

**ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ І КРОВІ ЩУРІВ  
ЗА ДІЇ НА НИХ МЕЛАТОНІНУ ТА РАДІАЦІЇ***Е. В. ОЛІЙНИК, І. Ф. МЕЩИШЕН**Буковинська державна медична академія МОЗ України;  
e-mail: oliynyk@sacura.net*

*Изучено про- и антиоксидантное состояние печени и крови крыс при действии на них мелатонина (10 мг/кг тела) и радиации в суммарной дозе 20 Гр. Облучение опухоли широким полем повышает процессы липопероксидации и окислительной модификации белков с одновременным угнетением антиоксидантной защиты организма. Введение животным на фоне действия радиации мелатонина вызывает четко выраженный антиоксидантный эффект.*

*К л ю ч е в ы е с л о в а: пероксидное окисление липидов, окисление белков, антиоксидантная защита, облучение, мелатонин.*

**В** останні роки все більше уваги приділяється променевої терапії раку шлунка. Проводяться численні дослідження з виявлення її ефективності, причому найчастіше перевага надається широкому полю опромінення, яке діє на більшу частину епігастрія [1,2]. Безумовно, що в разі застосування таких полів опромінюється не тільки шлунок із первинною пухлиною, а й органи, розташовані поблизу епігастрія [3]. За таких умов різко посилюються процеси пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) [4], унаслідок чого спостерігається ускладнення системних реакцій організму, що, у свою чергу, може спричинити перерву в курсі лікування. Тому зараз гостро стоїть питання пошуку засобів із високою антиоксидантною дією для профілактики виникнення ускладнень після променевої терапії. Згідно з даними багатьох авторів, гормон шишкоподібної залози – мелатонін – є одним із найсильніших природних антиоксидантів і пасткою вільних радикалів, радіопротектором та стимулятором антиоксидантних ферментів [4–7].

Вищенаведені дані визначили мету дослідження – вивчити про- та антиоксидантний стан печінки і крові за дії на щурів мелатоніну та радіації.

**Матеріали і методи**

Досліди проводили на 32 дорослих безпородних білих щурах-самцях з масою тіла 190–210 г. Тварин утримували у віварії при температурі  $20 \pm 1$  °C (14 год світла, 10 год темряви) на стандартній дієті за вільного доступу їх до води. Щурів поділили на чотири групи (по 8 у кожній): група I – контрольна; група II – щури, яким перорально вводили мелатонін (суспензію препарату “Віта-мелатонін” фірми «Дарниця») в дозі

10 мг/кг; група III – щури, у яких опромінювали ділянку епігастрія широким полем і перорально вводили їм фізіологічний розчин NaCl (1 мл/100 г маси тіла); група IV – тваринам на фоні опромінення вводили мелатонін (10 мг/кг). Дистанційне  $\gamma$ -опромінення епігастрія здійснювали чотириразово апаратом “АГАТ Р1У” (енергія випромінювання – 1,25 МеВ, радіоактивний ізотоп –  $^{60}\text{Co}$ ) з двох зустрічних полів (розміри – 4 x 4 см, одноразова доза на пухлинне вогнище – 5 Гр) до сумарного опромінення пухлини в дозі 20 Гр. Відстань від джерела радіації до поверхні становила 75 см. Щурів поміщали у спеціальні пластикові пенали, які екранували свинцевими пластинами; відкритою залишали тільки ділянку епігастрію 4 x 4 см. Мелатонін вводили перорально протягом 5 днів через зонд за 1 год до сеансу опромінення. Перше введення антиоксиданту здійснювали за 1 день до початку променевої терапії.

Евтаназію проводили під легким ефірним наркозом. Про- і антиоксидантні показники визначали в печінці і крові, 5%-ний гомогенат печінки у 50 мМ трис-НСІ-буфері (рН 7,4) центрифугували, а супернатант використовували для аналізу.

Еритроцити одержували з цільної крові, стабілізованої розчином гепарину (25 од/мл), центрифугуванням протягом 30 хв при 3000 об/хв, після чого їх двічі відмивали охолодженим фізіологічним розчином хлориду натрію, знову осаджували і гемолізували в рівному об’ємі дистильованої води.

У цільній крові, плазмі, еритроцитах та супернатантах гомогенату печінки визначали вміст малонового діальдегіду [8], окисно модифікованих білків [9], відновленого глутатіону (GSH)

[10], активність супероксиддисмутази [11], глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [12] і глутатіонредуктази [13], вміст церулоплазміну [14] та концентрацію білка (методом О. Н. Lowry et al. [15]).

У роботі використовували такі реактиви: трис, NADP<sup>+</sup>, NADPH, *n*-нітротетразолій синій, феназинметасульфат («Reanal», Угорщина). Решта використаних у досліді реактивів була вітчизняного виробництва кваліфікації ч. д. а. і х. ч.

Вірогідність результатів дослідження оцінювали за критерієм Стьюдента (*t*) з використанням пакету програм «Statistica 5.0».

### Результати та обговорення

Під впливом опромінення пухлини широким полем у щурів посилюються процеси ПОЛ. Так, в опромінені тварин (група III) рівень одного з його кінцевих продуктів – малонового діальдегіду – у печінці та еритроцитах був вірогідно підвищеним порівняно з контрольними тваринами (група I) на 80,4 і 18,3% відповідно (таблиця).

У печінці та плазмі крові під впливом опромінення відбувається виснаження основних компонентів системи антиоксидантного захисту, що виявляється у зменшенні участі ферментних і

неферментних антиоксидантів у захисних процесах організму. Так, супероксиддисмутазна активність цільної крові, вміст церулоплазміну у плазмі крові та рівень GSH в еритроцитах опроміненіх щурів вірогідно менші, ніж у контрольних на 21,0, 34,7 і 23,3% відповідно. GSH є субстратом глутатіонпероксидази, а тому зниження його рівня у тканинах пригнічує знешкодження ліпопероксидів. У разі зменшення супероксиддисмутазної активності спостерігається підвищення вмісту супероксиданіон-радикалу, який є попередником інших активних форм кисню, що призводить до інтенсифікації процесів ПОЛ та окислення білків.

У печінці опроміненіх щурів порівняно з контрольними виявлено вірогідне зниження глутатіонредуктазної (на 19,2%) та супероксиддисмутазної активності (на 34,8%). Зменшення глутатіонредуктазної активності та рівня GSH зумовлює порушення функціонування глутатіонової системи [16], натомість глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність у печінці компенсаторно підвищується (на 32,4%). Останнє можна пояснити її захисною роллю в організмі, оскільки при цьому зростає синтез NADPH, який є необхідним компонентом детоксикації вільних ради-

*Показники про- та антиоксидантного стану печінки і крові щурів за дії на них мелатоніну та радіації (M ± m, n = 8)*

Об'єкт дослідження, одиниці виміру	Контроль (група I)	Мелатонін (група II)	Опромінення (група III)	Опромінення + мелатонін (група IV)
<i>Малоновий діальдегід</i>				
Еритроцити, мкмоль/л	13,10 ± 0,47	10,70 ± 0,39*	15,50 ± 0,83*	11,70 ± 0,82*.*#
Печінка, мкмоль/г тканини	34,10 ± 4,06	19,80 ± 1,03*	61,50 ± 8,16*	19,30 ± 1,11*.*#
<i>Окислювальна модифікація білків (ΔA<sub>370</sub>)</i>				
Плазма крові, ммоль/г білка	0,82 ± 0,07	0,76 ± 0,05	1,36 ± 0,15*	0,87 ± 0,12 #
<i>Показники антиоксидантного захисту печінки</i>				
Супероксиддисмутаза, МО/мг білка	8,60 ± 0,76	9,60 ± 0,86	5,60 ± 0,72*	8,20 ± 0,94 #
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, нмоль/хв на 1 мг білка	7,1 ± 0,8	6,60 ± 0,42	9,40 ± 0,32*	7,40 ± 0,32 ##
Глутатіонредуктаза, нмоль/хв на 1 мг білка	2,6 ± 0,3	3,60 ± 0,06*	2,10 ± 0,02*	2,70 ± 0,04 ##
<i>Показники антиоксидантного захисту крові</i>				
Супероксиддисмутаза цільної крові, МО/мл крові	226,0 ± 14,2	281,3 ± 13,7*	178,5 ± 12,8*	209,9 ± 14,1
Церулоплазмін плазми крові, мг/л	204,6 ± 13,4	271,8 ± 13,8*	133,6 ± 16,1*	194,0 ± 13,8 #
Відновлений глутатіон еритроцитів, мкмоль/мл	2,10 ± 0,31	2,30 ± 0,34	1,40 ± 0,17*	2,10 ± 0,32

\* Різниця показників порівняно з контролем вірогідна,  $p \leq 0,05$ ; #, ## різниця між опроміненіми тваринами, які отримували і не отримували мелатонін, вірогідна,  $p \leq 0,05$  та 0,01 відповідно.

калів та пероксидів, утворених у клітині під впливом іонізаційного випромінювання.

Отже, опромінення епігастрія щурів призводить до посилення ліпопероксидації і окислювальної модифікації білків крові та печінки на тлі пригнічення стану антиоксидантного захисту тканин.

У щурів, яким вводили мелатонін, спостерігається вірогідне зниження рівня малонового діальдегіду в еритроцитах та печінці (на 18,4 і 42,0% відповідно) порівняно з контролем. Крім безпосередньої дії гормону на організм, виявлено зростання активності антиоксидантних ферментів, що збігається з даними літератури [6,7]. Мелатонін вірогідно підвищує вміст церулоплазміну у плазмі крові (на 32,8%), а також супероксиддисмутазну активність цільної крові (на 24,5%) та глутатіонредуктазну активність печінки (на 38,5%). Не виявлено впливу гормону на глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність та рівень відновленого глутатіону. В опромінених тварин, які отримували мелатонін, вірогідно знижується рівень малонового діальдегіду в печінці та еритроцитах як порівняно з опроміненими щурами (на 68,6 та 24,5% відповідно), так і з контрольними (на 43,4 та 10,7%). При цьому чітко простежується безпосередня антиоксидантна дія гормону на тварин.

Показники активності ферментів і вмісту церулоплазміну під впливом мелатоніну (група II) однакові з такими у контрольних щурів (група I), але вірогідно відрізняються від тварин, які зазнали лише опромінення (група III): активність супероксиддисмутази, глутатіонредуктази і вмісту церулоплазміну порівняно з опроміненими тваринами підвищується на 46,4; 28,6 та 45,2% відповідно, а глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – знижується на 21,3%. Нормалізація мелатоніном ступеня окислювальної модифікації білків та рівня GSH на фоні опромінення виявляється досить чіткою.

Внаслідок активації ПОЛ за дії радіації на організм утворюється низка альдегідів, які характеризуються високою цитотоксичністю [17]. Вони можуть взаємодіяти з вільними аміногрупами білків, пептидів, амінокислот, а також сульфгідрильними групами залишків цистеїну. При цьому відбувається ковалентна модифікація білків, що супроводжується зміною їхніх біологічних властивостей. Подібна спрямованість змін малонового діальдегіду і окислювальної модифікації білків підтверджується наведеними нами даними.

Із результатів експериментів випливає, що мелатоніну притаманні антиоксидантні властивості, які описано і в інших роботах [7]. Цей

гормон здатен нейтралізувати найактивнішу форму кисню – гідроксильний радикал з утворенням 3-гідроксимелатоніну, який виводиться з організму із сечею. Він також знешкоджує і пероксид водню – попередник гідроксильних радикалів. Крім того, як перехоплювач вільних кисневих радикалів (скавенджер) та стабілізатор клітинних мембран, мелатонін стимулює активність ферментів, що беруть участь в антиоксидантному захисті тканин (супероксиддисмутази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази і каталази) [7].

Таким чином, одержані нами результати підтверджують гіпотезу Л. О. Бондаренко [18], згідно з якою мелатонін підвищує опірність організму та запобігає розвиткові численних порушень післярадіаційного генезу через притаманну йому імуностимулювальну і антиоксидантну дію [4,7].

#### PRO- AND ANTIOXIDANT STATE OF THE LIVER AND BLOOD OF RATS UNDER THE EFFECT OF MELATONIN AND RADIATION

*E. V. Oliynyk, I. F. Meshchishen*

Bukovyna State Medical Academy, Ministry of Public Health of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: oliynyk@sacura.net

#### S u m m a r y

The pro- and antioxidant state of the liver and blood of rats under the effect of melatonin and radiation in the total dose of 20 Gy has been studied. Irradiation by the broad fields intensifies the processes of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins with simultaneous inhibition of the antioxidant protection. Melatonin administered against a background of radiation caused a distinctly expressed antioxidant effect.

**K e y w o r d s:** lipid peroxidation, protein oxidation, antioxidant protection, irradiation, melatonin.

1. *Arcangeli G., Saracino B., Arcangeli G. et al. // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2002. 54, N 4. P. 1069–1075.*
2. *Henning G. T., Schild S. E., Stafford S. L. et al. // Ibid. 2000. 46, N 3. P. 589–598.*
3. *Smalley S. R., Gunderson L., Tepper J. et al. // Ibid. 2002. 52, N 2. P. 283–293.*
4. *Reiter R. J., Tan D., Osuna C., Gitto E. // J. Biomed. Sci. 2000. 7, N 6. P.444–458.*
5. *Karbownik M., Lewinski A., Reiter R. J. // Int. J. Biochem. and Cell Biology. 2001. 33, N 4. P. 735–753.*

6. Liu F., Ng T. B. // *Biochem. Cell Biol.* 2000. **78**, N 4. P. 447–453.
7. Vijayalaxmi, Thomas C. R., Reiter R. J. et al. // *J. Clin. Oncol.* 2002. **20**, N 10. P. 2575–2601.
8. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Орехович. М.: Медицина. 1977. С. 66–68.
9. Меццишен І. Ф. // *Буковин. мед. вісн.* 1998. **2**, № 1. С. 156–158.
10. Меццишен І. Ф., Петрова І. В. // *Укр. біохім. журн.* 1983. **55**, № 5. С. 571–573.
11. Beutler E. // *J. Clin. Invest.* 1969. **48**, № 11. С. 1957–1965.
12. Захарьин Ю. Л. // *Лаб. дело.* 1967. № 6. С. 327–330.
13. Чевари С., Чаба І., Секей Й. // Там же. 1985. № 11. С. 678–681.
14. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. Минск: Беларусь. 1982. 311 с.
15. Lowry O. H., Rosebrough G. C., Farr A. L., Randall R. J. // *J. Biol. Chem.* 1951. **193**, N 1. P. 263–275.
16. Меццишен І. Ф. Глутатіонова система організму за умов норми та патології. Чернівці: Буковин. мед. акад. 1999. 26 с.
17. Давыдов В. В., Божков А. І. // *Биомед. химия.* 2003. **49**, № 4. С. 374–387.
18. Бондаренко Л. О. // *Укр. радіол. журн.* 2001. **9**, № 3. С. 298–302.

Одержано 09.01.2004