

## КОРРЕГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ МЕЛАТОНИНА ХРОНОРИТМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ФИБРИНОЛИЗА И ПРОТЕОЛИЗА ТКАНЕЙ ПОЧЕК

Хоменко В.Г.

Буковинский государственный медицинский университет

В экспериментальных исследованиях на половозрелых крысах проводили коррекцию хроноритмических нарушений фибринолитической и протеолитической активности тканей почек, вызванными воздействием стресса и действием металлов. Установлено, что мелатонин имеет протекторный эффект и обладает нормализующим хроноритмическую способностью на процессы фибринолиза и протеолиза тканей почек при воздействии иммобилизационного стресса на фоне интоксикации животных хлоридами таллия, свинца и алюминия.

**Ключевые слова:** ткани почек, хроноритмы, фибринолиз, протеолиз, стресс, соли металлов.

**Постановка проблемы.** Конкурентные преимущества в коррекции мелатонином хроноритмических нарушений фибринолитической и протеолитической активности тканей почек, вызванными воздействием стресса и действием металлов.

**Анализ последних исследований и публикаций.** Анализ систем неограниченного протеолиза и фибринолиза показал, что для патогенеза тубуло-интерстициального синдрома свойственно торможение протеолитической активности на уровне коры, мозгового вещества и сосочка почек [4, 5, 7]. Это в свою очередь может способствовать развитию дисбаланса между протеолизом и колагенолизом в сторону усиления синтеза коллагена с развитием диффузного фиброза почек. Неограниченный протеолиз в почках имеет достоверные корреляционные связи с показателями функции почек, в том числе с основным энергетическим процессом – реабсорбцией ионов натрия [3, 5]. Торможение фибринолитической системы при формировании тубуло-интерстициального синдрома является наиболее важным на уровне почечного сосочка и мозгового вещества почек, что может привести к развитию тромбоза, уротромбозу с последующей заменой фибрина на коллаген [3, 10].

**Выделение нерешенных ранее частей общей проблемы.** Изучить хроноритмы местного фибринолиза и неограниченного протеолиза почек при интоксикации металлами и стресса позволит более глубоко понять биохимические и физиологические процессы, которые проходят в организме человека и животных.

**Цель статьи.** Главной целью этой работы является выяснить влияние мелатонина на циркадианные особенности тканевого фибринолиза и протеолиза почек белых крыс при воздействии на организм стрессу и солей металлов.

**Изложение основного материала.** В опытах на 248 половозрелых нелинейных самцах белых крыс массой 0,15-0,20 кг изучали влияние (14-суточное) действие хлоридов таллия, свинца и алюминия на функциональное состояние почек.

С целью коррекции циркадианных нарушений фибринолитической и протеолитической активности тканей почек подопытные животные получали экзогенный препарат вита-мелатонин (фармацевтический препарат "Вита-мелатонин", ЗАО "Киевский витаминный завод", г. Киев), который вводили в дозе 0,3 мг/кг массы тела (1 табл. содержала 0,003 г мелатонина, ее растворяли в 30 мл изотонического раствора натрия хлорида) однократно внутривенно-желудочно через зонд за 1 ч до иммобилизационного стресса [1, 2, 6, 8, 11].

В конце эксперимента с интервалом в 6 ч про-

водили эвтаназию животных под легким эфирным наркозом (соблюдая Европейскую конвенцию о защите позвоночных животных) с последующим изучением фибринолитической и протеолитической активности коркового, мозгового и сосочкового шаров почек. Протеолиз низко- и высокомолекулярных белков и коллагена определяли с помощью наборов реактивов "Simko Ltd." (Львов). Ферментативный и неферментативный протеолиз определяли по оригинальной методике, принцип которой основан на том, что при инкубации азофибрину со стандартным количеством плазминогена в присутствии активаторов фибринолиза, которые в ткани образуются плазмин, активность которого оценивается по степени окраски раствора в щелочной среде в присутствии  $\epsilon$ -аминокапроновой кислоты (неферментативный фибринолиз) или без нее (суммарная фибринолитическая активность). Разница между ними отражает состояние ферментативного фибринолиза [9]. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по методу "косинор-анализа": определяли мезор ритма и амплитуду колебаний (в % к мезору), и использовали методы вариационной статистики.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Подобной была и динамика фибринолитических процессов в почках. На фоне введения мелатонина снижался суммарный фибринолитический потенциал коркового слоя вследствие угнетения неферментативного лизиса фибрина, который круглосуточно удерживался на низком уровне. Ферментативный фибринолиз превышал контрольные показатели в период с 08.00, 14.00 и 20.00 ч. Отметим, что коррекция мелатонином достоверно меняла ФФА в кортикальном шаре почек в 14.00 ч по сравнению с группой, которая не получала мелатонин. Амплитуда ритма существенно снижалась относительно контроля (табл. 1).

В мозговом слое суммарная фибринолитическая активность удерживалась примерно на таком же уровне, как и при действии иммобилизационного стресса на фоне комбинированного воздействия хлоридов металлов без введения мелатонина. Амплитуда показателя имела тенденцию к уменьшению по сравнению с контрольными показателями. Мезор и амплитуда неферментативного фибринолиза оставались почти стабильными, а среднесуточный уровень ферментативной фибринолитической активности существенно ниже, чем контрольный уровень (табл. 1).

Максимальный фибринолитический потенциал наблюдали в почечном сосочке. Характерно, что при вводе мелатонина возрастала суммарная фибринолитическая активность. Подавлялась амплитуда ритма. Ритм неферментативного фибри-

Таблиця 1

**Мезор и амплитуда почечного тканевого фибринолиза при коррекции мелатонином изменений вызванных стрессом на фоне комбинированного влияния хлоридов галлия, свинца и алюминия (M±m, n=24)**

Показатели		Интактные животные		Мелатонин+ иммобилизационный стресс+ соли металлов	
		Мезор	Амплитуда (%)	Мезор	Амплитуда (%)
корковое вещество почек, E440 нм/г/ час	СФА	26,3±3,69	33,3±9,81	21,13±0,331	4,1±0,70 p<0,01
	НФА	16,1±1,72	26,2±8,82	10,28±0,273 p<0,01	7,3±0,58 p<0,05
	ФФА	10,2±1,97	45,3±10,41	10,92±0,161	3,4±0,97 p<0,001
мозговое вещество почек, E440 нм/г/час	СФА	16,2±0,90	15,9±5,48	29,93±0,342 p<0,001	3,2±0,43 p<0,05
	НФА	9,5±0,29	8,0±2,26	11,45±0,361 p<0,001	8,4±1,81
	ФФА	35,2±5,22	34,4±10,49	18,49±0,322 p<0,01	4,9±1,65 p<0,01
сосочковое вещество почек, E440 нм/г/ час	СФА	91,4±11,5	30,3±9,76	88,12±1,264	3,9±0,59 p<0,01
	НФА	56,2±6,28	28,5±9,30	42,54±0,741 p<0,05	4,7±1,34 p<0,05
	ФФА	35,2±5,22	34,4±10,49	45,58±0,742 p<0,05	4,4±0,18 p<0,01

Таблиця 2

**Мезор и амплитуда неограниченного протеолиза в ткани почек у крыс при коррекции мелатонином изменений, вызванных действием стресса на фоне комбинированного воздействия солей металлов (M±m, n=24)**

Показатели		Интактные животные		Мелатонин + иммобилизационный стресс + соли металлов	
		Мезор	Амплитуда (%)	Мезор	Амплитуда (%)
корковое вещество почек, E440 нм/г/ час	азоальбумин	27,8±0,79	7,1±2,43	17,93±0,501 p<0,001	7,8±1,57
	азоказеин	23,1±2,46	29,5±9,93	13,52±0,823 p<0,001	17,2±4,75
	азоколаген	6,5±0,61	27,4±4,33	3,22±0,281 p<0,001	20,8±5,64
мозговое вещество почек, E440 нм/г/час	азоальбумин	13,3±0,63	12,8±3,94	9,85±0,310 p<0,001	7,5±1,90
	азоказеин	25,2±0,85	8,3±1,85	30,65±0,672 p<0,001	5,8±1,46
	азоколаген	7,4±0,31	11,8±3,87	3,20±0,081 p<0,001	6,4±2,11
сосочковое вещество почек, E440 нм/г/ час	азоальбумин	51,5±0,63	3,0±0,95	38,87±1,223 p<0,001	7,7±2,53 p<0,05
	азоказеин	52,9±0,57	3,0±0,96	76,81±2,080 p<0,001	6,4±1,59 p<0,05
	азоколаген	3,9±0,27	21,9±6,73	4,72±0,261 p<0,05	13,5±3,16

нолиза находился в противофазе контрольной хронограммы. По сравнению с группой животных, которой не проводили коррекции мелатонином у крыс, которым вводили мелатонин показатели НФА достоверно изменялись в 08.00 и 14.00 ч. Относительно ферментативной фибринолитической активности в сосочковом веществе её уровень достоверно изменялся в 02.00 ч, по сравнению с нелеченной группой животных.

Течение хроноритмов неограниченного протеолиза в корковом веществе почек – монотонное с низкой амплитудой. Снижение лизиса азоальбумину регистрировали в 02.00 ч, в результате чего уменьшался мезор ритма. Мелатонин потенцировал активность расщепления азоказеина, особенно

в 14.00 и 20.00 ч. Лизис азоколагену достоверно изменялся в 20.00 ч по сравнению с нелеченной группой, но не достигал контрольных показателей. Амплитуда показателей приближалась к контрольным показателям (табл. 2).

В мозговом шаре почек мелатонин менял уровень неограниченного протеолиза низкомолекулярных белков, но не существенно. Амплитуда и мезор ритма приближались к контрольным показателям. На фоне коррекции мелатонином изменений показателей достоверно снижался лизис азоказеина сравнительно с группой животных, которым не проводили коррекцию. Низкую активность процесса регистрировали в 08.00, 14.00 и 20.00 ч суток. Колагенная активность, наоборот,

росла относительно нелеченной группы животных. Вероятны изменения значений приходились в 08.00 и 20.00 ч. Характерная низкая амплитуда ритма для показателей.

Под влиянием мелатонина резко возростала протеолитическая активность в почечном сосочке сравнительно с группой, которой не проводили коррекцию мелатонином. В 08.00 и 02.00 ч суток наблюдали высокие уровни лизиса азоальбумину относительно нелеченной группы животных. Также достоверно изменялись показатели азоказеина в 02.00 ч суток. Азоколаген приближался к контрольным величинам. Мезор расщепления низкомолекулярных белков увеличивался относительно контроля почти в 2,5 раза, высокомолекулярных – в 2 раза (табл. 2).

Итак, несмотря на отсутствие полной коррекции временной организации системы гемостаза, мелатонин имеет протективный эффект на процессы фибринолиза и протеолиза при действии иммобилизационного стресса на фоне интоксикации животных хлоридами таллия, свинца и

алюминия. В связи с изложенным можно предположить, что активация ферментативного фибринолиза крови и почек, как и восстановление функциональной способности неограниченного протеолиза биологических систем – направлены на эффективный лизис внутрисосудистого и внутритканевой фибрина.

Однако изменения фазово-амплитудных соотношений хроноритмов одновременно указывают на недостаточность коррекции мелатонином изменений, вызванных иммобилизационным стрессом и токсическим действием хлоридов металлов.

**Выводы и предложения.** Таким образом, исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что четко установлена эффективность применения мелатонина для коррекции патологического десинхронизма фибринолитической и протеолитической активности тканей почек в утренние, дневные, вечерние и ночные периоды суток, который может быть использован как протекторное средство для предупреждения токсических эффектов металлов и стресса.

### Список литературы:

1. Арушанян Э. Б. Иммуноотропные свойства эпифизарного мелатонина / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 5. – С. 73-80.
2. Анисимов В. Н. Мелатонин: перспективы применения для профилактики рака и преждевременного старения / В. Н. Анисимов // Вестник восстановительной медицины. – 2007. – № 1 (19). – С. 4-7.
3. Гоженко А. І. Вплив аргініну на функціональний стан нирок щурів при сулемовій нефропатії / А. І. Гоженко, О. С. Федорук, І. В. Погоріла // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 26-30.
4. Магальяс В. Н. Общие закономерности нефротоксического действия хлористых соединений таллия, кадмия, платины и ртути : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук / В. Н. Магальяс : Одесский государственный медицинский университет. – Одесса, 1999. – 16 с.
5. Пат. 24921 Україна, МПК (2006) А61К 38/00. Спосіб корекції віта-мелатоніном комбінованої нефротоксичної дії солей талію, свинцю і алюмінію [Текст] / В. Г. Висоцька, В. П. Пішак, В. М. Магальяс ; заявник та патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № u 200613405 ; заявл. 18.12.2006 ; опубл. 25.07.2007, Бюл. № 11. – 5 с.
6. Пішак В. П. Імуногістохімічна характеристика мелатонінових рецепторів 1А у нейронах супрахіазматичних ядер гіпоталамуса / В. П. Пішак, Р. Є. Булик, І. С. Давиденко // Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи : Всеукр. наук.-практ. конф., присв. 100-річчю з дня нар-ня Н. М. Шінкермана 21-22 трав. 2007 р. : тези доп. – Чернівці : Бук. держ. мед. ун-т, 2007. – С. 136-140.
7. Пішак В. П. Хроноритми функціонального стану нирок при інтоксикації хлоридами талію, свинцю та алюмінію / В. П. Пішак, В. Г. Висоцька, В. М. Магальяс // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 136-138.
8. Рапопорт С. И. Эпифиз – орган-мишень биотропного действия естественных магнитных волн / С. И. Рапопорт, Н. К. Малиновская // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 14-16.
9. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії : навчально-методичний посібник / В. М. Магальяс, А. О. Міхєєв, Ю. Є. Роговий [та ін.] ; Бук. медуніверситет. – Чернівці : БДМА, 2001. – 42 с.
10. Circadian rhythm of melatonin, corticosterone and phagocytosis: effect of stress / C. Battiga, M. J. Martin, R. Tafla [et al.] // J. Pineal Res. – 2001. – V. 30, № 3. – P. 180-187.
11. Effect of melatonin on oxidative status of rat brain, liver and kidney tissues under constant light exposure / G. Baydas, E. Erce, N. Canatan [et al.] // Cell Biochem. Funct. – 2001. – № 19. – P. 37-41.

**Хоменко В.Г.**

Буковинський державний медичний університет

## КОРЕГУЮЧИЙ ВПЛИВ МЕЛАТОНИНУ ХРОНОРИТМІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ФІБРИНОЛІЗУ ТА ПРОТЕОЛІЗУ ТКАНИН НИРОК

### Анотація

В експериментальних дослідженнях на статевозрілих щурах проводили корекцію циркадіанних порушень фібринолітичної та протеолітичної активності тканин нирок, викликаними впливом стресу і дією важких металів. Встановлено, що мелатонін має протективний ефект та володіє нормалізуючою хроноритмічною здатністю на процесі фібринолізу та протеолізу тканин нирок при дії іммобілізаційного стресу на фоні інтоксикації тварин хлоридами талію, свинцю і алюмінію.

**Ключові слова:** тканини нирок, циркадіанність, фібриноліз, протеоліз, стрес, солі важких металів.

**Khomenko V.G.**

Bukovinian State Medical University

## **REMEDIAL EFFECT OF MELATONIN THE HRONORITMICAL DISTURBANCES OF FIBRINOLYSIS AND PROTEOLYSIS KIDNEY TISSUE**

### **Summary**

In experimental with research adult rats was conducted correction of circadian disturbances of fibrinolytic and proteolytic activity of renal tissues which was course by influence of stress and metals salts. It has been rstablehed that melatonin has protective effect and has a command of normalizing chronorhythms activity for process of fibrinolysis and proteolysis tissues under the influenses of stress on the backgraud of intoxication by tallium, lead and aluminium chloridi.

**Keywords:** renal tissues, circadian disturbances, fibrinolysis, proteolysis, stress, metals salts.