

periodic length modulates an intensity of lipid peroxidation in rats testes in case of acute hypoxia: constant light worsens an adaptation to oxidative stress, but constant darkness assists such adaptation. The "hormone of darkness" melatonin reduces of intensification of lipid peroxidation in case of acute hypoxia.

Key words: conjugated dienes, malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, chronorhythms, hypoxia.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

УДК: 612.273.2:591.481.1:577.352.38:612.826.33.015.22

І. І. Заморський, І. Ю. Сопова, К. І. Павлуник, Т. В. Ігнатюк

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ

Кафедра патологічної фізіології і медичної фізики (зав. — проф. В. Ф. Мислицький)
Буковинської державної медичної академії

Ключові слова: мелатонін, гіпоксія кори головного мозку, дієнові кон'югати, кетодієнові та кетотрієнові кон'югати, шифові основи.

Резюме. В роботі досліджувався вплив гострої гіпобаричної гіпоксії на фоні введення мелатоніну на вміст первинних (дієнові кон'югати), вторинних (кетодієнові та кетотрієнові кон'югати) і третинних (шифові основи) продуктів пероксидного окислення ліпідів в корі головного мозку ювенільних щурів. Зареєстровано, що у інтактних тварин ($n = 7$) мелатонін зменшує вміст шифових основ в корі головного мозку. Гостра гіпоксія ($n = 7$) призводить до зростання утворення первинних та вторинних продуктів пероксидного окислення ліпідів. Введення мелатоніну за гострої гіпоксії ($n = 7$) зменшує інтенсифікацію пероксидного окислення ліпідів за вмістом первинних і вторинних продуктів.

Вступ. В основі деяких молекулярних механізмів деструктивної дії гострої гіпоксії лежить інтенсифікація пероксидного окислення ліпідів, що виникає внаслідок порушень роботи дихального ланцюга і утворення активних форм кисню при зменшенні парціального тиску кисню та ішемії [7]. При реоксигенації організму має значення порушення активності антиоксидантної ферментної системи і, відповідно, порушення окисно-антиоксидантної рівноваги в бік збільшення вільнорадикального окислення [2]. Тому застосування антиоксидантів за гострої гіпоксії є важливим напрямком фармакологічної корекції біоенергетичних порушень за гострої гіпоксії [7].

За останні п'ять-шість років встановлено, що індольний гормон шишкоподібного тіла мелатонін є одним з найсильніших ендогенних

антиоксидантів і за своєю знешкоджуючою вільні радикали силою переважає дію глутатіону і манітолу в три—п'ять разів, а дію вітамінів С і Е приблизно в два рази [10, 12]. При цьому більшість дослідників оцінює антиоксидантну дію мелатоніну за вмістом вторинних карбонільних продуктів пероксидного окислення ліпідів— малонового діальдегіду та 4-гідроксіалкеналів [11, 13, 14], а дані про дію мелатоніну на утворення інших карбонільних продуктів, первинних і кінцевих третинних продуктів пероксидного окислення ліпідів в літературі відсутні.

Мета. Дослідження впливу мелатоніну за гострої гіпобаричної гіпоксичної гіпоксії на вміст первинних продуктів пероксидного окислення ліпідів (сполук з ізольованими подвійними зв'язками та гідропероксидів, зокрема дієнових кон'югатів), визначення вторинних (кетодієнових та кетотрієнових кон'югатів) та третинних продуктів (азометинів або шифових основ) з одночасним дослідженням відносного ступеня окислення ненасичених ліпідів до гідропероксидних, карбонільних та азометинових сполук в корі головного мозку ювенільних самців щурів.

Матеріали і методи. Експерименти проведені на 42 статевонезрілих самцях безпородних білих щурів масою 65-75 г, які досягали на момент визначення інтенсивності пероксидного окислення ліпідів ювенільного віку (5,5-6,0 тижнів). Щурів утримували при температурі 20-24°C на стандартному вітамінізованому харчовому раціоні з вільним доступом до води. За два тижні до початку досліджень визначали їх чутливість до гіпоксії і в подальшому використовували лише середньостійких до гіпоксії тварин. Відібраних тварин рандомізовано розділили на три групи. Одній групі тварин (n = 17) за 30 хв до моделювання гострої гіпоксії внутрішньоочередово вводили мелатонін з розрахунку 1 мг на 1 кг ваги тіла в 0,1% розчині етанолу. Другій (n = 8) групі вводили еквівалентну кількість розчинника, а третя (n = 9) залишалась інтактною. Оскільки досліджувані показники у двох останніх групах (з введенням і без введення розчинника) статистично не відрізнялись, ці групи при обробці результатів дослідження були об'єднані у спільну контрольну групу.

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали в модифікованій барокамері шляхом “підйому” тварин на висоту 12000 метрів зі швидкістю 58 мм рт. ст. за 1 хв при 22°C. На “висотному плато” щурів витримували до зупинки дихання, після чого здійснювали “спуск” на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин.

Евтаназію тварин виконували під легким ефірним наркозом шляхом декапітації через 30 хв після припинення гострої гіпоксії. Видалений головний мозок охолоджували в фізіологічному розчині і зберігали в рідкому азоті. При проведенні визначення продуктів пероксидного окислення ліпідів наважку кори головного мозку гомогенізували в 0,25 М трис-НСІ (Sigma, США) буфері (рН 7,4). Аліквоти гомогенатів центрифугували при 900 g 15 хв, отримані супернатанти використовували в подальших дослідженнях.

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів визначали спектрофотометрично [6, 8], використовуючи гексанову фазу ліпідного екстракту [3, 9]. Ступінь окислення ненасичених ліпідів до гідропероксидних, карбонільних і азометинових сполук (“індекси

окисленості ліпідів” [5]) розраховували як відношення оптичної густини взірця ліпідних екстрактів при довжині хвилі відповідно в 232, 278 і 400 нм до оптичної густини цього ж взірця при довжині хвилі в 220 нм [8].

Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики з врахуванням параметричного критерію *t* Стьюдента та непараметричного критерію *U* Вілкоксона-Манна-Уїтні.

Результати та їх обговорення. Виявлено (табл.), що через одну годину після введення мелатоніну без дії гострої гіпоксії в корі головного мозку щурів вірогідно зменшується вміст шифових основ в середньому на 32% ($P < 0,05$) в порівнянні з контрольними тваринами, що підтверджує антиоксидантну дію цього гормону [12].

За гострої гіпоксії, без введення мелатоніну, в порівнянні з показниками у контрольних тварин, збільшується вміст первинних продуктів перексидного окислення ліпідів — сполук з ізольованими подвійними зв'язками в середньому на 29% ($P < 0,005$) та дієнових кон'югатів — на 15% ($P < 0,05$), а вторинних продуктів — кетодієнових та кетотрієнових кон'югатів — в середньому на 13% ($P < 0,05$). Одночасно зростає ступінь окислення ліпідів до первинних продуктів перексидного окислення ліпідів — гідропероксидних сполук — в середньому на 18% ($P < 0,025$). Такі дані свідчать про зростання інтенсивності перексидного окислення ліпідів в корі головного мозку щурів через 30 хв після впливу гострої гіпоксії, що відповідає даним інших авторів [1]. При цьому вміст третинних продуктів перексидного окислення ліпідів (шифових основ) та ступінь окислення ліпідів до карбонільних і азометинових сполук залишаються на тому ж рівні, що і у контрольних тварин. Це можна пояснити відносно коротким терміном спостережень в проведених дослідженнях після дії гострої гіпоксії. Адже шифові основи — кінцеві продукти перексидного окислення ліпідів, які утворюються при взаємодії карбонільних сполук із аміногрупами різних речовин (фосфоліпідів, амінокислот, білків тощо) [4], і для цієї взаємодії відповідно повинен пройти більший час, ніж для утворення первинних і вторинних сполук вільнорадикального окислення ліпідів.

При введенні мелатоніну на фоні гострої гіпоксії в корі головного мозку вміст сполук з ізольованими подвійними зв'язками зменшується в середньому на 11% ($P < 0,05$) в порівнянні з показниками у тварин після дії гіпоксії без введення мелатоніну, хоча і залишається вищим в середньому на 14% ($P < 0,05$) в порівнянні з показниками у контрольних тварин. При цьому вміст інших продуктів перексидного окислення ліпідів суттєво не відрізняється від показників у контрольних тварин. Одночасно ступінь окислення ліпідів до гідропероксидних сполук зменшується в середньому на 18% ($P < 0,05$) в порівнянні з показниками у щурів без введення мелатоніну, а ступінь окислення до карбонільних сполук залишається вищим в середньому на 17% ($P < 0,05$), ніж у тварин з введенням мелатоніну без дії гіпоксії.

Отже, мелатонін зменшує інтенсифікацію перексидного окислення ліпідів в корі головного мозку статевонезрілих щурів, яка виникає внаслідок гострої гіпобаричної гіпоксії. Зменшення інтенсивності вільнорадикального окислення в корі головного мозку за вмістом як первинних, так і вторинних продуктів перексидного окислення ліпідів за

Таблиця
Вплив мелатоніну на вміст первинних, вторинних та третинних продуктів пероксидного окислення ліпідів і ступінь окислення ненасичених ліпідів в корі головного мозку ювенільних щурів за гострої гіпобаричної гіпоксії (M±m, n=7)

Характер впливу	Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів в одиницях оптичної густини на г тканини		Ступінь окислення ліпідів в умовних одиницях				
	Сполуки з ізольованими подвійними зв'язками	Гідролероксиди (дієнові кон'югати)	Кетодієнові та кетотрієнові кон'югати	Азометини (шифові основи)	До гідролероксидних сполук, E232 E220	До карбонільних сполук, E278 E220	До азометинових сполук, E400 E220
Контрольні тварини	64,3±2,92	50,6±3,23	43,0±1,32	8,4±0,92	0,67±0,009	0,55±0,014	0,12±0,043
Гіпоксія	82,7±2,44*	58,4±1,80*	48,6±1,75*	10,5±1,03	0,79±0,026*	0,59±0,016	0,13±0,051
Мелатонін	69,3±3,16	54,1±1,38	49,0±2,84	5,7±0,45*	0,62±0,031	0,53±0,033	0,07±0,004
Мелатонін і гіпоксія	73,3±1,66**	54,0±2,45	46,2±1,68	8,2±1,06	0,65±0,042**	0,62±0,011***	0,10±0,047

Примітка. * $p < 0,05$ в порівнянні з показниками у контрольних тварин;

** $p < 0,05$ в порівнянні з показниками у тварин після гіпоксії без введення мелатоніну;

*** $p < 0,05$ в порівнянні з показниками у тварин з введенням мелатоніну.

гострої гіпобаричної гіпоксії після введення мелатоніну вказує на певну антигіпоксичну властивість мелатоніну внаслідок антиоксидантної дії.

Висновок. Мелатонін зменшує інтенсивність перексидного окислення ліпідів в корі головного мозку статевонезрілих щурів, що виникає внаслідок дії гострої гіпобаричної гіпоксії.

Література. 1. Особливості механізмів інтенсифікації перекисного окислення ліпідів у тканинах щурів при гіпоксії різного типу / Маньковська І. М., Середенко М. М., Нагнибіда Н. М. та ін. // Физиол. журн. – 1993. – Т. 39, № 4. – С. 25-33. 2. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под общ. ред. Ю. А. Зозули – Киев: Наукова думка, 1997. – 420 с. 3. Величко Л. Н., Матюхина О. Н., Свиловый В. И., Сорокина В. С. Экстракция липидов из сыворотки крови смесью гексан-изопропанол // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 39-40. 4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с. 5. Влияние сезона года на показатели перекисного окисления липидов миокарда животных с различной устойчивостью к гипоксии / Хачатурьян М. Л., Гукасов В. М., Комаров П. Г. и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. – Т. 122, № 7. – С. 87-90. 6. Волчегорский И. А., Налимов А. Г., Яровинский Б. Г., Лифшиц Р. И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-130. 7. Лукьянова Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1997. – Т. 124, № 9. – С. 244-254. 8. Львовская Е. И., Волчегорский И. А., Шемяков С. Е., Лифшиц Р. И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопр. мед. химии. – 1991. – Т. 37, № 4. – С. 92-93. 9. Показатели перекисного окисления липидов органов крыс с различной устойчивостью к гипоксии / Хачатурьян М. Л., Гукасов В. М., Комаров П. Г. и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1996. – Т. 123, № 1. – С. 26-29. 10. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E / Pieri C., Marra M., Moroni F. et al. // Life Sci. – 1994. – V. 55, N 15. – P. PL271-276. 11. Melchiorri D., Reiter R. Melatonin affords protection against kainate-induced in-vitro lipid-peroxidation in brain // Eur. J. Pharm. – 1996. – V. 305, N 1-3. – P. 239-242. 12. Reiter R. J. Pineal function during aging: attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences // Acta Neurobiol. Exp. – 1994. – V. 54, Suppl. – P. 31-39. 13. Sewerynek E., Poeggeler B., Melchiorri D., Reiter R. J. H₂O₂-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates is greatly reduced by melatonin // Neurosci. Lett. – 1995. – V. 195, N 3. – P. 203-205. 14. Yamamoto H. A., Tang H. W. Preventive effect of melatonin against cyanide-induced seizures and lipid-peroxidation in mice // Neurosci. Lett. – 1996. – V. 207, N 2. – P. 89-92.

MELATONIN EFFECT ON THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN THE RAT BRAIN IN CASE OF ACUTE HYPOXIA

I. I. Zamorsky, I. Y. Sopova, K. I. Pavlunyk, T. V. Ignatyuk

Abstract. The paper studies an influence of acute hypobaric hypoxia at a background of melatonin administration on the contents of primary (diene conjugates), secondary (ketodiene and ketotriene conjugates) and tertiary (Schiff bases) products of lipid peroxidation in the brain cortex of juvenile rats. Melatonin reduces the Schiff bases in the brain cortex of intact animals. Acute hypobaric hypoxia (n=7) enlarges a formation of primary and secondary products of lipid peroxidation. Melatonin administration reduces the contents of primary and secondary products of lipid peroxidation in case of acute hypoxia.

Key words: melatonin, hypoxia of brain cortex, diene conjugates, ketodiene and ketotriene conjugates, Schiff bases.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)