

ODD VISCERAL BRANCHES OF THE ABDOMINAL PART OF THE AORTA AT EARLY STAGES OF HUMAN PRENATAL DEVELOPMENT

I. G. Biriuk

Abstract. We studied 42 corpses of human embryos and prefetuses by means of a complex of morphologic methods of investigation. The data dealing with the term of the primordium and development of odd visceral branches of the aorta at early stages of human ontogenesis are adduced in the article (fetuses, prefetuses).

Key words: celiac trunk, mesenteric arteries.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 7.07.2000 року

УДК 616. 34 – 001. 8: 577. 1

О.В.Бойко, В.Ф.Мислицький, Ю.Є.Роговий

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ФОТОПЕРІОДИЧНУ АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДОВАЛЬНОЇ ТА ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМ У КИШЕЧНИКУ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ГІПОКСИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ

Кафедра патофізіології та біологічної фізики (зав.- проф. В.Ф.Мислицький)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. У досліджах на 60 статевонезрілих білих щурах самцях встановлено зростання активності глутатіонпероксидази в кишечнику за постійної темряви, у порівнянні з відповідними групами тварин, які знаходилися в умовах постійного світла. Гормон “темряви” мелатонін призводив до підвищення активності глутатіонпероксидази (ГПО) при постійному освітленні як у інтактних тварин, так і тих, що зазнали впливу гострої гіпоксії. Аналогічні тенденції виявлені в тканинах кишечника при введенні мелатоніну за постійної темряви. У шлунку щурів встановлені позитивні кореляційні зв'язки між активністю ГПО та фібринолітичною активністю, ГПО та активністю супероксиддисмутази (СОД), ГПО та каталазою (КТ). Введення мелатоніну за постійної темряви з наступним моделюванням гострої гіпоксії виявило у шлунку тварин негативний кореляційний зв'язок між рівнем активності ГПО та лізисом азоказеїну.

Ключові слова: глутатіонпероксидаза, мелатонін, гіпоксія.

Вступ. Центральною патогенетичною ланкою розвитку пошкоджень у клітинах при дефіциті кисню є порушення енергетичного обміну, що носить фазовий характер, і починається з інактивації електронтранспортної функції дихального ланцюга на НАД - залежній ділянці, розповсюджуючись далі в зону цитохромів (в → с₁). Це сприяє зростанню радикальної активності у мітохондріях внаслідок “гіперактивації” окиснення бурштинової кислоти та швидкої ксантиноксидазної конверсії і супроводжується утворенням великої кількості супероксидного аніон-радикалу, пероксиду водню та гідроксильного радикалу. Надлишок вільних радикалів протягом 10 хв призводить до пошкодження мембран, набряку мітохондрій, кальцієвого парадоксу. Внаслідок цього мітохондрії втрачають убіхінон та цитохром С, що призводить до зниження окиснення енергосубстратів, посилення утворення вільних радикалів та ще більшого зруйнування біомембран [3].

Крім того, гостра гіпоксія як сильний стресовий фактор, супроводжується зростанням у крові ряду гормонів (адреналіну, глюкагону, вазопресину, ангіотензину-II), що викликає різке вивільнення іонів Ca^{+2} із внутрішньоклітинних компартментів та накопичення їх у цитозолі, наступну активацію фосфоліпаз та посилення окиснення арахідонової кислоти з вивільненням її вазоактивних метаболітів. Як наслідок, пригнічується тканинне дихання, знижується утворення АТФ та співвідношення АТФ/АДФ, зростає НАД-Н/НАД.

Адаптація до фотоперіодичних змін направлена на підвищення стійкості організму до несприятливих умов середовища. Ці модулюючі ефекти різної довжини фотоперіоду в розвитку захисно-приспосувальних реакцій реалізуються завдяки мелатоніну, який за будовою є індоламіном, а за функцією – гормональним месенджером. Дослідження останніх років виявили чітку хроноритмологічну залежність активності процесів вільнорадикального окиснення [6]. Крім того, з літературних джерел відомо про антигіпоксанти ефекти індолілакіламінів, що пояснюється їх здатністю захоплювати вільні радикали та переривати ланцюгові реакції пероксидації [1]. Можливо припустити, що в різних стресових умовах, зокрема за гострої гіпоксії, організм використовує захисно-компенсаторні реакції, які складають основу адаптації до фотоперіодичних змін. Це підтверджують дослідження, які виявили антиоксидантні властивості мелатоніну [8].

Мета дослідження. Встановити фотоперіодичні зміни активності ферментів антиокиснювальної системи в кишечнику за умов гострої гіпоксії та в'яснити роль мелатоніну як можливого засобу патогенетичної корекції виявлених змін.

Матеріал і методи. Експеримент проводили на 60 статевозрілих, віком 6-6,5 тижнів, самцях безпородних білих щурів масою 70 - 80 г. Фотоперіодичні зміни в організмі тварин моделювали впродовж одного тижня за допомогою двох режимів: цілодобове освітлення та цілодобова темрява. За два тижні до моделювання гострої гіпоксії визначали чутливість тварин до гіпоксії і в подальшому використовували лише середньостійких тварин. Мелатонін, розведений в 0,1%-ному розчині етанолу, вводили внутрішньоочеревинно за 30 хв до моделювання гіпоксії в об'ємі 0,3 мл, з розрахунку 1мг/кг маси тіла. Контрольним тваринам вводили еквівалентну кількість розчинника. Після моделювання фотоперіодичних змін тварини зазнавали впливу гострої гіпобаричної гіпоксії в модифікованій барокамері, що відповідало підйому на висоту 12000 м зі швидкістю 50 м/с. На висотному шпато щурів витримували до зворотної зупинки дихання, після чого здійснювали "опускання" на попередню нульову висоту з відновленням життєдіяльності тварин. Евтаназію проводили шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Після проведення серединної лапаротомії шлунок, дванадцятипалу та проксимальний відділ клубової кишки швидко вилучали і заморожували в рідкому азоті. У них визначали активність ГПО, СОД, КТ. Фібринолітичну активність визначали за лізісом азофібрину, з визначенням сумарної (СФА), неферментативної (НФА) та ферментативної фібринолітичної активності (ФФА), яку розраховували за формулою: ФФА=СФА-НФА [2]. НФА визначали шляхом інкубації гомогенатів у присутності інгібітору ферментативного фібринолізу ϵ -амінокапронової кислоти. Білок у тканинах визначали за методом Лоурі [9]. Статистичний аналіз, включаючи кореляційний та регресивний методи, проводили на комп'ютері IBM PC AT 386 DX за допомогою програми "Statgraphics" США.

Результати дослідження та їх обговорення. У групі тварин, яка знаходилася в умовах постійного світла, виявлено зниження активності ГПО у шлунок за умов гострого гіпоксичного впливу. Введення мелатоніну інтактним тваринам призвело до підвищення активності цього ферменту в порівнянні з контролем. А введення його на фоні моделювання гіпоксії виявило зростання рівня активності ГПО у порівнянні як з контролем, так і групою тварин, що зазнала гіпоксичного впливу, наближаючись до показників групи інтактних тварин, яким ввели лише мелатонін. Схожі тенденції досліджено у дванадцятипалій та клубовій кишках, де рівень активності ГПО значно знижувався за умов гіпоксичного

впливу та зростає майже до контрольних показників як при введенні мелатоніну, так і при моделюванні гіпоксії на фоні введення мелатоніну.

У шлунку, за умов постійної темряви, гіпоксичний вплив призвів до зниження активності ГПО, а введення мелатоніну інтактним тваринам викликало зростання активності ГПО навіть більше, ніж у контрольній групі тварин. Гостра гіпоксія на фоні введення мелатоніну призвела до зростання рівня активності ГПО до відповідного контрольній групі тварин. Аналогічні тенденції коливання

Таблиця 1

Вплив мелатоніну на активність глутатіонпероксидази в кишечнику за умов гострої гіпоксії та різної довжини фотоперіоду ($\bar{x} \pm Sx$)

Органи, що досліджувались; групи піддослідних тварин n = 6	Активність ГПО за умов постійного освітлення мкм G-SH/хв/мг білка	Активність ГПО за умов постійної темряви мкм G-SH/хв/мг білка
ШЛУНОК:		
контроль	0,22 ± 0,004	0,79 ± 0,016 P ₁ < 0,001
гіпоксія	0,20 ± 0,004 P ₂ < 0,01	0,70 ± 0,011 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01
мелатонін	0,25 ± 0,005 P ₂ < 0,01	0,82 ± 0,025 P ₁ < 0,001
мелатонін + гіпоксія	0,24 ± 0,006 P ₂ < 0,05	0,79 ± 0,011 P ₁ < 0,001
ДВАНАДЦЯТИПАЛА КИШКА:		
контроль	0,28 ± 0,009	0,97 ± 0,032 P ₁ < 0,001
гіпоксія	0,21 ± 0,004 P ₂ < 0,001	0,64 ± 0,001 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
мелатонін	0,29 ± 0,005	0,14 ± 0,030 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01
мелатонін + гіпоксія	0,27 ± 0,006	0,84 ± 0,015 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01
КЛУБОВА КИШКА:		
контроль	0,29 ± 0,005	0,62 ± 0,017 P ₁ < 0,001
гіпоксія	0,24 ± 0,004 P ₂ < 0,001	0,59 ± 0,001 P ₁ < 0,001
мелатонін	0,29 ± 0,005	0,77 ± 0,021 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
мелатонін + гіпоксія	0,26 ± 0,004 P ₂ < 0,01	0,79 ± 0,011 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001

Примітка. P₁ – вірогідність різниць у порівнянні з групою тварин за умов постійного світла;
P₂ – вірогідність різниць у порівнянні з контролем

рівня активності ГПО виявлено в інших відділах кишечника. У дванадцятипалій кишці гіпоксія дала зниження активності ГПО на 34 % у порівнянні з контролем, а введення мелатоніну на фоні гіпоксії призвело до зростання активності ферменту відносно групи, що зазнала лише гіпоксичного впливу на 31 %, наближаючись до показників контрольної групи (нижче на 13 %). Ці тенденції збереглися і при дослідженні клубової кишки: зниження рівня активності ГПО за умов гіпоксичного впливу, зростання активності ферменту при введенні мелатоніну інтактним тваринам (15 %), а також при введенні мелатоніну на фоні гострої гіпоксії у порівнянні з групою тварин, яка зазнала лише гіпоксичного впливу (25 %) (табл.1).

Дослідження впливу мелатоніну за умов постійної темряви виявило в шлунку піддослідних тварин наявність позитивних кореляційних зв'язків між активністю ГПО та НФА, ГПО та ФФА, між ГПО та СОД, а також між ГПО та КТ (рис.1). Введення мелатоніну за умов постійної темряви на фоні моделювання гострої гіпоксії дозволило встановити негативний кореляційний зв'язок між активністю ГПО та лізісом азоказеїну (рис.2).

Отримані результати пояснюємо так: останнім часом виявлено стимулювальні впливи мелатоніну на синтез глутатіону та посилення ГПО - активності. Тим часом, коливання рівня ендogenous мелатоніну в крові мають чітку фотопе-

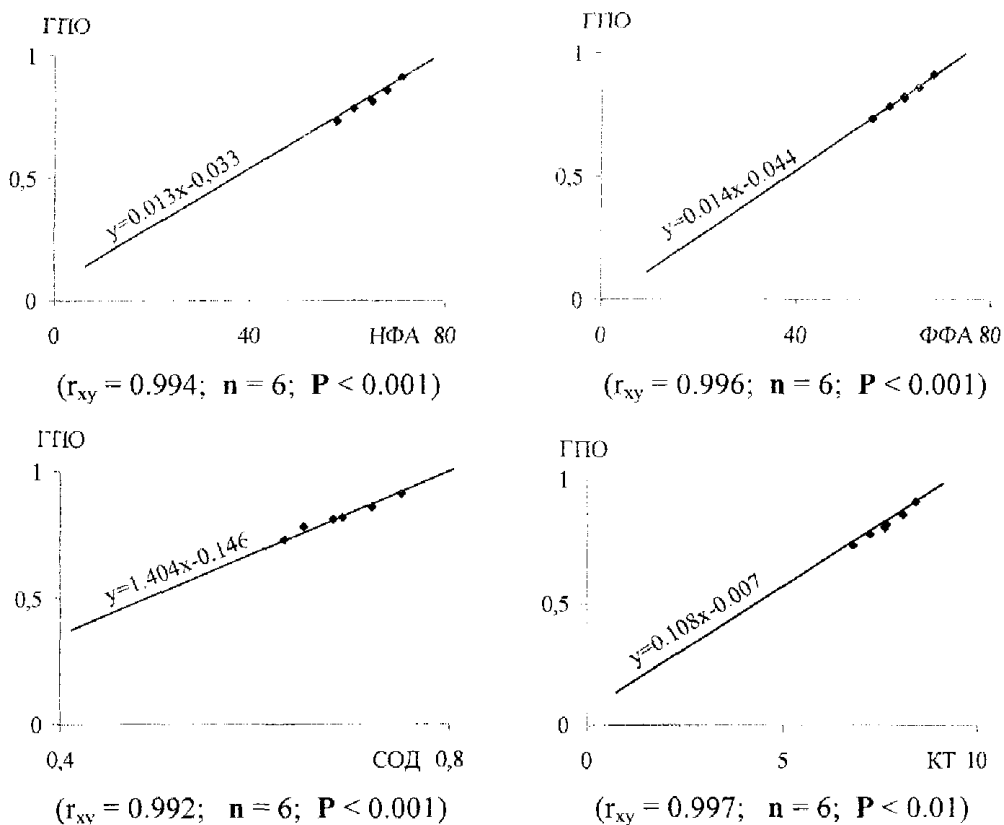


Рис. 1. Регресійний аналіз між показниками активності фібринолізу та антиоксидантних ферментів у шлунку щурів за умов постійної темряви на фоні введення мелатоніну.

ГПО – активність глутатіонпероксидази (мкм G-SH/хв/мг білка); СОД – активність супероксиддисмутази (ОД/хв/мг білка); КТ - активність каталази (мкм/хв/мг білка) ;

ФФА, НФА - ферментативна та неферментативна фібринолітична активності (E_{440} /год/г); r_{xy} = коефіцієнт кореляції;

P < -вірогідність кореляційного зв'язку; n – число спостережень.

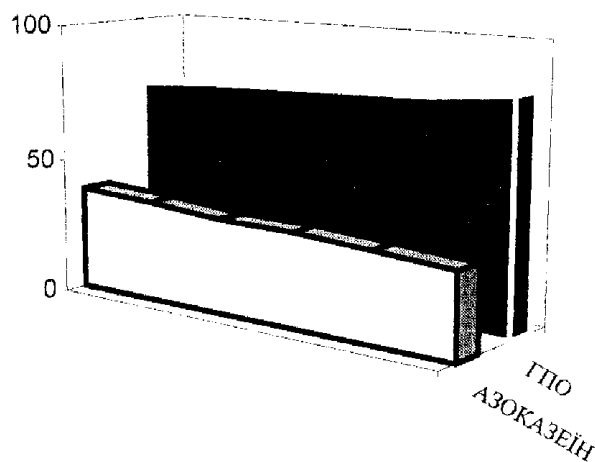


Рис. 2. Регресійний аналіз між активністю глутатіонпероксидази та лізісом азоказеїну при введенні мелатоніну за постійної темряви на фоні гострої гіпоксії ($r_{xy} = -0,849$; $n = 7$; $p < 0,05$)
 ГПО - активність глутатіонпероксидази $\times 10^{-2}$ (мкм G-SH/хв/мг білка);
 Азоказеїн - лізис азоказеїну (E_{440} /год/г/г)
 $\text{ГПО} = 1,078 - 0,009 \text{ Азоказеїну}$

ріодичну залежність. За умов постійного світла в організмі спостерігається найнижчий рівень ендogenous мелатоніну, що знижує загальний антиокиснювальний потенціал та підвищує рівень вільнорадикального окиснення [7], на що вказують низькі рівні активності ГПО відділів кишечника, які досліджувалися в контрольних групах, у порівнянні з відповідними групами за умов постійної темряви.

Гіпоксія призводить до значного падіння активності ГПО при різному освітленні. Це свідчить про важкі порушення в системі окисно-антиоксидантної рівноваги в бік переважання пошкоджуючих окиснювальних реакцій в тканинах кишечника. Однак досліджені антиокиснювальні властивості мелатоніну, зокрема як перехоплювача вільних радикалів [10], забезпечують, на наш погляд, зростання активності ГПО при його введенні за умов гіпоксичного впливу як за постійного світла, так і за постійної темряви.

Позитивний кореляційний зв'язок між активністю ГПО та рівнем НФА на фоні введення мелатоніну пояснюємо здатністю останнього підвищувати проникність мембран, вивільняти активатор плазміногену тканинного типу і - активації ферментативного фібринолізу. Виявлено стимулювальні впливи мелатоніну на активність ГПО [7, 11], а в тканинах кишечника рівень мелатоніну один з найвищих, що й відображує встановлений кореляційний зв'язок. Активацію НФА пояснюємо зростанням у крові рівня стресових метаболітів та мембранними ефектами мелатоніну, які посилюють вивільнення гепарину [5]. Це сприяє утворенню антикоагуляційних комплексів (гепарин-АТ-III-адреналін, гепарин-серотонін та ін.), які складають основу неферментативного фібринолізу. Крім прямого активуючого ефекту мелатоніну на систему глутатіону та фібринолізу, позитивний кореляційний зв'язок між ГПО та НФА може бути обумовлений відновленням мікроциркуляції внаслідок активації тканинного фібринолізу. Це покращує кисневе забезпечення і, як наслідок, відновлює активність ферментів (ГПО, СОД, КТ). Можливість цього підтверджують виявлені позитивні кореляційні зв'язки між ГПО та СОД, а також між ГПО та КТ [4].

За умов постійного світла рівень ендogenous мелатоніну найнижчий, на що

вказують і низькі рівні активності ГПО у відділах кишечника, що досліджувалися. Відтак, більш високий рівень процесів пероксидації мембранних ліпідів дестабілізує лізосомальні ензими, які виділяються в позаклітинне середовище, викликають деструкцію навколишніх клітин та основної речовини. Частіше всього це нейтральні серинові протеази - катепсини, колагеназа, еластаза. У зоні пошкодження швидко накопичуються нейтрофільні гранулоцити, які вміщують дві групи протеїназ (високоактивні в кислому середовищі – катепсини лізосом, та в нейтральному – колагеназа, еластаза, плазмін та ін.). Саме цим, на наш погляд, можна пояснити виявлений негативний кореляційний зв'язок між активністю ГПО та лізисом азоказеїну (рис.2.).

Таким чином, коливання рівня ендogenous мелатоніну впливають на активність ГПО та тканинний протеоліз, забезпечуючи відтворення захисно-компенсаторних реакцій за умов гострого гіпоксичного впливу.

Література. 1. Барабой В.А., Хомчук Ю.В. Механизм антистрессового и противолучевого действия растительных фенольных соединений // Укр. биохим. журн. – 1998. – Т. 70, № 6. – С.13 – 23. 2. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенжерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис ... д-ра мед.наук: 14.03.05 // Буковинська держ. мед. акад. – Одеса, 1996. – 36 с. 3. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетические механизмы формирования гипоксических состояний и подходы к их фармакологической коррекции // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. – М.: НИИ фармакологии АМН СССР. – 1989. – С.11-44. 4. Маньковська І.М., Середенко М.М., Нагнибіда Н.М., Назаренко А.І., Братусь Л.В. Особливості механізмів інтенсифікації пероксидного окиснення ліпідів у тканинах шурів при гіпоксії різкого типу // Физиол. ж. – 1993. – Т.39, № 4. – С.25-33. 5. Умарова Б.А., Шатицо Ф.Б., Струкова С.М. Участие катехоламинов, выделенных при стрессе, в стимуляции секреции гепарина тучными клетками крысы // Физиол. ж. – 1993. – Т. 39, № 4. – С. 52 – 57. 6. Хачатурьян М.Л., Лукасов В.М., Комаров П.Г., Пирогова Л.Б., Буленко М.В. Влияние сезона года на показатели перекисного окисления липидов миокарда животных с различной устойчивостью к гипоксии // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – Т.120, № 7. – С.87-90. 7. Barlow-Walden L.R., Reiter R.J., Abe M., et al. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity // Neurochem. Int. – 1995. – V.26, N 5. – P.497-502. 8. Hara M., Abe M., Suzuki T., Reiter R. Tissue changes in glutathione metabolism and lipid – peroxidation induced by swimming are partially prevented by melatonin // Pharm. and Toxicol. – 1996. – V. 78, № 5. – P. 308 – 312. 9. Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, N1. – P. 265-275. 10. Poegeller B., Reiter R. J., Tan D.-X. et al. Melatonin hydroxyl radical – mediated oxidative damage and aging: A hypothesis // J. Pineal Res. – 1993. – V. 14, – P. 151 – 168. 11. Quay W.B. Glutathione in pineal mechanisms and functions // Glutathione: Metabolism and Physiological Function. Boca Raton: CRC Press. – 1990. – P. 335 – 339.

THE INFLUENCE OF MELATONIN ON THE PHOTOPERIODIC ENZYMATIC ACTIVITY OF THE ANTIOXIDANT AND PROTEOLYTIC SYSTEMS IN THE INTESTINE UNDER CONDITIONS OF ACUTE HYPOXIC INJURY

O.V.Boiko, V.F.Myslytskiy, Yu.Ye.Rogovoi

Abstract. In experiments on 60 pubertal albino male rats an increase of the glutathioneperoxidase activity in the intestine was detected under conditions of permanent darkness compared with the corresponding groups of animals which were under conditions of permanent light. Melatonin, the hormone of “darkness” caused an increase of the activity of glutathioneperoxidase (GPO) under permanent light both in intact animals and those which underwent the influence of acute hypoxia. Analogous tendencies were revealed in the intestinal tissues following melatonin administration under permanent darkness. Positive correlation links between the GPO activity and fibrinolytic activity, GPO and the activity of superoxidismutase (SOD), GPO and catalase (CT) were discovered in the rats’ stomachs. The administration of melatonin under permanent darkness followed by simulating acute hypoxia detected a negative correlation link between the level of the GPO activity and azocasein lysis in the animals’ stomach.

Key words: glutathioneperoxidase, melatonin, hypoxia.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 14.06.2000 року