доз α -токоферола.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* (1972). Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., Наука.
2. *Арчаков А.И.* (1975). Микросомальное окисление. М., Наука.
3. *Дюмаев К.Н.* (1995). Антиоксиданты в профилактике и терапии патологии центральной нервной системы. М., НИИ биомедицинской химии РАМН.
4. *Манукян А.А., Акопян А.А.* (1998). V Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». М., 133.
5. *Сорокина И.В., Крысин А.П., Хлебникова Т.Б., Кобрин В.С., Попова Л.Н.* (1997). Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободно радикальному окислению. (Аналитический обзор). Новосибирск, 66.
6. *Хачатурьян М.Л., Гукасов В.М., Комаров П.Г., Пирогова Л.Б., Биленко М.В.* (1996). Бюлл. exper. биол. мед., №2, 138-142.
7. *Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г., Сторожок Н.М. и др.* (1990). Вопр. мед. химии. N4, 72-74.
8. *Сергеев П.В.* (1984). Стероидные гормоны. М., Наука
9. *Халилов Э.М., Образцова Н.В.* (1975). Материалы 2 Всесоюзного симпозиума «Структура, биосинтез и превращение липидов в организме животных и человека». Тезисы докладов. М., Наука, 81.
10. *Хефتمان Э.* (1972). Биохимия стероидов. М., Мир.
11. *Brenner R.R.* (1977). Drug. Metab. Revs, 6, 155-212.
12. *Кондратенко Е.И.* (1996). Исследование влияния естественного и синтетического антиоксидантов на функцию щитовидной железы. Дисс. канд. биол. наук. Астрахань.
13. *Котельников А.В.* (1997). Роль натурального и синтетического антиоксидантов в регуляции проницаемости гистогематических барьеров гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы белых крыс. Дисс. канд. биол. наук. Астрахань.
14. *Киришенблат Я.Д.* (1973). Сравнительная эндокринология яичников. М., Наука.
15. *Киришенблат Я.И.* (1969). Практикум по эндокринологии. М., Высшая школа.
16. *Балбатун О.А., Жмакин И.К.* (1996). Физиол. ж. им. И.М. Сеченова, 82, (7), 93-98.
17. *Строев Е.А., Макарова Е.Г.* (1986). Практикум по биологической химии. М., Высшая школа.
18. *Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И.* (1983). Лаб. дело, N3, 33-35.
19. *Неворотин А.И.* (1996). Лучевое поражение и регенерация передней доли гипофиза в зависимости от уровня его секреторной активности. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Л.
20. *Прочуханов Р.А.* (1968). Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. 54, (6), 26-32.

21. *Прянишников В.А.* (1968). Видовые особенности коры надпочечников на введение эстрогенов в процессе гормонального канцерогенеза. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Л.
22. *Прочуханов Р.А., Прянишников В.А.* (1975). Ж. эвол. биохим. и физиол. 7, 484- 489.

Поступила 28.08.99.

SEXUAL DIFFERENCES BETWEEN PLASMA PEROXIDATION PATTERNS IN NORMAL RATS, AFTER GONADECTOMY AND α -TOCOPHEROL TREATMENT

M.V. KOZAK

Astrakhan State Pedagogical University, 414056, Astrakhan, Tatischeva street. 20a,
(fax) 25-17-18, e-mail: astpedun@astranet.ru

The patterns of plasma lipid peroxidation (LPO) in normal male and female rats, after gonadectomy and α -tocopherol treatment were investigated. Sexual LPO differences were established and confirmed by the dispersion analysis. It is suggested that α -tocopherol participates in the regulation of steroid profile by regulating and adrenokynetic of the hypophysis.

Key words: lipid peroxydation, α - tocopherol, sexual differences.