

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ВВЕДЕНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

Фираго М. Э.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь, Гродно

Цель исследования: изучить влияние мелатонина и газотрансмиттеров на развитие окислительных повреждений, индуцированных трехкратным введением липополисахарида (ЛПС).

Материал и методы. Моделирование окислительного стресса осуществлялось путем введения ЛПС в течение трех суток в дозе 5 мг/кг, а его коррекцию проводили с помощью мелатонина, L-аргинина и гидросульфида натрия с последующим определением показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантного потенциала в тканях сердца, печени, почек и легких.

Результаты. Через 12 ч после последнего введения ЛПС инъекция мелатонина, L-аргинина или донора сероводорода (NaHS) приводит к снижению активности перекисного окисления липидов (диеновые и триеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) и к повышению антиоксидантной защиты (каталаза, восстановленный глутатион, α -токоферол, ретинол).

Выводы. Мелатонин уменьшает активность свободнорадикальных процессов и повышает уровень антиоксидантного потенциала в исследуемых тканях, а L-аргинин и NaHS не усиливают данный эффект мелатонина.

Ключевые слова: липополисахарид, прооксидантно-антиоксидантное состояние, мелатонин, газотрансмиттеры.

Введение

В результате окислительно-восстановительных реакций в организме постоянно происходит генерация активных форм кислорода (АФК), выполняющих функции вторичных мессенджеров и реализующие лиганд-рецепторные взаимодействия факторов транскрипции, медиаторов, цитокинов и гормонов [1]. Однако смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия с сопутствующим изменением окислительно-восстановительных реакций в жидкостях и биологических мембранах является сигналом для запуска стрессорного ответа [2]. Окислительный стресс (ОС) может активировать множество факторов транскрипции, включая ядерный фактор «каппа-би», активаторный белок-1, транскрипционный фактор P53 и Nrf2, что приводит к экспрессии более 500 разных генов, в том числе фактора роста, воспалительных цитокинов, хемокинов, регуляторных молекул клеточного цикла [3]. В связи с этим важная задача – поиск средств, способных влиять на процесс развития ОС, среди которых особое место занимает мелатонин – гормон, продуцируемый эпифизом, клетками APUD-системы пищеварительного тракта и другими неэндокринными клетками [4]. Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о том, что мелатонин является адаптационным гормоном, обладающим выраженным антиоксидантным действием [5]. Показано, что он не только является ловушкой радикалов, но и активатором таких антиоксидантов, как глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, а также супероксиддисмутазы и каталазы [3]. Однако следует отметить, что многие аспекты действия данного фактора не изучены, в частности, его взаимоотношение с особой группой веществ – газотрансмиттерами.

В поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия важная роль отводится га-

зотрансмиттерам (монооксид азота (NO) и сероводород (H_2S)), которые являются газообразными внутриклеточными сигнальными молекулами, выполняющими в клетке специфические регуляторные функции [6]. Мелатонин оказывает влияние на проявление разных эффектов данных мессенджеров. Так, применение индоламина приводит к снижению экспрессии индуцибельной NO-синтазы в печени при ее ишемии/реперфузии [7], а при ишемии головного мозга – к увеличению экспрессии нейрональной NO-синтазы [8]. Однако влияние мелатонина и вышеперечисленных соединений на степень развития ОС, индуцированного многократным действием липополисахарида (ЛПС), недостаточно изучено. В этой связи поиск новых средств, усиливающих антиоксидантную систему, весьма актуален.

Цель работы – изучение влияния мелатонина и газотрансмиттеров на развитие окислительных повреждений, индуцированных трехкратным введением липополисахарида.

Материал и методы

Эксперименты были выполнены на 50 лабораторных крысах-самцах массой 200-250 г, которые содержались на стандартном рационе вивария, имели свободный доступ к пище и воде, при искусственном освещении: 12 (день)/12 (ночь) часов. Все опыты проведены с соблюдением правил Европейской конвенции по защите животных, используемых в научных целях. На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета.

Животные были разделены на 5 экспериментальных групп. Особям 1-й (контрольной) группы вводили стерильный 0,9% раствор NaCl (в объеме 1 мл). Во 2-5-й группах моделировали ОС путем введения ЛПС *Escherichia coli* (Serotype 0111:B4, «Sigma», США в дозе 5 мг/

кг) в течение трех суток. Коррекцию ОС в 3-5-й группах проводили с помощью мелатонина («Sigma», США) в дозе 5 мг/кг. В 4-й группе дополнительно вводили исходный субстрат синтеза NO - L-аргинин («Sigma», США) в дозе 100 мг/кг, в 5-й донор H₂S – гидросульфид натрия (NaHS – «Sigma», США) в дозе 5 мг/кг. Все препараты вводили интраперитонеально болюсно (в объеме 1 мл) с интервалом 24 ч в течение трех суток. Инъекции корригирующих веществ осуществляли через 15 мин. после введения ЛПС. В условиях анальгезии (50 мг/кг тиопентала натрия интраперитонеально) через 12 ч после последней инъекции ЛПС осуществляли забор образцов тканей (сердце, печень, почки, легкие) и хранили их в жидком азоте. Для изучения показателей прооксидантно-антиоксидантного равновесия размороженные образцы измельчали в десятикратном объеме 10 mM калий-фосфатного буфера (рН 7,4), содержащего 0,1 mM ЭДТА в гомогенизаторе WPW-30 (Польша) с тefлоновым пестиком (2000 об/мин, 10 циклов).

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по содержанию диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов, а также концентрации малонового диальдегида (МДА). Показатели ДК и ТК оценивали на спектрофлуориметре «Солар» SM2203 при длине волны 233 нм (ДК) и 278 нм (ТК) [9]. Концентрацию МДА определяли спектрофотометрически при длине волны 540 нм [9]. Активность каталазы в гомогенатах регистрировали по количеству окрашенного продукта в реакции с пероксидом водорода и молибденово-кислым аммонием при длине волны 410 нм [10]. Содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах определяли спектрофотометрически с добавлением реактива Эллмана [11]. Концентрацию в гомогенатах α -токоферола и ретинола оценивали по методу S. T. Taylor на спектрофлуориметре «Солар» SM2203 [12].

Полученные ре-

зультаты обрабатывали с применением пакетов прикладных программ MS Excel и «Statistica». Результаты представлены в виде медианы, 25 и 75 процентилей: Me (25%-75%). С учетом малых размеров выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах статистическую значимость результатов оценивали методом непараметрической статистики для независимых выборок – критерий Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В наших исследованиях активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (ДК, ТК) и вторичных (МДА) продуктов ПОЛ. На рисунках 1, 2 и 3 представлены изменения параметров ПОЛ в тканях после трехкратного введения ЛПС. Так, отмечается увеличение в исследуемых тканях (сердце, печень, почки, легкие) уровней ДК, ТК и концентрации МДА.

Инъекция мелатонина в условиях развития ОС сопровождается снижением данных параметров по сравнению с аналогичными показателями

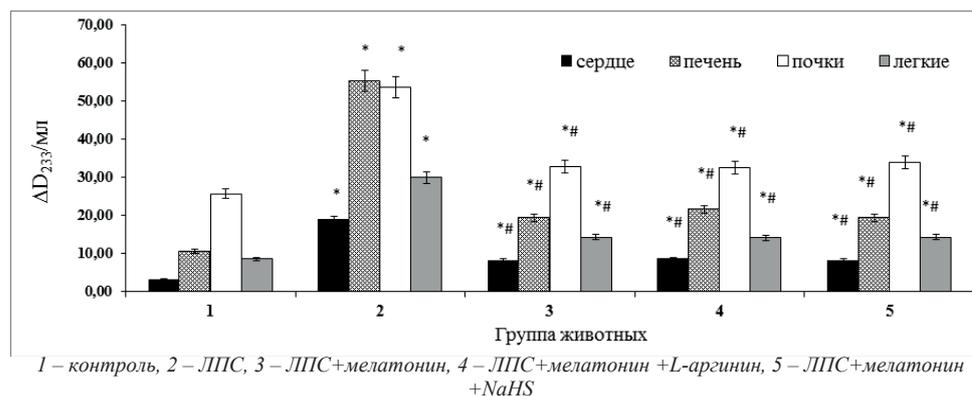


Рисунок 1. – Уровень диеновых конъюгатов в тканях при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина и коррекции системы газотрансмиттеров

Fig. 1. – The level of diene conjugates in tissues under oxidative stress in terms of the introduction of melatonin and the correction of the gas transducer system

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ к группе, получавшей только липополисахарид

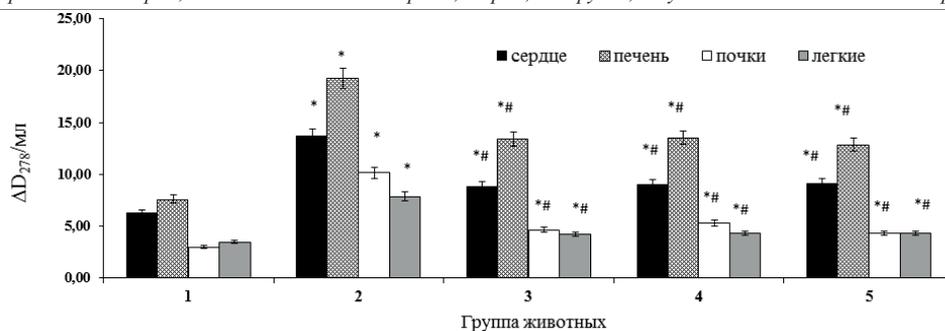


Рисунок 2. – Уровень триеновых конъюгатов в тканях при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина и коррекции системы газотрансмиттеров

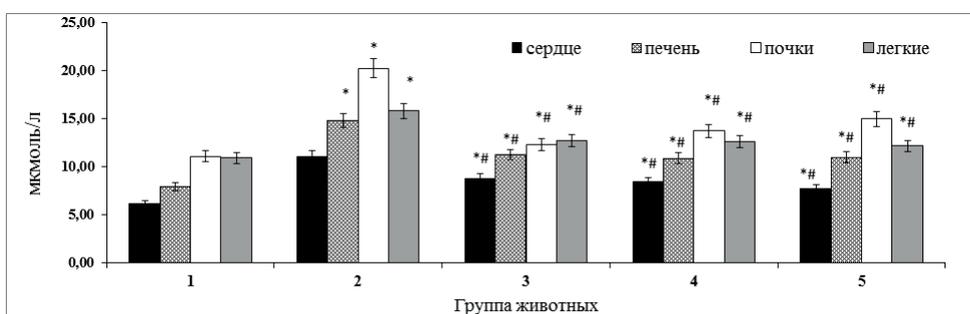
Fig. 2. – The level of triene conjugates in tissues under oxidative stress in terms of the introduction of melatonin and the correction of the system of gas transmitters

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ к группе, получавшей только липополисахарид

ми в группе животных, получавших только ЛПС. Уровни ДК и ТК в сердце уменьшается на 56,7% ($p < 0,05$) и 35,5% ($p < 0,05$); в печени – на 64,9% ($p < 0,05$) и 30,3% ($p < 0,05$); в почках – на 39,0% ($p < 0,05$) и 54,4% ($p < 0,05$); в легких – на 52,3% ($p < 0,05$) и 46,6% ($p < 0,05$), соответственно. Концентрация МДА также снижается во всех исследуемых тканях, в частности, в сердце – на 20,7% ($p < 0,05$), в печени – на 23,8% ($p < 0,05$), в почках – на 39,1% ($p < 0,05$) и в легких – на 19,4% ($p < 0,05$) в сравнении с группой, получавшей только ЛПС.

Сочетанное введение мелатонина и субстратов образования газотрансмиттеров в условиях ОС, индуцированного инъекцией эндотоксина, также приводит к уменьшению активности свободнорадикальных процессов в тканях крыс. На рисунках 1, 2 и 3 показано, что введение мелатонина и L-аргинина приводит к снижению уровней ДК и ТК на 54,9% ($p < 0,05$) и 34,2% ($p < 0,05$) в сердце, на 61,1% ($p < 0,05$) и 29,7% ($p < 0,05$) – в печени, на 39,4% ($p < 0,05$) и 47,8% ($p < 0,05$) – в почках и на 53,2% ($p < 0,05$) и 45,5% ($p < 0,05$) – в легких, соответственно. Выявлено также уменьшение концентрации МДА в сердце на 23,9% ($p < 0,05$), в печени – на 26,2% ($p < 0,05$), в почках – на 32,2% ($p < 0,05$) и в легких – на 20,1% ($p < 0,05$) в сравнении с группой, получавшей только ЛПС. Применение мелатонина совместно с экзогенным донором сероводорода приводит к уменьшению в сердце ДК и ТК на 56,7% ($p < 0,05$) и 33,1% ($p < 0,05$), МДА – на 30,2% ($p < 0,05$); в печени ДК – на 65,1% ($p < 0,05$), ТК – на 33,1% ($p < 0,05$), МДА – на 25,5% ($p < 0,05$); в почках ДК – на 36,7% ($p < 0,05$), ТК – на 57,6% ($p < 0,05$), а МДА – на 26,1% ($p < 0,05$); в легких ДК – на 52,5% ($p < 0,05$), ТК – на 45,5% ($p < 0,05$), а МДА – на 23,0% ($p < 0,05$). Эти показатели в сравнении с изолированным введением мелатонина на фоне ЛПС достоверно не различались.

Одновременно с процессом активации ПОЛ трехкратное введение эндотоксина приводит к угнетению АОС в тканях сердца, печени, почках и легких (см. табл.).



1 – контроль, 2 – ЛПС, 3 – ЛПС+мелатонин, 4 – ЛПС+мелатонин +L-аргинин, 5 – ЛПС+мелатонин +NaHS

Рисунок 3. – Содержание малонового диальдегида в тканях при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина и коррекции системы газотрансмиттеров

Fig. 3. – The content of malondialdehyde in the tissues under oxidative stress in terms of the introduction of melatonin and the correction of the system of gas transmitters

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ к группе, получавшей только липополисахарид

Применение мелатонина как отдельно, так и в сочетании с донором H₂S и исходным субстратом NO в условиях развития ОС сопровождается повышением антиоксидантного потенциала в тканях (см. табл.). Так, введение мелатонина увеличивает активность каталазы и концентрацию восстановленного глутатиона на 79,0% ($p < 0,05$) и 128,6% ($p < 0,05$) в сердце, на 21,8% ($p < 0,05$) и 33,3% ($p < 0,05$) в печени, на 35,1% ($p < 0,05$) и 50,2% ($p < 0,05$) в почках и на 88,9% ($p < 0,05$) и 84,1% ($p < 0,05$) в легких, соответственно. Применение мелатонина совместно с L-аргинином также приводит к повышению данных показателей: в сердце – на 79,0% ($p < 0,05$) и 173,8% ($p < 0,05$), в печени – на 21,8% ($p < 0,05$) и 30,8% ($p < 0,05$), в почках – на 33,3% ($p < 0,05$) и 51,5% ($p < 0,05$), в легких – на 77,8% ($p < 0,05$) и 86,8% ($p < 0,05$), соответственно. Введение мелатонина с NaHS увеличивает активность каталазы и концентрацию восстановленного глутатиона на 84,2% ($p < 0,05$) и 131,0% ($p < 0,05$) в сердце, на 15,5% ($p < 0,05$) и 33,6% ($p < 0,05$) – в печени, на 27,9% ($p < 0,05$) и 47,1% ($p < 0,05$) – в почках и на 72,2% ($p < 0,05$) и 62,6% ($p < 0,05$) – в легких, соответственно, в сравнении с группой, получавшей только эндотоксин.

Использование мелатонина и веществ, изменяющих образование газотрансмиттеров, одновременно приводит и к изменению содержания α-токоферола и ретинола в сердце, печени, почках и легких. Так, введение мелатонина сопровождается увеличением содержания α-токоферола и ретинола в сердце на 55,3% ($p < 0,05$) и 36,8% ($p < 0,05$), в печени – на 79,9% ($p < 0,05$) и 73,3% ($p < 0,05$), в почках – на 61,5% ($p < 0,05$) и 38,5% ($p < 0,05$) и в легких – на 59,6% ($p < 0,05$) и 32,5% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с группой животных, получавших только ЛПС. Инъекция мелатонина и L-аргинина также приводит к повышению данных показателей на 63,6% ($p < 0,05$) и 36,5% ($p < 0,05$) в сердце, на 87,3% ($p < 0,05$) и 94,5% ($p < 0,05$) в печени, на 57,0% ($p < 0,05$) и 44,4% ($p < 0,05$) в почках и на 59,9% ($p < 0,05$) и 33,2% ($p < 0,05$) в легких, соответственно.

Введение мелатонина совместно с NaHS увеличивает содержание α-токоферола и ретинола в сердце на 48,4% ($p < 0,05$) и 40,9% ($p < 0,05$), в печени – на 83,6% ($p < 0,05$) и 96,3% ($p < 0,05$), в почках – на 56,4% ($p < 0,05$) и 37,6% ($p < 0,05$) и в легких – на 44,9% ($p < 0,05$) и 28,0% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с группой животных, получавших только

ЛПС. Однако следует отметить, что L-аргинин (исходный субстрат синтеза NO) и донор сероводорода (NaHS) не усиливают эффект мелатонина на содержание продуктов ПОЛ, а также на уровень факторов антиоксидантной защиты.

Мелатонин оказывает влияние на иммунитет, энергетический обмен, деятельность сердечно-сосудистой системы, репродуктивной системы, обладает противоопухолевой активностью [13]. При этом мелатонин и его метаболиты, включая циклический-3-гидроксимелатонин, N-ацетил-N-формил-5-метоксикинурамин и N-ацетил-5-метоксикинурамин, проявляют сильную антиоксидантную активность и обладают защитными свойствами от ОС [14]. Известно, что введение данного гормона значительно уменьшает индуцированные инъекцией ЛПС гипертрофию миокарда [15], печеночный апоптоз [16], активность свободнорадикальных процессов в почках [17]. В нашем исследовании при его введении наблюдается снижение активности процессов ПОЛ и повышение антиоксидантного потенциала. Механизм защитного действия мелатонина связан прежде всего с его нейтрализацией свободных радикалов, образованием продуктов ме-

таболизма мелатонина, обладающих антиоксидантной активностью, а также с его действием на рецепторы плазматической мембраны MT1/MT2, регулируя экспрессию генов антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза) [18]. Мелатонин способен также связывать ионы металлов с переменной валентностью (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}), проявляющие прооксидантное действие [19].

Особый интерес представляет взаимоотношение мелатонина и такой группы веществ, как газотрансмиттеры (NO, H₂S), обладающие внутриклеточной сигнальной трансдукцией [20]. Данные молекулы играют важную роль в регуляции разных физиологических реакций. Мелатонин оказывает влияние на образование NO и H₂S. В организме человека и животных NO синтезируется из аминокислоты L-аргинина под влиянием гемопротеиновых ферментов NO-синтаз. Эндотоксин является индуктором индуцибельной изоформы NO-синтазы, что повышает продукцию NO, который при взаимодействии с супероксид-анионом образует пероксинитрит [6]. Мелатонин в условиях введения ЛПС способствует ингибированию экспрессии индуци-

Таблица – Антиоксидантная система тканей при окислительном стрессе в условиях коррекции мелатонина и системы газотрансмиттеров (Me (25-75%))

Table – Antioxidant system of tissues under oxidative stress in conditions of correction of melatonin and gas transmitter system (Me (25–75%))

Показатель		Контроль	ЛПС	ЛПС+мелатонин	ЛПС+мелатонин + L-аргинин	ЛПС +мелатонин+NaHS
n		10	10	10	10	10
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г Нв	сердце	0,46 (0,45-0,50)	0,19 (0,18-0,20)*	0,34 (0,33-0,39)**	0,34 (0,32-0,36)**	0,35 (0,26-0,40)**
	печень	1,45 (1,42-1,51)	1,1 (1,06-1,14)*	1,34 (1,32-1,36)**	1,34 (1,32-1,43)**	1,27 (1,25-13,64)**
	почки	1,67 (1,64-1,71)	1,11 (1,05-1,15)*	1,5 (1,47-1,51)**	1,48 (1,44-1,50)**	1,42 (1,36-1,46)**
	легкие	0,41 (0,38-0,42)	0,18 (0,17-0,19)*	0,34 (0,33-0,36)**	0,32 (0,3-0,34)**	0,31 (0,30-0,33)**
Восстановленный глутатион, мкмоль/г Нв	сердце	3,02 (2,93-3,56)	0,42 (0,40-0,44)*	0,96 (0,93-0,97)**	1,15 (1,04-1,25)**	0,97 (0,96-0,99)**
	печень	6,75 (6,16-7,10)	4,32 (4,07-4,62)*	5,76 (5,64-6,0)**	5,65 (5,38-5,79)**	5,77 (5,64-6,10)**
	почки	4,28 (4,14-4,38)	2,27 (2,17-2,91)*	3,41 (3,35-3,49)**	3,44 (3,37-3,95)**	3,34 (3,25-3,66)**
	легкие	4,46 (4,4-4,55)	2,27 (2,13-2,29)*	4,17 (3,81-4,24)**	4,18 (4,07-4,24)**	3,69 (3,65-4,34)**
α-токоферол, мкмоль/л	сердце	370,38 (365,37-380,88)	162,94 (159,12-165,26)*	253 (247,05-255,94)**	266,61 (265,69-274,24)**	241,76 (235,02-252,52)**
	печень	357,4 (292,4-364,6)	140,8 (133,7-150,4)*	253,3 (248,0-255,8)**	263,65 (253,9-266,3)**	258,45 (253,3-262,3)**
	почки	360,1 (332,4-376,1)	169,28 (163,59-173,0)*	273,36 (264,1-283,3)**	265,79 (260,15-267,75)**	264,67 (256,39-269,54)**
	легкие	291,42 (284,93-298,29)	132,89 (132,37-134,9)*	212,11 (208,53-216,96)**	212,45 (209,26-222,95)**	192,6 (184,92-200,26)**
Ретинол, мкмоль/л	сердце	16,77 (16,26-17,39)	10,67 (10,46-11,00)*	14,6 (14,56-15,05)**	14,56 (13,84-15,08)**	15,03 (14,87-15,46)**
	печень	24,43 (22,08-25,96)	10,38 (10,0-10,58)*	17,99 (17,71-18,4)**	20,19 (19,8-20,24)**	20,38 (19,79-21,36)**
	почки	20,32 (19,75-21,19)	12,49 (11,88-12,65)*	18,04 (16,73-18,69)**	18,56 (17,91-19,44)**	17,19 (16,89-17,61)**
	легкие	15,58 (15,4-16,18)	10,69 (9,83-11,17)*	14,16 (13,83-14,52)**	14,24 (13,98-14,68)**	13,68 (13,28-14,06)**

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ по отношению к группе, получавшей только липополисахарид

большой NO-синтазы, что приводит к снижению избыточной продукции NO с уменьшением образования пероксинитрита и защитой от нитрозильных/окислительных повреждений [8]. Применение донора NO, L-аргинина также снижает экспрессию индуцибельной NO-синтазы, уменьшает уровни фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-1 β , интерферона- γ и нитрат/нитритов, увеличивает экспрессию белка Hsp70 в печени [21]. В нашем исследовании при введении мелатонина и L-аргинина наблюдается снижение активности свободнорадикального окисления и повышение антиоксидантной системы защиты организма. При этом сочетанное введение мелатонина с исходным субстратом синтеза NO – L-аргинином – в условиях развития ОС не усиливает его антиоксидантный эффект.

Эндогенный H₂S образуется из метаболизма гомоцистеина и цистеина [22]. Известно, что H₂S снижает степень повреждения легкого при ишемии-реперфузии, проявляющегося в уменьшении образования МДА и повышении активности супероксиддисмутазы и каталазы [23]. По данным Li и др. [24], донор H₂S снижает уровень воспалительных и увеличивает содержание противовоспалительных цитокинов. В данном исследовании применение донора H₂S, NaHS характеризуется снижением активности перекисного окисления липидов и повышением антиоксидантной защиты. Данный эффект реализуется как путем прямого удаления АФК, так и путем восстановления дисульфида глутатиона [25]. Кроме того, H₂S функционирует как антиоксидант путем повышения экспрессии таких соединений, как глутатион, супероксиддисмутаза, N-нитроаргинин метиловый эфир и витамин С [26]. В данной работе не выявлено усиления

действия мелатонина при его введении совместно с L-аргинином и NaHS, что предполагает сложный механизм участия данных веществ в модифицировании прооксидантно-антиоксидантного баланса при ОС.

Кроме того, возможен вклад газотрансмиттеров в поддержание прооксидантно-антиоксидантного состояния через модификацию кислородтранспортной функции крови. Так, H₂S и NO в условиях развития ОС повышают сродство гемоглобина к кислороду, что имеет значение для формирования адекватного обеспечения организма кислородом [27].

Выводы

1. Введение мелатонина снижает проявления окислительного стресса, индуцированного многократным введением липополисахарида, характеризующегося уменьшением активности свободнорадикальных процессов: уровень диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, содержание малонового диальдегида.

2. В условиях данной модели окислительного стресса применение мелатонина обуславливает повышение уровня антиоксидантной защиты в исследуемых тканях (сердце, печень, почки, легкие): увеличение активности каталазы и содержания восстановленного глутатиона, α -токоферола и ретинола.

3. Проводимая коррекция образования газотрансмиттеров путем введения L-аргинина (исходный субстрат синтеза монооксида азота) или гидросульфида натрия (донор сероводорода) не усиливает эффект мелатонина на уменьшение степени окислительного стресса в тканях сердца, печени, почек и легких.

Литература

- Halliwell, B. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress / B. Halliwell, C. E. Cross // *Environ Health Perspect.* – 1994. – Vol. 102, suppl. 10. – P. 5-12. – doi: 10.1289/ehp.94102s105.
- Булаева, Н. И. Эндотелиальная дисфункция и окислительный стресс: роль в развитии кардиоваскулярной патологии / Н. И. Булаева, Е. З. Голухова // *Креативная кардиология.* – 2013. – № 1. – С. 14-22.
- Protective effects of melatonin on retinal inflammation and oxidative stress in experimental diabetic retinopathy / T. Jiang [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 3528274. – doi: 10.1155/2016/3528274.
- Воздействие мелатонина на активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови крыс при остром эмоциональном стрессе / С. С. Перцов [и др.] // *Биомедицинская химия.* – 2015. – Т. 61, № 3. – С. 394-399. – doi: 10.18097/PBMC20156103394.
- Мичурина, С. В. Физиологические и биологические эффекты мелатонина: некоторые итоги и перспективы изучения / С. В. Мичурина, Д. В. Васендин, И. Ю. Ищенко // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* – 2018. – Т. 104, № 3. – С. 257-270.
- Регуляция апоптоза клеток с использованием газовых транзиттеров (оксид азота, монооксид углерода и сульфид водорода) / В. В. Новицкий [и др.] // *Вестник науки Сибири.* – 2011. – Т. 1, № 1. – С. 635-640.
- Melatonin controls oxidative stress and modulates iron, ferritin, and transferrin levels in adriamycin treated rats / A. I. Othman [et al.] // *Life Sci.* – 2008. – Vol. 83 (15-16). – P. 563-568. – doi: 10.1016/j.lfs.2008.08.004.
- Melatonin reduces urinary excretion of N-acetyl-beta-Dglucosaminidase, albumin and renal oxidative markers in diabetic rats / F. Oktem [et al.] // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2006. – Vol. 33 (1-2). – P. 95-101. – doi: 10.1111/j.1440-1681.2006.04330.x.
- Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск, 2003. – Т. 2. – 463 с.
- Метод определения активности каталазы / М. А. Королук [и др.] // *Лабораторное дело.* – 1988. – № 1. – С. 16-19.
- Sedlak, J. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulphhydryl groups in tissue with Ellmans reagent / J. Sedlak, R. H. Lindsay // *Anal Biochem.* – 1968. – Vol. 25. – P. 192-205.
- Taylor, S. L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S. L. Taylor, M. P. Lamden, A. L. Tappel // *Lipids.* – 1976. – Vol. 11. – P. 530-538.
- Melatonin signaling in T cells: Functions and applications / W. K. Ren [et al.] // *J Pineal Res.* – 2017. – Vol. 62 (3). – P. 1-15. – doi: 10.1111/jpi.12394.

14. Galano, A. Cyclic 3-hydroxymelatonin, a key metabolite enhancing the peroxy radical scavenging activity of melatonin / A. Galano, D. X. Tan, R. J. Reiter // *RSC Advances*. – 2014. – Vol. 4, iss. 10. – P. 5220-5227.
15. Melatonin protects against myocardial hypertrophy induced by lipopolysaccharide / Q. Lu [et al.] // *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. – 2015. – Vol. 51 (4). – P. 353-360. – doi: 10.1007/s11626-014-9844-0.
16. Melatonin attenuates lipopolysaccharide (LPS) induced apoptotic liver damage in D-galactosamine-sensitized mice / H. Wang [et al.] // *Toxicology*. – 2007. – Vol. 237 (1-3). – P. 49-57. – doi: 10.1016/j.tox.2007.04.021.
17. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers / R. J. Reiter [et al.] // *J Pineal Res*. – 2016. – Vol. 61 (3). – P. 253-278. – doi: 10.1111/jpi.12360.
18. Джериева, И. С. Нитрооксидативный стресс и возможности коррекции мелатонином / И. С. Джериева, Н. И. Волкова // Мелатонин: перспективы применения в клинике / под ред. С. И. Рапопорта. – Москва: ИМА-ПРЕСС, 2012. – С. 125-134.
19. Melatonin influences NO/NOS pathway and reduces oxidative and nitrosative stress in a model of hypoxic-ischemic brain damage / S. Blanco [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2017. – Vol. 62. – P. 32-43. – doi: 10.1016/j.niox.2016.12.001.
20. Внутриклеточные газовые посредники оксид азота, монооксид углерода и сульфид водорода участвуют в регуляции апоптоза / Н. В. Рязанцева [и др.] // *Цитология*. – 2012. – Т. 54, № 2. – С. 105-111.
21. Synergistic therapeutic potential of dexamethasone and L-arginine in lipopolysaccharide-induced septic shock / S. Chatterjee [et al.] // *J Surg Res*. – 2007. – Vol. 140 (1). – P. 99-108. – doi: 10.1016/j.jss.2006.09.002.
22. Suspended animation inducer hydrogen sulfide is protective in an *in vivo* model of ventilator-induced lung injury / H. Aslami [et al.] // *Intensive Care Med*. – 2010. – Vol. 36 (11). – P. 1946-1952. – doi: 10.1007/s00134-010-2022-2.
23. Hydrogen sulfide protects rat lung from ischemia-reperfusion injury / Z. Fu [et al.] // *Life Sci*. – 2008. – Vol. 82 (23-24). – P. 1196-1202. – doi: 10.1016/j.lfs.2008.04.005.
24. Regulation of hydrogen sulfide on interleukins in rats acute lung injury / T. S. Li [et al.] // *Chin J Emerg Med*. – 2008. – Vol. 4. – P. 345-350.
25. Keszler, A. Reaction between nitric oxide, glutathione, and oxygen in the presence and absence of protein: How are S-nitrosothiols formed? / A. Keszler, Y. Zhang, N. Hogg // *Free Radic Biol Med*. – 2010. – Vol. 48 (1). – P. 55-64. – doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.026.
26. Kimura, H. Hydrogen sulfide and polysulfides as signaling molecules / H. Kimura // *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. – 2015. – Vol. 91 (4). – P. 131-159. – doi: 10.2183/pjab.91.131.
27. Зинчук, В. В. Эффект газотрансмиттеров на кислородтранспортную функцию крови и редокс-статус при введении липополисахарида / В. В. Зинчук, М. Э. Фираго, И. Э. Гуляй // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2017. – Т. 103, № 8. – С. 890-901.
28. ja i oksidativnyj stress: rol v razvitii kardiovaskuljarnoj patologii. *Kreativnaja kardiologija*. 2013;1:14-22. (Russian).
29. Jiang T, Chang Q, Cai J, Fan J, Zhang X, Xu G. Protective effects of melatonin on retinal inflammation and oxidative stress in experimental diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3528274. doi: 10.1155/2016/3528274.
30. Pertsov SS, Kalinichenko LS, Koplík EV, Nagler LG, Alinkina ES, Kozachenko AI. Vozdejstvie melatonina na aktivnost antioksidantnyh fermentov v jericitah krvi krys pri ostrom jemocionalnom stresse. *Biomedicinskaja himija*. 2015;61(3):394-399. doi: 10.18097/PBMC20156103394. (Russian).
31. Michurina SV, Vasendin DV, Ishhenko IJu. Fiziologičeskie i biologičeskie jeffekty melatonina: nekotorye itogi i perspektivy izučeniija [Physiological and biological effect of melatonin: some results and prospects of studying]. *Rossijskij fiziologičeskij žurnal im. I. M. Sečenova* [Russian Journal of Physiology]. 2018;104(3):257-270. (Russian).
32. Novickij VV, Rjazanceva NV, Starikova EG, Tashireva LA. Reguljacija apoptoza kletok s ispolzovaniem gazovyh transmitterov (oksid azota, monooksid ugljeroda i sulfid vodoroda). *Vestnik nauki Sibiri* [Siberian Journal of Science]. 2011;1(1):635-640.
33. Othman AI, El-Missiry MA, Amer MA, Arafa M. Melatonin controls oxidative stress and modulates iron, ferritin, and transferrin levels in adriamycin treated rats. *Life Sci*. 2008;83(15-16):563-568. doi: 10.1016/j.lfs.2008.08.004.
34. Oktem F, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, DüNDAR B. Melatonin reduces urinary excretion of N-acetyl-beta-Dglucosaminidase, albumin and renal oxidative markers in diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33(1-2):95-101. doi: 10.1111/j.1440-1681.2006.04330.x.
35. Kamyshnikov VS. Spravočnik po kliniko-biohimičeskoj laboratornoj diagnostike. Vol. 2. Minsk; 2003. 463 p. (Russian).
36. Koroljuk MA, Ivanova LI, Majorova GI, Tokarev VE. Metod opredelenija aktivnosti katalazy. *Laboratornoe delo*. 1988;1:16-19. (Russian).
37. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulphydryl groups in tissue with Ellmans reagent. *Anal Biochem*. 1968;25:192-205.
38. Taylor SL, Lamden MP, Tappel AL. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipids*. 1976;11:530-538.
39. Ren W, Liu G, Chen S, Yin J, Wang J, Tan B, Wu G, Bazer FW, Peng Y, Li T, Reiter RJ, Yin Y. Melatonin signaling in T cells: Functions and applications. *J Pineal Res*. 2017;62(3):1-15. doi: 10.1111/jpi.12394.
40. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Cyclic 3-hydroxymelatonin, a key metabolite enhancing the peroxy radical scavenging activity of melatonin. *RSC Advances*. 2014;4(10):5220-5227.
41. Lu Q, Yi X, Cheng X, Sun X, Yang X. Melatonin protects against myocardial hypertrophy induced by lipopolysaccharide. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2015;51(4):353-360. doi: 10.1007/s11626-014-9844-0.
42. Wang H, Xu DX, Lv JW, Ning H, Wei W. Melatonin attenuates lipopolysaccharide (LPS) induced apoptotic liver damage in D-galactosamine-sensitized mice. *Toxicology*. 2007;237(1-3):49-57. doi: 10.1016/j.tox.2007.04.021.
43. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises

References

1. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*. 1994;102(Suppl 10):5-12. doi: 10.1289/ehp.94102s105.
2. Bulaeva NI, Goluhova EZ. Jendotelialnaja disfunkci-

- but over delivers. *J Pineal Res.* 2016;61(3):253-278. doi: 10.1111/jpi.12360.
18. Dzherieva IS, Volkova NI. Nitrooksidativnyj stress i vozmozhnosti korrekcii melatoninom. In: Rapoport SI, ed. *Melatonin: perspektivy primenenija v klinike.* Moscow: IMA-PRESS; 2012. p. 125-134. (Russian).
 19. Blanco S, Hernandez R, Franchelli G, Ramos-Alvarez MM, Peinado MA. Melatonin influences NO/NOS pathway and reduces oxidative and nitrosative stress in a model of hypoxic-ischemic brain damage. *Nitric Oxide.* 2017;62:32-43. doi: 10.1016/j.niox.2016.12.001.
 20. Rjazanceva NV, Starikova EG, Tashireva LA, Stepovaja EA, Starikov JuV, Osihov IA, Novickij VV. Vnutrikletochnye gazovye posredniki oksid azota, monooksid ugljeroda i sulfid vodoroda uchastvujut v reguljacii apoptoza. *Citologija.* 2012;54(2):105-111. (Russian).
 21. Chatterjee S, Premachandran S, Shukla J, Poduval TB. Synergistic therapeutic potential of dexamethasone and L-arginine in lipopolysaccharide-induced septic shock. *J Surg Res.* 2007;140(1):99-108. doi: 10.1016/j.jss.2006.09.002.
 22. Aslami H, Heinen A, Roelofs JJ, Zuurbier CJ, Schultz MJ, Juffermans NP. Suspended animation inducer hydrogen sulfide is protective in an *in vivo* model of ventilator-induced lung injury. *Intensive Care Med.* 2010;36(11):1946-1952. doi: 10.1007/s00134-010-2022-2.
 23. Fu Z, Liu X, Geng B, Fang L, Tang C. Hydrogen sulfide protects rat lung from ischemia-reperfusion injury. *Life Sci.* 2008;82(23-24):1196-1202. doi: 10.1016/j.lfs.2008.04.005.
 24. Li TS, Wang C, Wang HY, Liu ZW, Zhao B, Jin HF. Regulation of hydrogen sulfide on interleukins in rats acute lung injury. *Chin J Emerg Med.* 2008;4:345-350.
 25. Keszler A, Zhang Y, Hogg N. Reaction between nitric oxide, glutathione, and oxygen in the presence and absence of protein: How are S-nitrosothiols formed? *Free Radic Biol Med.* 2010;48(1):55-64. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.026.
 26. Kimura H. Hydrogen sulfide and polysulfides as signaling molecules. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2015;91(4):131-159. doi: 10.2183/pjab.91.131.
 27. Zinchuk VV, Firago MJe, Gul'aj IJe. Jeffect gazotransmitterov na kislorodtransportnuju funkciju krovi i redoks-status pri vvedenii lipopolisaharida [Gaseous transmitters effect on oxygen-binding properties of blood and redox status induced by administration of lipopolysaccharide]. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova [Russian Journal of Physiology].* 2017;103(8):890-901.

INFLUENCE OF MELATONIN AND GAS TRANSMITTERS ON THE DEVELOPMENT OF OXIDATIVE DAMAGE INDUCED BY LIPOPOLISACCHARIDE ADMINISTRATION

Firago M. E.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Objective: to study the effect of melatonin and gas transmitters on the development of oxidative damage induced by triple injection of lipopolysaccharide (LPS).

Material and methods. Simulation of oxidative stress was carried out by administering LPS for three days at a dose of 5 mg/kg, and its correction was performed using melatonin, L-arginine and sodium hydrosulfide with subsequent determination of lipid peroxidation and antioxidant potential in the tissues of the heart, liver, kidneys and the lungs.

Results. Injection of melatonin, L-arginine or donor of hydrogen sulfide (NaHS) 12 hours after the last injection of LPS, lead to a decrease in lipid peroxidation activity (diene and triene conjugates, malonic dialdehyde) and increase in the activity of the antioxidant defense system (catalase, reduced glutathione, α -tocopherol, retinol).

Conclusions. Melatonin reduces the activity of free radical processes and increases the level of antioxidant potential in the studied tissues, while L-arginine and NaHS do not enhance this effect of melatonin.

Keywords: lipopolysaccharide, prooxidant-antioxidant status, melatonin, gas transmitters.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

Фираго Маргарита Эдуардовна / Firago Margarita, e-mail: rainbow@grodno.net, ORCID: 0000-0002-6481-7381

Поступила / Received: 19.06.2018

Принята к публикации / Accepted for publication: 29.01.2019