

## ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ОКИСНЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ ПРИ 10-ТИ ДЕННІЙ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ

Кременчуцький національний університет

імені Михайла Остроградського (м. Кременчук)

Полтавський національний педагогічний університет імені В. Г. Короленка (м. Полтава)

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

**Вступ.** Вивчення нестачі мелатоніну на стан печінки при її нормальному функціонуванні та в умовах окиснювального стресу обмежується поодинокими науковими дослідженнями. Крім того, мають місце ситуації, коли професійна діяльність людини пов'язана з роботою постійного освітлення і можна вважати, що в таких випадках мелатонін в організмі синтезується в недостатній кількості [7]. Враховуючи стресогенність сучасного існування людини гіпомелатоніємічні стани часто формуються на фоні стресу, у тому числі хімічного, який пов'язаний з надходженням в організм багатої кількості хімічних речовин [2, 3].

**Метою** даної роботи було дослідження нестачі мелатоніну на фоні стресу на функціональний стан печінки.

**Об'єкт і методи дослідження.** Для вирішення поставлених у роботі завдань були проведені серії експериментальних досліджень на щурах лінії Wistar. 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). Лабораторні тварини утримувалися в умовах віварію, на стандартному раціоні харчування, згідно з «Санітарними правилами по упорядкуванню, устаткуванню і утриманню експериментально-біологічних клінік (віваріїв)».

Для моделювання окиснювального стресу використовували пероксиборат натрію, який являється прооксидантом та викликає інтоксикацію. При моделюванні комплексної дії нестачі мелатоніну та токсичного ураження печінки у 10-ти денному досліді використані щури-самці лінії Wistar, середньою масою 240 г. Інтактну групу склали 8 тварин. Дослідну групу склали теж 8 тварин, яким протягом 10-ти діб вводили перорально водний розчин пероксиборату натрія у дозі 0,05 ЛД<sub>100</sub> (60 мг/кг маси тіла на добу) та цілодобово витримували при освітленні.

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 дослідах були кров та печінка.

Для виконання завдань були використані методи, які характеризували б функціональний стан печінки, як головного органу метаболічного гомеостазу організму. Маркерами функціональних порушень можуть служити зміни вмісту речовин у крові, поступаючих з печінки. Саме тому ми досліджували у сироватці крові вміст загального білірубину та співвідношення його фракцій [5], які характеризують метаболічні процеси в печінці. У якості маркерів окиснювального стресу використовували визначення концентрації дієнових кон'югатів [5]. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи печінки оцінювали за приростом вторинних оксипродуктів пероксидації (ПО), переважно малонового діальдегіду (МДА) за умов спонтанного та індукованого (аскорбатзалежного і ферментативного) перекисного окиснення, а також активністю супероксиддисмутази (СОД) та каталази [4; 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 комплексної 10-ти денної дії нестачі мелатоніну та підвищеної пероксидації засвідчили, що біохімічні показники збільшилися або зменшилися майже вдвічі в порівнянні з величинами контролю норми, тобто, дія інтоксикації посилюється нестачею мелатоніну та зумовлює поглиблення оксидантного стресу клітин (**табл.**).

Виявилось, що в печінці вміст дієнових кон'югатів при комплексній дії нестачі мелатоніну та інтоксикації пероксиборатом збільшився на 130 % в порівнянні з нормою ( $p < 0,01$ ), в порівнянні з величинами контролю на гіпомелатоніємію на 51 % ( $p < 0,001$ ), в порівнянні з величинами контролю на інтоксикацію ПОВ змін не виявилось. Концентрація МДА при комплексній дії нестачі мелатоніну та інтоксикації пероксиборатом збільшилася на 70 % в порівнянні з нормою, але це збільшення не достовірне, в порівнянні

## Біохімічні параметри при інтоксикації ПОБ та гіпофункції

Показники	Контроль	Гіпо	ПОБ	Гіпо та ПОБ
Вміст дієнових кон'югатів, мкмоль/кг	9,44±0,15	14,04±2,26	17,92±1,51	21,20±2,02 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001
Вміст МДА, мкмоль/кг	45,89±5,55	31,89±5,37	92,85±26,70	77,53±21,11 p <sub>2</sub> <0,01
СОД, од. акт.	0,534±0,133	0,361±0,10	0,205±0,068	0,195±0,049 p <sub>1</sub> <0,05
Каталаза, мкат/кг	5,25±0,17	5,20±0,77	2,70±0,30	2,14±0,45 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01
Активність глутатіонпероксидази мкат/кг	6,03±0,35	5,43±0,46	3,89±0,21	3,98±0,26 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,02
Загальна протеолітична активність, нкат/кг	16,57±4,03	13,84±4,19	21,11±4,91	14,75±2,28
Загальний білірубін, мкмоль/л	6,24±0,69	4,69±0,67	9,58±1,14	11,33±0,77 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001

**Примітка:** p<sub>1</sub> – порівняння до показників норми, p<sub>2</sub> – порівняння до гіпомелатоніємії, p<sub>3</sub> – порівняння до інтоксикації ПОБ. p > 0,05 не вказано.

з величинами контролю на гіпомелатоніємію на 143% (p < 0,01), в порівнянні з величинами контролю на інтоксикацію ПОБ змін не виявилось. Активність СОД зменшилась у 2,7 рази (p < 0,05) в порівнянні з величинами норми, в порівнянні з величинами контролю на гіпомелатоніємію та інтоксикацію ПОБ не змінилась. Активність каталази зменшилась у 2,5 рази в порівнянні з величинами норми (p < 0,001), у 2,5 рази проти контролю на гіпомелатоніємію (p < 0,01), і залишилася на рівні значень контролю на інтоксикацію ПОБ. Активність глутатіонпероксидази знизилась на 34% по відношенню до норми (p < 0,001), по відношенню до значень контролю на гіпомелатоніємію знизилась на 27% (p < 0,02), зберегла значення до контролю на інтоксикацію. Загальна протеолітична активність залишилась на рівні до контролю показників норми, гіпомелатоніємії та інтоксикації ПОБ. Концентрація білірубіна в сироватці крові збільшилась на 82% по відношенню до норми (p < 0,001), в 2,4 рази по відношенню до величин контролю на гіпомелатоніємію та зберігло значення, характерні для інтоксикації ПОБ.

Інтоксикація ПОБ призвела до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, що проявилось підвищенням вмісту первинних і вторинних продуктів пероксидації – дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду, та інертністю ферментної системи антиоксидантного захисту, що проявилось зниженням активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази. Пероксиборат виявив виражену

прооксидантну дію в печінці та зумовив поглиблення оксидантного стресу клітин через інгібування активності антиоксидантних ферментів [2]. Це негативно відображається на метаболічних процесах печінки, що доводиться збільшенням концентрації загального білірубіна.

Таким чином, при нестачі мелатоніну на тлі інтоксикації пероксиборатом виявилось порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у бік посилення вільнорадикального окиснення, що проявлялось підвищенням вмісту первинних та вторинних продуктів пероксидації, та у бік послаблення активності антиоксидантних ферментів. Це співпадає з даними літератури, за якими оксидантний стрес та нестача мелатоніну посилюють вільнорадикальне окиснення [6].

**Висновок.** Нестача мелатоніну в умовах окиснювального стресу зумовили поглиблення оксидантного стресу клітин, що проявилось підвищенням вмісту первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення та інертністю ферментної системи антиоксидантного захисту; порушення метаболічної функції проявилось у збільшенні концентрації загального білірубіна.

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

## Література

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. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.
  5. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Під ред. проф. Кайдашева І. П. – Полтава : Полімет, 2003. – 319 с.
  6. Пашков А. Н. Влияние мелатонина на окислительный статус, содержание цитрата и активность аконитатгидратазы в печени крыс при токсическом гепатите / А. Н. Пашков, С. С. Попов, А. В. Семенихина // Проблемы эндокринологии : научно-практический журнал. – 2005. – Т. 51, № 6. – С. 41 – 43.
  7. Продолжительность световой фазы дня как фактор, модулирующий канцерогенез толстой кишки в эксперименте / Н. Н. Петрищев, И. М. Кветной, А. В. Панченко, В. Н. Анисимов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований» / Санкт-Петербург, 2008. – С. 30-32.
  8. 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 – 272.

УДК 616. 36 – 002: 615. 322

#### **ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ 10-ТИ ДНЕВНОМ НЕДОСТАТКЕ МЕЛАТОНИНА**

**Антонова Е. И., Цебржинский О. И.**

**Резюме.** В работе изучено влияние недостатка мелатонина при моделировании условий окислительного стресса прооксидантным гепатотропным токсическим веществом на состояние печени. При моделировании условий окислительного стресса интоксикацией пероксиборатом натрия на фоне недостатка мелатонина, усиливается пероксидация в печени, то есть, пероксоборат проявляет свой прооксидантный эффект. Это негативно отображается на метаболических процессах печени, что проявляется увеличением концентрации общего билирубина.

**Ключевые слова:** печень, мелатонин, прооксидантно-антиоксидантный баланс, метаболическая функция, окислительный стресс.

УДК 616. 36 – 002: 615. 322

#### **ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ОКИСНЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ ПРИ 10-ТИ ДЕННИЙ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ**

**Антонова О. І., Цебржинський О. І.**

**Резюме.** У роботі досліджувався вплив нестачі мелатоніну при моделюванні умов окиснювального стресу прооксидантною гепатотропною отрутою на стан печінки. Експериментально доказано, що при нестачі мелатоніну на тлі інтоксикації пероксиборатом виявилось порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у бік посилення вільнорадикального окиснення, що проявлялось підвищенням вмісту первинних та вторинних продуктів пероксидації, та у бік послаблення активності антиоксидантних ферментів. Це негативно відображується на метаболічних процесах печінки, що доводиться збільшенням концентрації загального білірубіна.

**Ключові слова:** печінка, мелатонін, прооксидантно-антиоксидантний баланс, метаболічна функція, окиснювальний стрес.

UDC 616. 36 – 002: 615. 322

#### **Liver Functional State under Conditions of Oxidative Stress in 10-day Melatonin Deficiency**

**Antonova E. I., Tsebrzhinsky O. I.**

**Summary.** The work is devoted to studying the effect of melatonin deficiency in modeling conditions of oxidative stress with prooxidant hepatotropic poison on liver state. The study of complex 10-day action of melatonin deficiency and increased peroxidation showed that biochemical parameters increased or decreased by almost half compared with normal control values, i. e., the effect of intoxication increased with melatonin deficiency and caused intensification of cells oxidative stress. It was found that liver content of diene conjugates in the complex action of melatonin deficiency and intoxication with peroxoborate increased by 130% compared with normal ( $p < 0.01$ ), compared with control values for hipomelatoninemiya by 51% ( $p < 0.001$ ), compared with control values for toxicity with peroxidation there were not found any changes. The concentration of MDA in complex action of melatonin deficiency and intoxication with peroxoborate increased by 70% compared with the norm, but this increase is not significant, compared with control values for hipomelatoninemiya by 143% ( $p < 0.01$ ), compared with control values for toxicity with peroxidation there were not found any changes. The activity of SOD decreased by 2.7-fold ( $p < 0.05$ ) compared with normal values, compared with control values for hipomelatoninemiya and intoxication with

---

---

peroxidation it remained unchanged. The activity of catalase decreased by 2.5-fold compared with normal values ( $p < 0.001$ ), 2.5-fold against control for hipomelatoninemiya ( $p < 0.01$ ) and remained at control values for toxicity with peroxidation. Glutathione peroxidase activity decreased by 34% compared to normal ( $p < 0.001$ ) relative to control values for hipomelatoninemiya decreased by 27% ( $p < 0.02$ ) retained values to control intoxication. Total proteolytic activity remained at the level of normal indicators, hipomelatoninemiya and intoxication with peroxidation. The concentration of bilirubin in the blood serum increased by 82% compared with normal ( $p < 0.001$ ) by 2.4 times compared with control values for hipomelatoninemiya and retained value typical for intoxication with peroxidation.

Thereby peroxoborate showed marked prooxidant effect in the liver and led to intensification of cells oxidative stress through inhibiting of antioxidant enzymes activity. It has negative impact on liver metabolic processes that is proved by increase concentration of total bilirubin and may be associated with intrahepatic transport of unconjugated, water-insoluble, indirect bilirubin by inhibition of enzyme glutathione transferase similar to glutathione peroxidase. In some hereditary diseases (Dubin-Johnson syndrome) indirect bilirubin excretion is broke through genetic defect of glutathione transferase.

Due to the complex action of melatonin deficiency and intoxication with peroxidation, toxic effects of peroxidation is crucial, which in most cases increases due to melatonin deficiency. Perhaps glutathione metabolism enzymes were blocked (glutathione transferase, which is needed to glutathione peroxidase and UDP glucuronide transferase) that broke conversion of bilirubin to exit in the bile and it accumulates in the blood, i. e., its concentration was increased compared with control values.

Thus, melatonin deficiency on the background of peroxoborate intoxication it was found violation of prooxidant-antioxidant balance toward increment of free radical oxidation that manifested through increased content of primary and secondary peroxidation products, and toward the weakening of antioxidant enzymes. This coincides with literature data, by which oxidant stress and melatonin deficiency increase free radical oxidation.

**Key words:** liver, melatonin, prooxidant-antioxidant balance, metabolic function, oxidative stress.

*Рецензент – проф. Непорада К. С.*

*Стаття надійшла 22.07.2013 р.*