

## ВПЛИВ СВІТЛОВОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ІЗ ПЛЕВРИТОМ

*В експериментах на щурах-самцях доведено, що за умов плевриту, індукованого карагінаном, та не тривалого дефіциту мелатоніну достовірно зростає рівень активних форм оксигену і продуктів пероксидації ліпідів у легенях.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мелатонін, активні форми оксигену, пероксидне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Використання штучного освітлення кардинально змінило як світловий режим, так і тривалість впливу світла на людину. Дія світла вночі стала суттєвою частиною сучасного способу життя, що супроводжується багатьма серйозними розладами стану здоров'я [1, 8, 12, 13]. Вважають, що порушення циклічності продукування мелатоніну порушує гормональний баланс, знижує захисні резерви організму, прискорює процес його старіння і розвиток патологій. Згідно з гіпотезою "циркадіанної деструкції" [14], пусковим механізмом патологічних змін, що виникають в організмі людини за дії світла в нічний час, є порушення добових ритмів організму, пригнічення нічної секреції мелатоніну епіфізом, що призводить до зниження його концентрації у крові [15].

Метою роботи було з'ясувати вплив нестачі мелатоніну на тлі плевриту на показники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах легень щурів за умов короткотривалого експерименту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 220–260 г, яких утримували у стандартних умовах віварію Миколаївського національного університету імені В. О. Сухомлинського.

Тварин було поділено на 4 групи по 7 щурів у кожній: інтактна група, 10-добова гіпофункція епіфіза, карагінановий плеврит, 10-добова гіпофункція епіфіза на тлі карагінанового плевриту.

© О. М. Ларичева, 2016.

Гіпофункцію епіфіза моделювали шляхом цілодобового освітлення лампами денного світла інтенсивністю 1500 Лк [11].

Для створення моделі неімунного гострого запалення використовували 1 % розчин карагану ("Sigma", США) [7]. Експериментальний плеврит було індуковано в анестезованих тварин шляхом внутрішньоплевральної ін'єкції 0,1 мл карагану. Розчин вводили на 8-му добу експерименту, а через 48 год здійснювали евтаназію щурів.

Продукцію активних форм оксигену (АФО) оцінювали за вмістом супероксиду. Продукцію супероксиду в гомогенатах тканин визначали за реакцією з нітросинім тетразолієм під впливом НАДН, НАДФН та пірогеналу [10].

Для оцінки інтенсивності процесів пероксидації в гомогенатах досліджуваних органів визначали вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ: дієнових (ДК), оксидієнових (ОДК) і трієнових кон'югатів (ТК) та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП). Концентрацію ДК визначали за методом І. Д. Стальної (1977) [9], ТБК-АП – за методом І. Д. Стальної, Т. Г. Гарішвілі (1977) за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою [9], ТК та ОДК – за модифікованою методикою з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції [6].

Статистичну обробку проводили за допомогою програми Microsoft Office Excel 2003.

Перевірку на нормальний розподіл проводили з використанням критерію W Шапіро–Уїлка. Достовірність різниці між групами з нормальним розподілом ознак оцінювали із застосуванням t-критерію Стьюдента. При порівнюванні двох

груп з вільним розподілом ознак використовували непараметричний U-критерій Уїлкоксона (Манна–Уїтні). Розходження вважали статистично значущими при  $p < 0,05$  [2, 3].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати проведеного дослідження вказують на те, що внаслідок короткотривалої нестачі мелатоніну в легеневій тканині тварин достовірно зростає рівень супероксиду: на 63,3 % ( $p < 0,01$ ) – від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга (ЕТЛ), на 43,9 % ( $p < 0,01$ ) – від мікросомального ЕТЛ та на 42,3 % ( $p < 0,01$ ) – від фагоцитів порівняно з даними інтакту (табл. 1).

Відтворення плевриту призвело до гіперпродукування супероксиду в легеневій тканині щурів при індукції НАДН на 62,7 % ( $p < 0,001$ ), НАДФН – на 50,1 % ( $p < 0,001$ ), пірогенамом – на 25,5 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактних тварин.

Внаслідок комплексної дії світла та карагінану також активувалися всі три джерела генерації супероксиду. За умов експерименту спостерігали зростання рівня супероксидного радикала: внаслідок стимуляції мітохондріального окиснення – на 117,5 % ( $p < 0,001$ ), мікросомального – на 57,3 % ( $p < 0,001$ ) та фагоцитів – на 34,6 % ( $p < 0,001$ ). Експериментальні дані свідчать про те, що при 10-добовій гіпофункції епіфіза на тлі плевриту основним джерелом продукування супероксидного аніон-радикала є мітохондріальний ЕТЛ, оскільки у тварин експериментальної групи його вміст збільшився на 33,2 % ( $p < 0,01$ ) порівняно зі щурами з короткотривалою гіпофункцією та на 33,7 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з карагінановими тваринами.

Таким чином, отримані нами результати вказують на те, що нестача мелатоніну впродовж 10 діб сприяє активації утворення супероксид-

аніона в легеневій тканині, причому за умов плевриту найбільшу потужність проявляє мітохондріальний ланцюг окиснення. Супероксид ініціює та продовжує ланцюг вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів (ВРПО), є джерелом інших АФО.

Короткотривала світлова експозиція не викликала зміни концентрації первинних продуктів ПОЛ у легеневій тканині тварин. У щурів із плевритом спостерігали зростання концентрації ДК на 31,9 % ( $p < 0,05$ ), а за дії освітлення – на 21 % ( $p < 0,05$ ) відносно інтактних тварин (табл. 2). Рівень ОДК і ТК за комплексної дії світла та плевриту знизився на 38,6 % ( $p < 0,05$ ) і 50,8 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. При цьому інтенсивність утворення ТБК-АП у гомогенаті досліджуваних органів збільшилася у всіх експериментальних групах: у 1-й – на 22,2 % ( $p < 0,05$ ), у 2-й – на 21,3 % ( $p < 0,001$ ), у 3-й – на 96,6 % ( $p < 0,001$ ).

Збільшення утворення вільних радикалів в організмі й посилення процесів пероксидації ліпідів пов'язані між собою і супроводжуються рядом порушень властивостей біологічних мембран і функціонування клітини внаслідок окиснення тіолових груп мембранних білків та ферментів, збільшення йонної проникності ліпідного бішару, роз'єднання окиснення і фосфорилування в мітохондріях, зменшення стабільності ліпідного шару, що може призвести до електричного пробоя мембрани власним мембранним потенціалом та повної втрати мембраною її бар'єрних функцій [4].

Наші дані свідчать про те, що в легенях щурів із плевритом та короткотривалим дефіцитом мелатоніну відбувається більш виражена активація процесів пероксидації, ніж при гіпофункції епіфіза та плевриті окремо.

Таблиця 1 – Вміст і джерела генерації супероксидного аніон-радикала в гомогенаті легень щурів за умов короткотривалої гіпофункції епіфіза та плевриту ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Показник	Група			
	інтакт	10-добова гіпофункція епіфіза	карагінановий плеврит	10-добова гіпофункція епіфіза на тлі плевриту
$\cdot O_2^-$ від мітохондріального ЕТЛ (нмоль $\cdot O_2^- / г \cdot с$ ), індукованого НАДН	19,900 $\pm$ 0,224	32,500 $\pm$ 1,685 $p_1 < 0,01$	32,382 $\pm$ 0,752 $p_1 < 0,001$	43,288 $\pm$ 2,548 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$
$\cdot O_2^-$ від мікросомального ЕТЛ (нмоль $\cdot O_2^- / г \cdot с$ ), індукованого НАДФН	21,000 $\pm$ 0,845	30,220 $\pm$ 1,405 $p_1 < 0,01$	31,525 $\pm$ 1,846 $p_1 < 0,001$	33,040 $\pm$ 1,124 $p_1 < 0,001$
$\cdot O_2^-$ від фагоцитів тканин (нмоль $\cdot O_2^- / г \cdot с$ ), індукованих пірогенамом	4,018 $\pm$ 0,090	5,716 $\pm$ 0,400 $p_1 < 0,01$	5,044 $\pm$ 0,360 $p_1 < 0,001$	5,408 $\pm$ 0,259 $p_1 < 0,001$

Примітка. Статистично вірогідно порівняно з  $p_1$  – інтактною групою; з  $p_2$  – гіпофункцією епіфіза; з  $p_3$  – карагінановим плевритом.

Таблиця 2 – Біохімічні параметри ВРПО у легенях щурів за умов короткотривалої гіпофункції епіфіза та плевриту ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Показник	Група			
	інтакт	10-добова гіпофункція епіфіза	карагінановий плеврит	10-добова гіпофункція епіфіза на тлі плевриту
ДК, ммоль/кг	10,140±0,810	9,723±0,316	13,370±1,160 $p_1 < 0,05$	12,270±0,424 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
ТК, мкмоль/кг	216,757±43,374	151,669±27,872	238,787±23,902	106,560±23,478 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,001$
ОДК, мкмоль/кг	531,231±71,307	398,334±37,938	628,453±51,621	326,107±41,740 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,001$
ТБК-АП, мкмоль/г	8,423±0,354	10,290±0,692 $p_1 < 0,05$	10,220±0,170 $p_1 < 0,001$	16,560±1,098 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$

Примітка. Статистично вірогідно порівняно з  $p_1$  – інтактною групою; з  $p_2$  – гіперфункцією епіфіза; з  $p_3$  – карагінановим плевритом.

**ВИСНОВОК.** При індукованому карагінаном плевриті короткотривала нестача мелатоніну зумовила зміни у прооксидантному балансі в бік

активації ВРПО, зокрема зростання рівня супероксидного аніон-радикала внаслідок мітохондріального ланцюга окиснення і ТБК-АП у легенях щурів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Анисимов В. Н. Эпифиз, свет и рак молочной железы / В. Н. Анисимов, Д. А. Батулин, Э. К. Айла-мазан // Вопр. онкологии. – 2002. – **48**. – С. 524–535.
2. Атраментова Л. О. Біометрія. Ч. I. Характеристики розподілів : підручник / Л. О. Атраментова, О. М. Утевська. – Х. : Ранок, 2007. – 176 с.
3. Атраментова Л. О. Біометрія. Ч. II. Порівняння груп та аналіз зв'язку : підручник / Л. О. Атраментова, О. М. Утевська. – Х. : Ранок, 2007. – 176 с.
4. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
5. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соросовский Образовательный Журн. – 2000. – № 12. – С. 13–19.
6. Параніч А. В. Захисний ефект вітаміну Е при тотальній ішемії ізольованих органів щурів / А. В. Параніч, Ю. С. Юхнин // Физиол. журн. – 1993. – **39**, № 1. – С. 97–101.
7. Руководство по иммунофармакологии / под ред. М. М. Дейла, Дж. К. Формена ; пер. с англ. – М. : Медицина, 1998. – 332 с.
8. Световой режим, старение и рак // Сб. науч. трудов II Росс. симп. с междунар. участием (Петрозаводск, 17–19 окт. 2013 г.). – Киров : МЦНИП, 2013. – 336 с.
9. Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – 392 с.
10. Цебржинский О. И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О. И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2002. – **2**, вип. 1. – С. 96–97.
11. Чеботар Л. Д. Кардіогенні ефекти мелатоніну : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Л. Д. Чеботар. – Сімферополь, 2010. – 21 с.
12. Ha M. Shiftwork and metabolic risk factors of cardiovascular disease / M. Ha, J. Park // Journal of Occupational Health. – 2005. – **47**. – P. 89–95.
13. Jasser S. A. Light during darkness and cancer: relationships in circadian photoreception and tumor biology / S. A. Jasser, D. E. Blask, G. C. Brainard // Cancer Causes Control. – 2006. – **17**. – P. 515–523.
14. Stevens R. G. Circadian disruption and breast cancer. From melatonin to clock genes / R. G. Stevens // Epidemiology. – 2005. – **16**, № 2. – P. 254–258.
15. Stevens R. G. Artificial lighting in the industrialized world: circadian disruption and breast cancer / R. G. Stevens // Cancer Causes Control. – 2006. – **17**. – P. 501–507.

## ВЛИЯНИЕ СВЕТЛОВОЙ ЭКСПОЗИЦИИ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЛЕГКИХ КРЫС С ПЛЕВРИТОМ

### Резюме

*В экспериментах на крысах-самцах доказано, что в условиях плеврита, индуцированного карагеном, и кратковременного дефицита мелатонина достоверно увеличивается уровень активных форм кислорода и продуктов перекисидации липидов в легких.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мелатонин, активные формы кислорода, пероксидное окисление липидов.

О. М. Larycheva  
V. SUKHOMLYNSKYI MYKOLAYIV NATIONAL UNIVERSITY

## THE INFLUENCE OF LIGHT EXPOSURE ON FREE RADICAL PROCESSES IN THE LUNGS OF RATS WITH PLEURISY

### Summary

*The experiments on male rats demonstrated that under the conditions of pleurisy induced by carrageenan and short melatonin deficit, a significant increase in the level of reactive oxygen species and products of lipid peroxidation in the lungs takes place.*

KEY WORDS: melatonin, reactive oxygen species, lipid peroxidation.

Отримано 19.07.16

Адреса для листування: О. М. Ларичева, Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського, вул. Нікольська, 24, Миколаїв, 54030, Україна.