

- 252c. 11. *Chik C. L., Liu Q. Y., Li B. et al.* cGMP inhibits I-type Ca^{2+} channel currents through protein-phosphorylation in rat pinealocytes // *J. Neurosci.* – 1995. – V. 15, N 4. – P. 3104–3109. 12. *Ebadi M., Govitrapong P.* Neural pathways and neurotransmitters affecting melatonin synthesis // *J. Neural. Transmiss.* – 1986. – Suppl. 21. – P. 125–155. 13. *Ho A. K., Chik C. L.* Phosphatase inhibitors potentiate adrenergic-stimulated cAMP and cGMP production in rat pinealocytes // *Am. J. Physiol.-Endocrinol.* – 1995. – V. 31, N 3. – P. E458–E466. 14. *Lynch H. J., Deng M.-H.* Pineal responses to stress // *J. Neural Transmiss.* – 1986. – Suppl. 21. – P. 461–473. 15. *Moller M.* Fine structure of the pinealopetal innervation of the mammalian pineal gland // *Microsc. Res. and Techn.* – 1992. – V. 21, N 3. – P. 188–204. 16. *Reiter R. J.* Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation // *Front. Neuroendocrinol.* – 1995. – V. 16, N 4. – P. 383–415. 17. *Sugden D.* Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland // *Experientia.* – 1989. – V. 45, N 10. – P. 922–932. 18. *Zimmermann R. C., Krahn L., Klee G. et al.* Inhibition of presynaptic catecholamine synthesis with alpha-methyl-para-tyrosine attenuates nocturnal melatonin secretion in humans // *J. Clin. Endocrinol.* – 1994. – V. 79, N 4. – P. 1110–1114. 19. *Zimmermann R. C., Krahn L., Klee G. et al.* The impact of gender on alpha-methyl-paratyrosine mediated changes in prolactin secretion and 6-hydroxymelatonin sulfate excretion // *Psychoneuroendocrinology.* – 1996. – V. 21, N 5. – P. 469–478.

THE ROLE OF NONADRENERGIC REGULATION IN PINEAL RESPONSE TO ACUTE HYPOXIA

I. I. Zamorskyi, V. P. Pishak, S. S. Tkachuk

Abstract. The influence of acute hypobaric hypoxia on the cAMP and cGMP contents in the pineal body of juvenile male rats against a background of antiadrenergic drugs administration (α -methyl-*p*-tyrosine as an inhibitor of the catecholamines synthesis and α - and β -adrenoblocker) was investigated. It was established that acute hypoxia increased the pineal cyclic nucleotide contents, and the antiadrenergic drugs decreased their contents. Acute hypoxia together with antiadrenergic drugs pretreatment increased the pineal cyclic nucleotide contents. The obtained results are indicative of the participation of nonadrenergic influences in the regulation of the activity of the rats' pineal body under conditions of acute hypoxia.

Key words: pineal body, cAMP, cGMP, acute hypobaric hypoxia, α -methyl-*p*-tyrosine, α - and β -adrenoblocker.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi).

УДК: 612.273.2:591.481.1:577.352.38:612.826.33.015.22

I. I. Заморський, І. Ю. Сопова, К. І. Павлуник, В. П. Чичеба

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ ТА ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ПОСТІЙНОЇ ТЕМРЯВИ

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

Ключові слова: постійна темрява, мелатонін, гостра гіпобарична гіпоксія, продукти пероксидного окислення ліпідів, кора головного мозку.

Резюме. Досліджена дія внутрішньоочеревинного введення мелатоніну за постійної темряви на інтенсивність утворення первинних, вторинних

і третинних продуктів пероксидного окислення ліпідів при гострій гіпобаричній гіпоксії. Встановлено, що постійна темрява сприяє антиоксидантній дії мелатоніну та зменшує пероксидне окислення ліпідів до первинних і вторинних продуктів.

Вступ. Нашими попередніми дослідженнями [1] показано, що різні умови освітлення, зокрема такі протилежні, як постійні освітлення та темрява, викликають полярні зміни у стані оксидантно-антиоксидантної рівноваги в корі головного мозку щурів: при постійному світлі інтенсивність пероксидного окислення ліпідів зростає, а при постійній темряві — знижується. Такі фотозалежні зміни ліпідної пероксидації обумовлені, на наш погляд, зміною активності шишкоподібного тіла, яке в темряві підвищує вироблення та секрецію в кров і ліквор мелатоніну. Мелатонін є вираженим антиоксидантом [3, 4, 7] і досить ефективно протидіє окисному стресу, в тому числі при гострій гіпоксії [2]. Однак дані про дослідження антиоксидантної дії екзогенного мелатоніну при зміненому рівні утворення ендogenous мелатоніну в літературі практично не зустрічаються.

Мета дослідження. Вивчити вплив мелатоніну на фоні додаткової функціональної активації шишкоподібного тіла при постійній темряві і, відповідно, збільшення рівня ендogenous мелатоніну на інтенсивність ліпідної пероксидації в корі головного мозку щурів.

Матеріал і методи. Експерименти проведені на 45 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 і за тиждень до моделювання гострої гіпоксії витримували при постійній темряві. Одній групі тварин (n = 18) за 30 хв до моделювання гострої гіпоксії внутрішньоочеревинно вводили мелатонін ("Sigma", США), розчинений в 0,1% розчині етанолу, в дозі 1 мг на 1 кг ваги тіла. Другій групі (n = 8) 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.

З тварин першої групи, яким вводили мелатонін, одна частина залишалась інтактною, а іншу піддавали дії гострої гіпоксичної гіпобаричної гіпоксії, яку 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 моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали "спуск" на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин. Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації через 30 хв після припинення гострої гіпоксії. Всі маніпуляції з тваринами (доступ до тварин під час годування, введення речовин, моделювання гострої гіпоксії, декапітація) виконували тільки при слабкому (2 лк) червоному світлі, що

підтримує показники мелатоніну в організмі на постійно високому рівні [1, 6].

Видалений головний мозок промивали в холодному фізіологічному розчині і зберігали в рідкому азоті. При проведенні визначення продуктів пероксидного окислення ліпідів наважку кори головного мозку гомогенізували в 0,25 М трис-НСl (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 та ступінь їх окислення до гідропероксидних, карбонільних і азометинових сполук визначали і розраховували так, як описано раніше [2]. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програми "STATISTICA 5.0" [5] з використанням для оцінки вірогідності різниць окремих груп даних параметричного (t Стьюдента) та непараметричних (Вілкоксона, U Манна-Уїтні) критеріїв, а також одностороннього дисперсійного аналізу "ANOVA".

Результати досліджень та їх обговорення. Згідно з наведеними в таблиці даними видно, що за гострої гіпоксії збільшується ступінь окислення ненасичених ліпідів кори головного мозку щурів до карбонільних сполук (кетодієнових та кетотрієнових кон'югатів) в середньому на 8% ($P < 0,05$) в порівнянні з показниками у контрольних тварин. Порівнюючи ці дані з раніше опублікованими нами дослідженнями [2] по впливу гострої гіпоксії за природних умов освітлення на вміст продуктів ліпідної пероксидації в корі мозку статевонезрілих щурів, можна зазначити, що інтенсивність окисного стресу внаслідок дії гострої гіпоксії при постійній темряві менший, ніж за звичайних умов освітлення. За природних умов освітлення було виявлено збільшення вмісту як первинних продуктів пероксидного окислення ліпідів (сполук з ізольованими подвійними зв'язками та гідропероксидів), так і вторинних продуктів, а також ступінь окислення ліпідів до первинних продуктів, чого не спостерігається при постійній темряві.

Введення мелатоніну тваринам, яких не піддавали дії гострої гіпоксії, призводить до зменшення вмісту вторинних продуктів пероксидного окислення ліпідів в порівнянні з показниками у контрольних тварин в середньому на 17% ($P < 0,05$), що не реєструвалось за природних умов освітлення [2]. Це може свідчити про імовірне потенціювання антирадикальної дії екзогенного мелатоніну на фоні його підвищеного ендogenous рівня при постійній темряві.

Введення мелатоніну тим щурам, яких піддавали впливу гострої гіпоксії, показує зменшення інтенсивності ліпідної пероксидації до первинних і вторинних продуктів в порівнянні з показниками після гострої гіпоксії у тих тварин, яким не вводили мелатонін. Так, зменшується вміст первинних продуктів (сполук з ізольованими подвійними зв'язками) в середньому на 11% ($P < 0,02$) та вторинних продуктів в середньому на 16% ($P < 0,05$) з одночасним зменшенням ступеня окислення ліпідів до вторинних продуктів в середньому на 13% ($P < 0,05$) при порівнянні з показниками у тварин при гострій гіпоксії без введення мелатоніну. Співставляючи ці дані з даними, що отримані за природних умов освітлення [2], треба зауважити, що без збільшення ендogenous функціональної активності шишкоподібного тіла за звичайних умов освітлення екзогенний

Вплив мелатоніну та гострої гіпобаричної гіпоксії за постійної темряви на вміст первинних, вторинних та третинних продуктів перекисного окислення ліпідів і ступінь окислення ненасичених ліпідів в корі головного мозку ювенільних щурів ($M \pm m, n=7$)

Характер впливу	Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів в одиницях оптичної густини на г тканини				Ступінь окислення ліпідів в умовних одиницях		
	сполуки з ізольованими подвійними зв'язками	гідро-пероксиди (дієнові кон'югати)	кетодієнові та кетотрієнові кон'югати	азометини (шифові основи)	до гідропероксидних сполук, E 232 E 220	до карбонільних сполук, E 278 E 220	до азометинових сполук, E 400 E 220
Контроль	63,7±4,18	52,7±1,87	35,9±1,94	8,3±0,67	0,70±0,033	0,51±0,011	0,12±0,016
Гіпоксія	67,2±1,20	53,9±1,44	35,3±1,16	8,0±0,73	0,78±0,051	0,55±0,008*	0,12±0,014
Мелатонін	59,3±1,99	48,5±1,34	29,6±2,08*	8,9±0,74	0,73±0,038	0,46±0,022	0,14±0,019
Мелатонін і гіпоксія	59,5±1,09**	49,4±1,99	29,1±2,05**	7,8±0,79	0,76±0,044	0,48±0,032**	0,13±0,021

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.

мелатонін теж обмежував ступінь активації ліпідної пероксидації, що виникала під дією гострої гіпоксії. Однак мелатонін при цьому лише зменшував вміст первинних продуктів ліпідної пероксидації та ступінь окислення до них, вірогідно не впливаючи на пероксидне окислення ліпідів до вторинних продуктів, що спостерігається при постійній темряві. Отже, функціональна активація шишкоподібного тіла при постійній темряві допомагає посиленню антирадикальної дії мелатоніну при гострій гіпоксії.

Висновок.

Постійна темрява сприяє антиоксидантній дії мелатоніну при гострій гіпоксії, обмежуючи вільнорадикальне окислення ліпідів в корі головного мозку самців статевонезрілих щурів як до первинних, так і до вторинних продуктів ліпідної пероксидації.

Література. 1. *Заморський І.І.* Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів за різного освітлення // Буковинський медичний вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 108–112. 2. *Заморський І.І., Сопова І.Ю., Павлуник К.І., Ігнатюк Т.В.* Вплив мелатоніну на інтенсивність пероксидного окислення ліпідів в головному мозку щурів за гострої гіпоксії // Буковинський медичний вісник. – 1998. – Т. 2, № 3-4. – С. 109–113. 3. *Арушанян Э.Б.* Участие эпифиза в антистрессовой защите мозга // Успехи физиол. наук. – 1996. – Т. 27, № 3. – С.31–50. 4. *Бондаренко Л.А.* Современные представления о физиологии эпифиза // Нейрофизиология. – 1997. – Т. 29, № 3. – С. 212–237. 5. *Боровиков В.П.* Популярное введение в программу STATISTICA. – М.: Компьютер-Пресс, 1998. – 267 с. 6. *Пишак В.П.* Функциональные связи эпифиза и почек у позвоночных: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – К., 1985. – 33 с. 7. *Reiter R. J.* Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation // Front. Neuroendocrinol. – 1995. – V. 16, № 4. – P. 383–415.

MELATONIN AND ACUTE HYPOXIA EFFECT ON LIPID PEROXIDATION INTENSITY IN THE RAT BRAIN CORTEX IN PERMANENT DARKNESS

I. I. Zamorskyi, I. Y. Sopova, K. I. Pavlunyk, V. P. Chycheba

Abstract. The effect of melatonin intraperitoneal administration under conditions of permanent darkness on the intensity of the formation of primary, secondary and tertiary lipid peroxidation products was investigated in case of acute hypobaric hypoxia. It was established that permanent darkness redounded to the antioxidant action of melatonin and reduced lipid peroxidation up to the primary and secondary products.

Key words: permanent darkness, melatonin, acute hypobaric hypoxia, lipid peroxidation products, brain cortex.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)