

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ПЕЧІНКИ ПРИ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ

Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського

(м. Кременчук)

Робота є фрагментом комплексної теми «Вплив мелатоніну на функції систем організму», № держ. реєстрації в УкрІНТІ 0106U002994.

Вступ. Однією з актуальних проблем фізіології людини і тварин є вивчення регуляції мелатоніном прооксидантно-антиоксидантної системи печінки щурів. В наш час існування людини пов'язане з забрудненням навколишнього середовища та дії зовнішніх пошкоджуючих хімічних та фізичних агентів, які призводять до широкого розповсюдження стресів хімічного генезу [2, 3]. Окислювальний стрес викликають активні форми кисню, і він призводить до нездатності клітин подолати збільшення виділення активних форм кисню та запобігати пошкодженню клітин. У людини окислювальний стрес є причиною або важливою складовою частиною багатьох серйозних захворювань. Мелатонін може проявляти антистресорні властивості шляхом послаблення секреторної відповіді наднирників на гострий стрес [6]. Мелатонін захищає клітини організму від окислення, яке сприяє виникненню серйозних хвороб, включаючи рак, хвороби серця, діабет, астму. Саме тому мелатонін має актуальність як сильний антиоксидант, поглинач активних форм кисню [5].

Метою даної роботи було встановлення стану прооксидантно-антиоксидантної системи печінки при нестачі мелатоніну.

Об'єкт і методи дослідження. Для вирішення поставлених у роботі завдань були проведені три

серії експериментальних досліджень на 38 тваринах – щурах лінії Wistar, які були розподілені на групи, репрезентовані в **таблиці 1**. Лабораторні тварини утримувалися в умовах віварію, на стандартному раціоні харчування, згідно з «Санітарними правилами по упорядкуванню, устаткуванню і утриманню експериментально-біологічних клінік (віваріїв)». Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «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).

Гіпомелатонінемію моделювали безперервним освітленням лампами протягом 5-, 10- та 55-ти діб. Експериментальні дослідження виконані на 19 інтактних та 19 дослідних щурах – самцях лінії Вістар, середньою вагою 240г (від 220г до 260г). Значення показників 1-ї групи щурів були прийняті за контроль; другу групу, яку освітлювали протягом 5-, 10- та 55-ти діб, розцінювали як модель гіпомелатонінемії.

По завершенню експериментів здійснювали забій тварин під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла) (згідно з нормами біоетики), шляхом кровопускання, декапітації.

Об'єктами дослідження у всіх дослідках були кров та печінка.

Таблиця 1

Групи для експериментальних досліджень

Експериментальні групи	Кількість обстежених щурів	Чинники	Тривалість експерименту
I серія дослідів			
1. контрольна (норма)	6		5 діб
2. гіпомелатонінемія	6	Цілодобове освітлення 1000 – 1500 ЛК	5 діб
II серія дослідів			
1. контрольна (норма)	5		10 діб
2. гіпомелатонінемія	5	Цілодобове освітлення 1000 – 1500 ЛК	10 діб
III серія дослідів			
1. контрольна (норма)	8		55 діб
2. гіпомелатонінемія	8	Цілодобове освітлення 1000 – 1500 лк	55 діб

Біохімічні параметри при нестачі мелатоніну (M±m)

Показники	Об'єкт дослідження	Групи	
		I (контроль)	II (гіпомелатоніємія)
Спонтанне перекисне окислення	Гомогенат печінки	172,11±9,75	162,48±11,97
Аскорбатзалежне перекисне окислення	Гомогенат печінки	220,51±23,52	221,37±15,34
Ферментативне перекисне окислення	Гомогенат печінки	183,76±10,22	288,88±17,56 p<0,01
Супероксиддисмутаза, од. акт.	Гомогенат печінки	0,097±0,006	0,097±0,01
Каталаза, мкат/л	Гомогенат печінки	118,33±3,86	124,87±5,16

Примітка: p – вірогідність різниці порівняно з величиною I групи, p>0,05 не вказано, але вказана тенденція до вірогідності при 0,05<p<0,1.

Для виконання завдань були використані методи, які характеризували б прооксидантно-антиоксидантну систему печінки, як головного органу метаболічного гомеостазу організму. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи печінки оцінювали за приростом вторинних оксопродуктів пероксидації (ПО), переважно малонового діальдегіду (МДА) за умов спонтанного та індукованого (аскорбатзалежного і ферментативного) перекисного окислення, а також активністю супероксиддисмутази (СОД) та каталази [4, 7], вмістом в печінці відновлених (ГSH) й окиснених (ГSSГ) форм глутатіону [8]. Визначалася загальна протеолітична активність в тканинах печінки [1].

Отримані цифрові дані піддавали статистичному аналізу з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Дослідження короткотривалої нестачі мелатоніну засвідчили деякі зміни з боку прооксидантно-антиоксидантної системи печінки при відсутності змін із боку інших показників, які характеризують функціональний стан печінки (табл. 2). Так, МДА, який характеризує прооксидантний потенціал, у тканинах печінки за 30 хв. інкубації за умов ферментативної пероксидації з НАДФН підвищився (p<0,01) на 57%. Активність СОД та каталази не змінилися,

тобто, антиоксидантний потенціал залишився на рівні контролю.

В той же час активність лужної фосфатази, аланінамінотрансферази, активність спонтанної та аскорбатзалежної пероксидації не змінилися.

Таким чином, 5-добова нестача мелатоніну призвела до збільшення вмісту малонового діальдегіда, що свідчить про зміни в стані прооксидантної ланки прооксидантно-антиоксидантної системи печінки.

Дослідження 10-добової нестачі мелатоніну також, як у випадку з 5-добовим експериментом, виявили порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, яке супроводжувалося посиленням вільнорадикального окислення, що проявлялось підвищенням вмісту первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (табл. 3).

Вміст дієнових кон'югатів збільшився на 30% (p<0,05), але мала місто тенденція до зниження вмісту малонового діальдегіда на 30% (p<0,1). Таким чином, спостерігається збільшення концентрації тільки первинних продуктів пероксидації. Активність супероксиддисмутази (СОД), каталази та глутатіонпероксидази суттєво не змінилися. Загальна протеолітична активність (ЗПА) в печінці теж суттєво не змінилася.

Таким чином, при 10-добовій нестачі мелатоніну виявилось збільшення вмісту дієнових кон'югатів,

Таблиця 3

Біохімічні параметри при нестачі мелатоніну (M±m)

Показники	Об'єкт дослідження	Групи	
		I (норма)	II (гіпомелатоніємія)
Вміст дієнових кон'югатів, мкмоль/кг	Гомогенат печінки	9,44±0,15	14,04±2,26 p<0,05
Вміст малонового діальдегіду, мкмоль/кг		45,89±5,55	31,89±5,37 p<0,1
Супероксиддисмутаза, од. акт.		0,534±0,133	0,361±0,10
Каталаза, мкат/кг		5,25±0,17	5,20±0,77
Активність глутатіонпероксидази, мкат/кг	Гомогенат печінки	6,03±0,35	5,43±0,46
Загальна протеолітична активність, нкат/кг, мкат/л	Гомогенат печінки	16,57±4,03	13,84±4,19

Примітка: p – вірогідність різниці порівняно з величинами I групи, p>0,05 не вказано, але мається тенденція до вірогідності при 0,05<p<0,1.

Показники печінки при гіпомелатоніемії (M±m)

Показник	Контроль	Гіпомелатоніемія
Печінка		
Коефіцієнт маси печінки	3,268±0,073	3,763±0,028, p<0,002
Малоновий діальдегід-0, мкмоль/кг	59,5±2,2	87,15±2,48, p<0,001
Малоноий діальдегід-1,5, мкмоль/кг	115,7±4,6	231,2±6,5, p<0,001
Приріст малонового діальдегіду-1,%	95,6±4,1	156,3±7,1, p<0,001
Супероксиддисмутаза, од. акт.	73,61±1,12	58,53±0,87, p<0,001
Каталаза, мкатал/сек. кг	14,20±0,64	15,53±0,16
Глютатіон відновлений, ммоль/кг	1,47±0,03	1,29±0,01, p<0,002
Глютатіон окиснений, ммоль/кг	0,215±0,010	0,225±0,01
Аскорбинова кислота, ммоль/кг	1,132±0,025	1,182±0,008
Аскорбинова кислота окиснена, ммоль/кг	1,058±0,041	1,001±0,017

Примітка: достовірність порівняння з нормою при p>0,05 не вказана.

що може свідчити про посилення пероксидації у печінці.

Дослідження прооксидантно-антиоксидантного стану печінки при 55-добовій нестачі мелатоніну виявили виразливіші зміни, ніж при 5-добовій (табл. 4).

Кількість МДА-0 (до інкубації) вірогідно збільшилася на 47% (p<0,001) у порівнянні з контролем, що вказує на прооксидантний ефект in vivo нестачі мелатоніну. Приріст МДА за 1,5 години інкубації у прооксидантному залізо-аскорбінатному буферному розчині збільшився в порівнянні зі значеннями норми у 2 рази (p<0,001). Приріст МДА за час інкубації збільшився в 1,65 рази (p<0,001). Активність у печінці супероксиддисмутази зменшилася на 20% (p<0,001) в порівнянні з нормою, що не заперечує відомостям, згідно з якими мелатонін через ядерні рецептори на генному рівні індукує синтез СОД, а оскільки освітлення знижує синтез мелатоніну, то зменшується синтез СОД. Активність каталази в печінці, впродовж досліджу, не змінилася. Вміст у печінці відновленого глютатіону зменшився на 12% (p<0,002) в порівнянні з нормою, що вказує на його посилене використання, у тому числі в підтримці антиоксидантного гомеостазу. Вміст у печінці відновленої та окисленої форм аскорбінової кислоти не змінився у порівнянні з нормою. Тобто активно функціонує фермент, який за рахунок відновленого глютатіону редукує дегідроаскорбінат.

Таким чином, 55-добова гіпомелатоніемія призвела до до підвищення продуктів пероксидації, що вказує на посилення прооксидантного потенціалу печінки.

Висновки.

1. Результати комплексного дослідження прооксидантно-антиоксидантного стану печінки при нестачі мелатоніну в різних умовах свідчать про те, що мелатонін в експериментальних умовах з нестачею його, здатний змінювати прооксидантно-антиоксидантний баланс печінки тим більше, чим більш довготривалою є нестача мелатоніну.

2. Нестача мелатоніну різної тривалості призводить до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги печінки у бік прооксидантної ланки: при 5- і 55-добовому освітлюванні щурів виявлено, що вміст малонового діальдегіду збільшився на 57% (p<0,01) та на 47% (p<0,001) відповідно, що свідчить про посилення процесів вільнорадикального переокисного окислення. При довготривалій гіпомелатоніемії ці зміни супроводжувалися зменшенням активності супероксиддисмутази на 20% (p<0,001), що вказує на зниження рівня антиоксидантного захисту.

Перспективи подальших досліджень. Дані експериментальні дослідження не вичерпують повністю проблеми. В подальшому продовжаться дослідження з проблем використання мелатоніну як антиоксиданту при різних патологіях.

Список літератури

1. Барабаш Р. Д. Казеинолитическая и БАЭЭ-стеразная активность слюны и слюнных желез у крыс в постнатальном онтогенезе / Р. Д. Барабаш, А. П. Левицкий // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1973. – №8. – С. 65-67.
2. Вольнов И. И. Пероксибораты / И. И. Вольнов. – М.: Наука, 1984. – 96 с.
3. Вредные вещества в промышленности. Т. 3. Неорганические и элементоорганические соединения / Под ред. Н. В. Лазарева. – Л.: Химия, 1977. – 608 с.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
5. Мелатонин в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта / В. Н. Анисимов, И. М. Кветной, Ф. И. Комаров [и др.] – М.: Советский спорт – 2000. – 184 с.

6. Рудий-Трипольський В. О. Морфологічна будова печінки білих щурів за умов стресу на фоні гіпо- та гіперфункції шишкоподібного тіла / В. О. Трипольський, О. І. Петришен // Матеріали 111Всеукраїнської наукової морфологічної конференції / Днепропетровск, 2006. – 86 с.
7. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т. В. Сирота // Вопросы медицинской химии. – 1999. – Т. 45, Вып. № 3. – С. 263-72.
8. Чернышев В. Г. Определение восстановленного и окисленного глутатиона в эритроцитах беременных женщин / В. Г. Чернышев // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 31-33.

УДК 612.354:615.357

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ПЕЧІНКИ ПРИ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ

Антонова О. І.

Резюме. У роботі вивчений вплив світла та депривація сну як моделі часткової недостатності мелатоніну епіфізу на деякі сторони прооксидантно-антиоксидантного балансу печінки. Експериментально доведено, що нестача мелатоніну змінює прооксидантно-антиоксидантний баланс печінки.

Встановлено, що нестача мелатоніну призводить до істотних змін в прооксидантно-антиоксидантній системі при тривалій дії цих станів: посилення пероксидації в печінці відбувається при 55-добовій гіпомелатонінемії.

Ключові слова: печінка, мелатонін, прооксидантно-антиоксидантний баланс.

УДК 612.354:615.357

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ПЕЧЕНИ ПРИ НЕДОСТАТКЕ МЕЛАТОНИНА

Антонова Е. И.

Резюме. В работе изучено влияние света и лишения сна как модели частичной недостаточности мелатонина эпифиза на некоторые стороны прооксидантно-антиоксидантного баланса печени. Экспериментально доказано, что недостаток мелатонина изменяет прооксидантно-антиоксидантный баланс печени.

Установлено, что недостаток мелатонина приводит к существенным изменениям в прооксидантно-антиоксидантной системе при длительном действии этих состояний: наиболее выраженное усиление пероксидации в печени происходит при 55-суточной гипомелатонинемии.

Ключевые слова: печень, мелатонин, прооксидантно-антиоксидантный баланс.

UDC 612.354:615.357

The Pro-Oxidant and Antioxidant System of Liver in Lack of Melatonin

Antonova E. I.

Summary. There was investigated the influence of light and dream privation as a model of partial insufficiency of melatonin epiphysis over some directions of liver pro-oxidant and antioxidant balance of liver. It is experimentally proved that melatonin with its lack is able to change the pro-oxidant and antioxidant balance of liver.

It was established that melatonin lack result in considerable changes in pro-oxidant and antioxidant system during long-term effect of these states: the most expressed enforcement of peridoxication in liver is occurred on 55days hypomelatoninemia.

Key words: liver, melatonin, pro-oxidant and antioxidant balance.

Стаття надійшла 4. 10. 2012 р.

Рецензент – проф. Непорада К. С.