

**І.М. Яремій**  
**Е.Л. Ленга**

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці

## ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ПОКАЗНИКИ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ЗА РІЗНИХ УМОВ ФОТОПЕРІОДУ

**Ключові слова:** мелатонін, токсичний гепатит, глутатіонова система, печінка, змінений фотоперіод.

**Резюме.** Тетрахлорметановий гепатит викликає істотні зміни показників глутатіонової системи печінки тварин, як за умов рівнодення (12 год світла: 12 год темряви), так і за умов найкоротшого світлового дня (8 год світла: 16 год темряви) на 5-у і 7-у добу експерименту (зниження вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіонтрансферази, підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази). Уведення тваринам з токсичним гепатитом мелатоніну (3 мг/кг) корегує змінені показники, за умов найкоротшого світлового дня.

### Вступ

Мелатонін - гормон епіфіза, який відіграє важливу роль у регуляції гомеостазу організму людини. Він регулює добові та сезонні біоритми, секрецію гонадотропінів, пігментацію, впливає на обмін білків, жирів, вуглеводів, імунний та антиоксидантний статус організму [6].

На даному етапі розвитку медичної науки увагу науковців усе частіше привертає антиоксидантна дія цього гормону. За умов оксидативного стресу мелатонін бере безпосередню участь у знепкодженні в організмі надлишку активних форм кисню, зокрема реагує з пероксидом водню [2]. Результати експериментальних досліджень останніх років [9] показують корегуючий вплив мелатоніну щодо порушеного за умов токсичного гепатиту оксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Раніше [15], в умовах *in vitro* показано протективну дію мелатоніну при ушкодженні печінки мишей тетрахлорметаном: мелатонін у дозі 10 мг/кг пригнічував утворення в гепатоцитах малонового альдегіду (кінцевий продукт пероксидного окиснення ліпідів).

Нещодавно експериментально показана ефективність додаткового введення препарату мелатоніну тваринам із панкреатитом асоційованим із пошкодженням печінки [10]. Екзогенний мелатонін у дозі 20 мг/кг підвищував у тканинах печінки та підшлункової залози щурів активності каталази та глутатіонпероксидази [10]. Уведення мелатоніну інтактним щурам викликало підвищення в тканинах печінки тварин активностей основних антиоксидантних ферментів - супероксиддисмутази та каталази (відповідно у 1,6 та 1,8 раза порівняно з інтактним контролем) [9]. Окрім того, мелатонін впливає на експресію генів, які кодують вищезгадані ферменти [6].

© І.М. Яремій, Е.Л. Ленга, 2008

### Мета дослідження

У даній роботі вивчався вплив препарату "Мелатонін" ("Sigma", США) на функціонування захисної глутатіонової системи організму щурів за умов експериментального токсичного гепатиту на фоні різних умов фотоперіоду.

### Матеріал і методи

Експеримент проведено на 60 білих нелінійних щурах-самцях (*Ratus ratus* L.) масою  $180 \pm 10$ г, яких було розподілено на серії та групи:

I серія експериментів - тварини, які знаходилися в умовах штучного освітлення інтенсивністю 1500 люкс у режимі 12 годин освітлення (08.00-20.00) та 12 годин темряви (12С:12Т):

1 - контрольна група (інтактні тварини);

2- тварини, інтоксиковані тетрахлорметаном (тетрахлорметан вводили повторно (через день) перорально у вигляді 50% олійного розчину у дозі 0,25 мл/100г маси щура);

3- інтоксиковані тварини, яким після останнього введення тетрахлорметану, щоденно (о 8-й годині ранку) перорально вводили препарат мелатоніну з розрахунку 3 мг/кг маси щура;

II серія експериментів - тварини, яких упродовж усього експерименту утримували в умовах природнього освітлення (з 13 по 23 грудня 2007 року - період найкоротшого світлового проміжку доби, тривалість якого становила 8 годин; інтенсивність освітлення: 400-600 люкс). Розподіл тварин на групи було проведено аналогічно розподілу тварин у I серії дослідів.

Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією на 5-у та 7-у добу від початку введення мелатоніну. Печінку виділяли блоком, промивали у 0,9% розчині NaCl, ретельно висушували фільтрувальним папером і

подрібнювали пожнищами на льодовій бані. Із наважок готували 5% гомогенат на трис-НСІ-буфері (рН 7,4).

У супернатанті визначали активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [КФ 1.1.1.49] (Г-6-ФДГ) [4], глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.2] (ГР) [1], глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] (ГП) [3] та глутатіон-S-трансферази [КФ 2.5.1.18] (Г-S-T) [12]. Уміст відновленого глутатіону (ВГ) у печінці щурів визначали за методом [7].

Усі досліді на тваринах проводили із дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують із експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986).

Отримані експериментальні дані опрацьовували статистично методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

### **Обговорення результатів дослідження**

Як відомо [4], тетрахлорметан є потужною гепатотропною отрутою, одним із молекулярних механізмів дії якої є посилене утворення у гепатоцях активних форм кисню, які ініціюють процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та біополімерів. Як було показано нами раніше [12], інтоксикація щурів тетрахлорметаном супроводжується посиленням у крові та печінці тварин процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), про що, зокрема, свідчить підвищення в крові та гомогенатах печінки тварин умісту сполук із ізольованими подвійними зв'язками, кетодієнів та спряжених триєнів, малонового альдегіду. За умов токсичного гепатиту в плазмі крові та печінці інтоксикованих щурів збільшується також уміст окисно-модифікованих білків [9], спостерігається дискоординація у функціонуванні систем антиоксидантного захисту [8,12].

Зміни фотоперіоду безперечно позначаються як на функціонуванні печінки в цілому, так і на її оксидантно-антиоксидантному статусі, який суттєво порушується в умовах отруєння тварин тетрахлорметаном.

Так, у печінці гепатитних тварин, яких упродовж експерименту утримували в умовах штучно відтворюваного рівнодення (I серія експериментів) уже на 5-у добу після їх інтоксикації тетрахлорметаном відмічено (табл. 1) зниження вмісту відновленого глутатіону (на 23% порівняно з інтактними тваринами), що свідчить про його посилене використання для знешкодження токсичних метаболітів, зокрема активних форм кисню. Через тиждень після інтоксикації у печінці тварин, отруєних тетрахлорметаном, уміст відновленого глутатіону дещо підвищився порівняно з поперед-

нім терміном спостереження, проте залишався вірогідно нижчим, ніж у тварин контрольної групи (на 15%).

Активність глутатіонпероксидази (знешкоджув пероксид водню й інші гідропероксидази, зокрема гідропероксидази жирних та нуклеїнових кислот) на 5-у добу після інтоксикації підвищилась удвічі порівняно з показниками контролю і утримувалася на такому ж рівні до кінця спостереження.

Активність глутатіон-S-трансферази (бере участь у знешкодженні різноманітних ксенобіотиків, зокрема метаболітів тетрахлорметану, шляхом їх кон'югації з відновленим глутатіоном) у печінці гепатитних тварин була зниженою як на 5-у, так і на 7-у добу після інтоксикації (на 27% та 43% відповідно при порівнянні з інтактним контролем).

Щодо ферментів, які беруть участь у регенерації глутатіону з його окисненої форми, то активності останніх у печінці інтоксикованих тетрахлорметаном щурів I серії експериментів були вірогідно вищими від показників контролю упродовж усього терміну спостереження: активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - на 19 та 12%, а глутатіонредуктази - на 28 та 24% відповідно на 5-у та 7-у добу після останнього введення тетрахлорметану.

Порівнюючи показники глутатіонової системи гепатитних тварин I (12 годин темряви: 12 годин світла) та II (16 годин темряви: 8 годин світла) серій експерименту (табл. 1, 2) відмічено подібність характеру змін показників глутатіонової системи як на 5-у, так і на 7-у добу спостереження (у обох серіях спостерігалось зниження вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіон-S-трансферази, підвищення активностей глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази). Проте, слід зазначити, що у печінці тварин II серії експерименту вже на 5-ту добу після інтоксикації тетрахлорметаном уміст глутатіону відновленого був дещо нижчим, а активність глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази відповідно вищими, ніж у гепатитних щурів I серії, що вказує на швидшу активацію захисної глутатіонової системи печінки щурів в умовах короткого світлового дня, що, імовірно, обумовлене більшою за даних умов продукцією епіфізом мелатоніну.

Уведення тваринам на фоні інтоксикації тетрахлорметаном препарату мелатоніну у дозі 3 мг/кг сприяло нормалізації показників глутатіонової системи печінки щурів у обох серіях експерименту. Проте, у групі гепатитних тварин, які отримували даний засіб корекції перебуваючи в умовах короткого світлового дня нормалізація усіх досліджуваних показників відбулася значно швидше: усі показники глутатіонової системи не

Таблиця 1

Показники стану глутатіонової системи печінки щурів за умов штучного освітлення (12С:12Т ; 1500 лк) в нормі та при токсичному гепатиті (M±m; n=5)

		Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	Глутатіон-редуктаза, нмоль/мг білка•хв	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, нмоль/мг білка•хв	Глутатіон-пероксидаза, нмоль/мг білка•хв	Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/мг білка•хв
5 доба	Контроль	6,98± 0,33	3,46± 0,23	6,84± 0,12	89,07± 6,11	16,86± 0,17
	Гепатит	5,37± 0,28*	4,8± 0,13*	8,4± 0,19*	182,2± 35,6*	12,43± 0,17*
	Гепатит+ мелатонін	6,47± 0,34	4,3± 0,08*	7,25± 0,17	119,8± 11,5	13,56± 0,66*
7 доба	Контроль	7,21± 0,31	3,25± 0,17	6,86± 0,1	85,16± 6,29	20,57± 0,24
	Гепатит	6,19± 0,23*	4,2± 0,09*	7,71± 0,17*	116,6± 9,01*	11,79± 0,14*
	Гепатит+ мелатонін	7,22± 0,34	3,44± 0,11	7,02± 0,16	101,2± 8,67	20,11± 0,18

Примітка. \* - зміни вірогідні стосовно контролю (p<0,05)

Таблиця 2

Показники стану глутатіонової системи печінки щурів за умов природного освітлення(8С:16Т ; 500 лк) в нормі та при токсичному гепатиті (M±m; n=5)

		Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	Глутатіон-редуктаза, нмоль/мг білка•хв	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, нмоль/мг білка•хв	Глутатіон-пероксидаза, нмоль/мг білка•хв	Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/мг білка•хв
5 доба	Контроль	8,27± 0,56	3,86± 0,14	7,00± 0,18	116,1± 4,25	17,45± 0,16
	Гепатит	5,96± 0,33*	4,9± 0,05*	8,03± 0,17*	170,3± 5,39*	12,56± 0,09*
	Гепатит+ мелатонін	7,96± 0,61	4,31± 0,21	7,12± 0,18	119,5± 3,42	17,48± 1,15
7 доба	Контроль	9,09± 0,51	4,04± 0,19	6,41± 0,23	117,2± 4,24	18,49± 0,21
	Гепатит	6,94± 0,38*	4,6± 0,13*	6,85± 0,13	137,6± 4,19*	11,0± 0,38*
	Гепатит+ мелатонін	8,78± 0,45	4,29± 0,10	6,38± 0,11	116,6± 5,98	18,54± 1,29

Примітка. \* - зміни вірогідні стосовно контролю (p<0,05)

відрізнялися від таких у інтактних тварин уже на 5-у добу від початку введення мелатоніну, у той час, як у аналогічній групі тварин, яка перебувала в умовах модельованого рівнодення активності глутатіонредуктази та глутатіон-S-трансферази на 5-у добу спостереження все ще залишалися вірогідно відмінними від показників контролю (на 20 та 26% відповідно) і повністю нормалізувалися лише через тиждень після початку введення мелатоніну.

Привертає увагу також і те, що у печінці інтактних тварин, які перебували в умовах короткого світлового дня (II серія) зміст глутатіону відновленого та глутатіонпероксидази були вірогідно вищими, ніж у інтактних тварин, які перебували в умовах модельованого рівнодення (I серія) - на 14 та 23% відповідно.

Цілком імовірно, що такі зміни досліджуваних показників є результатом посиленої продукції мелатоніну, який як відомо [2], є ендogenous антиоксидантом і бере безпосередню участь у знешкодженні пероксиду водню.

Встановлено [6], що при утриманні лабораторних щурів в умовах повної темряви інтенсивність

перебігу процесів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах різко знижується, що, ймовірно, зумовлено експериментально індукованою гіперпродукцією мелатоніну.

У літературі також є дані [15], які свідчать про посилення синтезу ферментів глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази при введенні мелатоніну щурам із модельованим окиснювальним ушкодженням печінки за допомогою канцерогену сафарону.

Як антиоксидант мелатонін вдвічі активніший, ніж вітамін E та вітаміни групи B; у п'ять разів активніший, ніж відновлений глутатіон; набагато активніший, ніж синтетичні антиоксиданти [11,14].

Антиоксидантний ефект глутатіону відновленого в поєднанні з мелатоніном, як свідчать джерела літератури [10], значно перевищує антиоксидантну дію кожного із них окремо взятих. Проведені нами дослідження (табл.1,2), підтверджують цю гіпотезу, адже нормалізація показників глутатіонової системи у печінці гепатитних тварин, які перебували в умовах короткого світлового дня (гіперфункція епіфізу - гіперпродукція мелатоніну) відбулася швидше, ніж у таких, що перебували в

умовах експериментально відтвореного рівнодення.

Таким чином, мелатонін як екзо-, так і ендogenous походження, діє як фактор, що корегує порушень за умов інтоксикації тетрахлорметаном оксидантно-антиоксидантний статус організму щурів і може розглядатися як перспективний засіб корекції оксидантно-антиоксидантного та ритмологічного статусу організму, зокрема за умов патології печінки.

## Висновки

1. Тетрахлорметановий гепатит викликає істотні зміни показників глутатионової системи печінки щурів, як за умов рівнодення (12 год світла: 12 год темряви), так і за умов найкоротшого світлового дня (8 год світла: 16 год темряви) на 5-ту і 7-му добу експерименту (зниження вмісту відновленого глутатиону та активності глутатіон-трансферази, підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази).

2. Уведення тваринам мелатоніну (3 мг/кг маси впродовж 5-и і 7-и днів) викликало корекцію змінених показників, що чітко виражено за умов найкоротшого світлового дня.

## Перспективи подальших досліджень

Вивчити вплив мелатоніну на показники стану глутатионової системи печінки щурів за умов гіпо- та гіперфункції епіфіза.

**Література.** 1. *Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переселгина И.А.* Активність глутатионзависимих ферментів еритроцитів при хімічних захворюваннях печінки у дітей // *Лаб. дело.* - 1990. - №8. - С.19-21. 2. *Витязькова И.А., Илюха В.А., Ильина Т.Н. и др.* Влияние мелатонина и эпиталона на антиоксидантную систему крыс зависит от светового режима // *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* - 2006. - №3. - С.22-26. 3. *Геруш Г.В., Мещишин И.Ф.* Стан глутатионової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової // *Вісн. пробл. біол. і мед.* - 1998. - №7. - С.10-15. 4. *Губський Ю.И.* Коррекция химического поражения печени. - К.: Здоров'я, 1989. - 186с. 5. *Захарьин Ю.Л.* Метод определения глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // *Лаб. дело.* - 1967. - №6. - С.327-330. 6. *Кондратенко Е.И., Телль Д.Д.* Перикисное окисление липидов в условиях активации эпифиза. Влияние  $\alpha$ -токоферола. / *Итог. научн. конф. АГПУ, Астрахань 29 апреля 1998.* Химия, Физиология: Тез. докл. Астрахань, 1998. С.53. 7. *Мелатонин в норме и патологии* / Под ред. *Ф.И. Комарова, С.И. Рапопорта, Н.К. Малиновской, В.Н. Анисимова.* - М.: ИД Медпрактика - М, 2004. - 308с. 8. *Мещишин И.Ф.* Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, долестония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Дис. ... д-ра биол. наук. - Черновцы, 1991. - 254с. 9. *Мещишин И.Ф., Польший В.И.* Механизм окислительной модификации білків // *Буков. мед. вісник.* - 1999. - Т.3, №1. - С.196-205. 10. *Попов С.С., Пашков А.И., Попова Т.И. и др.* Мелатонин как

фактор коррекции процессов свободнорадикального окисления при токсическом поражении печени крыс // *Эксперим. и клин. фармакология.* - 2007. - Т.70, №1. - С.48-51. 11. *Процаев К.И., Ильницкий А.Н., Кастиная Т.В. и др.* Значение мелатонина в диагностике некоторых заболеваний внутренних органов и перспективы его применения в практической медицине // *Мед. акад. ж.* - 2007. - Т.7, №2. - С.95-105. 12. *Яремий І.М.* Оксидантно-антиоксидантний стан організму щурів за умов оксидантного стресу та дії настоянки арніки гірської: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04/ Чернівський державний університет ім. Ю.Фельдковича. - Чернівці, 1999. - 20с. 13. *Habig H.W., Pabs M.J., Jacoby W.B.* Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // *J. Biol. Chem.* - 1974. - Vol. 249, №22. - P.7130-7139. 14. *Sousa S.C., Castillo R.F.* Protective effect of melatonin on rotenone plus  $Ca^{2+}$ -induced mitochondrial oxidative stress and PC12 cell death // *Antioxid. Redox. Signal.* - 2005. - Vol. 7, №9-10. - P.1110-1116. 15. *Xu Jian-Ming, Xu Shu-Yun.* Успехи протекторного действия мелатонина при окислительном поражении печени // *Chin. Pharmacol. Bull.* - 1999. - Vol. 15, №1. - P.5-7. 16. *Xu Jian-Ming, Xu Shu-Yun, Mei Qiao and al.* Протективное действие мелатонина при окислительном поражении печени у мышей, вызванном четыреххлористым углеродом // *Pharmacol. Bull.* - 1999. - Vol. 15, №4. - P.311-313.

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА НА ФОНЕ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ ФОТОПЕРИОДА

*И.И. Яремий, Э.Л. Ленга*

**Резюме.** Тетрахлорметановый гепатит вызывает существенные изменения показателей глутатионової системи печені животної, як в умовах рівноденства (12 час світла: 12 час темноти), так і в умовах кратчайшого світлового дня (8 час світла: 16 час темноти) на 5-й і 7-й дні експерименту (зниження рівня відновленого глутатиону та активності глутатіонтрансферази, підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази). Введення гепатитним животним мелатоніну (3 мг/кг) коректує змінені показники, що чітко виражено в умовах самого короткого світлового дня.

**Ключевые слова:** мелатонин, токсический гепатит, глутатионової система, печеня, змінений фотоперіод

## THE EFFECT OF MELATONIN ON PARAMETERS OF GLUTATHIONE SYSTEM UNDER CONDITIONS OF TOXIC HEPATITIS IN CASE OF DIVERSE DURATION OF A PHOTOPERIOD

*I.M. Yaremij, E.L. Leng*

**Abstract.** Tetrachloromethane hepatitis causes substantial changes of glutathione system parameters in the liver of animals under conditions of equinox (12 hours of light: 12 hours of darkness) and conditions of the shortest light period (8 hours of light: 16 hours of darkness) on 5th and 7th days of experiment (decrease of reduced glutathione level and glutathione transferase activity increase of glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione reductase and glutathione peroxidase activities). Introduction of melatonin (3 mg/kg) to hepatitis animals corrects changed parameters, what is the most apparent under conditions of the shortest light period.

**Key words:** melatonin, toxic hepatitis, glutathione system, liver, diverse photoperiod.

**Bucovinan State Medical University (Chernivtsi)**

*Clin. and experim. pathol.* - 2008. - Vol. 7, №1. - P.124-127.  
Надійшло до редакції 21.02.2008

Рецензент - проф. І.І. Заморський