



Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.  
 Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seria Biologiâ, ekologiâ  
 Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 2016. 24(2), 540–545.

doi:10.15421/011673

ISSN 2310-0842 print  
 ISSN 2312-301X online

[www.ecology.dp.ua](http://www.ecology.dp.ua)

УДК 612.128+616-092.19:616-008.63

## Вплив десинхронізації на маркери окисного стресу та стан гліальних проміжних філаментів головного мозку щурів

С.В. Кириченко, Н.Ю. Чернишенко

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна*

Десинхронізація може бути причиною багатьох захворювань. Не останню роль у патогенезі різних хвороб відіграє також окислювальний стрес. Досліджували вплив постійного освітлення (десинхронізації) на показники розвитку окисного стресу та вміст білка гліальних проміжних філаментів у мозку старих щурів. За десинхронізації відбувається розвиток окисного стресу в гіпокампі, корі великих півкуль і мозочку старих щурів. Тривале постійне освітлення викликало підвищення вмісту ТБК-реактивних продуктів у всіх досліджуваних відділах мозку старих щурів. Це свідчить про активацію процесів перекисного окиснення ліпідів і розвиток окисного стресу. Значні зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів виявлені у відділах, що відповідають за функції вищої нервової діяльності, зокрема, в гіпокампі та корі великих півкуль. Рівень відновленого глутатіону в усіх трьох відділах мозку групи щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, знижувався порівняно з тваринами контрольної групи. Результати вивчення локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин у тесті «відкритого поля» виявили зміни показників тесту за впливу десинхронізації. Виявлено зниження локомоторної активності, пригнічення дослідницької активності, розвиток емоційного стресу. У мозку старих щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, виявлено значне підвищення вмісту гліального фібрилярного кислого білку (ГФКБ). Значне збільшення інтенсивності поліпептидної зони 49 кДа у філаментній і розчинній фракції мозочка та гіпокампа свідчить на користь того, що десинхронізація активує фібриліногенез у гліальних клітинах. Одночасно з'являються деградовані поліпептиди ГФКБ масою 46 кДа. Мелатонін – універсальний адаптоген, який регулює функцію багатьох систем організму. Кількість мелатоніну, що синтезується в організмі, залежить від режиму освітлення. Порушення світлового режиму викликає зниження кількості мелатоніну та розвиток десинхронізації, який може бути причиною багатьох захворювань. Уведення мелатоніну сприяло зворотним змінам – підвищенню рівня відновленого глутатіону, запобігало зростанню вмісту продуктів перекисного окиснення та показників тесту «відкритого поля». Також відбувається зменшення деградації ГФКБ і кількості білка. Це дозволяє зробити припущення стосовно захисного ефекту мелатоніну, що відображався у зменшенні реактивності глії та рівня окисного стресу за десинхронізації в мозку старих тварин.

*Ключові слова:* постійне освітлення; перекисне окиснення ліпідів; глутатіон; старіння; гліальний фібрилярний кислий білок; ГФКБ

## Effect of desynchronization on oxidative stress biomarkers and the state of glial intermediate filaments in the brains of rats subject to aging

S. Kyrychenko, N. Chernyshenko

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine*

Desynchronization may be the cause of many diseases. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of various diseases. The present study investigates the effect of constant light on biomarkers of oxidative stress and content of glial intermediate filaments protein in the brains of old rats. We found that desynchronization led to development of oxidative stress in the hippocampus, cerebral cortex and cerebellum of old rats. Prolonged continuous lighting led to an increase in the content of TBA-reactive products in all studied regions of the brains of old rats. This indicates an activation of lipid peroxidation and oxidative stress. Significant changes in the content of TBA-reactive products were found in the departments responsible for the functions of the higher nervous activity, particularly in the hippocampus and cerebral cortex. The level of restored glutathione in all three regions of the brain decreased in the group of rats kept under constant illumination in comparison with the control group. The results of the indicators of locomotor and orienting-investigative activity of the animals in the "open field" test revealed changes in the indices for desynchronization. This showed a reduction in locomotor activity, inhibition of exploratory activity and development of emotional

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна  
 Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine  
 Tel.: +38-095-338-61-79. E-mail: [svetavk@ukr.net](mailto:svetavk@ukr.net)*

stress. In the brains of old rats kept under constant illumination a significant increase in the content of glial fibrillary protein (GFAP) was shown. There was a significant increase in the intensity of the polypeptide zone 49 kDa in the filamentous and soluble fraction of the cerebellum and hippocampus. This fact indicates that desynchronization activates fibrillogenesis in glial cells. At the same time, there is degradation of polypeptides GFAP with Mr in the field of 46 kDa. Melatonin is a universal adaptogen that regulates the function of many body systems. The amount of melatonin which is synthesized depends on the illumination mode. Violation of the global mode reduces the amount of melatonin and leads to the development of desynchronization, which may be the cause of many diseases. The administration of melatonin helped reverse the changes – raising the level of restored glutathione and preventing the growth of the content of peroxidation products and indices of "open field" test, and also decreasing the degradation of GFAP and the amount of protein. The results indicate the protective effect of melatonin, showing reductions in glial reactivity and in the level of oxidative stress in the brains of old rats subject to desynchronization.

*Keywords:* constant lighting; lipid peroxidation; glutathione; aging; melatonin; glial fibrillary acidic protein; GFAP

## Вступ

Окиснювальний стрес визначається як дисбаланс між високими концентраціями реактивних форм кисню та клітинного антиоксидантного захисту (Cornelius et al., 2013). У нормальних умовах життєдіяльності в клітині постійно присутній певний рівень перекисного окиснення ліпідів, індукований утворенням активних форм кисню. Рівень перекисного окиснення ліпідів у клітині підтримується на постійному рівні завдяки багаторівневій антиоксидантній системі захисту. Щоб видалити відпрацьовані активні форми кисню, в головному мозку існують різні захисні системи. Баланс між перекисним окисненням, з одного боку, та антиоксидантною системою, з іншого – необхідна умова для підтримання нормальної життєдіяльності клітини (Yatin et al., 2000). Порушення регуляторних систем викликає надлишкове утворення активних форм кисню, пригнічення антиоксидантного захисту з розвитком окисного стресу. Наслідком цього будуть складні зміни клітинного метаболізму та пошкодження клітинних мембран, виникнення окисної модифікації білків, за якої знижується або зовсім зникає їх функціональна активність. Рівні антиоксидантів у корі головного мозку характеризуються низькими величинами. Таким чином, низький рівень антиоксидантної активності та високий вміст поліненасичених жирних кислот у мозку зумовлюють обмеження антиоксидантного захисту (Cherubini et al., 2008; Naziroglu, 2011).

Порушення добового світлового циклу викликає стійкий функціональний розлад у нервовій системі. Функціональні порушення за таких умов можуть бути пов'язані зі структурними перебудовами та модуляцією активності нейронів і гліальних клітин. Реактивні астроцити характеризуються збільшенням фібрилогенезом, інтенсивною проліферацією, гіпертрофією та змінами енергетичного метаболізму (Eng et al., 2000). Астроцити мають високу здатність до детоксикації реактивних сполук кисню, значно більший рівень глутатіону та вітаміну E, ферментів, що залучені до метаболізму глутатіону, та вищу активність супероксиддисмутази порівняно з нейронами (Senol et al., 2014; Bitto et al., 2010).

Мелатонін – гормон, що секретується епіфізом і синтезується з триптофану. Показано його неферментативні антиоксидантні та нейропротекторні властивості (Pandi-Pegumal et al., 2012). Як антиоксидант мелатонін знищує вільні радикали та може стимулювати ферменти системи антиоксидантного захисту (Reiter et al., 1997). Доказано ефективність застосування мелатоніну як нейропротектора у разі пошкодження нервової тканини в дослідженнях *in vivo* та *in vitro* (Esposito et al., 2010).

Мелатонін забезпечує захисну дію в нейронах за оксидативного стресу. Подібну корисну дію він може виявляти також в астроцитах (Nedzvetsky et al., 2002; Zhao et al., 2015). Кількість мелатоніну, що синтезується в організмі, залежить від режиму освітлення (Baidas et al., 2007).

Мета нашого дослідження – оцінити зміни показників перекисного окиснення та рівень відновленого глутатіону, вміст гліальних проміжних філаментів у різних відділах головного мозку старих щурів в умовах цілодобового освітлення (десинхронозу).

## Матеріал і методи досліджень

Експерименти проводили на 40 старих щурах лінії Вістар (18–22 місяці) масою 260–340 г (за класифікацією Западнюка), яких утримували у стандартних умовах виварію. Тварин випадковим чином поділили на чотири групи. Щури контрольної групи (n = 10) щодня одержували ін'єкцію фізіологічного розчину, їх утримували за постійної температури (24 °C) та контрольованої довжини світлового дня (12 год/12 год освітлення/темрява). Щури інтактної групи (n = 10) щодня одержували ін'єкцію мелатоніну (10 мг/кг), їх утримували за постійної температури (24 °C) та контрольованої довжини світлового дня (12 год/12 год освітлення/темрява). Дві експериментальні групи тварин (третья та четверта) утримували за постійного освітлення 250 люкс протягом 10 діб. Щури третьої групи (n = 10) одержували ін'єкцію розчину мелатоніну (10 мг/кг), четвертої групи (n = 10) – тільки розчинник (фізіологічний розчин з 1% етанолом) щодня в один і той самий час. Поведінкові реакції оцінювали в тесті «відкритого поля». Тривалість експерименту становила 10 діб.

Тварин усіх груп декапітували через 10 діб після початку експерименту. Після декапітації вилучали головний мозок, охолоджували його, розділяли на відділи. Потім 0,2 г тканини (кора великих півкуль, мозочок, гіпокамп) гомогенізували в 4,0 мл 0,025 М трис-буфері (pH 8,0), що містив 2 мМ ЕДТА, 1 мМ 2-меркаптоетанол, 0,1 мМ фенілметилсульфонілфторид і соєвий інгібітор трипсину (10 мкг/мл). Гомогенат центрифугували за 30 000 г протягом 60 хв. Супернатант (S<sub>1</sub>) містив розчинні білки. Осад ресуспендували в 0,5 мл тієї самої буферної системи, яка додатково містила 4 М сечовину. Супернатант, що отримували після другого центрифугування (S<sub>2</sub>), містив нерозчинні білки проміжних філаментів. Вміст загального білка в екстрактах визначали методом Лоурі в модифікації Міллера. Визначення поліпептидного складу гліальних філаментів проводили за допомогою імуноблотингу з використанням поліклональної моноспецифічної антисироватки у розведенні 1 : 1 500. Кількісний аналіз ГФКБ

проводили за допомогою комп'ютерної обробки сканованих результатів імуноблотингу.

Вміст карбонільних продуктів ПОЛ визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою. За основу взято класичний метод Mihara et al. (1980). Вміст глутатіону у зразках головного мозку визначали за допомогою методу, запропонованого Sedlak (1968).

Результати досліджень обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0. Застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (відмінності між середніми значеннями вважали вірогідними за  $P < 0,05$ ). У таблиці наведено середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки (SE).

### Результати та їх обговорення

Втрата окисно-відновного балансу викликає окисно-напружений стан, що характеризується збільшенням прооксидантів і зменшенням ємності антиоксидантної системи, щоб протистояти впливу активних форм кисню (Halliwell, 2012). Це важливо, тому що за оксидативно-стресового стану зміни окисно-відновної сигналізації викликають зміни регуляторних шляхів у клітині. Стан стресу, індукований у нервовій системі в умовах тривалого постійного освітлення, супроводжується порушеннями гомеостазу окисно-відновних реакцій. Виробництво малонового діальдегіду (МДА) як кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів – основний показник окисного пошкодження клітин. Рівень МДА у тканині мозку групи щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, вищий, ніж у контрольній групі (таб.).

Тривале постійне освітлення викликає підвищення вмісту ТБК-реактивних продуктів у всіх відділах мозку старих щурів, що вказує на активацію процесів перекисного окиснення ліпідів та ушкодження біомембран. Дослідження останніх років підтверджують важливу роль процесів перекисного окиснення ліпідів у структурно-функціональній модифікації біологічних мембран, зміні їх фізико-хімічних властивостей і проникності. Активація процесів ендогенного ПОЛ, яка відіграє головну роль у розвитку стресорних пошкоджень організму, – типовий мембранний механізм для багатьох патологічних станів. Це підтверджують отримані результати.

Антиоксидантна система організму контролює та гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації та завершуючи утворенням гідроперекисів і МДА. Тому наступний етап нашого дослідження – оцінювання вмісту відновленого глутатіону. Отримані результати свідчать про зниження рівня відновленого глутатіону в усіх досліджуваних відділах мозку. У той же час, рівень відновленого глутатіону в мозку групи щурів, яких утримували за постійного освітлення, значно нижчий, ніж у контролі.

Глутатіон займає особливе положення у захисті клітин від ушкоджувальної дії вільнорадикальних продуктів обміну та ендогенних альдегідів. Його відновлена форма відіграє роль «пастки для вільних радикалів» і бере участь у кон'югації ендогенних альдегідів, що виникають у процесі оксидативного стресу. Кон'югати, що утворюються, не виявляють цитотоксичних і генотоксичних властивостей. Вони піддаються подальшим внутрішньоклітинним перетворенням і екскретуються з організму із сечею.

Таблиця

**Вміст малонового діальдегіду та відновленого глутатіону в гомогенаті мозку старих щурів за десинхронозу (n = 10)**

Показник	I група*	II група	III група	IV група
Гіпокамп				
МДА, нмоль/мг білка	3,28 ± 0,13	3,21 ± 0,12	4,61 ± 0,15*	2,98 ± 0,14
Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	5,12 ± 0,18	5,08 ± 0,32	4,56 ± 0,46*	5,53 ± 0,39
Кора великих півкуль				
МДА, нмоль/мг білка	3,31 ± 0,18	3,29 ± 0,16	4,69 ± 0,19*	3,15 ± 0,17
Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	5,14 ± 0,20	5,14 ± 0,25	4,36 ± 0,32*	5,58 ± 0,28
Мозочок				
МДА, нмоль/мг білка	3,52 ± 0,13	3,48 ± 0,12	4,48 ± 0,21*	3,45 ± 0,19
Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	5,13 ± 0,21	5,16 ± 0,18	4,52 ± 0,28*	5,48 ± 0,27

Примітки: \* –  $P < 0,05$  відносно контрольної групи; I група – контрольна група щурів, II – група щурів, які отримували ін'єкції мелатоніну, III – група щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, IV – група щурів, яких утримували 10 діб в умовах постійного освітлення та які отримували ін'єкції мелатоніну (10 мг/кг).

Відновлений глутатіон вважають переважаючим антиоксидантом у корі головного мозку, який присутній у мілімолярних концентраціях. Відновлений глутатіон гомеостазу бере участь в етіології низки захворювань мозку (Senol et al., 2014). За постійного освітлення відбувається зниження вмісту відновленого глутатіону, що може бути показником зниження активності ферментів антиоксидантного захисту в досліджених відділах мозку щурів. З іншого боку, це може бути пов'язано з дискоординацією функціонування антиоксидантних ферментів унаслідок старіння в різних компартментах нервових клітин, яке викликає порушення ефективності антиоксидантного

захисту мозку, особливо під час дії на організм прооксидантних факторів. Це, власне, і відбувається за десинхронозу. Причиною зниження активності ферментів антиоксидантного захисту у процесі геронтогенезу може бути фізіологічне зменшення активності їх біосинтезу, або ж характерні для старіння посттрансляційні зміни, пов'язані з окиснювальною модифікацією їх поліпептидної ланки (Calabrese et al., 2005). Окисний стрес, який вважають адаптивною реакцією організму на дію десинхронозу, у старих щурів набуває руйнівного характеру (Halliwell, 2012). Така ситуація потребує корекції, антиоксидантного захисту з використанням, зокрема, природних антиоксидантів.

Уведення мелатоніну, добре відомого антиоксиданта, сприяло зворотним змінам (підвищенню рівня відновленого глутатіону), запобігало зростанню вмісту продуктів перекисного окиснення. Мелатонін може бути антиоксидантом і, водночас, пасткою для вільних радикалів. Тим самим він захищає клітини від утворення вільних радикалів (Reiter et al., 1997; Yang et al., 2015). Тобто мелатонін стимулює різні ланки антиоксидантного захисту клітини, такі як відновлений глутатіон, які сприяють антиоксидантному захисту, пригнічує перекисне окиснення ліпідів, запобігаючи пошкодженням мозку через опосередковану нейротоксичність вільних радикалів внаслідок постійного освітлення. Все це разом свідчить про розвиток стійкого патологічного стану ЦНС за десинхронозу, який супроводжується окисним стресом у нервовій тканині. Найзначніші зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів виявлені у відділах, що відповідають за функції вищої нервової діяльності (зокрема, в гіпокампі та корі великих півкуль).

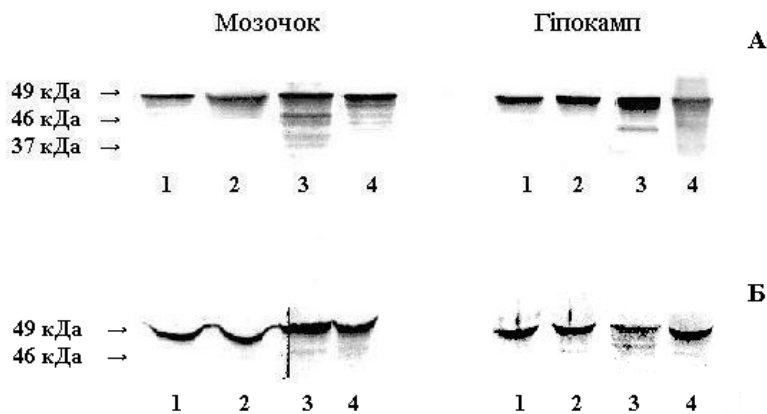
Головний мозок має низку особливостей, що робить його особливо вразливим до дії вільних радикалів. Наприклад, те, що для нього характерний високий вміст ліпідів. До мозку активно постачається кисень, мозок містить багато ферментів, що самі генерують активні форми кисню. Все це робить мозкову тканину дуже вразливою до дії вільних радикалів, навіть за нормального стану організму. У разі пригнічення власної антиоксидантної системи, пошкодження, яких завдають вільні радикали, досить швидко проявляються клінічно у вигляді когнітивної дисфункції тварин та просторової дезорієнтації.

Визначення показників локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин у тестах «відкритого поля» показало, що порушення природного циклу коливань секреції мелатоніну протягом 10 діб викликало зміни показників тесту. У групі щурів, яких утримували в умовах природної добової циклічності та які отримували ін'єкції мелатоніну (12/12 годин світло/темрява), визначено лише незначне зниження локомоторної активності. У групі тварин, яких утримували в умовах постійного освітлення, виявлено значний спад локомоторної активності (зниження кількості центральних квадратів у 2,1 раза) та пригнічення дослідницької активності. Кількість відвідування нірок щурами цієї

групи нижча в 1,7 раза порівняно з контролем. Про розвиток емоційного стресу в останній групі свідчать зростання кількості актів грумінгу та зниження кількості актів дефекації (2,2 та 7,0 раза, відповідно). У той же час, у групі щурів, які отримували ін'єкції мелатоніну та утримувались за постійного освітлення, визначено лише незначні зміни поведінкових реакцій відносно контрольної групи: локомоторна активність знижена в середньому на 17%, а дослідницька – на 19%, порівняно з контрольною групою.

Таким чином, загальне зниження локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності може бути пов'язане з порушенням природної циклічності коливань нейроендокринної активності, зокрема, секреції мелатоніну. У групі тварин, яких утримували за постійного освітлення та яким робили щоденні ін'єкції мелатоніну, практично не виявлено достовірних відмінностей поведінкових реакцій відносно тварин контрольної групи. Незначне зниження локомоторної активності у групі тварин, які отримували ін'єкції мелатоніну та яких утримували за нормальної добової світлової циклічності, може бути наслідком седативної властивості мелатоніну (Mistraletti et al., 2015).

Гліальний фібрилярний кислий білок використовується як молекулярний маркер пошкодження астроцитів та розвитку гліозу. Виявлене збільшення його експресії у процесі старіння та його надмірна експресія за розвитку окисного стресу (Lewen, 2001). Рівень білка гліальних проміжних філаментів і поліпептидний склад визначали у двох (розчинній та цитоскелетній) білкових фракціях гіпокампа, кори великих півкуль і мозочка. Достовірні зміни кількості філаментної форми ГФКБ виявлені у групі тварин, які перебували в умовах впливу десинхронозу (в усіх досліджених відділах мозку). Поряд з інтактним поліпептидом 49 кДа найбільш інтенсивні продукти деградації виявлені в мозочку та корі великих півкуль групи щурів, яких утримували за постійного освітлення (рис.). Для всіх досліджених відділів характерна поява окремих деградованих поліпептидів, що не виявлялися в мозку контрольної групи тварин. Це можна пояснити впливом окисного стресу на гліальний фібрилярний білок і його властивості.



**Рис. Імуноблотинг філаментних (А) і розчинних (Б) фракцій мозочка та гіпокампа щурів:**  
 1 – контрольна група, 2 – група щурів, які отримували ін'єкції мелатоніну (10 мг/кг), 3 – група щурів, яких утримували за постійного освітлення (250 лк/м<sup>2</sup>), 4 – група щурів, яких утримували за постійного освітлення (250 лк/м<sup>2</sup>) і які отримували ін'єкції мелатоніну (10 мг/кг); n = 10

У мозочку та гіпокампі щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, виявлене значне підвищення вмісту ГФКБ. Загалом зміни філаментної та розчинної форм ГФКБ спрямовані у бік підвищення вмісту. У філаментній фракції спостерігається підвищення ГФКБ у мозочку на 72%, гіпокампі – на 94%, корі великих півкуль – на 45% порівняно з контрольною групою. У розчинній фракції відбуваються такі зміни ГФКБ: у мозочку – майже на 100%, гіпокампі – на 86%, корі великих півкуль – на 52% порівняно з контрольною групою. Відносний вміст ГФКБ в окремих відділах мозку залежить від присутності в них ГФКБ-позитивних клітин. Найвищий вміст ГФКБ визначається в середньому мозку, а найнижчий – у корі великих півкуль. Треба також зазначити, що у мозку щурів філаментний ГФКБ становить значно більшу частину порівняно з розчинною формою. У корі великих півкуль розчинна форма складає в середньому 8% від філаментної, у гіпокампі та мозочку – 15%, у середньому мозку – понад 20%. Збільшення вмісту ГФКБ свідчить про розвиток реактивного астрогліозу у щурів із десинхронозом.

Астрогліоз може бути механізмом захисту нейронів гліальними клітинами від ексайтотоксичної загибелі. Активіація астроцитів і реактивний гліоз супроводжують більшість патологій у головному мозку, спинному мозку та сітківці. Реактивний гліоз – еволюційна, захисна, мультистадійна астрогліальна реакція. Загальновідома особливість активації астроцитів і реактивного гліозу – збільшення виробництва білків проміжних філаментів і ремоделювання проміжної системи синтетичних ниток астроцитів. Активіація астроцитів, пов'язана зі змінами експресії багатьох генів і виникненням характерних морфологічних ознак, має важливі функціональні наслідки для організму, такі як інсульт, травма, епілепсія, хвороба Альцгеймера та інші нейродегенеративні захворювання. Дефекти астроцитів, такі як астрогліоз, астрогліальна загибель та збирання астроцитів у пучки (clasmotodendrosis) – патофізіологічний фенотип при нейрональних дегенераціях, лобно-скроневої деменції, ішемічному uszkodженні головного мозку або епілептичному статусі мозку (Halliwell, 2006; Senol et al., 2014). Вплив активації астроцитів і реактивного гліозу на патогенез різних неврологічних розладів ще не повністю вивчено, проте наявні експериментальні дані вказують на безліч корисних аспектів активації астроцитів і реактивний гліоз, які варіюють від ізоляції постраждалого регіону центральної нервової системи із сусідньою тканиною. Це зумовлює обмеження розміру пошкодження, активну нейропротекцію та регуляції гомеостазу центральної нервової системи у період гострого ішемічного, осмотичного або інших видів стресу (Pekny et al., 2014).

Ексайтотоксичні механізми можуть спричинювати швидку загибель нейронів (некроз), а також повільніший процес апоптозу. Концентрація циркулюючого мелатоніну знижується з віком (Vinod, 2016). Таким чином, підвищення реактивної астроцитарної активності з віком може бути пов'язане з поступовим зниженням рівня мелатоніну. Підвищення експресії ГФКБ у процесі старіння може бути пов'язане з оксидативним стресом.

Отримані нами дані та дані попередніх досліджень дозволяють припустити, що реактивний гліоз може гальмувати декілька аспектів нейропластичності та

регенерації ЦНС і, таким чином, може бути мішенню для майбутніх терапевтичних втручань. Виявлено захисний ефект мелатоніну, що відображається на зменшенні реактивності глії та демонструє взаємозв'язок реактивності глії та розвиток окисного стресу в клітинах мозку. Адже нормалізація окисно-відновного дисбалансу, викликаного десинхронним станом за допомогою мелатоніну, тягне за собою відповідне зменшення астрогліозу та нормалізацію функціонування ЦНС, а отже, мелатонін має нейропротекторний ефект.

## Висновки

За десинхронозу в мозку старих щурів відбувається розвиток окисного стресу, що підтверджується високим рівнем переокисного окиснення ліпідів та зниженням активності відновленого глутатіону. Розвиток окисного стресу спричинює погіршення стану астроцитів, маркером чого є гліальний фібрилярний кислий білок. Уведення мелатоніну зумовлює збереження рівня внутрішньоклітинного відновленого глутатіону за десинхронозу, що важливо для захисту гліальних клітин від окисних ушкоджень. Антиоксидантні властивості мелатоніну, призводять до підвищення антиоксидантної здатності клітин нервової тканини та гальмування надмірного розвитку астрогліозу у мозку старих щурів за умов десинхронозу.

## Бібліографічні посилання

- Baydas, G., Koz, S.T., Tuzcu, M., Etem, E., Nedzvetsky, V.S., 2007. Melatonin inhibits oxidative stress and apoptosis in fetal brains of hyperhomocysteinemic rat dams. *J. Pineal Res.* 43(3), 225–231.
- Bitto, A., Sell, C., Crowe, E., Lorenzini, A., Malaguti, M., Hrelia, S., Torres, C., 2010. Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes. *Exp. Cell Res.* 316, 2961–2968.
- Calabrese, V., Lodi, R., Tonon, C., D'Agata, V., Sapienza, M., Scapagnini, G., Mangiameli, A., Pennisi, G., Stella, A.M., Butterfield, D.A., 2005. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *J. Neurol. Sci.* 233, 145–162.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Morand, C., Lattanzio, F., Dell'aquila, G., Zuliani, G., Di Iorio, A., Andres-Lacueva, C., 2008. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr. Med. Chem.* 15, 1236–1248.
- Cornelius, C., Crupi, R., Calabrese, V., Graziano, A., Milone, P., Pennisi, G., Radak, Z., Calabrese, E.J., Cuzzocrea, S., 2013. Traumatic brain injury: Oxidative stress and neuroprotection. *Antioxid. Redox Signal.* 19, 836–853.
- Eng, L.F., Ghirnikar, R.S., Lee, Y.L., 2000. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochem. Res.* 25, 1439–1451.
- Espósito, E., Cuzzocrea, S., 2010. Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system. *Curr. Neuropharmacol.* 8, 228–242.
- Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *J. Neurochem.* 97, 1634–1658.
- Halliwell, B., 2012. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. *Nutr. Rev.* 70, 257–265.
- Lewén, A., 2001. Oxidative stress-dependent release of mitochondrial cytochrome c after traumatic brain injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21, 914–920.
- Michara, M., Uchiyama, M., Fukuzawa, K., 1980. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid

- peroxidation in aging, CCl<sub>4</sub> intoxication, and vitamin E deficiency. *Biochem. Med.* 23(3), 302–311.
- Miller, G.L., 1959. Protein determination for large numbers of samples. *Anal. Chem.* 31, 964–966.
- Mistraletti, G., Umbrello, M., Sabbatini, G., Miori, S., Taverna, M., Cerri, B., Mantovani, E.S., Formenti, P., Spanu, P., D'Agostino, A., Salini, S., Morabito, A., Frascini, F., Reiter, R.J., Iapichino, G., 2015. Melatonin reduces the need for sedation in ICU patients: A randomized controlled trial. *Minerva Anestesiol.* 81, 1298–1310.
- Naziroglu, M., 2011. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: Where are we now? *Neurochem. Res.* 36, 355–366.
- Nedzvetsky, V.S., Baydas, G., Nerush, P.A., Kirichenko, S.V., 2002. Melatonin is involved in regulation of the expression of neural cell adhesion molecules in the rat brain. *Neurophysiology* 34, 190–193.
- Pandi-Perumal, S.R., BaHammam, A.S., Brown, G.M., Spence, D.W., Bharti, V.K., Kaur, C., Hardeland, R., Cardinali, D.P., 2013. Melatonin antioxidative defense: Therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. *Neurotox. Res.* 23(3), 267–300.
- Pekny, M., Wilhelmsson, U., Pekna, M., 2014. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. *Neurosci. Lett.* 565, 30–38.
- Reiter, R.J., Guerrero, J.M., Escames, G., Pappolla, M.A., Acuña-Castroviejo, D., 1997. Prophylactic actions of melatonin in oxidative neurotoxicity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 825, 70–78.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H., 1968. Estimation of total, protein bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Anal. Biochem.* 25, 192–205.
- Senol, N., Naziroglu, M., 2014. Melatonin reduces traumatic brain injury-induced oxidative stress in the cerebral cortex and blood of rats. *Neural Regen. Res.* 9(11), 1112–1116.
- Vinod, C., Jagota, A., 2016. Daily NO rhythms in peripheral clocks in aging male Wistar rats: Protective effects of exogenous melatonin. *Biogerontology* 17: 859–871.
- Yang, Y., Jiang, S., Dong, Y., Fan, C., Zhao, L., Yang, X., Li, J., Di, S., Yue, L., Liang, G., Reiter, R.J., Qu, Y., 2015. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice. *J. Pineal Res.* 58, 61–70.
- Yatin, S.M., Varadarajan, S., Butterfield, D.A., 2000. Vitamin E prevents Alzheimer's amyloid beta-peptide induced neuronal protein oxidation and reactive oxygen species production. *J. Alzheimers Dis.* 2(2), 123–131.
- Zhao, L., An, R., Yang, Y., Yang, X., Liu, H., Yue, L., Li, X., Lin, Y., Reiter, R.J., Qu, Y., 2015. Melatonin alleviates brain injury in mice subjected to cecal ligation and puncture via attenuating inflammation, apoptosis, and oxidative stress: the role of SIRT1 signaling. *J. Pineal Res.* 59(2), 230–239.

*Надійшла до редколегії 27.09.2016*