

УДК [577.161.1 + 577.161.3]:591.461:599

СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНОВ А И Е В КОРКОВОМ И МОЗГОВОМ СЛОЯХ ПОЧЕК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Т. Н. Ильина, И. В. Баишникова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

В корковом и мозговом слоях почек млекопитающих (крыса, норка, песец, лисица) методом жидкостной хроматографии исследовали содержание витаминов А (ретинол) и Е (α -токоферол). Уровень витамина А в корковом слое у всех животных был значительно выше, чем в медуллярном. Оба слоя почки хищных млекопитающих характеризовались более высоким содержанием витамина А, чем почки крысы. Четких различий между слоями в распределении токоферола обнаружено не было. В то же время уровень токоферола в обоих слоях почки был высоким у всех исследованных видов млекопитающих.

К л ю ч е в ы е с л о в а: витамины А и Е, млекопитающие, почки, корковый и мозговой слои.

T. N. Ilyina, I. V. Baishnikova. VITAMINS A AND E CONTENT IN THE CORTICAL AND MEDULLARY KIDNEY LAYERS OF MAMMALS

The vitamins A (retinol) and E (α -tocopherol) concentration in the cortical and medullary kidney layers of mammals (rat, mink, polar fox, fox) was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Vitamin A concentration in the renal cortex of all animals was significantly higher than in the renal medulla. Both renal layers of the carnivorous mammals were characterized by a higher vitamin A concentration than rat kidneys. No clear differences between layers in tocopherol distribution were detected, but tocopherol concentration in both renal layers was high in all studied species of mammals.

K e y w o r d s: vitamins A and E, mammals, kidney, cortical and medullary layers.

Введение

Для поддержания на физиологическом уровне концентрации активных форм кислорода, необходимых для ряда биохимических процессов в клетке, эволюционно сложилась антиоксидантная система. Неферментативное звено этой системы представлено низкомолекулярными антиоксидантами, к которым относятся витамины А и Е. Адаптация к различным факторам среды сопровождается из-

менением антиокислительной активности липидов, которая зависит от содержания в них основного природного антиоксиданта – витамина Е, входящего вместе с витамином А в группу так называемых «пищевых антиоксидантов», потребность в которых удовлетворяется поступлением с пищей, а недостаток приводит к развитию свободнорадикальной патологии с характерными клиническими проявлениями [Надилов, 1991; Меньщикова и др., 2006].

Почки играют важную роль в поддержании гомеостаза организма и обеспечении его адаптации к условиям внешней среды. У млекопитающих почки – это образования бобовидной формы, на поперечном срезе которых можно различить корковое и мозговое вещество. Корковое представлено главным образом почечными клубочками, а мозговое — канальцевыми частями нефронов. Если основной функцией коркового вещества является первичная фильтрация мочи, то функция мозгового слоя – выведение и распределение продуктов фильтрации. Имеющиеся в литературе данные указывают на неодинаковый уровень процессов перекисного окисления липидов в корковом и мозговом слоях почек разных видов животных, что связывают с различиями в уровне как ферментных [Chen et al., 2003], так и неферментных [Никифорова и др., 1993] компонентов антиоксидантной системы. В представленных ранее работах, выполненных на лабораторных животных, имеются данные о распределении между корковым и мозговым слоями почек низкомолекулярных антиоксидантов витаминов А и Е [Никифорова и др., 1993; Raila et al., 2001]. Однако немногочисленность подобных исследований оставляет открытым вопрос, насколько полученные результаты характерны для разных видов млекопитающих. Поэтому в настоящей работе исследовалось содержание витаминов А и Е в корковом и мозговом слоях почек не только лабораторных животных (крыса), но и введенных в зоокультуру (норка, песец, лисица), подобные исследования на которых ранее не проводились.

Материалы и методы

Исследовались почки лабораторных крыс линии ЛИО (n = 4), а также норки (n = 3), песцов (n = 4) и серебристо-черных лисиц (n = 4) клеточного содержания. Почки после забора промывали физиологическим раствором, выделяли корковое и мозговое вещество. Образцы тканей замораживали и хранили при температуре –25 °С до проведения анализа, для которого готовили гомогенат ткани, используя в качестве суспензирующей среды 0,25 М раствор сахарозы. К гомогенату добавляли 0,025%-й раствор бутилокситолуола в этиловом спирте и тщательно смешивали для осаждения белков. Приливали 0,0125%-й раствор бутилокситолуола в n-гексане, встряхивали 5 мин, затем центрифугировали 10 минут при 3000 об./мин. Пробу для хроматографического анализа отбирали из верхнего гексанового слоя. Определение концентрации ви-

таминов А (ретинол) и Е (α-токоферол) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Скурихин, Двинская, 1989]. Использовали колонку с прямой фазой, заполненную сорбентом с размером частиц 5 мкм, элюентом служила смесь гексана с изопропанолом в соотношении 98,5:1,5. Детектирование анализируемых компонентов проводили при 292 нм для α-токоферола и 324 нм для ретинола. Для построения калибровочных кривых использовали стандартные растворы α-токоферола и ретинола («Sigma»). Полученные результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики.

Исследования выполнены с использованием приборной базы Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН.

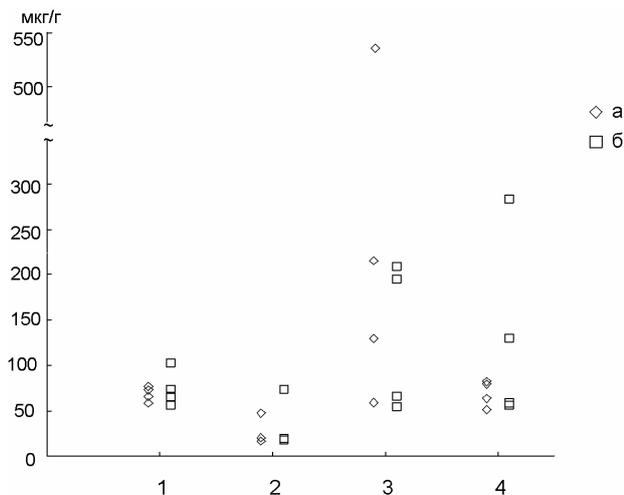
Результаты и обсуждение

У всех исследованных видов животных содержание витамина А в корковом веществе почек было в 1,5–3 раза выше, чем в мозговом. В то же время его уровень как в корковом, так и в мозговом слоях у песцов и лисиц был выше, чем у норки, а у каждого из этих видов – значительно выше (от 16 до 49 раз), чем у крысы (табл.). Общее содержание витаминов в тканях млекопитающих связано с их видовой принадлежностью [Crissey et al., 2001; Ильина, 2008]. Считают, что высокий уровень витамина А в ткани почек собачьих, к которым относятся песец и лисица, указывает на важную роль этого органа в метаболизме витамина А у представителей данного семейства. Установлено, что собачьи выделяют значительные количества ретинола и его эфиров с мочой [Schweigert et al., 1996]. Избыток витамина А токсичен для организма, и выведение его органом, для которого процесс поддержания постоянства физико-химических констант жидкостей внутренней среды является основной функцией, совершенно естественно. Питание животных определяет у них уровень переносящего ретинол ретинолсвязывающего белка, транспортером которого является преальбумин или транстиретин [Raila et al., 2001]. Регулирующая роль почек опосредуется клу-

Содержание витаминов А и Е в корковом и мозговом слоях почек млекопитающих, (M ± δ)

Животные	Витамин А, мкг/г		Витамин Е, мкг/г	
	слой почки			
	корковый	мозговой	корковый	мозговой
Крыса	1,25 ± 0,17	0,585 ± 0,03	68,43 ± 7,06	74,25 ± 17,24
Норка	29,0 ± 7,73	9,4 ± 2,91	28,17 ± 13,82	37,07 ± 25,56
Лисица	42,33 ± 6,66	29,73 ± 4,08	234,45 ± 181,81	130,88 ± 70,82
Песец	47,33 ± 20,12	25,08 ± 17,73	69,13 ± 12,35	131,9 ± 92,38

бочковой фильтрацией, резорбцией и секрецией протеинсвязанных витаминов. В физиологических условиях транстретин с ретинолсвязывающим белком образуют играющий важную функциональную роль комплекс, предотвращая тем самым гломерулярную фильтрацию ретинолсвязывающего белка в почках, а следовательно, и потерю витамина А с мочой. Ретинол в таком комплексе очень стабилен и недоступен веществам, быстро реагирующим с ним в свободном состоянии. Витамин-транспортные белки фильтруются в почечных клубочках и в дальнейшем подвергаются реабсорбции в проксимальных канальцах путем эндоцитоза [Raila, Schweigert, 2001]. Вероятно, эти процессы и определяют высокое содержание в корковом слое витамина А, установленное у всех исследованных животных. Подобная закономерность была также обнаружена в почках домашних кошек [Raila et al., 2001]. Установленный у плотоядных – норки, песца и лисицы – уровень витамина А, во много раз превосходящий его содержание в обоих слоях почек крысы, связан, очевидно, как с алиментарными факторами, так и с видовыми особенностями животных.



Распределение содержания α -токоферола между корковым и мозговым слоями почки млекопитающих:

а – корковый слой, б – мозговой слой; 1 – крыса, 2 – норка, 3 – лисица, 4 – песец

Содержание α -токоферола в мозговом веществе почек крысы, норки и песца в среднем было выше, чем в корковом, что характерно для других видов млекопитающих [Никифорова и др., 1993]. Проведенные ранее исследования показали также неодинаковое распределение активности антиоксидантных ферментов в корковом и мозговом слоях почек: так, активность супероксиддисмутазы в

мозговом слое крыс была выше, чем в корковом [Chen, 2003]. В то же время в нашем исследовании четких различий между слоями в распределении α -токоферола обнаружено не было (рис.). Анализ индивидуальных данных показал, что у отдельных животных характер распределения токоферола между слоями изменялся в сторону как медуллярного, так и коркового слоя, что отразилось на высокой степени вариабельности.

Основным фактором, определяющим потребность в токофероле, является содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПЖК) в тканях, состав которых и, соответственно, уровень метаболизма липофильных соединений существенно отличаются у разных видов животных [Надиров, 1991; Меньщикова и др., 2006]. Роль почки в липидном обмене состоит в том, что в ее ткани свободные жирные кислоты включаются в состав триацилглицеринов и фосфолипидов и в виде этих соединений поступают в циркуляцию. Окисление жирных кислот в значительной степени обеспечивает работу почки [Ноздрачев и др., 2001]. При этом и количество ПЖК в липидах, и количество самих липидов влияют на степень накопления данных кислот в тканях. Потребление кислорода организмом зависит от уменьшения содержания ПЖК, так как он расходуется на образование пероксида в фосфолипидах – функционально активной структуре мембран. В то же время уровень витамина Е зависит от интенсивности этих процессов в почках животных, особенности функционирования которых у систематически разных видов могут оказывать влияние на энергетический обмен как всего органа, так и его частей [Ильина и др., 2008]. Способность токоферола раньше других антиоксидантов расходоваться в окислительных реакциях приводит, вероятно, к его большему по сравнению с витамином А варьированию в обоих слоях почки, так как биологическая активность витамина Е как антиоксиданта значительно выше. Проведенный многофакторный дисперсионный анализ позволил установить, что основным фактором, влияющим на уровень витамина Е в тканях, была видовая принадлежность животного, в то время как для витамина А – слой почек, в котором проводилось определение его содержания.

Таким образом, имеющиеся различия уровня витаминов А и Е в корковом и мозговом слоях следует, видимо, рассматривать как наследственно закрепленную реакцию организма млекопитающих, обусловленную разницей в интенсивности обменных процессов в почках.

Тот факт, что содержание витаминов А и Е в корковом и мозговом слоях неодинаково, позволяет говорить о разном уровне их повреждаемости у различных видов млекопитающих и участии в обеспечении устойчивости антиоксидантной системы почки в ответ на действие факторов среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП ГК № 02.740.11.0700.

Литература

Ильина Т. Н., Руоколайнен Т. Р., Белкин В. В. Содержание токоферола в тканях млекопитающих различного экогенеза // Журн. эвол. биохимии и физиологии, 2008. Т. 44, № 6. С. 577–581.

Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М., 2006. 556 с.

Надиров Н. К. Токоферолы и их использование в медицине и сельском хозяйстве. М., 1991. 336 с.

Никифорова Н. В., Кирпатский В. И., Севрюков Е. А. Содержание витамина Е в корковом и мозговом слоях почек млекопитающих // Бюл. экспер. биол. и медицины. 1993. № 3. С. 245–246.

Ноздрачев А. Д., Баженов Ю. И., Баранникова И. А. и др. Начала физиологии. СПб., 2001. 1088 с.

Скурихин В. Н., Двинская Л. М. Определение α-токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // С.-х. биология. 1989. № 4. С. 127–129.

Chen C.-F., Tsai S.-Y., Ma M.-C., Wu M.-S. Hypoxic preconditioning enhances renal superoxide dismutase levels in rats. // J. Physiol. 2003. 552.2. P. 561–569.

Crissey S., Ange K., Slifka K., Bowen P., Stacewicz-Sapuntzakis M., Langman C., Sadler W., Ward A. Serum concentrations of vitamin D metabolites, vitamins A and E, and carotenoids in six canid and four ursid species at four zoos. // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2001. Vol. 128, N 1. P. 155–165.

Raila J., Mathews U., Schweigert F. J. Plasma transport and tissue distribution of β-carotene, vitamin A and retinol-binding protein in domestic cats // Comparative Biochemistry and Physiology Part A 130. 2001. P. 849–856.

Raila J., Schweigert F. J. Zur Bedeutung der Nieren im Vitamin-Stoffwechsel. // Berlin. und munch. tierarztl. Wochenschr. N 7-8, 2001, 114, S. 257–266.

Schweigert F. J., Thomann E. Organ distribution of vitamins A and E in carnivores // Scientifur. 1995. Vol. 19, N 4. P. 309.

Schweigert F. J., Ryder O. A., Rambeck W. A., Zucker H. The majority of vitamin A is transported as retinyl esters in the blood of most carnivores // Scientifur. 1996. Vol. 20, N 1. P. 95–96.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ильина Татьяна Николаевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: ilyina@bio.krc.karelia.ru
тел.: (1842) 573107

Баишникова Ирина Валерьевна

ведущий биолог
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: iravbai@mail.ru
тел.: (8142) 573107

Ilyina, Tatiana

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: ilyina@bio.krc.karelia.ru
tel.: (1842) 573107

Baishnikova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: iravbai@mail.ru
tel.: (8142) 573107