

УДК: 577.175: 577.121 «46»

О.А. Орлова, Д.В. Дмитрієнко ПРОГНОЗУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВПЛИВУ «ВІТА МЕЛАТОНІНУ» НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН В ТКАНИНАХ ЩУРІВ

ДЗ „Луганській державний медичний університет”

Орлова О.А., Дмитрієнко Д.В. Прогнозування ефективності впливу «Віта мелатоніну» на енергетичний обмін в тканинах щурів // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С.

Досліджено статистичними методами вплив екзогенного мелатоніну на обмін аденилових нуклеотидів в тканинах щурів у віковому аспекті. Встановлено наявність впливу застосування «Віта мелатоніну» на рівень АТФ, АДФ і АМФ у більшості досліджених випадків. Підтверджено регуляторну роль мелатоніну у процесах старіння на прикладі енергетичного обміну, що свідчить про можливість застосування екзогенного мелатоніну для профілактики старіння.

Ключові слова: обмін аденилових нуклеотидів, «Віта мелатонін», методи статистики, тканини щурів.

Орлова Е.А., Дмитриенко Д.В. Прогнозирование эффективности влияния «вита мелатонина» на энергетический обмен в тканях крыс // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С.

Исследовано статистическими методами влияние экзогенного мелатонина на обмен адениловых нуклеотидов в тканях крыс в возрастном аспекте. Установлено наличие влияния «Вита мелатонина» на уровень АТФ, АДФ, АМФ в большинстве исследованных случаев. Подтверждена регуляторная роль мелатонина в процессах старения на примере энергетического обмена, что свидетельствует о возможности применения экзогенного мелатонина для профилактики старения.

Ключевые слова: обмен адениловых нуклеотидов, «Вита мелатонин», методы статистики, ткани крыс.

Orlova E.A., Dmitrienko D.V. Prediction of “vita melatonin” influence effectiveness on energy exchange in rats’ tissues // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С.

The effectiveness of exogenous melatonin influence on adenile nucleotides exchange in rats’ tissues is studied by statistical methods in age aspect. The influence of “Vita melatonin” on level of ATF, ADF and AMF is established in most cases. The regulative role of melatonin in processes of aging is approved by example of energy exchange indicating the possibility of exogenous melatonin application in prevention of aging.

Key words: adenile nucleotides exchange, “Vita melatonin”, rats tissues

Вступ. Оцінка енергетичного обміну є важливим орієнтиром при корекції вікових змін організму. Відомо, що при старінні в клітинах прогресують мітохондріальні порушення [1], а адениловий пул є інтегральним показником енергетичного балансу та відображує стан функціональної рівноваги між енергоємними синтетичними та катаболічними реакціями, що в них протікають. На сьогодні встановлено, що в основі вікових змін поряд з іншими факторами лежить зниження мелатонінутворюючої функції епіфіза, тому одним з підходів корекції порушень енергетики клітини є застосування екзогенного мелатоніну [2]. Мелатонін володіє широким спектром біологічної активності: відіграє ключову роль в якості паракринної сигнальної молекули; є потужним ендogenous антиоксидантом; проявляє антирадикальні властивості і т.і. [3].

Мета роботи - визначення впливу препарату «Віта мелатонін» на обмін аденилових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ) в тканинах печінки, серця, нирок та мозку щурів різного віку.

Методи та матеріали дослідження. Дослідження проводили на 6-7-місячних (зрілі) та 24 місячних (старечі) щурах, яким внутрішньочеревно вводили препарат «Віта мелатонін» за 1 годину до сутінок в дозі 0,3 мг/кг маси, впродовж 30 діб. Щурам інтактної групи вводили фізіологічний розчин за аналогічною

схемою. Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом.

Визначення концентрації АТФ, АДФ й АМФ у тканинах проводили спектрофотометричним методом. Розподіл аденилових нуклеотидів АТФ, АДФ, АМФ проводили методом тонкошарової хроматографії з використанням системи розчинників: діоксан-ізопропанол-вода-амоніак (4:2:4:1) Подрібнену тканину змішували з розчином 0,8 М соляної кислоти та центрифугували при 4000об/хв протягом 10 хв. Супернатант нейтралізували 2М розчином K_2CO_3 (5:1) та об’ємом 0,1 мл наносили на пластину для хроматографії (Sorbfil, Росія). Плями нуклеотидів детектували під УФ світлом елюювали з пластин 0,1 М розчином соляної кислоти протягом 20 хв. Абсорбцію елюата визначали при $\lambda=260$ нм [4].

Було використано відповідну статистичну методіку дослідження: формування груп і отримання експериментальних даних, аналіз контрольних і експериментальних вибірок по групах на однорідність, репрезентативність і відповідність нормальному закону розподілу, визначення середніх значень, дисперсій і довірчих інтервалів, перевірка гіпотез про рівність дисперсій контрольних і експериментальних вибірок і про рівність середніх значень цих вибірок в обох випадках [5].

За відповідності контрольних і експериментальних вибірок нормальному закону розподілу при дисперсійному аналізі було викорис-

тано критерій Фішера, гіпотеза про рівність дисперсій двох вибірок приймалася у випадку перевищення відношенням більшої і меншої дисперсії над критичним значенням критерію Фішера. При дисперсійному аналізі і перевірці гіпотез про рівність середніх значень вибірок рівень статистичної міри значущості був прийнятий $p=0,05$ [5].

При проведенні дослідження було вивчено та оброблено кількісні показники: концентрація аденілових нуклеотидів – АТФ, АДФ, АМФ – в тканинах печінки, нирок, серця та мозку шурів інтактних груп (зрілі, старечі) та експериментальних груп (зрілі, старечі із застосуванням препарату мелатоніну).

Статистичну обробку і візуалізацію даних проводили за допомогою програм для дисперсійного аналізу даних і надбудови «Аналіз даних» електронних таблиць Microsoft Excel [6].

Результати дослідження. Методами статистичного аналізу визначено наступне: вибірки всіх груп тварин є нормально розподіленими, щодо рівнів АТФ, АДФ, АМФ, тобто при дисперсійному аналізі використано критерій Фішера.

В групі тварин зрілого віку статистичний аналіз виявив наступне:

В тканинах печінки дисперсії контрольної і експериментальної вибірок рівні для значень АТФ ($F_{розр}=1,530 < F_{кр}=6,388$) відрізняються для значень АДФ і АМФ ($F_{розр}=8,140 > F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=17,080 > F_{кр}=6,388$). Подальша перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у випадку АТФ і АМФ гіпотези відкидаються з рівнями значущості $p < 0,05$ (0,0002 і 0,0047, відповідно), а щодо АДФ – гіпотеза приймається, але $p=0,2438$.

В тканинах нирок дисперсії контрольної і експериментальної вибірок також рівні для значень АТФ ($F_{розр}=1,314 < F_{кр}=6,388$) відрізняються для значень АДФ і АМФ ($F_{розр}=79,571 > F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=33,409 > F_{кр}=6,388$). Перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у випадку АТФ і АДФ гіпотези відкидаються з рівнями значущості $p < 0,05$ (0,0004 і 0,0376 відповідно), а щодо АМФ – гіпотеза приймається, але $p=0,1068$.

В тканинах серця дисперсії контрольної і експериментальної вибірок також рівні для значень АТФ ($F_{розр}=1,330 < F_{кр}=6,388$) і відрізняються для значень АДФ і АМФ ($F_{розр}=25,909 > F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=11,500 > F_{кр}=6,388$). Перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у випадку АТФ гіпотеза відкидається з рівнем значущості $p=0,0001$, а щодо АДФ і АМФ – гіпотези приймаються з рівнями значущості 0,2025 і 0,0927, відповідно.

В тканинах мозку дисперсії контрольної і експериментальної вибірок рівні для значень АТФ і АМФ ($F_{розр}=1,143 < F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=3,460 < F_{кр}=6,388$) і відрізняються для значень АМФ ($F_{розр}=7,864 > F_{кр}=6,388$). Перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у випадку АТФ гіпотеза приймається з рівнем значущості $p=0,3441$, а щодо АДФ і АМФ – гіпотези відкидаються з рівнями значущості 0,0169 і 0,0044 відповідно.

Загальна закономірність для тканин всіх тварин цієї групи – збереження (в мозку) або зростання рівня АТФ, збереження рівня АДФ (печінка і серце) і збереження (нирки і серце), або зменшення (печінка і мозок) рівня АМФ в експериментальній групі, порівняно з контрольною.

В групі тварин старечого віку статистичний аналіз виявив наступне:

В тканинах печінки дисперсії контрольної і експериментальної вибірок рівні для значень АТФ, АДФ і АМФ ($F_{розр}=1,490, 1,069$ і $2,140$, відповідно; $F_{кр}=6,388$). Подальша перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у всіх трьох випадках гіпотези відкидаються з рівнями значущості $p < 0,01$.

В тканинах нирок дисперсії контрольної і експериментальної вибірок рівнозначні для АТФ ($F_{розр}=1,557 < F_{кр}=6,388$) і відрізняються для значень АДФ і АМФ ($F_{розр}=59,846 > F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=11,200 > F_{кр}=6,388$). Перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у всіх трьох випадках гіпотези відкидаються з рівнями значущості $p < 0,01$.

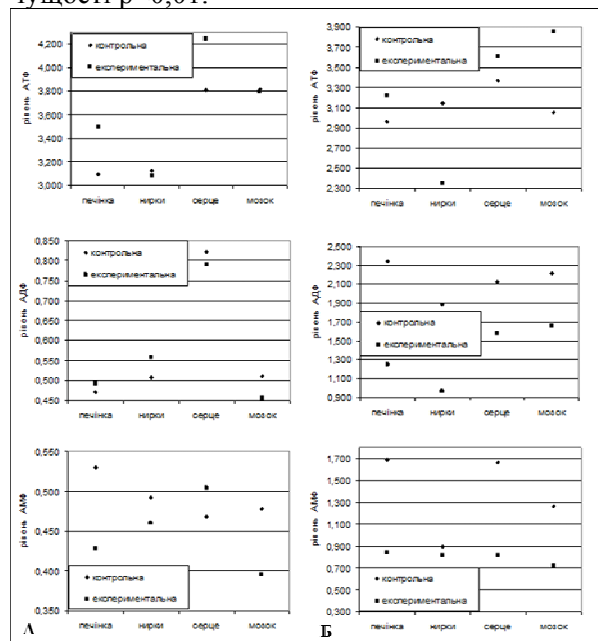


Рис. 1. Діаграми середніх значень рівня АТФ, АДФ, АМФ експериментальних груп порівняно з контрольними для зрілих тварин (а) і тварин старечого віку (б).

В тканинах серця дисперсії контрольної і експериментальної вибірок також рівнозначні для АТФ ($F_{розр}=3,734 < F_{кр}=6,388$) і відрізняються для значень АДФ і АМФ ($F_{розр}=27,571 > F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=14,630 > F_{кр}=6,388$). Перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у всіх трьох випадках гіпотези відкидаються з рівнями значущості $p < 0,01$.

В тканинах мозку дисперсії контрольної і експериментальної вибірок рівнозначні для АТФ і АМФ ($F_{розр}=1,186 < F_{кр}=6,388$ і $F_{розр}=6,143 < F_{кр}=6,388$) і відрізняються для значень АДФ ($F_{розр}=6,727 > F_{кр}=6,388$). Перевірка направлених гіпотез про рівність середніх значень вибірок показала, що у всіх трьох випадках гіпотези відкидаються з рівнями значущості $p < 0,01$.

Загальна закономірність для тварин цієї групи – зростання рівня АТФ (крім нирок) та зменшення рівня АДФ і АМФ в усіх тканинах в групі, що отримувала «Віта-мелатонін», відносно контрольної.

Результати статистичного аналізу проілюстровано графіками. Діаграми середніх значень рівня АТФ, АДФ і АМФ експериментальних груп порівняно з контрольними наведені на рис.1.

Отримані результати підтверджують адекватність обраного методу статистичного аналізу вихідного матеріалу поставленій меті, що дозволяє зробити **наступні висновки**:

1. Шляхом статистичного аналізу виявлено основні закономірності впливу застосування екзогенного мелатоніну на рівень АТФ, АДФ і АМФ шурів зрілого і старечого віку.

2. Порівняння параметрів експериментальних і контрольних груп показує вірогідну ($p > 0,05$) наявність впливу застосування «Віта мелатоніну» на рівень АТФ, АДФ і АМФ у більшості досліджених випадків.

3. Загальна закономірність для шурів зрілого віку – зростання рівня АТФ (окрім нирок), зменшення рівня АДФ і АМФ в експериментальній групі порівняно з контрольною.

4. Загальна закономірність для тварин старечого віку – збереження (в тканині мозку) або зростання рівня АТФ, збереження рівня АДФ (печінка і серце) та збереження (нирки і серце) або зменшення (печінка і мозок) рівня АМФ в експериментальній групі порівняно з контрольною.

Таким чином, за допомогою статистичних методів аналізу нами підтверджено регуляторну роль мелатоніну у процесах старіння на прикладі енергетичного обміну, що свідчить про можливість застосування екзогенного мелатоніну для профілактики старіння.

Перспективними в розвитку даного напрямку є подальші дослідження регуляторної ролі мелатоніну у процесах старіння на інші ланки метаболізму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Циркадные ритмы гемодинамики и энергетического метаболизма при старении / **А.В. Писарук, О.В. Коркушко, В.Ю. Лишнева, Ю.Н. Чеботарева** // Материалы XVI съезда Укр. Физиол. Общества. – Винница, 28-30 мая 2002 г. Физиологический журнал. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 151-152.
2. Влияние экзогенного мелатонина на суточный ритм мелатонинообразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста **О.В. Коркушко, В.Б. Шатило, А.В. Писарук, Л.В. Маглич, И.Ф. Лабунец** // Журнал АМН України. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 393-401
3. **Писарук А.В.** Хронобиологическая гипотеза развития и старения: IV Национальный конгресс геронтологов и гериатров Украины. (Київ, 11-13 жовтня 2005 р.). Тези // Проблемы старения и долголетия. – 2005. – Т. 14, приложение. – С. 45.
4. **Лук'янчук В.Д.** Стан енергетичного гомеостазу у шурів при застосуванні потенційного

- церебропротектора – ОК-3 в умовах закритої черепно-мозкової травми / **В.Д. Лук'янчук, А.А. Висоцький, І.І. Сейфуліна** // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 3 (10). – С. 20-27.
5. **Гланц С.** Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / **С. Гланц.** — М., Практика, 1998. — 459 с.
6. **Юнкеров В.И.** Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / **В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев.** – СПб.: ВМедА, 2002. – 266 с.

Надійшла 17.03.2014 р.
Рецензент: пров. **І.О. Комаревцева**