

УДК 577.121:577.3

І.Ф. Мецишен
І.В. Мацьона

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА ДІЇ МЕЛАТОНІНУ ПРИ РІЗНІЙ ТРИВАЛОСТІ СВІТЛОВОГО ПЕРІОДУ

Ключові слова: мелатонін, токсичний гепатит, пероксидне окиснення ліпідів та білків, нирки.

Резюме. На білих нелінійних щурах-самцях із токсичним гепатитом, який викликано тетрахлорметаном вивчено антиоксидантну дію мелатоніну за різних умов освітлення. Встановлено, що механізм антиоксидантної дії мелатоніну полягає в зниженні інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів і білків нирок та активації антиоксидантних ферментів.

Вступ

Здоров'я організму людини визначається потужністю його антиоксидантної системи, направленої на знешкодження активних форм кисню та різних радикалів. Відомо [10], що всі метаболічні процеси живого організму підпорядковані циркадіанним ритмом. На сьогодні особливого значення набув вплив тривалості світлового дня на поведінку, стан здоров'я і працездатність людини, оскільки зміна дня і ночі є одним з найважливіших регуляторів фізичних реакцій

© І.Ф. Мецишен, І.В. Мацьона, 2007

організму. Пусковим механізмом цього процесу є синтез у темний період доби мелатоніну - індольного гормону шишкоподібної залози [14]. Як відомо, саме цей гормон забезпечує підтримання та регуляцію циркадіанних ритмів органів і систем організму [9,12].

Порушення циркадіанних ритмів може виникати при перебуванні організму в умовах постійного освітлення і проявляться явищами десинхронозу. Інтенсивне освітлення призводить не тільки до порушення біоритмів організму внаслідок пригні-

чення синтезу мелатоніну, а й виступає потужним стресовим фактором, запускає активацію стрес-реалізуючих систем організму [13].

Нирки, займаючи вагове місце в забезпеченні динамічної рівноваги внутрішнього середовища організму, і як будь-яка інша біологічна система, характеризуються часовою організацією функцій.

Координовані взаємовідносини між екстра- та інтра-ренальними чинниками регуляції діяльності нирок зумовлюють підвищену зацікавленість науковців до вивчення особливостей їх хроноритмологічної організації [2].

При цьому знайдено обмаль відомостей стосовно впливу різної тривалості світлового періоду на стан про- та антиоксидантної систем у нирках.

Мета дослідження

Дослідити вплив тривалості та інтенсивності світлового періоду дня на стан про- та антиоксидантної системи нирок за умов токсичного гепатиту та дії мелатоніну.

Матеріали і методи

Експеримент проведено на нелінійних білих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували в певних умовах. Тварин було поділено на чотири групи:

1-ша група тварин, яких утримували в умовах віварію зі сталим температурним (+200С) і природним світловим режимом (16,22 години світла і 7,78 годин темряви) протягом 7 діб - контрольна група тварин (експеримент проводили в червні);

2-га група тварин, яким моделювали токсичний гепатит і утримували в умовах віварію зі сталим температурним (+200С) і природним світловим режимом (24 години світла, 1500 люкс) протягом 7 діб;

3-тя група тварин зі змодельованим токсичним гепатитом, яких утримували в умовах віварію зі сталим температурним (+200С) і природним світловим (24 години світла, 1500 люкс) режимом протягом 7 діб, та з додатковим внутрішньошлунковим введенням мелатоніну (0,3 мг/100г маси тварин);

4-та група тварин, яким моделювали токсичний гепатит і утримували в умовах віварію зі сталим температурним (+200С) і світловим (24 години темряви) режимом протягом 7 діб;

5-та група тварин зі змодельованим токсичним гепатитом, яких утримували в умовах віварію зі сталим температурним (+200С) і світловим (24 години темряви) режимом протягом 7 діб та з додатковим внутрішньошлунковим введенням мелатоніну (0,3 мг/100г маси тварин).

Токсичний гепатит моделювали дворазовим введенням CCl_4 (50% розчин на оливковій олії) внутрішньошлунково з розрахунку 0,25 мл/100г маси тварин.

Евтаназію тварин здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції захисту експериментальних тварин, під легким ефірним наркозом. У гомогенатах нирок визначали вміст малонового альдегіду (МА) [7], окисно-модифікованих білків (ОМБ) [8], відновленого глутатіону (ВГ) [7] та активність каталази [5], глутатіонпероксидази (ГП) [7], глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) [6]. Отримані цифрові дані опрацьовували статистично.

Обговорення результатів дослідження

Експериментальний токсичний гепатит, викликаний введенням 50% олійного розчину тетрахлоретану, є модельною системою токсичного ураження організму. У молекулярних механізмах мембраноушкоджувальної дії CCl_4 *in vivo* слід розрізняти такі чинники: 1) зв'язування молекул ксенобіотика з гідрофобними ділянками біомембран; 2) здатність ксенобіотика до метаболізму за участю специфічної ферментної системи монооксигеназ ендоплазматичного ретикулуму з утворенням високотоксичних реакційноздатних метаболітів, що взаємодіють із біоструктурами клітини [4].

Найбільшого uszkodження за цих умов зазнають печінка, нирки та кров експериментальних тварин. Пероральне дворазове введення тваринам олійного розчину тетрахлометану призвело до посилення в тканинах нирок процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та накопичення молекулярних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ).

Так, на 3-тю добу після останнього введення CCl_4 в нирках досліджуваних тварин збільшився вміст одного з кінцевих продуктів ПОЛ - малонового альдегіду на 75% порівняно з контролем. Умови освітлення не впливали на перебіг токсичного гепатиту. На 5-ту добу вміст МА перевищував контроль на 80%. Однак, в нирках гепатитних тварин, яким внутрішньошлунково вводили мелатонін спостерігали зменшення вмісту МА протягом 7 діб експерименту порівняно з показниками групи тварин із змодельованим гепатитом на 40-50%.

Активні форми кисню, крім посиленні ПОЛ, сприяють окиснювальній модифікації білків, що призводить до втрати їх функціональної активності [8].

Нами встановлено зростання вмісту ОМБ нирок при отруєнні CCl_4 на 70-80% вище контролю протягом 7-ми діб експерименту. Поруч з цим,

Таблиця

Показники про- та антиоксидантної системи нирок щурів при токсичному гепатиті та дії мелатоніну за різної тривалості світлового дня (M±m, n=6)

Дослід	3 доба	5 доба	7 доба
Вміст малонового альдегіду, мкмоль/г.тканини			
Контроль	25,7±2,20		
Гепатит+світло	45,6±3,00*	48,1±2,91*	48,4±2,67*
Гепатит+світло+мелатонін	37,1±3,71*	36,1±3,84*	35,2±4,11
Гепатит+темрява	43,8±3,15*	44,1±2,11*	44,6±2,20*
Гепатит+темрява+мелатонін	31,0±3,52*	29,7±2,34	29,1±3,20
Вміст окисно-модифікованих білків, о.о.г./г.тканини			
Контроль	13,6±0,80		
Гепатит+світло	23,6±1,80*	25,4±2,61*	24,2±2,00*
Гепатит+світло+мелатонін	21,4±2,11*	21,5±2,11*	19,8±1,87*
Гепатит+темрява	24,2±2,24*	23,7±2,20*	22,8±2,17*
Гепатит+темрява+мелатонін	20,1±2,08*	19,84±1,88*	18,1±1,79*
Активність каталази, мкмоль/хв·г.тканини			
Контроль	22,9±3,00		
Гепатит+світло	10,9±0,81*	11,8±0,95*	14,9±1,21*
Гепатит+світло+мелатонін	19,5±1,87*	20,1±1,87	20,8±1,74
Гепатит+темрява	11,7±0,96*	13,5±1,20*	18,1±1,91*
Гепатит+темрява+мелатонін	19,8±1,85*	20,8±1,84	20,9±1,94
Вміст відновленого глутатіону, мкмоль/г.тканини			
Контроль	6,6±0,60		
Гепатит+світло	9,1±0,81*	9,5±0,90*	9,3±0,91*
Гепатит+світло+мелатонін	8,9±0,75*	8,4±0,75*	7,1±0,75
Гепатит+темрява	9,4±0,92*	9,6±0,97*	9,3±0,92*
Гепатит+темрява+мелатонін	8,4±0,84*	7,2±0,76	6,9±0,64
Активність глутатіонпероксидази, нмоль/хв·мг білка			
Контроль	105,1±10,20		
Гепатит+світло	142,3±15,31*	138,4±12,80*	121,2±11,89
Гепатит+світло+мелатонін	122,7±13,72*	119,9±10,99	117,9±10,99
Гепатит+темрява	141,3±15,11*	130,2±12,95*	124,8±11,87
Гепатит+темрява+мелатонін	137,1±13,80*	125,1±12,40	115,7±10,75
Активність глутатіон-S-трансферази, нмоль/хв·мг білка			
Контроль	24,2±2,50		
Гепатит+світло	11,4±1,10*	17,1±1,80*	18,8±1,97
Гепатит+світло+мелатонін	18,1±1,79*	19,4±1,95	20,1±2,10
Гепатит+темрява	12,8±1,30*	16,4±1,71*	19,5±2,00
Гепатит+темрява+мелатонін	17,9±1,81*	19,2±2,00	22,1±2,24

Примітка. * - вірогідність різниці з показниками контрольної групи $p \leq 0,05$

вміст ОМБ у нирках лікованих тварин незалежно від інтенсивності освітлення зростав на 40-50% порівняно з контролем. Інтенсивність перебігу вільнорадикальних реакцій в тканинах значною мірою визначається функціонуванням систем антиоксидантного захисту [1]. Так, вміст відновленого глутатіону (ВГ) на 5-ту добу перевищував контроль на 42% в нирках тварин отруєних CCl_4 і на 25% - в нирках тварин, яким вводили мелатонін після отруєння CCl_4 , незалежно від умов світлового режиму.

Знижувалася активність каталази нирок у гепатитних тварин на 50-60% протягом всього періоду експерименту.

Разом з тим, показники активності каталази нирок тварин, яким внутрішньоплунково вводили

мелатонін, були лише на 10-20% нижчими за контроль, а на 7-му добу досягали значень контролю в умовах повної темряви та світла.

Одним з механізмів внутрішньоклітинного окиснення відновленого глутатіону є реакції приєднання, зокрема до гідропероксидів ненасичених жирних кислот, в результаті реакції, що каталізується глутатіон-S-трансферазою (Г-S-T), що призводить до їх детоксикації з подальшим виведенням [14].

Спостерігали зниження активності Г-S-T нирок тварин із експериментальним токсичним гепатитом на 47-53% порівняно з показниками контрольної групи тварин на 3-тю добу. На 5-ту і 7-му добу експерименту активність даного ферменту підвищилась і досягла значень контролю.

Важливою ланкою захисту тварин від переокиснення є глутатіонпероксидаза (ГП), яка здатна до знешкодження пероксидних сполук - пероксиду водню та ліпопероксидів, що за умов інтоксикації CCl_4 генеруються в надлишку [3].

Нами встановлено, підвищення активності ГП нирок на 3-тю і 5-ту доби експерименту в групі тварин із токсичним гепатитом на 35-40% порівняно з контролем, а на 7 добу показники активності знижувалась і була вище контрольних на 14-17%.

Відомо, що фотоперіодичні зміни виявляють вплив на показники про- та антиоксидантної систем нирок. Режим освітлення призводить до змін функціональної активності шишкоподібної залози, що, в свою чергу, впливає на функції нирок [11]. Виявлено, що інтенсивність освітлення не впливає на показники про- та антиоксидантної систем нирок тварин із експериментальним токсичним гепатитом.

Уведення мелатоніну протягом 7-ми діб після інтоксикації CCl_4 вплинуло на вміст МА, ОМБ, ВГ та активність каталази, ГП, Г-S-T. Починаючи з 5-ї доби експерименту вміст МА нирок зростав на 50% в групі тварин, що перебували в умовах повного освітлення порівняно з контролем і знизився на 50% порівняно з показниками гепатитних тварин, які знаходилися за тих же умов освітлення. За умов повної темряви спостерігали зростання вмісту МА в нирках на 23% відповідно до контролю і зниження на 61% порівняно з показниками групи тварин, яким вводили CCl_4 і не призначали мелатонін.

Вміст ОМБ в нирках на 5 та 7-му доби зростав на 40-53% порівняно з контролем і знизився на 27-37%, відповідно, в порівнянні зі значеннями хворих на гепатит тварин.

Активність каталази нирок була нижчою контролю на 10-20% у тварин, які утримувалися при різній інтенсивності освітлення і відповідно вищою за показники тварин, яким вводили CCl_4 - на 20-30%.

Щодо вмісту ВГ, то спостерігали зростання значень у нирках тварин, які знаходились в умовах повної темряви на 25% порівняно з контролем і на 33% у тварин, які знаходились в умовах постійного освітлення. Однак, у порівнянні з показниками рівня ВГ в цих же групах із показниками хворих на гепатит тварин, то спостерігали зниження на 20-32% на 5 та 7-му доби експерименту. Інтенсивність освітлення не змінювала показники активності ферментів глутатіонової системи. Так, активність Г-S-T проявляла лише тенденцію до підвищення в групах тварин, які знаходилися в умовах темряви, порівняно з тими, що перебували в повному освітленні. Порівняно з контролем активність

даного ферменту на 10-25% була нижчою в тварин, які утримувалися в різних світлових режимах. Однак, на 7 добу експерименту показники активності Г-S-T досягали значень контролю в групах тварин, які перебували в умовах темряви.

Починаючи з 5 доби експерименту в нирках лікованих тварин, відмічено помірне зниження активності ГП порівняно з контролем на 10-20% протягом всього експерименту незалежно від умов освітлення, і відповідно, на 10-23% порівняно з показниками активності ферменту в нирках тварин, яким вводили CCl_4 і вони перебували в таких самих світлових умовах.

Виходячи з отриманих результатів, можемо стверджувати, що інтенсивність освітлення впливає на роботу шишкоподібної залози, а додаткове уведення мелатоніну стимулює захисні антиоксидантні системи організму.

Висновки

1. Інтенсивність освітлення (1500 люкс) змінювала показники про- та антиоксидантної системи нирок за умов токсичного гепатиту. Однак, при уведенні мелатоніну в умовах гіпофункції шишкоподібної залози більш суттєво змінюються показники активності ферментів глутатіонової системи, ніж при гіперфункції шишкоподібної залози порівняно з контролем.

2. Постійне освітлення викликає стрес-зумовлене підвищення рівня відновленого глутатіону, малонового альдегіду та окисно-модифікованих білків та призводить до гіпофункції шишкоподібної залози, результатом чого є втрата контролю нирками циркадіанних ритмів.

3. Інтенсивність освітлення впливає на роботу шишкоподібної залози, а додаткове введення мелатоніну стимулює захисні антиоксидантні системи організму.

Перспективи подальших досліджень

Буде продовжено вивчення стану захисних систем організму щурів за змінених умов фотоперіоду.

Література. 1. Белнічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І. та ін. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) // Совр. пробл. токсикол. - 2002. - № 3. - С. 24-30. 2. Булик Р.С., Бойчук Т.М. Роль шишкоподібного тіла в регуляції добових ритмів екскреторної функції нирок // Експерим. та клін. фізіол. і біохімія. - 2003. - № 1(21). - С. 11-15. 3. Горжанская Э.Г., Ларионова В.Б., Зубрихина Г.Н. и др. Роль глутатіонзависимых пероксидаз в регуляции утилизации липопероксидов в злокачественных опухолях // Биохимия. - 2001. - Т. 66, вып. 2. - С. 273-278. 4. Губський Ю.І. Корреляція хімічного поразення печеню-К: Здоров'я, 1989. - 168с. 5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майоров И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - № 1. - С. 16-19. 6. Мецишен И.Ф. Метод определения активности глутатіонтрансферазы в крови // В кн.: Применение ферментов в медицине. - Симферополь. - 1987. - С. 135. 7. Мецишен И.Ф. Механизм действия четвертичных

аммониевых соединений на обмен веществ в норме и патологии : Дис.... д-ра биол. наук. - Черновцы, 1991. - 254с. 8. *Мещишен І.Ф.* Метод визначення окиснювальної модифікації білків плази (сироватки) // Бук. мед. вісник. - 1998. - Т.2, №1. - С.156-158. 9. *Пішак В.П.* Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. - Чернівці: Медакадемія, 2003.-152с. 10. *Пішак В.П.* Функціональні зв'язи епіфіза і почек у позвоночник: Автореф.дис....докт.мед.наук: 14.00.17 // Черновицкий гос. мед. ин-тут.- К., 1985. - 32с. 11. *Степанчук В.В.* Хроноритмологічна структура екскреторної функції нирок впродовж циклу місяця за умов змін фізіологічного стану шишкоподібної залози // Бук. мед. вісник. -2006. -Т.10,№4. -С.163-165. 12. *Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н.* Пептидные биорегуляторы и старение.- СПб.: Наука, 2003.- 223с. 13. *Хлусов И.А., Фомина Т.И., Дыгай А.М. и др.* Реакция медуллярного вещества надпочечников на действие экстремальных факторов различной природы // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1997.- Т 123, №3.- С.293-295. 14. *Witt-Enderby P.A., Bennett J., Jarzynka M.J. et al.* Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanisms // Life Sci.- 2003 - Vol. 72, №20.- P. 2183-2198.

СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПОЧЕК КРЫС В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА И ДЕЙСТВИЯ МЕЛАТОНИНА ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ СВЕТЛОВОГО ПЕРИОДА

И.Ф. Мещишен, И.В. Мацена

Резюме. На белых нелинейных крысах-самцах с токсическим гепатитом, вызванным раствором тетрахлорметана и

изучено антиоксидантнос действие мелатонина состоит в снижении интенсивности процессов перекисного окисления липидов, белков почек и активации антиоксидантных ферментов.

Ключевые слова: мелатонин, токсический гепатит, перекисное окисление липидов и белков, почки.

THE STATE OF RPO- AND ANTIOXIDATIVE SYSTEM OF KIDNEYS OF RATS UNDER CONDITION OF TOXIC HEPATITIS AND MELATONIN ACTION IN CASE OF VARYING DURATION OF THE PHOTOPERIOD

I.F. Meshchysheh, I.V. Matsyopa

Abstract. Antioxidative action of melatonin has been studied under conditions of a varying duration of the photoperiod on nonline male rats with toxic hepatitis induced by tetrachloromethane solution. It has been established that mechanism of melatonin antioxidative action consists of a decrease of lipids and proteins peroxidation intensity in kidneys and activation of antioxidative enzymes.

Key words: melatonin, toxic hepatitis, lipid and protein peroxidation, kidneys.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2007. - Vol.6, №3.-P.65-69.

Надійшла до редакції 16.08.2007

Рецензент - проф. Ю.Є. Роговий