

УДК 612.4+612.062+577.17+577.121.7+57.04

О. М. ЛАРИЧЕВА, С. В. СЕМЕНЧУК, О. О. ЦВЯХ, Л. Д. ЧЕБОТАР,

О. І. ЦЕБРЖИНСЬКИЙ*

м. Миколаїв, *м. Полтава

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ ТА ЦІЛОДОВОГО ОСВІТЛЕННЯ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У ЩУРІВ

В умовах короткотривалого експерименту спостерігаються різноспрямовані реакції у крові, легенях, шлунку та серці статевозрілих щурів. При довготривалій світловій експозиції виявлено підвищення рівня концентрації первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення та зниження активності антиоксидантних ферментів. Аналогічні ефекти спостерігалися й при довготривалому введенні мелатоніну та одночасною світловою депривацією.

Ключові слова: мелатонін, перекисне окиснення, антиоксидантні ферменти, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза.

Постановка проблеми. Мелатоніну (МТ) (як антиоксиданту, блокатору мітозів та гонадотропінів, сомногенному нейромедіатору, стимулятору імунної системи) відводять провідну роль у формуванні захисних ефектів адаптації стрес-лімітуючих систем [1–5], до яких належить антиоксидантний захист (АОЗ), спрямований на інгібування процесів неферментативного вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО), який ініціюється активними формами Оксигену (АФО). Але найбільше значення в дослідженнях ролі МТ в організмі людини та тварин надається його антиоксидантній функції. Нейрогормон мелатонін є однією з сполук, що має антиоксидантну активність. Його протекторна дія при перекисному окисненні здійснюється за двома механізмами, які включають безпосередню інактивацію вільних радикалів OH^\cdot , OON^\cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$, $^1\text{O}_2$, NO^\cdot , ONOO^- (за рахунок екранованого гідроксилу, а також $-\text{NH}_2$ -групи, яка є донором Н) й/або гальмування їх генерації в клітині та регуляцію активності антиоксидантних ферментів в результаті впливу на генетичний апарат клітини, тобто він виступає як прямий, так і як вторинний антиоксидант (АО) [4, 6]. На сьогодні залишаються відсутні дані про вплив недостатньої кількості або надлишку мелатоніну на зміни прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС), від стану якої залежить функціонування систем організму. Тому доцільним є вивчення прооксидантно-антиоксидантного балансу в умовах різного рівня активності шишкоподібної залози.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. В останні роки викликає значну зацікавленість проблема різноманітних фізіологічних ефектів МТ. Найбільш важливими фізіологічними ефектами цього гормону є контроль циркадіанних та сезонних ритмів, стимуляція багатьох метаболічних процесів, інгібуюча дія на пігментний метаболізм, антигонадотропні ефекти, седативна та галюциногенна дія на центральну нервову систему, зменшення клітинної проліферації й антипухлинна дія по відношенню до багатьох експериментальних пухлин. Він впливає майже на всі системи організму людини та тварин. Всі вищезгадані ефекти мають експериментальні підтвердження та узагальнені в багаточисельних вітчизняних та зарубіжних наукових працях [7–11].

Встановлено, що МТ здійснює вплив як на системному, так і на тканинному, клітинному й субклітинному рівнях [12, 13]. При цьому МТ запобігає процесам, що призводять до старіння та раку. Зокрема, на системному рівні він знижує продукцію гормонів, які сприяють цим процесам й стимулює систему імунного нагляду. Одночасно пригнічується продукція вільних радикалів й стимулюється система антиоксидантного захисту. МТ гальмує проліферативну активність клітин й підвищує рівень апоптозу, попереджаючи виникнення та розвиток пухлинного процесу. На генетичному рівні він інгібує ефект мутагенів й кластогенів, а також пригнічує експресію онкогенів.

Літературні дані свідчать про те, що цей гормон прямо або опосередковано (через змі-

ни часової динаміки показників й антистресорний ефект) впливає на регуляцію роботи серцево-судинної системи, зокрема, МТ регулює величину системного артеріального тиску та стабілізує роботу серця [14]. З урахуванням властивостей МТ, а також результатів багаточисельних експериментальних досліджень, продемонструвавши його виразково-протективні ефекти при різних моделях виразок, не викликає сумніву роль порушень продукції МТ в механізмах виникнення й загострення хвороб шлунково-кишкового тракту та можливість його використання в терапії даних захворювань [15–18].

В геронтологічній практиці приділяється велика увага вивченню МТ як засобу для попередження процесів старіння організму. Старіння населення неминуче призводить до росту числа вікових захворювань: серцево-судинних (атеросклерозу, артеріальній гіпертензії, ішемічної хвороби серця), нервової системи (судинні захворювання мозку, нейродегенеративні захворювання – хвороби Альцгеймера та Паркінсона), онкологічної патології та інші. У зв'язку з цим назріла гостра необхідність створення терапевтичного засобу, що покращує якість життя й гальмує процеси виникнення та розвитку захворювань, пов'язаних з віком. Таким препаратом може бути МТ, адже любе його вікове зниження в тканинах може бути повністю доповнено екзогенним мелатоніном [19]. Він збільшує тривалість життя тварин, що дало змогу віднести його до геропротекторів. Крім того, він відіграє важливу роль у підтриманні адаптаційних можливостей людей похилого віку.

У тварин при утриманні в умовах постійного освітлення пригнічується мелатоніновувороюча функція епіфізу. Виявлено, що утримання тварин в умовах природного або постійного освітлення призводить до суттєво більш швидкого розвитку спонтанних пухлин [20]. В деяких дослідженнях на старих самцях щурів популяції Wistar показано, що курсове введення МТ викликає дозозалежну морфофункціональну активацію пінеалокитів, яка супроводжувалася збільшенням площі ядер, оптичної щільності ядер та цитоплазми при використанні гістохімічного забарвлення на нуклеїнові кислоти, що було розцінено авторами [21] як ознаки стимуляції епіфізарної

продукції гормонів як індольної, так і пептидної природи.

Таким чином, в цілому слід визнати доцільність подальшого вивчення й застосування МТ для профілактики захворювань.

Постановка завдання. Метою роботи було дослідження стану прооксидантно-антиоксидантної системи у крові та різних органах щурів в умовах надлишку та нестачі мелатоніну.

Матеріали і методика дослідження. Дослідження проводили на 105 щурах-самцях лінії Wistar масою 240–260 г, яких утримували згідно принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та наукових цілей» (Рада Європи, Страсбург, 2004) в стандартних умовах віварію. Дослідження включало 2 серії експериментів по три групи тварин в кожній: інтактна група, умовна гіпомелатоніемія, умовна гіпермелатоніемія. В першій (48 щурів) серії вивчалось вплив короткочасної (10 діб) нестачі та надлишку мелатоніну на прооксидантно-антиоксидантну систему різних органів та крові щурів. В другій (21 щур) серії – вплив хронічної (30 діб) нестачі та надлишку мелатоніну.

Гіпофункцію епіфізу викликали цілодобовим освітленням інтенсивністю 1000–1500 Лк двома лампами з обох боків клітки [22, 23]. Враховуючи, що мелатонін в епіфізі синтезується тільки в умовах темряви, можливо припустити, що ця модель частково відтворює гіпомелатоніемію. Гіпермелатоніемію моделювали шляхом перорального введення водного розчину мелатоніну у дозі 1,0 мг/кг на добу щовечора та світловою депривацією. Евтаназію щурів проводили згідно норм біоетики одномоментною декапітацією. При цьому відбувався забір крові шляхом пункції серця для подальшого дослідження.

Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом І. Д. Стальної (1977) [24]. Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) визначали за методом І. Д. Стальної, Т. Г. Гарішвілі (1977) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [25].

Активність каталази (КТ) визначали за методом М. О. Каролук із співавторами (1988) [26]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за реакцією аутоокислення адре-

наліну у лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикалу кінетичним методом [27]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали за методом В. О. Пахомової із співавторами [28].

Результати досліджень та їх обговорення. При короткотривалому експерименті спостерігалися зміни концентрацій первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення, а також активність антиоксидантних ферментів в різних органах мали різну спрямованість (рис. 1–5). Так, при цілодобовому освітленні достовірно ($p < 0,05$) збільшилася майже удвічі концентрація ДК та МДА у тканинах серця, в той час як в інших органах й сироватці крові суттєвих змін не виявлено. При експериментальній гіперфункції епіфіза концентрація первинних та вторинних продуктів ВРПО в тканинах досліджуваних органів та сироватці крові майже не змінилася у порівнянні з контролем. Найбільше суттєві зміни виявлені в

активності СОД тканин легень. Як при нестачі, так і надлишку МТ її активність зросла на 100% ($p < 0,05$). Можливо це пов'язано зі змінами продукції ендogenous мелатоніну в цих органах й використанням низькомолекулярних антиоксидантів.

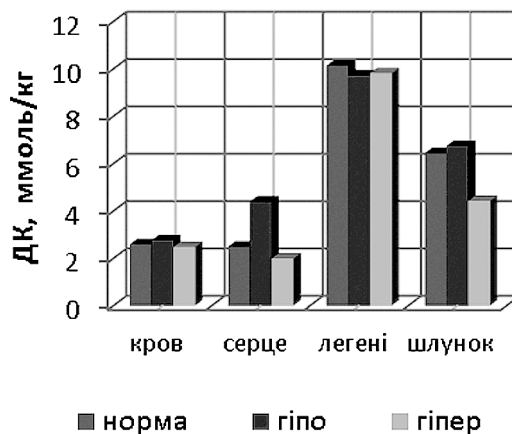


Рис. 1. Концентрація дієнових кон'югатів в сироватці крові та гомогенатах органів при 10-добовому експерименті

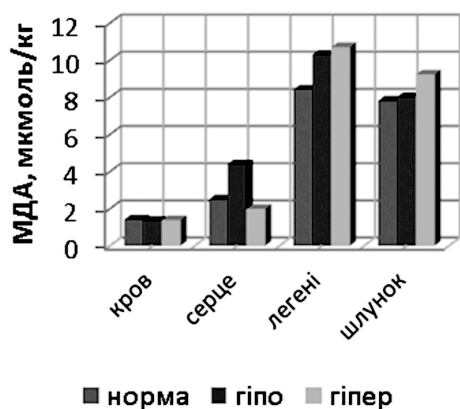


Рис. 2. Концентрація малонового діальдегіду в сироватці крові та гомогенатах органів при 10-добовому експерименті

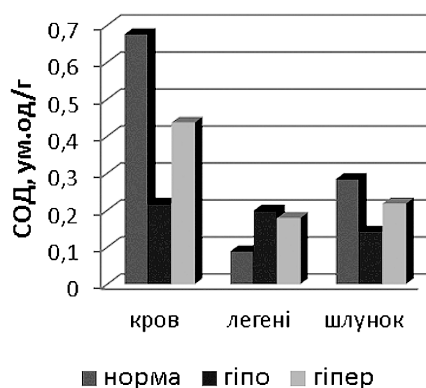


Рис. 3. Активність супероксид-дисмутази в сироватці крові та гомогенатах органів при 10-добовому експерименті

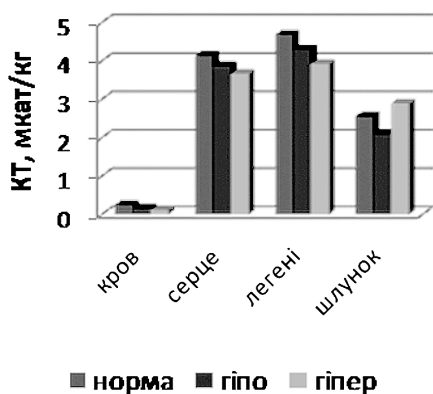


Рис. 4. Активність каталази в сироватці крові та гомогенатах органів при 10-добовому експерименті

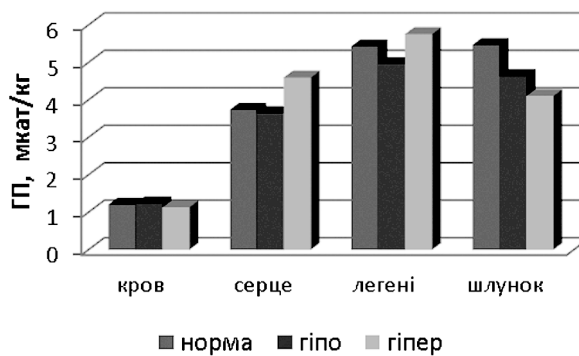


Рис. 5. Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові та гомогенатах органів при 10-добовому експерименті

В разі тривалої експериментальної гіпомелатоніемії зростає рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів в сироватці крові ($p < 0,05$), легенях і шлунку ($p < 0,1$). Однак, і надлишок мелатоніну призводив до збільшення концентрації цих же продуктів у порів-

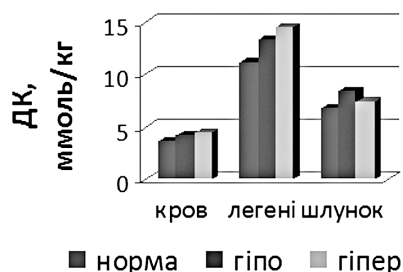


Рис. 6. Концентрація дієнових кон'югатів в сироватці крові та гомогенатах органів при 30-добовому експерименті

Активність антиоксидантних ферментів у тварин при 30-добовому експерименті як при надлишку, так і нестачі мелатоніну була нижча, ніж у тварин інтактної групи з достовірністю $p < 0,05$ для сироватки крові (СОД, КТ) і шлунка (ГПО) і з тенденцією до достовірності ($p < 0,1$) для тканин легень (рис. 8–10). Оскільки активність СОД та КТ індукується субстратом, а ГПО – через аденілатциклазну систему, можливо припустити, що великі дози мелатоніну пригнічують утворення супероксида й пероксида, і відсутність цих індукторів сприяє відсутності впливу МТ на експресію генів цих ферментів.

Таким чином, в умовах 10-денного дослідження при гіпофункції епіфізу у серці збільшилися концентрації дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду, що свідчить про посилен-

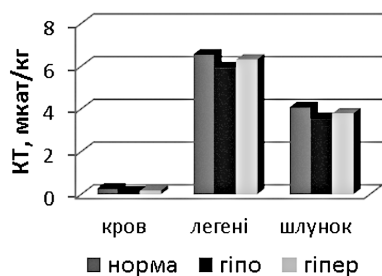


Рис. 9. Активність каталази в сироватці крові та гомогенатах органів при 30-добовому експерименті

нянні з умовною нормою (рис. 6–7). Особливо зросла концентрація МДА на 55% і 57% в сироватці крові та легенях відповідно ($p < 0,05$), що може свідчити про те, що в деяких випадках мелатоніну може проявляти себе і як прооксидант.

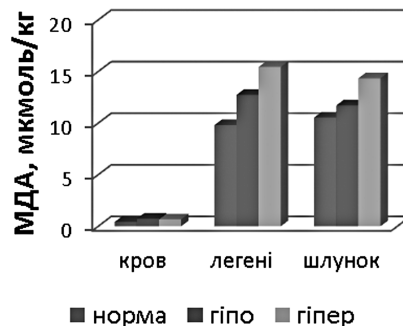


Рис. 7. Концентрація малонового діальдегіду в сироватці крові та гомогенатах органів при 30-добовому експерименті

ня пероксидації, зменшилася активність супероксиддисмутази у крові та шлунку, каталази у шлунку, що свідчить про зниження рівня антиоксидантного захисту.

Але при гіперфункції епіфізу в умовах 10-денного дослідження зменшилася активність глутатіонпероксидази.

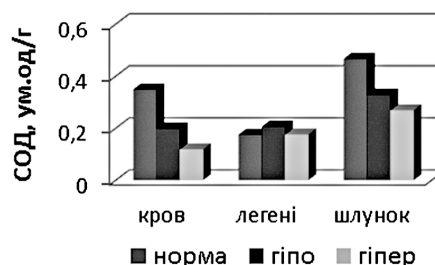


Рис. 8. Активність супероксид-дисмутази в сироватці крові та гомогенатах органів при 30-добовому експерименті

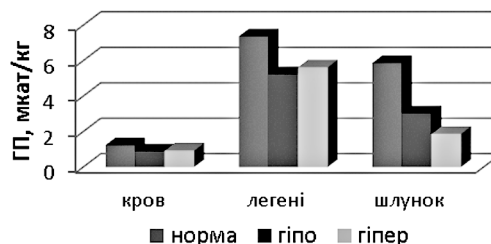


Рис. 10. Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові та гомогенатах органів при 10-добовому експерименті

В умовах 30-денного досліджу при гіпофункції епіфізу збільшилася концентрація малонового діальдегіду у легенях та шлунку при зменшенні активності глутатіонпероксидази шлунку; це вказує на дисбаланс ланок прооксидантно-антиоксидантної системи у найбільш вразливих органах, контактуючих з киснем.

В умовах 30-денної гіперфункції епіфізу збільшилися концентрації дієнових кон'югатів у легенях, малонового діальдегіду у легенях та шлунку при зменшенні активностей супероксиддисмутази у крові та шлунку, глутатіонпероксидази у шлунку.

Слід зауважити, що наведені зміни відображають комбінації регуляції активності ферментів субстратами та мелатоніном. Нестача мелатоніну стимулює прооксидантну ланку, але надлишок його може проявити теж прооксидантний ефект, можливо за рахунок пригнічення синтезу мелатоніну у легенях та шлунку. Тому слід вважати ці органи критичними у ефектах надлишку та нестачі мелатоніну.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Встановлено, що в умовах короткотривалого експерименту спостерігається різноспрямована реакція в досліджуваних органах. При тривалих експериментах ефекти нестачі або ж надлишку МТ проявляються більш чітко. Внаслідок нестачі МТ впродовж тривалого часу в різних органах активується перекисне окиснення, що призводить до збільшення концентрації його первинних (ДК) та вторинних (МДА) продуктів й зниженню активності антиоксидантних ферментів. Але й тривале щодобове введення МТ у дозі 1 мг/кг маси тіла та світлова депривація у щурів викликає аналогічний ефект у сироватці крові та всіх досліджуваних органах, крім серця, що й при тривалому освітленні.

Список використаних джерел

1. Анисимов В. Н. Мелатонин: роль в организме и применение в клинике / В. Н. Анисимов. — СПб : Система, 2007. — 40 с.
2. Анисимов В. Н. Мелатонин в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта / В. Н. Анисимов, И. М. Кветной, Ф. И. Комаров и др. — М., 2002. — 183 с.
3. 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.
4. Барабой В. А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / В. А. Барабой //

- Український біохімічний журнал. — 2000. — Т. 72, № 3. — С. 5—11.
5. Мелатонин в норме и патологии / Под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта, Н. К. Малиновской, В. Н. Анисимова. — М. : ИД Медпрактика, 2004. — 308 с.
 6. Reiter R. J. Melatonin: Lowering the High Price of Free radicals / R. J. Reiter // *News Physiol. Sci.* — 2000. — Vol. 15. — P. 246—250.
 7. Арушанян Э. Б. Мелатонин и система крови / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* — 2006. — Т. 69, № 3. — С. 74—79.
 8. Виноградова И. А. Световые режимы и овуляторная функция у крыс в онтогенезе / И. А. Виноградова, И. В. Чернова // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* — 2007. — Т. 93, № 1. — С. 90—98.
 9. Коркушко О. В. Шишковидная железа: физиологическая роль в организме, функциональная недостаточность в пожилом возрасте, возможные пути коррекции / О. В. Коркушко, В. Б. Шатило // *Медицинский вестник.* — 2003. — Т. 3, № 2.
 10. Asai M. Administration of melatonin in drinking water promotes the phase advance of light-dark cycle in senescence-accelerated mice, SAMR 1 but not SAMP 8 / M. Asai, M. Ikeda, I. Oshima, S. Shibata // *Brain Research.* — 2000. — Vol. 876, № 1—2. — P. 220—224.
 11. Fernandez C. Age differences in neurokinin A and substance P from the hypothalamus, pituitary, pineal gland, and striatum of the rat-effect of exogenous melatonin / C. Fernandez, L. Debeljuk, E. Daz, B. Daz // *Peptides.* — 2002. — Vol. 23, № 5. — P. 941—945.
 12. Sharman E. H. Age-related changes in murine CNS mRNA gene expression are modulated by dietary melatonin / E. H. Sharman, K. G. Sharman, Y.-W. Ge et al. // *Journal of Pineal Research.* — 2004. — Vol. 36, № 3. — P. 165—170.
 13. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В. П. Пішак. — Чернівці : Медакадемія, 2003. — 152 с.
 14. Арушанян Э. Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин и деятельность сердечно-сосудистой системы. Сообщение 1. Влияние мелатонина на артериальное давление в норме и при патологии / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // *Медицинский вестник Северного Кавказа.* — 2011. — № 1. — С. 69—73.
 15. Малиновская Н. К. Антихеликобактерные эффекты мелатонина / Н. К. Малиновская, С. И. Рапопорт, Н. И. Жернакова и др. // *Клиническая медицина.* — 2007. — Т. 85, № 3. — С. 40—43.
 16. Малиновская Н. К. Мелатонин в лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / Н. К. Малиновская, Ф. И. Комаров, С. И. Рапопорт и др. // *Клиническая медицина.* — 2006. — Т. 84, № 1. — С. 5—11.
 17. Осадчук М. А. Мелатонинпродуцирующие и NO-синтазоположительные клетки желудка и процессы клеточного обновления при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / М. А. Осадчук, А. Ю. Кулиджанов // *Клиническая медицина.* — 2005. — Т. 83, № 9. — С. 34—37.
 18. Шимчук С. Ф. Влияние мелатонина, серотонина и гастрина на течение хронического гастрита у больных в пожилом возрасте / С. Ф. Шимчук // *Успехи геронтологии.* — 2005. — Вып. 16. — С. 101—104.
 19. Lahiri D. K. Age-related changes in serum melatonin in mice: higher levels of combined and 6-hydroxymelatonin sulfate in the cerebral cortex than serum, heart, liver and kidney tissues / D. K. Lahiri, Y.-W. Ge, E. H. Sharman, S. C. Bondy // *Journal of Pineal Research.* — 2004. — Vol. 36, № 4. — P. 217—223.

20. Виногардова И. А. Влияние светового режима на развитие спонтанных опухолей у самок крыс / И. А. Виноградова, А. В. Букалев, М. А. Забежинский и др. // Вопросы онкологии. — 2007. — Т. 53, № 5. — С. 554—561.
21. Губина-Вакулик Г. И. Морфологический ответ пинеальной железы старых животных на курсовое введение мелатонина / Г. И. Губина-Вакулик, Л. А. Бондаренко, А. Р. Геворкян // Успехи геронтологии. — 2009. — Т. 22, № 4. — С. 626—630.
22. Гуралюк В. М. Стрес-індуковані морфофункціональні зміни надниркових залоз за різної довжини фотоперіоду : автореф. дис. канд. мед. наук : 14.03.04 / Гуралюк Валентин Миколайович. — Одеса, 2008. — С. 17—18.
23. Чеботар Л. Д. Кардіогенні ефекти мелатоніну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини та тварин» / Л. Д. Чеботар. — Симферополь, 2010. — 21 с., вкл. обкл.
24. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная // М. : Медицина, 1977. — С. 66—68.
25. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. — М. : Медицина, 1977. — С. 63.
26. Каролук М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Каролук, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, К. Е. Токарев // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16—18.
27. Беркало Л. В. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, О. О. Гейко та ін. — Полтава, 1997. — 27 с.
28. Пахомова В. А. Способ определения активности глутатионпероксидазы в биологических тканях / В. А. Пахомова, Г. Н. Крюкова, Н. П. Козлянина и др. // А.С. 922637 СССР, МКИ в G 01. Оpubл. 23.04.1982. Биол. ИиО № 15. — 2 с.

**LARYCHEVA O. M., SEMENCHUK S. V., TSVIAKH O. O., CHEBOTAR L. D.,
TSEBRZHINSKY O. I. ***
Mykolaiv, *Poltava

EFFECT OF MELATONIN AND CONTINUOUS LIGHT ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS

In the short-term experiment, changes in the concentrations of primary and secondary products of peroxidation were observed and antioxidant enzymes in different organs had different activities. Perhaps this is due to changes in endogenous melatonin production in these organs and the use of low molecular weight antioxidants. But the long-term administration of MT with a daily dose of 1 mg/kg body weight and the concurrent light deprivation caused a similar effect in serum and all investigated organs of rats, except for the heart tissue, as under continuous light.

Keywords: Melatonin, peroxidation, antioxidant enzymes, diene conjugates, malonic dialdehyde, superoxidodismutase, catalase, glutathioneperoxidase.

**ЛАРИЧЕВА Е. Н., СЕМЕНЧУК С. В., ЦВЯХ О. А., ЧЕБОТАРЬ Л. Д.,
ЦЕРЖИНСКИЙ О. И. ***
г. Николаев, *г. Полтава

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У КРЫС

В условиях кратковременного эксперимента наблюдаются разнонаправленные реакции в крови, легких, желудке и сердце половозрелых самцов-крыс. При длительной световой экспозиции выявлено повышение уровня концентрации первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности антиоксидантных ферментов. Аналогичные эффекты наблюдались и при длительном введении мелатонина с одновременной световой депривацией.

Ключевые слова: мелатонин, перекисное окисление, антиоксидантные ферменты, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза.

Стаття надійшла до редколегії 05.04.2014