

УДК 577.12:612.354:612.826.33.015.22  
DOI: 10.24061/1727-0847.18.2.2019.9

**Н.В. Давидова**

*Кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії (зав. – доц. Н.П. Григор'єва) Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці*

## СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, СВІТЛОВОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ ТА ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

**Резюме.** Дослідження показників глутатіонової системи печінки щурів при підгострій алкогольній інтоксикації у поєднанні зі світловою експозицією виявлено зниження вмісту відновленого глутатіону (на 58 %), активності глутатіонпероксидази (на 34 %) та зростання активності глутатіон-S-трансферази (на 36 %) порівняно з контролем. Такі зміни були більш вираженими, ніж у алкоголізованих тварин, яких утримували при нормальному світловому режимі. Введення мелатоніну на фоні моделювання алкогольної інтоксикації, поєднаної із світловою експозицією, у дозі 5 мг/кг упродовж 7 діб запобігало вірогідній зміні зазначених показників у печінці щурів.

**Ключові слова:** алкогольна інтоксикація; мелатонін; глутатіон; глутатіонпероксидаза; глутатіон-S-трансфераза; печінка; щури.

Посилення процесів вільнорадикального окислення (ВРО) і розвиток окисного стресу є одним із патогенетичних ланок токсичного впливу етанолу на організм [1, 2]. Вільні радикали вступають у реакції з поліненасиченими жирними кислотами, білками, нуклеїновими кислотами, що призводить до незворотних молекулярних змін у гепатоцитах [3]. Запобігання цитотоксичній дії активних форм кисню здійснюють компоненти системи антиоксидантного захисту, зокрема глутатіонової системи [4].

Освітлення – один із найважливіших екологічних факторів, що зумовлює інформаційну взаємодію організму з навколишнім середовищем [5]. Порушення гормонального профілю у відповідь на зміну фоторежиму призводить до зсуву про- та антиоксидантної рівноваги органів та тканин і, як наслідок, зміни чутливості організму до різноманітних токсинів, у тому числі й етанолу [6, 7].

Отже, для сучасної медицини пошук препаратів, що мають антиоксидантну активність та здатні корегувати порушення стану про- антиоксидантної рівноваги при алкогольній інтоксикації та зміненому фотоперіоді, залишається актуальним. В останні роки значна увага приділяється вивченню біологічних ефектів гормону шишкоподібної залози – мелатоніну, який, крім широкого спектра фізіологічних ефектів, має потужні антиоксидантні властивості [6, 8, 9].

**Мета дослідження:** встановити вплив екзогенного мелатоніну на стан показників глутатіонової системи печінки щурів за умов підгострої

алкогольної інтоксикації та світлової експозиції.

**Матеріал і методи.** Досліди проводили на 32 білих щурах-самцях масою 180-230 г, яких утримували за стандартних умов віварію. Утримання тварин та експерименти проводили відповідно до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Тварин розподілено на групи: 1-ша група – контроль (інтактні тварини); 2-га група – тварини, яким викликали підгостру алкогольну інтоксикацію шляхом внутрішньошлункового введення 40% етанолу в дозі 7 мл/кг маси впродовж семи діб; 3-тя група – тварини, яким моделювали підгостру алкогольну інтоксикацію на фоні світлової експозиції, яку викликали шляхом утримання тварин за умов постійного штучного освітлення лампами денного світла інтенсивністю 1500 люкс (24С:0Т); 4-та група – тварини, яким упродовж моделювання алкогольної інтоксикації на фоні зміненого фотоперіоду внутрішньошлунково вводили препарат "Віта мелатонін" (Київський вітамінний завод) у дозі 5 мг/кг маси. Тварини 1-ї та 2-ї групи знаходились за умов природного освітлення (12С:12Т) у період осіннього рівнодення.

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом. У пост'ядерному супернатанті 5% гомогенатів печінки визначали вміст малонового аль-

© Давидова Н.В., 2019

дегіду, окисно-модифікованих білків (ОМБ), відновленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіон-S-трансферази (GST) [10]. Результати оброблені статистично за допомогою програми STATISTICA 7 з використанням параметричного критерію Стьюдента. Вірогідною вважали різницю при  $p \leq 0,05$ .

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Накопичення ацетальдегіду, проміжного продукту біотрансформації етанолу в печінці за умов його надходження в організм, призводить до зміни окисно-відновного потенціалу за рахунок утворення надлишку НАДН. Зростання співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН є однією з причин зниження активності НАД-залежних дегідрогеназ і гальмування, пов'язаних із цим окиснювальних реакцій [1]. Крім того, ацетальдегід може опосередковано стимулювати процеси пероксидного окиснення ліпідів та розвиток оксидативного стресу [2, 11], що призводить до порушення цілісності мембран гепатоцитів та їх руйнування.

Фактори зовнішнього середовища (зміна інтенсивності та тривалості освітлення, довжина фотоперіоду), а також токсичні речовини, прооксиданти, впливають на стан окиснювальних процесів в організмі тварин та людини [5].

Нами встановлено (таблиця), що введення етанолу поряд із постійним освітленням викликало значне посилення ВРО ліпідів та білків, про що засвідчило зростання в печінці тварин вмісту малонового альдегіду на 139 % та ОМБ на 88 % вище рівня контролю. Зазначені показники були значно вищими, ніж у алкоголізованих щурів за умов нормального світлового режиму, що, імовірно, пов'язано зі зниженням синтезу мелатоніну в результаті постійного освітлення [8].

Глутатіон є одним із основних низькомолекулярних тіолів організму і присутній у клітинах у високих концентраціях [4]. Антиоксидантні властивості глутатіону визначаються безпо-

середньою взаємодією його з вільними радикалами та гідропероксидами, а також здатністю його бути субстратом антиоксидантних ферментів [4].

Встановлено (див. табл.), що алкогольна інтоксикація у поєднанні із світловою експозицією супроводжувалась більш вираженим зниженням вмісту відновленого глутатіону, порівняно з алкоголізованими тваринами, яких утримували при нормальному світловому режимі (на 58 % та 38 % нижче рівня контролю відповідно). Це, імовірно, пов'язано із безпосереднім окисненням SH-груп глутатіону ацетальдегідом та вільнорадикальними продуктами його метаболізму.

Глутатіон-S-трансфераза здатна каталізувати реакцію детоксикації низки ендогенних та екзогенних токсичних речовин шляхом кон'югації з відновленим глутатіоном, який в цих реакціях використовується необоротно [10]. GST ефективно знешкоджує гідропероксиди жирних кислот, мононуклеотидів і ДНК, беручи участь в їх репарації [4]. Активність GST у плазмі крові може бути чутливим маркером ендогенної інтоксикації в організмі [4]. Нами встановлено, що активність GST в печінці алкоголізованих щурів на фоні нормального світлового режиму та постійного освітлення була вище контролю на 29% та 36 % відповідно, що, імовірно, пов'язано з посиленням знешкодження вторинних продуктів ПОЛ та інших окиснених речовин за рахунок їх кон'югації з глутатіоном.

Дослідження активності глутатіонпероксидази в печінці щурів при алкогольній інтоксикації та її поєднанні з постійним освітленням показало зниження її активності на 44 % та 34 % нижче рівня контролю відповідно, що може бути пов'язано із дефіцитом відновленого глутатіону, який спостерігався у клітинах.

Введення препарату "Віта-мелатонін" у дозі 5 мг/кг упродовж семи діб тваринам із алкогольною

Таблиця

#### Показники вільнорадикального окиснення біомолекул та глутатіонової системи печінки щурів за умов підгострої алкогольної інтоксикації, темної депривації та введення препарату «Віта-мелатонін» (M±m; n=8)

Умови дослідю	Малоновий альдегід, мкмоль/г тк.	ОМБ (370 нм), ммоль/г білка	Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	Глутатіон пероксидаза, нмоль/хв•мг білка	Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/хв•мг білка
Контроль	28,0±2,52	2,16±0,109	7,24±0,419	86,2±6,36	152,8±8,81
Етанол	53,3±4,92*	3,07±0,227*	4,49±0,624*	48,3±5,41*	197,1±11,16*
Етанол+світло	66,9±5,46	4,07±0,481	3,01±0,518	56,9±7,42*	207,8±9,21
Етанол +світло+мелатонін	35,8±4,18	2,59±0,162*	6,98±0,461	74,2±6,28	181,1±11,43*

Примітка. \* – вірогідність різниці показників контрольної та дослідних груп ( $p \leq 0,05$ )

інтоксикацією у поєднанні зі світловою експозицією запобігало вірогідній зміні вмісту малонового альдегіду в печінці щурів порівняно з показниками контрольної групи та сприяло зниженню вмісту ОМБ, який, однак, залишався на 21% вищим рівня контролю (див. табл.). Мелатонін сприяв відновленню зниженої активності ГП у печінці до рівня контролю. Активність глутатіон-S-трансферази в печінці тварин за умов введення етанолу та його комбінації із постійним освітленням була значно нижчою, ніж у нелікованих тварин, проте залишалася вищою від рівня контролю на 18 %.

Нормалізуючий вплив на активність ферментів антиоксидантного захисту може бути пов'язаний з тим, що мелатонін, крім прямого антирадикального

ефекту, діє як вторинний антиоксидант, стимулюючи активність антиоксидантних ферментів шляхом впливу на експресію відповідних генів [12].

**Висновок.** Отже, на фоні підгострої алкогольної інтоксикації, поєднаної із світловою експозицією, введення «Віта-мелатоніну» впродовж 7 діб запобігало вірогідній зміні вмісту малонового альдегіду, відновленню глутатіону та активності глутатіонпероксидази і сприяло тенденції до нормалізації вмісту окисно-модифікованих білків й активності глутатіон-S-трансферази у печінці щурів.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчення показників антиоксидантного захисту щурів за умов підгострої алкогольної інтоксикації в поєднанні з введенням кофеїну та мелатоніну.

### Список використаної літератури

1. Лелевич ВВ. Патохимические эффекты прерывистой алкогольной интоксикации у крыс. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2015;2:101-5.
2. Хафиз А. Регуляция свободнорадикального гомеостаза при хронической алкогольной интоксикации у крыс [дисертація]. Воронеж: Воронежский гос. ун-т; 2012. 24 с.
3. Macdonald IO, Olusola OJ, Osaigbovo UA. Effects of chronic ethanol administration on body weight, reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) levels and glutathione-S-transferase activity (GST) in rats. *New York Science Journal*. 2010;3(4):39-47.
4. Толпыгина ОА. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2012;2(84):178-80.
5. Бузунов РВ, Царева ЕВ. Циркадианные расстройства сна у жителей мегаполиса. *Терапевтический архив*. 2013;85(10):79-82.
6. Бакшеев ВИ, Коломоец МН. Мелатонин – место в системе нейрогуморальной регуляции у человека. *Клин. медицина*. 2011;89(2):8-14.
7. Qian J, Block GD, Colwell CS. Consequences of exposure to light at night on the pancreatic islet circadian clock and function in rats. *Diabetes*. 2013;62(10):3469-78.
8. Анисимов ВН. Мелатонин, роль в организме, применение в клинике. СПб.: Система; 2007. 40 с.
9. Manchester LC, Montes C, Boga A. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res*; 2015;59(4):403-19.
10. Давидова НВ. Біохімічні механізми антиоксидантної дії екстракту родіоли рідкого [дисертація]. Київ: Інститут геронтології; 2005. 21 с.
11. Давыдов ДР. Молекулярная организация системы микросомального окисления: новые смыслы старого понятия. *Биомедицинская химия*. 2015;61(2):176-87.
12. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*. 2007;42:28-42.

### References

1. Lelevich VV. Patokhimicheskiye efekty preryvistoy alkohol'noy intoksikatsii u kryс [Pathochemical effects of intermittent alcohol intoxication in rats]. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2015;2:101-5. (in Russian).
2. Hafiz A. Regulyatsiya svobodnoradikal'nogo gomeostaza pri khronicheskoy alkohol'noy intoksikatsii u kryс [Regulation of free radical homeostasis in chronic alcohol intoxication in rats] [dissertation]. Voronezh: Voronezh State University; 2012. 24 p. (in Russian).
3. Macdonald IO, Olusola OJ, Osaigbovo UA. Effects of chronic ethanol administration on body weight, reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) levels and glutathione-S-transferase activity (GST) in rats. *New York Science Journal*. 2010;3(4):39-47.
4. Tolpygina OA. Rol' glutationa v sisteme antioksidantnoy zashchity [Role of glutathione in the antioxidant defense system]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012;2(84):178-80. (in Russian).
5. Buzunov RV, Careva EV. Tsirkadnyye rasstroystva sna u zhiteley megapolisa [Circadian sleep disorders in residents of the metropolis]. *Therapeutic archive*. 2013;85(10):79-82. (in Russian).
6. Baksheev VI, Kolomoec MN. Melatonin – mesto v sisteme neurogumoral'noy regulyatsii u cheloveka [Melatonin – a place in the system of neurohumoral regulation in humans]. *Klinicheskaya meditsina*. 2011;89(2):8-

14. (in Russian).

7. Qian J, Block GD, Colwell CS. Consequences of exposure to light at night on the pancreatic islet circadian clock and function in rats. *Diabetes*. 2013;62(10):3469-78.

8. Anisimov VN. *Melatonin, rol' v organizme, primeneniye v klinike*. SPb.: Sistema; 2007. 40 p. (in Russian).

9. Manchester LC, Montes C, Boga A. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res*; 2015;59(4):403-19.

10. Davydova NV. *Biokhimichni mekhanizmy antyoksydantnoyi diyi ekstraktu rodioly [Biochemical mechanisms of antioxidative action of Rhodiola rosea extract] [dissertation]*. Kyiv: Institute of Gerontology; 2005. 181 p. (in Ukrainian).

11. Davydov DR. *Molekulyarnaya organizatsiya sistemy mikrosomal'nogo okisleniya: novyye smysly starogo ponyatiya [Molecular organization of the microsomal oxidation system: new meanings of the old concept]*. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2015;61(2):176-87. (in Russian).

12. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*. 2007;42:28-42.

### СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, СВЕТОВОЙ ЭКСПОЗИЦИИ И ВВЕДЕНИЕ МЕЛАТОНИНА

**Резюме.** Исследование показателей глутатионовой системы печени крыс при подострой алкогольной интоксикации в сочетании со световой экспозицией выявило снижение содержания восстановленного глутатиона (на 58 %), активности глутатионпероксидазы (на 34 %) и рост активности глутатион-S-трансферазы (на 36%) по сравнению с контролем. Эти изменения выявились более выраженными, чем у алкоголизованных животных, содержащихся при нормальном световом режиме. Введение мелатонина на фоне моделирования алкогольной интоксикации в сочетании со световой экспозицией в дозе 5 мг/кг в течение 7 суток предотвращало достоверное изменение исследуемых показателей в печени крыс.

**Ключевые слова:** алкогольная интоксикация; мелатонин; глутатион; глутатионпероксидаза; глутатион-S-трансфераза; печень; крысы.

### THE STATE OF GLUTATHIONE SYSTEM IN THE LIVER OF RATS UNDER CONDITIONS OF ALCOHOL INTOXICATION, LIGHT EXPOSURE AND MELATONIN INTRODUCTION

**Abstract.** The search for drugs possessing an antioxidant activity and capable of correcting imbalance of pro-antioxidant equilibrium in case of alcohol intoxication and the modified photoperiod remains relevant for modern medicine. In recent years, great attention has been paid to the study of biological effects of the pineal hormone melatonin, which in addition to a wide range of physiological effects, possesses powerful antioxidant properties. The objective of the study was to determine the effect of exogenous melatonin on the state of glutathione system in rat's liver in case of subacute alcohol intoxication in combination with light exposure. The experiments were conducted on 32 albino male rats with body weight of 180-230 g. Sub-acute alcohol intoxication was induced by intragastric administration of 40 % ethanol in the dose of 7 ml/kg of the body weight during 7 days. A constant light exposure was promoted by keeping animals under a fluorescent light of 1500 lux intensity for 24 hours a day. Alcohol intoxication in combination with light exposure was found to cause decrease in reduced glutathione level (by 58 %), activity of glutathione peroxidase (by 34 %) and rise of glutathione-S-transferase activity (by 36%) compared with the control animals. These changes were more significant than in alcoholic animals kept under normal light conditions. The introduction of melatonin at the dose of 5 mg/kg for 7 days in terms of alcohol intoxication, combined with light exposure prevented the changes of investigated parameters in rat's liver.

**Key words:** alcohol intoxication, melatonin, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, liver, rat.

*Відомості про авторів:*

**Давидова Наталія Валентинівна** – кандидат медичних наук, доцент кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці.

*Information about the authors:*

**Davydova Nataliia V.** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Bioorganic and Biological Chemistry and Clinical Biochemistry of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi.

Надійшла 11.03.2019 р.

Рецензент – проф. Ткачук С.С. (Чернівці)