

DOI: 10.26693/jmbs05.05.319

УДК 612.172:612.176:612.4:612.826.33:611.73

Гільмутдінова М. Ш., Чеботар Л. Д., Ларичева О. М.

## СТАН ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В ТКАНИНАХ СЕРЦЕВОГО ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ СВІТЛОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ

Чорноморський національний університет імені Петра Могили, Миколаїв, Україна

gilmariash@gmail.com

У статті розглядаються особливості окиснювального метаболізму серцевої та скелетної м'язової тканини в умовах зміненого фотоперіоду, під впливом цілодобової світлової депривації в комбінації із уведенням екзогенного мелатоніну.

Експериментальне дослідження проведено на самцях щурів лінії Wistar. Для дослідження було сформовано дві групи: інтактна та дослідна. Тварини інтактної групи знаходились в стандартних умовах утримання та годування, без змін світлового режиму. Тварини дослідної групи протягом 30 днів знаходились в умовах цілодобової світлової депривації на тлі введення мелатоніну у дозі діючої речовини 1,0 мг/кг маси. Обрана експериментальна модель ґрунтується на тому, що за умов постійної темряви відбувається підвищення епіфізарної концентрації мелатоніну та функціональної активності даної залози, а додаткове введення екзогенного мелатоніну супроводжується підвищенням концентрації вказаного гормону в крові.

У гомогенаті досліджуваних тканин визначали рівень продукції активних форм кисню за утворенням супероксидного аніон-радикала за реакцією з нітросинім тетразолієм, концентрацію ТБК-активних продуктів та активність каталази та супероксиддисмутази.

У гомогенаті тканин серцевого м'язу виявлено підвищення рівня продукування супероксидного аніон-радикала за рахунок діяльності фагоцитів. У гомогенаті тканин скелетних м'язів виявлено зниження продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом. Отже, моделювання умов надлишку мелатоніну, модифікує генерацію супероксидного аніон-радикала з різних джерел. У серцевому та скелетних м'язах вищевказані умови експерименту сприяють різноспрямованим змінам кількісної генерації супероксидного аніон-радикала.

Змін у показниках прооксидантно-антиоксидантного статусу у гомогенаті досліджуваних тканин за обраних експериментальних умов не виявлено.

**Ключові слова:** м'язова тканина, активні форми кисню, світлова депривація, мелатонін.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Виконане дослідження є час-

тиною планової наукової теми «Органні ефекти мелатоніну», № держ. реєстрації 0109U002265.

**Вступ.** На сучасному етапі життя людини значних змін зазнає такий важливий циркадний ритм як «світло-темрява», постає питання про появу так званого світлового забруднення, оскільки штучне освітлення, робота в нічний час доби стали невід'ємною частиною людського життя і вплив даних подразників є причиною розвитку значних розладів стану здоров'я людини [1, 2, 3]. Зміни світлового режиму можна певним чином розглядати як стресову ситуацію, що включає різноманітні адаптаційні механізми людського організму [4]. Основним регулятором добових ритмів є індолий гормон епіфіза мелатонін, водночас, рівень даного гормону залежить від часу доби та освітлення. Також вказаний гормон є одним із найпотужніших антиоксидантів, а як відомо антиоксиданти здатні зменшити негативні наслідки стресу [5, 6].

Проаналізувавши літературні джерела, було виявлено, що питання адаптації різних видів м'язової тканини до змін фотоперіоду вивчено недостатньо. Тому виникає зацікавленість у дослідженні впливу зміненого режиму освітлення як стресового фактору, що може стати причиною порушення функціонального стану м'язової тканини.

**Метою даного дослідження** було встановити особливості окиснювального метаболізму серцевої та скелетної м'язової тканини (на прикладі чотириохвостого м'яза стегна) за умов зміненого фотоперіоду (світлова депривація на тлі введення мелатоніна).

**Матеріал та методи дослідження.** Експериментальне дослідження проведено на самцях щурів лінії Wistar, середньою масою 220-260 г. Для дослідження було сформовано дві групи: інтактна та дослідна. Тварини інтактної групи (умовна норма) знаходились в стандартних умовах утримання та годування, без змін світлового режиму. Тварини дослідної групи протягом 30 днів знаходились в умовах цілодобової світлової депривації на тлі введення мелатоніну («Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі діючої речовини 1,0 мг/кг маси.

Аналізуючи дані літературних джерел, було виявлено, що за умов постійної темряви відбувається підвищення епіфізарної концентрації мелатоніну та функціональної активності даної залози,

а додаткове введення екзогенного мелатоніну супроводжується підвищенням концентрації вказаного гормону в крові [7, 8, 9]. Тому введення тваринам мелатоніну в дозі 1 мг/кг маси тіла на добу буде створювати адекватну модель гіперфункції епіфіза.

Експерименти були проведені з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.)

Рівень продукції активних форм кисню оцінювали за утворенням супероксидного аніон-радикала за реакцією з нітросинім тетразолієм [10]. Для оцінки прооксидантно-антиоксидантної системи в гомогенаті досліджуваних тканин визначали концентрацію ТБК-активних продуктів. Ефективність ензимної ланки оцінювали за каталазою та супероксиддисмутазою (СОД) активністю [11].

Результати дослідження аналізували шляхом статистичної обробки даних з використанням t-критерію Ст'юдента [12], розрахунки проводили з використанням програми «Microsoft Excel». Розходження вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.**

У результаті впливу цілодобової світлової депривації в комбінації з уведенням екзогенного мелатоніну

на стан окиснювального метаболізму серцевої та скелетної м'язової тканин отримані наступні результати, які відображено в таблиці 1.

У гомогенаті тканин серцевого м'язу за умов світлової депривації на тлі введення мелатоніну виявлено підвищення рівня продукування супероксидного аніон-радикала за рахунок діяльності фагоцитів порівняно з умовною нормою на 43%. Мелатонін стабілізує плазматичну мембрану фагоцитів, де самозбіркою формується НАДФН-оксидазний комплекс для дихального вибуху, що сприяє оксидативній активності нейтрофілів та макрофагів. Можливо припустити приховані прооксидантні властивості надлишку мелатоніну, що узгоджується з даними інших авторів [12, 14, 15].

У гомогенаті тканин скелетних м'язів продукція  $\cdot O_2^-$  мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом знизилась на 27 % порівняно з даними інтактної групи. Світлова депривація на фоні екзогенного введення мелатоніну знижує інтенсивність продукування активних форм кисню, що підтверджується зменшенням рівня супероксидного аніон-радикала в гомогенаті тканин чотирьохголоваго м'язу стегна дослідних тварин. Мелатонін як антиоксидант знижує продукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним окисненням у чотирьохголоваго м'язі стегна. У даному випадку надлишок мелатоніну стабілізує плинність мембрани, знижуючи її проникність, що може певним чином

**Таблиця 1** – Біохімічні параметри окиснювального метаболізму серцевого та скелетного м'язів щурів за умов цілодобової світлової депривації на тлі введення мелатоніну ( $M \pm m$ )

Показник	Група	
	Інтактна група (n=8)	Світлова депривація+введення мелатоніну (n=8)
<b>Серцевий м'яз</b>		
$\cdot O_2^-$ мітохондріального електронно-транспортного ланцюга (нмоль $\cdot O_2^-$ /г·сек), індукованого НАДН	12,734±0,675	12,6±0,72
$\cdot O_2^-$ мікросомального електронно-транспортного ланцюга (нмоль $\cdot O_2^-$ /г·сек), індукованого НАДФН	13,334±0,92	11,8±0,52
$\cdot O_2^-$ фагоцитів (нмоль $\cdot O_2^-$ /г·сек), індукованих пірогеналом	1,244±0,044	1,777±0,08* p<0,001
Концентрація ТБК-активних продуктів (мкмоль/кг)	61,8±4,5	64,0±5,6
Активність СОД (ум. од/г)	63,26±2,31	63,25±1,50
Активність каталази (мкат/кг)	4,41±0,17	4,95±0,23
<b>Скелетні м'язи (чотирьохголовагий м'яз стегна)</b>		
$\cdot O_2^-$ мітохондріального електронно-транспортного ланцюга (нмоль $\cdot O_2^-$ /г·сек), індукованого НАДН	13,347±1,410	9,734±0,292* p<0,05
$\cdot O_2^-$ мікросомального електронно-транспортного ланцюга (нмоль $\cdot O_2^-$ /г·сек), індукованого НАДФН	19,668±1,700	19,134±0,232
$\cdot O_2^-$ фагоцитів (нмоль $\cdot O_2^-$ /г·сек), індукованих пірогеналом	3,265±0,190	2,933±0,160
Концентрація ТБК-активних продуктів (мкмоль/кг)	12,02±0,87	12,40±0,79
Активність СОД (ум. од/г)	1,05±0,05	0,95±0,03
Активність каталази (мкат/кг)	1,65±0,14	1,53±0,16

**Примітка:** \* – різниця достовірна порівняно з даними інтактної групи

вказувати на протекторні властивості вказаної речовини [16]. Інактивація супероксидного аніон-радикала може здійснюватися за механізмом антирадикальної дії мелатоніну [17].

Таким чином, моделювання умов надлишку мелатоніну, модифікує генерацію супероксидного аніон-радикала з різних джерел. У серцевому та скелетних м'язах вищевказані умови експерименту сприяють різноспрямованим змінам кількісної генерації супероксидного аніон-радикала.

Концентрація вторинних продуктів пероксидації в гомогенаті тканин серцевого м'яза за умов світлової депривації на тлі введення мелатоніну не відрізняється від показників інтактної групи. Подібні ж результати виявлено у гомогенаті тканин чотирьохголового м'яза стегна.

Активність таких антиоксидантних ензимів як супероксиддисмутаза та каталаза у гомогенаті тканин серцевого та скелетного м'язів не змінюється.

Відомо, що дія стрес-чинників різного походження викликає розвиток неспецифічного адаптаційного синдрому, який складається у щурів з трьох стадій різної тривалості. При цьому класична «реакція тривоги» протікає протягом перших двох тижнів, а специфічні ознаки адаптації до чинника відповідно його походженню краще проявляться майже через два місяці [18].

Дійсно, при проведенні експерименту ми спостерігали майже відсутність суттєвих змін з боку фізіологічних показників, які характеризують біохімічні процеси в серцевому та скелетному м'язах. Певним чином, це можна розцінювати як ознаки схожості, неспецифічні при такому терміні дії стресового чинника. У той же час отримані результати можуть свідчити про те, що на цьому рівні вже від-

буваються певні специфічні зміни, які, ймовірно, є основою майбутніх фізіологічних відмінностей.

Можливо, введення мелатоніну знижує інтенсивність енергетичного метаболізму, а значить і споживання кисню. Крім цього, такий вплив мелатоніну здатний активувати стрес-лімітуючу систему так само, як опіоїдні пептиди, що загалом призводить до стійкості м'язової тканини [19, 20]. Узагальнюючи результати дослідження за обраних експериментальних умов можна сказати, що отримані дані певним чином підтверджують сприятливі властивості мелатоніну, але введення вказаної речовини безпосередньо в організм викликає скоріше несприятливі зміни, що є цілком зрозумілим. Вочевидь, спостерігати позитивну дію мелатоніну можливо у тих випадках, коли має місце те чи інше порушення прооксидантно-антиоксидантного стану або інших процесів у функціонуванні серцевого та скелетного м'язів.

### Висновки

1. У результаті проведених досліджень виявлено, що за умов зміненого фотоперіоду, під впливом цілодобової світлової депривації в комбінації з екзогенним уведенням мелатоніну проявляються різноспрямовані зміни у генерації активних форм кисню.
2. Статистично значущих змін у показниках прооксидантно-антиоксидантного статусу у гомогенаті досліджуваних тканин за обраних експериментальних умов не виявлено.

**Перспективи подальших досліджень.** Спираючись на отримані результати, вважаємо доцільним продовжити дослідження впливу різноманітних стресових чинників на стан скелетної та серцевої м'язової тканини.

### References

1. Lotosh TA, Vynogradova YA, Anysymov VN. Postoyannoe osveshchenye kak faktor prezhdvremennogo starennya. Rol nachala vozdeystviya [Constant lighting as a factor in premature aging. Role of the initiation of exposure]. *Sbornyk nauchnykh trudov II Rossyyskogo sympozyuma s mezhdunarodnym uchastyem "Svetovoy rezhym, starenye y rak"*. Petrozavodsk, 2013 Oct 17-19. Petrozavodsk; 2013. s. 204-212. [Russian]
2. Chabra A, Shokrzadeh M, Naghshvar F, Salehi F, Ahmadi A. Melatonin ameliorates oxidative stress and reproductive toxicity induced by cyclophosphamide in male mice. *Hum Exp Toxicol*. 2014; 33: 185-195.
3. Kamdar BB, Tergas AI, Mateen FJ, Bhayani NH, Oh J. Night-shift work and risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2013 Feb; 138(1): 291-301. doi: 10.1007/s10549-013-2433-1
4. Kloog I, Stevens RG, Haim A, Portnov BA. Nighttime light level co-distributes with breast cancer incidence worldwide. *Cancer Causes Control*. 2010 Dec; 21(12): 2059-68. doi: 10.1007/s10552-010-9624-4
5. Arushanyan EB, Beyer EV. Gormon mozgovoy zhelezy epyfyza melatonyn – unyversalnyy estestvennyy adaptogen [The pineal gland hormone melatonin is a universal natural adaptogen]. *Uspekhy fyzyologicheskoykh nauk*. 2012; 43(3): 82-100. [Russian]
6. Arushanyan EB, Shchetynyn EV. Melatonyn kak unyversalnyy modulyator lyubyykh patologicheskyykh protsessov [Melatonin as a universal modulator of any pathological processes]. *Patologicheskaya fyzyologiya y eksperimentalnaya terapiya*. 2016; 60(1): 79-88. [Russian]
7. Bondarenko LO. Znachennya vzayemodiyi faktoriv vnutrishnogo i zovnishnogo seredovishcha v regulyatsiyi funktsionalnoyi aktyvnosti pinealnoyi zalozy [The value of the interaction of factors of the internal and external

- environment in the regulation of the functional activity of the pineal gland]. Abstr. Dr. Sci. (Biol.). Kyiv; 2003. 37 s. [Ukrainian]
8. Pishak VP, Bulyk RYe. Mekhanizmy uchasti shyshkopodibnoyi zalozy u zabezpechenni tsyrkadiannoyi rytmichnosti fiziologichnykh funktsiy [Mechanisms of participation of a pineal gland in maintenance of circadian rhythmicity of physiological functions]. *Bukovynskyy medychnyy visnyk*. 2006; 10(4): 5-8. [Ukrainian]
  9. Frenkel Yu.D. *NO-zalezni mekhanizmy rozladiv okysnyuvalnogo metabolizmu golovnogo mozku shchuriv pry porushenni utvorenniya melatoninu* [NO-dependent mechanisms of disorders of oxidative metabolism of the brain of rats in violation of melatonin formation]. Abstr. PhDr. (Med.). Kharkiv; 2015. 22 s. [Ukrainian]
  10. Tsebrzhynskyy OY. Dyfferentsyrovannoe spektrofotometrycheskoe opredelenye produktsyy superoksyda v tkanyakh NST-testom [Differentiated spectrophotometric determination of superoxide production in tissues by HCT test]. *Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny*. 2002; 2(1): 96-97. [Russian]
  11. Tsvyakh OO. *Osoblyvosti prooksydantno-antyoksydantnogo stanu tkany shlunka pry nestachi ta nadlyshku melatoninu* [Features of the prooxidant-antioxidant state of gastric tissues in the absence and excess of melatonin]. Abstr. PhDr. (Biol.). Ternopil; 2017. 22 s. [Ukrainian]
  12. Atramentova LO, Utyevska OM. *Biometriya*. Ch. II. Porivnyannya grup ta analiz zv'yazku [Biometrics. Part II. Group comparison and communication analysis]. Pidruchnyk. Kharkiv: Ranok; 2007. 176 s. [Ukrainian]
  13. Eghbal MA, Eftekhari A, Ahmadian E, Azarmi Ya, Parvizpur A. A review of biological and pharmacological actions of melatonin: oxidant and prooxidant properties. *Pharmaceutical Bioprocessing*. 2016; 4(4): 69-81.
  14. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem*. 2002 Feb; 2(2): 181-97. doi: 10.2174/1568026023394443
  15. Fan C, Pan Y, Yang Y, Di S, Jiang S, Ma Z, et al. HDAC1 inhibition by melatonin leads to suppression of lung adenocarcinoma cells via induction of oxidative stress and activation of apoptotic pathways. *J Pineal Res*. 2015 Oct; 59(3): 321-33. doi: 10.1111/jpi.12261
  16. Menshchikova EB, Lankyn VZ, Zenkov NK. *Okyslytelnyy stress. Prooksydanty y antyoksydanty* [Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants]. M: Slovo; 2006. 556 s. [Russian]
  17. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev*. 1993 Fall; 17(3): 347-57. doi: 10.1016/s0149-7634(05)80016-8
  18. Nepomnyashchykh SF, Gutsol LO, Kuklyna LB, Gaskova NP. Stress kak mekhanizm adaptatsyy, ego narusheniya y ykh farmakologicheskaya korektsiya [Stress as a mechanism of adaptation, its disorders and their pharmacological correction]. *Almanakh sestrynskogo dela*. 2014; 2: 4-8. [Russian]
  19. Latyushyn YaV. *Zakonomernosty molekulyarno-kletochnykh adaptatsyonnykh protsesov v sisteme krovy pry ostrom khronicheskom gypokineticheskom stresse* [Regularities of molecular-cellular adaptation processes in the blood system in acute chronic hypokinetic stress]. Abstr. Dr. Sci. (Biol.). Chelyabinsk; 2010. 42 s. [Russian]
  20. Maslov LN, Krylatov AV, Lyshmanov YuB. Antyarytmicheskoe deystviye agonystov  $\mu$ -opiatnykh retseptorov pry adrenalovykh arytmyakh: rol vegetativnoy nervnoy systemy [Antiarrhythmic action of  $\mu$ -opiate receptor agonists in adrenal arrhythmias: the role of the autonomic nervous system]. *Byulleten eksperimentalnoy biologyy y medytsyny*. 1996; 122; 25-27. [Russian]

УДК 612.172:612.176:612.4:612.826.33:611.73

## СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ТКАНЯХ СЕРДЕЧНОЙ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ В УСЛОВИЯХ СВЕТОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

*Гильмутдинова М. Ш., Чеботарь Л. Д., Ларичева Е. Н.*

**Резюме.** В статье рассматриваются особенности окислительного метаболизма сердечной и скелетной мышечной ткани в условиях измененного фотопериода, под влиянием круглосуточной световой депривации в сочетании с введением экзогенного мелатонина.

Экспериментальное исследование проведено на самцах крыс линии Wistar. Для исследования были сформированы две группы: интактная и опытная. Животные интактной группы находились в стандартных условиях содержания и кормления, без изменений светового режима. Животные опытной группы в течение 30 дней находились в условиях круглосуточной световой депривации на фоне введения мелатонина в дозе действующего вещества 1,0 мг/кг массы. Выбранная экспериментальная модель основывается на том, что в условиях постоянной темноты происходит повышение эпифизарной концентрации мелатонина и функциональной активности данной железы, а дополнительное введение экзогенного мелатонина сопровождается повышением концентрации указанного гормона в крови.

В гомогенате исследуемых тканей определяли уровень продукции активных форм кислорода по образованию супероксидного анион-радикала по реакции с нитросиним тетразолием, концентрацию ТБК-активных продуктов и активность каталазы и супероксиддисмутазы.



В гомогенате тканей сердечной мышцы выявлено повышение уровня продуцирования супероксидного анион-радикала за счет деятельности фагоцитов. В гомогенате тканей скелетных мышц продукция супероксидного анион-радикала митохондриальным электронно-транспортной цепью снизилась. Моделирование условий избытка мелатонина, модифицирует генерацию супероксидного анион-радикала из разных источников. В сердечной и скелетных мышцах вышеуказанные условия эксперимента способствуют разнонаправленным изменениям количественной генерации супероксидного анион-радикала.

Изменений в показателях прооксидантно-антиоксидантного статуса в гомогенате исследуемых тканей в избранных экспериментальных условиях не обнаружено.

**Ключевые слова:** мышечная ткань, активные формы кислорода, световая депривация, мелатонин.

UDC 612.172:612.176:612.4:612.826.33:611.73

### **The State of Oxidative Metabolism in the Cardiac and Skeletal Muscle Tissue in Conditions of Light Deprivation**

**Hilmutdinova M. Sh., Chebotar L. D., Larycheva O. M.**

**Abstract.** The article considers the features of oxidative metabolism of cardiac and skeletal muscle tissue in the changed photoperiod, under the influence of round-the-clock light deprivation in combination with the introduction of exogenous melatonin.

**Material and methods.** The experimental study was performed on male Wistar rats. Two groups were formed for research: intact and experimental. The animals of the intact group were in standard housing and feeding conditions, without changes in light regime. The animals of the experimental group for 30 days were in conditions of round-the-clock light deprivation on the background of the introduction of melatonin at a dose of 1.0 mg/kg body weight.

**Results and discussion.** The level of production of reactive oxygen species was evaluated by the formation of a superoxide anion radical. To assess the prooxidant-antioxidant system in the homogenate of the studied tissues was determined by the concentration of thiobarbituric acid reactive substances. The efficiency of the enzyme link was evaluated by catalase and superoxide dismutase activity.

We revealed an increase in the production of superoxide anion radical due to the activity of phagocytes compared to the intact group in the heart muscle under conditions of light deprivation on the background of the introduction of melatonin.

In skeletal muscle tissue homogenate the production of superoxide anion radical by the mitochondrial electron transport chain production is likely was reduced compared to the intact group. Light deprivation on the background of exogenous administration of melatonin reduces the intensity of production of reactive oxygen species, which is confirmed by a decrease in the level of superoxide anion radical in the homogenate of the quadriceps femoris muscle tissues of experimental animals. Melatonin as an antioxidant reduces the production of superoxide anion radical by mitochondrial oxidation in the quadriceps femoris muscle. In this case, the excess melatonin stabilizes the fluidity of the membrane, reducing its permeability, which may indicate the protective properties of this substance.

**Conclusion.** Thus, modeling the conditions of excess melatonin modifies the generation of superoxide anion radical from various sources. The above experimental conditions contribute to multidirectional changes in the quantitative generation of the superoxide anion radical in the heart and skeletal muscles. Changes in the indicators of prooxidant-antioxidant status in the homogenate of the studied tissues under the selected experimental conditions were not detected.

**Keywords:** muscle tissue, reactive oxygen species, light deprivation, melatonin.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 03.06.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування