

Вплив кверцетину і тріовіту на стан про- та антиоксидантної системи тонкої кишки щурів при запаленні, індукованому карагінаном на тлі нестачі мелатоніну

Я.М. Анасевич, В.С. Черно

Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського; e-mail: anasevich28@gmail.com

Досліджували стан про- та антиоксидантної системи тонкої кишки щурів при запаленні на тлі нестачі мелатоніну. Встановлено зниження антиоксидантного захисту за цих умов: на 38 % зменшується активність супероксиддисмутази та на 34 % – каталази. Це є свідченням того, що гіпомелатоніємія підсилює негативний вплив запалення в тонкій кишці. Введення в харчовий раціон тріовіту та кверцетину при запаленні на тлі нестачі мелатоніну зменшує вміст малонового діальдегіду на 22 % та збільшує активність каталази на 23%, що говорить про підвищення стійкості антиоксидантного захисту та зменшення негативних наслідків запалення в тонкій кишці. Дослідження свідчить про позитивний вплив тріовіту та кверцетину, на стан тонкої кишки щурів при запаленні. Ключові слова: тонка кишка; мелатонін; гіпомелатоніємія; кверцетин; тріовіт; запалення; караган.

ВСТУП

У дорослої людини за добу синтезується близько 30 мкг мелатоніну, його концентрація в сироватці крові вночі в 30 разів більша, ніж удень, причому пік активності припадає на 2-гу годину ночі. Продукція мелатоніну пригнічується при рецепції світлової інформації сітчастою оболонкою ока [1]. Відомо, що мелатонін має антиоксидантні та імуномодуляторні властивості, здатний підсилювати активність інших ендогенних антиоксидантів [2]. Водночас експериментально підтверджено підвищення пухлиноутворення і збільшення смертності при постійному освітленні [3]. Мелатонін синтезується не тільки в епіфізі. Його виявлено у всіх відділах шлунково-кишкового тракту (ШКТ) тварин і людини, від стравоходу до прямої кишки [4]. У дослідженнях на тваринах після пінеалектомії продемонстровано наявність мелатоніну в органах ШКТ [5], що свідчить про його синтез в цих органах. Встановлено, що мелатонін

може пригнічувати клітинну проліферацію [6], причому сила його впливу не поступається потужному цитотоксичному агенту колхіцину.

Велика кількість досліджень присвячена вивченню нічного освітлення, яке називають «світловим забрудненням», «циркадіанною деструкцією» на фізіологічні параметри організму, що супроводжується порушенням ендогенного добового ритму і пригніченням нічної секреції мелатоніну [7]. Це призводить до ановуляції, ациклічної продукції гонадотропінів, пролактину, естрогенів, прогестерону, розвитку гіперпластичних процесів у молочних залозах і в матці, а також до прискореного клімаксу у гризунів і до дисменореї у жінок. Тому можна вважати, що мелатонін відіграє важливу роль у функціонуванні організму і порушення його секреції може бути причиною різних патологій органів. Так, доведено, що збій циркадних ритмів має значення в патогенезі захворювань серцево-

судинної системи і ШКТ [8]. Вивчення дії мелатоніну на ШКТ відкриває нові можливості в корекції його функціонального стану. Проблема впливу мелатоніну на тонку кишку актуальна, оскільки можливий зв'язок між його вмістом і ступенем запалення. А значить є можливість коригуванням вмісту мелатоніну в організмі сприяти зменшенню або навіть зникненню запалення. Нині крім мелатоніну, широко використовують як лікарські засоби кверцетин та комплекс біоантиоксидантів тріовіт, що потребує детального подальшого вивчення їх дії на організм.

Метою нашої роботи було вивчення впливу кверцетину і комплексу біоантиоксидантів тріовіт на стан про- та антиоксидантної системи тонкої кишки шурів при запаленні на тлі гіпомелатоніемії.

МЕТОДИКА

Дослідження виконані на 56 статевозрілих білих шурах-самцях лінії Вістар масою 220-260 г (7 груп по 8 тварин). Тварини перебували в стандартних умовах віварію при постійній температурі і вологості повітря, вільному доступі до води та їжі. До I групи ввійшли інтактні тварини, яких утримували при світловому режимі: 12 год темрява – 12 год світло (контроль). Тварин II групи для моделювання гіпомелатоніемії утримували в режимі постійного освітлення (1000-1500 Лк) протягом 30 діб. Тваринам III, IV, VII груп моделювали запалення тонкої кишки вільним доступом до 1%-го водного розчину карагінану протягом такого самого терміну [9]. Крім того, тваринам IV групи індукували гіпомелатоніемію, тваринам VII групи – гіпомелатоніемію і вводили в харчовий раціон препарат тріовіт («КРКА», Словенія) дозою 0,1 мг/кг за добу і кверцетин (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ») дозою 1 мг/кг за добу. Тваринам V групи вводили тріовіт і кверцетин, а в VI групі, крім цього, моделювали гіпомелатоніемію. Сезон дослідження – пізня весна, коли секреція мелатоніну середня між максимумом взимку

і мінімумом влітку [10].

Тварин виводили з експерименту, здійснюючи одномоментну декапітацію під кетаміновим наркозом (40,0 мг/кг). У роботі з тваринами було дотримано принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Особливості метаболічних процесів у тонкій кишці аналізували за станом антиоксидантної системи. Стан вільнорадикального перекисного окиснення визначали за концентрацією дієнових кон'югатів (ДК) [11] і малового діальдегіду (МДА) [12] у слизовому шарі тонкої кишки. Стан запалення в тканинах досліджували за вмістом МДА. Визначали показники антиоксидантного захисту (АОЗ) – активність супероксиддисмутази (СОД) [13] і каталази [14].

Обробку отриманих результатів дослідження проводили, використовуючи традиційні статистичні методи з обчислення відносних величин, середньої арифметичної, помилки репрезентативності та середнього квадратичного відхилення. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уїлка. За відповідності результатів нормальному розподілу для їх порівняння використовували критерій t Стюдента для незалежних вибірок, при невідповідності – непараметричний метод – тест Мана-Уїтні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм «Microsoft Excel» і «Statistica» («Statsoft», США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тонка кишка виявилася стійкою до нестачі мелатоніну, оскільки рівень вільнорадикального перекисного окиснення і АОЗ майже не змінювався при гіпомелатоніемії (II група) порівняно з контролем. Хоча, за літературними даними, в шлунку та легенях нестача мелатоніну призводить до дисбалансу в про- та антиоксидантній системі: зростання продуктів перекисного окиснення ліпідів у

шурів на фоні зниження активності антиоксидантних ферментів [15].

При запаленні концентрація МДА достовірно збільшилася на 30 % порівняно з нормою, що свідчить про посилення перекисного окиснення та послаблення АОЗ у тонкій кишці. Це відбувається, оскільки запальний процес супроводжується накопиченням активних форм кисню і індукцією вільнорадикального окиснення ліпідів [16], переважно за рахунок різкого підвищення споживання фагоцитами кисню, що характерно для запалення. А вільнорадикальне перекисне окиснення та його продукти є одними з найбільш ранніх регуляторних метаболітів, що відіграють важливу роль у пошкодженні мембран. Однак рівень

вільнорадикального перекисного окиснення залежить не тільки від концентрації вільних радикалів, але і від функції АОЗ. Відомо, що такими антиоксидантами в організмі є ферменти СОД та каталаза, а також низькомолекулярні антиоксиданти [17].

При введенні в харчовий раціон тварин тріовіту і кверцетину (V група) концентрація ДК зменшилася на 30 % ($P < 0,001$) відносно значень у тварин із модельованим запаленням на тлі гіпомелатоніемії (IV група). Також виявлено збільшення концентрації ДК на 15 % ($P < 0,002$) в групі шурів, яким вводили тріовіт та кверцетин на тлі гіпомелатоніемії (VI група), а в групі шурів, яким вводили тріовіт та кверцетин та моделювали запалення

Біохімічні показники антиоксидантної системи тонкої кишки шурів за умов нестачі мелатоніну та запалення ($M \pm m$, $n=8$)

Схема досліджу	Дієнові кон'югати, мкмоль/кг	Малоновий діальдегід, мкмоль/кг	Супероксид-дисмутаза, ум.од/г	Каталаза, мкат/кг
Контроль	16,56±1,30	9,94±0,54	1,42±0,04	3,56±0,31
Гіпомелатоніемія	17,15±1,30	10,71±0,95	1,36±0,05	2,87±0,28
Запалення	17,79±0,12	13,93±0,10	1,22±0,01	4,37±0,07
		$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,05$
		$P_2 < 0,01$	$P_2 < 0,05$	$P_2 < 0,001$
Запалення на тлі гіпомелатоніемії	18,86±0,08	10,05±0,04	1,03±0,01	2,71±0,02
	$P_3 < 0,001$	$P_3 < 0,001$	$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,05$
			$P_2 < 0,001$	$P_3 < 0,001$
			$P_3 < 0,001$	
Тріовіт і кверцетин	13,22±0,29	5,42±0,57	1,05±0,04	3,97±0,19
	$P_3 < 0,001$	$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,001$	
		$P_3 < 0,001$	$P_3 < 0,01$	
Гіпомелатоніемія, тріовіт і кверцетин	15,25±0,43	5,13±0,58	1,10±0,08	3,78±0,18
	$P_4 < 0,001$ $P_5 < 0,002$	$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,01$	$P_2 < 0,02$
		$P_2 < 0,001$	$P_2 < 0,02$	$P_2 < 0,02$
		$P_4 < 0,001$		$P_4 < 0,001$
Запалення на тлі гіпомелатоніемії, тріовіт і кверцетин	16,02±0,04	7,26±0,06	1,05±0,02	3,50±0,03
	$P_3 < 0,001$	$P_1 < 0,002$	$P_1 < 0,001$	$P_2 < 0,05$
	$P_4 < 0,001$	$P_2 < 0,01$	$P_2 < 0,001$	$P_3 < 0,001$
	$P_5 < 0,001$	$P_3 < 0,001$	$P_3 < 0,001$	$P_4 < 0,001$
		$P_4 < 0,001$		$P_5 < 0,05$
		$P_5 < 0,02$		

Примітка: P_1 – порівняно з контролем; P_2 – з гіпомелатоніемією; P_3 – із запаленням; P_4 – із запаленням на тлі гіпомелатоніемії; P_5 – зі введенням тріовіту і кверцетину.

ня на тлі гіпомелатоніемії (VII група) – на 21 % ($P < 0,001$) порівняно зі значеннями у тварин, яким вводили ці препарати (V група). Концентрація МДА при введенні в харчовий раціон тріовіту і кверцетину в V і VI групах знизилася вдвічі, а в VII групі (запалення на тлі гіпомелатоніемії, тріовіт і кверцетин) – на 30 % ($P < 0,002$) порівняно з контролем, що свідчить про стійкість АОЗ.

У п'яти групах (III, IV, V, VI, VII) достовірно знижувалась активність СОД щодо контрольних значень. Оскільки СОД є ключовим ферментом АОЗ організму, здійснює дисмутацію радикала супероксид-аніона ($\bullet O_2^-$) – продукту одноелектронного відновлення молекулярного кисню, який утворюється практично у всіх клітинах організму, що контактують з ним, і відіграє провідну роль у процесах токсичності активних форм кисню, а також є попередником більш токсичного гідроксильного радикала ($\bullet OH$), – це вказує на зменшення рівня перекисного окиснення. Активність каталази зменшилася при запаленні на тлі гіпомелатоніемії (IV група) на 38 % ($P < 0,001$) відносно значень у тварин з модельованим запаленням (III група). І оскільки зниження активності каталази є загальною ознакою розвитку патологічного процесу [18], це свідчить про негативний вплив запалення на тлі нестачі мелатоніну на тонку кишку щурів.

За умов введення в харчовий раціон препарату тріовіт і кверцетину на фоні гіпомелатоніемії (VI група) активність каталази збільшилася на 32 % ($P < 0,02$) відносно значень у тварин з гіпомелатоніемією (II група). При введенні цих препаратів на тлі гіпомелатоніемії і запаленні (VII група), активність каталази знизилася на 20 % ($P < 0,001$) порівняно зі значеннями у тварин з модельованим запаленням (III група).

Таким чином, отримані нами результати свідчать про пригнічення захисту тонкої кишки і виснаження резервів ферментного АОЗ при запаленні на тлі гіпомелатоніемії. Але при введенні тріовіту і кверцетину зни-

жується концентрації МДА, що говорить про посилення АОЗ. А зменшення концентрації ДК, МДА і активності СОД при введенні тріовіту і кверцетину (V група) свідчить про зменшення рівня перекисного окиснення ліпідів і посилення АОЗ. Це відбувається внаслідок комплексного впливу різних антиоксидантів, які входять до складу тріовіту, таких як селен, аскорбінова кислота, токоферол, β -каротин [19].

ВИСНОВКИ

1. Тонка кишка стійка до гіпомелатоніемії.
2. Нестача мелатоніну підсилює негативний вплив запалення в тонкій кишці порівняно зі звичайним запаленням.
3. Введення тріовіту і кверцетину призводить до зменшення рівня перекисного окиснення ліпідів і посилення АОЗ у тонкій кишці.

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.

Я. Н. Анасевич, В. С. Черно

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА И ТРИОВИТА НА СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ВОСПАЛЕНИИ, ИНДУЦИРОВАННОМ КАРРАГИНАНОМ НА ФОНЕ НЕДОСТАТОЧНОСТИ МЕЛАТОНИНА

Исследовали состояние про- и антиоксидантной системы тонкой кишки крыс при воспалении на фоне недостатка мелатонина. Установлено снижение антиоксидантной защиты при таких условиях: на 38% уменьшается активность супероксиддисмутазы и на 34% каталазы. Это является свидетельством того, что гипомелатонинемия усиливает негативное влияние воспаления в тонкой кишке. Введение в пищевой рацион триовита и кверцетина при воспалении на фоне недостатка мелатонина уменьшает содержание малонового диальдегида на 22% и увеличивает активность каталазы на 23%, что говорит о повышении устойчивости антиоксидантной защиты и уменьшения негативных последствий воспаления в тонкой кишке. Исследование свидетельствует о положительном влиянии

триовита и кверцетина на состояние тонкой кишки крыс при воспалении.

Ключевые слова: тонкая кишка; мелатонин; гипомелатонинемия; кверцетин; триовит; воспаление; карагинан.

Y.M. Anasevych, V.S. Chernov

THE INFLUENCE OF THE QUERCETIN AND THE TRIOVIT ON THE STATE OF THE RAT'S SMALL INTESTINE WITH INFLAMMATION INDUCED BY CARRAGEENAN AGAINST A BACKGROUND OF MELATONIN DEFICIENCY

The state of the pro- and antioxidant system of the small intestine of rats during inflammation was studied against the background of a lack of melatonin. Reduced antioxidant protection was established under these conditions: the activity of superoxide dismutase decreased by 38% and catalase by 34%. This observation suggests that hypomelatoninemia increases the negative effects of inflammation in the small intestine. The introduction of triovite and quercetin in the diet of the rat having inflammation, against the background of the lack of melatonin, reduces the content of malondialdehyde by 22% and increases the activity of catalase by 23%, which suggests an increase in the antioxidant defense and reduction in the negative effects of inflammation in the small intestine. The study indicates a positive effect of triovite and quercetin on an inflammatory condition in the small intestine of rats.

Key words: small intestine; melatonin; hypomelatoninemia; quercetin; triovit; inflammation; carageenan.

Mykolaiv V.O. Sukhomlynskyi National University e-mail: anasevich28@gmail.com

REFERENCES

1. Tsuda T, Ide M, Iigo M. Influence of season and of temperature, photoperiod, and subcutaneous melatonin on the glomerular filtration rate of ewes. *Pineal Res.* 1995;19:166-72.
2. Tsvetkova LN, Budnevskiy AV, Ovsyannikov ES, Kudashova EA. Melatonin: Possibilities for use in the treatment of asthma. *Ter. Arkh.* 2017;89(3):112-5. [Russian].
3. Zamfir Chiru AA, Popescu CR, Gheorghe DC. Melatonin plays an important role in cancer (tumor growth and metastasis) through different pathways and may have therapeutic significance. *Med Life.* 2014.Sep.15;7(3):373.
4. Hnatiuk VV, Kononenko NM. Research of melatonin level in rats of different sexes and age with ulcerative lesion of the stomach. *Gastroent.* 2016;4(62):72-6. [Ukrainian].
5. Bubenik GA. Localization of melatonin in the digestive tract of the rat: effect of maturation, diurnal variation, melatonin treatment and pinealectomy. *Horm Res.* 1980;12:313.
6. Myakisheva SN, Krestinina OV. Study the effect of melatonin on the proliferation and an induction of the differentiation of mouse n1e-115 neuroblastoma cells. *Mod Probl of Sci and Educ.* 2014;6:18. [Russian].
7. Mamotenko AV, Komisova TE. The effect of light regime on estrous cycle in female rats. *Biol and Valeol.* 2016;18:57-61. [Ukrainian].
8. Fadeenko GD, Izmaylova OV. Gastroesophageal reflux disease and coronary artery disease: current views and outstanding issues of the comorbidity. *Mod Gastroent.* 2015;4:109-17. [Ukrainian].
9. Tkachenko AS. Indicators of the functional state of the endothelium of small intestinal vessels in chronic experimental gastroenterocolitis. *Tavrich Med-Biol Vest.* 2014;1(65):128. [Ukrainian].
10. Turchina SI, Shljahova NV. Seasonal rhythms of melatonin production and immunoreactivity in healthy children. All-Russian scientific-practical conference 50 years of melatonin: results and prospects of research. Theses of reports. Saint-Petersburg, Russia. 2008.
11. Stal'naya ID. Method of determination of conjugated diene of unsaturated higher fatty acid. *Modern methods in biology, ed. VN Orekhovich. M.: Medicine;1977.* [Russian].
12. Stal'naya ID. The method of revelation of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid. *Modern methods in biology, ed. VN Orekhovich. M.: Medicine;1977.*
13. Cheviri S, Chaba I, Sekey I. The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of cells and the method of determining it in biological materials. *Lab Case.* 1985;11:678-81. [Russian].
14. Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova NT, Tokareva KE. Methods for determination of catalase activity. *Lab Case.* 1988;1:16-8. [Russian].
15. Tsvyah OO. Effect of stress on the state of prooxidant-antioxidant system in rats stomach with deficiency and excess melatonin. *Bul Probl Biol and Med.* 2013;3(1):254-8. [Ukrainian].
16. Drozd VY, Huhlina OS, Mandrik OE. Homeostasis oxidant indices in patients with coursecomorbid gastroesophageal reflux disease and coponary heart disease. *The Unity of Sci: Inter Sci Period J.* 2016;1(1-1):262-7.
17. Zahuga OG, Koliada AK, Kukharskyy VM. The effect of dietary restriction during development of Drosophila melanogaster on the activity of antioxidant system enzymes. *Fiziol Zh.* 2015;61(6):114-8.[Ukrainian].
18. Net'ukhaylo LG, Basarab YA, Kharchenko SV. Superoxide dismutase and catalase activity burn disease and administration of "Cryochor". *World Med and Biol.* 2010;4:141-3. [Ukrainian].
19. Lutsenko OI, Voron NM. The role of vitamins in human life. *Young Scientist.* 2017;42(2):7-13. [Russian].

Матеріал надійшов до редакції 07.11.2018