

ПОКАЗНИКИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ ЗДОРОВИХ ТВАРИН ЗА ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

Вивчено вплив мелатоніну на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу здорових тварин. Показано, що введення даного середника сприяє пригніченню активності процесів ліпопероксидації, активізації антиоксидантної ланки захисту організму та ферментів мітохондріального ланцюга, що свідчить про його виражені антиоксидантні властивості.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мелатонін, прооксидантно-антиоксидантна система, печінка.

ВСТУП. У результаті підтвердження на сьогоднішній теорії окиснювально-відновних реакцій, які лежать в основі практично всіх метаболічних і патологічних процесів, виникає необхідність більш детального вивчення ролі активних форм кисню та ендогенних антиоксидантів у здорових тварин.

Про-й антиоксидантна системи перебувають у стані динамічної рівноваги, що підтримується певною організацією плазмових і клітинних ліпідів, мембранних фосфоліпідів і холестерину, які визначають ліпідний рівень окиснюваності клітинних мембран. Порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу є потенційною передумовою розвитку оксидативного стресу. Надмірна активація вільнорадикальних процесів тягне за собою цілий каскад негативних реакцій і патологічних процесів, які лежать в основі ряду захворювань, у тому числі й печінки [4]. Тому пошук можливих ефективних та безпечних засобів з вираженою антиоксидантною дією не втрачає своєї актуальності й сьогодні.

Мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін) – гормон шишкоподібної залози, що є регулятором циркадних ритмів в організмі. Відомо, що він сильний і ефективний перехоплювач вільних радикалів [12]. Реалізація цих та інших, наприклад імуномодулюючих, тканинопротекторних, ефектів відбувається через специфічні рецептори, які локалізуються як на поверхні клітинних мембран (MT1 (M-1a, MTNR1A); MT2 (M-1b, MTNR1B); MT3 (M-1c, MTNR1C)), так і в ядрі клітини (RZR/RORa; NR1F2 (RZR/RORb)), та забезпечує різноманітність і комплексність дії даного гормону в організмі [2]. Рецептори до мелатоніну виявлено

© Я. І. Іванків, О. М. Олещук, 2015.

в різних тканинах і органах, у тому числі клітинах шлунково-кишкового тракту та печінки [3].

На відміну від більшості інших внутрішньоклітинних антиоксидантів, які локалізуються переважно в певних клітинних структурах, присутність мелатоніну й, отже, його антиоксидантну активність визначено у всіх клітинних структурах, включаючи ядро. Встановлений на сьогодні механізм антиоксидантної дії мелатоніну пов'язують з його здатністю нейтралізувати вільні радикали, знижувати рівень індукованого оксиду азоту, активувати глутатіонпероксидазу [13, 20]. Виявлено також його позитивний вплив на стан гепатоцитів та вміст глікогену [11].

Враховуючи вищенаведене, метою даного дослідження стало вивчення впливу повторного введення мелатоніну на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в крові та печінці здорових тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 25 білих щурах-самцях масою 180–200 г. Тварин утримували у віварії на стандартному раціоні. Усі втручання та евтаназію щурів проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Тварин було поділено на дві групи: 1-ша – контрольна; 2-га – дослідна. Щурам дослідної групи протягом 10 днів вводили мелатонін ("Sigma", США) внутрішньочеревно в дозі 10 мг/кг [25]. Тваринам контрольної групи вводили відповідний об'єм ізотонічного розчину. Активність

вільнорадикального окиснення ліпідів вивчали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБП) [1] та гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [5]; стан системи антиоксидантного захисту – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [21], каталази (КАТ) [14] та вмістом відновленого глутатіону (GSH) [24]; функціональний стан мітохондрій – за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) [8] і цитохромоксидази (ЦХО) [10]; рівень синтезу оксиду азоту – за вмістом його кінцевих метаболітів нітрит-аніона (NO_2^-) [22] та нітрат-аніона (NO_3^-) [9]. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Статистично достовірними вважали зміни при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених досліджень показали, що повторне введення здоровим тваринам протягом 10 днів мелатоніну супроводжувалось достовірними змінами ряду показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, які вивчали.

Як свідчать результати проведених нами досліджень, вміст ТБП у печінці та сироватці крові за введення досліджуваного середника знизився на 11,1 і 17,2 % порівняно з контрольною групою тварин. Вміст іншого продукту ліпопероксидації ГПЛ у досліджуваному органі був на 11,8 % меншим, ніж у групі здорових щурів. Показники системи оксиду азоту також достовірно знижувалися, а саме: вміст NO_2^- у печінці й сироватці крові дослідної групи тварин – на 7,7 та 11,4 %, а NO_3^- – на 8,8 і 3,4 % відповідно (табл. 1).

Вільнорадикальні сполуки являють собою молекулярні частинки, що мають непарний електрон на зовнішній орбіті й високу реакційну здатність [15]. Активні форми кисню та оксиду азоту є продуктами нормального метаболізму, проте вони діють як прооксиданти та при їх надмірному утворенні можуть спричиняти зміну

структурних і функціональних властивостей мембран, активності ферментів, модифікувати ДНК та ін. Зменшення вмісту кінцевих продуктів ліпопероксидації та оксиду азоту за введення мелатоніну можна розглядати як зниження ризику розвитку оксидативного та нітрооксидативного стресу при дії цього середника [18].

На противагу вільнорадикальним процесам в організмі існує антиоксидантна система, яка представлена ферментативною та неферментативною ланками. Ензимна її частина складається з таких ферментів, як супероксиддисмутаза, що зв'язує активні форми кисню з утворенням пероксиду водню; каталаза, яка деструктує пероксиди в ліпідні гідропероксиди; глутатіонпероксидаза, що редукує ліпідні гідропероксиди за рахунок окиснення глутатіону; глутатіонредуктаза, яка відновлює глутатіон шляхом окиснення НАДФН, останній відновлюється через цитохромний ланцюг і систему природних антиоксидантів та мелатонін [19, 23].

Вивчаючи стан системи антиоксидантного захисту за активністю каталази печінки на фоні введення мелатоніну, ми встановили її зростання на 4,1 %, а каталазна активність крові істотно не змінювалась. Також не виявлено достовірних змін активності СОД у досліджуваних середовищах. Проте слід зазначити, що введення мелатоніну супроводжувалося підвищенням вмісту GSH у крові на 11,7 % порівняно з тваринами 1-ї групи (табл. 2).

Таким чином, на підставі результатів проведених досліджень можна стверджувати, що за введення мелатоніну зазнавали активізації деякі показники ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантної системи.

На сьогодні відомо, що мелатонін – універсальний ендогенний антиоксидант, присутній в усіх клітинних структурах, включаючи ядро [6]. Його вважають ефективним перехоплювачем і нейтралізатором таких вільних радикалів, як OH^\cdot , OON^\cdot , $\text{O}^{2\cdot}$, NO^\cdot , ONOO^\cdot [7]. Окрім того, мелатонін стимулює активність антиоксидантних ферментів

Таблиця 1 – Показники ліпопероксидації, вміст нітрит- та нітрат-аніонів ($M \pm m$, $n=7$)

Показник	Група тварин	
	контрольна	дослідна
ТБП (кров), мкмоль/л	6,17±0,23*	5,11±0,16*
ТБП (печінка), мкмоль/кг	5,26±0,12*	4,67±0,12*
ГПЛ (печінка), ум. од./кг	1,99±0,05*	1,75±0,03*
NO_2^- (кров), мкмоль/л	3,69±0,10*	3,26±0,06*
NO_2^- (печінка), мкмоль/кг	1,74±0,03*	1,61±0,04*
NO_3^- (кров), мкмоль/л	8,13±0,46	7,86±0,60
NO_3^- (печінка), мкмоль/кг	9,42±0,41	8,60±0,36

Примітки. У цій та наступній таблиці:

1. n – кількість тварин у кожній групі.
2. * – вірогідність відмінностей порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Зміни показників антиоксидантної системи (M±m)

Група тварин	Показник				
	KAT (кров), кат/л	KAT (печінка), кат/кг	СОД (кров), ум. од./л	СОД (печінка), ум. од./кг	GSH (кров), ммоль/л
Контрольна	48,66±1,12	39,40±1,01	38,44±1,07	36,60±0,83	70,51±2,43*
Дослідна	49,51±1,19	41,03±0,98	39,16±0,96	37,12±0,86	78,80±1,55*

глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази. Саме це, на нашу думку, пояснює зростання вмісту відновленого глутатіону, яке ми спостерігали в нашому експерименті. 0

Відомо, що мелатонін є селективним інгібітором індукцибельної синтази оксиду азоту [16], це обґрунтовує зменшення вмісту кінцевих метаболітів оксиду азоту за його введення, яке ми отримали в даному дослідженні.

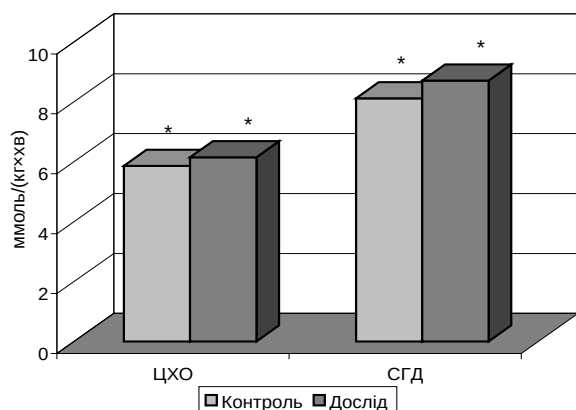


Рис. Показники активності ЦХО та СГД на 10 добу дослідження.

Десятиденне введення мелатоніну призвело до зростання активності такого компонента електронно-транспортної системи, як ЦХО, на 11,1 %, а також спостерігали підвищення активності іншого мітохондріального ферменту СГД на 6,8 % порівняно з контрольною групою тварин (рис.), що можна оцінити як активізацію мітохондріального дихання [17].

ВИСНОВКИ. 1. Мелатонін при його повторному введенні здоровим тваринам у дозі 10 мг/кг викликає пригнічення процесів ліпопероксидації як у сироватці крові, так і в печінці.

2. За введення мелатоніну спостерігають зменшення концентрації кінцевих продуктів метаболізму оксиду азоту, нітрат- та нітрит-аніонів.

3. Мелатонін у здорових тварин спричиняє активізацію каталазної активності в печінці та зростання вмісту відновленого глутатіону в сироватці.

4. За повторного протягом 10 днів введення мелатоніну активізуються процеси мітохондріального дихання.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Анисимов В. Н. Мелатонин и его место в современной медицине / В. Н. Анисимов // РМЖ. – 2006. – 14, № 4. – С. 269–273.
3. Анисимов В. Н. Мелатонин: роль в организме, применение в клинике / В. Н. Анисимов. – СПб. : Система, 2007. – 40 с.
4. Вільнорадикальне окислення і антиоксидантна система в серцево-судинній патології / А. А. Трохимович, А. А. Кишко, Я. І. Сливка, О. Т. Ганич // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". – 2011. – Вип. 2. – С. 361–364.
5. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
6. Давидова Н. В. Вплив препарату "Віта-Мелатонін" на стан про- та антиоксидантної системи крові щурів за умов ерозивно-виразкового ураження гастродуоденальної зони / Н. В. Давидова, І. Ф. Мецишен // Буковин. мед. вісн. – 2012. – 16, № 1 (61). – С. 123–125.

7. Дорогой А. П. Мелатонін – основний гормон передньої долі епіфізу (шишкоподібної залози) / А. П. Дорогой // Укр. кардіол. журн. – 2006. – № 99. – С. 105.
8. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–210.
9. Кіселик І. О. Особливості визначення нітратів та нітритів у крові хворих на вірусні гепатити та жовтяниці іншої етіології / І. О. Кіселик, М. Д. Луцик, Л. Ю. Шевченко // Лаб. діагностика. – 2001. – № 3. – С. 43–45.
10. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
11. Кушнір О. Ю. Вплив мелатоніну на гістохімічні особливості розподілу глікогену в клітинах печінки алоксандіабетичних щурів / О. Ю. Кушнір, І. С. Давиденко // Галицький лікар. вісн. : Наук.-практ. часопис. – 2010. – 17, № 2. – С. 53–57.
12. Левин Я. И. Мелатонин (Мелаксен) в неврологической практике / Я. И. Левин // Consilium medicum. – 2012. – № 2. – С. 111–115.

13. Мелатонин в норме и патологии / под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Комарова, С. И. Рапопорта, Н. К. Малиновской, В. Н. Анисимова. – М. : ИД Медпрактика, 2004. – 308 с.
14. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
15. Нагорная Н. В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки [Электронный ресурс] / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик // Здоровье ребенка. – 2010. – № 2 (23). – Режим доступа к журн. : <http://www.mif-ua.com/archive/article/12762>.
16. Олещук О. М. Блокада синтеза оксиду азота при экспериментальному цирозі / О. М. Олещук, К. А. Посохова, А. Є. Мудра // Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакологічної корекції : матеріали конф. // Мед. хімія. – 2011. – 13, № 4 (49). – С. 197.
17. Олещук О. М. Роль системи оксиду азоту в патогенезі уражень печінки різного ґенезу : дис. ... доктора мед. наук : 14.03.04 / Олещук О. М. – Тернопіль, 2013. – 412 с.
18. Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму / І. А. Особа // Рибогосподарська наука України. – 2009. – № 1. – С. 133–139.
19. Перекисне окислення ліпідів в нормі і патогенезі різних захворювань : з. наук. праць / за ред. М. І. Агаджаківа. – Єреван : Айастан, 2008. – 230 с.
20. Регуляція антиоксидантного гомеостаза і системи детоксикації організму гормоном мелатоніном. Роль мелатонин-зависимих рецепторів в реалізації цієї функції / І. Ф. Беленичев, Ю. І. Губський, Е. Л. Левицький [и др.] // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 2. – С. 2–16.
21. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
22. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / I. C. Green, A. W. Davie, J. Golawski [et al.] // Anal. Biochem. – 1982. – 126, № 1. – P. 131–138.
23. Arendt J. Melatonin as a chronobiotic / J. Arendt // Sleep Med. Rev. – 2005. – 1, № 9. – P. 25–39.
24. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.
25. Melatonin prevents disruption of hepatic reactive oxygen species metabolism in rats treated with carbon tetrachloride / Y. Ohta, M. Kongo-Nishimura, T. Matura [et al.] // J. Pineal Res. – 2004. – 36. – P. 10–17.

Я. І. Іванків, А. М. Олещук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОКАЗАТЕЛИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕЛАТОНИНА

Резюме

Изучено влияние мелатонина на показатели прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза здоровых животных. Показано, что введение данного средства способствует подавлению активности процессов липопероксидации, активизации антиоксидантного звена защиты организма и ферментов митохондриальной цепи, что свидетельствует о наличии его в выраженных антиоксидантных свойств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мелатонин, прооксидантно-антиоксидантная система, печень.

Ya. I. Ivankiv, O. M. Oleshchuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INDICATORS OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS OF HEALTHY ANIMALS UNDER THE INTRODUCTION OF MELATONIN

Summary

The effect of melatonin on parameters of prooxidant-antioxidant homeostasis of healthy animals has been studied. It is shown that the introduction of the agent promotes the inhibition of lipid peroxidation processes, enhance antioxidant protecting the body and link mitochondrial enzymes chain, it's suggests about its evidence antioxidant properties.

KEY WORDS: melatonin, prooxidant-antioxidant system, liver.

Отримано 19.03.15

Адреса для листування: О. М. Олещук, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: oleksandrao@ukr.net.