

**THE ACTION OF A NUMBER OF ORGANIC SALTS  
OF METALS ON SOME BIOCHEMICAL INDICATIONS  
IN THE CULTURE OF THE CELLS**

S. Ye. Dejneka, K. M. Khlus

**Abstract.** It was investigated the character of changes of the some biochemical indication (the activities of alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase, the levels of urea, creatinine and middle-weight peptides in cultural liquid) under the cytotoxic action on the cellular culture Hep-2 of stearates, acetates and citrates of metals (the range of doses 15.6 — 250.0 mkg/ml). It was determined that the latter change in the low concentration intracellular metabolic processes. The properties of cations determine mainly negative effect of studied salts of metals, organic anionic play a lesser part.

**Key words:** biochemical indications, salts of metals, culture of the cells, in vitro. Research Institute of Medico-Ecological Problems (Chernivtsi).

УДК:577.115.4:57.034

*I. I. Заморський*  
**ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ  
ЗА РІЗНОГО ОСВІТЛЕННЯ**

Кафедра патологічної фізіології та медичної фізики  
(зав. — проф. В. Ф. Мислицький)  
Буковинської державної медичної академії

**Ключові слова:** фотоперіодизм, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза.

**Резюме.** Досліджена дія різного роду освітлення — природних умов, постійного освітлення і постійної темряви — на вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів та активність антиоксидантних знешкоджуючих ферментів у гомогенатах кори головного мозку ювенільних щурів. Виявлені фотоперіодичні зміни в інтенсивності пероксидного окислення ліпідів. За постійного світла збільшується вміст малнового діальдегіду і дієнових кон'югатів та зменшується активність глутатіонпероксидази, а за умов постійної темряви зменшується вміст дієнових кон'югатів та зростає активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази.

**Вступ.** Відомо, що інтенсивність пероксидного окислення ліпідів у тканинах організму підвладна хроноритмам, зокрема цирканнуальним [3]. Часозадавачем і одночасно примусовим синхронізатором для цирканнуальних (сезонних) ритмів є, імовірно, фотоперіод [5], тобто зміна протягом року довжини світлового періоду доби. Тому з метою вивчення внеску фотоперіоду в механізми зміни протягом року інтенсивності пероксидації макромолекул у нашій роботі досліджувались вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів (початкових — дієнових кон'югатів, і проміжних — малнового діальдегіду) та активність основних детоксикуючих ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1] і глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9]) в корі головного мозку щурів за умов різного освітлення.

**Матеріал і методи.** Експерименти проведені на 54 статевонезрілих самцях безпородних білих щурів масою 65-75 г, які знаходились в досліді 7 діб і доростали на момент визначення інтенсивності пероксидного окислення ліпідів до ювенільного віку 5,5-6,0 тижнів. Щурів утримували при температурі 20-24°C на стандартному вітамінізованому харчовому раціоні з вільним доступом до води. Фотоперіодичні зміни в організмі тварин моделювали протягом одного тижня за допомогою трьох режимів освітлення: 1) природна зміна світлової і темної фаз доби у весняно-літній період року, при цьому співвідношення світлової і темної фаз доби в середньому дорівнювала 16:8 год; 2) постійне цілодобове освітлення; 3) постійна цілодобова темрява. Режим постійного освітлення здійснювався лампою денного світла потужністю 20 Вт, яка створювала постійне освітлення з 500 лк, що зменшує рівень утворення мелатоніну в організмі не менш, ніж на 90 % від існуючого в темний період доби і фактично відповідає фізіологічній і функціональній пінеалектомії. Доступ до тварин, які знаходились в умовах постійної темряви, здійснювався тільки при слабкому в 2 лк червоному світлі протягом 10 хв на добу, що підтримує показники мелатоніну в організмі на постійно високому рівні [1, 7].

Після модуляції фотоперіодичних змін тварин під легким ефірним наркозом декапітували, швидко забирали головний мозок, охолоджували його в холодному фізіологічному розчині [9] і на льоді виділяли кору лобової частки великих півкуль. Зразки тканин заморожували і зберігали в рідкому азоті. При проведенні визначення продуктів пероксидного окислення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів тканину мозку гомогенізували в 0,25 М трис-НСІ (Sigma, США) буфері (рН 7,4). Аліквоти гомогенатів центрифугували при 900 g 15 хвилин, отримані супернатанти використовували в подальших дослідженнях.

Вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду визначали за [4, 8], враховуючи кількість дієнових кон'югатів в мкмоль на 1 г тканини мозку, а малонового діальдегіду в нмоль на 1 г тканини мозку. Активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази визначали спектрофотометрично, виражаючи активність глутатіонпероксидази в нмоль окисленого глутатіону (Reanal, Угорщина), що утворився за 1 хв на 1 мг білка [6], а супероксиддисмутази в одиницях активності за 1 хв на 1 мг білка. За одиницю активності супероксиддисмутази приймали ту кількість ферменту, яка за умов реакції [14] необхідна для гальмування відновлення 50 % нітросинього тетразолію [10]. Вміст білка визначали за методом [11]. Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики з врахуванням параметричного критерію t Ст'юдента та непараметричного критерію U Вілкоксона-Манна-Уїтні.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Згідно з наведеними в таблиці даними видно, що у тварин, які знаходились в умовах постійної темряви, активності ферментів глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази були вищими в середньому відповідно на 38 % ( $p < 0,005$ ) і 64 % ( $p < 0,005$ ), а вміст дієнових кон'югатів був нижчий на 36 % ( $p < 0,01$ ), в порівнянні з тваринами, що знаходились в природних умовах освітлення. В той же час в умовах постійного світла в порівнянні з природними умовами освітлення активність глутатіонпероксидази була меншою в середньому на 19 % ( $p < 0,025$ ), а при порівнянні з умовами постійної темряви активності глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази нижчі в середньому на 71 % ( $p < 0,005$ ) і 96 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. При цьому вміст дієнових кон'югатів за постійного освітлення, в порівнянні з показниками при природних умовах освітлення зростає в середньому на 25 % ( $p < 0,05$ ). При порівнянні умов постійного освітлення з умовами постійної темряви вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів — як дієнових кон'югатів, так й малонового діальдегіду — був вищий в середньому відповідно на 97 % ( $p < 0,001$ ) і 35 % ( $p < 0,025$ ). Отже, активність ферментів антиоксидантного захисту — глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази — зменшується під впливом постійного світла і збільшується за умов постійної темряви, що призво-

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у корі великих півкуль головного мозку ювенільних щурів за різної довжини світлового періоду (M±m)

Умови дослідження	Кількість тварин	Вміст		Активність ферментів	
		ліпідних кон'югатів (мкмоль/г тканини)	малонового діальдегіду (нмоль/г тканини)	супероксиддисмутази (Од/хв x мг білка)	глутатіонпероксидази (нмоль окисленого глутатіону/хв x мг білка)
Природні умови освітлення	8	0,63±0,052	94,7±7,35	6,2±0,54	54,9±2,03
Постійне світло	7	0,79±0,056*	110,6±9,22	5,2±0,38	44,2±2,98*
Постійна темрява	7	0,40±0,033***	81,6±7,65**	10,2±0,69***	75,6±4,12***

\*p<0,05 в порівнянні з природними умовами освітлення;

\*\*p<0,05 в порівнянні з умовами постійного освітлення;

\*\*\*p<0,05 в порівнянні з природними умовами освітлення та умовами постійного освітлення.

дить до протилежних змін у вмісті продуктів пероксидного окислення ліпідів — дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду.

Отримані результати можна пояснити, якщо врахувати дані про те, що “гормон темряви” мелатонін має виражені антиоксидантні властивості [15]. Завдяки цим властивостям, як відкрито за останні п'ять років, мелатонін може, з одного боку, безпосередньо знешкоджувати найбільш небезпечний для клітин гідроксильний радикал ОН [12], таким чином, перериваючи процес подальшого вільнорадикального окислення ліпідів; з іншого боку, мелатонін опосередковано зменшує інтенсивність пероксидного окислення ліпідів, стимулюючи один з детоксикаційних ферментів глутатіонпероксидази [13]. Умови постійної темряви викликають підвищення утворення мелатоніну в шишкоподібному тілі і відповідне збільшення рівня циркулюючого мелатоніну [2], який стимулює активність глутатіонпероксидази і, можливо, виходячи з отриманих нами даних, супероксиддисмутази. Збільшення активності антиоксидантних ферментів зменшує, відповідно, інтенсивність пероксидного окислення ліпідів, що й було зареєстровано в наших дослідках. За умов постійного світла, при практично повній відсутності мелатоніну активність глутатіонпероксидази, як показано нашими дослідженнями, зменшується, а інтенсивність пероксидного окислення ліпідів зростає, що і призводить до накопичення в корі головного мозку продуктів пероксидного окислення ліпідів — дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду.

**Висновок.** Умови постійного освітлення призводять до збільшення, а постійної темряви — до зменшення інтенсивності пероксидного окислення ліпідів в корі головного мозку щурів.

**Література.** 1. За морський І. І. Участь перегородки в регуляції біоритмологічних змін структури і функції сім'яників білих щурів: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Київ, 1994. — 25 с. 2. Бондаренко Л. А., Песоцкая П. М. Мелатонин и пролактин: суточные и сезонные ритмы // Физиол. журн. — 1987. — 33, №4. — С. 98-101. 3. Влияние сезона года на показатели перекисного окисления липидов миокарда животных с различной устойчивостью к гипоксии / Хачатурьян М. Л., Гусов В. М., Комаров П. Г. и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1995. — Т. 120, № 7. — С. 87-90. 4. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33-36. 5. Гвиннер Э. Годовые ритмы: общая перспектива / Биологические ритмы: Пер. с англ. / Под ред. Ю. А. Ашоффа. — М.: Мир, 1984. — Т. 1. — С. 44-54. 6. Мещишин И. Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, доцеония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Киев, 1991. — 37 с. 7. Пишак В. П. Функциональные связи эпифиза и почек у позвоночных: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Киев, 1985. — С. 33. 8. Стальная И. Д., Гавришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68. 9. Степаничев М. Ю., Онуфриев М. В., Лазарева Н. А., Гуляева Н. В. Нейрохимические особенности крыс, различающихся по поведению в тесте эмоционального резонанса. Свободнорадикальные процессы и липиды коры больших полушарий мозга старых крыс // Ж. высш. нерв. деят-сти. — 1995. — Т. 45, № 5. — С. 990-998. 10. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase // Biochemie. — 1975. — V. 57, N 3. — P. 657-660. 11. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193, N 1. — P. 265-275. 12. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E / Pieri C., Marra M., Moroni F. et al. // Life Sci. — 1994. — V. 55, N 15. — P. PL271-276. 13. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity // Barlow — Walden L. R., Reiter R. J., Abe M. et al. // Neurochem. Int. — 1995. — V. 26, N 5. — P. 497-502. 14. Nashikimi N., Appajik R., Jagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenasin methosulfate and molecular oxygen // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 1972. — V. 46, N 2. — P. 849-854. 15. Reiter R. J. Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation // Front. Neuroendocrinol. — 1995. — V. 16, N 4. — P. 383-415.

# INTENSIFICATION OF THE LIPID PEROXIDATION IN CASE OF VARYING ILLUMINATION

I. I. Zamorsky

**Abstract.** The effect of varying conditions of illumination (natural conditions, constant illumination and constant darkness) on the content of the product of lipid peroxidation and the activity of antioxidant detoxifying enzymes in homogenates of brain cortex of juvenile rats were studied. Photoperiodic changes were revealed in the intensification of the lipid peroxidation. The content of malondialdehyde and conjugated dienes increases and the activity of glutathione peroxidase reduces under constant light, while the content of conjugated dienes decreases and the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase increases under conditions of constant darkness.

**Key words:** photoperiodism, conjugated dienes, malondialdehyde, superoxide dismutase, glutathione peroxidase.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi).

---