Міністерство освіти і науки України
Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського

На правах рукопису

Френкель Юрій Давидович

УДК 616.831 – 008.9 – 092.9

NO- ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗЛАДІВ ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННІ УТВОРЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

14.03.04 – патологічна фізіологія

ДИСЕРТАЦІЯ
на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник
Авраменко Анатолій Олександрович
доктор медичних наук, професор

Миколаїв – 2015

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АО	антиоксидант, антиоксидантний
АТФ, АДФ, АМФ	аденозинтри -, ди -, монофосфати
АФК	активні форми кисню
ВРО	вільнорадикальне окиснення
ГАМК	γ-аміномасляна кислота
ЕТЛ	електронно-транспортний ланцюг
МФК	мітохондріальний ферментний комплекс
НАДН	нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений
НАДФН	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений
НСТ	нітросиній тетразолій
ПОЛ	пероксидне окиснення ліпідів
СОД	супероксиддисмутаза
ТБК	тіобарбітурова кислота
цАМФ	циклічний аденозинмонофосфат
цГМФ	циклічний гуанозинмонофосфат
ЦНС	центральна нервова система
IκB	інгібітор κB
IL	інтерлейкін
7-NI	7-нітроіндазол
NF-κB	транскрипційний ядерний фактор κB
NMDA	N-метил-D-аспартат
NOS (nNOS, eNOS, iNOS)	синтаза оксиду азоту (нейрональна, ендотеліальна, індуцибельна)
$^{\cdot}O_2^-$	супероксидний аніон-радикал
TNF	фактор некрозу пухлини

ВСТУП

Актуальність теми. Практично всі живі організми на Землі (за виключенням тих, що проживають в абсолютній темряві), мають досить жорстку прив'язку активності функціонування органів та систем до світлового періоду доби (чи року в приполярних регіонах) [11]. Це у людини та тварин пов'язано з тим, що світло, коли потрапляє на сітківку очей, викликає зменшення продукції мелатоніну епіфізом, який у відсутності світла активно продукується та викликає на стан практично всіх систем регуляції в організмі [18].

На сучасному етапі розвитку суспільства важливим напрямком наукових досліджень в галузі біології та медицини є вияснення ролі мелатоніну у процесах регуляції фізіологічних функцій організму в умовах адаптації до змін впливу чинників довкілля, особливо світлового навантаження [3, 11, 24, 34, 84, 130]. Проблема хроноадаптації та хроноакліматизації людини набуває особливої актуальності в зв'язку зі збільшенням контингенту осіб, які за характером своєї діяльності часто змінюють своє місцеперебування (пілоти пасажирських авіаліній далекого сполучення, локомотивні бригади та провідники вагонів залізниці, водії вантажного та пасажирського транспорту дальніх рейсів, спортсмени, бізнесмени, туристи, вахтовики та ін.) [34, 84, 135, 145, 259].

Нещодавно була доведена здатність мелатоніну впливати на систему оксиду азоту in vitro та in vivo. З одного боку, введення цього гормону збільшує експресію мРНК нейрональної NO-синтази (nNOS) та синтез цього ферменту з подальшим підвищенням оксиду азоту (NO) та продуктів його окиснення (нітритів і нітратів) [281]. З іншого боку, повідомляється, що мелатонін здатний пригнічувати індуцибельну NO-синтази (iNOS) [187, 256], а при утворенні у головному мозку його метаболітів (N1-ацетил-5-метоксикинураміну) і nNOS [236].

Припускають, що NO-опосередкованими можуть бути ефекти мелатоніну на біоенергетичні процеси в мітохондріях, його антиоксидантна та стреспротективна дія, участь у регуляції апоптозу клітин [237, 281, 294].

Відомо, що за нормальних умов NO постійно утворюється в головному мозку та спричиняє певні фізіологічні ефекти; забезпечує ендотеліальну цитопротекцію, контролює осциляторну активність нейронів, модулює міжнейрональні комунікації, синаптичну пластичність, стан рецепторів, внутрішньоклітинну передачу сигналів, вивільнення нейротрансмітерів [68, 91, 119, 132, 80].

В останні роки продемонстрована провідна роль високих концентрацій NO в патогенезі ішемічних / реперфузійних ушкоджень мозку, нейродегенеративних захворювань ЦНС [80, 91, 119]. Виявлений тісний зв’язок системи NO та транскрипційного ядерного фактора κB (NF-κB). Показано, що опосередкована через гліальні клітини нейротоксичність пов’язана з NF-κB-залежною індукцією iNOS з подальшою продукцією активних форм кисню [311].

Оскільки захворювання головного мозку набувають характеру епідемії [14], вивчення дії мелатоніну на головний мозок відкриває нові можливості у корекції його функціонального стану [31, 33, 85]. Нейропротекторні ефекти цього гормону пов’язують з його антиоксидантною, антиапоптотичною та імуномоделюючою дією [16, 20, 26, 46]. Крім цього, мелатонін виявляє протиішемічний ефект, регулює артеріальний тиск, мозковий кровообіг [56].

Проте участь компонентів системи NO та NF-κB-залежних процесів у патогенезі ушкодження головного мозку в умовах нестачі або надлишку мелатоніну залишається нез’ясованою. Вирішення цього питання дозволить усвідомити механізми мелатонін-залежних розладів енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного статусу головного мозку та розробити нові підходи до їх профілактики та патогенетичної терапії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом планових науково-дослідних робіт Миколаївського державного університету імені В.О. Сухомлинського «Вплив мелатоніну на функції систем організму» (№ державної реєстрації 0106U002994) та «Вплив біологічно активних речовин епіфізу на морфофункціональний стан вісцеральних систем організму тварин» (№ державної реєстрації 0112U002854). Дисертант є співвиконавцем тем. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради біологічного факультету (протокол № 5 від 11 січня 2006 р.) та у остаточній редакції – на засіданні Вченої ради Миколаївського державного університету імені В.О. Сухомлинського (протокол № 9 від 27 січня 2015 р.).

Мета дослідження. Метою роботи було з'ясування ролі компонентів системи оксиду азоту (різних ізоформ NO-синтази, її субстрату, пероксинітриту) у патогенезі порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку при відтворенні розладів утворення мелатоніну.

Завдання дослідження:

1. Дослідити показники активності NOS, продукції супероксидного аніон-радикала ($^{\cdot}O_2^-$), стану пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного (АО) захисту, енергетичного обміну в тканині великих півкуль головного мозку білих щурів при різних термінах експериментальної гіпомелатонінемії.

2. Дослідити показники активності NOS, продукції супероксидного аніон-радикала ($^{\cdot}O_2^-$), стану пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного (АО) захисту в тканині великих півкуль головного мозку білих щурів при різних термінах експериментальної гіпермелатонінемії.

3. Виявити зміни поведінкових реакцій білих щурів у тесті «відкрите поле» при різних термінах експериментальної гіпо- та гіпермелатонінемії.

4. Встановити закономірності впливу різних режимів функціонування ізоформ NO-синтаз (при введенні їх інгібіторів та субстрату) на показники активності NOS, продукції $^{\cdot}O_2^-$, стану ПОЛ і АО захисту, енергетичного обміну в тканині великих півкуль головного мозку в умовах моделювання хронічної гіпомелатонінемії.

5. Вивчити закономірності впливу активації NF-κB на показники активності NOS, продукції $\cdot O_2^-$, стану ПОЛ і АО захисту, енергетичного обміну в тканині великих півкуль головного мозку в умовах моделювання хронічної гіпомелатонінемії.

6. З'ясувати роль утворення пероксинітриту у механізмах зміни активності NOS, продукції $\cdot O_2^-$, стану ПОЛ і АО захисту, енергетичного обміну в тканині великих півкуль головного мозку в умовах моделювання хронічної гіпомелатонінемії.

Об'єкт дослідження – окиснювальний метаболізм у головному мозку щурів в умовах нестачі та надлишку мелатоніну.

Предмет дослідження – NO-залежні механізми розладів прооксидантно-антиоксидантного статусу та енергетичного обміну у головному мозку щурів в умовах нестачі та надлишку мелатоніну.

Методи дослідження. Поставлена мета досягнута шляхом використання експериментальних моделей нестачі та надлишку мелатоніну, зміни функціонального стану компонентів системи оксиду азоту та NF-κB, біохімічних методів дослідження активності NOS, стану енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного статусу головного мозку щурів, а також методів дослідження поведінки лабораторних тварин (тест «відкрите поле»).

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше виявлено, що моделювання гіпомелатонінемії призводить у великих півкулях головного мозку до прогресуючого збільшення активності NOS (за рахунок iNOS), продукції $\cdot O_2^-$ НАДН- і НАДФН-оксидазними комплексами, активацією декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, прогресуючим зниженням активності антиоксидантних ферментів (СОД і каталази), пригніченням біоенергетичних процесів. Виявлено відмінності в чутливості антиоксидантної системи півкуль головного мозку до гіпо- та гіпермелатонінемії.

Вперше виявлено відмінності у впливі різних ізоформ NOS (nNOS та iNOS) на рівень продукції супероксидного аніон-радикала, активації пероксидного окиснення ліпідів, стан антиоксидантного захисту та біоенергетичних процесів у великих півкулях головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії. Показано, що застосування L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів, підвищує енергетичний потенціал у тканині головного мозку.

Вперше виявлено, що в умовах хронічної гіпомелатонінемії активація NF-κB та утворення пероксинітриту суттєво впливають на окиснювальний метаболізм у тканині головного мозку. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 та скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну обмежує у великих півкулях продукцію $\cdot O_2^-$ та рівень ПОЛ, підвищує АО захист та енергетичний потенціал.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані результати можуть бути використані як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів корекції функціонально-метаболічних розладів функціонування головного мозку в умовах виникнення гіпер- чи гіпомелатонінемії.

Одержані результати можуть використовуватися як експериментальне обґрунтування призначення інгібіторів iNOS, скевенджерів пероксинітриту та інгібіторів активації NF-κB як перспективних нейропротекторів.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі біології людини та тварин Миколаївського національного університету ім. В.О. Сухомлинського, кафедрах патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, Харківського національного медичного університету, Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», кафедрі фізіології і патофізіології з курсом медичної біології медичного інституту Сумського державного університету.

Особистий внесок здобувача. Особисто підібрана та проаналізована наукова література з проблеми, що вивчається, на підставі чого сформульовані мета і завдання дисертаційної роботи, розроблена програма досліджень, обґрунтовані методологічні принципи та методичні підходи до вирішення поставлених завдань. Автором поставлений експеримент, виконані біохімічні та фізіологічні дослідження впливу недостатності та надлишку мелатоніну на механізми порушення енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантним статусу тканин головного мозку експериментальних тварин. Дисертантом самостійно здійснений аналіз отриманого фактичного матеріалу, виконана його математична обробка та інтерпретація, сформульовані висновки роботи та практичні рекомендації.

Апробація результатів роботи. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на VI Міжнародних новорічних біологічних читаннях (Миколаїв, 2006), X Міжнародних новорічних читаннях (Миколаїв, 2010), XI міжнародній науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної біології та здоров’я людини” (Миколаїв, 2011), II Міжнародній науково-практичній конференції “Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, фармакологии и медицине” (Санкт-Петербург, Росія, 2011), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Медична наука – 2013” (Полтава, 2013), “Вернадських читаннях”, присвячених 150-річчю з дня народження В.І. Вернадського (Миколаїв, 2013), 8-й національній науково-практичній конференції з іноземною участю “Reactive Oxygen Species, Nitric Oxide, Antioxidants and Human Health” (Смоленськ, Росія, 2014), XIII читаннях ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 2014), спільному засіданні кафедр біології людини та тварин, хімії та біохімії, екології та здоров'я людини Миколаївського національного університету імені В.О. Сухомлинського та кафедри здоров'я людини та фізичної реабілітації Чорноморського державного університету імені Петра Могили комплексу «Києво-Могилянська академія» 7 квітня 2015 р.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 16 наукових робіт, зокрема 12 статей (в тому числі 5 – одноосібно), з яких 5 – у наукових фахових виданнях України, що реферуються міжнародними наукометричними базами даних *РІНЦ, Index Copernicus International, Google Scholar*, 1 стаття у фаховому журналі за кордоном (Грузія), що реферується міжнародною наукометричною базою «*Scopus*», 1 – у закордонному збірнику наукових праць медичного напрямку (Республіка Білорусь), 4 тез доповідей – в матеріалах науково-практичних конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 148 сторінках комп'ютерного набору, містить 31 таблицю. Складається зі вступу, огляду літератури, характеристики об'єктів і методів дослідження, 5-ти розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 316 джерел – 160 кирилицею та 156 латиницею (обсягом 34 сторінки).

РОЗДІЛ 1
ВПЛИВ НЕСТАЧІ ТА НАДЛИШКУ МЕЛАТОНІНУ НА NO- ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗЛАДІВ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ (огляд літератури)

1.1. Роль NO та NF-кВ у механізмах порушень метаболізму та функцій центральної нервової системи

В хімічному відношенні оксид азоту (NO) є маленькою ліпофільною молекулою, що складається з одного атома азоту і одного атома кисню та має непарний електрон, що перетворює її в високореактивний радикал, який вільно проникає через біологічні мембрани і легко вступає в реакції з іншими сполуками. Це розчинний у воді та жирах газ без кольору з унікальними фізіологічними властивостями. Як сполука з проміжним ступенем окиснення азоту NO може бути як відновлювачем, так і окиснювачем [32, 118].

NO відіграє провідну роль в регуляції різноманітних біохімічних та фізіологічних процесів і утворюється в клітинах з L-аргініну за допомогою NO-синтазної реакції [61, 101, 253]:

$$2\text{ L-аргінін} + 3\text{НАДФН} + 4O_2 + 3H^+ \rightarrow 2\text{ цитрулін} + 2NO + \\ + 3\text{НАДФ} + 4H_2O \qquad (1)$$

NO-синтази мають три ізоформи: нейрональну (nNOS, NOS-1), індуцибельну (iNOS, NOS-2) та ендотеліальну (eNOS, NOS-3). Ферменти каталізують п’ятиступінчасте окиснення L-аргініну до L-цитруліну та NO. Всі вони – гомодимери з молекулярною масою 130 кДа для iNOS та eNOS, 160 кДа – для nNOS. Мономери складаються з декількох доменів. N-кінцева ділянка містить гемзв’язуючий оксигеназний домен, специфічний для кожної ізоформи За оксигеназним розташований кальмодулін-зв’язуючий домен, а в С-кінцевій ділянці цитохром Р450-подібний редуктазний домен з місцями зв’язування для кофакторів. Ця ділянка відповідає також за НАДФН-діафоразну активність NOS. До числа кофакторів належать нікотинаміддинуклеотидфосфат (НАДФН), тетрагідробіопротеїн (ВН4), флавінаденіндинукдеотид (ФАД), флавінмононуклеотид (ФМН) та протопорфірин IX [61, 101, 119, 253].

Вони синтезують NO в невеликій кількості або базально (безперервно), або стимульовано, невеликими порціями, під дією факторів, які діють як через рецептори, так і незалежно від них. До рецепторзалежних чинників відносяться ацетилхолін, брадикінін, норадреналін, ангіотензин, а також фактори, що вивільнюються з тромбоцитів - АТФ, тромбін і серотонін. До чинників, які не залежать від рецепторів, належать основні фізичні фактори - концентрація кисню в клітині та напруга зсуву, зміщення крові по відношенню до ендотеліального шару.

nNOS є Ca^{2+}-залежною ізоформою, бере участь у регуляції росту та диференціюванні клітин ЦНС і, можливо, в їх відновленні після локальних ішемічних ушкоджень головного мозку [80, 91]. Показана роль цього ізоферменту в забезпеченні механізмів пам’яті, модуляції больового подразнення, координації між нервовою активністю і судинним тонусом [161, 316]. При вибірковому блокуванні nNOS підвищується агресивність та сексуальність тварин, збільшується частота церебральних інфарктів [80, 310].

Місцями локалізації nNOS nNOS у мозку є глутаматергічні гранулярні клітини та ГАМК-ергічні корзинчасті клітини мозочка, нейрони кори мозку, де вона співлокалізована з соматостатином, нейропептидом Y або ГАМК [80, 161]. Подібна картина виражена в стріатумі. У корі мозку і в смугастому тілі NOS-нейрони становлять 1-2 % від загальної популяції нервових клітин. Пірамідні клітини в ділянці CA1 гіпокампа практично не містять nNOS, однак тут, а також у ділянці CA3, як і в гранулярних клітинах зубчастої звивини, виявлена значна концентрація eNOS [80].

Активація конститутивних ферментів nNOS і eNOS, як правило, пов’язана з негайними алостеричними модуляціями їх молекул, на відміну від iNOS, активність якої зростає у більш віддалені терміни внаслідок активації експресії відповідних генів. Активність базального рівня конститутивних NOS залежить від фізіологічного стану організму. При цереброваскулярних катастрофах та ряді інших гіпоксичних станах організму спостерігається активація генерації NO в різних тканинах [119].

eNOS, окрім ендотеліальних клітин, зустрічається в кардіоміоцитах, пейсмекерних клітинах, тромбоцитах, нейронах гіпокампу, епітеліоцитах легень та нирок. Її активність пов’язана з концентрацією внутрішньоклітинного кальцію. Фермент може також активуватися при участі цАМР-залежної протеїнкінази А, а також серцевого шокового протеїну-90. Цій ізоформі NOS відводиться провідна роль у забезпеченні постійного базисного рівня NO, котрий асоціюють з реалізацією механізмів локальної ендотеліальної цитопротекції та підтриманням судинного гомеостазу [159].

Активація iNOS викликає синтез високих концентрацій оксиду азоту. Цей ізофермент виявлено не тільки в макрофагах, але й у нейтрофілах, кератиноцитах, фібробластах, хондроцитах, остеокластах, нейронах, астроцитах [91]. iNOS активується при запальних процесах цитокінами чи бактеріальними антигенами, а також ультрафіолетом, озоном, нікотиновою кислотою, гормонами, які діють на синтез цАМФ (адреналін, глюкагон). Ця ізоформа NOS генерує багатократно більшу кількість NO у порівнянні з конститутивними NOS, не використовуючи при цьому Ca^{2+}. Тривалість інтенсивного синтезу NO складає близько п’яти діб. Подібну макрофагальній формі iNOS виявлено на внутрішній мембрані мітохондрій [61, 197, 199].

Блокада iNOS призводить до підвищення чутливості організму до інфекції, ослаблення, але не повної втрати гіпотензивного ефекту ендотоксину. Вірогідно, цей ізофермент грає важливу роль у механізмах розвитку ішемії та інсульту [91].

Відмічають 5 основних факторів, що впливають на швидкість NOS-залежного синтезу NO [119]:

- швидкість транскрипції генів, відповідальних за синтез NOS;

- дозрівання мРНК-NOS; експорт мРНК NOS у клітинні локуси, де відбувається синтез білка;

- вміст BH_4, НАДФН, ФАД, ФМН і протопорфірину IX в клітинах, що синтезують NO;

- ферментна активність синтезованих молекул NOS, хімічна стійкість молекул NOS;

- концентрація L-аргініну в клітинах, що синтезують NO.

У нормі у здорової людини кількість NO, що утворюється в цілому організмі, складає в середньому 1 ммоль/добу. Проте сумарна швидкість синтезу NO в цілому організмі не завжди відображає швидкість синтезу NO у кожній окремо взятій морфологічній структурі. Якщо брати до уваги малий радіус дії NO (не більше 0,5 мм), то має значення просторова локалізація біосинтезу NO і транспорт двоатомного комплексу NO у складі інших молекул [119]. Відростки нейронів, що містять NOS, так широко розгалужені, що практично всі нейрони ЦНС розташовуються в межах декількох мікрометрів від джерела NO. Встановлено, що найбільшим джерелом NO є нюхова цибулина і мозочок [21, 32].

Ферментна активність різних ізоформ NOS оцінюється кількістю NO, що утворюється за одиницю часу. Інфекційні, алергічні, автоімунні захворювання і травми індукують підвищений NOS-залежний синтез NO в цілому організмі з превалюванням участі iNOS: при вказаних патологічних процесах NO-синтетична функція iNOS більш ніж у 1000 разів превалює над eNOS і nNOS [253].

Фізіологічні ефекти NO забезпечуються тими невеликими його кількостями, що синтезуються конститутивними ізоформами NOS. NO, який виробляється iNOS у великій кількості, володіє цитотоксичністю, що дозволяє йому здійснювати в організмі як захисні функції (вбивати пухлинні та бактеріальні клітини), так і брати участь у патологічних процесах, індукуючи апоптоз.

Значну частину продуктів NO-синтазних реакцій, окрім NO, складають нітрити та нітрати. Разом з тим в організмі теплокровних тварин існує потужна нітрат/нітритредуктазна система, здатна відновлювати нітрати та нітрити до NO, що вказує на наявність у них циклу оксиду азоту [118, 122, 123, 124, 125, 242]. В умовах гіпоксії активність нітритредуктазних систем у 10^2-10^3 разів вища, ніж NOS [125]. Тому цей шлях вважається головним постачальником NO в умовах ішемічного ушкодження нейронів у період реоксигенації [80].

Найважливішим компонентом нітритредуктазних систем є електроннодонорні системи, що здійснюють відновлення гемоглобіну, міоглобіну, цитохромоксидази та цитохрому Р-450. У першу чергу до них належать метгемоглобін- і метміоглобінредуктази, а також ЕТЛ мітохондрій і ендоплазматичного ретикулума [118, 122-125, 180, 181, 212, 228, 254, 285]. Нітритредуктазна активність в умовах гіпоксії притаманна також eNOS, при цьому її здатність виробляти NO знижується [196].

Серед низькомолекулярних систем, здатних відновлювати гемвмісні білки, слід виділити аскорбінову кислоту і відновлений глутатіон [167, 243].

Основним шляхом метаболізму NO вважається його реакція з гемопротеїнами. По-перше, різноманітні клітинні ефекти NO (розслаблення гладеньком’язових клітин тощо) запускаються при його зв’язуванні з гемвмістним ферментом гуанілатциклазою. По-друге, NO швидко реагує з гемоглобіном еритроцитів, утворюючи метгемоглобін і аніони NO_2^- та NO_3^- [159, 253].

Іншим шляхом метаболізму NO, що пояснює його цитотоксичність, є реакція з супероксидним аніон-радикалом ($^{\cdot}O_2^-$), що призводить до утворення пероксинітриту ($ONOO^-$) та гідроксильного радикала ($^{\cdot}OH$). Обидві ці речовини є оксидантами, високоактивними у відношенні ліпідів, білків і нуклеїнових кислот [179, 218, 299, 315]. $ONOO^-$ невідворотно утворюється в локусах, де одночасно зустрічаються NO і $^{\cdot}O_2^-$, що обумовлено дуже високою швидкістю їхньої взаємодії (близько $2{\times}10^{10}$ $М^{-1}с^{-1}$).

Третій шлях метаболізму включає утворення нітрозотіолів у швидкій зворотній реакції. Нітрозотіоли, які присутні в плазмі людини, вважаються стабілізованою формою NO у біологічних тканинах [119].

Значення NO в ЦНС в нормальних умовах пов'язують з трьома процесами (NO-гіпотеза) [119]:

- участь в міжнейронній комунікації в якості своєрідного нейромедіатора, причому основне значення, на думку дослідників, NO має в синаптичній пластичності, під якою розуміють ефективність синаптичної передачі;
- регуляція церебрального кровотоку;
- встановлення міжнейронних синаптичних взаємозв'язків під час розвитку ЦНС.

Показано, що в ЦНС NO специфічно не зв'язується з рецепторами постсинаптичної мембрани. Він дифундує в інші ділянки, включаючи пресинаптичні нервові клітини (діє як ретроградний месенджер), суміжні нейрони і гліальні клітини [91]. Вважають, що NO діє, вірогідно, як нейромодулятор динамічної активності нейронів, не впливаючи безпосередньо на величину їх потенціалу.

У периферичній нервовій системі NO може виступати в ролі нейротрансмітера, впливає опосередковано на активність нітроксидергічних нейронів [152, 153, 182, 183]. Раніше вважалось, що синтез NO для нітроксидергічних синапсів каталізується nNOS. У подальшому була доведена участь iNOS у каталізі синтезу NO для нітроксидергічних синапсів.

Черток В.М. і Коцюба А.Е. [151, 227] показали, що NO широко представлений в аферентних структурах головного мозку, а особливості функціональних властивостей цієї молекули доводять можливість її активної участі в локальних механізмах чутливої іннервації церебральних судин.

Перебуваючи в структурі клубочкових рецепторів судин, NO бере участь у барорецепції, реагуванні на зміни кров'яного тиску, сигналізує про тонус і скорочувальну діяльність судин, про кількість крові, що протікає по ним, створює необхідні умови для забезпечення нормальної роботи нейронів головного мозку [91, 152].

Встановлено також, що NO спричиняє інгібуючий вплив на систему гіпоталамус-гіпофіз-надниркові залози, пригнічує її функціональну активність і тим самим обмежує стрес-реакцію. Пригнічення nNOS призводить до зменшення синтезу NO в нейронах, підсилює вивільнення вазопресину і окситоцину. Таким чином, NO пригнічує активацію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркозалозної системи, викликану вазопресином, і виявляє стреслімітуючу дію [93].

Як надлишок, так і недостатність NO, можуть бути суттєвими в патогенезі багатьох захворювань ЦНС [80, 91, 119]. Так, NO, що виробляється під впливом iNOS, здатний проявляти нейротоксичну дію. В деяких випадках до таких же негативних результатів можуть призводити і зміни активності nNOS у нервовій системі. Так, трансгенні миші, в яких відсутній ген, що кодує nNOS, виявляють стійкість до ішемії мозку [139].

Показано, що NO нейронального походження відіграє провідну роль у патогенезі реперфузійного ушкодження клітин мозку. У мишей із дефіцитом експресії nNOS розміри ушкодження і набряку мозку при його реперфузії виражені меншою мірою [80].

У той же час, зниження вироблення NO в ендотелії судин мозку спричиняє вазоконстрикцію, що ще сильніше перешкоджає доступу кисню [94, 55]. Так, застосування інгібіторів NOS в умовах ішемії призводить до збільшення ділянки інфаркту мозку. За думкою дослідників, це відбувається через блокування eNOS, що вказує на важливу позитивну роль цієї ізоформи ферменту. Введення селективних інгібіторів eNOS спричиняє нейротоксичний вплив, у той час як вибіркове пригнічення nNOS виявляє нейропротекторну дію [94].

Посилене продукування NO в період ішемії розглядається як фізіологічна відповідь, пов’язана зі збільшенням мозкового кровотоку через вазорелаксацію мозкових судин і ретроградну блокаду NMDA-рецепторів. З іншого боку, утворення NO в період реперфузії супроводжується ушкодженням тканини мозку [21, 63, 83, 231].

В останні роки продемонстрована провідна роль високих концентрацій NO в патогенезі нейродегенеративних захворювань ЦНС, пов'язаних з нейротоксичною дією глутамату (глутаматна нейротоксичність) та гіперреактивністю рецепторно-канальних комплексів, що призводить до пошкодження, дегенерації та загибелі нейронів. Ці явища є характерними для низки захворювань ЦНС - хвороб Паркінсона, Альцгеймера, епілепсії, ішемічного інсульту та ін. [91, 119].

Більшість дослідників вважають, що цитотоксична дія NO при різних видах патології ЦНС обумовлена його здатністю в реакції з $^{\cdot}O_2^-$ утворювати пероксинітрит [211, 277].

Цікавим є здатність NO і його похідних стимулювати синтез значної кількості білків і ферментів як на рівні транскрипції, так і трансляції (стрес-білків, феритину, білків АО захисту, білків-рецепторів трансферину, ядерного білка p53) [80].

В останні роки повідомляється про тісний зв'язок системи NO та транскрипційного ядерного фактора κB (NF-κB). Відомо, що промотор гена iNOS містить зв'язуючий центр для NF-κB [309]. NF-κB опосередковує вивільнення індукторів iNOS - TNF-α та IL-1β.

Показано, що опосередкована через гліальні клітини нейротоксичність може бути пов'язаною з NF-κB-залежною індукцією iNOS з подальшою продукцією АФК [311].

Примітно, що індукція iNOS в клітинах in vivo та in vitro залежить від стану внутрішньоклітинного глутатіону та корелює зі зв'язуванням NF-κB [309].

Встановлено, що NO перешкоджає експресії власного гена шляхом зниження експресії NF-κB [287]. Ці події, на думку дослідників, ініціюють новий виток негативного зворотного зв'язку: NO, що утворюється, знижує експресію гена iNOS, обмежуючи надмірне утворення цього метаболіту в умовах патології.

За своєю морфологією NF-κB вважається гетеродимерним комплексом, що складається з 2-х субодиниць. До складу родини входить 5 гомологів: p50 (та його попередник p105), p52 (та його попередник p100), p65(RelA), c-Rel та RelB. У нейронах найчастіше комплекс NF-κB представлений p65, p50 та IkBa [36, 54, 164, 172]. Всі ці білки мають у своєму складі Rel домен – висококонсервативну N-кінцеву послідовність з 300 амінокислот, який необхідний для димерізації, зв'язування з ДНК та асоціації з білками IκB – цитоплазматичним інгібітором NF-κB. Гомодимери p50 та p52 відіграють роль супресорів генної експресії, в той час як p65, c-Rel та RelB в будь-яких поєднаннях є активаторами транскрипції. Окрім Rel домена ці білки мають спеціальні NLS (nuclear localizing signal) послідовності, котрі необхідні для транспорту цих білків з цитоплазми в ядро. За відсутності стимулів NF-κB знаходиться у цитоплазмі у неактивному вигляді, перебуваючи в комплексі з білками родини IκB. Родина IκB нараховує 6 окремих білків: IκB-α, IκB-β, IκB-γ (C-кінцевий домен білка p100 родини Rel), IκB-δ (C-кінцевий домен білка p105 родини Rel), IκB-ε та Bcl-3. Усі члени цієї родини містять у складі своєї послідовності анкіриновий повтор, що дозволяє їм зв'язуватись з NF-κB та забезпечувати його цитоплазматичну локалізацію. IκB білки є мішенями для різноманітних сигнальних шляхів, що активуються внутрішньо- та позаклітинними чинниками (цитокіни, АФК, фактори росту, віруси) [208, 200, 203, 291].

У клітині, в стані спокою, NF-κB накопичується та зберігається в неактивному стані, під впливом IκB. Нещодавно показано, що конститутивна активність NF-κB у нейронах майже відсутня [240].

У нервових клітинах шляхи сигнальної трансдукції запускаються завдяки дії різних стимулів (TNF-α, глутамату, нейротрофічних факторів, секреторної форми білка-попередника амілоїду, молекул клітинної адгезії [247, 249, 302]), що супроводжується негайною активацією специфічної IκB кінази – IKK. Наступна протеосомна деградація IκB призводить до звільнення NF-κB. Вільна форма NF-κB транслокується у ядро та зв'язується з κB-сайтами всередині промоторів відповідних генів для активації їхньої транскрипції [208, 203].

У літературі наводяться дані про неоднозначну роль NF-κB на функціонування ЦНС у нормі та при розвитку патології.

З одного боку, повідомляється про ключову роль NF-κB як медіатора залежних від транскрипції стійких змін у структурі та функції нервових клітин. Різні субодиниці NF-κB впливають на когнітивну активність і поведінку лабораторних тварин, регулюючи певні гени – мішені [217, 247, 249, 278].

Продемонстрована адаптивна нейропротективна функція NF-κB. В експерименті на мишах, позбавлених TNF-α рецепторів, виявлено збільшення пошкодження нейронів кори та гематоенцефалічного бар'єру, що автори пов'язують зі зниженням активації NF-κB [298].

З іншого боку, повідомляється про негативні ефекти активації NF-κB у ЦНС. Так, травматичне ушкодження головного та спинного мозку супроводжується підвищенням рівня активності NF-κB у нейронах, астроцитах і клітинах мікроглії [169]. Така активація NF-κB може залишатися підвищеною протягом тривалого періоду часу (кілька тижнів або місяців) після травми та сприяє розвитку запального процесу.

За даними дослідників, NF-κB відіграє важливу роль у патогенезі таких розладів, як епілепсія, інсульт, хвороби Альцгеймера та Паркінсона, а також у онтогенезі [247, 249, 263, 313].

Неоднозначна роль NF-κB відмічається у патогенезі нейродегенеративних захворювань. З одного боку, активація NF-κB у нейронах сприяє їх виживанню шляхом індукції продукції антиапоптотичних білків, таких як Bcl-2, білки – інгібітори апоптозу (IAPs), Mn-СОД. З іншого боку, у гліальних та імунних клітинах - опосередковує патологічні запальні процеси [178, 247, 280, 264].

I. Sarnico et al. [280] показали, що незбалансована активація NF-κB p50/RelA димеру в порівнянні з комплексами, що містять c-Rel, сприяє загибелі клітин в умовах ішемічного інсульту. У той час, як p50/RelA діє як транскрипційний індуктор Bcl-2 родини проапоптотичних Bim і Noxa генів, c-Rel димери специфічно включають транскрипцію антиапоптотичного гена Bcl-xL. Зміни в ядерному вмісті c-Rel димерів сильно впливають на поріг уразливості нейронів до ішемії.

Таким чином, дані літературних джерел вказують на здатність NO впливати на широкий спектр фізіологічних і патологічних процесів у ЦНС. Відмічається неоднозначність ефектів NO (у залежності від дози та походження), його здатність взаємодіяти з іншими активними кисневими метаболітами з утворенням високоактивної токсичної речовини - пероксинітриту. Повідомляється про досить складні та неоднозначні взаємовідносини у ЦНС між системою NO та нуклеарним транскрипційним фактором κB. Літературні джерела наводять суперечливу інформацію щодо ролі ізоформ NOS, пероксинітриту та NF-κB у механізмах ушкодження головного мозку в умовах його нейродегенеративних, нейроваскулярних та гіпоксичних уражень. До цього часу недостатньо з'ясованою є участь NO- та NF-κB-залежних процесів у механізмах хроноадаптації та хроноакліматизації, у т.ч. залежних від вироблення в організмі ссавців мелатоніну.

1.2. Біологічна роль мелатоніну

Мелатонін - основний гормон епіфіза, регулятор добових та сезонних біологічних ритмів [3, 8, 18, 19, 30, 45, 98, 141, 225, 290]. Він був відкритий у 1958 році А. Б. Лернером [3, 141].

Мелатонін повсюдно зустрічається в тваринному світі. Він виявлений як у рослин, так і у найпростіших [5, 25, 72, 301].

Зміни концентрації мелатоніну мають виражений добовий ритм у пінеальній залозі і в крові, як правило, з високим рівнем гормону протягом ночі та низьким рівнем у денний час [11, 34, 40, 145]. Максимальні значення мелатоніну в крові спостерігаються між північчю та 5 годиною ранку.

Виробляється мелатонін основними секреторними клітинами епіфіза – пінеалоцитами [3, 11, 30, 141, 193]. В епіфізі гормон синтезується на експорт і для власних потреб залози не використовується [3, 141].

Мелатонін утворюється не тільки в пінеальній залозі. Кількість гормону, що синтезується в епіфізі, не вистачає для забезпечення багаточисельних біологічних ефектів. Дослідженнями було показано, що після видалення епіфіза у експериментальних тварин в крові визначається значна кількість мелатоніну [98, 221]. Екстрапінеальними джерелами синтезу мелатоніну є клітини шлунково-кишкового тракту, основні клітини-депо серотоніну (містять до 95% всього ендогенного серотоніну) — попередника мелатоніну. Виявлено синтез цього гормону у значній кількості нейроендокринних клітин дихальних шляхів, у корковому шарі нирок та впродовж кордону між корковим і мозковим шарами надниркових залоз, під печінковою капсулою, у парагангліях, яєчниках, ендометрії, передміхуровій залозі, плаценті, жовчному міхурі та внутрішньому вусі [11, 69, 70, 72, 98, 269]. За останні роки вивчення ідентифіковано синтез мелатоніну і в неендокринних клітинах: формених елементах крові (тканинних базофілах, еозинофілах, лімфоцитах, тромбоцитах), тимоцитах, клітинах підшлункової залози, мозочку, сітківки ока, ендотеліоцитах. Функціонально багато клітин, що продукують мелатонін, відносяться до так званої дифузної нейроендокринної системи – універсальної системи адаптації та підтримання гомеостазу організму [70, 98]. В межах цієї системи виділяють дві ланки мелатонінпродукуючих клітин: центральну (включає пінеальну залозу і клітини зорової системи), де ритм секреції мелатоніну співпадає з ритмом «світло-темрява», і периферичну – всі інші клітини, де секреція гормону не залежить від освітленості [19, 40, 67, 69].

На добу у людини утворюється всього близько 30 мг гормону, причому в ентерохромафінних апудоцитах стінок тонкого кишечнику в 400-500 разів більше, ніж в епіфізі [3, 69, 72, 98, 221]. Однак слід відмітити, що у фізіологічних умовах увесь утворений екстрапінеально мелатонін використовується лише в тих структурах, де був синтезований, і на експорт (у кров, лімфу чи ліквор) не надходить [70, 72, 98, 221].

Синтезований в епіфізі мелатонін секретується в кров і спинномозкову рідину. Цей гормон виявляється також у сечі, слині, амніотичній рідині [69, 70]. Час біологічного напіврозпаду мелатоніну дорівнює 45 хвилинам [3, 11]. Тому для коректного дослідження вмісту цього гормону в організмі доцільно визначати рівні метаболітів мелатоніну: мелатонін сульфату (6-сульфатоксимелатоніну) та 6-гідроксиглюкуроніду в сечі. 80—90% мелатоніну потрапляє в сечу у вигляді мелатонін сульфату. Концентрація мелатонін сульфату в сечі корелює з загальним рівнем мелатоніну в крові протягом періоду збору зразків [72, 98].

В організмі людини мелатонін синтезується з амінокислоти триптофану, котра бере участь в синтезі серотоніну, який, у свою чергу, під дією ферменту N-ацетилтрансферази перетворюється в мелатонін [3, 11, 72, 141]. Останній транспортується сироватковим альбуміном, а після звільнення від альбуміну зв'язується зі специфічними рецепторами на мембрані клітин-мішеней, проникає в ядро і там здійснює свій вплив [78, 129, 186].

Секреція мелатоніну підпорядкується добовому ритму, що визначає ритмічність гонадотропних ефектів та статевої функції. Синтез і секреція мелатоніну залежать від освітленості – надлишок світла пригнічує його утворення, а зниження освітленості збільшує синтез і секрецію гормону. У людини на нічні години припадає 70% добової продукції мелатоніну [25, 34, 58].

LD50 мелатоніну для щурів при введенні per os – 800 мг/кг. Парентерально введений мелатонін проникає через гемато-енцефалічний бар'єр, накопичується в ліквbooрі та нейронах ЦНС [11, 18, 25, 37, 205]. Як лікарський засіб мелатонін вважається малотоксичним, що підтверджено рандомізованими «сліпими» плацебоконтролюємими дослідженнями [3, 6, 31, 84, 120, 150, 271].

Ефекти, що викликаються мелатоніном, опосередковані його дією на специфічні рецептори, а також пов'язані з нерецепторними механізмами [3, 59, 72, 78, 99, 121, 129, 176].

Рецептори мелатоніну. Мелатонін – рідкісний приклад гормону, до якого існують як мембранні, так і ядерні рецептори [78, 129]. У ссавців є два мембранних рецептори мелатоніну:

- MTNR1A (MT1), що експресується головним чином на клітинах передньої доли гіпофіза та супрахіазматичних ядер гіпоталамуса, але також присутній у інших органах;

- MTNR1B (MT2), що експресується в різних ділянках мозку, в сітківці ока та в легенях.

Рецептори мелатоніну відносяться до сімейства рецепторів, пов'язаних з G-білками, і діють через Gs-білок, знижуючи рівень цАМФ [78, 275].

Недавно відкриті ядерні рецептори мелатоніну відносяться до підсімейства RZR/ROR ретиноїдних рецепторів. Вірогідно через них опосередкуються чисельні імуностимулюючі та протипухлинні ефекти мелатоніну [2, 129, 186, 224, 275, 296].

Основні функції мелатоніну:

· регулює діяльність ендокринної системи, періодичність сну [13, 18, 19, 35, 67, 71, 84, 145].

· регулює сезонну ритміку у багатьох видів тварин [3, 11, 30, 98].

· гальмує процеси старіння [11, 33, 70, 73].

· підсилює ефективність функціонування імунної системи [16, 176, 245 292].

· володіє антиоксидантними властивостями [1, 9, 20, 26, 46, 112, 114].

· впливає на процеси адаптації при зміні часових поясів [5, 35, 58, 69, 295].

Окрім того, мелатонін бере участь у регуляції:

· тиску крові [15, 120, 141, 271, 304],

· функцій системи травлення [24, 121, 205, 250],

· роботи клітин головного мозку [30, 34, 56, 75, 107, 130].

Вплив на діяльність ендокринної системи здійснюється через регуляцію секреції інших гормонів та нейромедіаторів [11, 18, 19, 24, 45]. Основний вплив мелатоніну на ендокринну систему у багатьох видів реалізується через пригнічення секреції гонадотропінів. Окрім того, мелатонін знижує секрецію інших тропних гормонів передньої доли гіпофіза - кортикотропіну, тиротропіну, соматотропіну. Мелатонін знижує чутливість клітин передньої долі до гонадотропін-рилізінг фактора та може подавляти його секрецію [11, 18, 19, 82, 314].

Експериментальні дані свідчать про те, що під впливом мелатоніну підвищується вміст ГАМК у ЦНС і серотоніну в середньому мозку та гіпоталамусі. Відомо, що ГАМК є тормозним медіатором у ЦНС, а зниження активності серотонінергічних механізмів може мати значення в патогенезі депресивних станів [5, 12, 72, 79, 85, 150].

Вночі мелатонін знижує рівень секреції лептину - пептидного гормону, який регулює енергетичний обмін. Лептин відноситься до адипокінів (гормонів жирової тканини) та спричиняє анорексигенну дію; зниження його концентрації призводить до розвитку ожиріння) [24, 44, 45, 47, 72, 98, 156, 205].

Вплив на сезонну ритміку та розмноження. Так як продукція мелатоніну залежить від тривалості світлового дня, багато тварин використовує її як «сезонний годинник». У людей, як і у тварин, продукція мелатоніну влітку менша, ніж взимку. Таким чином, мелатонін може регулювати функції, що залежать від фотоперіоду - розмноження, міграційна поведінка, сезонне линяння. У тих видів птахів и ссавців, які розмножуються при тривалому світловому дні, мелатонін пригнічує секрецію гонадотропінів та знижує рівень статевої активності [11, 65, 98]. У тварин, розмноження яких відбувається при короткому світловому дні, мелатонін стимулює статеву активність. Вплив мелатоніну на репродуктивну функцію у людини вивчено недостатньо. У період статевого дозрівання пікова (нічна) концентрація мелатоніну різко знижується [24, 72, 150, 314]. Зимою число менструальних циклів, що не закінчуються овуляцією, у середньому вища, ніж літом. У жінок з гіпофізарною аменореєю концентрація мелатоніну вірогідно вища, ніж у здорових. Ці дані дозволяють припустити, що мелатонін пригнічує репродуктивну функцію у жінок [11, 67, 141, 259].

Циркадний ритм та сон. Однією з основних функцій мелатоніну є регуляція сну [3, 34, 47, 58, 71, 84, 145, 207]. Мелатонін - основний компонент пейсмейкерної системи організму. Він бере участь в організації циркадного (циркадіанного) ритму: безпосередньо впливає на клітини та змінює рівень секреції інших гормонів та біологічно активних речовин, концентрація яких залежить від часу доби. Вплив світлового циклу на ритм секреції мелатоніну показано в спостереженні за сліпими. У більшості з них знайдено ритмічну секрецію гормону, але з періодом, що вільно змінюється та відрізняється від добового (25-годинний цикл в порівнянні з 24-годинним добовим) [11, 47, 67, 194, 314]. Таким чином, у людини ритм секреції мелатоніну має вигляд циркадіанної мелатонінової хвилі, «з вільним перебігом» у відсутності зміни циклів світло-темрява. Зсув ритму секреції мелатоніну відбувається також при перетинанні часових поясів та при зміні добової активності людини при переведенні часу на літній-зимовий. Роль епіфізарного мелатоніну в добовій і сезонній ритміці, режимі сну-неспання на сьогодення є безсумнівним [98, 135, 194, 207]. У діурнальних (денних) тварин (в тому числі у людини) секреція мелатоніну епіфізом співпадає зі звичними часами сну. Проведеними дослідженнями було доведено, що підвищення рівня мелатоніну не є обов’язковим сигналом до сну. У більшості пацієнтів прийом фізіологічних доз мелатоніну викликав лише м'який седативний ефект та знижував реактивність на звичні оточуючі стимули [6, 31, 79, 85, 250].

З віком активність епіфіза знижується, тому кількість мелатоніну зменшується, сон стає поверхневим і неспокійним, можливе безсоння. Мелатонін сприяє усуненню безсоння, запобігає порушення добового режиму організму і біоритму. Безсоння і недосипання поступаються місцем здоровому і глибокому сну, який знімає втому і дратівливість. Під час спокійного глибокого сну в організмі нормалізується робота всіх внутрішніх органів і систем, розслабляються м'язи, відпочиває нервова система, мозок встигає обробити накопичену за день інформацію. У результаті людина відчуває себе бадьорою [3, 71, 84, 98, 135, 194, 207].

З порушенням нормального режиму вироблення мелатоніну пов'язані розлади циркадних ритмів і такі патології, як джетлаг - явище неспівпадання біологічних ритмів життєдіяльності людини з денним ритмом, викликане швидкою зміною часових поясів при перельоті на літаку. Цей стан відомий також як десинхронія або десинхроноз. Він може супроводжуватися втомою, безсонням, головним болем, втратою апетиту тощо [6, 31, 79, 85, 47, 58, 71, 84, 145, 250].

Антиоксидантний ефект. Мелатонін нейтралізує руйнівні наслідки окиснювальних процесів. Антиоксидантна активність цього гормону виявляється в організмі повсюдно, оскільки мелатонін проникає в усі органи та тканини [1, 4, 9, 20, 46, 81, 128, 185]. Механізм антиоксидантної дії виявляється в тому, що мелатонін володіє вираженою здатністю зв'язувати вільні радикали, у тому числі ті, що утворюються при ПОЛ, активує СОД і глутатіонпероксидазу [26, 57, 112, 229]. Мелатонін пригнічує активність iNOS, яка каталізує утворення цитотоксичних NO-радикалів [160, 185, 244].

Основні функції антиоксидантної дії мелатоніну направлені на захист ДНК. У меншій мірі – на захист білків і ліпідів. Існує думка, що мелатонін є найсильнішим з відомих ендогенних скевенджерів вільних радикалів. Останніми роками з'явилися дані, що мелатонін може локалізуватися не лише в плазмі, але і в ядрах клітин і оберігати макромолекули ядра від оксидативного пошкодження [1, 20, 26, 46, 72, 129].

Протипухлинний ефект. На ранніх стадіях ембріонального розвитку біогенні аміни, у тому числі мелатонін, відіграють роль спеціалізованих клітинних сигнальних молекул, які регулюють процеси клітинного оновлення. Встановлено, що мелатонін може пригнічувати клітинну проліферацію. У дослідженнях на лабораторних тваринах і культурах пухлинних тканин було виявлено, що мелатонін володіє антипухлинною, онкостатичною дією [2, 72, 215]. Механізми дії мелатоніну на пухлинний ріст різноманітні: він може впливати на синтез і секрецію гипофізарних і статевих гормонів, здатний модулювати імунну відповідь за наявності пухлинних клітин і спричиняти прямий цитотоксичний ефект. Є припущення, що мелатонін може підсилювати експресію молекул адгезії і цим перешкоджати зростанню пухлини, оскільки відомо, що в більшості злоякісних пухлин наявні порушення в адгезії клітин і дефекти функціональних міжклітинних зв'язків [11, 215, 259].

Під впливом мелатоніну при окремих формах рака (молочної залози, яєчників, передміхурової залози та ін.) спостерігалось зниження проліферативної здатності клітин та збільшувалось число клітин, що гинули апоптозом (онкостатичний ефект). Мішенню для реалізації протипухлинних ефектів мелатоніну вважаються ядерні рецептори неопластичних клітин [129].

In vitro було показано пригнічення мелатоніном росту клітин меланоми, однак потрібно відмітити, що ефект гормону залежить від інтенсивності проліферації пухлини: ріст пригнічувався при помірній, але не при високій проліферативній активності клітин. Ефекти мелатоніну виявились дозозалежними, але механізм онкостатичної дії на сьогодення все ще недостатньо вивчений [72].

Епідеміологічні дані свідчать, що у жінок, що працюють в нічні зміни, авіаційних службовців (стюардеси, диспетчери), операторів радіо і телеграфу відмічається підвищений ризик розвитку рака молочної залози, тоді як у жінок первинно сліпих (що мають світлову депривацію) цей ризик у 2 рази менший [191].

Антистресовий ефект. На підґрунті багаточисельних експериментальних даних та прямих клінічних спостережень була сформульована концепція, що епіфіз та його гормон мелатонін належать до захисної системи організму від несприятливого впливу стресорних чинників [9, 31, 46, 79, 112, 135]. У випадку тривалої стресової ситуації відмічається двофазна реакція: початковий спад епіфізарної діяльності в фазу резистентності загального адаптаційного синдрому з подальшим різким її підйомом. В експериментах на щурах було показано, що мелатонін здатний змінювати негативний психоемоційний стан, знижувати тривожність, яка провокується різноманітними стресорами. Згідно з багаточисельними спостереженнями цей гормон стабілізує діяльність різних ендокринних систем, дезорганізованих стресом, у тому числі ліквідує надлишковий стресовий адреналовий гіперкортицизм [11, 30, 98, 102, 259].

Нейропротекторні властивості мелатоніну. В дослідах на гризунах (білі миші, щури) на моделях гострого порушення мозкової гемодинаміки (глобальна чи локальна ішемія за рахунок оклюзії артерій) мелатонін виявляв чіткий нейропротективний ефект [14, 31, 56, 120]. При введенні середніх за величиною доз гормону (4-5 мг/кг) попередньо чи в перші 1-2 години після перетискання середньої мозкової артерії у щурів суттєво (на 40–50%) обмежувалась зона інфаркту мозку без гемодинамічних порушень. За даними, отриманими за допомогою магнітно-ядерного резонансу, повторне введення щурам мелатоніну майже вдвічі зменшує об’єм ішемічного набряку мозку [15, 43, 57, 75, 85].

На користь того, що мелатонін належить до природної системи захисту мозку від ішемічного ушкодження, свідчать результати дослідів на тваринах, у яких різними способами (екстирпація епіфіза, тривале утримання при інтенсивному освітленні) створювали дефіцит гормону. В таких умовах виявлялись більш значимі розміри інфаркту мозкової тканини при моделюванні інсульту шляхом кортикального фототромбозу чи локальної оклюзії серединної церебральної артерії. Між тим ін'єкції мелатоніну на фоні, наприклад, епіфізектомії забезпечували чіткий захист церебральних нейронів від ішемії різного походження [31, 56].

Механізми нейропротективної дії мелатоніну. В основі описаних ішемічних захворювань головного мозку (як і іншої органічної церебральної патології, в тому числі нейродегенеративного характеру) на молекулярному рівні лежать спільні патохімічні процеси, котрі слугують як мішень для дії мелатоніну, що і обумовлює його чіткі нейропротективні можливості. Мелатонін-залежний захист мозкової тканини – це комплексний феномен, що складається з обмеження оксидативного стресу, в том числі участі в цьому процесі NO, антиапоптотичної та імуномодулюючої дії, нормалізації енергетичного обміну і функції нейромедіаторів, а також ресинхронізації біоритмічних процесів [1, 4, 9, 16, 18, 62, 75, 100, 176]. На перше місце за значимістю належить, імовірно, поставити обмеження мелатоніном проявів окиснювального стресу, які супроводжують будь-які, у тому числі ішемічні, форми органічного ураження головного мозку. Провідну роль при стресі відіграє надмірна продукція вільних радикалів через підвищене утворення АФК. Згодом відбувається активація пероксидного окиснення ліпідів, вільнорадикальне ушкодження білків, нуклеїнових кислот і загибель клітинних елементів [46, 102, 114, 229].

Найбільш значимим результатом окиснювального стресу при порушеннях мозкового кровообігу внаслідок атеросклерозу судин, інсульту або черепно-мозкової травми слід визнати патологічну гіперактивність глутамінової кислоти [4, 43]. Її акумуляція в синапсах і міжклітинному просторі призводить до запуску глутамат-кальцієвого каскаду. Через збудження N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів глутамат обумовлює розкриття каналів в нейрональних мембранах для іонів кальцію і внутрішньоклітинне накопичення їх у великих кількостях, що неминуче визначає ушкодження клітинних структур [43, 100].

Мелатонін виражено обмежує глутаматну нейротоксичність. Як встановлено на культурі ізольованих кортикальных нейронів, їх ушкодження при надлишку глутамату або NMDA помітно гальмувалося після додавання в інкубаційне середовище мелатоніну. Це відбувається до певної міри за рахунок його здатності зв'язувати кальмодулін і обмежувати функцію NMDA-рецепторів. Навпаки, епіфізектомія призводить до збільшення щільності останніх з одночасним посиленням ПОЛ в різних мозкових утвореннях [37, 78, 129].

Необхідно також враховувати, що мелатонін належить до системи захисту нейронів від агресивної дії NO та його метаболітів, накопичення яких серед іншого потенціює глутаматну нейротоксичність [43]. Зниження рівня NO під впливом мелатоніну, у тому числі за рахунок пригнічення NOS, одночасно обмежує NO-залежну апоптотичну активність. Мелатонін посилює експресію в мозковій тканині мРНК білків-інгібіторів апоптозу [2, 9, 56].

Гіпоксія, що виникає при цереброваскулярних розладах різного генезу, негативно позначається на процесі окиснювального фосфорилювання і енергетичному потенціалі нервових клітин. Дефекти в мітохондріальній функції у свою чергу можуть обумовлювати гіперфосфорилювання білків і дезорганізацію цитоскелету. Мелатонін, нормалізуючи діяльність мітохондрій, не лише обмежує вказані порушення, але і відновлює функцію тирозинкіназного рецепторного апарату. Останній є важливим елементом системи фосфорилювання і бере участь в репаративних процесах нервової тканини за рахунок залучення в цей процес нейротрофінів [18, 19, 30, 40, 78, 102, 129].

Вираженість нейродегенерації, незалежно від причини (травма, інсульт, вікова патологія і т. д.), що викликає її, багато в чому визначається також станом репаративних процесів. Показано, що мелатонін здатний стимулювати нейрогенез і в дорослому мозку. Так, в культурі стовбурових клітин виявлено, що вони можуть експресувати мелатонінові рецептори, переважно 1-го типу. Додавання до них розчину мелатоніну в низькій концентрації провокує серед іншого індукцію мРНК одного з нейротрофінів - гліального ростового чинника [78, 129].

Збої в діяльності низки нейромедіаторних систем мозку, безумовно, відносяться до числа несприятливих наслідків церебральної ішемії. Зазвичай порушення носять комплексний характер. Тим паче для виникнення когнітивних розладів особливе значення має послаблення холінергічної передачі. Мелатонін, за даними дослідників, демонструє чіткі синаптотропні властивості, здатний не тільки опосередковано (через ослаблення оксидативного стреса), але і безпосередньо нормалізувати функціональну активність різних нейромедіаторів, зокрема, відновлювати проведення сигналів в холінергічних, дофамінергічних і ГАМК-ергічних синапсах [9, 11, 46, 98].

Всі вказані вище аспекти в своїй сукупності обумовлюють здатність епіфізарного мелатоніну виступати в ролі важливого нейропротективного засобу, котрий забезпечує успішний захист мозкових структур від ушкодження [43, 57, 168].

Експериментально на лабораторних тваринах показано, що при недостатності мелатоніну, викликаної пригніченням рецепторів, тварини починають швидше старіти: раніше починається менопауза, накопичуються вільнорадикальні ушкодження клітин, знижується чутливість до інсуліну, розвивається ожиріння та злоякісні пухлини [2, 11, 24, 30, 67, 70, 81, 150, 207].

Таким чином, аналіз наукової літератури показує, що дослідженням ролі мелатоніну в регуляторних процесах при розвитку адаптивних реакцій живих організмів на зміну світлового навантаження приділяється велика увага. Проте на сьогодні залишаються недостатньо вивченими аспекти впливу нестачі або надлишку мелатоніну на енергетичний обмін та прооксидантно-антиоксидантний статус тканин головного мозку, від чого залежить функціонування центральної нервової системи. Залишаються нез’ясованими участь NO- та NF-кВ-залежних процесів у механізмах метаболічних розладів в умовах гіпо- та гіпермелатонінемії.

З огляду на це ми вважаємо за доцільне вивчення механізмів порушення енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного статусу у головному мозку в умовах гіпо- та гіпермелатонінемії, що може скласти експериментальне підґрунтя для розробки в подальшому медикаментозних та немедикаментозних засобів профілактики та корекції порушень функціонування органів та систем організму людини для потреб хроноадаптації та хроноакліматизації.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика матеріалів та методів дослідження

Експериментальні дослідження виконано на 70 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220-260 г, які утримувались в умовах віварію на стандартному раціоні.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням принципів „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей” [192] та ухвали Першого національного конгресу з біоетики. Комісією з етичних питань та біоетики Миколаївського державного університету імені В.О. Сухомлинського (протокол № 7 від 17.03.2015 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Було проведено вісім серій експериментів (таблиця 2.1).

Таблиця 2.1

Розподіл експериментальних груп тварин

№	Характеристика серій	Тривалість досліду
1	2	3
1.	Інтактна (контрольна)	
Д о с л і д н і с е р і ї		
2.	Відтворення гіпомелатонінемії	10, 30, 55 діб
3.	Моделювання гіпомелатонінемії + призначення селективного інгібітора nNOS 7-нітроіндазолу (7-NI)	55 діб
4.	Відтворення гіпомелатонінемії + введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину	55 діб

Продовження табл. 2.1

1	2	3
5.	Моделювання гіпомелатонінемії + призначення субстрату NO-синтазної реакції L-аргініну	55 діб
6.	Відтворення гіпомелатонінемії + введення інгібітора активації NF-κB – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміну)	55 діб
7.	Моделювання гіпомелатонінемії + призначення скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну	55 діб
8.	Відтворення моделі гіпермелатонінемії	10, 30, 55 діб

Евтаназію тварин виконували шляхом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом. Об’єктом дослідження були великі півкулі головного мозку.

2.2. Методика відтворення гострої та хронічної гіпомелатонінемії

Короткочасну гіпомелатонінемію відтворювали на білих щурах – самцях, що підлягали цілодобовому освітленню (інтенсивністю 1500 люкс) протягом 10 діб [147].

Хронічну гіпомелатонінемію відтворювали на білих щурах – самцях, що підлягали цілодобовому освітленню (інтенсивністю 1500 люкс) протягом 30 та 55 діб [147].

Ця модель ґрунтується на тому факті, що мелатонін в епіфізі синтезується тільки в умовах темряви. Відомо, що для білих щурів достатньо 0,0005 мВ/см^2 потужності світла щоб знизити продукцію мелатоніну, але для деяких інших гризунів подібний ефект викликається потужністю світла більше 1850 мВ/см^2 [113]. Запропонована експериментальна модель супроводжується зменшенням концентрації мелатоніну в крові < 10 пг/мл (при нормі – у середньому 28,5±2,2 пг/мл).

Короткочасну гіпермелатонінемію викликали введенням мелатоніну (виробництво “Sigma-Aldrich, Inc.”, США) інтрагастрально за допомогою спеціального зонду у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 10 діб [148].

Хронічну гіпермелатонінемію викликали введенням мелатоніну (виробництво “Sigma-Aldrich, Inc.”, США) інтрагастрально за допомогою спеціального зонду у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 30 та 55 діб [148]. Запропонована експериментальна модель супроводжується підвищенням концентрації мелатоніну в крові > 35 пг/мл.

Короткотривалі досліди відображають переважно функціональні зміни, які відбуваються під впливом різних доз мелатоніну у той час, як хронічний дослід створює умови тривалої перебудови таких систем організму, регуляція яких пов’язана зі змінами в рецепторному апараті клітин, сприймаючому дію мелатоніну [137].

2.3. Методика зміни режимів функціонування NO-синтаз та активності NF-κB

З метою модифікації функціонування NO-синтаз та активності NF-κB застосовували сполуки, наведені у таблиці 2.2.

Таблиця 2.1

Сполуки, що змінюють режими функціонування NO-синтаз
та активність NF-κB, які використовувалися у дослідженні

Назва сполуки	Призначення	Виробник	Шлях введення	Доза
1	2	3	4	5
7-нітроіндазол (7-NI)	Селективний інгібітор nNOS	“Sigma Chemical Co”, США	в/о	30 мг/кг [234]

Продовження табл. 2.2

1	2	3	4	5
Аміногуанідин	Селективний інгібітор iNOS	"Sigma Chemical Co", США	в/о	20 мг/кг [300]
L-аргінін	Субстрат NO-синтазної реакції	"Kyowa Hakko Kogyo Co LTD", Японія	в/о	500 мг/кг [53]
JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл) бензол-1,2-діамін)	Інгібітор активації NF-κB	"Santa Cruz Biotechnology", ФРН	в/о	1 мг/кг [230]
L-селенометіонін	Скевенджер пероксинітриту	"Sigma-Aldrich, Inc.", США	в/о	3 мг/кг [234]

Примітка: в/о – внутрішньоочеревинно.

Зазначені вище сполуки вводили щоденно протягом останніх 7 діб освітлення тварин.

2.4. Біохімічні методи дослідження

Перелік використаних біохімічних методів дослідження наведено в табл. 2.3.

Таблиця 2.3

Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Літературні джерела
1	2	3
1.	Активність NOS, мкмоль $[NO_2^-]$/г·хв.	Hevel J.M. (1991)

Продовження табл. 2.3

1	2	3
2.	Концентрація нітрит-йонів, мкмоль/г	Hevel J.M. (1991)
3.	Продукція $\cdot O_2^-$ мікросомальним ЕТЛ (стимуляція НАДФН), нмоль/ г·× с	Цебржинский О.И. (2002)
4.	Продукція $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ (стимуляція НАДН), нмоль/ г·× с	Цебржинский О.И. (2002)
5.	Продукція $\cdot O_2^-$ НАДФН-оксидазною системою лейкоцитів (стимуляція пірогеналом), нмоль/ г·× с	Цебржинский О.И. (2002)
6.	Концентрація ТБК-активних продуктів, мкмоль/кг	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
7.	Активність супероксиддисмутази (СОД), од. акт.	Брусов О. С. и соавт. (1976)
8.	Активність каталази, мккатал/кг	Архипова О. Г. (1988)
9.	Концентрація АТФ, мкмоль/г	Lamprecht W. et al. (1974)
10.	Концентрація АДФ, АМФ, мкмоль/г	Jaworeck D. et al. (1974)

2.4.1. Визначення активності NO-синтази та концентрації нітрит-йонів. Активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-йонів (NO_2^-) до та після інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку щурів у середовищі, що містить L-аргінін (субстрат NOS) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений (НАДФН). Концентрацію NO_2^- визначали шляхом утворення діазосполук у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α-нафтилетилендіаміном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники) [209].

2.4.2. Визначення продукції супероксидного аніон-радикала. Утворення супероксидного аніон-радикала оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ) у модифікації О.І. Цебржинського [142].

Оцінювали продукцію супероксиду в гомогенаті великих півкуль головного мозку з індукторами у вигляді НАДН, НАДФН і бактеріальними ліпополісахаридами (пірогенал). Виконуючи дослідження, 0,1 г тканини гомогенізували зі скляним порошком у 0,9 мл ізотонічного фосфатного буферу (pH 7,4). Відбирали по 0,05 мл гомогенату в 4 пробірки (а,б,в,г). Додавали в пробірки і перемішували: а) 0,05 мл буферного розчину (для визначення загальної фонової нестимульованої активності): б) 0,05 мл 3% розчину НАДФН (для оцінки продукції супероксидного аніон-радикала мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом); в) 0,05 мл 3% розчину НАДН (для оцінки продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом); г) 0,05 мл тритону Х-100 до кінцевої концентрації 0,1%. Преінкубували при 37^{o} С: 10 хв - пробірки б і в, 30 хв - пробірки а і г. У пробірку г додавали 0,1 мл пірогеналу (Pyrogenalum) виробництва НДІ епідеміології та мікробіології ім. М.Ф. Гамалеї РАМН (Росія) – препарату ліпополісахариду, виділеного з клітин Salmonella typhi, для оцінки продукції супероксидного аніон-радикала фагоцитами. В усі проби додавали по 0,05 мл розчину НСТ, перемішували, інкубували при 37^{o} С: а і г - 30 хв, б і в - 5 хв. Додавали 2 мл розчинника (хлороформ і диметилсульфоксид у співвідношенні 1:2 за об'ємом) і збовтували 1 хв. Центрифугували 5 хв при 1500 об/хв. Відбирали забарвлений надосадовий шар. Фотометрували 1 мл верхнього шару проти відповідного контролю при оптимальній довжині хвилі 540 нм.

Контролем слугували 4 пробірки, в які вносили по 0,05 мл буферу, 0,05 мл води та 0,05 мл розчину НСТ і додавали в пробірки: а) 0,05 мл води; б) 0,05 мл розчину НАДФН; в) 0,05 мл розчину НАДН; г) 0,05 мл тритону Х-10 з 0,1 мл пірогеналу. Інкубацію проводили за тих же умов, що й в дослідних пробах, 10 і 30 хвилин при 37^{o} С і так само елюювали забарвлений шар рідини. Самі НАДФН, НАДН, пірогенал не відновлюють НСТ.

Оскільки в ході реакції 1 моль НСТ відновлюється 2 моль супероксидного аніон-радикала, то для розрахунку будували стандартний графік за екстинцією диформазану. 0,01-0,2 мл 0,2% розчину НСТ відновлювали сумішшю 0,1 мл 0,1 н КОН і 0,1 мл розчину аскорбінової кислоти (18 мг/10 мл). Інкубували, диформазан елюювали 2 мл розчинника і визначали екстинкцію. З урахуванням розведення, співвідношення компонентів у реакції, та екстинції стандарту розрахунок проводили за формулами: для а і г: Е х 11,11 = нмоль/ г·с; для б і в: Е х 66,67 = нмоль/ г·с.

2.4.3. Визначення концентрації ТБК-активних продуктів. Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканині головного мозку щурів оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині [104]. Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час півторагодинної інкубації гомогенату тканин у залізоаскорбатному буферному розчині.

2.4.4. Визначення активності супероксиддисмутази. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) у тканині головного мозку щурів проводили за методом О.С. Брусова і співавт. [29]. Принцип методу полягає в тому, що СОД інгібує автоокиснення адреналіну. За різницею швидкості реакції без додавання біологічного матеріалу та з його додаванням обчислюють активність ферменту.

2.4.5. Визначення активності каталази. Визначення активності каталази у тканині головного мозку щурів проводили за методом, наведеним у керівництві О.Г. Архипової [103], в основі якого знаходиться здатність каталази, що міститься в біоматеріалі, розкладати пероксид водню. Кількість пероксиду водню, що залишився в пробі, визначають титруванням 0,1 н розчином калію перманганату.

2.4.6. Визначення концентрації аденіннуклеотидів. Вміст аденозинтрифосфату (АТФ) у тканині головного мозку визначали за методом W. Lamprecht et al. [233], в основі якого знаходиться вимірювання оптичної густини реагуючих речовин, яка пропорційна вмісту АТФ у пробі.

Вміст аденозинди- та монофосфату (АДФ і АМФ) визначали за методом D. Jaworeck et al. [214] в одній пробі за допомогою сполучених реакцій. Метод ґрунтується на тому, що АМФ у присутності АТФ фосфорилюється ферментом міокіназою з утворенням двох молекул АДФ. Молекули АДФ фосфорилюються піруваткіназою за рахунок фосфоенолпірувата, який при цьому перетворюється на піруват, котрий можна визначити за допомогою індикаторної реакції з НАДН та ЛДГ.

Значення енергетичного потенціалу (ЕП) обчислювали за формулою Atkinson [166]:

$$EП = \frac{ATP + 1/2ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

2.5. Методика оцінки поведінки тварин у тесті «відкрите поле»

Поведінкові реакції тварин вивчали у тесті "відкрите поле" [92]. Для проведення цього тесту була використана прямокутна камера 100х100 см з пластиковими стінками висотою 40 см. Підлогою був лист білого пластика розлінований на 25 рівних квадратів. Освітлення звичайне, температура повітря в кімнаті 18º С. Тварину саджали в куток камери і спостерігали за її поведінкою 15 хв. Як тільки тварина виходила на новий квадрат обома передніми лапами, це реєструвалося. Кількість відвідувань 16-ти периферичних квадратів (що прилягають до стінок) реєструвалася окремо від числа відвідувань 9 внутрішніх квадратів. Підрахунок числа відвідувань зовнішніх і внутрішніх квадратів проводився за 1 хв. з інтервалом 10 с, крім цього проводився підрахунок кількості актів дефекації, піднімань на задні лапки та грумінг (вмивання, почісування, вилизування шерсті).

Процедура включала підготовчий період та власне тестування. У підготовчий період (не менше 60 хв.) тварин витримували в тихому, слабо освітленому приміщення, залишали у спокої. Всі маніпуляції (ін'єкції, мітки та ін.) проводили завчасно (за 24 години) до тестування.

Тестування лабораторних тварин включало переміщення їх на арену тестового поля під стінку, одночасно включався секундомір. Фіксований час перебування тварини на арені складав 15 хвилин.

Реєстрували показники:

- латентний період (с) – час перебування тварини у стані спокою після переміщення її в арену;
- вертикальні стійки (кількість за весь час тестування);
- вихід у центр відкритого поля (кількість за весь час тестування);
- число актів дефекації;
- грумінг (кількість актів за весь час тестування), розділяють короткий та тривалий. Короткий грумінг характеризується 1-2 швидкими круговими рухами лап навколо носа, а тривалий - умивання області очей, заведення лап за вуха з переходом на умивання всієї голови, лап, боків, тулуба, хвоста;
- пересічення квадратів (всіма чотирма лапками), спостерігають пересічення периферичних та внутрішніх квадратів;

Арену «відкритого поля» протирають вологою губкою після тестування кожної тварини.

2.6. Статистична обробка результатів експерименту

Обробку отриманих результатів дослідження проводили використовуючи традиційні статистичні методи з вираховування відносних величин, середньої арифметичної, помилки репрезентативності та середнього квадратичного відхилення. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уілка. При відповідності даних нормальному розподілу для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок, п при невідповідності – застосовували непараметричний метод – тест Мана-Уїтні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм “Microsoft Excel” та “STATISTICA” (“Statsoft”, США).

РОЗДІЛ 3
СТАН ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТВАРИН В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ

3.1. Стан NO-ергічної системи головного мозку в умовах експериментальної гіпомелатонінемії

На сьогодні значна кількість робіт присвячена регуляторній та токсичній дії NO на нервову систему організму. Експериментальними та клінічними дослідженнями показано, що за фізіологічних умов NO діє як ендогенний біорегулятор, контролює осциляторну активність нейронів і модулює міжнейрональні комунікації, синаптичну пластичність, стан рецепторів, внутрішньоклітинну передачу сигналу, вивільнення нейротрансмітерів [80].

Механізм авторегуляції вмісту NO пов'язаний з функціонуванням циклу оксиду азоту [118, 122, 123, 124, 125, 242]. Головні шляхи утворення NO залежать від активності NOS та ферментативних і неферментативних реакцій відновлення нітрит-йонів.

Ми дослідили активність NOS та концентрацію нітрит-йонів у великих півкулях головного мозку при моделюванні у щурів стану гіпомелатонінемії (таблиця 3.1).

Цілодобове освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 10-ти діб суттєво не позначається на активності NOS та вмісті нітрит-йонів у гомогенаті великих півкуль головного мозку.

Відтворення гіпомелатонінемії протягом 30-ти діб супроводжується збільшенням активності NOS (на 15,6%, $p<0,05$). Концентрація нітрит-йонів у великих півкулях головного мозку достовірно не змінюється.

Таблиця 3.1

Показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія		
		10 діб	30 діб	55 діб
NOS, мкмоль NO_2^-/г·хв.	4,17 ±0,14	4,29 ±0,25	4,82 ±0,23*	4,97 ±0,17 *
Вміст NO_2^-, мкмоль/г	0,179 ±0,006	0,184 ±0,012	0,206 ±0,012	0,211 ±0,007*

Примітка: * – р<0,05 у порівнянні з даними інтактних щурів.

В умовах моделювання хронічної гіпомелатонінемії (протягом 55-ти діб) виявляється підвищення у великих півкулях головного мозку як активності NOS (на 19,2%, р<0,01), так і вмісту нітрит-йонів (на 17,9%, р<0,01).

Утворення останніх, очевидно, пов'язано з окисненням NO [125, 243].

Таким чином, відтворення гіпомелатонінемії шляхом цілодобового освітлення щурів інтенсивністю 1500 люкс супроводжується прогресуючим збільшенням у великих півкулях головного мозку активності NOS (починаючи з 30 доби експерименту) та утворення продуктів окиснення NO - нітрит-йонів (на 55 добу експерименту).

3.2. Зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах експериментальної гіпомелатонінемії

Витік електронів в дихальному ланцюзі мітохондрій і коротких ЕТЛ системи цитохрому Р-450, локалізованої в ендоплазматичному ретикулумі, вочевидь, є основними механізмами нефізіологічного утворення біорадикалів. Хоча в нормально працюючих мітохондріях цитохроми та інші білки, що входять до складу дихальних комплексів з діоксигеном, майже не взаємодіють, його одноелектронне відновлення та утворення $^{\cdot}O_2^-$ можливе, за сучасними даними, на рівні МФК I (НАДН - убіхіноноксидоредуктази), МФК III (убіхінонол - цитохром с оксидоредуктази) та цитохром b-c_1 комплексу [188].

Іншим важливим шляхом утворення $^{\cdot}O_2^-$ і H_2O_2, є так званий "дихальний вибух" в різних типах гранулярних і агранулярних лейкоцитів (в першу чергу, нейтрофілах і макрофагах). Дихальний вибух характеризується зростанням споживання клітинами кисню, посиленням в них катаболізму глюкози та утворення НАДФН через гексозомонофосфатний шунт. При цьому практично весь споживаний кисень витрачається на вироблення $^{\cdot}O_2^-$ НАДФН-оксидазним комплексом, локалізованим на зовнішньому боці плазматичної мембрани фагоцитів [77]. АФК, що утворюються таким чином, відіграють надзвичайно важливу роль у реакціях неспецифічного і специфічного імунітету та запалення.

$^{\cdot}O_2^-$ виявляє окисні та відновлювальні властивості, є джерелом для утворення інших АФК. Відома його здатність індукувати та продовжувати вільнорадикальні ланцюгові реакції, модифікувати плинність мембран, здійснювати розриви ДНК, фрагментацію білків, справляти вазоконстрикторну дію [109, 126]. У низьких концентраціях $^{\cdot}O_2^-$ активує синтез АТФ у мітохондріях [50-52], регулює механізм трансляції синтезу білка [49]. Елімінацію $^{\cdot}O_2^-$ здійснює СОД, у меншій мірі - церулоплазмін і токоферол [154, 155].

Цілодобове освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 10-ти діб істотно не впливає на продукцію $^{\cdot}O_2^-$ у тканині великих півкуль головного мозку мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ, а також НАДФН-оксидазою лейкоцитів (таблиця 3.2).

Відтворення гіпомелатонінемії протягом 30-ти діб супроводжується збільшенням утворення $\cdot O_2^-$ НАДФН-оксидазними комплексами: мікросом (на 52,5%, р<0,05) та лейкоцитів (на 52,1%, р<0,01).

Таблиця 3.2

Зміни продукції супероксидного аніон-радикала у тканині головного мозку в умовах експериментальної гіпомелатонінемії

(M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія		
		10 діб	30 діб	55 діб
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с				
мікросомальним ЕТЛ	11,75 ±0,80	12,04 ±1,45	17,92 ±1,99 *	18,02 ±0,88*
мітохондріальним ЕТЛ	9,17 ±1,21	9,34 ±1,32	9,99 ±1,09	18,62 ±0,98*
НАДФН-оксидазою лейкоцитів	1,17 ±0,08	1,26 ±0,16	1,78 ±0,16*	1,74 ±0,08*

Примітка: * – р<0,05 у порівнянні з даними інтактних щурів.

Генерація $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ у великих півкулях головного мозку достовірно не змінюється.

В умовах моделювання хронічної гіпомелатонінемії (протягом 55-ти діб) виявляється підвищення продукції $\cdot O_2^-$ мікросомальним ЕТЛ у тканині великих півкуль головного мозку - на 53,4% (р<0,001), мітохондріальним ЕТЛ – на 103,0% (р<0,001), НАДФН-оксидазою лейкоцитів - на 48,7% (р<0,01).

Таким чином, відтворення гіпомелатонінемії шляхом цілодобового освітлення щурів інтенсивністю 1500 люкс супроводжується прогресуючим збільшенням продукції $^{\cdot}O_2^-$ НАДФН-оксидазними комплексами: мікросом та лейкоцитів (починаючи з 30 доби експерименту) та мітохондріальним ЕТЛ (на 55 добу експерименту).

3.3. Зміни процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку в умовах експериментальної гіпомелатонінемії

Вільнорадикальне окиснення є одним з універсальних механізмів ушкодження структур головного мозку [32, 57, 64].

Первинними продуктами при цьому виявляються органічні пероксиди і дієнові кон'югати. Вторинними продуктами пероксидації є альдегіди (малоновий діальдегід, який є ТБК-активною сполукою), кетони, оксирани, епоксиди. Кінцевими продуктами вважаються шифові основи і пігмент старіння ліпофусцин. Пероксидація радикалів жирних кислот фосфоліпідів мембран робить їх більш гідрофільними, що модифікує структуру і функції клітинних мембран і призводить до некрозу клітин. Окиснювальна модифікація білків супроводжується інактивацією ферментів і рецепторів, зміною антигенних властивостей ліпопротеїнів [126].

Цілодобове освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 10-ти діб істотно не впливає на концентрацію ТБК-реактантів у гомогенаті великих півкуль головного мозку (таблиця 3.3).

Приріст ТБК-реактантів за час 1,5-годинної інкубації у залізно-аскорбатному буферному розчині достовірно не змінюється, що вказує на достатній рівень АО потенціалу.

Проте звертає на себе увагу зниження активності АО ферментів – СОД (на 36,5%, $p<0,02$) і каталази (на 19,2%, $p<0,02$).

Таким чином, при незмінності стану прооксидантної ланки знижується рівень антиоксидантного захисту, тобто суттєво зменшується активність АО ферментів – супероксиддисмутази та каталази.

Таблиця 3.3

Стан прооксидантно-антиоксидантної системи головного мозку при короткочасній (10 діб) гіпомелатонінемії (M±m, n=10)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (10 діб)
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг до інкубації	30,9±6,1	29,4±4,2
після інкубації	43,2±4,82	41,2±3,5
приріст	12,3±1,4	11,8±1,0
СОД, ум.од.	0,52±0,04	0,33±0,05 *
Каталаза, мккатал/кг	5,22±0,19	4,22±0,23*

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

При відтворення гіпомелатонінемії протягом 30-ти діб достовірної зміни концентрації ТБК-реактантів у гомогенаті великих півкуль головного мозку ми не виявили (таблиця 3.4).

Істотних змін в значеннях показників між правою та лівої півкулею в нормі та при гіпомелатонінемії не відмічається, але активність СОД при гіпомелатонінемії у лівій півкулі на 44,2% ($p<0,05$) менше, ніж в нормі у цієї півкулі. Активність каталази в нормі лівої півкулі - на 41,5% ($p<0,05$) більше, ніж в нормі у правій півкулі. Активність каталази у нормі лівої півкулі виявляється на 18,6% ($p<0,05$) більше, ніж в цій же півкулі при гіпомелатонінемії.

Таблиця 3.4

Асиметричність та симетричність процесів прооксидантно-антиоксидантного балансу у великих півкулях головному мозку при 30-ти добовій гіпомелатонінемії (M±m, n=10)

Показники	Права півкуля		Ліва півкуля	
	Інтактні тварини	Гіпомелато-нінемія (30 діб)	Інтактні тварини	Гіпомелато-нінемія (30 діб)
1	2	3	4	5
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг	24,1 ±1,3	25,1 ±1,2	26,4 ±1,0	25,1 ±1,5
СОД, од. акт	0,53 ±0,04	0,35 ±0,10	0,50 ±0,11	0,29 ±0,08 *
Каталаза, мккатал/кг	3,95 ±0,11	3,81 ±0,32	5,59 ±0,22 **	4,55 ±0,34 *

Примітки:

* – p<0,05 у порівнянні з даними відповідної півкулі інтактних щурів;

** – p<0,05 у порівнянні з даними контрлатеральної півкулі.

Таким чином, права півкуля виявилась більш стійкою до дії світлового чинника за показниками АО захисту, ніж ліва.

В умовах дії цілодобового освітлення на білих щурів протягом 55-ти діб виявляються суттєві зміни ПОЛ та АО системи (таблиця 3.5).

Так, концентрація ТБК-реактантів у гомогенаті великих півкуль головного мозку істотно підвищується: до інкубації – у 2 рази (p<0,001), після інкубації у прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині - на 99,1 %, (p<0,001).

Приріст ТБК-реактантів за час 1,5-годинної інкубації у залізо-аскорбатному буферному розчині збільшується – на 96,7%, ($p<0,001$), що вказує на виснаження АО потенціалу.

Активність АО ферментів істотно зменшується: СОД – на 53,8% ($p<0,001$), каталази - на 37,2% ($p<0,001$).

Таблиця 3.5

Стан прооксидантно-антиоксидантної системи головного мозку при хронічній (55 діб) гіпомелатонінемії (M$\pm$m, n=10)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг		
до інкубації	30,9±6,1	61,8±0,6*
після інкубації	43,2±4,82	86,0±0,4*
приріст	12,3±1,4	24,2±0,1*
СОД, ум.од.	0,52±0,04	0,24±0,02*
Каталаза, мккатал/кг	5,22±0,19	3,28±0,17*

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

Таким чином, 1) відтворення гіпомелатонінемії шляхом цілодобового освітлення щурів інтенсивністю 1500 люкс супроводжується активацією декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів (на 55 добу експерименту), прогресуючим зниженням активності антиоксидантних ферментів: СОД і каталази (починаючи з 10 доби досліду);

2) виявлено відмінності в чутливості антиоксидантної системи півкуль головного мозку до гіпомелатонінемії: тканини правої півкулі виявляються більш резистентними до 30-денної дії світлового чинника за показниками активності АО ферментів (СОД і каталази), ніж лівої.

3.4. Зміни енергетичного обміну в тканині головного мозку в умовах експериментальної гіпомелатонінемії

Для оцінки біоенергетичного стану нами використано такі біохімічні показники, як вміст АТФ, АДФ та АМФ, значення аденілатного енергетичного заряду (енергетичного потенціалу). При цьому було звернуто увагу на обмін аденілових нуклеотидів як сполучної ланки метаболічних процесів енергетичного обміну.

АТФ є основною сполукою, що визначає енергетичний потенціал біосистеми [88-90]. На частку АТФ припадає до 80% загальної кількості всіх аденілових нуклеотидів, рівень яких в клітинах підтримується на відносно постійному рівні [23,136]. Основна кількість АТФ утворюється в головному мозку внаслідок окисного фосфорилювання в дихальному ланцюзі мітохондрій, незначна – в результаті субстратного фосфорилювання.

Продукція АТФ врівноважується швидкістю його розпаду і для енергетичного забезпечення роботи головного мозку необхідна координована діяльність гліколітичних процесів і окиснювального фосфорилювання. Регуляторна дія аденіннуклеотидів є різноспрямованою та залежить від ступеня їх фосфорилювання. Дані про вміст всіх компонентів аденілової системи дозволяють судити про спрямованість обмінних процесів у тканині. Інформативним є співвідношення їхніх молярних концентрацій. Такою інтегративною величиною, що об'єднує три компоненти аденілової системи в єдину формулу, є енергетичний потенціал [23, 136, 166].

Енергетичний запас клітини у вигляді макроергічних сполук і субстратів особливо важливий в умовах кисневої недостатності, оскільки підтримання життєдіяльності органів і організму в цілому можливо до тих пір, поки дефіцит енергії не досягне певних критичних величин.

Концентрація аденіннуклеотидів у гомогенаті великих півкуль головного мозку інтактних щурів (таблиця 3.6) складає: АТФ – 2,71±0,07 мкмоль/г, АДФ – 0,45±0,03 мкмоль/г, АМФ – 0,19±0,01 мкмоль/г. Сума аденіннуклеотидів – 3,35±0,21 мкмоль/г. Енергетичний потенціал – 0,874±0,015.

В умовах дії цілодобового освітлення на білих щурів протягом 55-ти діб виявляються суттєві зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів.

Таблиця 3.6

Зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=10)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)
АТФ, мкмоль/г	2,71±0,07	1,69±0,06*
АДФ, мкмоль/г	0,45±0,03	0,28±0,03*
АМФ, мкмоль/г	0,19±0,01	1,38±0,15*
Сума аденіннуклеотидів, мкмоль/г	3,35±0,21	3,35±0,36
Енергетичний потенціал	0,874±0,015	0,546±0,013*

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

За цих умов у тканині головного мозку відмічається достовірне зниження концентрації АТФ і АДФ – відповідно на 37,6% ($p<0,001$) та 37,8% ($p<0,01$) у порівнянні з даними інтактної серії. Вміст АМФ збільшується – у 7,3 рази ($p<0,001$). Сума аденіннуклеотидів – 3,35±0,36 мкмоль/г – достовірно не змінюється. Енергетичний потенціал знижується – на 37,5% ($p<0,001$) у порівнянні з даними інтактної групи. Все це свідчить про значне зниження у тканині головного мозку ресинтезу макроергічних сполук.

Таким чином, відтворення хронічної гіпомелатонінемії супроводжується пригніченням у тканині великих півкуль головного мозку біоенергетичних процесів, що супроводжується зниженням вмісту АТФ та енергетичного потенціалу.

3.5. Характеристика поведінкових реакцій щурів у тесті «відкрите поле» в умовах експериментальної гіпомелатонінемії

Вплив експериментальної гіпомелатонінемії на поведінкові реакції щурів вивчали у тесті «відкрите поле» на 10, 30 та 55 добу експерименту. Отримані дані представлені в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Поведінкові реакції щурів у тесті «відкрите поле» в умовах експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=20)

Доба дос-ліду	Латент-ний період, с	Перифе-ричний квадрат, кількість відвідувань	Внутрі-шній квадрат, кількість відвідувань	Дефе-кація, число актів	Підніман-ня на зад-ні лапи, число актів	Грумінг, число актів
Фоновий нейроетологічний портрет						
	0,8 ± 0,05	79,1 ± 1,3	18,1 ± 1,3	1,8 ± 0,3	10,5 ± 2,8	3,8 ± 0,9
Відтворення гіпомелатонінемії						
10	0,9 ± 0,02	128,1 ± 11,3*	12,8 ± 0,9*	1,8 ± 0,2	23,7 ± 2,3*	2,1 ± 0,4*
30	0,8 ± 0,1	134,9 ± 14,7*	13,8 ± 1,7*	1,7 ± 0,3	29,4 ± 2,7*	1,9 ± 0,5*
55	0,7 ± 0,03	53,3 ± 8,6*	13,3 ± 1,7*	3,7 ± 0,3*	6,4 ± 0,7*	5,9 ± 0,5*

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними фонового нейроетологічного портрету щурів.

Як видно з даних, наведених у таблиці 3.7, відтворення експериментальної гіпомелатонінемії, як гострої (10 діб), так і хронічної (до 30 доби спостереження), практично не змінило тривалість латентного періоду у тварин. Аналогічно не змінилась частота дефекації. Однак різко підсилилась вертикальна і горизонтальна активність, причому вертикальна активність наростала з плином часу експерименту до 30-ї доби спостереження. Сумарна горизонтальна активність (пересічення квадратів) також зросла, проте не односпрямовано – відвідування периферичних квадратів вірогідно збільшилось, а відвідування внутрішніх квадратів вірогідно знизилось. Грумінг також продемонстрував кількісне зниження як у фазу гострої, так і в фазу хронічної гіпомелатонінемії.

На 55 добу спостереження відмічається вірогідне пригнічення поведінкової активності піддослідних тварин, викликаної гіпомелатонінемією, що виражається у різкому зниженні як горизонтальної, так і вертикальної активності, посиленні показників вегетативного балансу – грумінгу та дефекації, що відбувається в статичному положенні.

Таким чином, відтворення експериментальної гіпомелатонінемії виявляє активуючий вплив на поведінкові реакції тварин в тесті «відкрите поле» до 30-ї доби експерименту, про що свідчить посилення пошукової активності з превалюванням відвідування периферичних квадратів, збільшення кількості вертикальних стойок, зниження кількості грумінгу.

Однак тривалий період гіпомелатонінемії (55 діб) призводить до виснаження адаптаційних реакцій організму тварин до нестачі цього гормону та істотних змін нейроетологічного портрету за рахунок зменшення пошуково-дослідницької активності та збільшення показника вегетативного балансу.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Цебржинський О.І. Особливості проходження тесту "відкрите поле" щурами, що мали гіпер- та гіпомелатонінемії / О.І. Цебржинський, Ю.Д. Френкель // Світ медицини та біології. – 2006. - №3. – С. 47-52.

2. Френкель Ю.Д. Роль NO-синтаз у механізмах порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, №2. – С. 162-165.

3. Френкель Ю.Д. Роль NO-синтаз у механізмах порушень біоенергетичних процесів у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель, // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, №1. – С. 109-112.

4. Френкель Ю.Д. Влияние недостатка и избытка мелатонина на некоторые параметры мозга крыс / Ю.Д. Френкель, О.И. Цебржинский // Вісн. Луганського нац. пед. ун-ту ім. Т. Шевченка : Біологічні науки. Зб. наук. праць. – Луганськ, 2006. – № 13 (108). – С. 127-132.

5. Френкель Ю.Д. Прооксидантно-антиоксидантная система головного мозга крыс при гипо- и гипермелатонинемиях / Ю.Д. Френкель, О.И. Цебржинский // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, фармакологии и медицине : Сб. ст. Т. 1 / под ред. А.П. Кудинова, Б.В. Крылова. – СПб., 2011. – С. 203-208.

6. Френкель Ю.Д. Оценка поведенческих реакций лабораторных крыс в тесте «открытое поле» при воспроизведении эксперимeтальной гипер- и гипомелатонинемии / Ю.Д. Френкель // Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины : сб. науч. ст. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – Вып. 4. – С. 306-310.

7. Органные особенности хронических гипермелатонинемий и гипомелатонинемий / Е. И. Антонова, Н. А. Дмитренко, С.В. Семенчук, Ю.Д. Френкель, Л. Д. Чеботарь, О.И. Цебржинский // Актуальные проблемы права, экономики и управления : Сб. научн. работ. – Иркутск, 2007. – Т. II, Вып. III. – С. 324-326.

8. Визначення кількості та джерел супероксиду в органах щурів при гіпо- та гіпермелатонінеміях / Я.В. Анасевич, М.Ш. Гільмутдинова, К.М. Зварич, Д.В. Зубрик, М.І. Косенко, Г.М. Космачова, О.М. Ларичева, Ю.Д. Френкель, О.І. Цебржинський // X Міжнародні новорічні читання : зб. наук. праць. Вип. 10. – Миколаїв, 2010. – С. 137-141.

РОЗДІЛ 4
СТАН ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТВАРИН В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРМЕЛАТОНІНЕМІЇ

4.1. Стан NO-ергічної системи головного мозку в умовах експериментальної гіпермелатонінемії

При відтворенні гіпермелатонінемії шляхом інтрагастрального введення мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 10-ти, 30-ти та 55-ти діб активність NOS та вміст нітрит-йонів у тканині великих півкуль головного мозку істотних змін не зазнають (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1

Показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах експериментальної гіпермелатонінемії (M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Гіпермелатонінемія		
		10 діб	30 діб	55 діб
NOS, мкмоль NO_2^-/г·хв.	4,17 ±0,14	4,07 ±0,24	4,22 ±0,27	4,42 ±0,25
Вміст NO_2^-, мкмоль/г	0,179 ±0,006	0,162 ±0,014	0,185 ±0,011	0,189 ±0,012

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

Відомо, що мелатонін виявляє властивості інгібітора iNOS [187, 256]. Проте в умовах відсутності індукції активність цієї ізоформи NOS мінімальна і достовірно не змінюється при призначенні малотоксичних доз мелатоніну.

Таким чином, відтворення поміркованої гіпермелатонінемії не змінює у тканині великих півкуль головного мозку активність NOS та вміст нітрит-йонів.

4.2. Стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканині головного мозку в умовах експериментальної гіпермелатонінемії

При відтворенні гіпермелатонінемії шляхом інтрагастрального введення мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 10-ти, 30-ти та 55-ти діб продукція $\cdot O_2^-$ у тканині великих півкуль головного мозку мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ, а також НАДФН-оксидазою лейкоцитів достовірно не змінюється (таблиця 4.2).

Таблиця 4.2

Стан продукції супероксидного аніон-радикала у тканині головного мозку в умовах експериментальної гіпермелатонінемії

(M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Гіпермелатонінемія		
		10 діб	30 діб	55 діб
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с				
мікросомальним ЕТЛ	11,75 ±0,80	10,41 ±1,56	13,07 ±0,72	10,06 ±1,14
мітохондріальним ЕТЛ	9,17 ±1,21	9,22 ±1,44	9,13 ±0,65	9,04 ±1,03
НАДФН-оксидазою лейкоцитів	1,17 ±0,08	1,06 ±0,15	1,38 ±0,09	1,36 ±0,07

Примітка: * – p<0,05 у порівнянні з даними інтактних щурів.

За цих умов ми не виявили суттєвих змін концентрації ТБК-реактантів у гомогенаті великих півкуль головного мозку та її приросту за час 1,5-годинної інкубації у залізно-аскорбатному буферному розчині (таблиці 4.3;

4.4; 4.5). Це вказує на відсутність інтенсифікації процесів ПОЛ та достатній рівень АО потенціалу.

Таблиця 4.3

Стан прооксидантно-антиоксидантної системи головного мозку при короткочасній (10 діб) гіпермелатонінемії (M±m, n=10)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Гіпермелатонінемія (10 діб)
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг		
до інкубації	30,9±6,1	28,0±2,9
після інкубації	43,2±4,82	39,7±2,41
приріст	12,3±1,4	11,7±0,7
СОД, ум.од.	0,52±0,04	0,42±0,05
Каталаза, мккатал/кг	5,22±0,19	3,65±0,17*

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

Проте в умовах 10-денного призначення мелатоніну (див. табл. 4.3) виявляється достовірне зниження активності каталази - на 30,1% ($p<0,001$). Активність СОД вірогідних змін не зазнає.

Встановлено відсутність асиметричності показників прооксидантної-антиоксидантної системи між півкулями головного мозку в умовах 30-денної гіпермелатонінемії (див. табл. 4.4).

Виявлено, що достовірні зміни спостерігаються у лівій півкулі, де активність каталази зменшується на 26,1% у порівнянні з нормою цієї півкулі ($p<0,001$).

Таким чином, права півкуля виявилась, як і у випадку 30-денної гіпомелатонінемії (див. п. 3.3), більш стійкою до дії світлового чинника за показниками АО захисту, ніж ліва.

Таблиця 4.4

Асиметричність та симетричність процесів прооксидантно-антиоксидантного балансу у великих півкулях головному мозку при 30-ти добовій гіпермелатонінемії (M±m, n=10)

Показники	Права півкуля		Ліва півкуля	
	Інтактні тварини	Гіпермела-тонінемія (30 діб)	Інтактні тварини	Гіпермела-тонінемія (30 діб)
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг	24,1 ±1,3	23,4 ±2,3	26,4 ±1,0	26,5 ±0,5
СОД, од. акт	0,53 ±0,04	0,50 ±0,10	0,50 ±0,11	0,33 0,08
Каталаза, мккатал/кг	3,95 ±0,11	3,64 ±0,25	5,59 ±0,22 **	4,13 0,18 *

Примітки:

* – p<0,05 у порівнянні з даними відповідної півкулі інтактних щурів;

** – p<0,05 у порівнянні з даними контрлатеральної півкулі.

При дослідженні стану АО системи в умовах відтворення 55-денної гіпермелатонінемії (див. табл. 4.5) також відмічається зниження активності каталази - на 22,0% (p<0,01). Активність СОД вірогідних змін не зазнає.

Таблиця 4.5

Стан прооксидантно-антиоксидантної системи головного мозку при хронічній (55 діб) гіпермелатонінемії (M±m, n=10)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Гіпермелатонінемія (55 діб)
1	2	3

Продовження табл. 4.5

1	2	3
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг		
до інкубації	30,9±6,1	28,0±2,9
після інкубації	43,2±4,82	46,9±4,1
приріст	12,3±1,4	13,8±1,2
СОД, ум.од.	0,52±0,04	0,48±0,06
Каталаза, мккатал/кг	5,22±0,19	4,07±0,25*

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

Таким чином: 1) в умовах екзогенного призначення білим щурам мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 10-ти, 30-ти та 55-ти діб істотних змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу не виявляється. Зменшення активності каталази у цей термін не призводить до суттєвих порушень антиоксидантного потенціалу;

2) виявлено відмінності в чутливості антиоксидантної системи півкуль головного мозку до гіпермелатонінемії: тканини правої півкулі виявляються більш резистентними до 30-денного призначення мелатоніну за показниками активності каталази, ніж лівої.

4.3. Характеристика поведінкових реакцій щурів у тесті «відкрите поле» в умовах експериментальної гіпермелатонінемії

Вплив експериментальної гіпермелатонінемії на поведінкові реакції щурів вивчали у тесті «відкрите поле» на 10, 30 та 55 добу експерименту. Отримані дані представлені в таблиці 4.6.

Як видно з даних, представлених в таблиці 4.6, відтворення експериментальної гіпермелатонінемії вірогідно збільшило тривалість латентного періоду у тварин, як в гострій (10 діб), так і в хронічній фазах (30 діб – проміжний період спостереження).

Таблиця 4.6

Вплив відтворення експериментальної гіпермелатонінемії на поведінкові реакції щурів у тесті «відкрите поле» (M±m, n=20)

Доба досліду	Латентний період, с	Периферичний квадрат, кількість відвідувань	Внутрішній квадрат, кількість відвідувань	Дефекація, число актів	Піднімання на задні лапи, число актів	Грумінг, число актів
Фоновий нейроетологічний портрет						
	0,8 ± 0,05	79,1 ± 1,3	18,1 ± 1,3	1,8 ± 0,3	10,5 ± 2,8	3,8 ± 0,9
Дослідна група (гіпермелатонінемія)						
10	1,3 ± 0,2*	15,0 ± 1,1*	6,0 ± 0,6*	1,2 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,9 ± 0,3*
30	1,6 ± 0,2*	19,5 ± 2,6*	11,9 ± 1,8*	1,3 ± 0,3	2,2 ± 0,2*	2,1 ± 0,1*
55	0,7 ± 0,03	77,9 ± 2,0	17,0 ± 1,3	1,7 ± 0,2	9,1 ± 0,3	3,4 ± 0,2

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними фонового нейроетологічного портрету щурів.

Частота дефекації знизилась тільки на 10 добу експерименту ($p<0,05$), в період хронічної фази (30 та 55 доба) вона не відрізнялась від такої у інтактних тварин. Однак різко знизилась вертикальна і горизонтальна активність як у гострій (10 діб), так і в хронічній фазах (30 діб – проміжний період спостереження) ($p<0,05$). Грумінг також продемонстрував зниження як в фазу гострої, так і в фазу хронічної гіпермелатонінемії до 30-ї доби спостереження. На 55 добу (кінцевий період спостереження) досліджувані показники експериментальних тварин практично не відрізнялись від аналогічних у інтактних тварин.

Таким чином, відтворення експериментальної гіпермелатонінемії викликало зниження загальної активності в період до 30-ї доби спостереження, що може розглядатися як загальмованість діяльності центральної нервової системи – збільшився латентний період, різко знизилась вертикальна і горизонтальна пошукова активність. Однак на 55 добу спостереження вивчаємі показники повернулись до нормальних значень, що може свідчити про адаптацію організму тварин до впливу надлишку екзогенного мелатоніну.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Цебржинський О.І. Особливості проходження тесту "відкрите поле" щурами, що мали гіпер- та гіпомелатонінемії / О.І. Цебржинський, Ю.Д. Френкель // Світ медицини та біології. – 2006. - №3. – С. 47-52.

2. Френкель Ю.Д. Влияние недостатка и избытка мелатонина на некоторые параметры мозга крыс / Ю.Д. Френкель, О.И. Цебржинский // Вісн. Луганського нац. пед. ун-ту ім. Т. Шевченка : Біологічні науки. Зб. наук. праць. – Луганськ, 2006. – № 13 (108). – С. 127–132.

3. Френкель Ю.Д. Прооксидантно-антиоксидантная система головного мозга крыс при гипо- и гипермелатонинемиях / Ю.Д. Френкель, О.И. Цебржинский // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, фармакологии и медицине : Сб. ст. Т. 1 / под ред. А.П. Кудинова, Б.В. Крылова. – СПб., 2011. – С. 203-208.

4. Френкель Ю.Д. Оценка поведенческих реакций лабораторных крыс в тесте «открытое поле» при воспроизведении экспер311метальной гипер- и гипомелатонинемии / Ю.Д. Френкель // Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины : сб. науч. ст. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – Вып. 4. – С. 306-310.

5. Органные особенности хронических гипермелатонинемий и гипомелатонинемий / Е. И. Антонова, Н. А. Дмитренко, С.В. Семенчук, Ю.Д.

Френкель, Л. Д. Чеботарь, О.И. Цебржинский // Актуальные проблемы права, экономики и управления : Сб. научн. работ. – Иркутск, 2007. – Т. II, Вып. III. – С. 324–326.

6. Френкель Ю.Д. Прояви гіпермелатонінемії у мозку / Ю.Д. Френкель // Наукові праці : наук.-метод. журнал. Сер. Екологія – 2008. – Т. 78., Вип. 65. - Миколаїв. держ. гуманіт. ун-т ім. Петра Могили. – Миколаїв, 2008. – С. 27–29.

7. Влияние избытка мелатонина на состояние прооксидантно-антиоксидантной системі / С.В. Семенчук, Е.Н. Ларичева, О.А. Цвях, Л.Д. Чеботарь, Ю.Д. Френкель, Н. А. Дмитренко, Е.И. Антонова, О.И. Цебржинский // Вісник стоматології. - 2010. - № 5 (73). – С. 40.

8. Визначення кількості та джерел супероксиду в органах щурів при гіпо- та гіпермелатонінеміях / Я.В. Анасевич, М.Ш. Гільмутдинова, К.М. Зварич, Д.В. Зубрик, М.І. Косенко, Г.М. Космачова, О.М. Ларичева, Ю.Д. Френкель, О.І. Цебржинський // X Міжнародні новорічні читання : зб. наук. праць. Вип. 10. – Миколаїв, 2010. – С. 137-141.

РОЗДІЛ 5
РОЛЬ NO-СИНТАЗ У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В УМОВАХ ХРОНІЧНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ

5.1. Вплив інгібіторів і субстрату NOS на показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

В останні роки досить інтенсивно досліджується участь NO у патогенезі розладів нервової системи. Експериментальні та клінічні роботи доводять, що за фізіологічних умов NO є унікальним модулятором багатьох фізіологічних процесів [80]. У той же час NO відомий як потужний цитотоксичний чинник [91, 119].

Відмінності у ефектах NO значною мірою пов’язані з джерелами його утворення. У головному мозку ця молекула продукується за участю конститутивних NOS (eNOS, nNOS, mtNOS), iNOS та у нітритредуктазних реакціях [119].

Відомо, що мелатонін виявляє здатність пригнічувати iNOS [308] та збільшувати активність nNOS [281]. Проте роль констутивних і індуцибельної NOS в умовах розвитку гіпомелатонінемії залишається нез’ясованою.

Ми дослідили вплив інгібіторів nNOS, iNOS та субстрату NO-синтазної реакції L-аргініну на сумарну активність NO-синтаз та концентрацію нітрит-йонів у тканині головного мозку в умовах хронічної гіпомелатонінемії (таблиця 5.1).

При введенні селективного інгібітора nNOS 7-NI на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 55-ти активність NOS та концентрація нітрит-йонів у тканині головного мозку достовірно не змінюються у порівнянні з даними першої та другої серій.

Таблиця 5.1

Вплив інгібіторів і субстрату NOS на показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=25)

Показники	Серії дослідів				
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)			
		Контроль	+ 7-NI	+ аміно-гуанідин	+ L-аргінін
NOS, мкмоль NO_2^-/г·хв.	4,17 ±0,14	4,97 ±0,17 *	4,47 ±0,21	4,08 ±0,22 **	4,69 ±0,27
Вміст NO_2^-, мкмоль/г	0,179 ±0,006	0,211 ±0,007*	0,190 ±0,008	0,159 ±0,01**	0,194 ±0,012

Примітки (у табл. 5.1-5.5):

1) * – p<0,05 у порівнянні з даними інтактних щурів;

2) ** – p<0,05 у порівнянні з даними другої серії.

Очевидно, за цих умов головний внесок у сумарну активність NOS у тканині головного мозку пов'язаний з функціонуванням iNOS.

Введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти діб супроводжується істотним зменшенням сумарної активності NOS, яка на 17,9% (p<0,02) поступається даним другої серії. Концентрація нітрит-йонів також знижується - на 24,6% (p<0,01) поступається результату другої серії.

Введення субстрату NO-синтазної реакції L-аргініну на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти не призводить до достовірних змін активності NOS та концентрації нітрит-йонів у тканині головного мозку.

Таким чином, отримані нами дані підтверджують на той факт, що в умовах хронічної гіпомелатонінемії активність сумарної NOS підвищується саме за рахунок iNOS. Додаткове надходження L-аргініну суттєво не впливає на активність NOS.

5.2. Вплив інгібіторів і субстрату NOS на показники продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Раніше було показано, що активність різних ізоформ NOS неоднозначно впливає на продукцію АФК [76]. Виявлена здатність NOS (iNOS, nNOS та eNOS) в умовах дефіциту L-аргініну чи тетрагідробіоптерину утворювати $\cdot O_2^-$ через роз'єднання переносу електронів в електронно-транспортних системах NOS (кисень стає єдиним акцептором електронів, що призводить до утворення АФК) [210, 241, 279].

Ми дослідили вплив інгібіторів NOS і її субстрату L-аргініну на показники продукції $\cdot O_2^-$ в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2

Вплив інгібіторів і субстрату NOS на показники продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=25)

Показники	Серії дослідів				
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)			
		Контроль	+ 7-NI	+ аміно-гуанідин	+ L-аргінін
1	2	3	4	5	6
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с мікросомаль-ним ЕТЛ	11,75 ±0,80	18,02 ±0,88*	18,52 ±1,34*	15,04 ±0,93 */**	17,62 ±1,57*

Продовження табл. 5.2

1	2	3	4	5	6
мітохондріаль-ним ЕТЛ	9,17 ±1,21	18,62 ±0,98*	22,41 ±0,56 */**	11,42 ±0,95**	16,02 ±1,38*
НАДФН-оксидазою лейкоцитів	1,17 ±0,08	1,74 ±0,08*	1,94 ±0,17*	1,49 ±0,07 */**	1,71 ±0,15*

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 55-ти діб підвищує продукцію у тканині головного мозку $^{\cdot}O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ – відповідно в 2,4 рази (p<0,001) та 20,4% (p<0,01) у порівнянні з даними першої та другої серій.

Проте внесення 7-NI не призводить до достовірних змін вироблення $^{\cdot}O_2^-$ НАДФН-оксидазними системами мікросом і лейкоцитів.

Введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб обмежує продукцію $^{\cdot}O_2^-$ у тканині головного мозку щурів мікросомальним ЕТЛ – на 16,5% (p<0,05), мітохондріальним ЕТЛ – на 38,7% (p<0,001), НАДФН-оксидазним комплексом лейкоцитів – на 14,4% (p<0,05) у порівнянні з даними другої серії.

Отримані нами дані вказують на той факт, що продукція $^{\cdot}O_2^-$ мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії пов’язана з функціональною активністю iNOS.

Введення L-аргініну на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб достовірно не впливає на вироблення $^{\cdot}O_2^-$ зазначеними ЕТЛ у тканині головного мозку щурів у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, 1) гіперпродукція супероксидного аніон-радикала у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії пов’язана з активністю iNOS. Застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину обмежує вироблення $\cdot O_2^-$ мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів;

2) функціонування nNOS обмежує рівень утворення супероксидного аніон-радикала мітохондріальним ЕТЛ у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії. Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за цих умов значно підвищує продукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним ЕТЛ;

3) внесення L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії суттєво не впливає на вироблення супероксидного аніон-радикала мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів.

5.3. Вплив інгібіторів і субстрату NOS на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Більшість авторів пов’язує небажану дію NO на нервову тканину з синтезом значної його кількості внаслідок активації iNOS [119]. Інші NO-синтази (eNOS, nNOS) також можуть продукувати NO із значною цитотоксичністю [80].

Уявлення про неоднозначну роль NO у розвитку нейродеструкції (“NO-парадокс”) ґрунтуються на результатах, отриманих на різних експериментальних моделях, у т.ч. у дослідах на тваринах з нокаутом гена iNOS [119].

Так, NO здатний брати участь у ланцюгових вільнорадикальних процесах, в ході яких поряд з продовженням і обривом ланцюгів можуть здійснюватися і елементарні реакції розмноження активних центрів [110].

Володіючи високою реакційною здатністю, NO може як активувати ланцюгові вільнорадикальні реакції, так і пригнічувати їх. Наприклад, у реакції NO з $\cdot O_2^-$ утворюється високоактивна прооксидантна сполука – пероксинітрит, який приєднуючи протон, розпадається протягом секунди, надаючи сильний окисний вплив на різні внутрішньоклітинні мішені [299].

З іншого боку, в дослідах in vitro показано, що NO здатний сповільнювати ПОЛ, діючи як скевенджер кисневих радикалів [219]. Одним з механізмів АО дії NO є зв'язування вільних йонів заліза у складі нітрозильних комплексів [41, 157, 158]. При цьому пригнічуються реакції ПОЛ, які каталізуються редокс-активними йонами заліза. Цей процес пригнічується також завдяки взаємодії NO з алкілпероксильними й алкоксильними радикалами. NO може захищати інші біологічні молекули від окисної модифікації, шляхом нітрозилювання гему та відновлення оксоферилформ гемопротеїдів.

Ми дослідили вплив селективних інгібіторів nNOS та iNOS, а також субстрату NOS L-аргініну на зміни концентрації вторинних продуктів ПОЛ ТБК-реактантів при інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (таблиця 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив інгібіторів і субстрату NOS на зміни концентрації ТБК-реактантів при інкубації гомогенату головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=25)

Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг	Серії дослідів				
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)			
		Контроль	+ 7-NI	+ аміно-гуанідин	+ L-аргінін
1	2	3	4	5	6

Продовження табл. 5.3

1	2	3	4	5	6
до інкубації	30,9 ±6,1	61,8 ±0,6*	66,8 ±1,2 */**	51,2 ±1,6 */**	55,8 ±1,7 */**
після інкубації	43,2 ±4,82	86,0 ±0,4*	93,4 ±1,1 */**	71,0 ±1,4 */**	79,6 ±1,4 */**
приріст	12,3 ±1,4	24,2 ±0,1*	26,6 ±0,3 */**	19,8 ±0,4 */**	23,8 ±0,4 *

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 55-ти діб підвищує у тканині мозку концентрацію ТБК-реактантів до інкубації – на 8,1% ($p<0,01$), після інкубації – на 8,6% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії. Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також збільшується (на 9,9%, $p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії.

Отримані нами дані вказують на той факт, що в умовах експерименту функціональна активність nNOS у тканині мозку обмежує процес активації ПОЛ та підтримує АО потенціал.

Внесення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) щурів протягом 55-ти діб, навпаки, знижує концентрацію ТБК-реактантів до інкубації – на 17,2% ($p<0,001$), після інкубації – на 17,4% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії. Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також зменшується (на 18,2%, $p<0,001$) у порівнянні з результатом другої серії.

Ці результати свідчать, що реакції ПОЛ у тканині великих півкуль головного мозку також залежать від функціональної активності iNOS.

Введення L-аргініну на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти діб знижує концентрацію ТБК-реактантів до інкубації – на 9,7% ($p<0{,}02$), після інкубації – на 7,4% ($p<0{,}01$) у порівнянні з даними другої серії. Проте приріст концентрації ТБК-реактантів у залізоаскорбатному буферному розчині при цьому достовірно не змінюється.

У таблиці 5.4 наведено дані щодо впливу інгібіторів NOS та L-аргініну на зміни активності АО ферментів у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії.

Таблиця 5.4

Вплив інгібіторів і субстрату NOS на зміни активності антиоксидантних ферментів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=25)

Назва ферменту	Серії дослідів				
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)			
		Контроль	+ 7-NI	+ аміно-гуанідин	+ L-аргінін
СОД, од. акт.	0,52 ±0,04	0,24 ±0,02*	0,15 ±0,03 */**	0,38 ±0,05**	0,27 ±0,05*
Каталаза, мккатал/кг	5,22 ±0,19	3,28 ±0,17*	3,02 ±0,23*	4,58 ±0,17 */**	4,07 ±0,19 */**

Введення 7-NI на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб достовірно знижує у тканині головного мозку щурів активність СОД – на 37,5% ($p<0{,}05$) у порівнянні з даними другої серії, але суттєво не впливає на активність каталази.

Внесення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину в умовах експерименту підвищує у тканині мозку активність СОД – на 58,3% ($p<0{,}05$), каталази – на 39,6% ($p<0{,}001$) у порівнянні з даними другої серії.

Введення L-аргініну на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти діб підвищує у тканині мозку активність каталази – на 24,1% ($p<0,02$) у порівнянні з даними другої серії, але суттєво не впливає на активність СОД.

Таким чином, 1) в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування nNOS обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів у тканині великих півкуль головного мозку щурів (застосування селективного інгібітора nNOS 7-нітроіндазолу сприяє активації цього процесу, пригнічує антиоксидантний потенціал, знижує активність СОД);

2) в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування iNOS викликає активацію пероксидного окиснення ліпідів у тканині великих півкуль головного мозку, що супроводжується зниженням антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази (застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину обмежує вказані порушення);

3) застосування L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів, підвищує активність каталази у тканині великих півкуль головного мозку.

5.4. Вплив інгібіторів і субстрату NOS на зміни енергетичного обміну в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Велика кількість досліджень виявляє неоднозначну дію NO на біоенергетичні процеси. Показано, що NO викликає пригнічення у клітинах активності ферментів циклу трикарбонових кислот – аконітази (аконітат-гідротази), дихального ланцюга мітохондрій – НАДН-убіхінон-оксидоредуктази (1-й МФК) і сукцинат-убіхіноноксидоредуктази (2-й МФК), анаеробного гліколіза гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази [232, 253, 297].

У той же час у літературі наводяться дані щодо стимулюючої дії незначних кількостей NO на мітохондріальне окиснення та фосфорилювання АДФ у тканині мозочка [132]. Повідомляється, що активність нейрональної та індуцибельної NO-синтаз призводить до різноспрямованих змін біоенергетичних процесів у тканинах в умовах дії стресорів різної природи [76].

У таблиці 5.5 наведено дані щодо впливу інгібіторів NOS та L-аргініну на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії.

Таблиця 5.5

Вплив інгібіторів і субстрату NOS на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=25)

Показники	Серії дослідів				
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)			
		Контроль	+ 7-NI	+ аміно-гуанідин	+ L-аргінін
АТФ, мкмоль/г	2,71 ±0,07	1,69 ±0,06*	1,48 ±0,04 */**	2,55 ±0,07**	1,92 ±0,07 */**
АДФ, мкмоль/г	0,45 ±0,03	0,28 ±0,03*	0,25 ±0,02*	0,42 ±0,03**	0,32 ±0,03*
АМФ, мкмоль/г	0,19 ±0,01	1,38 ±0,15*	1,80 ±0,14*	0,44 ±0,03 */**	1,24 ±0,11*
Сума аденіннуклеотидів, мкмоль/г	3,35 ±0,21	3,35 ±0,36	3,53 ±0,28	3,41 ±0,24	3,48 ±0,32
Енергетичний потенціал	0,874 ±0,015	0,546 ±0,013*	0,454 ±0,110*	0,809 ±0,015 */**	0,596 ±0,014 */**

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб знижує у тканині головного мозку концентрацію АТФ – на 12,4% ($p<0,02$) у порівнянні з даними другої серії. Проте вміст інших аденіннуклеотидів та енергетичний потенціал достовірно не змінюються.

Введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину в умовах експерименту достовірно підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та АДФ – відповідно на 50,9% ($p<0,001$) та 50,0% ($p<0,02$) у порівнянні з даними другої серії. Вміст АМФ – істотно зменшується – на 68,1% ($p<0,001$) у порівнянні з результатом другої серії. Енергетичний потенціал – підвищується – до 0,809±0,015, тобто та 48,2% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії.

Отримані за цих умов результати свідчать, що пригнічення iNOS в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії суттєво підвищує у тканині головного мозку щурів процеси утворення макроергічних сполук.

Внесення L-аргініну на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб також підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та енергетичний потенціал – відповідно на 13,6% ($p<0,05$) та 9,2% ($p<0,05$) у порівнянні з даними другої серії. Вміст інших аденіннуклеотидів достовірно не змінюється.

Таким чином, 1) NO-синтазний механізм утворення оксиду азоту залучений у механізми розвитку біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії;

2) в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування nNOS обмежує розвиток біоенергетичної недостатності головного мозку (застосування селективного інгібітора nNOS 7-нітроіндазолу сприяє зниженню АТФ у тканині великих півкуль);

3) основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку щурів в

умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії забезпечує індуцибельна ізоформа NO-синтази (застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину попереджує істотне зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу);

4) застосування L-аргініну обмежує в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії зниження АТФ та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Френкель Ю.Д. Роль NO-синтаз у механізмах порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, №2. – С. 162–165.

2. Френкель Ю.Д. Роль NO-синтаз у механізмах порушень біоенергетичних процесів у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель, // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, №1. – С. 109–112.

3. Френкель Ю.Д. Роль NO-синтаз та NF-кВ у механізмах порушень окиснювального метаболізму в тканині головного мозку за умов експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель, О.І. Цебржинський // Бюл. XIII чтений им. В.В. Подвысоцкого; 19-20 июня 2014 г. – Одесса, 2014. - С. 260-261.

РОЗДІЛ 6
РОЛЬ NF-κB У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В УМОВАХ ХРОНІЧНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ

6.1. Вплив інгібітора NF-κB JSH-23 на показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Транскрипційний ядерний фактор κB (NF-κB) експресується практично у всіх клітинах організму, в т.ч. нейронах і гліоцитах головного мозку, та бере участь у багатьох фізіологічних і патологічних процесах, регулюючи транскрипцію більш ніж 150 генів [36, 54, 247], у т.ч. iNOS [311].

Роль ядерного фактора κB у механізмах порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії ми досліджували шляхом введення тваринам інгібітора активації NF-κB II - JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміна). Останній перешкоджає ядерній транслокації NF-κB, пригнічує транскрипцію без порушення процесу деградації IκB [230].

У таблиці 6.1 наведено дані щодо впливу інгібітора активації NF-κB II (JSH-23) на сумарну активність NOS та концентрацію нітрит-йонів у тканині головного мозку в умовах хронічної гіпомелатонінемії.

Введення JSH-23 на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти супроводжується істотним зменшенням сумарної активності NOS, яка на 12,1% ($p<0,05$) поступається даним другої серії. Це може бути пов’язано зі здатністю NF-κB регулювати транскрипцію iNOS [287, 309].

Концентрація нітрит-йонів також знижується - на 16,6% ($p<0,01$) поступається результату другої серії.

Таблиця 6.1

Вплив інгібітора NF-кB JSH-23 на показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ JSH-23
NOS, мкмоль NO_2^-/г·хв.	4,17 ±0,14	4,97 ±0,17 *	4,37 ±0,14**
Вміст NO_2^-, мкмоль/г	0,179 ±0,006	0,211 ±0,007*	0,176 ±0,006**

Примітки (у табл. 6.1-6.5):

1) * – p<0,05 у порівнянні з даними інтактних щурів;

2) ** – p<0,05 у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, отримані нами дані підтверджують той факт, що в умовах хронічної гіпомелатонінемії NF-кB впливає на активність NOS. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-кB JSH-23 знижує величину цього показника, зменшує концентрацію продуктів окиснення NO – нітрит-йонів.

6.2. Вплив інгібітора NF-кB JSH-23 на показники продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Відомо, що ядерна транслокація NF-кB є важливою ланкою ініціації окиснювального стресу через можливість активації генів, що кодують ферменти, котрі безпосередньо, або опосередковано беруть участь у продукції АФК, у т.ч. через залежні від iNOS реакції [200, 305]. У той же час показана здатність NF-κB індукувати продукцію деяких АО ферметів (Mn-СОД) [178, 247, 280, 264].

Ми дослідили вплив інгібітора активації NF-κB II (JSH-23) на показники продукції $\cdot O_2^-$ в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (таблиця 6.2).

Таблиця 6.2

Вплив інгібітора NF-κB JSH-23 на показники продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ JSH-23
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с			
мікросомальним ЕТЛ	11,75 ±0,80	18,02 ±0,88*	17,02 ±1,38*
мітохондріальним ЕТЛ	9,17 ±1,21	18,62 ±0,98*	11,14 ±0,78**
НАДФН-оксидазою лейкоцитів	1,17 ±0,08	1,74 ±0,08*	1,45 ±0,07*/**

Введення JSH-23 на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб обмежує продукцію $\cdot O_2^-$ у тканині головного мозку щурів мітохондріальним ЕТЛ – на 40,2% (p<0,001), НАДФН-оксидазним комплексом лейкоцитів – на 16,7% (p<0,05) у порівнянні з даними другої серії. Проте внесення JSH-23 не призводить до достовірних змін вироблення $\cdot O_2^-$ мікросомальним ЕТЛ.

Отримані нами дані вказують на той факт, що продукція $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії пов’язана з активацією NF-κB.

6.3. Вплив інгібітора NF-κB JSH-23 на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Ми дослідили вплив інгібітора активації NF-κB II (JSH-23) на зміни концентрації вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-реактантів – при інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (таблиця 6.3).

Таблиця 6.3

Вплив інгібітора NF-κB JSH-23 на зміни концентрації ТБК-реактантів при інкубації гомогенату головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ JSH-23
до інкубації	30,9±6,1	61,8±0,6*	47,8±2,1 */**
після інкубації	43,2±4,82	86,0±0,4*	66,1±1,8 */**
приріст	12,3±1,4	24,2±0,1*	18,3±0,5 */**

Введення JSH-23 на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) щурів протягом 55-ти діб знижує концентрацію ТБК-реактантів до інкубації – на 22,7% ($p<0,001$), після інкубації – на 23,1% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії. Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також зменшується (на

24,4%, p<0,001) у порівнянні з даними другої серії, що вказує на підвищення АО потенціалу.

Ці результати свідчать, що реакції ПОЛ у тканині великих півкуль головного мозку також залежать від активації NF-κB.

У таблиці 6.4 наведено дані щодо впливу інгібітора активації NF-κB II (JSH-23) на зміни активності АО ферментів у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії.

Таблиця 6.4

Вплив інгібітора NF-κB JSH-23 на зміни активності антиоксидантних ферментів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ JSH-23
СОД, од. акт.	0,52±0,04	0,24±0,02*	0,38±0,02 */**
Каталаза, мккатал/кг	5,22±0,19	3,28±0,17*	4,73±0,16**

Внесення JSH-23 в умовах експерименту підвищує у тканині мозку активність СОД – на 58,3% (p<0,01), каталази – на 44,2% (p<0,001) у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування NF-κB викликає активацію пероксидного окиснення ліпідів у тканині великих півкуль головного мозку, що супроводжується зниженням антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази та каталази. Ці зміни коригуються введенням інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23.

6.4. Вплив інгібітора NF-κB JSH-23 на зміни енергетичного обміну в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Відомості щодо впливу NF-κB на стан енергетичного обміну досить суперечливі. В останні роки було показано, що NF-κB є важливим чинником, що бере участь у регуляції процесів гліколізу та окиснювального фосфорилювання [305]. Показано, що NF-κB та IκB-α (але не IκB-β) локалізуються у мітохондріях. NF-κB може негативно регулювати експресію мітохондріальної мРНК, що кодує цитохром с та цитохромоксидазу [184].

Підвищена активність NF-κB у мишей лінії db/db супроводжується змінами морфологічного стану мітохондрій (їх набуханням та ушкодженням, появою великої кількості везикулярних крист з розривами мембрани), зниженням активності МФК-ІІІ, істотним зниженням рівню АТФ та співвідношення АТФ/АДФ [246].

У таблиці 6.5 наведено дані щодо впливу інгібітора активації NF-κB II (JSH-23) на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії.

Введення JSH-23 в умовах експерименту достовірно підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та АДФ – відповідно на 58,0% ($p<0,001$) та 71,4% ($p<0,01$) у порівнянні з даними другої серії. Вміст АМФ – істотно зменшується – на 85,5% ($p<0,001$) у порівнянні з результатом другої серії. Енергетичний потенціал – підвищується – до 0,868±0,013, тобто на 59,0% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії.

Отримані за цих умов результати свідчать, що порушення ядерної транслокації NF-κB в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії супроводжується суттєвим підвищенням у тканині головного мозку щурів процесів утворення макроергічних сполук.

Таблиця 6.5

Вплив інгібітора NF-кВ JSH-23 на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ JSH-23
АТФ, мкмоль/г	2,71±0,07	1,69±0,06*	2,67±0,06**
АДФ, мкмоль/г	0,45±0,03	0,28±0,03*	0,48±0,03**
АМФ, мкмоль/г	0,19 ±0,01	1,38 ±0,15*	0,20 ±0,01 **
Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г	3,35 ±0,21	3,35 ±0,36	3,35 ±0,21
Енергетичний потенціал	0,874 ±0,015	0,546 ±0,013*	0,868 ±0,013 **

Таким чином, активація NF-кВ залучена у механізми розвитку біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-кВ JSH-23 попереджує істотне зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Френкель Ю.Д. Роль транскрипционного ядерного фактора кВ в механизмах нарушений окислительного метаболизма в головном мозге крыс при хронической гипомелатонинемии / Ю.Д. Френкель, В.С. Черно // Georgian Medical News. - 2014. - №7-8. – С. 99-102.

2. Френкель Ю.Д. Роль NO-синтаз та NF-кВ у механізмах порушень окиснювального метаболізму в тканині головного мозку за умов

експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель, О.І. Цебржинський // Бюл. XIII чтений им. В.В. Подвысоцкого; 19-20 июня 2014 г. – Одесса, 2014. - С. 260-261.

РОЗДІЛ 7
РОЛЬ ПЕРОКСИНІТРИТУ В МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В УМОВАХ ХРОНІЧНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ

7.1. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Підвищення утворення у тканині мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії $^{\cdot}O_2^{-}$ та NO за участю iNOS створює передумови для утворення високотоксичного пероксинітриту ($^{\cdot}ONOO^{-}$). Останній розпадається на $^{\cdot}OH$ і NO_2, справляє суттєву шкідливу дію на різні біомолекули та біомембрани [218, 299].

Патогенні ефекти пероксинітриту пов’язані з нітруванням та нітрозуванням біополімерів [22], утворенням нітрозотіолів, у тому числі нітрозотіолів гомоцистеїну. Частина цих продуктів призводить до підсилення оксидативного стресу та згортання крові, тромбоутворення. В умовах прогресуючого оксидативного стрессу за рахунок генерації АФК частіше спостерігається зниження активності конститутивних NOS [119].

Ми дослідили вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на сумарну активність NOS та концентрацію нітрит-йонів у тканині головного мозку в умовах хронічної гіпомелатонінемії (табл. 7.1).

Введення L-селенометіоніну на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти діб суттєво не позначається на величинах сумарної активності NOS та концентрації нітрит-йонів у тканині великих півкуль головного мозку у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 7.1

Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на показники NO-ергічної системи головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ L-селенометіонін
NOS, мкмоль NO_2^-/г·хв.	4,17 ±0,14	4,97 ±0,17 *	4,71 ±0,18*
Вміст NO_2^-, мкмоль/г	0,179 ±0,006	0,211 ±0,007*	0,193 ±0,008

Примітки (у табл. 7.1-7.5):

1) * – p<0,05 у порівнянні з даними інтактних щурів;

2) ** – p<0,05 у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, активність NOS та концентрація продуктів окиснення NO – нітритів - у тканині головного мозку не залежить від утворення пероксинітриту в умовах хронічної гіпомелатонінемії.

7.2. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на показники продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Відома здатність пероксинітриту справляти сильний окисний вплив на різні внутрішньоклітинні мішені, а також розкладатися з утворенням надзвичайно активного •OH, який викликає деструкцію практично всіх компонентів клітини [218, 299]. Крім того, пероксинітрит може впливати на утворення $\cdot O_2^-$, підтримуючи тим самим своєрідне «порочне» коло [134].

Ми дослідили вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на продукцію $\cdot O_2^-$ мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазним комплексом лейкоцитів у тканині головного мозку в умовах хронічної гіпомелатонінемії (табл. 7.2).

Таблиця 7.2

Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на показники продукції супероксидного аніон-радикала в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

(M±m, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ L-селенометіонін
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с			
мікросомальним ЕТЛ	11,75 ±0,80	18,02 ±0,88*	17,77 ±1,65*
мітохондріальним ЕТЛ	9,17 ±1,21	18,62 ±0,98*	11,92 ±0,82**
НАДФН-оксидазою лейкоцитів	1,17 ±0,08	1,74 ±0,08*	1,65 ±0,14*

Введення L-селенометіоніну на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб істотно обмежує продукцію $\cdot O_2^-$ у тканині головного мозку щурів мітохондріальним ЕТЛ – на 36,0% (p<0,001) у порівнянні з даними другої серії. Проте внесення цього скевенджеру пероксинітриту не призводить до достовірних змін вироблення $\cdot O_2^-$ НАДФН-оксидазами мікросом і лейкоцитів.

Отримані дані вказують на той факт, що збільшення продукції $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії є пероксинітрит-залежним процесом.

7.3. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Відома здатність пероксинітриту окиснювати NH- і SH-групи білків, ДНК, інактивувати низку ферментів (α_1-інгібітор протеїназ, тканинний інгібітор металопротеїназ, СОД тощо) [299]. У реакції з йонами металів, що входять до складу СОД, пероксинітрит викликає утворення високотоксичного йона нітрозонія, який, у свою чергу, утворює нітрофеноли з подальшим ушкодженням цитоплазматичних рецепторів [179]. Пероксинітрит також утворює тіїльні радикали глутатіону, в результаті чого останній перетворюється з антиоксиданту в прооксидант, який ініціює вільнорадикальні реакції.

Крім того, пероксинітрит може включати механізми вільнорадикального окиснення, пов’язані з активацією NF-κB, оскільки здатний активувати цей транскрипційний фактор через IκBα-залежне фосфорилювання [201].

Ми дослідили вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни концентрації вторинних продуктів ПОЛ ТБК-реактантів при інкубації гомогенату тканини великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (таблиця 7.3).

Введення L-селенометіоніну на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) щурів протягом 55-ти діб знижує концентрацію

ТБК-реактантів до інкубації – на 24,8% (р<0,01), після інкубації – на 22,6% (р<0,001) у порівнянні з даними другої серії. Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також зменшується (на 16,9%, р<0,001) у порівнянні з даними другої серії, що вказує на підвищення АО потенціалу.

Таблиця 7.3

Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни концентрації ТБК-реактантів при інкубації гомогенату тканин головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ L-селенометіонін
до інкубації	30,9 ±6,1	61,8 ±0,6*	46,5 ±3,2**
після інкубації	43,2 ±4,82	86,0 ±0,4*	66,6 ±2,64 */**
приріст	12,3 ±1,4	24,2 ±0,1*	20,1 ±0,8 */**

Ці результати свідчать, що активація реакцій ПОЛ у тканині великих півкуль головного мозку в значній мірі залежить від утворення пероксинітриту.

У таблиці 7.4 наведено дані щодо впливу скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни активності АО ферментів у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії.

Введення L-селенометіоніну в умовах експерименту підвищує у тканині мозку активність СОД – на 41,7% (p<0,01), каталази – на 45,4% (p<0,001) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 7.4

Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни активності антиоксидантних ферментів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (M±m, n=15)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ L-селенометіонін
СОД, од. акт.	0,52 ±0,04	0,24 ±0,02*	0,34 ±0,02 */**
Каталаза, мккатал/кг	5,22 ±0,19	3,28 ±0,17*	4,77 ±0,17 **

Таким чином, в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії з утворенням пероксинітриту пов'язана активація пероксидного окиснення ліпідів та пригнічення системи антиоксидантного захисту в тканині великих півкуль головного мозку, що супроводжується зниженням антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази та каталази. Ці зміни коригуються введенням скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну.

7.4. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни енергетичного обміну в тканині тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

Відома здатність пероксинітриту порушувати процеси енергетичного обміну у нейронах і гліальних клітинах [119]. Для цієї сполуки притаманна властивість інактивувати НАДН- та сукцинат-залежні МФК, руйнувати FeS-білки, нітрувати аконітазу, окиснювати тіолові групи аденіннуклеотидтранслокази та креатинкінази [299].

У таблиці 7.5 наведено дані щодо впливу скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії.

Таблиця 7.5

Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії

(M±m, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Гіпомелатонінемія (55 діб)	
		Контроль	+ L-селенометіонін
АТФ, мкмоль/г	2,71 ±0,07	1,69 ±0,06*	2,58 ±0,07**
АДФ, мкмоль/г	0,45 ±0,03	0,28 ±0,03*	0,44 ±0,03**
АМФ, мкмоль/г	0,19 ±0,01	1,38 ±0,15*	0,37 ±0,02 */**
Сума аденінну-клеотидів, мкмоль/г	3,35 ±0,21	3,35 ±0,36	3,39 ±0,23
Енергетичний потенціал	0,874 ±0,015	0,546 ±0,013*	0,824 ±0,015 */**

Введення L-селенометіоніну в умовах експерименту достовірно підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та АДФ – відповідно на 52,7% (p<0,001) та 57,1% (p<0,01) у порівнянні з даними другої серії.

Вміст АМФ – істотно зменшується – на 73,2% ($p<0,001$) у порівнянні з результатом другої серії. Енергетичний потенціал – підвищується – до 0,824±0,015, тобто на 50,9% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії.

Отримані за цих умов результати свідчать, що утворення пероксинітриту в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії суттєво впливає на стан біоенергетичних процесів у тканині головного мозку щурів.

Таким чином, механізм розвитку біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії є пероксинітрит-залежним. Введення скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну попереджує істотне зменшення вмісту макроергічних сполук та енергетичного потенціалу.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статті:

Френкель Ю.Д. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на окиснювальний метаболізм у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатонінемії / Ю.Д. Френкель // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т.8, №3. – С. 86-90.

РОЗДІЛ 8
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проблема хроноадаптації та хроноакліматизації людини набуває особливої актуальності в зв'язку зі збільшенням контингенту осіб, які за характером своєї діяльності досить часто змінюють своє місцеперебування (пілоти пасажирських авіаліній далекого сполучення, локомотивні бригади та провідники вагонів залізниці, водії вантажного та пасажирського транспорту дальніх рейсів, спортсмени, бізнесмени, туристи, вахтовики та ін.). Основним гормоном, який регулює біологічні ритми, вважається мелатонін, вироблення якого в організмі значною мірою залежить від рівня освітленості [146, 147].

У той же час мелатонін є досить активною метаболітотропною сполукою, виявляє антиоксидантну та антиапоптотичну активність [1, 9, 20, 26, 46, 112, 114], пригнічує iNOS [187, 256]. Тобто, при оцінці механізмів порушення енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного статусу у головному мозку щурів в умовах нестачі та надлишку мелатоніну доцільним є з'ясуваня ролі системи оксиду азоту та пов'язаних з нею регуляторних механізмів.

Відомо, що в умовах ушкодження головного мозку (ішемічного, ішемічно-реперфузійного, нейродегенеративних процесів) NO може справляти як руйнівну дію через його здатність ініціювати синтез нових вільнорадикальних сполук, що беруть участь у процесах ПОЛ, так і нейропротекторні ефекти, як регулятор багатьох внутрішньонейрональних процесів [80, 91, 93, 119].

Для відтворення гіпомелатонінемії білих щурів безперервно протягом 10 (короткочасна), 30 та 55 діб (хронічна) цілодобово освітлювали інтенсивністю 1500 люкс [146]. Запропонована експериментальна модель супроводжується зменшенням концентрації мелатоніну в крові < 10 пг/мл (при нормі – у середньому 28,5±2,2 пг/мл) [147].

Для моделювання гіпермелатонінемії тваринам інтрагастрально за допомогою спеціального зонду вводили мелатонін у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 10 (короткочасна), 30 та 55 діб (хронічна) [148]. Відтворення цієї моделі призводить до підвищення концентрації мелатоніну в крові > 35 пг/мл.

За нашими даними, моделювання гіпомелатонінемії супроводжується суттєвими змінами показників, що характеризують стан системи оксиду азоту у великих півкулях головного мозку. Це підтверджується прогресуючим збільшенням у них сумарної активності NOS (починаючи з 30 доби експерименту) та утворення продуктів окиснення NO - нітрит-йонів (на 55 добу експерименту).

Відомо, що мелатонін є досить потужним інгібітором NOS, особливо індуцибельної [187, 256], а при утворенні у головному мозку певних метаболітів (N1-ацетил-5-метоксикинураміну) і нейрональної [236].

Тобто недостатність цього гормону може супроводжуватися активацією NOS, особливо за наявності чинників, здатних індукувати iNOS (прозапальні цитокіни, АФК, бактеріальні антигени, ультрафіолетове опромінення, озон, нікотинова кислота, гормони, що діють на синтез цАМФ) [61].

Примітно, що в умовах гіпомелатонінемії дійсно підвищується продукція у великих півкулях головного мозку АФК.

Так, відтворення гіпомелатонінемії супроводжується прогресуючим збільшенням продукції $^{\cdot}O_2^-$ НАДФН-оксидазними комплексами мікросом та лейкоцитів (починаючи з 30 доби експерименту) та мітохондріальним ЕТЛ (на 55 добу експерименту).

З літературних джерел відомо, що мелатонін у концентрації понад 1 ммоль безпосередньо підвищує розпад $^{\cdot}O_2^-$ [195] Доведена здатність мелатоніну активувати СОД, зокрема, у фетальній тканині головного мозку [255]. Така дія цього гормону закономірно обмежує концентрацію $^{\cdot}O_2^-$ у тканинах, проте не пояснює механізм зміни генерації цього радикала НАДФН- та НАДН-залежними ЕТЛ.

Звертає на себе увагу той факт, що при відтворенні поміркованої гіпермелатонінемії (введення мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла щоденно) як короткочасної (протягом 10 діб), так і хронічної (протягом 30 та 55 діб) у тканині великих півкуль головного мозку вироблення $^{\cdot}O_2^-$ мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ, а також НАДФН-оксидазою лейкоцитів, достовірно не змінюється.

Це дає нам підставу з’ясувати участь різних ізоформ NOS, пероксинітриту та NF-кВ у механізмі гіперпродукції $^{\cdot}O_2^-$ в умовах гіпомелатонінемії.

При дослідженні впливу інгібіторів nNOS, iNOS та субстрату NO-синтазної реакції L-аргініну на сумарну активність NO-синтаз та концентрацію нітрит-йонів у тканині головного мозку в умовах хронічної гіпомелатонінемії нами показано, що за цих умов головний внесок у сумарну активність NOS пов’язаний з функціонуванням iNOS. Введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти супроводжується істотним зменшенням сумарної активності NOS та концентрації нітрит-йонів.

Проте введення субстрату NO-синтазної реакції L-аргініну за цих умов не призводить до достовірних змін активності NOS та концентрації нітрит-йонів у тканині головного мозку, що вказує на відсутність при цьому феномену «аргінінового парадоксу»

При оцінці рівня продукції АФК звертає на себе увагу той факт, що саме з активністю iNOS в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (55 діб) пов’язана надлишкова генерація $^{\cdot}O_2^-$. Так, застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину обмежує вироблення $^{\cdot}O_2^-$ мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів.

У той же час, функціонування nNOS в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (55 діб) обмежує рівень утворення $^{\cdot}O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ у тканині головного мозку щурів. Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за цих умов значно підвищує продукцію $^{\cdot}O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ.

Примітно, що, за нашими даними, функціонування nNOS має нейропротективну дію в умовах хронічної гіпомелатонінемії, пов'язану з обмеженням вироблення у тканині мозку $^{\cdot}O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ. Проте, відомо, що nNOS може відігравати першочергову роль при ішемії головного мозку [80]. NOS у мозку зосереджена в глутаматергічних гранулярних клітинах і ГАМК-ергічних корзинчастих клітинах мозочка, у нейронах кори мозку, де вона співлокалізована з соматостатином, нейропептидом Y чи ГАМК. Подібна картина виражена в стріатумі. У корі мозку і в смугастому тілі NOS-нейрони становлять 1-2 % від загальної популяції нервових клітин. Показано, що трансгенні миші, в яких відсутній ген, що кодує nNOS, виявляють стійкість до ішемії та реперфузії мозку [80].

Неоднозначну роль nNOS у залежності від часу гіпоксичного ураження відмічають і інші дослідники. Так, показано, що надлишкова продукція $^{\cdot}O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ при короткочастній (протягом 6 годин) гострій тонко-кишковій непрохідності пов'язана з функціонуванням iNOS, при тривалій (протягом 18 годин) – iNOS та nNOS [86].

Отримані нами результати співвідносяться з даними літератури щодо здатності фізіологічних концентрацій мелатоніну підвищувати експресію nNOS [281]. Тобто, в умовах гіпомелатонінемії активність цієї ізоформи NOS може знижуватися, а призначення селективного інгібітора nNOS обмежує вироблення NO цим ферментом ще більше, внаслідок чого виявляються тяжкі метаболічні розлади, у т.ч. пов'язані з надлишковою продукцією $^{\cdot}O_2^-$.

При наявності мелатоніну у високих концентраціях виявляється конкуренція цього гормону та nNOS за зв'язок з кальмодуліном, через що можливе пригнічення nNOS [281,236]

За нашими даними, в умовах гіпомелатонінемії першочергова роль у механізмі продукції у тканині головного мозку АФК належить iNOS. Відомо, що мелатонін здатний селективно пригнічувати цей фермент [187,256], а в умовах дефіциту гормону гальмівний контроль над iNOS втрачається, що, створює передумови для активації ферменту.

Проте внесення L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії суттєво не впливає на вироблення $\cdot O_2^-$ мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів.

Відомо, що збільшення експресії iNOS може бути пов'язано з активацією нуклеарного фактора кВ [311].

Для перевірки цього припущення ми застосували введення тваринам інгібітора активації NF-кВ II - JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміна), який перешкоджає ядерній транслокації NF-кВ, пригнічує транскрипцію без порушення процесу деградації IкВ [230].

За цих умов ми виявили достовірне зменшення концентрації сумарних NOS та концентрації продуктів окиснення NO – нітрит-йонів, що вказує на участь NF-кВ-сигналізації у експресії NOS у тканині головного мозку.

За нашими даними, продукція $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії пов'язана з активністю NF-кВ. Так, введення JSH-23 на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб обмежує продукцію $\cdot O_2^-$ у тканині головного мозку щурів мітохондріальним ЕТЛ та НАДФН-оксидазним комплексом лейкоцитів, але не призводить до достовірних змін вироблення $\cdot O_2^-$ мікросомальним ЕТЛ.

Підвищення у тканинах вироблення $\cdot O_2^-$ та NO (особливо через активацію iNOS) створює передумови для утворення високоактивної токсичної речовини – пероксинітриту [218,299].

Для оцінки пероксинітрит-залежних ефектів ми дослідили вплив його скевенджеру L-селенометіоніну на метаболічні процеси у тканині головного мозку в умовах хронічної гіпомелатонінемії.

Нами показано, що порушення продукції $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії є пероксинітрит-залежним. Так, введення L-селенометіоніну на тлі цілодобового освітлення щурів протягом 55-ти діб істотно обмежує продукцію $\cdot O_2^-$ у тканині головного мозку щурів мітохондріальним ЕТЛ, але не призводить до достовірних змін вироблення $\cdot O_2^-$ НАДФН-оксидазами мікросом і лейкоцитів.

Відомо, що дихальний ланцюг мітохондрій є надзвичайно чутливим до дії пероксинітриту, який здатний порушувати транспорт електронів на рівні НАДН-дегідрогеназного, сукцинатдегідрогеназного та цитохром с редуктазного МФК шляхом окиснення цистеїнових і метіонінових залишків білків, нітрування тирозину, ушкодження FeS кластерів [173, 260, 266]. Відомо, що продукція $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ пов’язана з одноелектронним відновленням кисню на рівні МФК І (НАДН - убіхіноноксидоредуктази), МФК ІІІ (убіхінонол - цитохром с оксидоредуктази) та цитохром b-c_1 комплексу [188].

Виявлене нами підвищення продукції АФК у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії закономірно позначається на інтенсивності процесу ПОЛ.

За нашими даними, відтворення гіпомелатонінемії шляхом цілодобового освітлення щурів інтенсивністю 1500 люкс супроводжується активацією декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів (на 55 добу експерименту). Це підтверджується підвищенням у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрації вторинних продуктів ПОЛ - ТБК-реактантів. При цьому, суттєве збільшення їхнього приросту за час 1,5-

годинної інкубації у залізо-аскорбатному буферному розчині свідчить про виснаження АО потенціалу, тобто декомпенсований характер ПОЛ.

Примітно, що достовірне зниженням активності антиоксидантних ферментів - СОД і каталази – починається вже на 10 добу досліду.

Аналізуючи зміни активності названих АО ферментів, варто згадати про їхнє життєво важливе значення у механізмах підтримання нормального рівня АФК – відповідно $\cdot O_2^-$ та пероксиду водню. Останній, порівняно з іншими АФК, є досить стабільною сполукою, що має невисоку реакційну здатність. Проте, на відміну від $\cdot O_2^-$, пероксид водню може проникати через клітинні мембрани і вступати в реакції з клітинними компонентами, досить віддаленими від місця синтезу. З іншого боку відомо, що підвищення концентрації H_2O_2 викликає низку реакцій у клітинах, таких як збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+}, зміни активності Са-АТФази, за рахунок окиснення її сульфгідрильних груп [143, 154].

Зменшення активності СОД у тканині головного мозку може бути пов'язане безпосередньо з дефіцитом мелатоніну, оскільки останній здатний стимулювати активність цього ферменту, у т.ч. у головному мозку [255, 258, 276].

Підтримка АО потенціалу при застосуванні мелатоніну также може бути пов'язана із впливом у головному мозку на ферменті системи глутатіону, зокрема глутатіонпероксидазу та глутатіонредуктазу [255].

Нами виявлено певні відмінності в чутливості антиоксидантної системи півкуль головного мозку до дефіциту мелатоніну: тканини правої півкулі виявляються більш резистентними до 30-денної дії світлового чинника за показниками активності АО ферментів (СОД і каталази), ніж лівої. Цьому може сприяти білатеральні відмінності метаболізму великих півкуль головного мозку, що полягають в основі його функціональної асиметрії [303].

У той же час, в умовах екзогенного призначення білим щурам мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 10-ти, 30-ти та 55-ти діб істотних змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу ми не виявили, за виключенням незначного зменшення активності каталази, що, вочевидь, не супроводжується суттєвими порушеннями антиоксидантного потенціалу. Але при цьому також спостерігаються певні відмінності в чутливості АО системи півкуль головного мозку до гіпомелатонінемії: тканини правої півкулі виявляються більш резистентними до 30-денного введення мелатоніну за показниками активності каталази, ніж лівої.

Відтворення хронічної експериментальної гіпомелатонінемії супроводжується досить істотними змінами ПОЛ та АО системи у тканині головного мозку, залежними від функціонального стану NOS.

Нами показано, що введення селективного інгібітора nNOS 7-NI на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) тварин протягом 55-ти діб підвищує у тканині мозку вміст ТБК-реактантів. При цьому збільшується приріст концентрації останніх за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, що вказує на зменшення АО потенціалу. Активність СОД за цих умов такоє знижується.

Внесення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину в умовах експерименту, навпаки, знижує концентрацію ТБК-реактантів та її приріст за час інкубації у прооксидантному буферному розчині, підвищує активність СОД у тканинах головного мозку.

Отримані результати свідчать про те, що в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування nNOS обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів у тканині великих півкуль головного мозку щурів та підвищує у них АО захист. Функціонування iNOS призводить до реалізації протилежних змін: викликає активацію ПОЛ у тканині великих півкуль головного мозку, що супроводжується зниженням АО потенціалу, активності СОД.

Неоднозначні ефекти NO, що виробляється nNOS та iNOS можуть бути пов’язаними з особливостями функціональної компартменталізації цих ізоферментів. Так, конститутивна ізоформа nNOS безпосередньо контактує з плазматичною мембраною. NO, що утворюється nNOS, завдяки гідрофобним і ліпофільним властивостям зосереджується в ліпідному бішарі, що захищає цю молекулу від взаємодії з гідрофільним $\cdot O_2^-$ та попереджає утворення агресивного пероксинітриту. При цьому, всередині ліпідного бішару NO легко (константа швидкості реакції – 3×10^9 $М^{-1}$ $с^{-1}$) реагує з ліпідними пероксидними радикалами [253].

Надлишкова кількість NO, що утворюється iNOS, має здатність пригнічувати активності низки металовмісних ферментів, зокрема СОД [251].

Активність СОД має важливе значення у процесі взаємодії NO і АФК. Оскільки окиснювальний потенціал NO поступається іншим вільним радикалам, то характер його впливу на клітини залежить від співвідношення внутрішньоклітинних концентрацій NO і АФК. Так, коли концентрації NO і $\cdot O_2^-$ порівнянні, відбувається взаємна нейтралізація вільних радикалів. Оскільки швидкість бімолекулярної реакції $\cdot O_2^-$ з NO в 3 рази вище, ніж супероксиддисмутазної, NO конкурує з СОД за супероксид. За цих умов NO і $\cdot O_2^-$ ефективно взаємодіють між собою з утворенням пероксинітриту [216,218].

Таким чином, при зниженні активності СОД можуть поглиблюватися прооксидантні розлади у тканинах, пов’язані також з дією пероксинітриту.

Застосування L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії обмежує активацію ПОЛ, підвищує активність каталази у тканині великих півкуль головного мозку.

Раніше вже повідомлялося про здатність L-аргініну в модельних системах гальмувати утворення $\cdot O_2^-$, а також зменшувати вміст продуктів ПОЛ in vitro і in vivo в умовах висотної гіпоксії [105]. Така дія L-аргініну може бути пов’язана з обмеженням NOS-опосередкованої продукції $\cdot O_2^-$ [213, 222, 307].

Оскільки, за нашими даними, активація NF-κB в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії призводить до збільшення активності iNOS та вироблення $\cdot O_2^-$ у тканині головного мозку щурів можно припустити подальшу активацію у ній ПОЛ та зміни АО системи.

Введення JSH-23 на тлі цілодобового освітлення (інтенсивністю 1500 люкс) щурів протягом 55-ти діб призводить до достовірного зменшення у тканині мозку концентрації ТБК-реактантів та її приросту за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині. При цьому суттєво підвищується активність СОД і каталази у порівнянні з даними другої серії.

Ці результати свідчать, що в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування NF-κB викликає активацію у тканині великих півкуль головного мозку ПОЛ, що супроводжується зниженням АО потенціалу, активності СОД і каталази.

Відомо, що активація NF-κB призводить до збільшення експресії гена СОД [97, 262, 289]. Виявлене нами пригнічення активності цього ферменту, вочевидь, пов'язано з реалізацією іншого механізму, наприклад, NF-κB-залежної експресії iNOS з подальшим виробленням значних концентрацій NO, здатного пригнічувати активність СОД через взаємодію з йоном міді її активного центру [251]

Крім NF-κB-залежного шляху активації вільнорадикальних процесів у тканинах головного мозку важливим механізмом інтенсифікації ПОЛ та розладів АОС в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії може бути пероксинітрит-опосередкований. Саме з останнім, як нами показано, пов'язане зростання продукції $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ, здатного ініціювати ПОЛ.

За нашими даними, введення скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55-ти діб істотно знижує концентрацію ТБК-реактантів та її приріст за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, підвищує у тканині мозку активність СОД і каталази. Це свідчить про важливу роль пероксинітриту в процесі активації реакцій ПОЛ у тканині великих півкуль головного мозку.

Механізм вільнорадикального пероксинітрит-опосередкованого некробіозу включає такі механізми: окиснення NH- і SH-груп білків, ДНК, інактивацію АО та протеолітичних ферментів (Mn/Fe-СОД, α_1-інгібітора протеїназ, тканинного інгібітора металопротеїназ тощо) [299]. Пероксинітрит також утворює тіїльні радикали глутатіону, в результаті чого останній перетворюється з антиоксиданту в прооксидант, який ініціює вільнорадикальні реакції.

Дефіцит мелатоніну створює передумови для порушення функціонального стану великих півкуль головного мозку як через ініціацію реакцій вільнорадикального окиснення, так і через порушення біоенергетичних процесів.

Так, відтворення хронічної гіпомелатонінемії супроводжується достовірним зниженням концентрації аденіннуклеотидів - АТФ і АДФ у тканині головного мозку. Вміст АМФ збільшується, що свідчить про значне зниження у тканині головного мозку ресинтезу макроергічних сполук. Цей висновок підтверджується зменшенням величини енергетичного потенціалу.

Раніше вже повідомлялося про здатність мелатоніну безпосередньо впливати на ЕТЛ мітохондрій, зокрема, через експресію мітохондріальної ДНК, яка кодує поліпептидні субодиниці I, II та III МФК IV [294]. Мелатонін також збільшує активність МФК I дихального ланцюга мітохондрій, тому підвищує мітохондріальне дихання та синтез АТФ у нормі та в умовах стресу [237].

За нашими даними, важливу роль у патогенезі розвитку біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії відіграє функціональний стан ізоформ NOS.

Так, в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування nNOS обмежує розвиток біоенергетичної недостатності головного мозку, що ґрунтується на виявленому нами достовірному зниженні АТФ при введенні селективного інгібітора nNOS 7-нітроіндазолу.

Очевидно, що NO, який виробляється nNOS виявляє роль сигнальної сполуки. Незначна кількість NO здатна ініціювати реакції з розгалуженими ланцюгами, які сприяють переходу білків з розчинного у мембранозв'язаний стан, що має велике значення для метаболічної активації внутрішньоклітинних процесів, зокрема, забезпечують синтез АТФ і проліферацію клітин (наприклад, каскаду реакцій, контрольованих протеїнкіназою С), внаслідок чого ферменти переходять з менш активного стану (розчинна форма) у більш активний (мембранозв'язана форма) [118]. Показано, що така метаболічна активація ферментних систем може бути принципово новим механізмом передачі внутрішньоклітинного сигналу за участю NO.

Такі механізми, за думкою дослідників, лежать в основі адаптивних змін при підвищенні функціонального навантаження та/або гіпоксії та відповідають стадії мобілізації (активації) загального адаптаційного синдрому [118]. З іншого боку, при утворенні великих концентрацій NO (наприклад, при активації iNOS або нітрит- та нітратредуктазних реакцій) і зміни співвідношення між цАМФ і цГМФ у бік підвищення останнього, мобілізація змінюється пригніченням, що призводить до розвитку стану дезадаптації (необоротних ушкоджень).

Дійсно, за нашими даними, основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії забезпечує iNOS. Цей висновок ґрунтується на виявленому нами достовірному підвищенні концентрації АТФ та енергетичного потенціалу при застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину).

Значна кількість наукових досліджень пов’язує NO-залежне порушення біоенергетичних процесів зі здатністю NO взаємодіяти з компонентами ЕТЛ внутрішньої мембрани мітохондрій (НАДН-убіхіноноксидоредуктазою, сукцинат-убіхіноноксидоредуктазою, цитохром с оксидазою), пригнічувати активність ферментів циклу трикарбонових кислот (аконітази) та анаеробного гліколіза (гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази) [232, 253, 286]. Цей механізм може бути опосередкований пероксинітритом [299, 315].

Звертає на себе увагу той факт, що застосування субстрату NO-синтазної реакції L-аргініну обмежує в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії зниження АТФ та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку, що, може бути пов’язано з споживанням цієї амінокислоти при функціонуванні конститутивних NOS (з утворенням NO, якому притаманні сигнальні властивості) або при реалізації реакцій аргіназного шляху метаболізму L-аргініну [76].

Примітно, що, за нашими даними, у механізм розвитку біоенергетичної недостатності у великих півкулях головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії залучена активація NF-κB.

Так, введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 в умовах експерименту достовірно підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та АДФ при зменшенні вмісту АМФ. Тобто, порушення ядерної транслокації NF-κB в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії супроводжується суттєвим підвищенням у тканині головного мозку щурів процесів утворення макроергічних сполук та підвищенням енергетичного потенціалу.

Раніше повідомлялося про роль активації NF-κB у порушенні структури та функції мітохондрій, що супроводжується їхнім набуханням та ушкодженням, появою великої кількості везикулярних крист з розривами мембрани, зниженням активності МФК-III, істотним зниженням синтезу АТФ та співвідношення АТФ/АДФ [246].

Іншим чинником, здатним порушувати енергетичний обмін у тканині головного мозку в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії є пероксинітрит.

Так, нами встановлено, що введення скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну в умовах експерименту достовірно підвищує у тканині головного мозку концентрацію АТФ та АДФ при зменшенні вмісту АМФ, що свідчить про здатність пероксинітриту суттєво впливає на стан біоенергетичних процесів у тканині головного мозку щурів.

Таким чином, механізм розвитку біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії є пероксинітрит-залежним.

Мішенями токсичної дії пероксинітриту на біологічні структури, що забезпечують енергетичний обмін, є НАДН- та сукцинат-залежні МФК, FeS-білки, аконітаза, тіолові групи аденіннуклеотидтранслокази та креатинкінази [299].

Результатом різних ланок патогенезу, що реалізуються внаслідок дефіциту мелатоніну, є порушення функціонального стану головного мозку, що виявляється, зокрема, у двофазному характері поведінкових реакцій щурів при проведенні тесту «відкрите поле» на 10, 30 та 55 добу експерименту. Так, на 10-у та 30-у добу досліду відтворення експериментальної гіпомелатонінемії супроводжується активізацією поведінкових реакцій тварин у тесті «відкрите поле», про що свідчить посилення пошукової активності з превалюванням відвідування периферичних квадратів, збільшення кількості вертикальних стойок, зниження кількості грумінгу. Відтворення більш тривалої гіпомелатонінемії (55 діб), що супроводжується суттевою біоенергетичною недостатністю у великих півкулях головного мозку, призводить до виснаження адаптаційних реакцій організму тварин до наслідків нестачі цього гормону та вірогідного пригнічення активності, що чітко відслідковується за поведінковими реакціями тварин в тесті «відкрите поле».

У той же час, відтворення експериментальної гіпермелатонінемії викликає лише транзіторне зменшення загальної активності в період до 30-ї доби спостереження, що може розглядатися як загальмованість діяльності центральної нервової системи. Це супроводжується підвищенням латентного періоду, різким зниженням вертикальної та горизонтальної пошукової активності. На 55 добу спостереження показники повертаються до нормальних значень, що свідчить про адаптацію організму тварин до впливу надлишку екзогенного мелатоніну.

Таким чином, підбиваючи підсумки дослідження механізмів ушкодження великих півкуль головного мозку при порушенні рівня мелатоніну, можна констатувати більш значний характер порушень окиснювальних процесів в умовах відтворення гіпомелатонінемії, що супроводжується прогресуючим збільшення активності NOS (за рахунок iNOS), посиленням у тканині головного мозку продукції $\cdot O_2^-$ НАДН- і НАДФН-оксидазними комплексами, активацією декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, прогресуючим зниженням активності антиоксидантних ферментів, пригніченням біоенергетичних процесів.

Виявлено відмінності у впливі різних ізоформ NOS (nNOS та iNOS) на рівень продукції супероксидного аніон-радикала, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, стан антиоксидантного захисту та біоенергетичних процесів у великих півкулях головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії. Показано, що активація NF-κB та утворення пероксинітриту в умовах дефіциту мелатоніну суттєво впливають на окиснювальний метаболізм у тканині головного мозку. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 та скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну обмежує у великих півкулях продукцію $\cdot O_2^-$ та рівень ПОЛ, підвищує АО захист та енергетичний потенціал.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв’язання наукової задачі, що полягає у визначенні ролі компонентів системи оксиду азоту (NO-синтази, її субстрату, пероксинітриту) у патогенезі порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку при відтворенні розладів утворення мелатоніну.

1. Моделювання гіпомелатонінемії шляхом цілодобового освітлення щурів інтенсивністю 1500 люкс супроводжується прогресуючим збільшенням у великих півкулях головного мозку активності NOS (починаючи з 30-ї доби експерименту, головним чином, за рахунок iNOS), продукції $\cdot O_2^-$ НАДФН-оксидазними комплексами мікросом та лейкоцитів (починаючи з 30-ї доби) та мітохондріальним ЕТЛ (на 55-ту добу), активацією декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів (на 55-ту добу експерименту), прогресуючим зниженням активності антиоксидантних ферментів: СОД і каталази (починаючи з 10-ї доби досліду), пригніченням біоенергетичних процесів, що супроводжується зниженням вмісту АТФ та енергетичного потенціалу. Виявлено відмінності в чутливості антиоксидантної системи півкуль головного мозку до гіпомелатонінемії: тканини правої півкулі виявляються більш резистентними до 30-денної дії світлового чинника за показниками активності АО ферментів (СОД і каталази), ніж лівої.

2. Введення мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла протягом 10, 30 та 55-ти діб не призводить до суттєвих змін у тканині великих півкуль головного мозку активності NOS та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Зменшення активності каталази у цей термін не призводить до суттєвих порушень антиоксидантного потенціалу. Виявлено відмінності в чутливості антиоксидантної системи півкуль головного мозку до гіпермелатонінемії: тканини правої півкулі виявляються більш резистентними до 30-денного

призначення мелатоніну за показниками активності каталази, ніж лівої.

3. У динаміці експериментальної гіпомелатонінемії виявляється двофазний характер поведінкових реакцій тварин у тесті «відкрите поле»: на 10 та 30-ту добу – активуючий вплив (посилення пошукової активності), на 55-ту добу – суттєве зменшення пошуково-дослідницької активності та збільшення показника вегетативного балансу. Відтворення експериментальної гіпермелатонінемії супроводжується транзиторним зниженням пошуково-дослідницької активності в період до 30-ї доби спостереження з подальшим її відновленням.

4. Гіперпродукція супероксидного аніон-радикала у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії пов’язана з активністю iNOS (застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину обмежує вироблення $^{\cdot}O_2^{-}$ мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів). Функціонування nNOS обмежує рівень утворення супероксидного аніон-радикала мітохондріальним ЕТЛ у тканині головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії (введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за цих умов значно підвищує продукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним ЕТЛ). Внесення L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії суттєво не впливає на вироблення супероксидного аніон-радикала мікросомальним, мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів.

5. В умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування nNOS обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів у тканині великих півкуль головного мозку щурів (застосування селективного інгібітора nNOS 7-нітроіндазолу сприяє активації цього процесу, пригнічує антиоксидантний потенціал, знижує активність СОД). При цьому з функціонуванням iNOS пов’язана активація пероксидного окиснення ліпідів у тканині великих півкуль головного мозку, що супроводжується зниженням антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази

(застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину обмежує вказані порушення). Застосування L-аргініну в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів, підвищує активність каталази у тканині великих півкуль головного мозку.

6. В умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії функціонування nNOS обмежує розвиток біоенергетичної недостатності головного мозку (застосування селективного інгібітора nNOS 7-нітроіндазолу сприяє зниженню АТФ у тканині великих півкуль). Основний внесок у зниженні концентрації макроергічних сполук та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку щурів в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії належить iNOS (застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину попереджує істотне зменшення концентрації АТФ та енергетичного потенціалу). Застосування L-аргініну обмежує в умовах хронічної експериментальної гіпомелатонінемії зниження АТФ та енергетичного потенціалу в тканині великих півкуль головного мозку.

7. В умовах хронічної гіпомелатонінемії активація NF-κB впливає на активність NOS та окиснювальний метаболізм у тканині головного мозку. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 знижує активність NOS, обмежує продукцію $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів та рівень ПОЛ, підвищує АО захист та енергетичний потенціал.

8. Введення скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на тлі цілодобового освітлення тварин протягом 55 діб істотно обмежує у тканині головного мозку щурів продукцію $\cdot O_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ, рівень ПОЛ, підвищує антиоксидантний захист, вміст макроергічних сполук та енергетичний потенціал.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Отримані дані можуть бути використані як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів корекції функціонально-метаболічних розладів головного мозку в умовах виникнення гіпер- чи гіпомелатонінемії.

2. Одержані результати обґрунтовують доцільність клінічного дослідження ефективності застосування інгібіторів iNOS, скевенджерів пероксинітриту та інгібіторів активації NF-κB як перспективних нейропротекторів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Анисимов В.Н. Мелатонин и эпиталамин угнетают процесс свободнорадикального окисления у крыс / В.Н. Анисимов, В.М. Прокопенко, В.Х. Хавинсон // Доклады РАН. – 1995. – Т. 343. – С. 557-559.

2. Анисимов В.Н. Мелатонин: перспективы применения для профилактики рака и преждевременного старения / В.Н. Анисимов // Вестник восстановительной медицины. – 2007. – № 1. – С. 4-7.

3. Анисимов В.Н. Мелатонин: роль в организме и применение в клинике / Анисимов В.Н. – СПб. : Система, 2007. – 40 с.

4. Арутюнян А.В. Полифункциональное антиоксидантное действие мелатонина / А.В. Арутюнян, Л.С. Козина // Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований. –СПб, 2008. – С. 4-5.

5. Арушанян Э.Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин – универсальный естественный адаптоген / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Успехи физиологических наук. – 2012. – Т. 43, № 3. – С. 82-100.

6. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза мелатонин – новое ноотропное средство? / Э.Б. Арушанян // Экспер. и клин.фармакол. – 2005. – Т. 68. – С. 74-79.

7. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза мелатонин и его лечебные возможности / Э.Б. Арушанян / Рус мед. ж. – 2005. – Т. 13, № 26. – С. 1755-1760.

8. Арушанян Э.Б. Мелатонин и система крови / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Экспер. и клин. фармакол. – 2006. – Т. 69, № 3. – С. 74-79.

9. Арушанян Э.Б. Ограничение окислительного стресса как основная причина универсальных защитных свойств мелатонина / Э.Б. Арушанян // Экспер. и клин. фармакол. – 2012. – Т. 75, № 5. – С. 44-49.

10. Арушанян Э.Б. Противовоспалительные возможности мелатонина / Э.Б. Арушанян, С.С. Наумов // Клин. медицина. – 2013. – Т. 91, № 7. – С. 18-22.

11. Арушанян Э.Б. Уникальный мелатонин / Э.Б. Арушанян. – Ставрополь, 2006. – 400 с.

12. Арушанян Э.Б. Участие эпифиза в организации устойчивости к психотропным веществам / Э.Б. Арушанян // Экспер. и клин. фармакол. – 1995. – Т. 58. – С. 59-64.

13. Арушанян Э.Б. Хронобиологическая природа нарушений познавательной деятельности мозга / Э.Б. Арушанян // Журн. неврол. и психиат. – 2005. – Т. 105. – С. 73-78.

14. Арушанян Э.Б. Эпифизарный гормон мелатонин и неврологическая патология / Э.Б. Арушанян // Рус. мед. журн. – 2006. – Т.14. – С. 1057-1063.

15. Арушанян Э.Б. Значение мелатонина для деятельности сердечно-сосудистой системы и ее фармакологическая регуляция / Э.В. Арушанян, О.А. Мастягина // Экспер. и клин. фармакол. – 2008. – Т. 71. – С. 65-71.

16. Арушанян Э.Б. Иммунотропные свойства эпифизарного мелатонина / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Экспер. и клин. фармакол. – 2002. – Т. 65. – С. 73-80.

17. Арушанян Э.Б. Сравнительное влияние мелатонина и билобила на световосприятие и психофизиологические показатели у лиц, перенесших в анамнезе черепно-мозговую травму / Э.В. Арушанян, К.Б. Praванесов, И.М. Praванесова // Экспер. и клин. фармакол. – 2007. – Т. 70. – С. 20-23.

18. Бакшеев В.И. Мелатонин в системе нейрогуморальной регуляции у человека. Часть 1. / В.И. Бакшеев, Н.М. Коломоец // Клин. медицина. – 2011. – Т. 89, № 1. – С. 4-10.

19. Бакшеев В.И. Мелатонин место в системе нейрогуморальной регуляции у человека. Часть 2. / В.И. Бакшеев, Н.М. Коломоец // Клин. медицина. – 2011. – Т. 89, № 2. – С. 8-13.

20. Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / В.А. Барабой // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 3. – С. 5-11.

21. Башкатова В. Оксид азота в механизмах повреждения мозга, обусловленных нейротоксическим действием глютамата / В. Башкатова, К. Раевский // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 1020-1028.

22. Беда Н.В. NO-зависимые модификации нуклеиновых кислот / Н.В. Беда, А.А. Недоснасов // Биоорг. хим. – 2007. – Т. 33, № 2. – С. 195-228.

23. Беленичев И.Ф. Механизмы формирования ишемической нейродеструкции: соотношение оксида азота и тиол-дисульфидной системы как фактор, определяющий тип гибели нейрона / И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов, Н.В. Бухтиярова // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 20-27.

24. Беляева Е.Н. Системные эффекты мелатонина в регуляции физиологических функций организма / Е.Н. Беляева, Г.А. Батищева, Ю.Н. Чернов // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 675-678.

25. Березова Д.Т. Мелатонин: свойства и возможности использования / Д.Т. Березова // Владикавказский мед.-биол. вестн. – 2012. – Т. XV, № 23. – С. 127-133.

26. Беспятых А.Ю. Мелатонин как антиоксидант: основные функции и свойства / А.Ю. Беспятых, О.В. Бурлакова, В.А. Голиченков // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 5. – С. 487-496.

27. Бєленічев І.Ф. Антиоксиданти: сучасне уявлення, перспективи створення / І.Ф. Бєленічев, С.І. Коваленко, В.В. Дунаев // Ліки. – 2002. – № 1. – С. 25-29.

28. Бєленічев І.Ф. Антиоксидантна система захисту організму / І.Ф. Бєленічев, Ю.І. Губський, Є.Л. Левицький // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 3. – С. 24-31.

29. Брусов О.С. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О.С. Брусов, А.М. Герасимов, Л.Ф. Панченко // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1976. – № 1. – С. 33-35.

30. Букалёв А.В. Роль эпифиза в организме / А.В. Букалёв, И.А. Виноградова // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. Естественные и технические науки. – 2012. – № 2. – С. 31-36.

31. Бурчинский С.Г. Мелатонин и его возможности в неврологической практике / С.Г. Бурчинский // Укр. вісн. психоневрол. – 2013. – Т. 21, № 1 (74). – С. 112-117.

32. Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга / И.В. Викторов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 5-11.

33. Виноградова И.А. Сравнительное изучение влияния мелатонина и эпиталона на долговременную память у крыс при старении в условиях челночного лабиринта / И.А. Виноградова / Эксперим. и клин, фармакол. – 2006, – № 6, – С. 13-16.

34. Виноградова И.А. Сравнительное изучение влияния различных световых режимов, мелатонина и эпиталона на двигательную активность и психоэмоциональные проявления у крыс / И.А. Виноградова // Вестн. РУДН. Сер. Медицина. – 2007. – № 1. – С. 17-28.

35. Виноградова И.А. Влияние препаратов эпифиза на возрастные особенности статической и динамической работоспособности у крыс при нарушении фотопериодизма / И.А. Виноградова, В.Д. Юнаш // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. –2006. – № 1. – С. 191-196.

36. Волкова О.В. Транскрипционная активность ядерного фактора каппа в (NF-kB) в посттравматических чувствительных нейронах (гистохимическое исследование) / Волкова О.В., Кругляков П.П., Гущина С.В. [и др.] // Морфология. – 2010. – № 2. – С. 18-22.

37. Герман С. В. Мелатонин у человека / С. В. Герман // Клин. медицина. – 1993. – Т. 71. – С. 22-30.

38. Гильмутдинова М.Ш. Экспериментальное изучение изменения прооксидантно-антиоксидантного статуса у крыс клона «Wistar» в условиях гипермелатонинемии / М.Ш. Гильмутдинова // Світ медицини та біології. – 2012. – Т. 8, № 3. – С. 29-31.

39. Гойко О.В. Практичне використання пакета STATISTICA для аналізу медико-біологічних даних / О.В. Гойко. – К., 2004. – 76 с.

40. Губина-Вакулик Г.И. Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру пинеальной железы у кроликов / Г.И. Губина-Вакулик, Н.Н. Сотник, А.Е. Геворкян // Пробл. ендокринной патол. – 2005. – № 4. – С. 38-45.

41. Губкин А.А. Динитрозильные комплексы железа, S-нитрозотиолы и коэнзим Q как антиоксиданты в системах, моделирующих окислительный стресс : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. физ.-мат. наук: спец. 03.00.02 “Биофизика” / А.А. Губкин. – М., 2006. – 23 с.

42. Гудков Л.Л. Антиоксидантное и прооксидантное действие доноров и метаболитов оксида азота / Л.Л. Гудков, К.Б. Шумаев, Е.И. Каленжова [и др.] // Биофизика. – 2007. – Т. 52, № 3. – С. 503-509.

43. Гусев Е.И. Глутаматная нейротрансмиссия и метаболизм кальция в норме и при ишемии головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова // Успехи физиол. наук. – 2002. – Т. 33. – С. 80-93.

44. Джериева И.С. Мелатонин и метаболический синдром: существует ли связь? / И.С. Джериева, Н.И. Волкова, С.И. Рапопорт // Терапевтический архив. – 2012. – Т. 84, № 10. – С. 109-112.

45. Джериева И.С. Мелатонин как регулятор метаболических процессов / И.С. Джериева, Н.И. Волкова, С.И. Рапопорт // Клиническая медицина. – 2012. – Т. 90, № 10. – С. 27-30.

46. Джериева И.С. Оксидативный стресс и возможность его коррекции мелатонином / И.С. Джериева, Н.И. Волкова // Клин. медицина. – 2011. – Т. 89, № 5. – С. 21-25.

47. Джериева И.С. Роль циркадной системы в развитии метаболических нарушений / И.С. Джериева, Н.И. Волкова // Фарматека. – 2011. – № 8. – С. 38-41.

48. Диже Г.П. Антиоксидантный эффект тиреоидных гормонов, мелатонина и глутатиона / Г.П. Диже, Р.В. Дятлов, И.Е. Красовская // Биохимические и молекулярно-биологические основы физиологических функций : сб. статей. – СПб, 2004. – С. 176-185.

49. Дмитриев Л.Ф. Малоновый диальдегид может контролировать клеточное деление на стадии репликации ДНК / Л.Ф. Дмитриев // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. – 1992. – Т. 28, № 6. – С. 720-730.

50. Дмитриев Л.Ф. Синтез АТФ в митохондриях: взаимодействие редокс-цепей внешней и внутренней мембран / Л.Ф. Дмитриев, М.В. Иванова, И.И. Иванов // Докл. АН СССР. – 1990. – Т. 312, № 4. – С. 986-989.

51. Дмитриев Л.Ф. Синтез АТР в митохондриях печени можно ингибировать и стимулировать, генерируя супероксид с помощью УФ облучения / Л.Ф. Дмитриев, М.В. Иванова, И.И. Иванов // Биол. мембраны. – 1990. – Т. 7, № 9. – С. 961-965.

52. Дмитриев Л.Ф. Создание на внутренней мембране митохондрий $\Delta\mu H^+$ 250 мВ является необходимым, но не достаточным условием синтеза АТР / Л.Ф. Дмитриев, М.В. Иванова, Л.Н. Давлетшина // Биохимия. – 1993. – Т. 58, № 2. – С. 255-260.

53. Дробінська О. Вплив L-аргініну на ураження в слизовій оболонці шлунка, спричинені серотоніном / О. Дробінська, Л. Остапченко, О. Цирюк [та ін.] // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2004. – Вип. 38. – С. 201-204.

54. Дудник В.М. Оценка роли транскрипционного фактора NF-kB в механизмах развития неинфекционных воспалительных заболеваний у детей

/ В.М. Дудник // Междунар. журн. педіатр., акушерства и гинекол. – 2013. – Т. 3, № 1. – С. 75-81.

55. Зайниддинова Р. Роль нитроксидергической системы в патогенезе поражения головного мозга / Р. Зайниддинова, А. Степанов // Рос. педиатр. ж. – 2005. – № 5. – С. 21-25.

56. Заморский И.И. Влияние мелатонина и эпиталамина на содержание продуктов белковой и липидной пероксидации в коре больших полушарий и гиппокампе мозга крыс в условиях острой гипоксии / И.И. Заморский, И.Ю. Сопова, В.Х. Хавинсон // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2012. – Т. 154, № 7. – С. 59-61.

57. Заморский И.И. Влияние эпиталамина и мелатонина на содержание продуктов пероксидации в мозге крыс при острой гипоксии / И.И. Заморский, И. Ю. Сопова, В. Х. Хавинсон // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2012. – Т. 154, № 9. – С. 299-301.

58. Заморский И.И. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга / И.И. Заморский, В.П. Пишак // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34, № 4. – С. 37-53.

59. Звездина Н.Д. Действие сигнала, организующего ритм синтеза белка, сохраняется в течение 1 суток после однократного введения мелатонина крысе / Н.Д. Звездина, Л.А. Мальченко, Д.С. Конченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 156, № 9. – С. 298-301.

60. Зенков Н.К. Особенности развития окислительного стресса при патологии нервной системы / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньшикова // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1994. – № 2. – С. 207.

61. Зенков Н.К. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньщикова, В.П. Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 30-34.

62. Зинчук В.В. Влияние мелатонина на кислородзависимые процессы / В.В. Зинчук, С.В. Глуткин, Е.В. Шульга // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 2. – С. 32-36.

63. Зозуля Ю.А. Мультифункциональность и метаболизм оксида азота в центральной нервной системе / Зозуля Ю.А., Сенько Л.Н. // Журн. АМН України. – 2000. – № 1. – С. 3-26.

64. Зозуля Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой – М. : Знание, 2000. – 344 с.

65. Ильина Т.Н. Влияние мелатонина на содержание витамина Е в органах крыс в условиях различного освещений / Т.Н. Ильина, Т.Р. Русколайнен, И.А. Виноградова // Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследования. – СПб, 2008. – С.17-18.

66. Ильина Т.Н. Возрастные изменения содержания витаминов А и Е в органах крыс на фоне модифицированного освещения и экзогенного мелатонина / Т.Н. Ильина, И.В. Баишникова, И.А. Виноградова // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. Естественные и технические науки. – 2013. – № 4 (133). – С. 20-24.

67. Илюха В.А. Влияние постоянного и естественного освещения на физиологическое состояние крыс / В.А. Илюха, И.А. Виноградова, Е.А. Хижкин // Принципы экологии. – 2012. – № 1. – С. 29-40.

68. Каменский А.А. Оксид азота и поведение / А.А. Каменский, К.В. Савельева – М. : Изд-во МГУ, 2002. – 156 с.

69. Кветной И.М. Экстрапинеальный мелатонин: роль в хронобиологии и хрономедицине / И.М. Кветной // Вестн. РУДН. Сер. Медицина. – 2012. – № 7. – С. 126-127.

70. Князькин И.В. Экстрапинеальный мелатонин в процессах ускоренного и преждевременного старения у крыс / И.В. Князькин // Успехи геронтологии. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 80-82.

71. Ковальзон В.М. Мелатонин и сон / В.М. Ковальзон, А.М. Вейн // Мелатонин в норме и патологии. – М., 2004. – С. 182-197.

72. Комаров Ф.И. Мелатонин в норме и патологии / Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт, Н.К. Малиновская. – М. : Медпрактика, 2004. – 307 с.

73. Коркушко О.В. Пинеальная железа: пути коррекции при старении / О.В. Коркушко, В.Х. Хавинсон, В.Б. Шатилою – СПб. : Наука, 2006. – 204 с.

74. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, Н.Т. Майорова // Лабораторное дело. – 1998. – № 1. – С. 16-18.

75. Костенко Е.В. Десинхроноз как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний / Е.В. Костенко, Т.М. Маневич, Н.А. Разумов // Лечебное дело. – 2013. – № 2. – С. 104-116.

76. Костенко В.О. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів / В.О. Костенко, Н.В. Соловйова, О.В. Коваленко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2011. – Т.11, № 3. – С. 150-154.

77. Костюк В.А. Биорадикалы и биоантиоксиданты : монография / В.А. Костюк, А.И. Потапович. – Минск : БГУ, 2004. – 174 с.

78. Костюк Н.В. Рецепторы мелатонина и их агонисты / Н.В. Костюк, В.В. Жигулина, М.Б. Белякова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – № 5. – С. 49-58.

79. Кочетков Я.А. Мелатонин и депрессия / Я.А. Кочетков // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2007. – Т. 107, № 6. – С. 79-80.

80. Куровська В.О. Роль оксиду азоту в ішемічних і ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку / В.О. Куровська, В.П. Пішак, С.С. Ткачук // Буковинськ. мед. вісн. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 143-149.

81. Кушнир О.Ю. Влияние мелатонина на антиоксидантную систему в условиях сахарного диабета / О.Ю. Кушнир, И.Н. Яремий // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2013. – Т. 15, № 1-4. – С. 40-43.

82. Лабунец И.Ф. Влияние биологически активных факторов тимуса на мелатонин-образующую функцию эпифиза у животных разного возраста: возможные механизмы / И.Ф. Лабунец // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 86-91.

83. Лапша В.И. Изменение активности NO-синтазы, ферментов энергетического обмена и ультраструктуры в нейронах коры большого мозга при моделировании кратковременной ишемии / В.И. Лапша, В.Н. Бочарова, В.Н. Гурин // Морфология. – 2003. – № 3. – С. 32-36.

84. Левин Я.И. Мелатонин (мелаксен) в терапии инсомнии / Я.И. Левин // Рус. мед. журн. – 2005. – Т.13. – С.1-3.

85. Левин Я.И. Мелатонин и неврология / Я.И. Левин // Рус. мед. ж. - 2007. – Т.15, № 24. – С. 1851-1854.

86. Левков А. А. NO-залежні зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах тонкої кишки за умов її гострої непрохідності / А.А. Левков, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2010. – Т. 10, № 1. – С. 43-48.

87. Левшина И.П. Зависимость влияния острого стресса на латерализацию продуктов перекисного окисления липидов в мозге от типологических особенностей поведения крыс / И.П. Левшина, Н.В. Гуляева // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1991. – № 6. – С. 568-569.

88. Лукьянова Л.Д. Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и ее взаимодействие с транскрипционной активностью / Л.Д. Лукьянова, А.М. Дудченко, Т.А. Цыбина [и др.] // Вестн. РАМН. – 2007. – № 2. – С. 3-13.

89. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Л. Д. Лукьянова // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2004. – № 2. – С. 2-11.

90. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции / Л.Д. Лукьянова // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 2011. – № 1. – С. 3-19.

91. Львова О.А. К вопросу о роли оксида азота в норме и при патологии нервной системы // О.А. Львова, А.Е. Орлова, В.В. Гусев [и др.] // Системная интеграция в здравоохранении. – 2010. – № 4. – С. 20-35.

92. Майоров О.Ю. Оценка индивидуально-типологических особенностей поведения и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели нормального этологического спектра показателей в тесте «открытое поле» / О.Ю. Майоров // Клиническая информатика и телемедицина. – 2011. – Т. 7, Вып. 8. – С. 21-32.

93. Малахов В.А. Оксид азота и иммунонейроэндокринная система / В.А. Малахов // Междунар. невролог. журн. – 2008. – № 3. – С. 3-7.

94. Малышев И.Ю. Гипоксия и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.А. Монастырская, Б.В. Смирин [и др.] // Вестн. РАМН. – 2000. – № 9. – С. 44-48.

95. Малышев И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 992-1006.

96. Малышева О.А. Клинико-патогенетическое значение гормона эпифиза – мелатонина в неврологии / О.А. Малышева // Неврол. журн. – 1999. – № 2. – С. 52-56.

97. Маянский А.Н. Нуклеарный фактор-κB и воспаление / А.Н. Маянский, Н.А. Маянский, М.И. Заславская // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6. – № 2. – С. 3-9.

98. Мелатонин в норме и патологии / под ред. Ф.И. Комарова, С.И. Комарова, С.И. Рапопорта [и др.]. – М. : ИД Медпрактика, 2004. – 307 с.

99. Мелатонин модифицирует ритм синтеза белка / В.Я. Бродский, Н.Д. Дубовая, Т.К. Звездина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 1. – С. 45-48.

100. Мелатонин синхронизирует ритм синтеза белка в культурах гепатоцитов как агонист внутриклеточного кальция и протеинкиназ / В.Я. Бродский, В.А. Голиченков, Н.Д. Звездина [и др.] // Онтогенез. – 2009. – Т. 40, № 3. – С. 231-236.

101. Меньщикова Е.Б. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, В.П. Реутов // Биохимия. – 2000. – Т.65, № 4. – С. 485-503.

102. Мерденова Л.А. Мелатонин – межклеточный нейроэндокринный регулятор жизнедеятельности организма / Л.А. Мерденова, З.Ю. Созаева, Л.Г. Хетагурова // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2008. – Т. 8, № 14. – С. 34-40.

103. Методы исследования в профпатологии / под ред. О.Г.Архиповой. – М. : Медицина, 1988. – 208 с.

104. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва та ін.] ; за ред. І.П. Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.

105. Милютина Н.П. Антирадикальный и антиоксидантный эффект аргинина и его влияние на активность перекисного окисления липидов при гипоксии / Н.П. Милютина, А.А. Ананян, В.С. Шугалей // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1990. – Т. 60, № 3.– С. 263–265.

106. Молекулярная биология клетки / под ред. Дж. М. Фаллер, Д. Шилдс. – [пер. с англ.] – М. : Бином, 2003. – 272 с.

107. Недзвецький В.С. Вплив постійного освітлення і мелатоніна на стан проміжних філаментів у різних відділах головного мозку щурів / В.С. Недзвецький, П.О. Неруш // Мед. хім. – 2004. – Т. 6, № 9. – С. 27-31.

108. Никушкин Е.В. Перекисное окисление липидов в ЦНС в норме и при патологии / Е.В. Никушкин // Нейрохимия. – 1988. – Т. 8, № 1. – С. 124-145.

109. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / [Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др.]. – М. : Слово, 2006. – 556 с.

110. Осипов А.Н. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов / А.Н. Осипов, Г.Г. Борисенко, Ю.А. Владимиров // Усп. биол. хим. – 2007. – Т. 47. – С. 259-292.

111. Пахомова В.А. Способ определения активности глутатионпероксидазы в биологических тканях / В.А. Пахомова, Г.Н. Крюкова, Н.П. Козлянина // А.С. 922637 СССР, МКИ в G 01. Опубл. 23.04.1982. Биол. ИиО №15. – 2 с.

112. Перцов С.С. Перекисное окисление липидов в головном мозге и печени у крыс при острой стрессорной нагрузке и введении мелатонина / С.С. Перцов, Г.В. Пирогова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137, № 7. – С. 19-23.

113. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В.П. Пішак. – Чернівці, 2003. – 152 с.

114. Попов С.С. Активность глутатионовой антиоксидантной системы при гипертиреозе и при действии мелатонина / С.С. Попов, А.И. Пашков, Т.Н. Попова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2008. – Т. 54, № 3. – С. 47-50.

115. Попов С.С. Клиническая эффективность мелатонина и его воздействие на свободнорадикальный гомеостаз при токсическом поражении печени: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.05 «Внутренние болезни» / С.С. Попов. – Ульяновск, 2008. – 18 с.

116. Попов С.С. Мелатонин как фактор коррекции процессов свободнорадикального окисления при токсическом поражении печени крыс / С.С. Попов, А.Н. Пашков, Т.Н. Попова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 1. – С. 48-51.

117. Попова Т.Н. Влияние мелатонина на свободнорадикальный гомеостаз при хронической алкогольной интоксикации у крыс / Т.Н. Попова, Х. Аллекрад, Л.В. Матасова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 2. – С. 44-48.

118. Проблема оксида азота в биологии и медицине и принцип цикличности: Ретроспективный анализ идей, принципов и концепций / [В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, Н.С. Косицын, В.Е. Охотин]. – М. : Едиториал УРСС, 2003. – 96 с.

119. Проблема оксида азота в неврологии / [Малахов В.А., Завгородняя А.Н., Лычко В.С и др.]. – Сумы : Изд-во СумГПУ им. А.С. Макаренко, 2009. – 242 с.

120. Рапопорт С.И. Мелатонин в клинической практике / С.И. Рапопорт // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2012. – № 7. – С. 191-192.

121. Рапопорт С.И. Мелатонин и его роль в клинике внутренних болезней / С.И. Рапопорт // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2011. – № 1. – С. 59-63.

122. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала / В.П. Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 35-41.

123. Реутов В.П. Проблемы оксида азота и цикличности в биологии и медицине / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, Н.С. Косицын // Усп. совр. биол. – 2005. – Т. 125, № 1. – С. 41-65.

124. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности / В.П. Реутов // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 353-376.

125. Реутов В.П. Цикл оксида азота как механизм стабилизации содержания NO и продуктов его превращения в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, А.И. Гоженко [и др.] // Актуал. пробл. трансп. мед. – 2008. – № 1 (11). – С. 22-28.

126. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / [В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец] – К. : Морион, 2004. – 160 с.

127. Синяченко О.В. Оксид азота в терапевтической практике / О.В. Синяченко, Т.В. Звягина. – Донецк, 2001. – 258 с.

128. Слепушкин В.Д. Влияние мелатонина на активность антиоксидантной системы и процессы свободнорадикального окисления липидов при травматическом шоке / В.Д. Слепушкин, Н.Н. Михайлова, И.В. Егоров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 127, № 4. – С. 387-391.

129. Смирнов А.Н. Ядерные рецепторы мелатонина / А.Н. Смирнов // Биохимия. – 2001. – Т. 66, № 1. – С. 28-36.

130. Сопова И.Ю. Вплив мелатоніну на стан пероксидного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту в базальних ядрах мозку за поєднаної дії зміненого фотоперіоду та гострої гіпоксії / И.Ю. Сопова, И.И. Заморский // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 74-78.

131. Сопова И.Ю. Состояние процессов пероксидации в базальных ядрах головного мозга в условиях измененного фотопериода / И.Ю. Сопова, И.И. Заморский // Рос. физиол. ж. – 2008. – Т. 4, № 4. – С. 371-379.

132. Сорокина Е.Г. Оксид азота и нитритные ионы в энергетике нейронов мозжечка / Е.Г. Сорокина, В.Г. Пинелис, В.П. Реутов [и др.] // Актуал. пробл. трансп. мед. – 2007. – № 4. – С. 133-136.

133. Сорокина Е.Г. Частичное ингибирование цитохромоксидазы митохондрий в нейронах мозжечка защищает их от повреждений при действии токсических доз глутамата и нитрита / Е.Г. Сорокина, В.П. Реутов, Н.П. Винская [и др.] // Вести НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук. – 2003. – № 2. – С. 59-63.

134. Стасюк О.А. Вплив скевенджерів пероксинітриту на окиснювальні процеси у тканинах слинних залоз білих щурів за умов спільного

надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / О.А. Стасюк, В.О. Костенко // Проблеми екології та медицини. – 2012. – Т. 16, № 5-6. – С. 30-33.

135. Стрельник С.Н. Хронобиологический подход к терапии депрессивных расстройств / С.Н. Стрельник, Д.В. Романов / Рос. психиатр, ж. – 2008. – № 6. – С. 84-89.

136. Султанов В.С. Церебропротекторные и энергостабилизирующие эффекты полипренольного препарата ропрена при ишемии головного мозга у крыс / В.С. Султанов, И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 31-47.

137. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж. Теппермен, Х. Теппермен ; Вводный курс : пер. с англ. – М. : Мир, 1989. – 656 с.

138. Тертерова О.В. Экспериментальное изучение протекторного действия мелатонина при гипоксии : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных» / О.В. Тертерова. – Ульяновск, 2005. – 19 с.

139. Фадюкова О.Е. Семакс предупреждает повышение генерации оксида азота в мозге крыс, обусловленное неполной глобальной ишемией / О.Е. Фадюкова, А.А. Алексеев, В.Г. Башкатова [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – № 2. – С. 31-34.

140. Френкель Ю.Д. Влияние недостатка и избытка мелатонина на некоторые параметры мозга крыс / Ю.Д. Френкель, О.И. Цебржинский // Вісник Луганського національного педагогічного університету імені Тараса Шевченко. – 2006. – № 13 (18). – С. 127-132.

141. Хоменко В.Г. Мелатонин – как продукт шишковидной железы в регуляции физиологических функций организма / В.Г. Хоменко // Журнал научных статей. Здоровье и образование в XXI веке. – 2013. – Т. 15, № 1-4. – С. 33-36.

142. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое

определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О.И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2002. – Т. 2, № 1. – С. 96-97.

143. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса / О.И. Цебржинский // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. – Полтава, 1992. – С. 120-155

144. Цебржинський О.І. Особливості проходження тесту “відкрите поле” щурами, що мали гіпер- та гіпомелатонінемії / О.И. Цебржинский, Ю.Д. Френкель // Світ біології та медицини. – 2006. – № 3. – С. 47-52.

145. Цфасман А.З. Суточный ритм мелатонина при депривации ночного сна / А.З. Цфасман, В.Д. Горохов, Д.В. Алпаев // Проблемы эндокринологии. – 2013. – Т. 59, № 2. – С. 40-44.

146. Чеботар Л.Д. Вплив світла та часткового позбавлення сну на морфофункціональний стан серця / Л.Д. Чеботар // Світ медицини та біології. – 2006. – № 2. – С. 53-56.

147. Чеботар Л.Д. Ефекти хронічної гіпомелатонінемії / Л.Д. Чеботар, О.І. Цебржинський // Світ медицини та біології. – 2006. – № 3. – С. 52-56.

148. Чеботар Л.Д. Ефекти хронічної гіпермелатонінемії / Л.Д. Чеботар, О.І. Цебржинський // Вісник Луганського Національного педагогіческого університету імені Т. Шевченка : Біологічні науки. Збірник наук. праць. – Луганськ, 2006. – № 13 (108). – С. 139-144.

149. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее активности в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

150. Чистякова О.О. Мелатонин в терапии климактерических и психических расстройств / О.О. Чистякова / Казанский медицинский журнал. – 2005. – Т. 86, № 1. – С. 31-34.

151. Черток В.М. Оксид азота в механизмах афферентной иннервации артерий головного мозга / В.М. Черток, А.Е. Коцюба // Цитология. – 2010. – Т. 52, № 1. – С. 24-29.

152. Черток В.М. Новые нейротрансмиттеры и их роль в центральных механизмах регуляции кровообращения / В.М. Черток, А.Е. Коцюба // Тихоокеанский мед. журн. – 2013. – № 4. – С. 27-38.

153. Черток В.М. Эндотелиальный (интимальный) механизм регуляции мозговой гемодинамики: трансформация взглядов / В.М. Черток, А.Е. Коцюба // Тихоокеанский мед. журнал. – 2012. – № 2. – С. 17-26.

154. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Усп. совр. естествозн. – 2006. – № 7. – С. 29-36.

155. Чеснокова Н.П. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Усп. совр. естествозн. – 2006. – № 7. – С. 37-41.

156. Шатских О.А. Состояние тучных клеток на фоне введения мелатонина / О.А. Шатских, Е.М. Лузикова, В.Е. Сергеева // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». – 2013. – Т. 15, № 1-4. – С. 213-214.

157. Шумаев К.Б. Антиоксидантные и прооксидантные свойства метаболитов оксида азота / К.Б. Шумаев, С.А. Губкина, А.А. Губкин [и др.] // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : XIV Международная конференция и дискуссионный научный клуб : мат. конф. Т. 8. – Ялта – Гурзуф, 2006. – С. 416-417.

158. Шумаев К.Б. Взаимодействие динитрозильных комплексов железа с интермедиатами окислительного стресса / К.Б. Шумаев, А.А. Губкин, С.А. Губкина [и др.] // Биофизика. – 2006. – Т. 51, № 3. – С. 472-477.

159. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / под ред. А.А. Мойбенко, В.Е. Досенко, А.Н. Пархоменко. – К. : Наукова думка, 2008. – 520 с.

160. Ямшанов В.А. Эволюционная роль оксида азота в проявлении циркадианной активности и защите организма от космических излучений / В.А. Ямшанов // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22, № 2. – С. 282-284.

161. Abbott L.C. Neuronal nitric oxide synthase expression in cerebellar mutant mice / Abbott L.C., Nahm S.S. // Cerebellum. – 2004. – V. 3, № 3. – P. 141-151.

162. Afanas'ev I. Superoxide and nitric oxide in senescence and aging / I. Afanas'ev // Front. Biosci. – 2009. – V. 14. – P. 3899-3912.

163. Afanas'ev I.B. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions / I.B. Afanas'ev // Mol. Biotechnol. – 2007. – V. 37, № 1. – P. 2-4.

164. Aggarwal B.B. Nuclear transcription factor NF-kappa B: role in biology and medicine / Aggarwal B.B., Takada Y., Shishodia S. [et al.] // Indian J. Exp. Biol. – 2004. – V. 42, № 4. – P. 341-353.

165. Arendt J. Melatonin and its agonists: an update / J. Arendt // Br. J. Psychiatry. – 2008. – V. 193. – P. 267-269.

166. Atkinson D.E. The energy charge of the adenylate pools as a regulatory parameter: Interaction with feedback modifiers / D.E. Atkinson // Biochemistry. – 1968. – V. 7, № 11. – P. 4030-4034.

167. Barone M.C. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase by peroxynitrite proceeds through ascorbate-dependent generation of nitric oxide / M.C. Barone, V.M. Darley-Usmar, P.S. Brookes // J. Biol. Chem. – 2003. – V. 278, № 30. – P. 27520-27524.

168. Beni S.M. Melatonin-induced neuroprotection after closed head injury is associated with increased brain antioxidants and attenuated late-phase activation of NF-kB and AP-1/ S.M. Beni, R. Kohen, R.J. Reiter // FASEB J. – 2004. – V. 18. – P. 149-151.

169. Bethea J.R. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation / J.R. Bethea, M. Castro, R.W. Keane [et al.] // J. Neurosci. – 1998. – V. 18. – P. 3251-3260.

170. Bondi C.D. MT1 melatonin receptor internalization underlies melatonin-induced morphologic changes in Chinese hamster ovary cells and these processes are dependent on Gi proteins, MEK 1/2 and microtubule modulation / C.D. Bondi, R.M. McKeon, J.M. Bennett // J. Pineal Res. – 2008. – V. 44, № 3. – P. 288-298.

171. Boutin J.A. MT3/QR2 melatonin binding site does not use melatonin as a substrate or a co-substrate / J.A. Boutin, E. Marcheteau, P. Hennig // J. Pineal Res. – 2008. – V. 45, № 4. – P. 524-531.

172. Brasier A.R. The NF-kappaB regulatory network / A.R. Brasier // Cardiovasc. Toxicol. – 2006. – V. 6, № 2. – P. 111-130.

173. Brown G.C. Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxynitrite and S-nitrosothiols / G.C. Brown, V. Borutaite // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – V. 1658. – P. 44-49.

174. Brown G.M. Melatonin and its relevance to jet lag / G.M. Brown, S.R. Pandi-Perumal, I. Trakht // Travel Med. Infect. Dis. – 2009. – V. 7, № 2. – P. 69-81.

175. Calamini B. Kinetic, thermodynamic and X-ray structural insights into the interaction of melatonin and analogues with quinone reductase 2 / B. Calamini, B.D. Santarsiero, J.A.Boutini // Biochem. J. – 2008. – V. 413. – P. 81-91.

176. Cardinali D.P. Melatonin and the immune system in aging / D.P. Cardinali, A.I. Esquifino, V. Srinivasan // Neuroimmunomodulation. – 2008. – V. 15, № 4-6. – P. 272-278.

177. Calcerrada P. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite: molecular targets, cellular responses and therapeutic implications / P. Calcerrada, G. Peluffo, R. Radi // Curr. Pharm. Des. – 2011. – V.17, № 35. – P. 3905-3932.

178. Camandola S. NF-kappa B as a therapeutic target in neurodegenerative diseases / Camandola S., Mattson M.P. // Expert. Opin. Ther. Targets. – 2007. – V.11, № 2. – P. 123-132.

179. Calcerrada P. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite: molecular targets, cellular responses and therapeutic implications / P. Calcerrada, G. Peluffo, R. Radi // Curr. Pharm. Des. – 2011. – V.17, №35. – P. 3905-3932.

180. Castello P.R. Mitochondrial cytochrome oxidase produces nitric oxide under hypoxic conditions: implications for oxygen sensing and hypoxic signaling in eukaryotes / P.R. Castello, P.S. David, T. McClure [et al.] // Cell Metab. – 2006. – V. 3, № 4. – P. 277-287.

181. Castiglione N. Nitrite and nitrite reductases: from molecular mechanisms to significance in human health and disease / N. Castiglione, S. Rinaldo, G. Giardina [et al.] // Antioxid. Redox Signal. – 2012. – V. 17, № 4. – P. 684-716.

182. Chertok V.M. Nitroxidergic neurons in nuclei of rat and human medulla oblongata / V.M. Chertok, A.E. Kotsyuba, E.V. Babich // Cell Tissue Biol. – 2009. – V. 3, № 4. – P. 335-339

183. Chertok V.M. Serotoninergic and nitroxidergic neurons in the nuclei of the medulla oblongata in the rat / V.M. Chertok, A.E. Kotsyuba, E.P. Kotsyuba // Neurosci Behav. Physiol. – 2012. – V. 42, № 5. – P. 526-531.

184. Cogswell P.C. NF-kappa B and I kappa B alpha are found in the mitochondria. Evidence for regulation of mitochondrial gene expression by NF-kappa B / P.C. Cogswell, D.F. Kashatus, J.A. Keifer [et al.] // J. Biol. Chem. – 2003. – V. 278, № 5. – P. 2963-2968.

185. Delen A.Y. The effect of melatonin on lipid peroxidation and nitrite/nitrate levels, and catalase activities in kainic acid-induced injury / A.Y. Delen, Y. Ayfer, S. E. Yildirim // Cell and Mol. Bwl. Lett. – 2005. – V.10, № 2. – C. 321-329.

186. Doghramji K. Melatonin and its receptors: a new class of sleep-promoting age / K. Doghramji // J. Clin. Sleep. Med. – 2007. – V. 3, № 5. – P. 17-23.

187. Dong W.G. Effects of melatonin on the expression of iNOS and COX-2 in rat models of colitis / W.G. Dong, Q. Mei, J.P. Yu [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2003. V.9, № 6. – P. 1307-1311.

188. Dröse, S. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain / S. Dröse, U. Brandt // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012. – V. 748. – P. 145-169.

189. Dutka A.J. A brief episode of severe arterial hypertension induces delayed deterioration of brain function and worsens blood fl ow after transient multifocal cerebral ischemia / A.J. Dutka, J.M. Hallenbeck, P. Kochanek // Stroke. – 1987. – № 18. – P. 386-395.

190. El-Abhar H.S. Effect of melatonin and nifedipine on some antioxidant enzymes and different energy fuels in the blood and brain of global ischemic rats / El-Abhar H.S., M. Shaalan, M. Barakat // J.Pineal Res. – 2002. – V. 33. – P. 87-94.

191. Escames G. Melatonin, synthetic analogs, and the sleep/wake rhythm / G. Escames, D. Acuna-Castroviejo // Rev. Neurol. – 2009. – V. 48, № 5. – P. 245-254.

192. European Convention for the Protection of vertebrate animals used for Experimental and other scientific purposes. – Strasburg : Council of Europe, 1986. – № 125. – 52 p.

193. Falcon J. Structural and functional evolution of the pineal melatonin system in vertebrates / J. Falcon, L. Besseau, M. Fuentes // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2009. – V. 1163. – P. 101.

194. Fiorina P. Disruption of nocturnal melatonin rhythm and immunological involvement in ishchemic stroke patients / P. Fiorina, G. Lattuado, C. Silvestrini // Scand. J. Immunol. – 1999. – V. 50. – P. 228-231.

195. França E.L. Modulatory role of melatonin on superoxide release by spleen macrophages isolated from alloxan-induced diabetic rats / E.L. França, N.D. Feliciano, K.A. Silva [et al.] // Bratisl. Lek. Listy. – 2009. – V. 110, № 9. – P. 517-522.

196. Gautier C. Endothelial nitric oxide synthase reduces nitrite anions to NO under anoxia / C. Gautier, F. van Fassen, I. Mikula [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 2006. – V. 341, № 3. – P. 816-821.

197. Ghafourifar P. Nitric oxide synthase activity in mitochondria / P. Ghafourifar, C. Richter // FEBS Lett. – 1997. – V. 418. – P. 291-296.

198. Giacomo B. Synthesis and biological activity of new melatonin dimeric derivatives / B. Giacomo, A. Bedini, G . Spadoni // Bioorg. Med. Chem. – 2007. – V. 15. – P. 4643-4650.

199. Giulivi C. Production of nitric oxide by mitochondria / C. Giulivi, J.J. Poderoso, A. Boveris // J. Biol. Chem. – 1998. – V. 273. – P. 11038-11043.

200. Gloire G. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later / G. Gloire, S. Legrand-Poels, J. Piette // Biochem. Pharmacol. – 2006. – V. 72, № 11. – P. 1493-1505.

201. Gochman E. NF-κB activation by peroxynitrite through IκBα-dependent phosphorylation versus nitration in colon cancer cells / E. Gochman, J. Mahajna, A.Z. Reznick // Anticancer Res. – 2011. – V. 31, № 5. – P. 1607-1617.

202. Guerrero J.M. Melatonin prevents increases in neuronal nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mangolian gerbil / J.M. Guerrero, R.J. Reiter, G. Ortiz // J.Pineal Res. – 1997. – V. 23. – P. 24-31.

203. Guttridge D.C. NF-kappaB controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1 / D.C. Guttridge, C. Albanese, J.Y. Reuther [et al.] // Mol.Cell. Biol. – 1999. – V. 19. – P. 5785-5799.

204. Hardeland R. Melatonergic drugs in clinical practice / R. Hardeland, B. Poeggeler, V. Srinivasan // Arzneimittelforschung. – 2008. – V. 58, № 1. – P. 1-10.

205. Hardeland R. Melatonin, hormone of darkness and more: occurrence, control mechanisms, actions and bioactive metabolites / R. Hardeland // Cell. Mol. Life. Sci. – 2008. – V. 65, № 13. – P. 2001-2018.

206. Hardeland R. Melatonin: signaling mechanisms of a pleiotropic agent/ R. Hardeland // Biofactors. – 2009. – V. 35, № 2. – P. 183-192.

207. Hardeland R. New approaches in the management of insomnia: weighing the advantages of prolonged-release melatonin and synthetic melatoninergic agonists / R. Hardeland // Neuropsychiatr. Dis. Treat. – 2009. – № 5. – P. 341-354.

208. Hayakawa M. Evidence that reactive oxygen species do not mediate NF-kappaB activation / M. Hayakawa, H. Miyashita, I. Sakamoto [et al.] // EMBO J. – 2003. – V.22. – № 13. – P. 3356-3366.

209. Hevel J.M. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase / J.M. Hevel // J Biol Chem. – 1991. – V. 266, № 34. – P. 22789-22791.

210. Heusch P. Increased inducible nitric oxide synthase and arginase II expression in heart failure: no net nitrite/nitrate production and protein S-nitrosylation / P. Heusch, S. Aker, K. Boengler [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2010. – V. 299, № 2. – P. H446-H453.

211. Hooper D.C. Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood-CNS barrier permeability changes, and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis / D.C. Hooper, G.S. Scott, A. Zborek [et al.] // FASEB J. – 2000. – V. 14, № 5. – P. 691-698.

212. Huang Z. Enzymatic function of hemoglobin as a nitrite reductase that produces NO under allosteric control / Z. Huang, S. Shiva, D.B. Kim-Shapiro [et al.] // J. Clin. Invest. – 2005. – V. 115, № 8. – P. 2099-2107.

213. Huk I. L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle / I. Huk, J. Nanobashvili, C. Neumayer [et al.] // Circulation. – 1997. – V. 96. – P. 667-675.

214. Jaworeck D. Adenosin-5'-diphosphat und adenosin-5'-monophosphat / D. Jaworeck, W. Gruber, H.V. Bermeyer // Methoden der enzymatischen analyse. – Bd.II. – Weinheim : Verlag – Chemie, 1974. – S. 2147-2151.

215. Jockers R. Melatonin receptors, heterodimerization, signal transduction and binding sites: what's new? / R. Jockers, P. Maurice, J.A. Boutin // Br. J. Pharmacol. – 2008. – V. 154, № 6. – P. 1182-1195.

216. Kalinowski L. Endothelial NADH/NADPH-dependent enzymatic sources of superoxide production: relationship to endothelial dysfunction / L. Kalinowski, T. Malinski // Acta Biochim. Pol. – 2004. – V. 51, № 2. – P. 459-469.

217. Kaltschmidt B. Signaling via NF-kappaB in the nervous system / B. Kaltschmidt, D. Widera, C. Kaltschmidt // Biochim. Biophys. Acta. – 2005. – V. 1745, № 3. – P. 287-299.

218. Kamat J.P. Peroxynitrite: a potent oxidizing and nitrating agent / J.P. Kamat // Indian J. Exp. Biol. – 2006. – V. 44, № 6. – P. 436-447.

219. Kanner J. Nitric oxide as an antioxidant / J. Kanner, S. Harel, R. Granit // Arch. Biochem. Biophys. – 1991. – V. 289. – P. 130-135.

220. Karim A. Disposition kinetics and tolerance of escalating single doses of ramelteon, a high affinity MT1 and MT2 melatonin receptor agonist indicated for the treatment of insomnia / A. Karim, D. Tolbert, C. Cao // J. Clin. Pharmacol. – 2006. – V. 46. – P. 140-148.

221. Kilic E. Pinealectomy aggravates and melatonin administration attenuates brain damage in focal ischemia / E. Kilic, Y. Ozdemir, H. Bolay // J. Cerebr. Blood Flow Metabol. – 1999. – V. 19. – P.511-516.

222. Kim J.H. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats / J.H. Kim, L.J. Bugaj, Y.J. Oh [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2009. – V. 107, № 4. – P. 1249-1257.

223. Klein D.C. Arylalkylamine N-acetyltransferase: “the Timezyme” / D.C. Klein // J. Biol. Chem. – 2007. – V. 282. – P. 4233-4237.

224. Kokkola T. Inverse agonist exposure enhances ligand binding and G protein activation of the human MT1 melatonin receptor, but leads to receptor down-regulation / T. Kokkola, M. Vaittinen, J.T. Laitinen // J. Pineal Res. – 2007. – V. 43, № 3. – P. 255-262.

225. Kondoh T. Melatonin reduces cerebral edema formation caused by transient forebrain ischemia in rats / T. Kondoh, N. Uneyama, H. Nishino // Life Sci. –2002. – V. 72. – P. 583-590.

226. Korkmaz A. Role of melatonin in metabolic regulation/ A. Korkmaz, T. Topal, D.X. Tan // Rev. Endocr. Metab. Disord. – 2009. – V. 10, № 4. – P. 261-270.

227. Kotsyuba A.E. Nitroxidergic nerve fibers of intracerebral vessels / A.E. Kotsyuba, E.P. Kotsyuba, V.M. Chertok // Neurosci Behav. Physiol. – 2010. – V. 40, № 4. – P. 451-455.

228. Kozlov A.V. Nitrite reductase activity is a novel function of mammalian mitochondria / A.V. Kozlov, K. Staniek, H. Nohl // FEBS Lett. – 1999. – V. 454, № 1-2. – P. 127-130.

229. Kuanczyk E. The effect of melatonin on antioxidant enzymes in human diabetic skin fibroblasts / E. Kuanczyk, M. Bryszewsha // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2003. – V. 8, № 2. – P. 333-336.

230. Kumar A. JSH-23 targets nuclear factor-kappa B and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on neuroinflammation and antioxidant defence / A. Kumar, G. Negi, S.S. Sharma // Diabetes Obes. Metab. – 2011. – V. 13, № 8. – P. 750-758.

231. Kurt T. Effects of L-arginine on the brain ischaemia reperfusion damage in rats: An investigation by somatosensory evoked potentials and histopathology / T. Kurt MD1, A. Oğuzhanoğlu, R. Ortaç [et al.] // Neurosci. Res. Comm. – 2002. – V. 31, № 3. – P. 175-182.

232. Kwon N.S. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage-derived nitric oxide / N.S. Kwon, D.J. Stuehr, C.F. Hathan // J. Exp. Med. – 1991. – V. 174, № 4. – P. 761-767

233. Lamprecht W. ATP; Bestimmung mit Hexokinase und Glucose-6-phosphat – Dehydrogenase / W. Lamprecht, I. Trautschold // Methoden der enzymatischen Analyse. – Bd. II. – Weinheim : Verlag – Chemie, 1974. – S. 2151-2159.

234. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J.Favre, C. Thuillez [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2003. – V. 284, № 6. – P. 2053-2060.

235. Lee E.J. Melatonin attenuates gray and white matter damage in a mouse model of transient focal cerebral ischemia / E.J. Lee, M.Y. Lee, H.Y. Chen [et al.] // J. Pineal. Res. – 2005. – V. 38, № 1. – P. 42-52.

236. Leon J. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase activity by N1 - acetyl-5-methoxykynuramine, a brain metabolite of melatonin / J. Leon, G. Escames, M.I. Rodriguez [et al.] // J. Neurochem. – 2006. – V. 98. – P. 2023–2033.

237. Leon J. Melatonin mitigates mitochondrial malfunction / J. Leon, D.A. Castroviejo, G. Escames, D.-X. Tan // J. Pineal Res. – 2005. – V. 38. – P. 1-9.

238. Levoye A. The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT(1) melatonin receptor function through heterodimerization / A. Levoye, J. Dam, M.A. Ayoub // EMBO J. – 2006. – V. 25. – P. 3012-3023.

239. Lima T. Effects of melatonin on temporal lobe epilepsy: study through the experimental model induced by pilocarpine / T. Lima, J.M. Soares, Y.C.S. Garrido// Epilepsia. – 2004. – V. 44 (Suppl. 3). – P. 55.

240. Listwak S.J. Minimal NF-κB activity in neurons / S.J. Listwak, P. Rathore, M. Herkenham // Neuroscience. – 2013. – V. 250. – P. 282-299.

241. Luiking Y.C. Arginine de novo and nitric oxide production in disease states / Y.C. Luiking, G.A. Ten Have, R.R. Wolfe [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2012. – V. 303, № 10. – P. E1177-E1189.

242. Lundberg J.O. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics / J.O. Lundberg, M.T. Gladwin, S. Shiva [et al.] // Nature Chem. Biol. – 2009. – V. 5, №12. – P. 865-869.

243. Lundberg J.O. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics / J.O. Lundberg, E. Weitzberg, M.T. Gladwin // Nature reviews. – 2008. – V. 7. – P. 156-167.

244. Mailliet F. Characterization of the melatoninergic MT3 binding site on the NRH:quinone oxidoreductase 2 enzyme / F. Mailliet, G. Ferry, F. Vella // Biochem. Pharmacol. – 2005. – V. 71. – P. 74-88.

245. Maldonado M.D. The role of melatonin in the immuno-neuro-psychology of mental disorders / M.D. Maldonado, M.A. Perez-San-Gregorio, R.J. Reiter // Recent. Pat. CNS Drug. Discov. – 2009. – V. 4, № 1. – P.61-69.

246. Mariappan N. NF-κB-induced oxidative stress contributes to mitochondrial and cardiac dysfunction in type II diabetes / N. Mariappan, C.M. Elks, S. Sriramula [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2010. – V. 85. – P. 473-483.

247. Mattson M.P. Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease / Mattson M.P., Meffert M.K. // Cell Death. Differ. – 2006. – V. 13, № 5. – P. 852-860.

248. Mattson M.P. NF-kappaB in the survival and plasticity of neurons / Mattson M.P. // Neurochem. Res. – 2005. – V. 30, № 6-7. – P. 883-893.

249. Mémet S. NF-kappaB functions in the nervous system: from development to disease / S. Mémet // Biochem. Pharmacol. – 2006. – V. 72, № 9. – P. 1180-1195.

250. Mesenge C. Neuroprotection by melatonin in mice submitted to brain injury / C. Mesenge, C. Verrecchia, R.G. Boulu // Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. – 1998. – V. 358. – P. 32.

251. Monzani E. Binding of nitrite and its reductive activation to nitric oxide at biomimetic copper centers / E. Monzani, G.J. Anthony, A. Koolhaas [et al.] // J. Biol. Inorg. Chem. – 2000. – V. 5, № 2. – P. 251-261.

252. Niles L.P. Neural stem cells express melatonin receptors and neurotrophic factors: colocalization of the MT 1 receptors with neuronal and glial markers / L.P. Niles, K.J. Armstrong, L.M. Rincon Castro // BMC Neurosci. – 2004. – V. 5. – P. 41-50.

253. Nitric Oxide, Second Edition: Biology and Pathobiology / L.J. Ignarro ed. – [2nd ed.]. – N.Y. : Science Press, 2009. – 845 p.

254. Nohl H. The existence and significance of a mitochondrial nitrite reductase / H. Nohl, K. Staniek, A.V. Kozlov // Redox Rep. – 2005. – V. 10, № 6. – P. 281-286.

255. Okatani Y. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain / Y. Okatani, A. Wakatsuki, C. Kaneda // J. Pineal. Res. – 2000. – V. 28, № 2. – P. 89-96.

256. Oktem G. Evaluation of the relationship between inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity and effects of melatonin in experimental osteoporosis in the rat / G. Oktem, S. Uslu, S.H. Vatansever [et al.] // Surg. Radiol. Anat. – 2006. – V. 28. – P. 157-162.

257. Olivieri G. Beta-amyloid modulates tyrosine kinase B receptor expression in SH SY SY neuroblastome cells: influence of the antioxidant melatonin / G. Olivieri, U. Otten, F. Meier // Neurosci. – 2003. – V. 120. – P. 659-665.

258. Ozturk G. The effect of melatonin on liver superoxide dismutase activity, serum nitrate and thyroid hormone levels / G. Ozturk, S. Coşkun, D. Erbaş [et al.] / Jpn J. Physiol. – 2000. – V. 50, № 1. – P. 149-153.

259. Pandi-Perumal S.R. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways / S.R. Pandi-Perumal, I. Trakht, V. Srinivasan // Prog. Neurobiol. – 2008. – V. 85. – P. 335-353.

260. Pearce L.L. Nitrosative stress results in irreversible inhibition of purified mitochondrial complexes I and III without modification of cofactors / L.L. Pearce, A.J. Kanai, M.W. Epperly [et al.] // Nitric Oxide. – 2005. – V. 13. – P. 254-263.

261. Pei Z. Administration of melatonin after onset of ischemia reduces the volume of cerebral infarction in a rat middle cerebral artery occlusion stroke model / Z. Pei, S.F. Pang, T.F. Cheung // Stroke – 2003. – V. 32. – P. 770-775.

262. Persichini T. Interleukin-1β induces ceruloplasmin and ferroportin-1 gene expression via MAP kinases and C/EBPβ, AP-1, and NF-κB activation / T.

Persichini, N. Maio, M.C. di Patti [et al.] // Neurosci Lett. – 2010. – V. 484, № 2. – P. 133-138.

263. Pizzi M. Distinct roles of diverse nuclear factor-kappaB complexes in neuropathological mechanisms / M. Pizzi, P. Spano // Eur. J. Pharmacol. – 2006. – V. 545, № 1. – P. 22-28.

264. Punsawad C. Nuclear factor kappa B modulates apoptosis in the brain endothelial cells and intravascular leukocytes of fatal cerebral malaria / C. Punsawad, Y. Maneerat, U. Chaisri [et al.] // Malar. J. – 2013. – V. 12. – P. 260.

265. Qu X.-W. Neuronal nitric oxide synthase (NOS) regulates the expression of inducible NOS in rat small intestine via modulation of nuclear factor kappa B / X.-W. Qu, H. Wang, I.G. de Plaen [et al.] // FASEB. – 2001. –V. 15. – P. 439-446.

266. Radi R. Peroxynitrite reactions and formation in mitochondria / R. Radi, A. Cassina, R. Hodara [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2002. – V. 33. – P. 1451-1464.

267. Regriny O. Melatonin improves cerebral circulation security margin in rats / O. Regriny, P. Delagrange, E. Scalbert // Am. J. Physiol. – 1998. – V. 275. – P. 139-134.

268. Reiter R.J. Melatonin and reproduction revisited / R.J. Reiter, D.K. Tan, L.C. Manchester // Biol. Reprod. – 2009. – V. 81, № 3. – P. 445-456.

269. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free radicals / R.J. Reiter // News Phisiol. Sci. – 2000. – V. 15. – P. 246-250.

270. Reiter R.J. The aging pineal gland and its physiological consequences / R.J. Reiter //Bio Essays – 1992. – V.14. – P. 169-175.

271. Reiter R.J. The circadian melatonin rhythm and its modulation: possible impact on hypertension / R.J. Reiter, D.K. Tan, A. Korkmaz // J. Hypertens. – 2009. – V. 6. – P. 17-20.

272. Reiter R.J. When melatonin gets of your nerves: its beneficial actions in experimental models of stroke / R.J. Reiter, D.K. Tan, J. Leon // Exp. Biol. Med. – 2005. – V. 230. – P. 104-117.

273. Reiter R.J. What constitutes a physiological concentration of melatonin? / R.J. Reiter, D.K. Tan // J. Pineal Res. – 2003. – V. 34. – P. 79-80.

274. Resuehr D. Exploratory investigation of the effect of melatonin and calorik restriction on the temporal expression of murine hypothalamic transcripts / D. Resuehr., H.E. Sikes, J.J. Olcese / Neuroendocrinol. – 2006. – V. 18, № 4. – P. 279-289.

275. Rivara S. Melatonin receptor agonists: SAR and applications to the treatment of sleep-wake disorders / S. Rivara, M. Mor, A. Bedini // Curr. Top. Med. Chem. – 2008. – V. 8, № 11. – P. 954-968.

276. Rodríguez A.B. Melatonin controls superoxide anion level: modulation of superoxide dismutase activity in ring dove heterophils / A.B. Rodríguez, G. Nogales, E. Ortega [et al.] // J Pineal. Res. – 1998. – V. 24, № 1. – P. 9-14.

277. Röhrenbeck A.M. Peroxynitrite dependent response to neurotropic virus infection is the central nervous system inflammatory / A.M. Röhrenbeck, B. Dietzschold, E. Spitsin [et al.] // J. Immunol. – 2001. – V. 167. – P. 3470-3477.

278. Romano A. Evolutionarily-conserved role of the NF-kappaB transcription factor in neural plasticity and memory / A. Romano, R. Freudenthal, E. Merlo, [et al.] // Eur. J. Neurosci. – 2006. – V. 24, № 6. – P. 1507-1516.

279. Sankaralingam S. Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia / S. Sankaralingam, H. Xu, S.T. Davidge // Cardiovasc. Res. – 2010. – V. 85, № 1. – P. 194-203.

280. Sarnico I. NF-kappaB dimers in the regulation of neuronal survival / Sarnico I., Lanzillotta A., Benarese M. [et al.] // Int. Rev. Neurobiol. – 2009. – V.85. – P. 351-362.

281. Sarti P. New evidence for cross talk between melatonin and mitochondria mediated by a circadian-compatible interaction with nitric oxide / P. Sarti, M.C. Magnifico, F. Altieri [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14, № 6. – P. 11259-11276.

282. Savasakan E. Melatonin in aging and neurodegeneration / E. Savasakan // Drug Develop. Res. – 2002. – V. 56. – P. 482-490.

283. Schomerus C. Activation of arylalkilamine N-acetyltransferase byphorbol esters in bovine pinealocytes suggests a novel regulatory pathway in melatonin / C. Schomerus, E. Laedtke, J.H. Korf // J. Neuroendocrinol. – 2004. – V. 16, № 9. – P. 740-749.

284. Sethi S. C-terminal domains within human MT1 and MT2 melatonin receptors are involved in internalization processes / S. Sethi, W. Adams, J. Pollock // J. Pineal Res. – 2008. – V. 45. – P. 212-218.

285. Shiva S. Mitochondria as metabolizers and targets of nitrite / S. Shiva // Nitric Oxide. – 2010. – V. 22, № 2. – P. 64-74.

286. Shiva S. Nitric oxide partitioning into mitochondrial membranes and the control of respiration at cytochrome c oxidase / S. Shiva, P.S. Brookes, R.P. Patel [et al.] // Proc Nat Acad Sci USA. – 2001. – V. 98, № 13. – P. 7212-7217.

287. Simile M.M. Chemopreventive N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (fenretinide) targets deregulated NF-κB and Mat1A genes in the early stages of rat liver carcinogenesis / M.M. Simile, G. Pagnan, F. Pastorino [et al.] // Carcinogenesis. – 2005. – V. 26, № 2. – P. 417-427.

288. Sinha K. Effect of melatonin on ischemia/reperfusion injury induced by middle cerebral artery occlusion in rats / K. Sinha, M.N. Degaonkar, N.R. Jagannathan // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – V. 428. – P. 185-192.

289. Siomek A. NF-κB signaling pathway and free radical impact / A. Siomek // Acta Biochim. Pol. – 2012. – V. 59, № 3. – P. 323-331.

290. Skene D.J. Melatonin rhythmicity: effect of age and Alzheimer disease / D.J. Skene, D.F. Swaab // Exp. Gerontol. – 2003. – V. 38. – P. 199-206.

291. Solan N.J. RelB cellular regulation and transcriptional activity are regulated by p100 / N.J. Solan, H. Miyoshi, E.M. Carmona [et al.] // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277, № 2. – P. 1405-1418.

292. Srinivasan V. Immunomodulation by melatonin: its significance for seasonally occurring diseases / V. Srinivasan, D.W. Spence, I. Trakht // Neuroimmunomodulation. – 2008. – V. 15, № 2. – P. 93-101.

293. Srinivasan V. Melatonin, immune function and aging/ V. Srinivasan, G.J. Maestroni, D.F. Cardinali // Immun.Aging. – 2005. – V. 2. – P. 17-27.

294. Srinivasan V. Melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders / V. Srinivasan, D.W. Spence, S.R. Pandi-Perumal [et al.] // Int. J. Alzheimers Dis. – 2011. – V. 2011. – Publ. 320-326.

295. Srinivasan V. Pathophysiology of depression: role of sleep and the melatonergic system / V. Srinivasan, S.R. Pandi-Perumal, I. Trakht // Psychiatry Res. – 2009. – V. 165, № 3. – P. 201-214.

296. Srinivasan V. Therapeutic actions of melatonin in cancer: possible mechanisms / V. Srinivasan, D.W. Spence, S.R. Pandi-Perumal // Integr. Cancer Ther. – 2008. – V. 7, № 3. – P. 189-203.

297. Stamler J.S. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide / J.S. Stamler // Cell. – 1994. – V. 78. – P. 931-936.

298. Sullivan P.G. Exacerbation of damage and altered NF-kappaB activation in mice lacking tumor necrosis factor receptors after traumatic brain injury / P.G. Sullivan, A.J. Bruce-Keller, A.G. Rabchevsky [et al.] // J. Neurosci. – 1999. – V. 19. – P. 6248-6256.

299. Szabó S. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi // Nature Reviews. – 2007. – V. 6. – P. 662-680.

300. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // Life Sci. – 2007. – V. 80, № 4. – P. 329-336.

301. Tan D.X. Melatonin as a naturally occurring co-substrate of quinone reductase-2, the putative MT3 melatonin membrane receptor: hypothesis and significance / D.X. Tan, L.C. Manchester, M.P. Terron // J. Pineal Res. – 2007. – V. 43, № 4. – P. 317-320.

302. Teng F.Y. NF-kappaB signaling in neurite growth and neuronal survival / F.Y. Teng, B.L. Tang // Rev. Neurosci. – 2010. – V. 21, № 4. – P. 299-313.

303. The Asymmetrical Brain / ed. by K. Hugdahl, R.J. Davidson. – Cambridge etc. : MIT Press, 2004. – 810 p.

304. Torii K. Melatonin suppresses cerebral edema caused by middle cerebral artery occlusion/reperfusion in rats assessed by magnetic resonance imaging / K. Torii, H. Uneyama, H. Nishino // J. Pineal Res. – 2004. – V. 36. – P. 18-24.

305. Tornatore L. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A.K. Thotakura, J. Bennett // Trends Cell Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557-566.

306. Van der Helmvan M. No influence of melatonin on cerebral blood how in humans / M. Van der Helmvan, H.M. Annette, E. Van Someren // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – V. 88, № 12. – P. 5989-5994.

307. Vasquez-Vivar J. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors / J. Vasquez-Vivar, B. Kalyanaraman, P. Maratsek [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1998. – V. 95. – P. 9220-9225.

308. Vilar A. Melatonin suppresses nitric oxide production in glial cultures by pro-inflammatory cytokines through p38 MAPK inhibition / A. Vilar, L. de Lemos, I. Patraca [et al.] // Free Radic. Res. – 2014. – V. 48, № 2. – P. 119-128.

309. Vos T.A. Expression of inducible nitric oxide synthase in endotoxemic rat hepatocytes is dependent on the cellular glutathione status / T.A. Vos, H. Van Goor, L. Tuyt [et al.] // Hepatology. – 1999. – V. 29, № 2. – P. 421-426.

310. Walton J.C. Neuronal nitric oxide synthase and NADPH oxidase interact to affect cognitive, affective, and social behaviors in mice / J.C. Walton, B. Selvakumar, Z.M. Weil [et al.] // Behav. Brain Res. – 2013. – V. 256. – P. 320-327.

311. Wooten M.W. The atypical protein kinase C-interacting protein p62 is a scaffold for NF-kappaB activation by nerve growth factor / M.W. Wooten, M.L. Seibenhener, V. Mamidipudi [et al.] // J. Biol. Chem. – 2001. – V. 276. – P. 7709-7712.

312. Ximenes V. F. Superoxide-dependent oxidation of melatonin by myelo-peroxidase / V. F. Ximenes, S. de O. Silva, M. R. Rodrigues / Biol. Chem. – 2005. – № 46. – P. 38160-38169.

313. Yang L. Roles of NF-kappaB in central nervous system damage and repair / L. Yang, L.Y. Tao, X.P. Chen // Neurosci Bull. – 2007. – V. 23, № 5. – P. 307-313.

314. Zawilska J.B. Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms / J.B. Zawilska, D.J. Skene, J. Arendt // Pharm. Reports. – 2009. – V. 61, № 3. – P. 383-410.

315. Zhang X. Peroxynitrite mediated oxidation damage and cytotoxicity in biological systems / X. Zhang, D. Li // Life Sci J. – 2006. – V. 3, № 3. – P. 41-44.

316. Zhou L. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications / L. Zhou, D.Y. Zhu // Nitric Oxide. – 2009. – V. 20, № 4. – P. 223-230.