

К.С. Непорада, Н.М. Слободяник, В.М. Слободяник  
УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

## МЕХАНІЗМИ СТРЕСПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ НА ПІДШЛУНКОВУ ЗАЛОЗУ ЗАЛЕЖНО ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ

*В експериментах на щурах-самцях лінії Вістар доведено, що ступінь розвитку патологічних змін у підшлунковій залозі за умов гострого стресу залежить від індивідуально-типологічних особливостей тварин. Встановлено, що меланін проявляє стреспротекторну дію на підшлункову залозу, а саме попереджує розвиток цитолітичного синдрому, ендогенної токсемії та нормалізує стан NO-ергічної системи.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксидативний стрес, стресостійкість, оксид азоту, меланін.

**ВСТУП.** Сучасне суспільство характеризується зростанням розповсюдженості “хвороб цивілізації”, в патогенезі яких ключову роль відіграє емоційний стрес [3]. При цьому хронічні негативні впливи на організм людини за умов техногенного пресингу, соціальної нестабільності, напруженого ритму життя можуть бути основними етіологічними факторами розвитку захворювань, зокрема органів системи травлення. За останні 30 років у світі вдвічі збільшилась кількість хворих на хронічний панкреатит, а первинна інвалідизація складає 15 % [9]. Захворюваність на хронічний панкреатит в Україні становить 3–9 випадків на 100 тисяч населення і продовжує зростати [2]. За умов хронічного стресу знижуються резервні можливості організму, здатність до адаптації і підтримання гомеостазу відбувається завдяки напруженню регуляторних систем. Усе це сприяє пошуку адаптогенів природного походження як стреспротекторних препаратів. Серед них особлива увага приділяється поліфенольним сполукам, які мають багато властивостей. До поліфенольних сполук відносять меланіни різноманітного походження. Меланіни – це полімери фенольних сполук, колір і захисні функції яких зумовлені багато в чому наявністю неспарених електронів. Раніше проведені дослідження переконливо підтвердили протекторні властивості меланіну, отриманого з чорнильних сумок морських тварин *Ommastrephes batrami* Lesuel [13], березового гриба чаги [10], винограду [8], чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* var. *hesuelica* [6]. Меланіни володіють радіо- і фотопротекторними, протипухлинними, імуномодулюючими, нейролептичними, гепатопротекторними, антиоксидантними властивостями.

© К.С. Непорада, Н.М. Слободяник, В.М. Слободяник, 2011.

Метою даної роботи було вивчення впливу меланіну на підшлункову залозу тварин за умов гострого стресу залежно від індивідуально-типологічних особливостей організму.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти виконано на 83 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г з дотриманням біоетичних норм відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом фіксації тварин на спині протягом 3 год [7]. Стресостійкість щурів визначали за допомогою нейроетологічного тесту “Відкрите поле”, аналізуючи перемінні та поділяючи тварин на групи (табл. 1). Тест проводили протягом 6 хв, враховуючи такі перемінні: латентний період першого переміщення, час у центрі майданчика, кількість пересічених квадратів, кількість вертикальних стійок, кількість виходів у центр майданчика, кількість вмивань та кількість болюсів. До стресостійких відносили тварин, в яких були висока швидкість адаптації, низькі показники дослідницько-рухової активності й вегетативного балансу. До стресонестійких належали щури з низькою швидкістю адаптації, високими показниками дослідницько-рухової активності й вегетативного балансу [5]. Забій тварин здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. Об'єктами досліджень були підшлункова залоза і кров тварин, в яких визначали вміст молекул середньої маси [1], активність  $\alpha$ -амілази (КФ: 3.2.1.1) (набір “ $\alpha$  – Амілаза”, “Філісіт – Діагностика”, Україна), ліпази (КФ: 3.1.1.3) [4], NO-синтази (КФ: 1.14.13.39) [12], вміст нітрит-аніона [12]. За 30 хв до моделювання гострого стресу щурам інтрагастрально через зонд вводили меланін у дозі 5 мг/кг. Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики.

Таблиця 1 – Поділ тварин на групи з використанням нейроетологічного тесту “Відкрите поле” (M±m)

Група тварин	Перемінна						
	рухова активність та дослідницька поведінка			швидкість адаптації		показник вегетативного балансу	
	кількість виходів у центр майданчика	горизонтальна активність (кількість квадратів)	кількість стійок (rearing)	час у центрі майданчика, с	латентний період першого переміщення, с	кількість вмивань (grooming)	кількість болюсів
Стресостійкі (n=22)	0,64±0,16	99,73±6,65	12,86±1,53	0,82±0,08	0,51±0,03	1,93±0,46	0,27±0,19
Помірно стійкі (n=39)	0,69±0,19	121,95±8,12	13,49±1,13	3,13±0,52	0,59±0,03	2,08±0,41	2,33±0,31
Стресонестійкі (n=22)	1,00±0,22	144,50±8,01	18,32±1,63	2,77±0,61	0,70±0,11	4,05±0,81	5,23±0,48
P <sub>1-3</sub>	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
P <sub>1-2</sub>	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05
P <sub>2-3</sub>	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Примітка. У цій та інших таблицях: n – кількість тварин.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Для оцінки цитолітичного синдрому підшлункової залози використовували індикаторні ферменти, до яких відносять ліпазу та амілазу. Нами встановлено, що за умов гострого стресу активність ліпази й амілази достовірно зросла у підшлунковій залозі стресонестійких тварин порівняно

з контролем (табл. 2, 3). Попереднє введення меланіну до моделювання гострого стресу попереджувало цитоліз клітин підшлункової залози, про що свідчило вірогідне зниження активності ліпази та амілази у тварин дослідних груп порівняно зі щурами, які до стрес-синдрому не отримували корекції (табл. 2, 3).

Таблиця 2 – Активність ліпази в підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/хв·г (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	13,11±3,79 (n=7)	4,05±1,51 (n=6)
Гострий стрес	14,86±6,19 (n=8)	22,75±8,09* (n=6)
Меланін+гострий стрес	9,18±7,54 (n=5)	1,65±0,63** (n=5)
Меланін	9,55±2,50 (n=6)	7,52±2,05 (n=6)

Примітка. У цій і таблицях 3, 4, 6: \* – P<sub>1-2</sub><0,05; \*\* – P<sub>2-3</sub><0,05.

Таблиця 3 – Активність α-амілази в підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, г/год·г (M±m)

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	21,48±0,09 (n=6)	20,7±0,24 (n=8)
Гострий стрес	21,53±0,25 (n=5)	21,88±0,35* (n=5)
Меланін+гострий стрес	20,65±0,14** (n=5)	19,84±0,44** (n=7)
Меланін	19,04±0,49 (n=6)	18,50±0,71 (n=6)

Таким чином, меланін є ефективним стрес-протекторним препаратом, про що свідчить достовірне зменшення в підшлунковій залозі активності індикаторних ферментів при гострому стресі.

Універсальним показником, що відображає ступінь ендогенної інтоксикації, є молекули середньої маси [1]. Нами встановлено, що при гострому стресі в сироватці крові стресонестійких тварин вірогідно в 1,52 раза збільшився вміст молекул середньої маси порівняно з

відповідним контролем. Введення меланіну за 30 хв до моделювання гострого стресу сприяло достовірному зниженню вмісту молекул середньої маси у сироватці крові стресостійких тварин та в 1,52 раза у стресонестійких щурів порівняно з контролем без корекції (табл. 4).

Таким чином, меланін попереджує розвиток ендогенної інтоксикації за умов стрес-синдрому, про що свідчить достовірне зниження вмісту в крові молекул середньої маси.

Таблиця 4 – **Вміст середніх молекул у сироватці крові щурів з різною стресостійкістю, ум. од. (M±m)**

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	0,19±0,02 (n=7)	0,21±0,01 (n=8)
Гострий стрес	0,20±0,01 (n=7)	0,32±0,05* (n=7)
Меланін+гострий стрес	0,075±0,06**(n=3)	0,21±0,09 (n=3)

Останнім часом дослідники приділяють багато уваги NO-ергічній системі, що виконує різноманітні функції і дисбаланс якої відіграє ключову роль у розвитку багатьох захворювань. Доведено, що одним із механізмів захисної дії меланіну на слизову оболонку шлунка при стресі є збільшення експресії ендотеліальної NO-синтази і збільшення продукції оксиду азоту – вазодилатора, що нормалізує кровопостачання за умов вазоконстрикторної дії стрес-синдрому [11].

Оксид азоту синтезується декількома ізоформами NO-синтаз, серед яких виділяють конститутивні та індукційні. Конститутивні ізоформи – нейрональна та ендотеліальна NO-

синтази – експресуються постійно, а індукційна NO-синтаза експресується за умов дії регуляторних факторів, важливими з яких є прозапальні цитокіни, компоненти бактеріальних мембран. Багато дослідників довело збільшення продукції оксиду азоту, який сприяє розвитку патологічних змін саме за рахунок експресії індукційної NO-синтази, тоді як роль конститутивних форм – протекторна.

Нами встановлено, що за умов гострого стресу в підшлунковій залозі виникав дисбаланс NO-ергічної системи, про що свідчило зниження рівня нітрит-аніона, яке сприяло активації вазоконстрикторних впливів і порушенню кровопостачання (табл. 5, 6).

Таблиця 5 – **Активність NOS у підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/г·хв (M±m)**

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	3,35±0,92 (n=7)	4,69±2,62 (n=7)
Гострий стрес	5,05±0,78 (n=6)	3,58±1,17 (n=8)
Меланін+гострий стрес	1,32±0,41* (n=5)	1,69±0,43 (n=7)
Меланін	1,19±0,61 (n=6)	0,75±0,32 (n=6)

Примітка. \* –  $P_{2-3} < 0,05$ .

Таблиця 6 – **Вміст нітрит-аніона в підшлунковій залозі щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/г (M±m)**

Група тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
Контроль	8,01±1,74 (n=8)	6,87±0,64 (n=7)
Гострий стрес	6,07±0,89 (n=8)	5,01±0,54* (n=5)
Меланін+гострий стрес	6,73±0,59 (n=5)	8,30±1,11** (n=7)
Меланін	4,33±0,71 (n=6)	6,12±1,95 (n=6)

Попереднє введення меланіну до розвитку гострого стресу сприяло вірогідному збільшенню вмісту нітрит-аніона в підшлунковій залозі стресонестійких тварин порівняно зі щурами, яким моделювали гострий стрес без корекції (табл. 6).

Таким чином, меланін сприяє нормалізації NO-ергічної системи підшлункової залози при гострому стресі, збільшуючи рівень нітрит-аніона – кінцевого продукту оксиду азоту, що володіє судинорозширювальними властивостями.

**ВИСНОВКИ.** 1. Ступінь розвитку стресіндукованих ушкоджень підшлункової залози

щурів залежить від індивідуально-типологічних особливостей організму. В стресостійких тварин, порівняно зі стресостійкими, розвиток патологічних змін був максимальним, про що свідчать достовірне збільшення показника ендогенної інтоксикації, розвиток цитолітичного синдрому і гіперферментемії.

2. Меланін проявляє виражену стреспротекторну дію на підшлункову залозу, про що свідчать попередження стресіндукованого цитолітичного синдрому, зниження ендогенної інтоксикації і нормалізація NO-ергічної системи.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Габриэлян Н. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н. И. Габриэлян, В. И. Липатова // Лаб. дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.
2. Губергриц Н. Б. Место фамотицина в лечении хронического панкреатита / Н. Б. Губергриц, К. Н. Слесарева // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 2. – С. 72–80.
3. Кундиев Ю. И. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ / Ю. И. Кундиев, В. В. Кальниш, А. М. Нагорная // Журн. АМН України. – 2002. – 8, № 2. – С. 335–345.
4. Лабораторные методы исследования в клинике / [Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др.]; под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
5. Майоров О. Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук: спец. 14.00.07 “Нормальная физиология” / О. Ю. Майоров. – М., 1988. – 45 с.
6. Савицкий Я. М. Влияние меланина на секреторную функцию желудка, процессы цитопroteкции та моторику проксимального відділу травної системи: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.03 “Нормальна фізіологія” / Я. М. Савицкий. – 2002. – 20 с.
7. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
8. Фармакологические свойства эномеланиновых пигментов / Ю. Л. Жеребин, Н. А. Бондаренко, С. Ю. Махан [и др.] // Доклады АМН Укр. ССР. – 1984. – № 3. – С. 64–68. – (Серия Б “Геологические, химические и биологические науки”).
9. Філіпов Ю. О. Сучасні уявлення про патогенетичні аспекти хронічного панкреатиту (огляд літератури) / Ю. О. Філіпов, О. О. Крилова // Журн. АМН України. – 2008. – 14, № 4. – С. 651–664.
10. Химические и фармакологические свойства сухого экстракта чаги / Г. Л. Рыжова, С. С. Кравцова, С. А. Матасова [и др.] // Химико-фармац. журн. – 1997. – 31, № 10. – С. 44–47.
11. Чижанська Н. В. Дослідження механізмів антистресової дії меланіну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук.: спец. 03.00.13 “Фізіологія людини і тварин” / Н. В. Чижанська. – К., 2008. – 17 с.
12. Hevel I. M. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase / I. M. Hevel // J. Biol. Chem. – 1991. – 266, № 34. – P. 22789–22791.
13. Studies on Biological Activities of Melanin from Marine Animals. IV. Influence of Fr. SM II (Squid melanin) on a High Molecular Glycoprotein (Peak I) Level in Rat Gastric Mucosa, and Properties of Peak I as a Gastric Mucosal Defencive Factor / T. Mimura, K. Maeda, Y. Oda [et al.] // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). – 1985. – 33, № 5. – P. 2061–2068.

**К.С. Непорада, Н.Н. Слободяник, В.М. Слободяник**  
УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

## МЕХАНИЗМЫ СТРЕССПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕЛАНИНА НА ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА

### Резюме

В экспериментах на крысах-самцах линии Вистар доказано, что выраженность патологических изменений в поджелудочной железе в условиях острого стресса зависит от индивидуально-типологических особенностей животных. Установлено, что меланин обладает стресспротекторным действием на поджелудочную железу, а именно предупреждает развитие цитолитического синдрома, эндогенной токсемии и нормализует состояние NO-эргической системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **оксидативный стресс, стрессоустойчивость, оксид азота, меланин.**

**K.S. Noporada, N.M. Slobodianyuk, V.M. Slobodianyuk**  
UKRAINIAN MEDICAL DENTAL ACADEMY, POLTAVA

## MECHANISMS OF STRESS-PROTECTIVE MELANIN ACTION ON PANCREAS IN DEPENDENCE OF ORGANISM STRESS-RESISTANCE

### Summary

In experiments of rats-males of Wistar line it has been proved, that the level of development of pathological changes in pancreas under conditions of acute stress depends on individual typological peculiarities of animals. We have determined, that melanin manifests stress-protective action on pancreas, in particular prevents the development of cytolytic syndrome, endogenous toxemia and normalises the condition of NO-ergic system.

KEY WORDS: **oxidative stress, stress-resistance, nitrogen oxide, melanin.**

Отримано 06.12.10

Адреса для листування: К.С. Непорада, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36024, Україна.