

УДК 612.11  
С. В. СЕМЕНЧУК  
м. Миколаїв

## СТАН КРОВІ В УМОВАХ ГІПОМЕЛАТОНІЕМІЇ

*Щурів втримували 10 та 30 діб в умовах цілодобового освітлення для отримання даних про зміни таких показників крові, як лейкоцитарна формула, протеолітично-антипротеолітична активність сироватки, прооксидантно-антиоксидантна система та стан гемокоагуляції. Внаслідок короткострокової гіпомелатоніемії у порівнянні з відповідними показниками норми виявилася незмінність формули крові, рівня пероксидації та вмісту інгібітору трипсину, активності глутатіонпероксидази в сироватці крові при зменшенні активності каталази, деяке скорочення часу рекальцифікації, збільшення тромбінового часу і величини протамінсульфатного тесту. При хронічній гіпомелатоніемії відбулася тенденція до гіперкоагуляції, збільшився відсотковий вміст сегментоядерних нейтрофілів при одночасному зменшенні вмісту лімфоцитів, суттєво збільшились показники НСТ-тесту і малонного діальдегіду при незначному підвищенні протеолітичної активності та незмінності вмісту дієнових кон'югатів. Активності каталази та глутатіонпероксидази знизились при незмінності супероксиддисмутази.*

*Ключові слова: гіпомелатоніемія, мелатонін, гемокоагуляція, прооксидантно-антиоксидантний стан, лейкоцитарна формула.*

**Постановка проблеми.** Праця в нічні зміни, існування в освітленому масиві міста або в умовах полярного дня, спання при світлі сприяють блокуванню синтезу мелатоніну в епіфізі, який постачає всім клітинам організму цю важливу біоактивну речовину. Особливо потерпають в таких умовах старі люди, в епіфізі, яких за рахунок відкладень мозкового піску, мелатоніну синтезується та секретується менше, ніж у молодих. Мелатонін, що синтезується в APUD-системі, використовується для аутокринної та паракринної дії. Мелатонін діє як сомногенний нейромедіатор, як гормон, що блокує синтез та секрецію статевих гормонів і поділ клітин (крім червоного кісткового мозку), стимулює імунну систему та найсильніший антиоксидант [1]. Мелатонін має прямі антиоксидантні властивості за рахунок водню аміногрупи та ароматичного ядра, а також опосередковані за рахунок ядерних рецепторів, комплекс з якими гальмує експресію генів прооксидантних ферментів (ліпоксигеназа, NO-синтаза) та активує експресію генів антиоксидантних ферментів (глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза) [2, 5, 12].

Раніше нами описані зміни стану крові при 55-ти денній гіпомелатоніемії у молодих щурів [9].

Але експериментальних даних про стан системи крові в умовах довготривалої гіпомелатоніемії у щурів недостатньо.

**Постановка завдання.** Метою роботи було визначення стану крові при короткостроковій (10 діб) та хронічній (30 діб) гіпомелатоніеміях в експерименті у тварин.

**Матеріал та методика дослідження.** Досліди були проведені на щурах-самцях середньою масою 220–260 г. Для моделювання короткострокової гіпомелатоніемії в експерименті було взято дві групи щурів. Перша група з восьми щурів складала інтактну групу (умовну вікову норму), друга група з восьми щурів була дослідною. Гіпомелатоніемію моделювали шляхом утримання щурів цілодобово в умовах освітлення (1000–1500 Лк) [1; 7], терміном 10 діб.

Так як два експерименти були рознесені по датах, то при моделюванні хронічної гіпомелатоніемії також було обрано дві групи щурів, інтактна та дослідна, в кожній групі по 7 щурів. Моделювання хронічної гіпомелатоніемії проводилось за тією ж методикою, але термін освітлення збільшився до 30 діб.

Після досліду у щурів вилучали кров, в якій визначали лейкоцитарну формулу, а у плазмі крові – показники прооксидантно-антиоксидантної системи, загальну протеолітичну активність та вміст інгібіторів трипсину, ключові показники згортання крові [8]. Достовірність результатів оцінювали за критерієм Ст'юдента. Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експе-

риментів та наукових цілей» [Страсбург, 1985] та ухвали Першого національного конгресу біоетики [Київ, 2001], порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідницької роботи не виявлено.

**Результати досліджень та їх обговорення.** При короткостроковій гіпомелатоніемії суттєвих змін в лейкоцитарній формулі не знайдено (табл. 1), відсоток вмісту поліморфноядерних та сегментоядерних нейтрофілів гранулоцитів, еозинофілів, моноцитів, лімфоцитів знаходився у межах норми, але кількість паличкоядерних гранулоцитів за абсолютними показниками ближче до верхньої межі норми. Припускаємо, що нестача мелатоніну компенсувалась для функції червоного кісткового мозку ефектами колонієстимулюючих факторів.

Внаслідок хронічної гіпомелатоніемії відсоток сегментоядерних нейтрофілів збільшився у 1,5 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з нормою, відсоток моноцитів збільшився на 27% ( $p < 0,01$ ), а лімфоцитів – зменшився на 26% ( $p < 0,002$ ). Суттєвих змін відсотку паличкоядерних нейтрофілів, еозинофілів не виявлено (табл. 2).

Загальна протеолітична активність та вміст інгібіторів трипсину в сироватці крові при 10-денній гіпомелатоніемії не змінилися внаслідок освітлення (табл. 1). Оскільки ці компоненти є факторами фагоцитозу (протеолітична активність) або реагентами гострої фази запалення (інгібітор трипсину) то слід вважати відсутність активації фагоцитів в умовах 10-денного цілодобового освітлення.

При хронічній гіпомелатоніемії відбувається незначне підвищення (30%) загальної протеолітичної активності при одночасному істотному збільшенню значень НСТ-тесту, що свідчить про досить високу активність нейтрофілів та збільшення продукції активних форм кисню (табл. 2).

При короткочасній гіпомелатоніемії (10 діб) суттєвих змін у концентрації в сироватці крові дієнових кон'югатів ацилгідроперекисів (дієни – первинні продукти пероксидації), малонового діальдегіду (МДА – вторинний продукт пероксидації), та активності глутатіонпероксидази не виявлено (табл. 1). Знизилася активності каталази на 34% ( $p < 0,01$ ) та супероксиддисмутази (СОД) в 3 рази ( $p < 0,02$ ). Незмінність концентрації

Таблиця 1

Величини окремих показників системи крові щурів за умов 10-денної гіпомелатоніемії

Показники	М ± m, p	Норма	Гіпомелатоніемія
Паличкоядерні, нейтрофіли %		1,25 ± 0,17	1,80 ± 0,40
Сегментоядерні нейтрофіли, %		28,38 ± 2,83	27,00 ± 3,76
Еозинофіли, %		2,75 ± 0,59	2,14 ± 0,54
Моноцити, %		5,81 ± 0,40	5,60 ± 1,20
Лімфоцити, %		62,28 ± 3,78	64,20 ± 3,91
Загальна протеолітична активність, нкат/л		1,82 ± 0,29	1,80 ± 0,31
Інгібітор трипсину, мг/мл		0,88 ± 0,08	0,83 ± 0,11
Дієнові кон'югати, ммоль/л		2,60 ± 0,13	2,77 ± 0,36
Малоновий діальдегід, мкмоль/л		1,41 ± 0,04	1,35 ± 0,07
Супероксиддисмутаза, ум. од		0,677 ± 0,116	0,218 ± 0,053 $p < 0,02$
Каталаза, мкат/л		0,261 ± 0,023	0,171 ± 0,012 $p < 0,01$
Глутатіонпероксидаза, мкат/л		1,21 ± 0,15	1,24 ± 0,14
Час рекальціфікації, сек		58,25 ± 1,65	51,75 ± 2,69 $p < 0,1$
Тромбіновий час, сек		37,50 ± 1,45	49,25 ± 4,62 $p < 0,05$
Протамінсульфатний тест, сек		23,00 ± 1,09	38,25 ± 5,16 $p < 0,05$

Примітка: тут та в наступній таблицях  $p > 0,1$  не вказано.

Величини окремих показників системи крові щурів  
за умов 30-денної гіпомелатоніемії

Показники	М ± m, p	Норма	Гіпомелатоніемія
Паличкоядерні, нейтрофіли %		1,71 ± 0,39	1,0 ± 0,18
Сегментоядерні нейтрофіли, %		24,0 ± 1,17	36,0 ± 2,05 p < 0,001
Еозинофіли, %		5,571 ± 1,72	6,0 ± 0,37
Моноцити, %		8,43 ± 0,18	10,71 ± 0,61 p < 0,01
Лімфоцити, %		60,43 ± 2,67	44,57 ± 2,67 p < 0,002
Загальна протеолітична активність, нкат/л		2,05 ± 0,28	2,69 ± 0,23
НСТ-тест, сдк		2,8 ± 0,80	7,2 ± 1,10 p < 0,05
Дієнові кон'югати, ммоль/л		3,68 ± 0,08	4,23 ± 0,39
Малоновий діальдегід, мкмоль/л		0,44 ± 0,06	0,76 ± 0,10 p < 0,02
Супероксиддисмутаза, ум. од		0,35 ± 0,02	0,20 ± 0,08
Каталаза, мкат/л		0,28 ± 0,04	0,13 ± 0,01 p < 0,01
Глютатіонпероксидаза, мкат/л		1,24 ± 0,09	0,89 ± 0,06 p < 0,01
Час рекальцифікації, сек		82,14 ± 4,18	66,43 ± 4,67 p < 0,02
Тромбіновий час, сек		31,57 ± 2,51	32,0 ± 1,02
Протамінсульфатний тест, сек		21,0 ± 0,58	19,29 ± 0,46 p < 0,05

первинних і вторинних продуктів пероксидації вказує на невираженість процесів вільнорадикального перекисного окислення як в самій сироватці крові, так і у клітинах, з яких ці продукти можуть вийти у кров. Найбільш сильним продуцентом активних форм кисню є оксидативна активність нейтрофілів. Постійність кількості зрілих нейтрофілів, відсутність збільшення продуктів пероксидації та незмінність значень загальної протеолітичної активності і вмісту антипротеїназ вказує на достатній антиоксидантний захист в сироватці крові і незмінність виходу активних форм кисню з нейтрофілів. Це доведено зниженням значень НСТ-тесту при збільшенні світлового дня [10]. Низький рівень мелатоніну в крові знижує рівень антиоксидантного захисту [4]. Каталаза є внутрішньоклітинним ферментом, що знаходиться в максимальній концентрації в еритроцитах. Можливо зменшення дії мелатоніну на ретикулоцити пригноблює синтез каталази та саму кількість ретикулоцитів, які перетворюються в еритроцити, крім цього

імуностимулюючий ефект мелатоніну на селезінку спонукав останню до елімінації старіючих еритроцитів, мембрани яких легко пошкоджуються. Можливе припущення, що відсутність ендogenous антиоксиданту викликає мобілізацію антиоксидантного захисту, що укріплює мембрани еритроцитів, внаслідок чого зменшується частка внутрішньосудинного гемолізу, що знижує вихід молекул каталази у плазми крові. Відомо, що в сироватці крові наявна окрема форма СОД невідомих джерел [3; 11]. Зниження надходження мелатоніну гальмує синтез і секрецію в сироватку супероксиддисмутази, оскільки мелатонін специфічно індукує експресію гену ферменту. Ці зміни не компенсувалися тим, що світло поглинається гемовою групою каталази і хромофорною групою супероксиддисмутази, що може впливати на ферменти в капілярах шкіри та на ділянках тіла, що не вкриті волоссям. У щурів антиоксидантний захист посилений аскорбіновою кислотою, яка не є для їх організмів есенціальною сполукою.

При хронічній 30-денній гіпомелатоніемії внаслідок значного підвищення значень НСТ-тесту збільшилася концентрація малонового діальдегіду в сироватці крові в 1,7 рази ( $p < 0,02$ ), що вказує на збільшення продукції активних форм кисню, які ініціюють неферментативне вільнорадикальне перекисне окислення біополімерів, але вміст дієнових кон'югатів не змінився (табл. 2).

Активність супероксиддисмутази сироватки крові не змінилась внаслідок 30-добової гіпомелатоніемії, але активність каталази зменшилася у 2,2 рази ( $p < 0,01$ ); активність глутатіонпероксидази в сироватці крові знизилась на 28% ( $p < 0,01$ ).

Таким чином, в умовах тридцятидобової гіпомелатоніемії виявилось посилення продукції активних форм кисню й пероксидації у сироватці крові при ослабленні активності антиоксидантних ферментів, а також збільшення відсотка сегменто-ядерних нейтрофілів та моноцитів при зменшенні відсотка лімфоцитів. Посилення у сироватці крові вільнорадикального перекисного окиснення при зниженні антиоксидантного потенціалу пов'язане зі стимуляцією оксидативної активності нейтрофілів.

При 10-денній гіпомелатоніемії час рекальцифікації зменшився на 11% з тенденцією до достовірності ( $p < 0,1$ ), що можна оцінювати як схильність до гіперкоагуляції, але тромбіновий час подовжився на 31% ( $p < 0,05$ ), і протамінсульфатний тест збільшив час на 66% ( $p < 0,05$ ), що вказує на виражену тенденцію до гіпокоагуляції (табл. 1). Звичайно, посилення пероксидації у крові супроводжується гіперкоагуляцією [6]. В даному випадку відсутність посилення пероксидації при гіпомелатоніемії сприяє більш вираженій тенденції до гіпокоагуляції (хоча не виключено вичерпання компонентів тромбінової ланки звена гемостазу – коагулопатія споживання).

При хронічній гіпомелатоніемії спостерігається розвиток помірної гіперкоагуляції – час рекальцифікації скоротився на 19% ( $p < 0,02$ ). Протамінсульфатний тест скоротився на 8% ( $p < 0,05$ ), що також пов'язане з тенденцією до гіперкоагуляції, при цьому тромбіновий час не змінився у порівнянні з величинами норми (табл. 2).

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Таким чином, короткотривала гіпомелатоніемія істотно не впливає на стан лейкоцитарної формули і пероксидації в сироватці крові, але викликає зниження рівня антиоксидантного захисту (зниження активності супероксиддисмутази та каталази) і різноспрямовані зміни показників величин гемокоагуляції (скорочення часу рекальцифікації та подовження тромбінового часу і часу протамінсульфатного тесту), які нагадують коагулопатію споживання.

Хронічна гіпомелатоніемія призвела до зсуву лейкоцитарної формули вправо при зменшенні відсотку лімфоцитів, одночасно розвивалась гіперкоагуляція, посилення пероксидації за рахунок активації оксидативної активності нейтрофілів при зниженні антиоксидантного потенціалу у сироватці крові.

В подальшому планується постановка експерименту з дослідження впливу надлишка доз мелатоніну в різних термінах. Причиною цього дослідження є безрецептурний продаж препаратів, які містять мелатонін та досить састе призначення лікарями при різних патологіях та вікових періодах.

#### Список використаних джерел

1. Анисимов В. Н. Мелатонин. Роль в организме, применение в клинике / В. Н. Анисимов. — СПб. : Издательство «Система», 2007. — 40 с.
2. Барабой В. А. Антиоксидательная и биологическая активность мелатонина / В. А. Барабой // Укр. біохім. журн. — 2000. — Т. 72, No 3. — С. 5—11.
3. Дубинина Е. Е. Выделение и свойства супероксиддисмутазы плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, В. В. Туркин, Г. А. Бабенко, В. А. Исанов // Биохимия. — 1992. — Т. 57, No 12. — С. 1892—1901.
4. Евсюкова И. И. Роль мела тонина в раннем онтогенезе человека / И. И. Евсюкова, О. В. Ковальчук-Ковалевская, А. А. Андреева и др. — Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований, Тезисы докладов, СПб, 2008. — С. 15.
5. Кветная Т. В. Мелатонин — нейроиммуноэндокринный маркер возрастной патологии / Т. В. Кветная, И. В. Князькин, И. М. Кветной. — СПб. : Изд-во ДЕАН, 2005. — 144 с.
6. Мищенко В. П. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и гемоста. / В. П. Мищенко, И. В. Мищенко, О. І. Цебржинский. — Полтава : АСМИ, 2005. — 160 с.
7. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В. П. Пішак — Чернівці : Медакадемія, 2003. — 152 с.
8. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині // Л. В. Беркало, О. В. Бобович, О. О. Гейко и др. — Полтава, 1997. — 271 с.
9. Семенчук С. В. Вплив надлишку та нестачі мелатоніну на систему крові / С. В. Семенчук, О. І. Цебр-

- жинський // Вісник луганського національного педагогічного університету імені Тараса Шевченка. — 2006. — № 13 (108). — С. 120—127.
10. 10. Турчина С. И. Сезонные ритмы продукции мелатонина и иммунореактивности у здоровых детей / С. И. Турчина, Н. В. Шляхова // Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований. Тезисы докладов. — СПб, 2008. — С. 41.
11. 11. Цебржинский О. И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса / О. И. Цебржинский // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза, иммуногенеза. — Полтава, 1992. — С. 120—155.
12. 12. Reiter R. J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals / R. J. Reiter // News Physiol. Sci. — 2000. — Vol. 15. — P. 246—250.

**SEMENCHUK S. V.**  
Mykolaiv

#### **BLOOD CONDITION AT HYPOMELATONINEMY**

*Rats were kept for 10 and 30 days under the clock coverage to obtain data on changes of blood parameters such as wbc, proteoliticno-antiproteoliticnaya serum activity, prooxidant-antioxidant system and the state of coagulation. Analyzing the results of the experiment, we came to the conclusion that short-term hypomelatoninemy essentially no effect on the leukocytes formula and peroxidation in the serum, but causes a decrease in antioxidant protection (reduction in the activity of superoxide dismutase and catalase) and opposite changes of parameters values of blood coagulation (recalcification time reduction and lengthening of thrombin time and time of protamine sulfate test) that resemble consumption coagulopathy.*

*Chronic hypo-melatoninemia led to a shift to the right of leukocytes formula with reduction of the percentage of lymphocytes, at the same time progressed hypercoagulation, gain of peroxidation due to the activation of oxidative activity of neutrophils at lower antioxidant capacity in serum.*

*Keywords: hypomelatoninemy, melatonin, blood coagulation, prooxidant-antioxidant system, leukocytes formula.*

**СЕМЕНЧУК С. В.**  
г. Николаев

#### **СОСТОЯНИЕ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ГИПОМЕЛАТОНИНЕМИИ**

*Крыс выдерживали 10 и 30 суток в условиях круглосуточного освещения для получения данных об изменениях таких показателей крови, как лейкоцитарная формула, протеолитично-антипротеолитичная активность сыворотки, прооксидантно-антиоксидантная система и состояние гемокоагуляции. Вследствие краткосрочной гипомелатонинемии, по сравнению с соответствующими показателями нормы, выявилась неизменность формулы крови, уровня пероксидации и содержания ингибитора трипсина, активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови при уменьшении активности каталазы, некоторого сокращения времени рекальцификации, увеличение тромбинового времени и величины протаминсульфатного теста. При хронической гипомелатонинемии произошла тенденция к гиперкоагуляции, увеличилось содержание сегментоядерных нейтрофилов при одновременном уменьшении содержания лимфоцитов, существенно увеличилось показатели НСТ-теста и малонового диальдегида при незначительном повышении протеолитической активности и неизменности содержания диеновых конъюгатов. Активности каталазы и глутатионпероксидазы снизились при неизменности супероксиддисмутазы.*

*Ключевые слова: гипомелатонинемия, мелатонин, гемокоагуляция, прооксидантно-антиоксидантная система, лейкоцитарная формула.*

*Стаття надійшла до редколегії 03.04.2014*