

УДК 612.018+612.821

©Коллектив авторов

ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕЛАТОНИНА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ

С.С. Перцов^{1}, Л.С. Калинин¹, Е.В. Коплик¹, Л.Г. Наглер²,
Е.С. Алинкина², А.И. Козаченко²*

¹Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина,
125315 Россия, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8, а/я 72; факс +7(495) 601-22-41;
эл. почта: s.pertsov@mail.ru

²Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля, Москва

Исследовали влияние эпифизарного гормона мелатонина на активность антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (Cu/Zn-СОД) в эритроцитах периферической крови у поведенчески пассивных и активных крыс Вистар. В качестве модели острой эмоциональной стрессорной нагрузки использовали 1-часовую иммобилизацию животных с одновременным нанесением электрокожного раздражения. Установлено, что в исходном состоянии активность глутатионовых ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах крови у поведенчески пассивных крыс была больше, чем у активных особей. Внутривенное введение мелатонина в дозе 2 мг/кг сопровождалось уменьшением активности ГП и ГР в эритроцитах крови у нестрессированных пассивных животных. После экспериментального стресса у пассивных крыс выявлено выраженное повышение активности Cu/Zn-СОД и ГП в эритроцитах периферической крови. Отсутствие изменений функциональной активности ферментативного звена антиоксидантной защиты крови у поведенчески активных животных, подвергнутых стрессорной нагрузке, иллюстрирует относительное постоянство оксидативного статуса тканей этих животных в условиях стресса. Введение мелатонина не оказывало значимого влияния на вызванные стрессом изменения функциональной активности антиоксидантной системы эритроцитов крови у пассивных крыс. У активных особей после стрессорной нагрузки на фоне предварительного введения мелатонина обнаружена активация всех изученных антиоксидантных ферментов. Количественные показатели ферментативного звена антиоксидантной защиты эритроцитов у поведенчески активных и пассивных крыс, подвергнутых экспериментальному стрессу после инъекции мелатонина, практически не отличались. Таким образом, экзогенный мелатонин нивелирует различия в активности изученных антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови животных с разными параметрами поведения, наблюдающиеся в исходном состоянии и после экспериментального стрессорного воздействия. Если у пассивных крыс мелатонин способствует преимущественно снижению исходной напряженности оксидативного статуса, то у активных особей введение данного гормона приводит к повышению функциональной активности ферментативного звена антиоксидантной системы в условиях острой стрессорной нагрузки.

Ключевые слова: мелатонин, эмоциональный стресс, антиоксидантные ферменты, эритроциты крови, крысы с разными характеристиками поведения.

DOI: 10.18097/PBMC20156103394

ВВЕДЕНИЕ

Эмоциональный стресс и связанные с ним психосоматические заболевания являются одной из наиболее актуальных проблем современной медико-биологической науки. Следствием стресса являются сердечно-сосудистые болезни, формирование эрозивно-язвенных поражений желудка, иммунные

и эндокринные нарушения, расстройства психической деятельности и другие патологические состояния. Широкий спектр нарушений различных физиологических функций при эмоциональных стрессорных нагрузках говорит о том, что это состояние является разветвленной системной реакцией организма [1].

* - адресат для переписки

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что патогенез стрессорной дисфункции у млекопитающих тесно связан с свободнорадикальными процессами перекисного окисления липидов [2, 3]. Элиминация свободнорадикальных частиц в организме осуществляется с помощью антиоксидантной системы, к которой относятся соединения, снижающие интенсивность окислительных процессов. Нарушение соотношения прооксидантов и антиоксидантов в тканях играет определяющую роль в развитии оксидативного стресса у млекопитающих [4-6]. Смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия с сопутствующим изменением интенсивности окислительно-восстановительных реакций в биологических мембранах и жидкостях может являться сигналом для запуска стрессорного ответа [7].

В экспериментальных исследованиях эмоционального стресса были выявлены индивидуальные различия чувствительности животных к развитию негативных последствий стрессорных воздействий [1, 8]. В работах Е.В. Коплик показано, что надежным прогностическим критерием устойчивости крыс к эмоциональному стрессу является их поведенческая активность в тесте "открытое поле". В частности, активные животные прогностически более устойчивы к стрессорным воздействиям по сравнению с пассивными особями [9].

В плане защиты организма от стрессорных нарушений ведущей задачей является повышение индивидуальной устойчивости к стрессу. Перспективным представляется поиск эндогенных биологически активных веществ, оказывающих воздействие на функциональную активность стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем у млекопитающих. Одним из таких соединений является мелатонин. У млекопитающих основным местом синтеза мелатонина является эпифиз. Кроме этого, продукция мелатонина происходит в сетчатке и цилиарном теле глаза. Клетки, продуцирующие мелатонин, обнаружены в различных отделах желудочно-кишечного тракта, дыхательных путях, щитовидной железе, тимусе, надпочечниках, мозжечке, мочеполовой системе, плаценте и других органах. Синтез мелатонина выявлен также в иммунных и других неэндокринных клетках – тучных клетках, естественных киллерах, эозинофилах, тромбоцитах, эндотелиоцитах. Современные представления о характере синтеза и секреции, биологической активности и особенностях действия эпифизарного и экстрапинеального мелатонина подробно рассмотрены ранее [10].

В наших предыдущих исследованиях установлено, что мелатонин оказывает выраженное антистрессорное действие при эмоциональных стрессорных нагрузках разной интенсивности [10]. Опыты на крысах показали, что мелатонин предотвращает поведенческие и соматовегетативные реакции, вызванные острым или хроническим стрессом. Обнаружено, что антистрессорные

эффекты этого нейрогормона связаны, в частности, с модулирующим влиянием на процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов в тканях печени и эмоциогенных структурах головного мозга [11].

В настоящее время в литературе активно обсуждается регуляторная и стимулирующая роль мелатонина в отношении функционирования системы антиоксидантных ферментов в различных условиях [12, 13]. Современные научные сведения о влиянии мелатонина на дисбаланс продукции активированных кислородных метаболитов и антиоксидантной защиты организма в различных патологических состояниях неоднозначны. С одной стороны, имеется значительное число публикаций, демонстрирующих антиоксидантные свойства мелатонина [14, 15]. Однако в последние годы появились работы, указывающие на незначительный вклад мелатонина в антиоксидантную защиту организма в связи с низким уровнем этого гормона [5]. Эти противоречия во многом связаны с тем, что при изучении роли биологически активных соединений в регуляции жизненно важных процессов в организме не рассматриваются индивидуальные характеристики особей. Одним из способов решения названной проблемы является проведение экспериментальных исследований на млекопитающих с разными параметрами поведения, характеризующихся различиями системной организации физиологических функций в норме и при патологии.

Целью нашей работы было изучение характера влияния мелатонина на активность антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (Cu/Zn-СОД) – в эритроцитах периферической крови у поведенчески пассивных и активных крыс в исходном состоянии и при острой эмоциональной стрессорной нагрузке.

МЕТОДИКА

Опыты выполнены на 80 крысах самцах Вистар массой 240,4±2,8 г. В постановке эксперимента руководствовались "Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных", утвержденными на заседании этической комиссии НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина (протокол №1, 3 сентября 2005 г.), и требованиям Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

Животных содержали в клетках (по 5 особей в каждой) в помещениях с искусственным освещением (8.00-20.00 – свет, 20.00-8.00 – темнота) при 20-22°C в условиях свободного доступа к воде и пище. После доставки в лабораторию крысы проходили адаптацию к лабораторным условиям в течение 5 дней. Животных ежедневно подвергали процедуре хэндлинга – неоднократному взятию в руки на протяжении 15 мин – с целью предотвращения стрессорной реакции на взятие в руки экспериментатора.

Исходные поведенческие характеристики крыс определяли при их тестировании в открытом поле в течение 3 мин [9]. Для вычисления индекса активности крыс сумму числа пересеченных периферических и центральных секторов, периферических и центральных стоек, а также исследованных объектов делили на сумму латентных периодов первого движения и выхода в центр открытого поля. В зависимости от исходных параметров поведения в открытом поле крысы были разделены на активных ($n=40$) и пассивных ($n=40$) особей. Эти животные различались по среднему показателю индекса активности: пассивные крысы – $0,44 \pm 0,02$; активные крысы – $3,48 \pm 0,31$. В дальнейшем крысы были разделены на 8 групп, каждая из которых состояла из 10 животных.

Мелатонин (“Sigma”, США) разводили в 1 мл стерильного физиологического раствора и вводили в дозе 2 мг/кг массы крысы. В наших предыдущих работах было показано, что мелатонин в указанной дозе оказывает выраженный антистрессорный эффект на животных [10]. Мелатонин или физиологический раствор (1 мл) вводили крысам внутривентриально непосредственно до экспериментальной стрессорной нагрузки. Контрольные (нестрессированные) животные получали указанные инъекции за 1 ч до декапитации.

В качестве модели острой эмоциональной стрессорной нагрузки использовали 1-часовую иммобилизацию крыс в индивидуальных пластиковых пеналах с одновременным нанесением электрокожного раздражения подпороговой силы в стохастическом режиме [16]. Данная модель стрессорного воздействия у животных не приводит к формированию патологических изменений в тканях кожи в связи с нанесением электрокожного раздражения, что обусловлено, в частности, низкой интенсивностью электростимуляции [10]. Таким образом, используемый в наших опытах подход адекватен в плане моделирования состояния эмоционального стресса у крыс. Контрольные (нестрессированные) особи были подвергнуты хэндлингу с последующим нахождением в “домашних” клетках в течение 1 ч.

Крыс, подвергнутых стрессорному воздействию, и животных контрольной группы декапитировали после окончания опытов. Собранную после декапитации животных кровь разделяли на сыворотку и эритроцитарную массу и замораживали при -70°C . Активности антиоксидантных ферментов определяли в эритроцитах периферической крови крыс. Методика измерения активности Cu/Zn-СОД основана на ингибировании реакции восстановления нитросинего тетразолия (“Serva”, Германия) супероксидными радикалами, генерируемыми ксантиноксидазой в реакции окисления ксантина. За единицу активности принимали количество фермента, приводящее к 50%-ному подавлению скорости образования формазана [17]. Активность Cu/Zn-СОД относили к 1 мг гемоглобина (Hb). Активность ГП определяли по окислению NADPH в сопряженной глутатионредуктазной реакции

с использованием в качестве субстрата гидроперекиси *трет*-бутила [18]. Активность ГР оценивали по окислению NADPH в присутствии окисленного глутатиона [19]. За 1 единицу активности ГП и ГР принимали количество фермента, катализирующего превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин. Активности ГП и ГР относили к 1 г Hb. Содержание Hb определяли по методу Van Kampen и Zijlstra [20].

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием ANOVA (Statistica 6.0). Численные данные в тексте и таблице приведены как среднее значение \pm стандартная ошибка средней.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исходном состоянии активность глутатионовых ферментов антиоксидантной защиты – ГР и ГП – в эритроцитах крови у поведенчески пассивных крыс была больше, чем у активных особей (в 1,21 и 1,15 ($p < 0,05$) раз соответственно; таблица). Статистически значимых различий активности Cu/Zn-СОД в эритроцитах периферической крови у нестрессированных животных с разными поведенческими характеристиками не выявлено. Полученные данные дополняют результаты наших предыдущих исследований, направленных на изучение функциональной активности антиоксидантной системы в эмоциогенных структурах головного мозга у крыс с разными типами поведения в тесте “открытое поле”. Было показано, что поведенчески пассивные животные характеризуются более высокой активностью Cu/Zn-СОД и ГР, но низкой активностью ГП в гипоталамусе по сравнению с активными особями [21]. Представленные данные демонстрируют различия ферментативного звена антиоксидантной защиты в центральных и периферических тканях у млекопитающих с исходно разными параметрами поведения.

Внутрибрюшинное введение мелатонина сопровождалось уменьшением активности ГП и ГР в эритроцитах крови у пассивных крыс по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор (в 1,43 и 1,95 раз соответственно, $p < 0,05$; таблица). Мелатонин не оказывал значимого влияния на активность указанных ферментов в эритроцитах поведенчески активных особей. Таким образом, различия активности глутатионовых ферментов, выявленные у крыс с разными параметрами поведения в исходном состоянии, становились противоположными после введения мелатонина. В этих условиях активность ГП в эритроцитах у активных животных была в 1,22 раза больше ($p < 0,05$), чем у пассивных особей. Межгрупповые различия активности ГР у крыс, получавших инъекции мелатонина, были статистически недостоверны. В отличие от глутатионовых ферментов, активность Cu/Zn-СОД в эритроцитах периферической крови животных практически не изменялась при действии экзогенного мелатонина.

МЕЛАТОНИН И АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ СТРЕССЕ

Таблица. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах периферической крови у контрольных и стрессированных крыс с различной активностью в открытом поле при введении физиологического раствора или мелатонина.

	ПАССИВНЫЕ КРЫСЫ (n=40)		АКТИВНЫЕ КРЫСЫ (n=40)	
<i>Cu/Zn-СОД, ЕА/мг Hb</i>				
	Контроль	Стресс	Контроль	Стресс
Физ. раствор	140,13±21,89	247,83±33,82 **	158,79±24,60	142,39±8,47 ××
Мелатонин	127,26±4,82	299,06±20,92 *	145,41±9,99	329,27±29,51 * ⁺
<i>ГП, ЕА/г Hb</i>				
	Контроль	Стресс	Контроль	Стресс
Физ. раствор	98,37±4,65	146,05±14,46 **	85,51±2,31 ×	85,06±4,33 ×
Мелатонин	68,61±5,22 ⁺	130,94±9,45 *	83,85±6,54 ×	136,53±12,99 * ⁺
<i>ГР, ЕА/г Hb</i>				
	Контроль	Стресс	Контроль	Стресс
Физ. раствор	6,57±0,84	6,65±0,59	5,45±1,18	4,36±0,23 ×
Мелатонин	3,37±0,27 ⁺	7,42±0,44 *	4,12±0,37	7,42±1,21 ** ⁺

Примечание. Результаты представлены в виде средней ± ошибка средней. * - $p < 0,05$ и ** - $p < 0,01$ по сравнению с нестрессированными крысами; + - $p < 0,05$ по сравнению с крысами, получавшими физиологический раствор; × - $p < 0,05$ и ×× - $p < 0,01$ по сравнению с пассивными крысами.

Повышенная активность антиоксидантных ферментов крови может являться одним из критериев “напряжённости” окислительных процессов в организме – оксидативного стресса [7, 22]. Обнаруженное нами после введения мелатонина уменьшение активности ГП и ГР в эритроцитах у пассивных крыс, характеризующихся более высокими показателями глутатионовых ферментов в исходном состоянии по сравнению с активными животными, по-видимому, отражает корригирующее действие данного нейрогормона на оксидативный статус крови у этих особей. Это находит подтверждение в наших предыдущих исследованиях, продемонстрировавших снижение интенсивности перекисных процессов в периферических тканях (в частности, в печени) у поведенчески пассивных животных при внутрибрюшинном введении мелатонина в дозе 2 мг/кг [11].

В дальнейшем мы исследовали активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах периферической крови крыс после острого эмоционального стрессорного воздействия на модели 1-часовой иммобилизации с одновременным электрокожным раздражением. Значимых изменений активности изученных антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови у поведенчески активных животных, получавших физиологический раствор, после стрессорной нагрузки не обнаружено. В отличие от активных особей, у пассивных животных после экспериментального стресса выявлено значимое повышение активности Cu/Zn-СОД и ГП в эритроцитах периферической крови (в 1,77 и 1,48 раз соответственно, $p < 0,01$ по сравнению с нестрессированными крысами; таблица). Следует отметить, что активность ГР у животных этой группы после стрессорного воздействия практически не изменялась. В результате,

после стрессорной нагрузки активность всех изученных ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах периферической крови у поведенчески пассивных крыс была выше, чем у активных животных (таблица).

Ранее нами было показано, что острое стрессорное воздействие у крыс с разными параметрами поведения сопровождается специфическими изменениями активности антиоксидантных ферментов в тканях головного мозга [23]. В частности, было обнаружено, что формирование отрицательного эмоционального состояния у поведенчески пассивных особей приводит к уменьшению активности Cu/Zn-СОД и ГР в гипоталамусе, но выраженной активации ГП в миндалине и сенсомоторной коре мозга. В целом, изменения активности антиоксидантных ферментов в крови и структурах головного мозга пассивных животных, выявленные при иммобилизации с одновременным электрокожным раздражением, согласуются с данными, полученными на других моделях стрессорных нагрузок. Установлено, например, что активность ГП в биологических тканях у крыс возрастает при остром водно-иммерсионном стрессе, а также при чередовании эмоциогенных и физических стрессоров [6, 24]. Обнаруженное в наших исследованиях отсутствие изменений функциональной активности ферментативного звена антиоксидантной защиты крови у поведенчески активных крыс, подвергнутых экспериментальной стрессорной нагрузке, иллюстрирует относительное постоянство оксидативного статуса тканей этих животных в условиях эмоционального стресса. Это косвенно подтверждает имеющиеся данные о большей устойчивости высокоактивных животных к стрессорным воздействиям по сравнению с пассивными особями [9].

При изучении характера влияния мелатонина на антиоксидантную защиту эритроцитов периферической крови крыс в условиях экспериментального эмоционального стресса были получены следующие результаты. Направленность изменений активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови у поведенчески пассивных животных, подвергнутых стрессорной нагрузке на фоне введения мелатонина, была такой же, как у стрессированных крыс, получавших физиологический раствор. В указанных условиях у пассивных особей, по сравнению с нестрессированными животными, выявлено выраженное повышение активности Cu/Zn-СОД, ГП и ГР – в 2,35, 1,91 и 2,20 раз соответственно ($p < 0,05$; таблица). После стрессорного воздействия активность изученных антиоксидантных ферментов в эритроцитах периферической крови у пассивных крыс, получавших инъекции физиологического раствора и мелатонина, не различалась. Таким образом, внутрибрюшинное введение мелатонина не оказывало значимого влияния на вызванные стрессом изменения функциональной активности антиоксидантной системы эритроцитов крови у поведенчески пассивных особей.

У активных крыс, получавших экзогенный мелатонин, характер вызванных стрессом изменений активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах периферической крови существенно отличался от такового у животных, которым вводили физиологический раствор (таблица). У поведенчески активных особей обнаружена активация всех изученных ферментов антиоксидантной защиты – Cu/Zn-СОД, ГП и ГР (в 2,26, 1,63 и 1,80 раз ($p < 0,05-0,01$) соответственно по сравнению с нестрессированными крысами). После стрессорной нагрузки на фоне предварительного введения мелатонина активность указанных ферментов в эритроцитах крови у активных животных была значительно выше, чем у крыс, получавших инъекции физиологического раствора (в 2,31, 1,61 и 1,70 раз соответственно; $p < 0,05$). Существенно, что количественные показатели ферментативного звена антиоксидантной защиты эритроцитов у поведенчески активных и пассивных особей, подвергнутых экспериментальному стрессу после инъекции мелатонина, практически не отличались.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Полученные в наших исследованиях данные позволяют сделать следующие выводы. В исходном состоянии поведенчески пассивные животные характеризуются более высокой активностью глутатионовых антиоксидантных ферментов – ГП и ГР – в эритроцитах периферической крови по сравнению с активными особями. Острая стрессорная нагрузка у крыс на модели 1-часовой иммобилизации с одновременным электрокожным раздражением сопровождается выраженным повышением активности Cu/Zn-СОД и ГП в эритроцитах крови избирательно у пассивных

животных. Экзогенный мелатонин нивелирует различия активности изученных антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови крыс с разными параметрами поведения, наблюдающиеся и в исходном состоянии, и после экспериментального стрессорного воздействия. В итоге следует отметить, что в нормальных условиях мелатонин не влияет на активность антиоксидантных ферментов у активных животных, но способствует преимущественно снижению исходной напряженности оксидативного статуса у пассивных особей. В условиях острой стрессорной нагрузки введение данного гормона приводит к росту функциональной активности ферментативного звена антиоксидантной системы у крыс обеих исследованных групп. Представленные результаты иллюстрируют регуляторную и стимулирующую роль мелатонина в отношении функционирования системы антиоксидантных ферментов у особей с различными поведенческими характеристиками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Судаков К.В. (2012) Избранные труды. Эмоции и эмоциональный стресс, Изд-во НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва, 534 с.
2. Гуляева Н.В., Левишина И.П. (1988) Бюл. exper. биол. мед., **106**(8), 153-156.
3. Meerson F.Z., Pshennikova M.G., Shabunina Y.V., Belkina L.M. (1989) Stress-limiting systems and prevention of cardiac fibrillation // Systems Research in Physiology. Vol. 3. Perspectives on Research in Emotional Stress, New York, London, p. 275-290.
4. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. (2001) Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях, Москва, 78 с.
5. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты, Изд-во "Слово", Москва, 554 с.
6. Ahmad A., Rasheed N., Banu N., Palit G. (2010) Stress, **13**(4), 355-364.
7. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. (1991) Перекисное окисление и стресс, Изд-во "Наука", Ленинград, 160 с.
8. O'Mahony C.M., Clarke G., Gibney S., Dinan T.G., Cryan J.F. (2011) Pharmacol. Biochem. Behav., **97**(4), 690-699.
9. Коплик Е.В. (2002) Вестн. нов. мед. технол., **9**(1), 16-18.
10. Перцов С.С. (2011) Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса, Издательство РАМН, Москва, 232 с.
11. Перцов С.С., Пирогова Г.В. (2004) Бюл. exper. биол. мед., **138**, 19-23.
12. Rodrigues C., Mayo J.C., Sainz R.M., Antolin I., Herrera F., Martin V., Reiter R.J. (2004) J. Pineal Research., **36**, 1-9.
13. Tomas-Zapico C., Coto-Montes A. (2005) J. Pineal Res., **39**, 99-104.
14. Kireev R., Bitoun S., Cuesta S., Tejerina A., Ibarrola C., Moreno E., Vara E., Tresguerres J.A. (2013) Eur. J. Pharmacol., **701**, 185-193.
15. Reiter R.J., Tan D.X., Manchester L.C., Qi W. (2001) Cell Biochem. Biophys., **34**, 247-256.
16. Перцов С.С., Коплик Е.В., Степанюк В.Л., Симбирцев А.С. (2009) Бюл. exper. биол. мед., **148**, 161-165.
17. Sun Y., Oberley L.W., Li Y. (1988) Clin Chem., **34**, 497-500.

18. *Paglia D.E., Valentine W.N.* (1967) *J. Lab. Clin. Med.*, **70**(1), 158-169.
19. *Carlberg I., Mannervik B.* (1985) *Methods Enzymol.*, **113**, 484-490.
20. *Van Kampen E.J., Zijlstra W.G.* (1983) *Adv. Clin. Chem.*, **23**, 199-257.
21. *Перцов С.С., Коплик Е.В., Калиниченко Л.С.* (2011) *Бюл. экспер. биол. мед.*, **152**, 4-7.
22. *Chahbouni M., Escames G., López L.C., Sevilla B., Doerrier C., Muñoz-Hoyos A., Molina-Carballo A., Acuña-Castroviejo D.* (2011) *Clin. Biochem.*, **44**, 853-858.
23. *Калиниченко Л.С., Перцов С.С., Коплик Е.В., Пирогова Г.В.* (2012) *Бюл. экспер. биол. мед.*, **153**, 635-638.
24. *Перцов С.С., Балашова Т.С., Кубатиев А.А., Сосновский А.С., Пирогова Г.В., Абрамов В.М.* (1995) *Бюл. экспер. биол. мед.*, **120**, 244-247.
25. *Carrillo-Vico A., Lardone P.J., Fernandez-Santos J.M., Martin-Lacave I., Calvo J.R., Karasek M., Guerrero J.M.* (2005) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **90**, 992-1000.

Поступила: 19. 06. 2013.

EFFECT OF MELATONIN ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES
IN BLOOD ERYTHROCYTES OF RATS DURING ACUTE EMOTIONAL STRESS

S.S. Pertsov¹, L.S. Kalinichenko¹, E.V. Koplík¹, L.G. Nagler², E.S. Alinkina², A.I. Kozachenko²

¹Anokhin Research Institute of Normal Physiology,
8 Baltiyskaya ul., p.o. box 72, Moscow, 125315 Russia; fax: +7(495) 601-22-41; e-mail: s.pertsov@mail.ru
²'Emanuel' Institute of Biochemical Physics, Moscow, Russia

The effect of the epiphyseal hormone melatonin on the activity of antioxidant enzymes, glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), and Cu/Zn-superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD) was studied in peripheral blood erythrocytes of behaviorally passive and active Wistar rats. Acute emotional stress was modeled by immobilization of animals for 1 h with simultaneous electrocutaneous stimulation. Basal activity of antioxidant glutathione enzymes in erythrocytes of behaviorally passive rats was higher than that in active animals. Administration of melatonin (2 mg/kg, intraperitoneally) was accompanied by a decrease in the activity of GPx and GR in erythrocytes from non-stressed passive animals. After experimental stress, passive rats demonstrated a significant increase in the activity of Cu/Zn-SOD and GPx in peripheral blood erythrocytes. The absence of stress-induced changes in functional activity of antioxidant defense enzymes in the blood of behaviorally active animals suggests a relatively constant oxidative status of tissues in these animals under stress conditions. Melatonin administration had little effect on stress-induced changes in functional activity of the erythrocyte antioxidant system in passive rats. Active specimens pretreated with melatonin before stress exposure were characterized by activation of study antioxidant enzymes. Quantitative parameters of the erythrocyte antioxidant defense enzymes did not differ in behaviorally active and passive rats subjected to experimental stress after melatonin injection. Thus, exogenous melatonin abolishes differences in the activity of study antioxidant enzymes in erythrocytes of animals with different behavioral parameters under basal conditions and after experimental stress. In passive rats melatonin mainly reduced the initial tension of oxidative processes. By contrast, administration of this hormone to active specimens is followed by an increase in functional activity of the antioxidant enzyme system under conditions of acute stress.

Key words: melatonin, emotional stress, antioxidant enzymes, blood erythrocytes, rats with various behavioral characteristics.