

УДК 612.46:612.017.2:019

Н.П.Григор'єва, І.В. Мацьопа

ХРОНОРИТМИ АКТИВНОСТІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В НИРКАХ ЩУРІВ

Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці)

Вступ. Відомо, що всі метаболічні процеси живого організму підпорядковані циркадіанним ритмам, які порушуються при патологічних процесах, зокрема за умов оксидативного стресу [2]. Тому цікавим для вивчення є активність ферментів антиоксидантного захисту, які забезпечують оксидантно-антиоксидантну рівновагу в тканинах. Єдиним ферментом, який знешкоджує супероксидний аніон-радикал, є супероксиддисмутаза (СОД). В організмі тварин і людини СОД знайдена практично у всіх тканинах і органах [3]. Найвища активність цього ферменту спостерігається у мозку, печінці, еритроцитах, нирках, щитоподібній залозі.

Багато патологічних процесів супроводжується в організмі порушенням часової організації фізіологічних функцій.

Метою дослідження явилось вивчення хроноритмів активності супероксиддисмутази в нирках за умов фізіологічної норми.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були нелінійні білі щурі-самці масою 180-200 г, яких утримували в умовах віварію зі сталим температурним режимом (+20°C). Фотоперіодичні зміни активності супероксиддисмутази в нирках вивчали за: 1) умов природного освітлення в період весняного рівнодення; 2) контрольні тварини, які знаходились за умов зміненого світлового

режиму: 12 годин штучного освітлення, 1500 люкс (8.00-20.00) та 12 годин повної темряви (20.00-8.00); 3) тварини, які знаходились при штучному світловому режимі протягом 24 год. (1500 лк); 4) тварини, які знаходились за умов повної темряви протягом 24 год.; 5) тварини, які знаходились при штучному світловому режимі протягом 24 год. (1500 лк) та з додатковим внутрішньошлунковим введенням мелатоніну (0,3 мг/100 г маси тварин). Фотоперіодичні зміни в організмі тварин моделювали впродовж тижня.

Евтаназію тварин здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції захисту експериментальних тварин під легким ефірним наркозом. Активність супероксиддисмутази визначали у постядерному супернатанті гомогенату нирок за ступенем інгібування процесу відновлення нітротетразолію синього у системі феназінметасульфат-НАДН-нітротетразолій синій [1]. Склад інкубаційного середовища адаптували для визначення активності ферменту в супернатанті гомогенату нирок. В інкубаційне середовище (4 мл) додавали 3,35 мл 16,5 мМ пірофосфатного буферу (рН 8,4), 0,2 мл нітротетразолію синього (1мг/мл), 0,2 мл феназінметасульфату (40 мкг/мл) і 0,05 мл супернатанту 5% гомогенату нирок. Реакцію запускали 0,2 мл НАДН (1,4 мг/мл). Оптичну густину розчину вимірювали через 10 хв

**Хроноритми активності
супероксиддисмутази в нирках щурів**

Умови досліджу	Години досліджу			
	8.00	12.00	16.00	20.00
Природне рівнодення	5,28±0,22	5,27±0,36	4,64±0,18*	5,08±0,22
Штучне рівнодення	4,7±0,18	4,42±0,07*	3,83±0,15*	4,77±0,09
24 години світла	4,95±0,33	4,90±0,73	4,74±0,10	5,27±0,24
24 години темряви	4,95±0,25	4,73±0,11	4,67±0,10*	5,37±0,21
24 години світла з введенням мелатоніну	5,57±0,14	5,4±0,17	5,27±0,19*	5,84±0,13

Примітка: * - активність ферменту вірогідно відрізняється у порівнянні з показниками о 8.00 (в межах групи).

на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 540 нм. Паралельно проводили реакцію з холостою пробєю (не містить супернатанту) і з пробєю на реактиви (не містить НАДН).

Активність ферменту виражали в одиницях, розрахованих на мг білка. Одна одиниця активності ферменту відповідає 50%-ному гальмуванню реакції відновлення нітротетразолію за 10 хв інкубації. Вміст білка в пробах визначали за методом Лоурі [4].

Результати досліджень та їх обговорення. Показано, що активність супероксиддисмутази в нирках щурів протягом світлового дня знижується на 16-ту годину в порівнянні з 8-ю годиною ранку на 13% (табл.) і знову зростає на 20-ту годину. Така закономірність була характерною за умов як природного, так і штучного рівнодення (табл.).

Мезор активності ферменту в нирках складає 5,06 Од/мг, амплітуда – 0,64. Аналіз значень амплітуди активності ферменту вказує на те, що величини коливань активності СОД протягом світлового дня мають незначні зміни.

Утримання тварин за умов штучного експериментального повного освітлення або повної темряви протягом 7 діб дещо знижувало абсолютні значення активності супероксиддисмутази в нирках, проте хроноритми активності ферменту протягом дня зберігалися (табл.).

Введення тваринам мелатоніну протягом 7 діб у дозі 0,3 мг/100 г маси

тварин на фоні повного освітлення підвищувало активність ферменту на 10-12%, яка знаходилась на рівні показників природного рівнодення. Мінімальна активність ферменту спостерігалася на 16-ту годину (табл.)

Висновки. Активність супероксиддисмутази в нирках протягом світлового дня змінюється і мінімальна на 16-ту годину.

Зміна природних світлових режимів як повне освітлення, так і повна темрява протягом 7 діб призводять до зниження активності супероксиддисмутази в нирках.

Введення тваринам мелатоніну на фоні повного освітлення протягом 7 діб підвищує активність ферменту.

Перспективи подальших досліджень. Отримані нами результати є важливими, для виявлення десинхронізації активності ферменту при патологічних станах.

Предметом нашого подальшого дослідження буде більш детальне визначення хроноритмів активності ферменту за умов токсичного гепатиту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутази эритроцитов и плазмы крови // Лаб. дело. – 1983. – №10. – С.30-33.
2. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152 с.
3. Салига Ю.Т., Снітинський В.В., Яремко Р.М. Супероксиддисмутаза – ключовий фермент антиоксидантної системи (огляд літератури) // Експ. клін. фізіол. біох. – 1999, № 3. – С.7-16.
4. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Parr A.L., Randall R.I. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1953.-193, № 1. – P.265-275.

УДК 612.46:612.017.2-019

ХРОНОРИТМЫ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ПОЧКАХ

Григорьева Н.П., Мацьопа И.В.

Резюме. Изучали хроноритмы активности супероксиддисмутазы в почках в условиях различной длительности светового периода и при введении мелатонина. Установлено, что активность фермента в почках крыс при различных световых режимах минимальна в 16.00. Изменение условий световых режимов (полное освещение или полная темнота в течение 7 дней) понижают активность супероксиддисмутазы в почках. Введение животным мелатонина при полном освещении в течение 7 дней повышает активность фермента.

Ключевые слова: хроноритмы, крысы, почки, мелатонин, супероксиддисмутаза.

UDC 612.46:612.017.2-019

CHRONORHYTHMS OF SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN KIDNEYS

Grygorieva N.P., Matsiopa I.V.

Summary. Chronorhythms of superoxide dismutase activity in kidneys at varying duration of the photoperiod and the administration of melatonin have been studied. It has been established that enzyme activity in kidneys at varying duration of the photoperiod has minimum at 16.00. The change of the conditions of the photoperiod (full light or full darkness at 7 days) decreases of superoxide dismutase activity in kidneys. The administration of melatonin to animals at full light increases superoxide dismutase activity.

Key words: chronorhythms, rats, kidneys, melatonin, superoxide dismutase.

Стаття надійшла 2.11.2007 р.