

мембрана фетальных сосудов; 3. синцитиокапиллярные мембраны (термин, используемый относительно мембраны человека), или гемозндотелиальные мембраны – термин, адаптированный к плаценте кролика и 4. наслоения фибриноида на поверхности ворсинчатого хориона в плаценте человека и наслоения фибриноида на поверхности трабеул в плаценте кролика. Морфологическое строение гематоплацентарного барьера человека и кролика указывает на схожесть физиологических процессов, происходящих в плодной части этих плацент – процессов обмена, трофики и др. По строению лимфоидной ткани ассоциированной с плацентой, плацента кролика подобна плаценте человека и может использоваться для изучения напряженности в системе мать-плацента-плод.

Ключевые слова: плацента, гематоплацентарный барьер, кролик

Стаття надійшла до редколегії 16.06.2014

УДК 612.4+612.062+577.17+577.121.7+57.04

О. М. ЛАРИЧЕВА, О. І. ЦЕБРЖИНСЬКИЙ

м. Миколаїв, м. Полтава

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДАНТНО-АнтиОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛЕГЕНЬ У ЩУРІВ В УМОВАХ РІЗНОЇ АКТИВНОСТІ ЕПІФІЗУ

Десятидобове утримання самців щурів при постійному освітленні, так і утримання у темряві з одночасним введенням перорально мелатоніну у дозі 1 мг/кг маси тіла сприяє зниженню потенціалу антиоксидантного захисту. Нестача мелатоніну викликала посилення емфізематозних змін та перібронхіальної лімфоцитарної інфільтрації в тканинах легень, появу в епітелії бронхів одичних фігур фрагментації ядра за типом амітозу. При надлишку мелатоніну спостерігалось посилення емфізематозних змін, лімфогістіоцитарна інфільтрація й поява елементів апоптозу в епітелії легень.

Ключові слова: мелатонін, перекисне окиснення, антиоксидантні ферменти, дієнові кон'югати, ТБК-активні продукти, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза.

Постановка проблеми. Мелатоніну (МТ) (як антиоксиданту, блокатору мітозів та гонадотропінів, сомногенному нейромедіатору, стимулятору імунної системи) відводять провідну роль у формуванні захисних ефектів адаптації стрес-лімітуючих систем [1–4], до яких належить антиоксидантний захист (АОЗ), спрямований на інгібування процесів неферментативного вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО), який ініціюється активними формами Оксигену (АФО). Але найбільше значення в дослідженнях ролі МТ в організмі людини та тварин надається його антиоксидантній функції. Нейрогормон мелатонін є однією з сполук, що має антиоксидантну активність. Його протекторна дія при перекисному окисненні здійснюється за двома механізмами, які включають безпосередню інактивацію вільних радикалів OH^\cdot , OON^\cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$, $^1\text{O}_2$, NO^\cdot , ONOO^- (за рахунок екранованого гідроксила, а також гідрогену біля азоту) й/або гальмування їх генерації в клітині та регуляцію активності антиоксидантних ферментів в результаті впливу на генетичний апа-

рат клітини, тобто він виступає як прямий, так і як вторинний антиоксидант (АО) [3, 5]. На сьогодні залишаються відсутні дані про вплив недостатньої кількості або надлишку мелатоніну на зміни прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС), від стану якої залежить функціонування систем організму. Тому доцільним є вивчення прооксидантно-антиоксидантного балансу в умовах різного рівня активності шишкоподібної залози.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. В останні роки викликає значну зацікавленість проблема різноманітних фізіологічних ефектів МТ. Найбільш важливими фізіологічними ефектами цього гормону є контроль циркадіанних та сезонних ритмів, стимуляція багатьох метаболічних процесів, інгібуюча дія на пігментний метаболізм, антигонадотропні ефекти, седативна та галюциногенна дія на центральну нервову систему, зменшення клітинної проліферації й антипухлинна дія по відношенню до багатьох експериментальних пухлин. Він впливає майже на всі системи організму людини та тварин. Всі

вищезгадані ефекти мають експериментальні підтвердження та узагальнені в багаточисельних вітчизняних та зарубіжних наукових працях [6–10].

Встановлено, що МТ здійснює вплив як на системному, так і на тканинному, клітинному й субклітинному рівнях [11, 12]. При цьому МТ запобігає процесам, що призводять до старіння та раку. Зокрема, на системному рівні він знижує продукцію гормонів, які сприяють цим процесам й стимулює систему імунного нагляду. Одночасно пригнічується продукція вільних радикалів й стимулюється система антиоксидантного захисту. МТ гальмує проліферативну активність клітин й підвищує рівень апоптозу, попереджаючи виникнення та розвиток пухлинного процесу. На генетичному рівні він інгібує ефект мутагенів й кластогенів, а також пригнічує експресію онкогенів. Функціонує мелатонін крізь 2 типи мембранних рецепторів та ядерні.

У тварин при утриманні в умовах постійного освітлення пригнічується мелатонінотворююча функція епіфізу. Виявлено, що утримання тварин в умовах природного або постійного освітлення призводить до суттєво більш швидкого розвитку спонтанних пухлин [13]. В деяких дослідженнях на старих самцях щурів популяції Wistar показано, що курсове введення МТ викликає дозозалежну морфофункціональну активацію пінеалоцитів, яка супроводжувалася збільшенням площі ядер, оптичної щільності ядер та цитоплазми при використанні гістохімічного забарвлення на нуклеїнові кислоти, що було розцінено авторами [14] як ознаки стимуляції епіфізарної продукції гормонів як індольної, так і пептидної природи.

Питання впливу МТ на прооксидантно-антиоксидантний стан легень у літературі підкреслено тільки з імунологічної точки зору [15, 16].

Постановка завдання. Метою роботи було дослідження стану прооксидантно-антиоксидантної системи в легнях щурів в умовах 10-добового надлишку та нестачі мелатоніну.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили на 21 щурах-самцях лінії Wistar масою 240–260 г, яких утримували згідно принципів «Європейської конвенції

про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та наукових цілей» (Рада Європи, Страсбург, 2004) в стандартних умовах віварію. Тварини були рандомізовані на три групи, в кожній по 7 тварин: інтактна група, умовна гіпофункція та гіпомелатоніемія, умовна гіперфункція та гіпермелатоніемія.

Гіпофункцію епіфізу та гіпомелатоніемію викликали цілодобовим освітленням інтенсивністю 1000–1500 Лк двома лампами з обох боків клітки впродовж 10 діб [17, 18]. Гіперфункцію та гіпермелатоніемію моделювали шляхом перорального введення водного розчину мелатоніну у дозі 1,0 мг/кг на добу щовечора та світловою депривацією також впродовж 10 діб. Евтаназію щурів проводили згідно норм біоетики одномоментною декапітацією. При цьому відбувався забір крові шляхом пункції серця для подальшого дослідження. Одразу після цього легені видалялися, перфузувалися розчином хлориду натрія для відмивання крові.

Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом І. Д. Стальної (1977) [19]. Концентрацію ТБК-активних продуктів визначали за методом І. Д. Стальної, Т. Г. Гарішвілі (1977) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [20].

Активність каталази (КТ) визначали за методом М. О. Каролук із співавторами (1988) [21]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за реакцією аутоокислення адреналіну у лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикалу кінетичним методом [22]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали за методом В. О. Пахомової із співавторами [23]. Загальну протеолітичну активність визначали за гідролізом казеїну [24].

Результати дослідження та їх обговорення. Внаслідок 10-добового освітлення щурів концентрація ТБК-активних продуктів в легнях збільшилася на 22% ($p < 0,01$), концентрація дієнових кон'югатів вірогідно не змінилася (рис. 1). Підвищення вмісту ТБК-активних продуктів може вказувати як на посилення процесів вільнорадикального неферментативного перекисного окиснення біополімерів, так і на зменшення антиоксидантного захисту внаслідок нестачі мелатоніну.

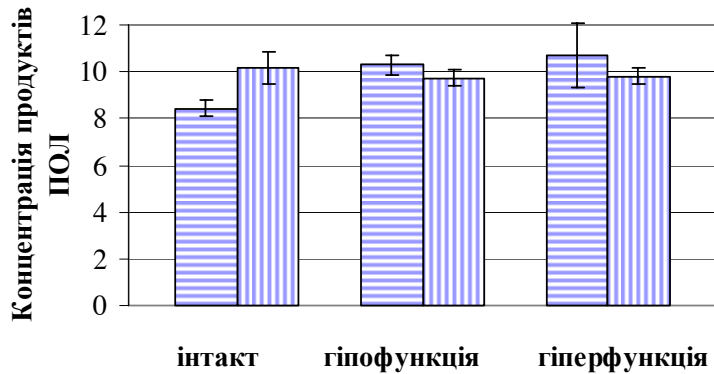
Про зниження антиоксидантного захисту також може свідчити той факт, що активності СОД і глутатіонпероксидази в тканинах легень щурів другої групи у порівнянні з інтактною групою суттєво не змінилася, а каталази – на 8% ($p < 0,001$) зменшилася (рис. 2). Вірогідних змін загальної протеолітичної активності не відбулося, хоча за абсолютними значеннями вона підвищилася на 19% (рис. 3).

Внаслідок експериментальної гіпермелатоніемії концентрація в легенях дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів вірогідно не змінилася. Активність СОД збільшилась в порівнянні з величинами норми у 2 рази ($p < 0,01$), каталази – зменшилась на 16% у порівнянні з величинами норми ($p < 0,001$) та на 9% – у порівнянні з гіпомелатоніемією ($p < 0,05$). Надлишок мелатоніну вірогідно не викликав суттєвих змін активності глутатіонпероксидази та загальної протеолітичної активності, але за абсолютними значеннями у порівнянні з гіпомелатоніемією активність ГПО збільшилась на 16%, а ЗПА – зменшилась на 13%.

Індукція активності СОД могла бути викликана або надмірною кількістю МТ, або посиленою генерацією супероксиданіонрадикалу, останньому припущенню протидіє надлишок МТ. СОД є головним продуцентом пероксиду Гідрогена в клітинах. Тому збільшення активності СОД не тільки зберігає значення норми для концентрації дієнів й ТБК-активних продуктів, але й дає надлишок пероксиду Гідрогена, який спроможний викликати двониткові розриви ДНК. Тобто, в умовах зниження активності каталази збільшується ризик загрози пошкоджуючої дії пероксиду Гідро-

гена. Незмінність рівня пероксидації в гомогенатах легень вказує на баланс ендогенних та екзогенних антиоксидантів, причому на відміну від інших МТ не є у великих дозах прооксидантом.

У більшості тварин інтактної групи в тканині легень були присутні невеликі ділянки емфізематозних змін при нормальній альвеолярній структурі. Наявне помірне повнокрі-



■ ТБК-активні продукти, мкмоль/г ■ Дієнові кон'югати, ммоль/кг

Рис. 1. Порівняння вмісту первинних та вторинних продуктів ВРПО в різних групах тварин

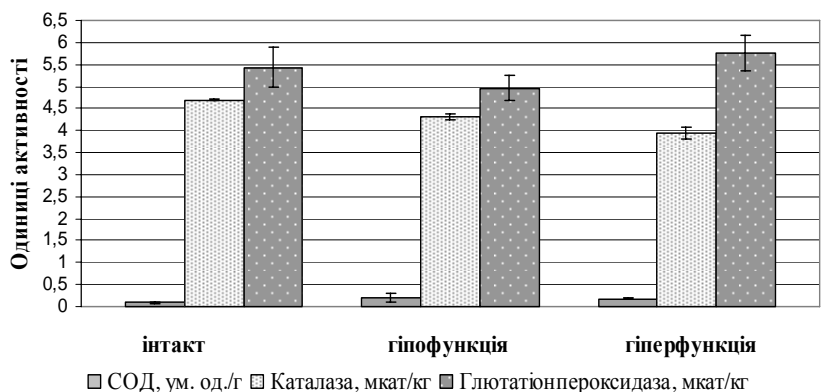


Рис. 2. Порівняння активності антиоксидантних ферментів в різних групах тварин

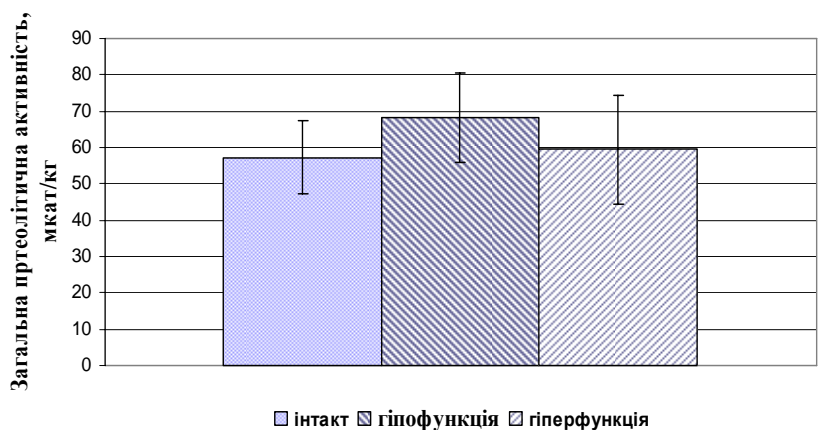


Рис. 3. Порівняння загальної протеолітичної активності в різних групах тварин

в'я судин, незначні вогнища лімфоцитарної інфільтрації в інтерстиції, але чітких мітотичних та апоптичних фігур не спостерігається. Емфізематозні зміни є наслідком старечого віку щурів. Лімфоцитарна інфільтрація вказує на дисбаланс імунного захисту.

У легеневої тканині щурів із змодельованою короткочасною гіпомелатоніемією відмічаються ділянки емфізематозних змін, осередки перибронхіальної лімфоцитарної інфільтрації від мілких до великих скупчень, що опосередковано може впливати на посилення ВРПО. В епітелії бронхів спостерігаються одиничні фігури фрагментації ядра за типом амітозу, що також опосередковано може розглядатися як елементи апоптозу. Можливо припустити, що з віком накопичуються генні порушення в клітинах легень, в тому числі й під впливом несприятливих екологічних факторів, що викликає на тлі нестачі МТ атаку лімфоцитів для елімінації найбільш пошкоджених клітин через ініціацію апоптозу.

В легенях тварин з експериментальною гіпермелатоніемією відмічаються масивні вогнища перибронхіальної лімфогістіоцитарної інфільтрації, повнокрів'я судин, емфізематозні зміни, які можуть бути пов'язані зі змінами концентрацій антипротеолітичних факторів; епітелій бронхіол мізерний, наявні окремі ділянки десквамації та одиничні фігури конденсації ядерного хроматину й фрагментації за типом апоптозу. Слід відзначити, що МТ здатен ініціювати апоптоз.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Короткотривале зниження постачання організму мелатоніном не викликало суттєвих достовірних змін з боку майже всіх біохімічних показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи, але відмічались деякі гістологічні зміни тканини легень.

Короткотривала нестача мелатоніну істотно не впливала на кількість первинних та вторинних продуктів ВРПО, та в той же спостерігалися достовірні зміни з боку антиоксидантної ланки.

Таким чином, при короткотривалих гіпота гіпермелатоніемії не відбувалося суттєвих змін з боку біохімічних процесів у легенях, що можна розцінити як ознаки подібності, які виникають внаслідок короткого терміну дії чинника на організм.

В подальшому планується вивчення довготривалого впливу мелатоніну та освітлення на прооксидантно-антиоксидантний баланс легень.

Список використаних джерел

1. Анисимов В. Н. Мелатонин: роль в организме и применение в клинике / Анисимов В. Н. — СПб. : Система, 2007. — 40 с.
2. Арутюнян А. В. Полифункциональное антиоксидантное действие мелатонина / Арутюнян А. В., Козина Л. С. // Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований. — СПб., 2008. — С. 4—5.
3. Барабой В. А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / Барабой В. А. // Український біохімічний журнал. — 2000. — Т. 72, №3. — С. 5—11.
4. Мелатонин в норме и патологии / Под ред. [Ф. И. Комарова, С. И. Комарова, С. И. Рапопорта и др.] — М. : ИД Медпрактика, 2004. — 308 с.
5. Reiter R. J. Melatonin: Lowering the High Price of Free radicals / R. J. Reiter // News Physiol. Sci. — 2000. — Vol. 15. — P. 246—250.
6. Арушанян Э. Б. Мелатонин и система крови / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2006. — Т. 69, № 3. — С. 74—79.
7. Виноградова И. А. Световые режимы и овуляторная функция у крыс в онтогенезе / И. А. Виноградова, И. В. Чернова // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2007. — Т. 93, №1. — С. 90—98.
8. Коркушко О. В. Шишковидная железа: физиологическая роль в организме, функциональная недостаточность в пожилом возрасте, возможные пути коррекции / О. В. Коркушко, В. Б. Шатило // Медицинский всевіт. — 2003. — Т. 3, №2.
9. Asai M. Administration of melatonin in drinking water promotes the phase advance of light-dark cycle in senescence-accelerated mice, SAMR 1 but not SAMP 8 / [M. Asai, M. Ikeda, I. Oshima, S. Shibata] // Brain Research. — 2000. — Vol. 876, № 1—2. — P. 220—224
10. Fernandez C. Age differences in neurokinin A and substance P from the hypothalamus, pituitary, pineal gland, and striatum of the rat-effect of exogenous melatonin / [C. Fernandez, L. Debeljuk, E. Daz, B. Daz] // Peptides. — 2002. — Vol. 23, № 5. — P. 941—945.
11. Sharman E. H. Age-related changes in murine CNS mRNA gene expression are modulated by dietary melatonin / [E. H. Sharman, K. G. Sharman, Y.-W. Ge et al.] // Journal of Pineal Research. — 2004. — Vol. 36, № 3. — P. 165—170.
12. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В. П. Пішак — Чернівці : Медакадемія, 2003. — 152 с.
13. Виногардова И. А. Влияние светового режима на развитие спонтанных опухолей у самок крыс / [И. А. Виногардова, А. В. Букалев, М. А. Забужинский и др.] // Вопросы онкологии. — 2007. — Т. 53, № 5. — С. 554—561.
14. Губина-Вакулик Г. И. Морфологический ответ пинеальной железы старых животных на курсовое введение мелатонина / Г. И. Губина-Вакулик, Л. А. Бондаренко, А. Р. Геворкян // Успехи геронтологии. — 2009. — Т. 22, № 4. — С. 626—630.

15. Дадамбаев Е. Т. Состояние иммунологической реактивности и содержание мелатонина при бронхопневмонии у детей раннего возраста с увеличенной вилочковой железой: автореф. дис. д-ра мед. наук : 14.00.09 / Е. Т. Дадамбаев—Москва, 1986. — 24 с.
16. Евсюкова Е. В. Мелатонин и аспириновая бронхиальная астма. — В кн. : Российская научно-практическая конференция «50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований». — Санкт-Петербург, 2008. — 14 с.
17. Гуралюк В. М. Стрес-індуковані морфофункціональні зміни надниркових залоз за різної довжини фотоперіоду: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.03.04 / Гуралюк Валентин Миколайович. — Одеса, 2008. — С. 17—18.
18. Чеботар Л. Д. Кардіогенні ефекти мелатоніну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини та тварин» / Л. Д. Чеботар. — Симферополь, 2010. — 21 с., включ. обкл.
19. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная. — М. : Медицина, 1977. — С. 66—68.
20. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. — М. : Медицина, 1977. — С.63.
21. Каролук М. А. Метод определения активности каталазы / [М. А. Каролук, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, К. Е. Токарев] // Лабораторное дело. — 1988. — №1. — С. 16—18.
22. Беркало Л. В. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / [Л. В. Беркало, О. В. Бобович, О. О. Гейко та ін.] — Полтава, 1997. — 27 с.
23. Пахомова В. А. Способ определения активности глутатионпероксидазы в биологических тканях / [В. А. Пахомова, Г. Н. Крюкова, Н. П. Козлянина и др.] // А.С. 922637 СССР, МКИ в G 01. Опубл. 23.04.1982. Биол. ИиО №15. — 2 с.
24. Левицкий А. П. Пищеварительные ферменты слюнных желез: автореф. дис. канд. биол. наук : 03.00.04 / А. П. Левицкий. — Одесса. 1974. — 53 с.

LARYCHEVA O.M., TSEBRZHINSKY O.I.*

Mykolaiv, *Poltava

VARIATIONS IN PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEMS OF RATS UNDER DIFFERENT ACTIVITY OF PINEAL ORGAN

Both ten-day exposure of male rats to constant illumination and keeping them in the dark with the simultaneous oral administration of melatonin in a dose of 1 mg / kg body weight reduces the capacity of the antioxidant protection. Lack of melatonin led to increased emphysematous changes and peribronchial lymphocytic infiltration in the lung tissues, appearance of sporadic amitotic figures in bronchial epithelium. Increased emphysematous changes, lymphohyostocytic infiltration and appearance of elements of apoptosis in lung epithelium were observed in case of excess melatonin.

Keywords: melatonin, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, diene conjugates, TBA-active products, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase.

Е. Н. ЛАРИЧЕВА, О. И. ЦЕБРЖИНСКИЙ

Николаев, Полтава

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛЕГКИХ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЭПИФИЗА

Как десятисуточное содержание самцов крыс при постоянном освещении, так и содержание их в темноте с одновременным введением перорально мелатонина в дозе 1 мг/кг массы тела способствует снижению потенциала антиоксидантной защиты. Недостаток мелатонина вызывал усиление эмфизематозных изменений и перибронхиальной лимфоцитарной инфильтрации в тканях легких, появление в эпителии бронхов единичных фигур фрагментации ядра по типу амитоza. При избытке мелатонина наблюдалось усиление эмфизематозных изменений, лимфогистиоцитарная инфильтрация и появление элементов апоптоза в эпителии легких.

Ключевые слова: мелатонин, перекисное окисление, антиоксидантные ферменты, диеновые конъюгаты, ТБК-активные продукты, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза.

Стаття надійшла до редколегії 16.07.2014