

БІОЛОГІЯ

© Я.М. Анасевич, О.І. Цебржинський

УДК 612.4+612.33+612.018.2.

Я.М. Анасевич, О.І. Цебржинський

**СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ФУНКЦІЙ
ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ГІПО- ТА ГІПЕРМЕЛАТОНІНЕМІЙ**

Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського (м. Миколаїв)

Дана робота є фрагментом НДР «Органні ефекти мелатоніну» (№ держреєстрації 0109U002265 від 16.12.2008 р. протокол №6).

Вступ. Мелатонін – це сомногенний нейромедіатор, гормон, антиоксидант, який блокує проліферацію та синтез і секрецію гонадотропінів, діє через ядерні рецептори на експресію 252 генів у хромосомах клітин серця та мембраничні рецептори. Відомо, що мелатонін є універсальним ендогенним адапто-геном, має антиоксидантні, імуномодлюючі властивості, а зниження його продукції при порушенні світлового режиму супроводжується ознаками прискореного старіння та збільшенням ризику розвитку новоутворень [1; 7; 11].

Синтезується мелатонін в епіфізі тільки тоді, коли на очі не потрапляє світло; мелатонін APUD-системи діє апокринно та паракринно [1; 7]. Також визначена присутність мелатоніну в усіх відділах шлунково-кишкового тракту (ШКТ) тварин і людини, від стравоходу до прямої кишki, з максимумом в слизистому шарі і меншою кількістю в підслизовому і м'язовому шарах [10]. У дослідженнях на пінеалектомованих тваринах продемонстровано наявність мелатоніну в органах шлунково-кишкового тракту [9]. Ці факти свідчать про синтез мелатоніну органами ШКТ. Але, навіть на підставі цих досліджень можливо вважати, що мелатонін грає важливу роль у фізіології ШКТ і порушення його секреції може бути причиною різних патологій органів ШКТ. Оскільки захворювання кишечника (гастрит, виразка шлунка та дванадцятирічної кишki, дисбіоз та ін.) 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 шлунково-кишковий тракт є актуальною, оскільки виявлено зв'язок між степенем порушення ритміки продукції мелатоніну і клінічним протіканням деяких хвороб (виразка шлунка та дванадцятирічної кишki) [4, 6].

Є велика група населення, яка працює в нічні зміні, існує в умовах цілодобового освітлення (великі міста, полярний день, сон при свіtlі), що блокує синтез та секрецію мелатоніну епіфізом. Крім того, є можливість неконтрольованого вживання мелатоніну як снодiйного. Велике значення приділяється прооксидантно-антиоксидантному балансу органів та організму в цілому, систем і захисту та

пошкодження, універсальній в адаптації. Праць, що стосуються дії надлишку та нестачі мелатоніну на антиоксидантний баланс практично немає.

Тому **метою** роботи було вивчення впливу мелатоніну на прооксидантно-антиоксидантну систему тонкої кишki та функції всмоктування в умовах гіпер- та гіпомелатонінемій.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220-260 г (3 групи 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 темності – 12 годин світла терміном 30 діб. У другій групі для моделювання гіпомелатонінемії тварини утримувались в режимі постійного освітлення (1000-1500 люкс) 30 діб. У третьої групи гіпомелатонінемія моделювалася введенням мелатоніну в харчовий раціон дозою 1 мг/кг маси тіла/добу та цілодобовою темрявою 30 діб [7]. Сезон дослідження – пізня весна, коли секреція мелатоніну середня між максимумом взимку та мінімумом у літку. Тварин виводили з експерименту здійснюючи одномоментну декапітацію під кетаміновим наркозом (40,0 мг/кг маси тіла). Усі втручання та забiй тварин проводили з дотриманням принципів „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цiлей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Особливості метаболічних процесів у тонкій кишці аналізували за станом прооксидантно-антиоксидантної системи. Генерацію супероксиду визначали за НСТ-тестом [8]. Стан вільнопарадикального перекисного окиснення (ВРПО) визначали за концентрацією дiєнових кон'югatів (ДК) і малонового дiальдегіду (МДА) [3]. Визначали показники антиоксидантного захисту (АОЗ) у тонкій кишці – активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатiонпероксидази [3]. Крiм того в тонкій кишці визначали загальну протеолітичну активнiсть (ЗПА) [5]. Також визначали кiлькiсть глукози, що всмоктулась в тонкій кишці щурів за 10 хв [2].

Отримані цифровi данi обробляли методами варіацiйної статистики з використанням для оцiнки iмовiрностi рiзницi окремих груп даних за критерiєm Стьюдента. За статистично iмовiрнi вважали

БІОЛОГІЯ

зміни при $p<0,05$, а при $0,05>p<0,1$ – визначали як тенденцію до достовірності.

Результати досліджень та їх обговорення.
Отриманні дані досліджень репрезентовано у **таблицях 1 – 3.**

Найбільша генерація супероксиду в тонкій кишці від мікросомального та мітохондріального окиснення, що вказує на функціональну напруженість окисних процесів для АТФ-залежного всмоктування та антибактеріального захисту у тонкій кишці. З тенденцією

Таблиця 1

Генерація супероксиду у тонкій кишці щурів при гіпо- та гіpermelatonінемії

№ п/п	Показники, що досліджувалися	Групи тварин		
		Норма (n=8)	Гіпомелатонінемія (n=8)	Гіpermelatonінемія (n=8)
1.	НАДН – стимульований вихід супероксиду з тонкої кишки (мітохондріальне окиснення), (нмоль $\cdot O_2^{-1}/\text{г}\cdot\text{сек.}$)	21,67 \pm 12,50	27,59 \pm 4,74	19,40 \pm 2,31
2.	НАДФН – стимульований вихід супероксиду з тонкої кишки (мікросомальне окиснення), (нмоль $\cdot O_2^{-1}/\text{г}\cdot\text{сек.}$)	26,47 \pm 2,30	24,92 \pm 5,97	27,60 \pm 3,38
3.	Пірогенал – стимульований вихід супероксиду з тонкої кишки (фагоцитарне окиснення), (нмоль $\cdot O_2^{-1}/\text{г}\cdot\text{сек.}$)	6,47 \pm 0,71	8,13 \pm 0,59 $p_1 < 0,1$	6,49 \pm 0,37

Примітка: p_1 – порівняння з нормою.

Таблиця 2

Показники прооксидантно-антиоксидантної системи дослідних та інтактної груп

№ п/п	Показники, що досліджувалися	Групи тварин		
		Норма (n=8)	Гіпомелатонінемія (n=8)	Гіpermelatonінемія (n=8)
1.	ДК (ммоль/кг)	16,56 \pm 1,3	17,15 \pm 1,3	16,69 \pm 0,97
2.	МДА (мкмоль/кг)	9,94 \pm 0,54	10,71 \pm 0,95	10,32 \pm 0,37
3.	СОД (у.од/г)	1,42 \pm 0,04	1,36 \pm 0,05	1,35 \pm 0,05
4.	Кatalаза (мккат/кг)	3,56 \pm 0,31	2,87 \pm 0,28	2,88 \pm 0,19 $p_1 < 0,1$
5.	Глютатіонпероксидаза (мккат/кг)	10 \pm 1,75	7,9 \pm 1,29	7,3 \pm 1,3
6.	ЗПА (мкКат/кг)	4,74 \pm 0,31	5,09 \pm 0,84	5,03 \pm 0,84

Примітка: p_1 – порівняння з нормою.

Таблиця 3

Показники кількості глюкози, що всмокталась в тонкій кишці щурів при гіпо- та гіpermelatonінемії

Показник, що досліджувався	Групи тварин		
	Норма (n=8)	Гіпомелатонінемія (n=8)	Гіpermelatonінемія (n=8)
Всмоктування глюкози в тонкій кишці (мкмоль/ $\text{хв}\cdot\text{мм}^2$)	0,046 \pm 0,006	0,038 \pm 0,008	0,051 \pm 0,004

до достовірності посилюється на 26% проти величини норми генерація супероксиданіонрадикалу від фагоцитів при гіпомелатонінемії. Але на 25% знижена продукція супероксиду при гіpermelatonінемії проти значень в умовах гіпомелатонінемії ($p<0,05$).

Гіпомелатонінемія не сприяла змінам прооксидантно-антиоксидантного балансу. Але внаслідок гіpermelatonінемії відбулося зниження активності каталази в тонкій кишці на 20% при тенденції до достовірності.

Суттєвих змін у порівнянні з нормою швидкості всмоктування глюкози в обох дослідних групах не відмічено. Але, при гіpermelatonінемії швидкість всмоктування виявилася на 34% більше, ніж при гіпомелатонінемії ($p<0,1$).

Висновок. Тонка кишка стійка до гіпо- та гіpermelatonінемій: в обох випадках не змінюється

генерація супероксиданіонрадикалу стінками тонкої кишки, в яких не змінюється стан неферментативного вільно-радикального пероксидного окиснення та антиоксидантного захисту, а також швидкість всмоктування глюкози. Але, з тенденцією до достовірності проти значень норми збільшена генерація супероксиду при гіпомелатонінемії та зменшена активність каталази при гіpermelatonінемії. При гіpermelatonінемії в порівнянні з ефектами гіпомелатонінемії генерація супероксиду суттєво зменшена, а швидкість всмоктування підвищена, що вказує на антиоксидантні та контрінсулярні властивості мелатоніну.

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

Список літератури

- Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / Барабой В.А. // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т.72, №3. – С.5-11.
- Бачинський П.П. Особливості трансмембраних потоків Na^+ , K^+ та води в ентероцитах проксимального відділу тонкої кишки щурів при навантаженні фторованими розчинами хлориду натрію та калію / Бачинський П.П., Григоренко В.К. // Фізіол. журн. – 1977. – 23, № 1. – С. 71–77.
- Беркало Л.В. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / 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., Фадеєва А.С., Цебржинський О.І. – Полтава, 1997. – 271 с.
- Вознесенская Л.А. Продукция мелатонина у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. – Автореф. дисс. канд. мед. наук. / Вознесенская Л.А. – М., – 1998. – 27 с.
- Левицкий А.П. Травні ферменти слінних залоз. – Автореф. дис. доктора біол. наук. / Левицкий А.П. – Одеса, 1974. – 53 с.
- Малиновская Н.К. Мелатонин и язвенная болезнь. – Автореф. дисс. докт. мед. наук. Малиновская Н.К. – М., – 1998. – 48 с.
- Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. / Пішак В.П. – Чернівці, 2003. - 152 с.
- Цебржинский О.И. Количественное определение супероксида НСТ-тестом в тканях / Цебржинский О.И. // Тези доповідей науково-практичної конференції "Організація токсикологічної допомоги в Україні". – Київ, 2002. – С. 65-66.
- Bubenik G.A. Localization of melatonin in the digestive tract of the rat: effect of maturation, diurnal variation, melatonin treatment and pinealectomy. / Bubenik G.A. // Horm. Res. – 1980. – V.12. – P.313-323.
- Lee P.P. Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. / Lee P.P., Pang S.F. // Biol. Signals. – 1993. – V.2. – P.181-193.
- Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Freals / Reiter R.J. // News Physiol. Sci. – 2000. – Vol. 15. – P.246-250.

УДК 612.4+612.33+612.018.2.

СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ФУНКЦІЇ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ГІПО- ТА ГІПЕРМЕЛАТОНІНЕМІЙ

Анасевич Я.М., Цебржинський О.І.

Резюме. Тонка кишка стійка до гіпо- та гіпермелатонінемій: в обох випадках не змінюється генерація супероксиданіонрадикалу стінками тонкої кишки, в яких не змінюється стан неферментативного вільно-радикального пероксидного окиснення та антиоксидантного захисту, а також швидкість всмоктування глюкози. Але з тенденцією до достовірності проти значень норми збільшена генерація супероксиду при гіпомелатонінемії та зменшена активність каталази при гіпермелатонінемії. При гіпермелатонінемії в порівнянні з ефектами гіпомелатонінемії генерація супероксиду суттєво зменшена, а швидкість всмоктування підвищена, що вказує на антиоксидантні властивості мелатоніну.

Ключові слова: тонка кишка, мелатонін, гіпермелатонінемія, гіпомелатонінемія, прооксидантно-антиоксидантний статус, всмоктування.

УДК 612.4+612.33+612.018.2.

СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ФУНКЦИИ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПО- И ГИПЕРМЕЛАТОНИНЕМИЙ

Анасевич Я.М., Цебржинский О.И.

Резюме. Тонкая кишка устойчива к гипо- и гипермелатонинемии: в обоих случаях не изменяется генерация супероксиданционрадикалу стенками тонкой кишки, в которых не изменяется состояние неферментативного свободно-радикального перекисного окисления и антиоксидантной защиты, а также скорость всасывания глюкозы. Носттенденцией достоверности против значений нормы увеличена генерация супероксида при гипомелатонинемии и уменьшенная активность каталазы при гипермелатонинемии. При гипермелатонинемии по сравнению с эффектами гипомелатонинемии генерация супероксида существенно уменьшена, а скорость всасывания повышенна, что указывает на антиоксидантные свойства мелатонина.

Ключевые слова: тонкая кишка, мелатонин, гипермелатонинемия, гипомелатонинемия, прооксидантно-антиоксидантный статус, всасывание.

УДК 612.4+612.33+612.018.2.

The State Of Prooxidant-Antioxidant System And Functions Of Small Intestine Of Rats In Conditions Of Hipo- And Hipermelatoninemia

Anasevych Y.M., Tsebrzhynskyy O.I.

Summary. Smallintestine is steadytohipo-andhipermelatoninemia: the generation of superoxideanionradical by the small intestine does not changes inbothcases; the state of no enzymatic free-radical peroxide oxidation and antioxidant defense, and speed of absorption of glucose do not change. The generation of superoxide in conditions of hipomelatoninemia increased and the activity of catalase reducer in conditions of hipermelatoninemia (with tendency to reliability against values of rate). The generation of superoxide in condition of hipomelatoninemia significantly reduced (compare with effects of hipermelatoninemia), the speed of absorption increased, so that can show on antioxidant properties of melatonin.

Key words: small intestine, melatonin, hipermelatoninemia, hipomelatoninemia, prooxidant-antioxidant status, absorption.

Стаття надійшла 8.02.2012 р.