

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ПОКАЗНИКИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАНУ КРОВІ СТАРИХ ЩУРІВ ЗА ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

Кафедра медичної біології, генетики та гістології (зав. – чл.-кор. АПН України, проф. В.П.Пішак)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. У крові старих щурів (20-24 місяці), що зазнали одногодинного іммобілізаційного стресу за умов зміненого семидобового фотоперіоду (12.00С:12.00Т; 24.00С:00Т; 24.00Т:00С), спостерігається активація пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків на фоні пригнічення антиоксидантного захисту (зниження активності каталази та вмісту

НС-груп). Триденне уведення тваринам мелатоніну в дозі 2,5 мг/кг на фоні зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу викликало нормалізацію показників про- та антиоксидантного стану крові.

Ключові слова: мелатонін, змінений фотоперіод, іммобілізаційний стрес, показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів.

Вступ. Подовження тривалості життя людини є одним із найважливіших завдань геронтології і, в цілому, сучасної профілактичної медицини. Увагу геронтологів у все більшій мірі привертають речовини, які здатні збільшувати тривалість життя людини і тварин – так звані геропротектори [8]. Використання антиоксидантів як геропротекторів засновано на вільнорадикальній теорії старіння [1,8]. Згідно з цією теорією вільні радикали, що утворюються в результаті різних окисних реакцій в організмі, проявляють пошкоджувальну дію на макромолекули (нуклеїнові кислоти і білки), викликають їх деградацію і старіння.

На сьогодні доведена важлива роль вільнорадикальних процесів, пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та біополімерів у механізмах порушення гомеостазу при багатьох, якщо не всіх, патологічних станах. Вагоме значення в стресорному пошкодженні тканин внутрішніх органів відіграє накопичення в них цитотоксичних продуктів метаболізму вільнорадикального окиснення, внаслідок утворення активних форм кисню (АФК), що стають сигнальними індукторами молекулам захисних систем організму [3]. Тому з метою виявлення ранніх змін, які призводять до порушення структури мембран і функцій клітин, належить вивченню співвідношення процесів ПОЛ та антиоксидантної системи захисту (АОЗ), розбалансування яких лежить в основі патогенетичного шляху розвитку різних патологічних

процесів в організмі. Таким чином, застосування антиоксидантів для зменшення пошкоджувальної дії вільних радикалів є одним із напрямків фармакологічної корекції іммобілізаційного стресу.

До препаратів, яким властива антиоксидантна дія, належить мелатонін, що відноситься до основних нейрогормонів епіфіза мозку хребетних тварин і людини [7]. Інтенсивність його синтезу із триптофану та серотоніну залежить від освітленості середовища і максимальна в темновий період доби. Впливаючи на функціональну активність гіпоталамо-гіпофізарно-наднирничкової та видільної систем, мелатонін бере участь у регуляції циркадіанних та сезонних ритмів фізіологічних функцій [1]. Протекторний вплив мелатоніну при ПОЛ описано як у дослідних тварин, так і в людини [1,8,9]. Передбачається, що механізм впливу мелатоніну на антиоксидантну систему включає безпосереднє захоплення ним АФК та/чи гальмування їхньої генерації у клітині та регуляцію активності антиоксидантних ферментів [1]. Мелатонін є сильним антиоксидантом і забезпечує захист молекул, особливо ДНК, від окиснювального пошкодження, він може бути головною молекулою в системі захисту організму від окиснювального стресу [10].

Механізм впливу мелатоніну на показники про- та антиоксидантного стану крові у старих щурів при зміненому фотоперіоді та іммобілізаційному стресі вивчений недостатньо. Крім цьо-

го, більшість авторів обмежуються аналізом змін лише ферментної ланки АОС. Практично відсутні дослідження, що стосуються впливу пінеальних індолів на неферментну ланку АОС та на активність одного з основних антиоксидантних ферментів – каталази, якій належить вагоме значення при фізіологічних навантаженнях [4].

Мета роботи. Обґрунтувати вплив мелатоніну на рівень антиоксидантних (каталази, церулоплазміну та SH-груп) та прооксидантних (малонового альдегіду та ОМБ) показників у плазмі та еритроцитах крові старих щурів за умов 1-годинного іммобілізаційного стресу на фоні зміненого фотоперіоду.

Матеріал і методи. Досліди виконано на 84 старих (20-24 міс.) нелінійних щурах-самцях масою 300 ± 10 г. Впродовж одного місяця до початку та впродовж експерименту тварин утримували у віварії за умов сталої температури (18-21°C), вологості повітря (50-55%) в окремих клітках із вільним доступом до води та їжі. Фотоперіодичні зміни в організмі тварин моделювали впродовж одного тижня зміною режимів освітлення за допомогою лампи штучного світла (інтенсивність освітлення не менше 500 Лк):

1) 12.00С (світла):12.00Т (темрява);
2) 24.00С:00Т; 3) 24.00Т:00С. Іммобілізаційний стрес моделювали шляхом утримування тварин впродовж 1 год у пластикових клітках-пеналах.

Тварин поділяли на дев'ять груп, по шість щурів у кожній: перша – контрольна група тварин (12.00С:12.00Т); друга – щурів утримували при освітленні 12.00С:12.00Т сім діб та моделювали 1-годинний іммобілізаційний стрес на 8-му добу; у третій – при тому ж освітленні впродовж трьох діб вводили мелатонін у дозі 2,5 мг/кг внутрішньоочеревинно на ізотонічному розчині натрію хлориду, останнє уведення проводили за 1 год до іммобілізаційного стресу; у четвертій – тварин утримували при повному штучному освітленні сім діб; у п'ятій – за умов повного освітлення щурам моделювали 1-годинний іммобілізаційний стрес на 8-му добу; у шостій – при тому ж освітленні впродовж трьох діб вводили мелатонін

у дозі 2,5 мг/кг внутрішньоочеревинно на ізотонічному розчині натрію хлориду, останнє уведення проводили за 1 год до іммобілізаційного стресу; у сьомій – тварин утримували при повній темряві впродовж одного тижня; у восьмій – за умов повної темряви щурам моделювали 1-годинний іммобілізаційний стрес на 8-му добу; у дев'ятій – при відсутності освітлення впродовж трьох діб вводили мелатонін у дозі 2,5 мг/кг внутрішньоочеревинно на ізотонічному розчині натрію хлориду.

Для проведення дослідження використовували мелатонін (2,5 мг/кг, розведений на етиловому спирті та фізіологічному розчині), виробництва SIGMA (США). Декапітацію тваринам проводили о 14.00 год під легким ефірним наркозом згідно з положеннями "Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986). За 24 години до експерименту тварин утримували без їжі з вільним доступом до води. Цільну кров стабілізували розчином ЕДТА (1,0 мг/мл крові), відділяли плазму (центрифугування при 3000 об/хв, 15 хв) від еритроцитів (останні триразово промивали охолодженим фізіологічним розчином натрію хлориду). У плазмі крові визначали вміст церулоплазміну (ЦП) [4] і HS-груп [5] та ОМБ [6]; в еритроцитах – рівень малонового альдегіду та активність каталази [4]. Отримані результати оброблені параметричним варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою програми "BIOSTAT".

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведених досліджень (таблиця) вказують на те, що одногодинний іммобілізаційний стрес у старих щурів за умов 12С:12Т впродовж семи діб викликав активацію ПОЛ (рівень малонового альдегіду зростав на 46%) та окисної модифікації білків (показник ОМБ зростав вдвічі порівняно з контролем). За цих же умов експерименту активність каталази еритроцитів та вміст HS-груп у плазмі крові зменшилися на 51,6 і 42,7% відповідно, а рівень церулоплазміну підвищився на 80,8% (таблиця).

Таблиця

Вплив мелатоніну на показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за умов зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу (M±m; n=6)

Показники, що вивчалися	Малоновий альдегід, мкмоль/мл	ОМБ, мкмоль/г білка	Церулоплазмін, мг/л	Каталаза, мкмоль/хв·л	HS-групи, мкмоль/мл
Умови досліджу					
Контроль (12С:12Т)	18,0±0,84	0,68±0,04	298±4,21	12,6±0,85	0,75±0,01
12С:12Т+ІС	26,2±0,46*	1,38±0,08*	539±4,35*	6,10±0,12*	0,43±0,03*
12С:12Т+ІС+мелатонін	16,7±0,32	0,71±0,02	327±6,89*	12,2±0,20	0,65±0,02*
24С:0Т	17,9±0,48	1,74±0,03*	311±5,05	15,7±0,26*	0,72±0,02
24С:0Т+ІС	28,8±0,52*	1,99±0,03*	388±4,41*	7,68±0,14*	0,43±0,02*
24С:0Т+ІС+мелатонін	18,1±0,35	0,84±0,05	270±8,0	16,6±0,88*	0,67±0,02*
24Т:0С	17,9±0,39	0,73±0,02	275±4,76	14,2±1,17	0,74±0,05
24Т:0С+ІС	23,3±0,36*	1,16±0,03*	354±5,68*	8,6±0,17*	0,50±0,03*
24Т:0С+ІС+мелатонін	19,1±0,26	0,73±0,04	351±2,49*	12,4±0,19	0,60±0,02*

Примітка. * - достовірна різниця ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем (12С:12Т); С - світло; Т - темрява; ІС - іммобілізаційний стрес, ОМБ – окиснювальна модифікація білків

Триденне уведення стресованим тваринам мелатоніну нормалізувало в крові вміст МА, ОМБ та активність каталази; рівень ЦП та HS-груп проявляв чітку тенденцію наближення до величин контролю.

Семидобове освітлення (тварини четвертої групи) посилило (у 2,5 раза) окисну модифікацію білків плазми крові та активацію каталази (на 24,6%). Відносно інших показників, то вони не відрізнялися від тварин контрольної групи (12С:12Т). Імобілізаційний стрес на фоні тижневого освітлення призводив до різкого підвищення в крові вмісту МА (на 55,6%) та ОМБ (майже втричі порівняно з контролем) і незначного зростання рівня церулоплазміну (на 30%). Активність каталази та рівень HS-груп знижувалися на 38,4 і 32,7% відповідно. Уведення мелатоніну на фоні семидобового освітлення та імобілізаційного стресу призвело до вираженої нормалізації вивчених показників: рівень у крові МА, ОМБ та церулоплазміну не відрізнявся від контролю, активність каталази та вміст HS-груп проявляли чітку тенденцію до нормалізації.

За умов постійної темряви (сім діб) жодний з вивчених показників про- та антиоксидантної системи не зазнавали достовірних змін порівняно з тваринами контрольної групи.

Імобілізаційний стрес на фоні тижневої темряви викликав, як і у всіх попередніх дослідних групах тварин, підвищення в крові рівня МА, ОМБ, церулоплазміну, гальмування активності каталази та зменшення вмісту HS-груп. Уведення таким тваринам мелатоніну вирівнювало показники МА, ОМБ, каталази до рівня контролю, а показники вмісту церулоплазміну та HS-груп проявляли лише тенденцію змін до величин контролю.

Проведені дослідження вказують на те, що гіпофункція (семидобове освітлення) та гіперфункція (семидобова темрява) епіфіза мозку по-різному впливають на показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів. Так, при гіпофункції має місце активація процесів ліпопероксидативної і окиснювальної модифікації білків та пригнічення антиоксидантного захисту, тоді як при гіперфункції шишкоподібної залози не спостерігається вірогідних змін цих показників порівняно з контролем. Цей факт може бути пояснений різним рівнем продукції мелатоніну при освітленні та в темряві.

Імобілізаційний стрес за умов зміненого фотоперіоду викликає різку активацію вільнорадикальних процесів на фоні зниження антиоксидантного захисту крові старих щурів. Уведення тваринам мелатоніну за цих умов досліду призводить до нормалізації вивчених показників, що вказує на його антиоксидантну дію [8,10].

Висновки

1. Гіпофункція епіфіза мозку (семидобове освітлення) викликала в старих щурів активацію процесів ліпопероксидативної та окиснювальної мо-

дифікації білків крові та пригнічення антиоксидантного захисту. Гіперфункція (семидобова темрява) не впливала на показники про- та антиоксидантного стану.

2. У крові старих щурів, що зазнали одноденного імобілізаційного стресу за умов зміненого семидобового фотоперіоду (12.00С:12.00Т; 24.00С:00Т; 24.00Т:00С), спостерігалася активація пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків на фоні зниження антиоксидантного захисту (зниження активності каталази та вмісту HS-груп).

3. Триденне уведення старим щурам мелатоніну на фоні імобілізаційного стресу та зміненого фотоперіоду викликало нормалізацію показників про- та антиоксидантного захисту.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення впливу пептидів шишкоподібної залози за умов зміненого фотоперіоду та імобілізаційного стресу.

Література

1. Анисимов В.Н., Малиновская Н.К. Основные представления о роли мелатонина в организме человека. Мелатонин в норме и патологии / Под общ. ред. Комарова Ф.И. – М.: ИД Медпрактика-М, 2004. – 308 с.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-восстановительный гомеостаз в норме и патологии / Под общ. ред. Ю.А. Зозули. – К.: Наук. думка, 1997.-80с.
3. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. – М., 2004. – 215с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2т.–Мн.: Интерпрессервис, 2003. –Т.2.–С.74-75.
5. Мешишен І.Ф. Метод визначення окисномодифікованих білків плазми (сироватки) крові / Бук. мед. вісник. – 1998. – Т.2, №1. – С.156-158.
6. Мешишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного визначення HS-груп у крові // Бук.мед.вісник. –2002. – Т.6, №2.–С.190-192.
7. Мешишен І.Ф., Пішак В.П., Заморський І.І. Мелатонін: обмін та механізм дії // Бук.мед.вісник. – 2001. – Т.5, №2.–С.3-15.
8. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Пептидные биорегуляторы и старение. – СПб.: Наука, 2003. – 223с.
9. Хавинсон В.Х., Малинин В.В., Баринов В.А., Арутюнян А.В., Свободнорадикальное окисление и старение. – СПб., 2003. – 96с.
10. Hara M., Iigo M., Chtani-Kaneco R. et al. Melatonin administration prevents exercise-induced cellular oxidative changes in rats // Zool.Sci. – 1995. – Vol.12, № 6. – P. 112–117.
11. Reiter R.J. Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation // Front. Neuroendocrinol. – 1995. – Vol.16, №4. – P. 383-415.

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ СТАРЫХ КРЫС ПРИ ИЗМЕНЕННОМ ФОТОПЕРИОДЕ И ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Ю.В.Ломакина

Резюме. В крови старых крыс (20-24 месяца), которые были подвержены одночасовому иммобилизационному стрессу при измененном семисуточном фотопериоде (12С:12Т; 24С:0Т; 24Т:0С), наблюдается активация пероксидного окисления липидов и окислительной модификации белков на фоне угнетения антиоксидантной защиты (снижение активности каталазы и содержания HS-групп). Трехдневное введение животным мелатонина в дозе 2,5 мг/кг на фоне измененного фотопериода и иммобилизационного стресса вызвало нормализацию показателей про- и антиоксидантного состояния крови.

Ключевые слова: мелатонин, измененный фотопериод, иммобилизационный стресс, показатели про- и антиоксидантного состояния крови старых крыс.

INFLUENCE OF MELATONIN ON THE PARAMETERS OF THE BLOOD PRO- AND ANTIOXIDANT CONDITION OF OLD RATS UNDER VARYING DURATON OF THE PHOTOPERIOD AND IMMOBILIZATION STRESS

Y.V.Lomakina

Abstract: An activation of lipid peroxidation and oxidative protein modification against a background of inhibited antioxidant defence (a decrease of the catalase activity and the content of the HS-group) is observed in the blood of old rats (20-24 months), that underwent immobilization stress under conditions of an altered seven-day photoperiod (12.00L:12.00D; 24.00L:00D; 24.00D:00L). A three day administration to animals of melatonin in a dose of 2,5mg/kg against a background of a changed photoperiod and immobilization stress brought about a normalization of the parameters of the pro- and antioxidant blood state.

Key words: melatonin, altered photoperiod, immobilization stress, pro- and antioxidant condition, old rats, blood.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. І.І.Заморський

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №4.- P.108-111

Надійшла до редакції 13.09.2007 року