

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

**М. Ш. ГІЛЬМУТДІНОВА**

м. Миколаїв

## ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ В УМОВАХ АДАПТАЦІЇ ДО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

*У статті розглядаються дані прооксидантно-антиоксидантного стану скелетних м'язів щурів лінії «Wistar» (на прикладі чотириголового м'яза стегна). Створені умови для перебування лабораторних тварин в стані іммобілізаційного стресу на тлі моделювання умов нестачі і надлишку мелатоніну. Були отримані дані, які демонструють, що при моделюванні умов нестачі мелатоніну знижується рівень антиоксидантного захисту, активуються процеси вільнорадикального перекидного окиснення у м'язах. Зрив адаптації при моделюванні надлишку мелатоніну, іммобілізаційного стресу, комбінаціях іммобілізаційного стресу з моделюванням нестачі мелатоніну, іммобілізаційного стресу з моделюванням умов надлишку мелатоніну виражається у зменшенні активності деяких антиоксидантних ферментів при збільшенні протеолітичної активності у м'язах.*

*Ключові слова: прооксидантно-антиоксидантний стан, скелетні м'язи, мелатонін, іммобілізаційний стрес.*

**Постановка проблеми.** Загально відомим є той факт, що мелатонін відіграє велику роль у функціонуванні біологічних систем. Експериментальні дослідження показали, що мелатонін виявляє властивості імуностимулятора, гормона та нейромедіатора одночасно. Доведено, що мелатонін є компонентом прооксидантно-антиоксидантної системи [1; 2]. Проведенні дослідження вказують, що мелатонін впливає на локомоторні функції організму, стимулює фізичну активність [3]. Взагалі рухова активність це одна із умов нормальної життєдіяльності організму. Але поруч із поняттям фізичної активності необхідно розглядати поняття іммобілізації (зниження рухової активності), оскільки це значний стресовий фактор, що може викликати різноманітні зміни в організмі. Дослідження впливу іммобілізаційного стресу на організм є актуальним питанням сучасної фізіології.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Враховуючи опрацьовані літературні джерела, слід зазначити, що майже відсутні роботи, що описують зміни прооксидантно-антиоксидантного стану в м'язах при їх адаптації до умов іммобілізаційного стресу в умовах впливу на продукцію мелатоніну епіфізом.

**Постановка завдання.** Основною метою дослідження є з'ясування стану прооксидантно-антиоксидантного балансу в м'язах за умов іммобілізаційного стресу на тлі моделювання умов надлишку та нестачі мелатоніну.

Тема дослідження є фрагментом комплексної теми: «Органні ефекти мелатоніну» (№ держреєстрації в УкрІНТЕІ: 0109U002265).

**Матеріали та методи досліджень.** Експеримент тривав 30 діб. В експериментальних дослідженнях було використано 48 самців білих щурів лінії «Wistar», середньою масою 200 г. За принципом аналогів було сформовано 6 груп. В кожній групі по 8 тварин.

1. Інтактна група (умовна норма). Впродовж 30 діб тварини тільки отримували стандартний кормовий раціон, а також розміщені в умовах 12-ти годинного чергування дня та ночі.
2. Контрольна група № 1. Моделювання умов нестачі мелатоніну шляхом цілодобового утримання тварин при постійному освітленні 1000–1500 лк впродовж 30 діб.
3. Контрольна група № 2. Моделювання умов надлишку мелатоніну шляхом цілодобового утримання тварин в постійній темряві, а також здійснювали щоденний підкорм мелатоніном в дозі діючої речовини 1 мг на 1 кг маси тіла впродовж 30 діб.
4. Контрольна група № 3. Протягом 20 днів тварини не піддавались впливу. Починаючи з 21 дня, на 10 діб, створювались умови при яких тварина піддається іммобілізаційному стресу, шляхом обмеження рухів на 4 години у металевому пеналі впродовж 10 діб [4; 5].
5. Дослідна група 1. Протягом 20 днів тварини перебували при постійному освітленні 1500 люкс. Починаючи з 21

дня, на 10 діб, до даних умов підключали умови іммобілізаційного стресу (щодня, до кінця експерименту).

6. Дослідна група 2. Протягом 20 днів тварини перебували у темряві при вживанні перорально щодня мелатоніну в дозі 1 мг на 1 кг маси тіла. Починаючи з 21 дня, на 10 діб до даних умов підключались умови іммобілізаційного стресу (щодня, до кінця експерименту).

У чотирьохголовому м'язі стегна визначали концентрації дієнових кон'югатів (ДК), та малонового діальдегіду (МДА) – відповідно первинного та вторинного продуктів вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО), активність АО ферментів – супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази, каталази, а також загальну протеолітичну активність [6; 7; 8; 9; 10].

Утримання тварин та експерименти проводились згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Статистична обробка даних проводилась з використанням параметричного методу описової статистики (t-критерій Стьюдента) [11; 12].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Отримані дані репрезентовані у таблиці.

При дослідженні біохімічних показників прооксидантно-антиоксидантної системи м'язів щурів були виявлені наступні зміни.

Концентрація дієнових кон'югатів в гомогенаті м'язів достовірно підвищилась в групах 5 (на 31 %, на 16 %) та 6 (на 37 %, на 17%).

Слід відзначити, що у даній серії дослідів концентрація дієнових кон'югатів в гомогенаті м'язів поступово збільшувалася від групи до групи.

Концентрація МДА в гомогенаті м'язів достовірно підвищилась в групах 5 (на 31 %, на 14 %) та 6 (на 37 %, на 19 %). Концентрація МДА в гомогенаті м'язів поступово збільшувалася від групи до групи у даній серії дослідів.

Достовірне підвищення рівня ДК та МДА в групі 5 може бути пов'язано зі зниженням

Таблиця 1

**Прооксидантно-антиоксидантний стан чотирьохголового м'язу стегна щурів при іммобілізації в різних умовах забезпечення мелатоніном (M±m; у групі n=8)**

№ з/п	Показник	1 група	2 група	3 Група	4 група	5 Група	6 група
1	Дієнові кон'югати, мкМоль/кг	7,48±0,57	8,41±0,33	10,34±0,62 p<0,002	8,49±0,37	9,86±0,18 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,01	10,00±0,22 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01
2	МДА, мкМоль/г	12,02±0,87	13,62±0,99	12,4±0,79	13,88±0,15	15,84±0,11 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	16,53±0,25 p<0,002 p <sub>1</sub> <0,001
3	СОД, ум. од./г	1,05±0,050	0,92±0,03 p<0,05	0,95±0,03	0,96±0,013	0,89±0,02 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	0,87±0,01 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001
4	Каталаза, мкат/кг	1,65±0,14	1,59±0,19	1,53±0,16	2,33±0,18 p<0,02	1,88±0,12	1,81±0,23
5	Глутатіонпероксидаза, мкат/кг	5,89±0,51	4,77±0,46	5,23±0,37	4,43±0,32 p<0,02	4,40±0,42 p<0,05	4,56±0,41 p <sub>1</sub> <0,002
6	Протеолітична активність, нкат/кг	21,56±2,78	33,05±3,78 p<0,05	27,72±3,99	49,00±9,15 p<0,05	66,64±7,96 p<0,001	84,84±2,78 p<0,001

Примітка:

p – порівняння з величинами показників інтакту; p<sub>1</sub> – порівняння з величинами іммобілізаційного стресу.

Назви граф колонок таблиці відповідно до умов експерименту:

1 – інтактна група; 2 – гіпомелатоніемія (нестача мелатоніну); 3 – гіпермелатоніемія (надлишок мелатоніну); 4 – іммобілізаційний стрес; 5 – іммобілізаційний стрес + гіпомелатоніемія; 6 – іммобілізаційний стрес + гіпермелатоніемія.

концентрації антиоксиданту мелатоніну, а отже стимуляції процесів ВРПО.

Підвищення рівнів ДК та МДА в групі 6 може вказувати на прооксидантну дію мелатоніну. В цьому аспекті дані не збігаються з поглядами Reiter R J [13].

Активність СОД в гомогенаті м'язів достовірно знизилась в групах 5 (на 16 %, на 8 %) та 6 (на 18 %, на 10 %). У даному досліді активність СОД в гомогенаті м'язів поступово зменшувалась. Вказані результати можуть свідчити про зниження антиоксидантного потенціалу за рахунок нестачі мелатоніну. Зниження активності СОД в 6 групі можливо носить пристосувальний характер і пов'язано з умовами іммобілізаційного стресу в якому перебували піддослідні тварини.

Активність каталази в гомогенаті м'язів достовірно підвищилась в групі 4 (на 41 %). Подібні зміни можливо також мають пристосувальний характер і пов'язані з умовами іммобілізаційного стресу в якому перебували піддослідні тварини.

Активність глутатіонпероксидази в гомогенаті м'язів достовірно знизилась в групах 4 (на 25 %), 5 (на 26 %). Зниження активності глутатіонпероксидази в м'язах тварин 5 групи можна пояснити наявністю моделюванням умов нестачі мелатоніну, що може свідчити про зниження антиоксидантного захисту та активації процесів пероксидації.

Зниження рівня глутатіонпероксидази в 4 групі можливо носить пристосувальний характер і пов'язано з умовами іммобілізаційного стресу в якому перебували піддослідні тварини.

Рівень загальної протеолітичної активності достовірно підвищився в групах 4 (в 2,2 рази), 5 (в 3 рази), 6 (в 4, в 0,6 рази). Слід відзначити, що у даному досліді загальна протеолітична активність в гомогенаті м'язів поступово збільшувалась.

Описані зміни ще раз вказують на антиоксидантні властивості мелатоніну, внаслідок чого при нестачі мелатоніну або іммобілізаційному стресі у м'язах посилюється пероксидація. Посилення рівня пероксидації в м'язах в умовах надлишку мелатоніну та при комбінації нестачі мелатоніну з іммобілізаційним стресом мабуть пов'язано з перетворенням над-

лишку мелатоніну з антиоксиданту у прооксидант. Зменшення активності антиоксидантних ферментів (окрім каталази) у м'язах при моделюванні умов надлишку мелатоніну, іммобілізаційному стресі, комбінаціях іммобілізаційного стресу з умовами нестачі мелатоніну, іммобілізаційного стресу з умовами надлишку мелатоніну вказує на зрив адаптаційних процесів, оскільки більшість антиоксидантних ферментів активуються на рівні синтезу або своїми субстратами (активними формами кисню та пероксидами) або мелатоніном. Збільшення протеолітичної активності у м'язах можливо пов'язано з активацією лізосом як міоцитів, так і фагоцитів, що теж вказує на зміни регуляції деструктивних процесів.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Встановлено, що моделювання умов нестачі мелатоніну знижує рівень антиоксидантного захисту, активує процеси вільнорадикального перекисного окиснення у м'язах. Зрив адаптації при моделюванні умов надлишку мелатоніну, іммобілізаційному стресі, комбінаціях іммобілізаційного стресу з умовами нестачі мелатоніну, іммобілізаційного стресу з умовами надлишку мелатоніну виражається у зменшенні активності супероксидисмутази та глутатіонпероксидази при збільшенні протеолітичної активності у м'язах.

В подальшому планується вивчення стану м'язів при моделюванні умов надлишку і нестачі мелатоніну при старінні організму.

### Список використаних джерел

1. Барабой В. А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / В. А. Барабой // Укр. біохімічний журн. — 2000. — Т. 72, № 3. — С. 5—11.
2. Цебржинский О. И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса / О. И. Цебржинский // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. — Полтава, 1992. — С. 120-155.
3. Скочко-Волкова Т. А. Роль мелатонина в повышении адаптивных возможностей организма к физическим нагрузкам / Т. А. Скочко-Волкова, Е. Т. Зленко, Е. М. Демченко // Материалы X международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации», 23—31 января 2001. — М., 2001. — С. 490—491.
4. Цебржинський О. І. Вплив різних типів рухальних режимів на антиоксидантний статус в експерименті в залежності від сезону та типу вищої нервової діяльності / О. І. Цебржинський, В. В. Бречко, О. Л. Єрьоміна // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. — 1999. — Т. 2, № 2. — С. 7—10.

5. Коломейцева И. А. Изменение структуры сна при разных сроках стрессирования / И. А. Коломейцева // Экспериментальные неврозы и их фармакологическая терапия. — М. : Наука, 1998. — С. 53.
6. Современные методы в биохимии / [Гаришвили Т. Г., Стальная И. Д.]. — М. : Медицина, 1977. — С. 63, 66—68.
7. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её активности в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. Дело. — 1985. — № 11. — С. 678—681.
8. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / [Л. В. Беркало, О. В. Бобович, О. О. Гейко та ін.]. — Полтава, 1997. — 271 с.
9. Метод определения активности каталазы / [М. А. Каролук, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, К. Е. Токарев] // Лаб. Дело. — 1988. — № 1. — С. 16—18.
10. Левицкий А. П. Пищеварительные ферменты слюнных желез : автореф. дис. ... доктора биол. наук / А. П. Левицкий. — Одесса, 1974. — С. 53.
11. Деркач М. П. Курс варіаційної статистики / М. П. Деркач, Р. Я. Гумецький, М. Є. Чабан — К. : Вища школа, 1977. — 208 с.
12. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин — М. : Высшая школа, 1986. — 293 с.
13. Reiter R. J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals / R. J. Reiter // News Physiol. Sci. — 2000. — V. 15. — P. 246—250.

**M. SH. GILMUTDINOVA**

Mykolaiv

### PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE OF THE SKELETAL MUSCLES IN ADAPTATION TO IMMOBILIZATION STRESS

*The article discusses the data prooxidant-antioxidant state of skeletal muscles of rats «Wistar» (on the example of the quadriceps muscle of thigh) in conditions of a state of immobilization stress on the background of the simulation and the lack of excess melatonin. The level of proteolytic activity significantly improved in groups with immobilization stress, immobilization stress on the background simulate the conditions of the lack of melatonin, immobilization stress on the background of simulation excess melatonin. The described changes again point to the antioxidant properties of melatonin, resulting in a lack of melatonin or immobilization stress in the muscles increases peroxidation. Strengthening the level of peroxidation in the muscles in conditions of excess melatonin and in combination with excess immobilization stress apparently connected with the conversion of excess melatonin with antioxidant in prooxidant. Reducing the activity of antioxidant enzymes in the muscles when modeling conditions of excess melatonin, immobilization stress, combinations of immobilization stress with a lack of melatonin, immobilization stress with excess melatonin indicates the failure of the adaptation processes, since the majority of antioxidant enzymes are activated at the level of synthesis or its substrata (active forms of oxygen and peroxides) or melatonin.*

*Keywords: prooxidant-antioxidant condition, skeletal muscles, melatonin, immobilization stress.*

**М. Ш. ГИЛЬМУТДИНОВА**

Николаев

### ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ В УСЛОВИЯХ АДАПТАЦИИ К ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ

*В статье рассматриваются данные прооксидантно-антиоксидантного состояния скелетных мышц крыс линии Wistar» (на примере четырехглавой мышцы бедра). Созданы условия для пребывания лабораторных животных в состоянии иммобилизационного стресса на фоне моделирование условий недостатка и избытка мелатонина. Были получены данные, которые демонстрируют, что при моделировании условий недостатка мелатонина снижается уровень антиоксидантной защиты, активируются процессы свободнорадикального перекисного окисления в мышцах. Срыв адаптации при моделировании избытка мелатонина, иммобилизационном стрессе, комбинациях иммобилизационного стресса с моделированием недостатка мелатонина, иммобилизационного стресса с моделированием условий избытком мелатонина выражается в уменьшении активности некоторых антиоксидантных ферментов при увеличении протеолитической активности в мышцах.*

*Ключевые слова: прооксидантно-антиоксидантное состояние, скелетные мышцы, мелатонин, иммобилизационный стресс.*

Стаття надійшла до редколегії 6.05.2014