

МОРФОЛОГІЯ

© М. Ш. Гильмутдинова, О. И. Цебржинский

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

М. Ш. Гильмутдинова, О. И. Цебржинский

**ГИПОМЕЛАТОНИНЕМИЯ КАК КОРРЕКТИРУЮЩИЙ ФАКТОР
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА**
Николаевский национальный университет им. В. А. Сухомлинского (г. Николаев)

Данная работа является фрагментом комплексной темы: «Органные эффекты мелатонина» (№ регистрации в УкрИНТЕИ: 0109U002265).

Вступление. Известно, что значение мелатонина для биологических систем велико. Результатами многочисленных исследований установлена и доказана его антистрессовая, антиканцерогенная, антигериатрическая и антиоксидантная роль. Экспериментальные данные показывают, что мелатонин является также нейромедиатором и иммуностимулятором. Он ингибирует синтез и секрецию рилизинг-гормонов гипоталамуса и тропных гормонов гипофиза, а также пролиферацию большинства стволовых клеток [1].

Проведёнными исследованиями было установлено, что мелатонин влияет на локомоторные свойства организма, выраженные в коррекции возрастного снижения работоспособности, а также оказывает однонаправленное стимулирующее воздействие на физическую активность [2, 3, 8].

Функциональный спектр мелатонина, как показывают специальные литературные источники, достаточно широк. Вместе с тем, согласно данным А. В. Арутюнян [2], важнейшей функцией мелатонина является его антиоксидантная активность – прямая (за счёт ароматического ядра и аминного водорода) и косвенная – за счёт ядерных рецепторов, влияющих на экспрессию генов антиоксидантных ферментов. Проанализировав имеющиеся данные, можно сказать, что прооксидантно-антиоксидантная система является одной из важнейших в организме.

Как известно, неферментативная составляющая антиоксидантной системы более чувствительна к световому режиму и введению мелатонина – максимальное количество изменений на уровне организма наблюдается при постоянном освещении; минимальное количество – при естественных условиях смены дня и ночи [3].

Цель исследования. Вышеизложенное показывает, что вопрос в отношении динамики воздействия мелатонина в условиях гипомелатонинемии в настоящее время остаётся малоизученным. Следовательно, это обстоятельство оправдывает проведение специальных исследований в этом направлении. Таким образом исследование воздействия мелатонина в условиях гипомелатонинемии для выяснение его влияния на скелетные мышцы (четырёхглавая

мышца бедра) и прооксидантно-антиоксидантную систему является актуальной задачей.

Объект и методы исследования. В экспериментальных исследованиях было использовано 16 самцов белых крыс клона «Wistar», средней массой 200 г. По принципу аналогов были сформированы две группы – интактная (условная норма) и опытная. Во второй группе моделировали гипомелатонинемия путём круглосуточного содержания животных при постоянном освещении 1000-1500 лк в течении 30 суток.

Для получения объективной информации относительно полученного материала, отбирали пробы мышечной ткани, которые подвергали предварительной и завершающей камеральной обработкам, соблюдая для каждой обработки двукратную повторность.

В четырёхглавой мышце бедра определяли следующие показатели: концентрации диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) – соответственно первичных и вторичных продуктов неферментативного свободнорадикального перекисного окисления биополимеров, активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы), определение генерации супероксида из разных источников, а также общую протеолитическую активность [7]. Источники и количество супероксида определяли НСТ-тестом [9].

Камеральную обработку гистологических проб мышечной ткани осуществляли при помощи специального оборудования [6]. Светооптические исследования проводили в проходящем свете, скользющем луче и тёмном поле, с помощью оборудования «E. Leitz «diaplan» Wetzlar» (Германия), «Biolar-RU PZO» (Польша), галогенного осветителя «Linvatek-2» (США) номинальной мощностью 10-240 Вт.

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Общие морфометрические исследования тканевых структур выполнены при помощи встроенного окуляр-микрометра (окуляр 7x (Гюйгенса), объектив 60x, «Аро-Plan IRIS»). Микрофотографирование гистосрезов выполнено цифровой камерой «Nikon D-60» (Япония), с применением тринокулярной

насадки 1,6x (Россия) и компьютерного определителя экспозиции съёмки «Minolta-EK» (Япония).

Полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с акцентом внимания на ошибки средних величин [4, 5], а также при помощи пакета прикладных программ «Microsoft Excel».

Результаты исследований и их обсуждение.

Специальные исследования, проведённые с целью выяснения влияния мелатонина на прооксидантно-антиоксидантную систему организма показали следующее (табл.).

Анализируя данные представленной таблицы, можно констатировать, что при гипомелатонинемии

Таблица

Прооксидантно-антиоксидантное состояние четырёхглавой мышцы бедра крыс при гипомелатонинемии. $M \pm m$; $n=16$

№ п/п	Показатель	Интактная группа	Опытная группа
1.	НАДН – стимулированный выход супероксида из мышц (нмоль $\cdot O_2^{-1}$ /г-сек)	13,34 \pm 1,41	13,83 \pm 1,57
2.	НАДФН – стимулированный выход супероксида из мышц (нмоль $\cdot O_2^{-1}$ /г-сек)	19,67 \pm 1,70	17,42 \pm 0,97
3.	Пирогенал – стимулированный выход супероксида из мышц (нмоль $\cdot O_2^{-1}$ /г-сек)	3,27 \pm 0,19	3,11 \pm 0,16
4.	Диеновые коньюгаты, мкМоль/кг	7,48 \pm 0,57	8,41 \pm 0,33
5.	МДА, мкМоль/г	12,02 \pm 0,87	13,62 \pm 0,99
6.	СОД, ум. од./г	1,05 \pm 0,05	0,92 \pm 0,03 **
7.	Каталаза, мкат/кг	1,65 \pm 0,14	1,59 \pm 0,19
8.	Глутатионпероксидаза, мкат/кг	5,89 \pm 0,51	4,77 \pm 0,46
9.	Общая протеолитическая активность, нкат/кг	21,56 \pm 2,78	33,05 \pm 3,78 **

Примечание: ** $p < 0,05$

проявляется уменьшение активности СОД на 12 %, что статистически достоверно. Указанный факт свидетельствует о снижении антиоксидантного потенциала за счёт недостатка мелатонина. Очевидно, что уменьшение продукции СОД может вызвать повышенный уровень активных форм кислорода, что в свою очередь приведёт к повреждению мембраны миофибрилл, с последующим перераспределением содержания ионов K^+ , Ca^{2+} , Cl^- . Полученные данные находятся в соответствии с позицией Reiter I. M. [10], согласно которой продукция СОД из основных источников её синтеза при недостатке мелатонина способствует снижению активности этого компонента.

Показано также, что при гипомелатонинемии повышается уровень общей протеолитической активности на 53 % (в 1,53 раза), что, как следствие, приводит к разноплановым изменениям в организме. В частности светооптические наблюдения соматических мышц позволили установить факт специфической реакции отдельных их структур (рис. 1-3).

Сравнительный анализ микроснимков показывает, что при гипомелатонинемии (рис. 2, 3) по сравнению с условной нормой (рис. 1) наблюдается деструкция сократительных белков и постепенное их замещение соединительной тканью, что может свидетельствовать о проявлении апоптоза.

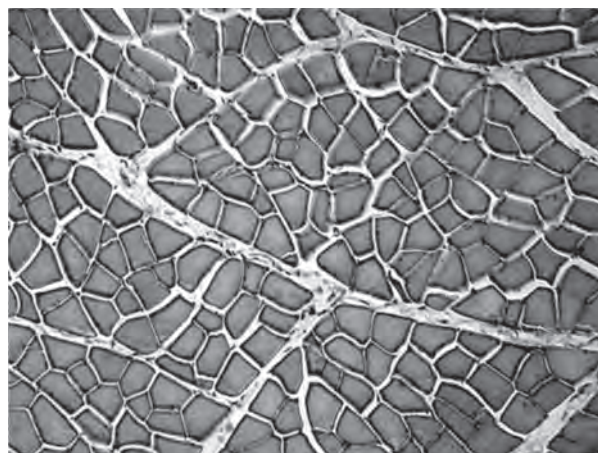


Рис 1. Поперечный срез промежуточной головки четырёхглавой мышцы бедра крысы клона «VISTAR». Интактная группа. 30 суток эксперимента. Окр. гематоксилин Бёмера, фукселин Харта в модификации. 200x.

В частности на рис. 3 показаны дольки жировой ткани, которые представлены незрелыми адипоцитами. Появление жирового компонента проходит параллельно с деструктуризацией сократительных белков, что отражает процесс старения ткани. Полученные гистологические данные подтверждают результаты биохимических исследований.

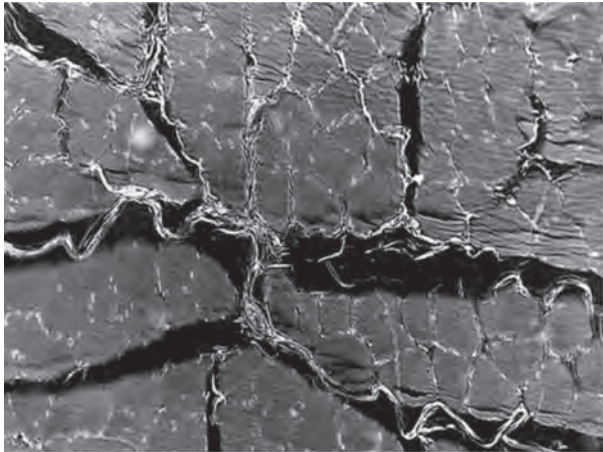


Рис 2. Поперечний срез промежурочної головки чотирьохглавої м'язи бедра крысы клона «VISTAR». Гипомелатонинемия. 30 сутки эксперимента. Окр. гематоксилин Бёмера, фукселин Харта в модификации. Тёмное поле, корректирующий фильтр «ФГПМ-3,5Х». 150х.

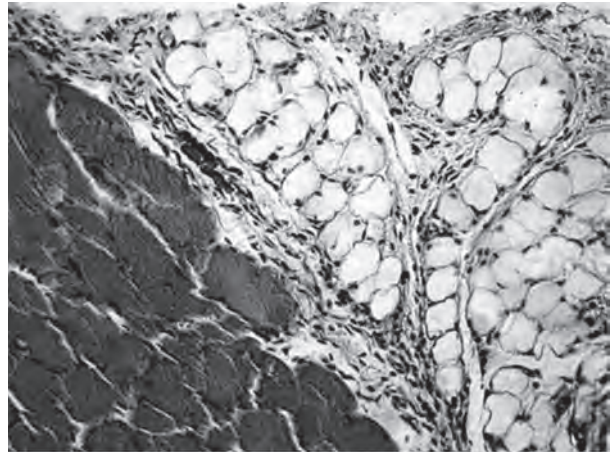


Рис 3. Дольки жировой ткани в промежурочной головке чотирьохглавої м'язи бедра крысы клона «VISTAR». Гипомелатонинемия. 30 сутки эксперимента. Окр. гематоксилин Бёмера, фукселин Харта в модификации. 150х.

Выводы.

1. В результате гипомелатонинемии снижается активность СОД, указывает на снижение антиоксидантного потенциала организма. При этом повышается уровень общей протеолитической активности, что может привести к деструкции сократительных белков.

2. Гистологическая картина чотирьохглавої м'язи бедра при гипомелатонинемии демонстрирует значительное разрастание соединительнотканной стромы и появление долек жировой ткани.

3. Представленные экспериментальные данные могут свидетельствовать о старения ткани.

Перспективы дальнейших исследований.

Анализ полученных биохимических и гистологических данных показывает необходимость дальнейшего исследования прооксидантно-антиоксидантного состояния мышц при различных видах физической работы, а также в процессе старения организма, на фоне гипо- и гипермелатонинемий, что позволит дополнить и расширить существующие представления о состоянии системы движения.

Список литературы

1. Анисимов В.Н. Мелатонин: роль в организме и применение в клинике / Анисимов В. Н. – СПб : Система, 2007. - 40 с.
2. Арутюнян А. В. Полифункциональное антиоксидантное действие мелатонина / А. В. Арутюнян, Л. С. Козина // Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований. - СПб, 2008. – С. 4-5.
3. Беленичев И. Ф. Регуляция антиоксидантного гомеостаза и системы детоксикации организма гормоном мелатонин. Роль мелатонин-зависимых рецепторов в реализации этой функции / Беленичев И. Ф., Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Коваленко С. И., Марченко А. Н. // Современные проблемы токсикологии. - 2003. - №2. - С. 8-17.
4. Деркач М.П. Курс варіаційної статистики / Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.Є. – Київ : Вища школа, 1977. - 208 с.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия / Лакин Г. Ф. – Москва : Высшая школа, 1968. - 293 с.
6. Козий М. С. Оценка современного состояния гистологической техники и пути усовершенствования изучения ихтиофауны: [монография] / Козий М. С. – Херсон : Олди-плюс, 2009. – 310 с.
7. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / [Беркало Л. В., Бобович О. В., Гейко О. О. та ін.]. – Полтава, 1997. – 271 с.
8. Сковчо-Волкова Т. А. Фармакологічний аналіз нейропротекторної дії мелатоніну, пірацетаму та кавінтону при гіпоксії і фізичному навантаженні (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття ступеня канд. мед. наук : спеціальність 14.03.05 «Фармакологія» / Т. А. Сковчо-Волкова – Київ, 2002. – 18 с.
9. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / Цебржинский О. И. // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2002. – Вип. 1, Т. 2. – С. 96-97.
10. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals / Reiter R.J. // News Physiol. Sci. - 2000. - Vol. 15. - P. 246-250.

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЯ ЯК КОРИГУЮЧИЙ ФАКТОР ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ ФУНКЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Гільмутдінова М. Ш., Цебржинський О. І.

Резюме. Досліджували вплив мелатоніну в умовах гіпомелатонінемії для з'ясування його впливу на скелетні м'язи (на прикладі чотирьохголового м'яза стегна щурів) та прооксидантно-антиоксидантну систему. Встановлено зниження антиоксидантного потенціалу організму. Гістологічні дослідження показали значне розростання сполучнотканної стромы та появу долек жирової тканини, що може вказувати на процеси старіння.

Ключові слова: мелатонін, чотирьохголовий м'яз стегна, прооксидантно-антиоксидантна система, гіпомелатонінемія, щури.

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

ГИПОМЕЛАТОНИНЕМИЯ КАК КОРРЕКТИРУЮЩИЙ ФАКТОР ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА

Гильмутдинова М. Ш., Цебржинский О. И.

Резюме. Исследовали влияние мелатонина в условиях гипомелатонинемии для выяснения его влияния на скелетные мышцы (на примере четырёхглавой мышцы бедра крыс) и прооксидантно-антиоксидантную систему. Установлено снижение антиоксидантного потенциала организма. Гистологические исследования показали значительное разрастание соединительнотканной стромы и появление долек жировой ткани, что может указывать на процессы старения.

Ключевые слова: мелатонин, четырёхглавая мышца бедра, прооксидантно-антиоксидантная система, гипомелатонинемия, крысы.

UDC 612,459, 612.74, 612,741; 612.741.15

Hipomelatoninemia As A Correction Factor Prooxidant-Antioxidant Functions Of The Organism

Gilmutdinova M. Sh., Tsebrzhinsky O.

Summary. The impact of melatonin in conditons of hipomelatoninemia for determination of its influence on skeletal muscles (for example, the quadriceps muscle of rats) and prooxidant-antioxidant system were investigated. The reduction of antioxidant potential of organism was established. Histological researchings have shown a significant growth of the connective stroma and the appearance of the lobules of adipose tissue, that can indicate on aging process.

Key words: melatonin, quadriceps muscle, prooxidant-antioxidant system, hipomelatoninemia, rats.

Стаття надійшла 24.01.2012 р.