

УДК [599.323.4:591.133.16]:591.542

ТАТЬЯНА НИКОЛАЕВНА ИЛЬИНА

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биологии Карельского научного центра РАН (Петрозаводск, Российская Федерация)
ilyina@bio.krc.karelia.ru

ИРИНА ВАЛЕРЬЕВНА БАИШНИКОВА

кандидат биологических наук, ведущий биолог, Институт биологии Карельского научного центра РАН (Петрозаводск, Российская Федерация)
iravbai@mail.ru

ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА ВИНОГРАДОВА

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, организации и фармации с курсами микробиологии и гигиены медицинского факультета, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)
irinav@petrsu.ru

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВИТАМИНОВ А И Е В ОРГАНАХ КРЫС НА ФОНЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ОСВЕЩЕНИЯ И ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА*

Исследовано влияние мелатонина на содержание витаминов А и Е в органах (печень, почки, сердце) 6-, 12-, 18-месячных крыс при различных световых режимах. В результате установлено, что в большей степени уровень витаминов в тканях зависит от условий освещения; наиболее значительные изменения концентрации витаминов А и Е обнаружены у крыс, содержащихся при постоянном и естественном освещении. Уровень токоферола в печени 6-месячных крыс, содержащихся при постоянном освещении, был значительно выше. Добавление мелатонина и освещение практически не влияли на концентрацию токоферола в сердце крыс, за исключением режима естественного освещения, при котором мелатонин повышал содержание витамина Е. Применение мелатонина приводит к сдвигу уровня витаминов А и Е у крыс в сторону нормализации, уменьшению как возрастных, так и вызванных неблагоприятными условиями внешней среды изменений системы антиоксидантной защиты и связанному с этим общему снижению дефицита антиоксидантов в организме.

Ключевые слова: антиоксиданты, витамины А и Е, мелатонин, крысы, возраст, световые режимы

Изучение физиолого-биохимических адаптаций организма определяется необходимостью исследования механизмов, обеспечивающих приспособление к факторам внешней среды. При индивидуальном развитии организма адаптивная функция осуществляется уже на стадии зиготы, что обеспечивает приспособление не только к текущим, но и к меняющимся условиям среды в процессе развития. Необходимо отметить, что и в старости организм не утрачивает способности к адаптационным реакциям, несмотря на прогрессирующее сужение их границ [3], [6].

Исследование процессов возрастных изменений в органах и тканях выявило снижение в них многих физиологически активных веществ, в том числе и витаминов, дефицит которых является одним из проявлений нарушения обмена веществ организма. Свободные радикалы, образующиеся в результате различных окислительных реакций в организме, вызывают повреждение макромолекул. С возрастом происходит снижение общей антиокислительной и антирадикальной активности тканей, повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). В нормальных условиях

процесс ПОЛ находится под контролем ферментативных и неферментативных систем клетки. В то же время обнаружение в органах и тканях продуктов взаимодействия активных форм кислорода с макромолекулами свидетельствует о том, что клетки постоянно подвергаются окислительному стрессу, противодействию которому может играть существенную роль в механизме геропротекторного действия эндогенных и экзогенных антиоксидантов. От наличия в ткани низкомолекулярных антиоксидантов, в первую очередь таких, как токоферол и ретинол, зависит ее антирадикальная защита [4], [6]. Установлено, что видовая продолжительность жизни прямо коррелирует с содержанием в сыворотке крови α -токоферола, β -каротина, а также некоторых других антиоксидантов [1]. В то же время, помимо витаминов Е и А, регуляция антиоксидантной защиты может осуществляться за счет других неферментативных антиоксидантов. Так, эпифизарный гормон мелатонин отличается нормализующим характером воздействия на различные физиологические показатели [2]. Наряду с этим мелатонин обладает сильным антиоксидантным эффектом и препятствует ускоренному старению

организма, сопряженному с увеличением уровня продуктов ПОЛ: нормализует ряд возрастных нарушений жирового обмена, восстанавливает репродуктивную функцию у старых животных, обладает антиканцерогенным эффектом и потенциальными регенеративными свойствами. Известно, что при окислительном стрессе мелатонин эффективно конкурирует с другими антиоксидантами. В то же время концентрация мелатонина, как и ряда других биологически активных соединений, характеризуется выраженным снижением в процессе старения [8]. Существует зависимость между возрастным снижением продукции мелатонина, продолжительностью жизни и развитием возрастных заболеваний [1], [9]. В связи с этим одним из важнейших факторов, лежащих в основе геропротекторных свойств низкокалорийной диеты, рекомендованной для людей среднего и пожилого возраста, является замедление возрастного снижения продукции мелатонина [8], [10], [11].

Немаловажной причиной, влияющей на процесс старения различных физиологических систем, является свет. Изменение оптимального диапазона его воздействия приводит к резкому сокращению продолжительности жизни [1]. Значительно меняясь при разных световых условиях, уровень мелатонина оказывает влияние как на содержание других антиоксидантов, так и на состояние антиоксидантной системы организма в целом. Целью работы было исследование влияния

экзогенного мелатонина на возрастные изменения содержания витаминов А и Е в органах крыс, содержащихся в различных световых условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на самках и самцах крыс линии ЛИО, содержащихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. С месячного возраста животные были рандомизированно разделены на 3 группы по 30 животных в каждой. Первая группа находилась в условиях стандартного чередующегося светового режима (12 ч свет / 12 ч темнота), вторая группа – в условиях естественного освещения с учетом особенностей годового фотопериодизма Северо-Запада России, третья группа – при круглосуточном постоянном освещении люминесцентными лампами. В возрасте 4 месяцев крысы каждой группы были подразделены на две подгруппы: первая являлась контрольной по отношению к данному световому режиму, крысы второй подгруппы получали мелатонин (Sigma, США) в дозе 10 мг/л вместе с питьевой водой 5 дней в неделю в вечернее время. Концентрацию витаминов А и Е (α -токоферол) в органах крыс (печень, почки, сердце) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [7] в 6, 12, 18-месячном возрасте. Хроматографическое разделение осуществляли на микроколоночном хроматографе с ультрафиолетовым детектором. Элюентом служила смесь

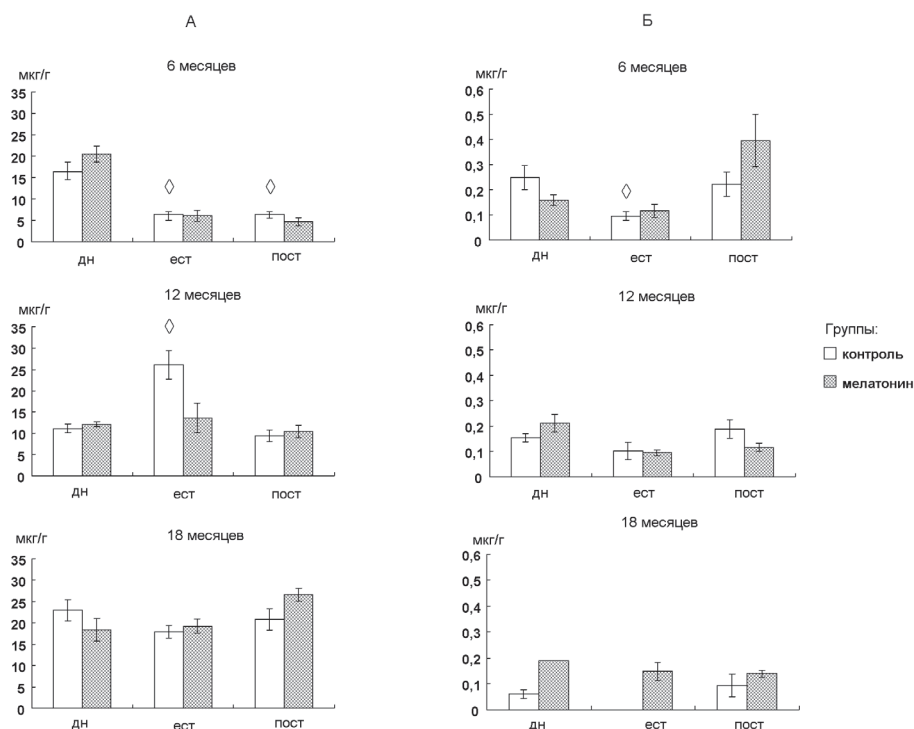


Рис. 1. Влияние мелатонина на концентрацию витамина А в печени (А) и почках (Б) крыс разного возраста. По оси абсцисс световые режимы (дн – 12 ч свет / 12 ч темнота, ест – естественное освещение, пост – постоянное освещение); * – изменения достоверны по сравнению с контрольной группой; ◇ – изменения достоверны по сравнению с животными, которые не получали мелатонин и содержались при стандартном (12 ч день / 12 ч ночь) освещении

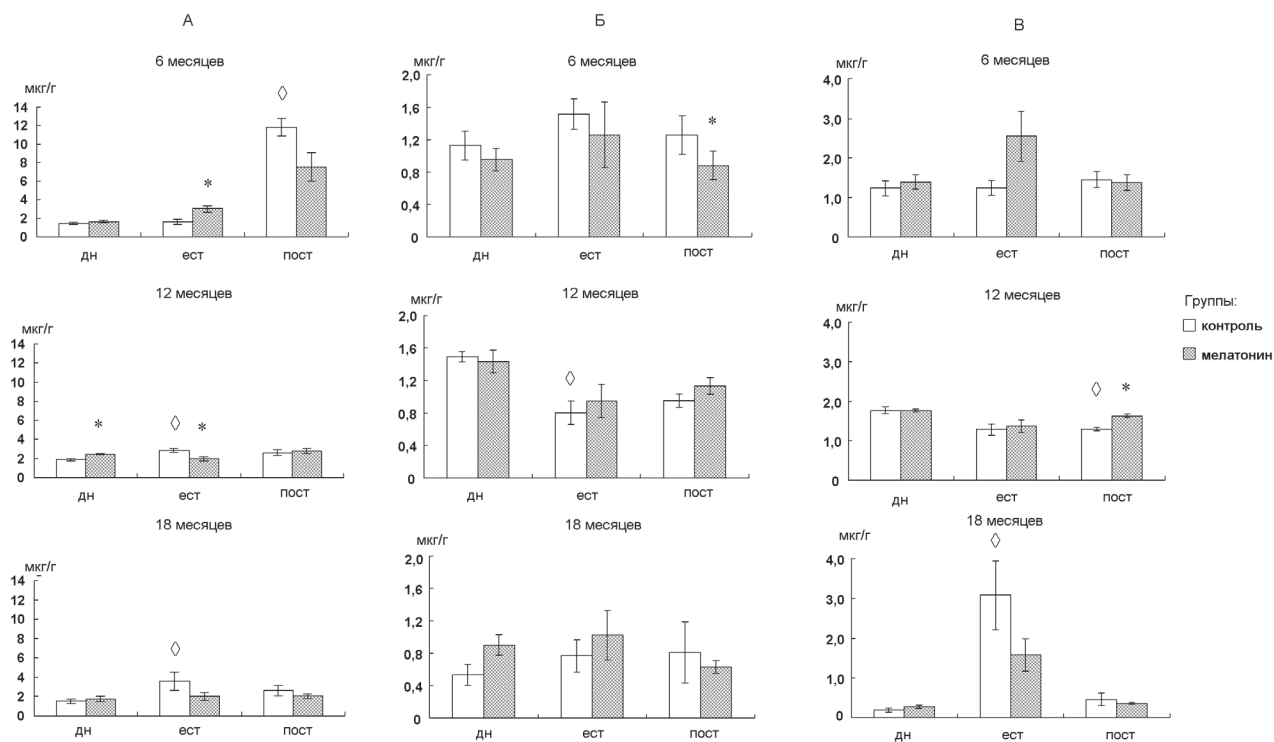


Рис. 2. Влияние мелатонина на концентрацию витамина Е в печени (А), почках (Б) и сердце (В) крыс разного возраста (условные обозначения как на рис. 1)

гексана с изопропанолом в соотношении 98,5:1,5. Для построения калибровочных кривых использовали стандартные растворы α -токоферола («Sigma», США). В сердце измеряли только содержание токоферола, так как ретинол в данном органе не детектируется. Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, сравнение различий между группами проводили с применением непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Исследования выполнены с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Института биологии КарНЦ РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованием установлено, что мелатонин повышал концентрацию витамина А в печени 6-месячных крыс при стандартном освещении (рис. 1) и достоверно увеличивал содержание витамина Е в печени в условиях естественного освещения (рис. 2). При этом уровень α -токоферола в печени крыс, содержащихся при постоянном освещении, был значительно выше по сравнению с другими группами. В то же время добавка мелатонина приводит к снижению концентрации витаминов А и Е в этой группе и уменьшает содержание витамина Е в почках животных всех опытных групп. Как известно, мелатонин обладает значительной антиоксидантной активностью, что, очевидно, является причиной снижения содержания витаминов при его дополнительном введении в рацион, когда биосинтез самого эндогенного антиоксиданта в организме

понижен в условиях освещения, существенно отличающегося от стандартного. Добавка мелатонина и освещение практически не влияли на концентрацию α -токоферола в сердце крыс, за исключением режима естественного освещения, при котором мелатонин повышал содержание витамина Е. В этом случае отчетливо проявилось известное взаимное влияние токоферола и ретинола [4], [6], которое выразилось в перераспределении витаминов в органах под влиянием исследуемых факторов.

В печени 12-месячных крыс мелатонин увеличивал содержание витаминов А и Е при стандартном и постоянном освещении и приводил к снижению содержания обоих витаминов при естественном освещении. Необходимо учесть, что в этот период, приходящийся на весенние месяцы, при естественном режиме животные находились в условиях удлиняющегося светового дня (эффект «белых ночей») с приходящимся на конец июня максимумом, совпадавшим в эксперименте с 12-месячным возрастом крыс и следующим за этим увеличением темного времени суток (возраст 18 месяцев). В сердце эндогенный мелатонин вызывал достоверное увеличение содержания витамина Е при постоянном освещении.

В возрасте 18 месяцев у крыс в печени при естественном и постоянном освещении под влиянием мелатонина отмечено увеличение концентрации ретинола и снижение токоферола. В сердце, как и в печени, максимальное содержание витамина Е было при естественном освещении, а мелатонин приводил к его снижению. В условиях

стандартного освещения мелатонин практически не влиял на концентрацию токоферола в сердце крыс во все исследованные периоды. Возрастное снижение содержания ретинола, характерное для почек [12], проявилось при всех режимах освещения, но наиболее значительно – при естественном, причем в 18 месяцев витамин А детектировался только у крыс, получавших добавку мелатонина. Очевидно, при возрастном изменении эффективности антиоксидантной системы и снижении в организме уровня мелатонина, усиливаемого внешними факторами, другие антиоксиданты интенсивнее расходуются на удовлетворение биологических потребностей организма.

Процесс старения в значительной степени связан со снижением эффективности систем утилизации активных форм кислорода в тканях, поэтому с возрастом в органах изменяется не только концентрация витаминов А и Е, что связано, очевидно, с существенным нарушением обмена веществ при старении, но и реакция на мелатонин, которая проявляется иначе, чем у молодых животных [5]. Можно предположить, что длительное употребление одинаковой дозы мелатонина вызывает состояние толерантности, при котором ответ на действие препарата в ряде случаев может быть ослаблен. В то же время применение мелатонина в нашем эксперименте привело к увеличению максимальной продолжительности жизни у самок крыс при естественной освещенности и средней продолжительности жизни у животных обоего пола в условиях постоянного освещения.

Действие добавки мелатонина на концентрацию витаминов А и Е, кроме режима постоянного освещения, заметно проявилось в условиях естественного освещения с существенными периодическими его изменениями в течение года, что, вероятно, оказывает даже большее стрессовое воздействие на организм животных, чем постоянное освещение, вызывающее значительное напряжение антиоксидантной системы. В условиях постоянного освещения наиболее существенные изменения концентрации α -токоферола в печени и почках под влиянием добавки мелатонина происходили у молодых и зрелых животных. Ранее было показано, что уровень эндогенного мелатонина зависит от фотопериода, а дополнительное введение гормона или стимулирующего его синтез вещества обуславливает выраженность таких изменений антиоксидантной системы [5]. Результаты нашего

исследования выявили достаточно высокую степень устойчивости содержания токоферола в сердце к влиянию не только экзогенного мелатонина, но и света во всех возрастных группах как важного фактора сохранения динамического равновесия антиоксидантного статуса в миокарде, причем воздействие изученных факторов было минимально у молодых животных.

Таким образом, исследование показало, что длительное применение мелатонина оказывает модулирующее влияние на содержание витаминов А и Е в органах крыс разного возраста. В то же время концентрация витаминов в значительной степени зависит от антиоксидантных свойств эндогенного мелатонина, которые в исследуемых группах выражались различно. Действие экзогенного мелатонина на концентрацию обоих витаминов наиболее значительно проявилось в условиях освещенности, существенно отличающейся от стандартной. Причем складывается впечатление, что периодически (сезонно) меняющийся световой режим оказывает большее влияние на степень этих изменений, которые коснулись антиоксидантной системы, так как подавление функции образования мелатонина эпифизом отражается прежде всего на уровне антиоксидантов, преимущественно работающих в комплексе. Наши исследования показали, что отношения мелатонина, токоферола и ретинола в большинстве случаев носят взаимокompенсаторный характер, когда повышение содержания одного антиоксиданта индуцирует снижение другого, благодаря чему сохраняется динамическое равновесие антиоксидантной системы, обеспечивающее повышение стабильности состава внутренней среды организма [4], [6].

Раннее снижение эффективности систем утилизации активных форм кислорода, важным компонентом которых являются неферментативные низкомолекулярные антиоксиданты, может вызывать значительное ограничение функциональных возможностей органов, характерное для более поздних стадий онтогенеза, ускорять начало дегенеративных изменений и явления преждевременного старения. Применение мелатонина приводит к сдвигу уровня витаминов А и Е у крыс в сторону нормализации, уменьшению как возрастных, так и связанных с неблагоприятными условиями внешней среды изменений системы антиоксидантной защиты и сопряженному с этим общему снижению дефицита антиоксидантов в организме.

* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 07-04-00546, ФЦП ГК № 02.740.11.0700, и Программы стратегического развития Петрозаводского государственного университета на 2012–2016 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб., 2003. 468 с.
2. Арушанян Э. Б., Бейер Э. В., Мастягина О. А., Мастягин С. С., Сидоренко Ж. И. Влияние мелатонина на некоторые гематологические показатели у здоровых людей // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. Т. 69. № 5. С. 36–38.
3. Аршавский И. А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. М.: Наука, 1982. 270 с.

4. Дадали В. А., Тутельян В. А., Дадали Ю. В. и др. Каротиноиды. Биодоступность, биотрансформация, антиоксидантные свойства // Вопросы питания. 2010. Т. 79. № 2. С. 4–17.
5. Ильина Т. Н., Виноградова И. А., Илюха В. А. и др. Влияние геропротекторов на возрастные изменения антиоксидантной системы печени крыс при различных световых режимах // Успехи геронтологии. 2008. Т. 21. № 3. С. 386–393.
6. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М., 2006. 556 с.
7. Скурихин В. Н., Двинская Л. М. Определение α -токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сельскохозяйственная биология. 1989. № 4. С. 127–129.
8. Хавинсон В. Х. Развитие идей И. И. Мечникова в работах по пептидной регуляции старения. СПб., 2008. 592 с.
9. Abuja P. M., Liebman P., Hayn M. et al. Antioxidant role of melatonin in lipid peroxidation of human LDL // FEBS Lett. 1997. Vol. 413. № 2. P. 289–293.
10. Balkan J., Sener G., Celikbas U. et al. Melatonin improved the disturbances in hepatic prooxidant and antioxidant balance and hepatotoxicity induced by a high cholesterol diet in C57BL/6J mice // Int. J. Vitam. Nutr. Res. 2004. Vol. 74. № 5. P. 349–354.
11. Frolikis V. V., Kulchitsky O. K., Novikova S. N. et al. Blood lipoproteins and their effect on contractile function of vessels in rats of different age // Mech. Ageing Dev. 1997. Vol. 97. № 3. P. 207–214.
12. Quiroz Y., Ferrebuz A., Romero F. et al. Melatonin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and progression of renal damage in rats with renal mass reduction // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2008. Vol. 294. P. 336–344.

Il'ina T. N., Institute of Biology, Karelian Research Centre of RAS (Petrozavodsk, Russian Federation)
Baishnikova I. V., Institute of Biology, Karelian Research Centre of RAS (Petrozavodsk, Russian Federation)
Vinogradova I. A., Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

AGE-RELATED CHANGES OF VITAMINS A AND E CONTENT IN RATS' ORGANS UNDER MODIFIED LIGHT CONDITION AND EXOGENIC MELATONIN

The influence of melatonin on vitamins A and E content in organs (liver, kidney, heart) of 6, 12, and 18-months old rats under different light conditions was studied. The present research has demonstrated that vitamins' level in rats' tissues depends on light conditions. As a result, the most significant changes in the antioxidant system were revealed under constant and natural light exposure. The level of vitamin E in the liver of the 6-months old rats was significantly higher than in the other groups due to constant light condition. Addition of melatonin and constant light condition had no influence on vitamin E concentration in the heart of the rats. The exception took place in natural light condition under which introduction of melatonin increased vitamin E content. Melatonin supplementation had a positive influence on vitamins A and E level in rats' tissues, decreased changes in the antioxidant system, and reduced antioxidant deficit in the organisms.

Key words: antioxidants, vitamins A and E, melatonin, rats, age, light condition

REFERENCES

1. Anisimov V. N. Molekulyarnye i fiziologicheskie mekhanizmy starenia [Molecular and physiological mechanisms of aging]. St. Petersburg, 2003. 468 p.
2. Arushanyan E. B., Beyer E. V., Mastayagina O. A., Mastayagin S. S., Sidorenko G. I. Melatonin effect on the hematological indices of healthy humans [Vliyanie melatonina na nekotorye gematologicheskie pokazateli u zdorovykh ludey]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experim. and clinical pharmacology]. 2006. Vol. 69. № 5. P. 36–38.
3. Arshavskiy I. A. Fiziologicheskie mekhanizmy i zakonomernosti individual'nogo razvitiya [Physiological mechanisms and regularity of individual development]. Moscow, Nauka Publ., 1982. 270 p.
4. Dadali V. A., Tutel'yan V. A., Dadali Yu. V., Kravchenko L. V. Carotenoids. Bioavailability, biotransformation, antioxidant properties [Karotinoidy. Biodostupnost', biotransformatsiya, antioksidantnye svoystva]. *Voprosy pitaniya* [Problems of nutrition]. 2010. Vol. 79. № 2. P. 4–17.
5. Il'ina T. N., Vinogradova I. A., Ilyukha V. A., Khizkin E. A., Anisimov V. N., Khavinson V. Kh. The influences of geroprotectors on age-related changes of antioxidant system in rats' liver under different light condition. [Vliyanie geroprotektorov na vrazstnye izmeneniya antioksidantnoy sistemy pecheni krysa pri razlichnykh svetovykh rezhimakh]. *Uspekhi gerontologii* [Advances in Gerontology]. 2008. Vol. 21. № 3. P. 386–393.
6. Men'shchikova E. B., Lankin V. Z., Zenkov N. K., Bondar I. A., Krugovykh N. F., Trufakin V. A. *Oksidativnyy stress. Prooksidanty i antioksidanty* [Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants]. Moscow, 2006. 556 p.
7. Skurikhin V. N., Dvinskaya L. M. Determination of α -tocopherol and retinol in the blood plasma of farm animals by high performance liquid chromatography method [Opredelenie α -tokopherola i retinola v plasme krovi sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh metodom vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* [Agricultural biology]. 1989. № 4. P. 127–129.
8. Khavinson V. Kh. Rasvitie idey I. I. Mechnikova v rabotakh po peptidnoy regulyatsii starenia [Development of I. I. Mechnikov ideas in the works on the peptides regulation of aging]. St. Petersburg, 2008. 592 p.
9. Abuja P. M., Liebman P., Hayn M. et al. Antioxidant role of melatonin in lipid peroxidation of human LDL // FEBS Lett. 1997. Vol. 413. № 2. P. 289–293.
10. Balkan J., Sener G., Celikbas U. et al. Melatonin improved the disturbances in hepatic prooxidant and antioxidant balance and hepatotoxicity induced by a high cholesterol diet in C57BL/6J mice // Int. J. Vitam. Nutr. Res. 2004. Vol. 74. № 5. P. 349–354.
11. Frolikis V. V., Kulchitsky O. K., Novikova S. N. et al. Blood lipoproteins and their effect on contractile function of vessels in rats of different age // Mech. Ageing Dev. 1997. Vol. 97. № 3. P. 207–214.
12. Quiroz Y., Ferrebuz A., Romero F. et al. Melatonin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and progression of renal damage in rats with renal mass reduction // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2008. Vol. 294. P. 336–344.

Поступила в редакцию 28.03.2013