

УДК: 612.4+612.33+612.018.2.

Анашевич Я. М., Цебржинський О. І.

**ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ТА КОМПЛЕКСУ
БІОАНТИОКСИДАНТІВ "ТРИОВІТ" НА СТАН
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ
ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРИ ЗАПАЛЕННІ НА ТЛІ
ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ**

Миколаївський національний університет
імені В.О. Сухомлинського, м. Миколаїв,
e-mail: yaroslav-anasevich@yandex.ru

Ключові слова: тонка кишка, мелатонін, гіпомелатонінемія, прооксидантно-антиоксидантна система, кверцетин, тріовіт, запалення.

Гормон мелатонін був вперше виділений з матеріалу бичачих пінеальних (епіфіз) залоз в 1958 р. в Єльському університеті групою американського дерматолога А. Лернера. Епіфіз є нейроендокринним органом і виявлений у всіх хребетних, проте його роль в ході еволюції змінювалася. У риб і амфібій епіфіз ще безпосередньо володіє фоторецепцією («третє око»), у рептилій і птахів епіфізу властива ще секреторна функція, у ссавців це вже виключно секреторний орган. Але у всіх видів тварин основною функцією епіфіза є передача інформації про світловий режим у навколишньому середовищі у внутрішнє середовище організму і підтримання таким чином фізіологічних ритмічних коливань його гомеостазу. Це опосередковано головним чином секрецією основного гормону мелатоніну, причому якщо у деяких птахів і нижчих хребетних епіфіз є генератором біологічних ритмів, то у ссавців він безпосередньо залучений в координацію фізіологічних ритмів організму [4].

Основним і найбільш вивченим гормоном епіфіза є мелатонін, але епіфізом можуть секретуватись і деякі інші похідні серотоніну і пептидні гормони. Було з'ясовано, що мелатонін є індольним похідним серотоніну і продукується вночі за участю ферментів N-ацетилтрансферази і гідроксиіндол-О-метилтрансферази. У дорослої людини за добу синтезується близько 30 мкг мелатоніну, його концентрація в сироватці крові вночі в 30 разів більше, ніж вдень, причому пік активності припадає на 2 год ночі, його продукція пригнічується при рецепції світлової інформації сітківкою ока [1].

Відомо, що мелатонін має антиоксидантні, імуномодельючі властивості, а зниження його продукції при порушенні світлового режиму супроводжується ознаками прискореного старіння та збільшенням ризику розвитку новоутворень [2, 8, 13]. Встановлено, що вплив світла вночі прямо пов'язаний з проблемами поведінки, а також станом здоров'я та приводить до розвитку раку. У 2008 р. Всесвітня Організація Охорони Здоров'я (ВООЗ) визнала достовірним чинником ризику розвитку пухлин нічну освітленість. Вплив світлом пригнічує нічний пік секреції мелатоніну. Мелатонін синтезується не тільки в епіфізі. Також визначена присутність мелатоніну в усіх відділах шлунково-кишкового тракту (ШКТ) тварин і людини, від стравоходу до прямої кишки, з максимумом в слизистому шарі і меншою кількістю в підслизовому і м'язовому шарах [12]. У дослідженнях на пінеалектомованих тваринах продемонстровано наявність мелатоніну в органах шлунково-кишкового тракту [11]. Ці факти свідчать про синтез мелатоніну органами ШКТ. Мелатонін – найсильніший з відомих ендогенних поглиначів вільних радикалів, найсильніший антиоксидант. В останні роки з'явилися дані, що мелатонін може локалізуватися не тільки в плазмі, а й у ядрах клітин, охороняти макромолекули ядра від оксидативного ушкодження у всіх субклітинних структурах. На ранніх стадіях ембріонального розвитку біогенні аміни, в тому числі мелатонін, грають роль спеціалізованих клітинних сигнальних молекул, що регулюють процеси клітинного оновлення. Встановлено, що мелатонін може пригнічувати клітинну проліферацію [10], причому сила його впливу не поступається потужному цитотоксичному агенту колхіцину. На підставі цих досліджень можливо вважати, що мелатонін грає важливу роль у функціонуванні організму і порушення його секреції може бути причиною різних патологій органів. Так доведено, що порушення циркадних ритмів відіграють велику роль в патогенезі захворювань серцево-судинної системи та шлунково-кишкового тракту [5].

Оскільки захворювання кишечника залишаються важливою медичною і соціально-економічною проблемою України і всього світу, вивчення дії мелатоніну на шлунково-кишковий тракт відкриває нові можливості у корекції його функціонального стану. Проблема впливу мелатоніну на тонку кишку є актуальною, оскільки можливий зв'язок між рівнем мелатоніну та ступенем її запалення. А отже і є можливість сприяти зменшенню або навіть зникненню запалення шляхом корегування кількості мелатоніну в організмі.

Мелатонін абсолютно нетоксичний, у всякому разі при короткочасному використанні. Але відсутність гострої токсичності

навіть фармакологічних доз препарату (міліграми і навіть грами мелатоніну 4-5 г на 70 кг маси тіла) не гарантує від побічних наслідків тривалого застосування мелатоніну у великих дозах. Крім порушення біоритму після прийому мелатоніну в «невідповідний час», снодійного та седативного ефектів, активації імунної системи аж до аутоімунних захворювань, надлишок мелатоніну може теоретично привести до серйозних ендокринних порушень (первинний гіпогонадізм у чоловіків і аменорея у жінок). Діти взагалі дуже чутливі до мелатоніну, тому його застосування у них вимагає великої обережності [4]. Через це потрібно знайти можливість заміни мелатоніну в деяких випадках (діти, хворі з ендокринними порушеннями), при його нестачі, іншими антиоксидантами.

Тому метою роботи було вивчення впливу кверцетину та комплексу біоантиоксидантів "Тріовит" на стан прооксидантно-антиоксидантної системи тонкої кишки щурів при запаленні на тлі гіпомелатоніемії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконані на 56 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220-260 г (7 груп по 8 тварин). Тварини утримувались у стандартних умовах віварію при сталій температурі і вологості повітря, вільному доступі до води і їжі. Перша група – інтактна, що утримувалася при світловому режимі: 12 годин темнота – 12 годин світло терміном 30 днів. У другій групі для моделювання гіпомелатоніемії тварини утримувались в режимі постійного освітлення (1000-1500 люкс) 30 днів. У третій групі моделювалося запалення в тонкій кишці: щурам протягом останніх 6 днів досліду вводили з питною водою сахарозу (5 %-ний розчин); розчин сахарози викликає кишковий дизбіоз і запалення в тонкій кишці [6]. Стан запалення в тканинах визначали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) і загальної протеолітичної активності. У четвертій групі моделювалось запалення тонкої кишки на тлі гіпомелатоніемії. П'ятій групі щурів в харчовий раціон вводили препарат "Тріовіт" дозою 0,1 мг/кг маси тіла на добу та кверцетин дозою 1 мг/кг маси тіла на добу. У шостій групі моделювалася гіпомелатоніемія та вводились із харчовим раціоном тріовіт та кверцетин. У сьомій групі моделювалось запалення тонкої кишки на тлі гіпомелатоніемії та вводились в харчовий раціон тріовіт з кверцетином.

Сезон дослідження – пізня весна, коли секреція мелатоніну середня між максимумом взимку та мінімумом у літку [9]. Тварин виводили з експерименту здійснюючи одномоментну декапітацію під

кетаміновим наркозом (40,0 мг/кг маси тіла). Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням принципів „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Особливості метаболічних процесів у тонкій кишці аналізували за станом прооксидантно-антиоксидантної системи. Стан вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) визначали за концентрацією дієнових кон’югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) [3]. Визначали показники антиоксидантного захисту (АОЗ) у тонкій кишці – активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази. Крім того в тонкій кишці визначали загальну протеолітичну активність (ЗПА) [7].

Отримані цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням для оцінки ймовірності різниць окремих груп даних за критерієм Стьюдента. За статистично ймовірні вважали зміни при $p < 0,05$, а при $0,05 > p > 0,1$ – визначали як тенденцію до достовірності.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отриманні дані репрезентовано у таблиці (табл. 1). Біохімічні параметри прооксидантно-антиоксидантної системи тонкої кишки щурів при запаленні на тлі гіпомелатоніемії виявили, що концентрація дієнових кон’югатів та МДА у гомогенаті тонкої кишки залишилась на рівні норми та значень характерних для контролів на гіпомелатоніемію та запалення. А при введенні в харчовий раціон в 5-ій групі «Трїовіту» та кверцетину концентрація дієнових кон’югатів з тенденцією до достовірності зменшилась на 20 % проти значень норми. Також виявлено збільшення концентрації дієнових кон’югатів ($p < 0,002$) в 6-ій та 7-ій групах на 14 % в порівнянні зі значеннями 5-ї.

Концентрація МДА при введенні в харчовий раціон препарату «Трїовіт» та кверцетину в 5, 6 та 7-ій групах знизилась в 2 рази проти значень норми. Що свідчить про стійкість антиоксидантного захисту.

В п’яти групах (3, 4, 5, 6, 7) достовірно знижується рівень СОД, що вказує на зменшення перекисного окислення та індукції ферменту.

Достовірно в порівнянні з величинами контролю на запалення на 20 % зменшилась концентрація каталази при запаленні на тлі гіпомелатоніемії.

В 6-ій групі при введенні в харчовий раціон препарату «Трїовіт» та кверцетину на тлі гіпомелатоніемії концентрація каталази

збільшилась на 32 % проти контролю на гіпомелатонінемію.

Таблиця 1. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи тонкої кишки щурів дослідних та інтактної груп

№ п / п	Групи тварин	Показники, що досліджувалися				
		ДК, мкмоль/кг	МДА, мкмоль/кг	СОД, ум.од/г	Каталаза, мКат/кг	ЗПА (мкКат/кг)
1	Норма (n = 8)	16,56±1,30	9,94 ± 0,54	1,42 ± 0,04	3,56 ± 0,31	4,74 ± 0,31
2	Гіпо-мелатонінемія (n = 8)	17,15±1,30	10,71±0,95	1,36 ± 0,05	2,87 ± 0,28	5,09 ± 0,84
3	Запалення (n = 8)	17,30±0,01	13,88±3,05	1,00 ± 0,06 p1 < 0,001	4,46 ± 0,4	5,09 ± 0,65
4	Запалення на тлі гіпомелатонінемії (n = 8)	18,24±0,79	9,30 ± 1,39	1,04±0,04 p1<0,001 p2<0,001	2,84±0,39 p3<0,02	6,07 ± 0,63 p1 < 0,1
5	Тривіт - кверцетин (n = 8)	13,22±0,29 p1 < 0,1	5,42 ± 0,57 p1 < 0,001	1,05±0,04 p1<0,001	3,97 ± 0,19	4,27 ± 0,51
6	Гіпомелатонінемія + тривіт – кверцетин (n = 8)	15,25±0,43 p5 < 0,002	5,13 ± 0,58 p1 < 0,001 p2 < 0,001	1,10 ± 0,08 p1 < 0,01 p2 < 0,02	3,78 ± 0,18 p2 < 0,02	4,56 ± 0,44
7	Запалення на тлі гіпомелатонінемії + тривіт – кверцетин (n = 8)	15,32±0,58 p4 < 0,01 p5 < 0,002	3,37 ± 0,57 p1 < 0,001 p2 < 0,001 p3 < 0,01 p4 < 0,01 p5 < 0,05	1,04 ± 0,05 p1 < 0,001 p2 < 0,001	3,58 ± 0,57	5,04 ± 0,49

Примітки:

p₁ – порівняння з величинами показників норми;

p₂ – порівняння з гіпомелатонінемією;

p₃ – порівняння із запаленням;

p₄ – порівняння із запаленням на тлі гіпомелатонінемії;

p₅ – порівняння з введенням тривіт-кверцетином.

В 4-й групі з тенденцією до достовірності загальна протеолітична активність ферментів була вища на 28 % ніж у контрольній. Це явище можна пояснити як результат адаптивних змін

тонкої кишки.

Отже, отримані нами результати свідчать про пригнічення антиоксидантної системи тонкої кишки та виснаження резервів ферментного АОЗ при запаленні на тлі гіпомелатоніемії. Але при введенні в харчовий раціон препарату «Тріовіт» та кверцетину відбувається зниження концентрації МДА, що свідчить про посилення антиоксидантного захисту.

Оскільки концентрація дієнових кон'югатів та МДА у гомогенаті тонкої кишки без введення в харчовий раціон препарату «Тріовіт» та кверцетину майже не змінилась, можливо припустити, що при гіпомелатоніемії нестача мелатоніну компенсується його синтезом в пейєрових бляшках тонкої кишки. А зменшення концентрації дієнових кон'югатів, МДА та СОД в 5-ій групі свідчить про зменшення рівня перекисного окислення ліпідів при введенні в харчовий раціон препарату «Тріовіт» та кверцетину.

ВИСНОВОК

Тонка кишка стійка до гіпомелатоніемії та запалення оскільки рівень вільно-радикального пероксидного окиснення та антиоксидантного захисту в цих групах майже не змінюється. Це, на нашу думку, пов'язано з частковою компенсацією нестачі мелатоніну його підвищеним синтезом в пейєрових бляшках тонкої кишки. Але при запаленні на тлі гіпомелатоніемії відбувається достовірне зниження активності каталази та супероксиддисмутази, що вказує на виснаження резервів ферментного АОЗ та свідчить, про те що нестача мелатоніну посилює негативний вплив запалення в тонкій кишці. А зменшення концентрації дієнових кон'югатів, МДА та СОД в 5-ій групі (Тріовіт- кверцетин) свідчить про зменшення рівня перекисного окислення ліпідів та посилення антиоксидантного захисту при введенні в харчовий раціон препаратів «Тріовіт» та кверцетину.

Перспективи подальших досліджень спрямовані на вивчення морфологічних змін тонкої кишки щурів в умовах гіпо- та гіпермелатоніемії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Эпифиз и продукция мелатонина / В кн.: Мелатонин в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта. Под ред. акад РАМН Ф.И. Комарова М.: Сов. спорт, 2000b. – С. 6-23.
2. Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, №3. – С. 5-11.
3. Беркало Л.В., Бобович О.В., Гейко О.О., Катрушов О.В., Кайдашев І.П., Кислій О.М., Куценко Л.О., Соколенко В.М., Сисюк В.А., Фадєєва А.С.,

- Цебржинський О.І. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині – Полтава, 1997. – 271 с.
4. Забелина, В.Д. Мелатонин гормон сна и не только // Consilium Provisorum (Журнал последипломного образования врачей), 2006. – Т. 4. – С. 3-8.
 5. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., Малиновская Н.К., Анисимов В.Н. Мелатонин в норме и патологии. – М.: ИД Медпрактика-М, 2004. – 308 с.
 6. Левицкий А.П., Цисельский Ю.В., Ходаков И.В. Дисбиотические и провоспалительные эффекты сахарной нагрузки (экспериментальное исследование) // Міжнародний ендокринологічний журнал – 2009. №5(23). – С. 137-141.
 7. Левицкий А.П. Травні ферменти слинних залоз. – Автореф. дис. доктора біол. наук. – Одеса, 1974. – 53 с.
 8. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації – Чернівці, 2003. – 152 с.
 9. Турчина С.И., Шляхова Н.В. Сезонные ритмы продукции мелатонина и иммунореактивности у здоровых детей. – Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований, Тезисы докладов, СПб, 2008. – С. 41.
 10. Arendt J. Melatonin: characteristics, concerns, and prospects // J. Biol. Rhythms – 2005. №20. – P. 291-303
 11. Bubenik G.A. Localization of melatonin in the digestive tract of the rat: effect of maturation, diurnal variation, melatonin treatment and pinealectomy. // Horm. Res. – 1980. – V. 12. – P. 313-323.
 12. Lee P.P., Pang S.F Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. // Biol. Signals. – 1993. – V. 2. – P. 181-193.
 13. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Freals // News Physiol. Sci. – 2000. – Vol. 15. – P. 246-250.

Анаसेвич Я.М., Цебржинский О.И.

**ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА И КОМПЛЕКСА
БИОАНТИОКСИДАНТОВ "ТРИОВИТ" НА СОСТОЯНИЕ
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ
ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ВОСПАЛЕНИИ НА ФОНЕ
ГИПОМЕЛАТОНИНЕМИИ**

Ключевые слова: тонкая кишка, мелатонин, гипомелатонинемия, прооксидантно-антиоксидантная система, кверцетин, триовит, воспаление.

Тонкая кишка устойчивая к воспалению и гипомелатонинемии поскольку уровень свободно-радикального перекисного окисления и антиоксидантной защиты в этих группах почти не меняется. Что, по нашему мнению, связано с частичной компенсацией недостатка мелатонина его повышенным синтезом в Пейеровых бляшках тонкой кишки. Но при воспалении на фоне гипомелатонинемии происходит достоверное снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы, что указывает на истощение резервов ферментной АОЗ и свидетельствует, о том, что недостаток мелатонина усиливает отрицательное влияние воспаления в тонкой кишке. А уменьшение концентрации диеновых конъюгатов, МДА и СОД в группах которым вводили в пищевой рацион препарат «Триовит» и кверцетин свидетельствует о том, что в результате действия этих

препаратов уменьшается уровень перекисного окисления липидов, повышается устойчивость антиоксидантной защиты и уменьшаются негативные последствия воспаления в тонкой кишке.

Anasevych Y.M., Tsebrzhynskyy O.I.
INFLUENCE OF QUERCETIN AND COMPLEX
BIOANTYOKSYDANTIV "TRIOVIT" THE STATE OF
PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT SMALL
BOWEL INFLAMMATION AGAINST HIPOMELATONINEMIA

Key words: small intestine, melatonin, hipomelatoninemia, prooxidant-antioxidant system, quercetin, triovit, inflammation.

Small intestine is resistant to inflammation and hipomelatoninemia, because level of free radical peroxidation and antioxidant defense in these groups does not change. In our opinion, it's due with the partial compensation of its lack of melatonin synthesis increased in plaques Peyer's small intestine. But when inflammation occurs on the background hipomelatoninemia significant decrease in activity of catalase and superoxide dismutase indicating the depletion of reserves enzymatic antioxidant protection and suggests that the lack of melatonin increases the negative impact of inflammation in the small intestine. Decrease in the concentration of diene conjugates, MDA and SOD in the groups injected in the diet drug "Triovit" and quercetin indicates that under the action of these drugs reduced the level of lipid peroxidation, increased stability and reduced antioxidant negative effects of inflammation in small intestine.