

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ДИСКРЕТНИХ СТРУКТУРАХ ПЕРЕДНЬОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ МЕЛАТОНІНУ І ЕПІТАЛАМІНУ НА ФОНІ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ

I.I. Заморський

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Досліджено вплив одноразового внутрішньочеревного введення мелатоніну (1 мг/кг) й епіталаміну (2,5 мг/кг) на ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидних і карбонільних сполук у фронтальній корі, гіпокампі, септальному і габенулярному комплексах переднього мозку статевонезрілих білих щурів-самців на фоні гострої гіпобаричної гіпоксії. Встановлено, що введення і мелатоніну, і епіталаміну запобігає інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів при дії гострої гіпоксії, особливо в гіпокампі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мелатонін, епіталамін, гостра гіпобарична гіпоксія, перекисне окиснення ліпідів, фронтальна кора, гіпокамп, септум, габенула.

ВСТУП. Протягом останніх десятиріч увага багатьох дослідників залишається прикутою до вивчення гіпоксії як типового патологічного процесу, який є патогенетичною основою або важливим компонентом патогенезу багатьох захворювань [6, 8]. Встановлено, що однією з найважливіших ланок деструктивної дії гіпоксії є активація вільнорадикального окиснення макромолекул водночас із порушенням антиоксидного захисту клітин [9]. Тому відновлення порушеної прооксидно-антиоксидної рівноваги вважається одним з найважливіших напрямків корекції гіпоксичних порушень.

Встановлено, що індольний гормон шишкоподібного тіла (пінеальної залози, епіфіза мозку) мелатонін проявляє виражені антиоксидні властивості, "перехоплює" вільні радикали, сприяє утворенню ендogenous антиоксиданта відновленого глутатіону та активує інші системи антиоксидного захисту нейронів [5]. Крім того, доведено, що мелатонін має комплексні антигіпоксантні властивості [5]. Водночас показано, що пептидні гормони шишкоподібного тіла здійснюють не менш виражений, ніж індольний гормон мелатонін, антиоксидний захист клітин при різноманітних патологіях, подовжують тривалість життя, покращують метаболізм у нервовій тканині та в усьому організмі [1]. Нашими дослідженнями продемонстровано, що пінеальні пептиди

© I.I. Заморський – д.м.н., 2003.

чинять виражений нейропротекторний вплив при гострій гіпобаричній гіпоксії і при цьому діють у цілому передньому мозку навіть більш ефективно, ніж мелатонін [4].

Разом із тим, залишились невивченими особливості дії як індольних, так і пептидних пінеальних гормонів на інтенсивність вільнорадикального окиснення макромолекул в окремих структурах головного мозку. Тому метою нашого дослідження стало порівняння впливу мелатоніну й епіталаміну (низькомолекулярний пептидний препарат з шишкоподібного тіла [1]) на ступінь окиснення ліпідів до первинних (гідропероксидні сполуки) і вторинних (карбонільні сполуки) продуктів перекисного окиснення ліпідів у різних структурах переднього мозку щурів при окисному стресі, викликаному гострою гіпоксією.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на 129 статевонезрілих безпородних білих щурах-самцях масою 65-75 г ювенільного віку (5,5-6,0 тижнів). За два тижні до моделювання гострої гіпоксії визначали чутливість щурів до гіпоксії і в подальшому використовували лише середньостійких до гіпоксії тварин. Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали у проточній барокамері шляхом розрідження повітря до величин, що еквівалентні висоті 12000 м, зі швидкістю 50 м/с. На "висотному плато" щурів витримували до моменту

другого агонального вдиху, після чого здійснювали "спуск" на попередню нульову висоту. Частині тварин за 30 хв до моделювання гострої гіпоксії внутрішньочеревно вводили мелатонін ("Sigma", США) в 0,1 % розчині етанолу в дозі 1 мг/кг маси тіла або епіталамін ("Самсон", Росія) в 0,9 % розчині хлориду натрію в дозі 2,5 мг/кг маси тіла [2]. Контрольним щурам вводили еквівалентну кількість розчинника. Мелатонін вводили у фармакологічних дозах, які при внутрішньочеревному введенні створюють фізіологічні концентрації мелатоніну в крові [5]. Евтаназію тварин виконували в світловий період доби в звичайних умовах освітлення шляхом декапітації через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії. Видалений головний мозок промивали в холодному фізіологічному розчині і зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Для досліджень використовували такі структури переднього мозку: кору великих півкуль, переважно її фронтальну ділянку; гіпокамп, здебільшого поле CA1 його задньої частини; септальний і габенулярний комплекси, які виділяли згідно із стереотаксичним атласом мозку статевонезрілих щурів [10].

Ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидних і карбонільних сполук ("індекси окиснення ліпідів") розраховували в умовних одиницях як відношення оптичної густини зразка ліпідних екстрактів при довжині хвилі 232 і 278 нм відповідно до оптичної густини цього зразка при довжині хвилі 220 нм [7]. Екстракцію ліпідів з супернатантів структур виконували сумішшю гексан-ізопропанол у співвідношенні 1:1 за об'ємом [3]. Супернатанти одержували після центрифугування при 900 г протягом 15 хв гомогенатів наважок структур переднього мозку. Наважки структур гомогенізували в охолодженому до 2-4 °С 0,25 М трис-НСІ ("Sigma", США) буфері (рН-

7,4) за допомогою скляного гомогенізатора. Оптичну густину визначали на спектрофотометрі СФ-46 ("ЛОМО", Росія), використовуючи гексанову фазу ліпідного екстракту. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою дисперсійного аналізу "ANOVA".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали (табл. 1 і 2), що введення мелатоніну та епіталаміну суттєво не впливає на ступінь окиснення ліпідів досліджуваних структур головного мозку в нормоксичних тварин. Після гострої гіпоксії (табл. 1) у корі головного мозку збільшувався на 18 % ступінь окиснення ліпідів до гідропероксидів і залишався достовірно незмінним – до карбонільних сполук; у гіпокампі ступені окиснення до гідропероксидів і карбонільних сполук зростали, відповідно, на 41 і 45 %. У септальному комплексі (табл. 2) підвищувався ступінь окиснення ліпідів до гідропероксидів на 30 %, а в габенулярному комплексі ступені перекисного окиснення ліпідів після гострої гіпоксії достовірно не змінювались. Отримані дані вказують на значно більшу чутливість ліпідів нейронів гіпокампа до дії вільних радикалів при окисному стресі, викликаному гострою гіпоксією, і дещо меншу – кори великих півкуль і септального комплексу.

Введення як мелатоніну, так і епіталаміну попереджало в цілому інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів при гострій гіпоксії. Так (табл. 1), у корі головного мозку після застосування мелатоніну ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидів зменшувався в середньому на 18 %, а ступінь окиснення до карбонільних сполук залишався на 13 % вищим, ніж у контрольних тварин, і суттєво не відрізнявся від показників у постгіпоксичних щурів. Після використання епіталаміну ступені окиснення ненасичених ліпідів до первинних і

Таблиця 1 – Вплив мелатоніну та епіталаміну на фоні гострої гіпобаричної гіпоксії на ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидних і карбонільних сполук у корі великих півкуль і гіпокампі ювенільних щурів ($M \pm m$, $n=7$)

Характер впливу	Ступінь окиснення ліпідів, ум. од.			
	до гідропероксидних сполук, E_{232}/E_{220}		до карбонільних сполук, E_{278}/E_{220}	
	у корі	у гіпокампі	у корі	у гіпокампі
Контроль	0,670±0,009	0,650±0,040	0,550±0,014	0,550±0,023
Мелатонін	0,620±0,031	0,690±0,079	0,530±0,033	0,600±0,034
Епіталамін	0,660±0,036	0,680±0,033	0,570±0,039	0,540±0,029
Гіпоксія	0,790±0,026*	0,920±0,047*	0,590±0,016	0,800±0,033*
Мелатонін і гіпоксія	0,650±0,042**	0,700±0,038**	0,620±0,011***	0,640±0,040**
Епіталамін і гіпоксія	0,680±0,031**	0,830±0,090	0,630±0,048	0,660±0,058**

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – зміни достовірні, порівняно з контрольними показниками ($p < 0,05$);

** – зміни достовірні, порівняно з показниками після гіпоксії без введення мелатоніну або епіталаміну ($p < 0,05$);

*** – зміни достовірні, порівняно з показниками після введення мелатоніну або епіталаміну без дії гіпоксії ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив мелатоніну та епіталаміну на фоні гострої гіпобаричної гіпоксії на ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидних і карбонільних сполук у септальному і габенулярному комплексах ювенільних щурів ($M \pm m$, $n=7$)

Характер впливу	Ступінь окиснення ліпідів, ум. од.			
	до гідропероксидних сполук, E_{232}/E_{220}		до карбонільних сполук, E_{278}/E_{220}	
	у септумі	у габенулі	у септумі	у габенулі
Контроль	0,890±0,043	0,860±0,043	0,740±0,056	0,600±0,028
Мелатонін	0,950±0,084	0,880±0,052	0,680±0,043	0,640±0,040
Епіталамін	0,980±0,092	0,810±0,037	0,830±0,065	0,720±0,070
Гіпоксія	1,160±0,083*	0,890±0,015	0,780±0,042	0,690±0,083
Мелатонін і гіпоксія	0,870±0,085**	0,890±0,031	0,640±0,037**	0,680±0,061
Епіталамін і гіпоксія	1,050±0,117	0,970±0,098	0,840±0,071	0,740±0,081

вторинних продуктів помітно не відрізнялись від контрольних даних, при цьому ступінь окиснення ліпідів до гідропероксидних сполук зменшувався на 14 %, порівняно з даними в постгіпоксичних тварин. У гіпокампі при гострій гіпоксії мелатонін нормалізував до рівня показників у контрольних щурів ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидних і карбонільних сполук (відповідні показники зменшувались щодо даних при гострій гіпоксії в середньому на 24 і 20 %). Епіталамін помітно зменшував ступінь окиснення ліпідів до карбонільних сполук в середньому на 17 %, залишаючи показник окиснення ліпідів до первинних гідропероксидних продуктів на рівні, який достовірно не відрізнявся від контрольних даних. Отже, у гіпокампі мелатонін дещо ефективніше, ніж епіталамін, усував інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів.

У септальному комплексі (табл. 2) при гострій гіпоксії мелатонін зменшував ступінь окиснення ненасичених ліпідів до гідропероксидних і карбонільних сполук, порівняно з даними при гіпоксії без введення мелатоніну, відповідно на 25 і 18 %. Водночас у даному комплексі помітніше виявилась антиоксидна дія мелатоніну: на фоні гострої гіпоксії введення цього індолюного гормону достовірно зменшувало ступінь окиснення ненасичених ліпідів до карбонільних сполук, порівняно з даними без введення гормону, хоча у постгіпоксичних тварин вірогідних змін, на відміну від контрольних показників, не було виявлено. Епіталамін у септальному комплексі не впливав на досліджені показники перекисного окиснення ліпідів. У габенулярному комплексі після введення пінеальних гормонів у постгіпоксичних

тварин, як і у нормоксичних, інтенсивність перекисного окиснення ліпідів за досліджуваними показниками суттєво не відрізнялася від контрольних даних.

Таким чином, наведені дані свідчать про ефективнішу антиліпоперекисну дію індолю мелатоніну при гострій гіпоксії, ніж пептидів, що входять до складу епіталаміну, особливо в найбільш чутливій до перекисного окиснення ліпідів структурі головного мозку – гіпокампі. Пептидний препарат епіталамін здійснює менший антиоксидний захист ліпідів через те, що, по-перше, епіталамічні пептиди, ймовірно, не проходять гематоенцефалічний бар'єр і безпосередньо не впливають на нейрони, по-друге, вважають, що значна частина ефектів епіталаміну в організмі опосередкована дією мелатоніну, вироблення якого збільшується пінеальною залозою після введення цього препарату [1, 2].

ВИСНОВКИ. 1. У гіпокампі відбувається більш виражена інтенсифікація перекисного окиснення ненасичених ліпідів до первинних і вторинних продуктів за умов гострої гіпоксії, ніж в інших досліджених структурах переднього мозку (фронтальній корі, септальному і габенулярному комплексах).

2. Ліпіди клітин габенулярного комплексу проявляють найбільшу стійкість до вільнорадикального окиснення, викликаного гострою гіпоксією.

3. Мелатонін здійснює помітніший антиоксидний захист ненасичених ліпідів нервових клітин переднього мозку при окисному стресі, викликаному гострою гіпоксією, ніж епіталамін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Роль пептидов эпифиза в регуляции гомеостаза: 20 летний опыт исследования // Усп. соврем. биол. – 1993. – 113, вып. 6. – С. 752-762.
2. Бондаренко Л.А. Современные представления о физиологии эпифиза // Нейрофизиол. – 1997. – 29, № 3. – С. 212-237.
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. Заморський І.І. Вплив мелатоніну й епіталаміну на стан окислювально-антиоксидантної рівноваги в передньому мозку щурів за гострої гіпоксії // Одеський мед. журн. – 1999. – № 4 (54). – С. 31-33, 87-88.

5. Заморский И.И., Пишак В.П. Влияние мелатонина на содержание циклических нуклеотидов и интенсивность ПОЛ в гиппокампе и габенуле головного мозга крыс при острой гипоксии // Бюл. эксперим. биол. – 2000. – 130, № 8. – С. 168-171.

6. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. эксперим. биол. – 1997. – 124, № 9. – С. 244-254.

7. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопр. мед. хим. – 1991. – 37, № 4. – С. 92-93.

8. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии / Под ред. М.М. Середенко. – К.: Наук. думка, 1987. – 198 с.

9. Савченкова Л.В., Лукьянчук В.Д. Современные представления о генезе гипоксического синдрома и принципах его фармакокоррекции (обзор литературы и собственных исследований) // Журн. АМН України. – 1997. – 3, № 4. – С. 554-566.

10. Sherwood N., Timiras P. A stereotaxic atlas of the developing rat brain. – Los Angeles, London: University of California press, Berkeley, 1970. – 204 p.

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ДИСКРЕТНЫХ СТРУКТУРАХ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕЛАТОНИНА И ЭПИТАЛАМИНА НА ФОНЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

И.И. Заморский

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Исследовано влияние одноразового внутривентрального введения мелатонина (1 мг/кг) и эпیتالаміна (2,5 мг/кг) на степень окисления ненасыщенных липидов до гидропероксидных и карбонильных соединений во фронтальной коре, гиппокампе, септальном и габенулярном комплексах переднего мозга неполовозрелых белых крыс-самцов на фоне острой гипобарической гипоксии. Установлено, что введение мелатонина, и эпیتالаміна предотвращает интенсификацию перекисного окисления липидов при воздействии острой гипоксии, особенно в гиппокампе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мелатонин, эпیتالамин, острая гипобарическая гипоксия, перекисное окисление липидов, фронтальная кора, гиппокамп, септум, габенула.

THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN RATS' DISCRETE FOREBRAIN STRUCTURES UNDER MELATONIN AND EPITHALAMIN ADMINISTRATION AGAINST THE ACUTE HYPOXIA BACKGROUND

I.I. Zamorsky

BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The effect of a single-shot intraperitoneal administration of melatonin (1 mg/kg) and epithalamin (2,5 mg/kg) on the oxidation degrees of unsaturated lipids to hydroperoxide and carbonyl compounds in frontal cortex, hippocampus, septal and habenular complexes of the forebrain of juvenile male white rats was investigated under the acute hypobaric hypoxia. It was established that both drugs prevented an acute hypoxia intensification of lipid peroxidation, especially in the hippocampus.

KEY WORDS: melatonin, epithalamin, acute hypobaric hypoxia, lipid peroxidation, frontal cortex, hippocampus, septum, habenula.

Отримано 14.01.2003 р.

Адреса для листування: І.І. Заморський, вул. Фрунзе, 1А, кв. 16, Чернівці, 58022, Україна.