

© Н.В. ГУРЕЕВА

natalivg@mail.ru

УДК 574:543.9

## **АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА КАК СТРЕСС-РЕАЛИЗУЮЩИЙ ФАКТОР И БИОТЕСТ В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

*АННОТАЦИЯ. 5-Окситриптофан уменьшает содержание аскорбиновой кислоты (АК) в надпочечниках у крыс. Эффект предотвращается центральным антагонистом серотонина атропином, но усиливается другими антагонистами: новокаином и бигумалем. Дана схема действия серотонина с участием АК. Тест АК на рыбах рекомендуется в экологии природных вод.*

*SUMMARY. 5-Oxytryptophan decreases the content of ascorbic acid (AA) in the adrenal cortex in rats. The effect is prevented only by the central antagonist of serotonin, atropine, but not novocaine and bigumal. Probable scheme of stress-realizing correlation of serotonin with AA participation is given. AA Test is not recommended on fish in natural water ecology.*

*КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. Аскорбиновая кислота, серотонин, стресс.*

*KEY WORDS. Ascorbic acid, serotonin, stress.*

Адаптивные реакции в организме реализуются посредством взаимосвязи между функцией коры надпочечников и центральными медиаторами. В частности, предшественник эндогенного серотонина 5-окситриптофан (5-ОТФ) стимулирует функцию коры надпочечников [1], и аскорбиновая кислота (АК) играет большую роль в процессах адаптации [2]. Однако к настоящему времени взаимодействие АК со стресс-реализующим фактором эндогенным серотонином изучено недостаточно. Кроме того, вопрос об уровне витаминов в продуктах питания по-прежнему остается актуальным. В связи с этим представляет интерес исследование содержания и распределения витамина С (АК) в тканях рыб.

**Целью работы** было изучение у гомойотермных животных уровня аскорбиновой кислоты в надпочечниках при воздействии стресс-реализующих факторов, определение ее содержания в тканях рыб и значение как стресс-показателя в экологии.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на белых крысах-самцах массой 100–120 г, у которых забирали надпочечники после мгновенной декапитации и в гомогенатах определяли содержание АК. 5-ОТФ применялся в дозе 200 мг/кг внутрибрюшинно. Антагонистами эндогенного серотонина служили новокаин (50 мг/кг), атропин (30 мг/кг) и бигумаль (Proguanil, Chlorguanid) [3] (50 мг/кг), их вводили внутривенно за час до опытов.

Кроме того, АК определялась в тканях органов половозрелых рыб: карася серебряного (*Carassius argentatus*), карпа чешуйчатого (*Cyprinus carpio*), нельмы (*Stenodus leucichthys nelma*), щуки (*Esox lucius*), верховки обыкновенной (*Leucaspius delineatus*), плотвы (*Rutilus rutilus*).

АК восстанавливает хлорное железо в хлористое при рН=1-2 в избытке ортофосфата [4]. Ионы  $Fe^{+2}$  образуют комплекс с  $\alpha,\alpha$ -дипиридилем. Для ее обнаружения ткани органов гомогенизировали в 10-кратном объеме 5% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) в стеклянном гомогенизаторе на холоде. Гомогенат центрифугировали при 1000g, T=4°C, 5 минут. К 1 мл супернатанта добавляли 0,3 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты, 5 мл 0,5%  $\alpha,\alpha$ -дипиридила, 1 мл 1% хлорного железа. Через 10 минут измеряли оптическую плотность на СФ-46 при  $\lambda=525$ нм. Стандартный раствор содержал 25 мкг/мл АК в 5% ТХУ. Результаты выражали в мг%. Определяли  $\bar{\delta} \pm S_x$ . Доверительные границы находили по  $S_x \cdot t$ , при P=0,05 и f= n-1.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что содержание АК в надпочечниках крыс через 1 час после введения одного 5-ОТФ статистически достоверно снижалось (рис. 1).

Антагонисты сами по себе не уменьшали уровень АК в аналогичных опытах. При совместном же применении с 5-ОТФ бигумаль и новокаин достоверно усиливали его действие. Однако при введении атропина с 5-ОТФ первый проявлял антагонизм по отношению к эффекту 5-ОТФ на АК. Действие атропина на центральную нервную систему очень сложное. Основной фармакологической особенностью атропина является его способность блокировать М-холинорецепторы [3].

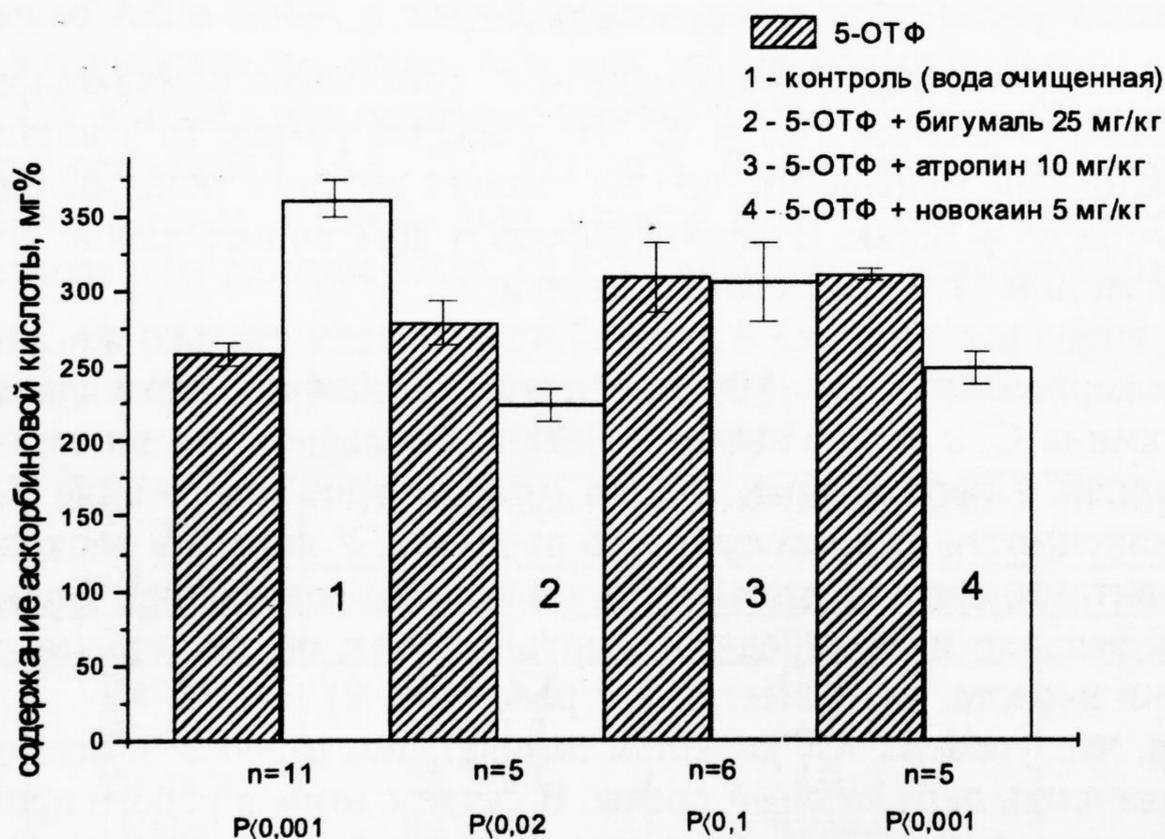


Рис. 1. Содержание аскорбиновой кислоты (мг%) в надпочечниках крыс после применения 5-ОТФ и комбинированного введения 5-ОТФ с центральными антагонистами серотонина

АК в организме у человека не синтезируется. Из продуктов питания рыбы на Севере являются одним из главных источников АК, и важно знать содержание и распределение ее в тканях органов рыб. Из табл. 1 видно, что наибольшее количество АК у щук, например, находится в печени; в жабрах — в 2,5 раза, а в мышцах — в 4 раза ее меньше. Содержание АК в икре у щук в 2

раза меньше, чем в их печени, но на 8,5 мг% больше, чем в мышцах. В целом АК больше в тканях печени и в икре.

Таблица 1

**Количество аскорбиновой кислоты в органах рыб**

№	Вид рыбы	Исследуемая ткань	Аскорбиновая кислота, мг%
1	Щука	мышцы	9,1±1,9; n=25
		жабры	14,4±2,5; n=25
		печень	36,0±3,1; n=25
		икра	17,6±0,2; n=25
2	Карп	мышцы	8,6±1,2; n=15
		жабры	17,8±0,8; n=15
		печень	16,9±2,1; n=15
		икра	17,2±0,2; n=15
3	Карась	мышцы	7,6±0,4; n=5
		жабры	10,0±0,9; n=5
		икра	15,4±1,4; n=5
4	Нельма	мышцы	7,6±0,4; n=5

*Примечание: определение количества аскорбиновой кислоты проводили в зимний период 2008 г. у рыб Обь-Иртышского бассейна*

В жабрах, печени и икре карпов найдены практически одинаковые количества витамина С: от 16,9 до 17,8 мг%. Что касается мышц, то у карпов, как и щук, в них достоверно меньше АК, по сравнению с другими тканями: 8,6 мг% — у карпа; 9,1 мг% — у щуки. В икре у карпов и щук концентрация АК одинаковая — 17,2 мг% и 17,6 мг% соответственно.

У других видов рыб (нельма и карась) практически столько же АК в мышцах, что и у карпов, щук (от 7,6 до 10 мг%). В жабрах карася содержится 11,0 мг% витамина С, в икре в январе в 1,5 раза больше этого витамина, чем в других изученных у него органах — 15,4 мг%, причем содержание АК в икре меняется в зависимости от зрелости этого продукта. У карася и верховки количество этого витамина в икре снижается по мере ее созревания. Больше всего ее уровень в феврале и до середины марта, а затем он постепенно падает и в мае во время нереста уменьшается 2-3 раза (рис. 2).

Считается, что уровень АК является показателем стресса и, возможно, зависит от загрязнения окружающей среды. В связи с этим в работе проводилось определение содержания АК в органах плотвы, обитающей в относительно чистой воде р. Туры до г. Тюмени, в районе водозабора, а также у рыб, выловленных в центре города и в воде за городом (10 км ниже по течению). По данным санэпиднадзора, вода р. Туры в пределах г. Тюмени часто классифицируется как загрязненная: превышены нормы (ПДК) по нефтепродуктам, оксидам азота, аммиаку, тяжелым металлам, органическим веществам, по биологическому потреблению кислорода, по  $CO_2$  и др.

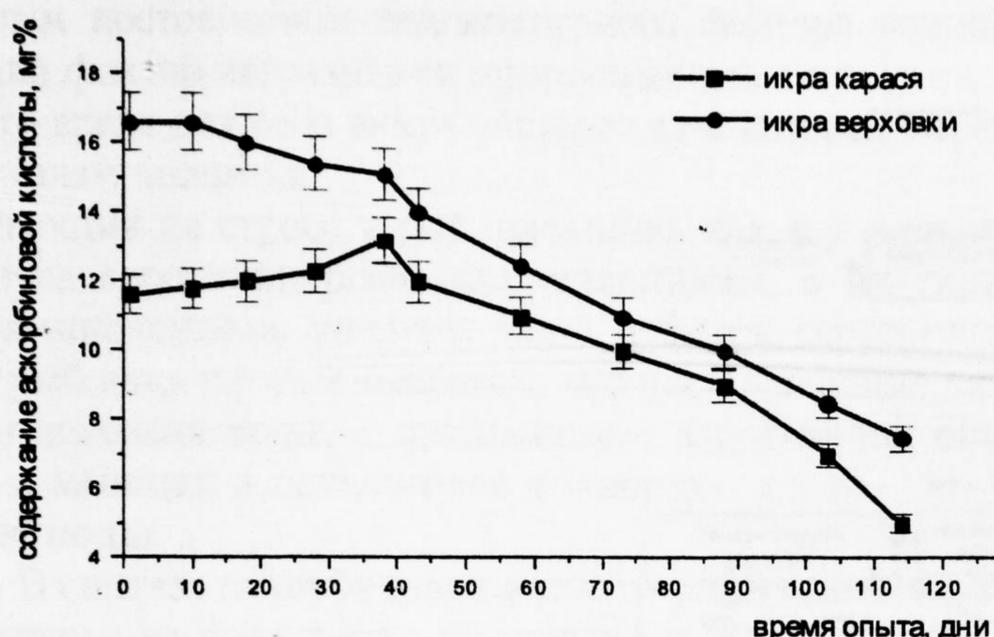


Рис. 2. Содержание количества аскорбиновой кислоты в икре карася и верховки. Начало эксперимента — 10 февраля, окончание — 25 мая 2008 г.

Установлено, что концентрация АК летом не одинаковая в тканях разных органов плотвы (табл. 2): наибольшая (57,8-130 мг%) в печени и почках; наименьшая — в мышцах (16,0-23,7 мг%). Жабры и икра по концентрации АК занимают промежуточное положение, но иногда содержат АК больше, чем почки. Этот факт в данной работе установлен для всех рыб, независимо от места их обитания. Однако если изучать концентрацию АК в одном и том же органе рыб плотвы, выловленных на разных станциях в один и тот же месяц, то в этом случае обнаруживаются существенные различия. Так, в июле в печени плотвы на этих трех станциях концентрация АК была практически одинаковой: 19,8; 23,5; 21,6 мг%. В августе положение изменилось. У рыб, обитающих в воде до города, концентрация АК в печени существенно выше, чем в центре города и за городом: 130,5; 73 и 58 мг%, соответственно (табл. 2).

Таблица 2

**Содержание аскорбиновой кислоты в тканях органов рыб, обитающих в воде р. Туры (Тюмень)**

Месяц, 2008 г.	Ткань органа	Аскорбиновая кислота (мг%; М±m; n= 6-10) в органах рыб, со станций р. Туры:		
		До города	Центр Тюмени	За городом
Июль	Печень	19,8±3,0	23,5±5,0	21,66±1,5
Август	Печень	130,5±5,2	73,0±0,5	57,8
	Жабры	34,0±1,2	50,0±5,4	72,7±1,9
	Мышцы	23,7±2,1	16,0±3,0	18,1±2,4
	Икра	62,5±4,0	43,3±1,5	31,2±7,0

Такое же явление в этот период наблюдается и в икре. Однако в мышцах уровень АК на этих станциях колеблется менее значительно: от 16,0; 18,1 до 23,7 мг%. В жабрах, наоборот, наиболее высокая концентрация АК найдена у рыб, выловленных за городом (73 мг%); самая низкая — у рыб, обитающих в реке до города (34,0 мг%). Рыбы, выловленные в августе в пределах города, в жабрах содержали больше АК (50мг%), чем рыбы в уловах до города (34 мг), и меньше, чем на станции за городом.

В обсуждении полученных данных можно предположить, что серотонинергические структуры задействованы в синтезе АК у млекопитающих по предлагаемой схеме (рис. 3).



Рис. 3. Схема регуляции функции коры надпочечников под влиянием эндогенного стрессового амина серотонина.

Примечание: ц-АМФ — циклический аденозинмонофосфат; АКТГ — адренокортикотропный гормон; 5-ОТФ — 5-окситриптофан; 5-ОТ — 5-окситриптамин = серотонин; МАО — фермент моноаминоксидаза; ПОЛ — пероксидное окисление липидов.

Начиная от аминокислоты триптофана, через 5-ОТФ, серотонин, АКТГ импульс поступает в кору надпочечников, где и уменьшается уровень АК, так как она используется в синтезе кортикостероидов, обеспечивающих адаптацию организма. Тот факт, что из трех центральных антагонистов серотонина лишь атропин предотвращал влияние 5-ОТФ на уровень АК в надпочечниках крыс, говорит о неоднозначности действия этих антагонистов. Известно, что новокаин, например, является ингибитором моноаминоксидазы мозга крыс, поэтому он способен предотвращать разрушение серотонина и тем самым усиливать эффект 5-ОТФ на уровень АК. Вместе с тем сама эта кислота оказывает влияние на многие другие химические процессы и метаболизм в целом. Ингибирует пероксидное окисление природных липидов (ПОЛ) [5]. АК, как и тиоловые соединения, относится к антиоксидантам прямого действия [6], оказывает антиканцерогенное действие [7] способствует детоксикации нитритов и нитратов [8], снижению токсического действия кадмия и индукции синтеза металлотioneинов [9].

Пул АК у млекопитающих находится в надпочечниках. Судя по результатам опытов, у рыб она сосредотачивается в печени, икре в преднерестовый период. Однако в условиях стресса (загрязнение окружающей среды) резко возрастает концентрация АК в жабрах как первых органах, омываемых загрязненной водой. Количество этой кислоты значительно увеличивается в процессе созревания икры и уменьшается при икрометании. Концентрация АК в самом употребляемом в пищу органе (мышцах) у всех видов изученных рыб невелико и примерно одинаково, почти не зависит от географической точки. Так, в Тюменской области зимой концентрация АК в мышцах рыб примерно одинакова и мало зависит от вида рыб (табл. 1), но в летний период (табл. 2) содержание АК заметно увеличивается. Это можно объяснить повышенной активностью рыб и увеличением синтеза АК летом.

Однако если сравнивать содержание АК у крыс в надпочечниках и у рыб в самых богатых АК органах (икра, печень), то, как видно из полученных данных, у млекопитающих ее на порядки больше. Это, по-видимому, связано со сравни-

тельным постоянством температурного фактора водной среды обитания у рыб. Однако фактор загрязнения природных вод иногда очень высок, и рыбы без видимого вреда для себя аккумулируют яды, которые через пищевую цепь попадают в организм человека.

Реакция на стресс у рыб, очевидно, как и у млекопитающих, осуществляется через серотонинергические механизмы, в их тканях содержится фермент моноаминоксидаза, разрушающий избыток серотонина [10]. В работе на примере рыб вида плотвы выяснено, что распределение витамина в органах зависит от загрязнения воды: с увеличением загрязнения оно уменьшается в печени, икре и мышцах и повышается в жабрах.

### Выводы

1. В синтезе аскорбиновой кислоты (АК) задействованы серотонинергические структуры: ее количество уменьшается в надпочечниках крыс после введения предшественника серотонина 5-ОТФ. Эффект 5-ОТФ снижается центральным антагонистом серотонина М-типа — атропином, но усиливается другими антагонистами М- и Д-типа — бигумалем и новокаином, это говорит о неоднозначности механизмов регуляции синтеза этой кислоты, что показано на предлагаемой схеме (рис. 3).

2. АК присутствует в икре, печени, мышцах исследованных представителей карповых, сиговых, щуковых рыб. Ее количество мало зависит от географического положения водоема, вида рыб, но на распределение этого вещества в тканях влияют экологические факторы.

3. Содержание АК в икре до нереста в 2-3 раза выше, чем во время него. В выметанной икре она снижается до минимума, этот факт может иметь значение при определении половой зрелости рыб и качества икры.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гуреева З.П., Седова К.С. Влияние 5-окситриптофана и антагонистов серотонина на функциональное состояние коры надпочечников // Фармакол. и токсикол. 1978. № 2. С. 162-164.
2. Suter, P.M. Effect of vitamin C and beta-carotene on stroke risk // Nutr. Rev. 2000. V. 58. С. 184-187.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Москва. Новая волна. 2003. Т. 1. 539 с; Т. 2 608 с.
4. Maikel, R.P. A rapid procedure for determination of adrenal ascorbic acid. Application of the Sullivan and Clarke method to tissue // Analut. Biochem. 1960. V. 1. P. 498-501.
5. Фасхутдинова А.А., Соловьева М.Е., Соловьев В.В. Проксидантный эффект тиолов и аскорбиновой кислоты в сочетании с гидроксикобаламином (витамином В12в) // Окисление, окислительный стресс, антиоксиданты. М.: Изд-во РУДН, 2006. С. 199-200.
6. Арутюнян А.В., Козина Л.С. Влияние геропротекторных пептидов на свободнорадикальные процессы // В сб. четвертой крымской конференции: «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии», Украина, Судак, 1-9 июня 2008. С. 7.
7. Сергеева Т.И., Хрусталева С.А., Свинолупова С.И. и др. Антиканцерогенная активность аскорбиновой кислоты и бета-каротина // Клиническая витаминология. М., 1991. С. 109-110.
8. Preda, N., Popa, L., Galea, V. N-nitroso compound formation by chlordiaseoxide and nitrite interaction in vivo protective action of ascorbic acid // IARC Sci. Publ. 1976. № 14. P. 301-304.
9. Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б., Губина О.А. и др. Влияние дигидрокверцетина и аскорбиновой кислоты на содержание малонового диальдегида и металлотенининов в органах крыс, подвергнутых хроническому воздействию кадмия // Токсикологический вестник. 2009. № 4. С. 16-19.
10. Гуреева Н.В. Влияние температурного фактора на кинетику дезаминирования моноаминов в печени рыб in vitro // Сибирский экологический журнал. 2008. № 1. С. 63-70.