

**УДК 57.01**

## **РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ МИКРОГЕМОДИНАМИКИ**

*Раваева М. Ю., Чуян Е. Н., Павлова Л. В.*

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: m-ravaeva@rambler.ru*

Методом лазерной доплеровской флоуметрии установлено, что при ежедневном 10-кратном введении мелатонина (1 мг/кг) наблюдаются изменения осцилляторных показателей тканевой микрогемодинамики, что свидетельствует об увеличении перфузии периферических тканей и модуляции кровотока в микрососудах за счет повышения эндотелий-независимой вазодилатации, снижения периферического сопротивления, увеличения притока крови в нутритивное микрососудистое русло и улучшения веноулярного оттока. Обсуждаются возможные механизмы действия мелатонина на тканевую микрогемодинамику.

**Ключевые слова:** лазерная доплеровская флоуметрия, тканевая микрогемодинамика, мелатонин.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В последние годы все большее внимание исследователей привлекают сведения о важной регуляторной роли эпифиза и его основного гормона мелатонина (МТ) в различных физиологических функциях организма. Установлено, что МТ вырабатывается не только в эпифизе, его синтез обнаружен почти во всех органах: в сетчатке глаза, желудочно-кишечном тракте, тимусе, иммунных клетках, сердце, половых железах, антральных фолликулах [1]. Ключевая роль МТ определяется тем обстоятельством, что ритмам его продукции подчинены все эндогенные ритмы организма. В частности, наличие циркадианной ритмики артериального [2] и центрального венозного давления у людей [3] свидетельствует об участии МТ и в регуляции функций сердечно-сосудистой системы. В пользу этого говорит также присутствие рецепторов к МТ в мышечном слое и эндотелии кровеносных сосудов [4, 5]. Однако на сегодняшний день остается малоизученным роль МТ в регуляции осцилляций микроциркуляции. В этой связи целью настоящего исследования явилась оценка характера влияния МТ в физиологических концентрациях (1 мг/кг) на осцилляторные процессы микроциркуляции у крыс без признаков сердечно-сосудистой патологии, находящихся в стандартных условиях вивария.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Экспериментальная часть работы выполнена на 20 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180–250 г. Все исследования проводились согласно международным принципам Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые

используются для экспериментов и других научных целей», нормам биомедицинской этики.

После предварительного отбора животных разделили на 2 группы по 10 крыс в каждой. Животные обеих групп находились в обычных условиях вивария. Крысы первой группы являлись биологическим контролем (контроль), им ежедневно в утренние часы в течение 10-ти суток внутрибрюшинно вводили физиологический раствор объемом 0,2 мл. Крысам второй (экспериментальной) группы вводили 1 мг/кг МТ (Sigma, China), который разводили физиологическим раствором объемом 0,2 мл.

Исследование изменений параметров микроциркуляции крови проводилось методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) при помощи лазерного анализатора кровотока «ЛАКК-02» во втором исполнении (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 2.20.0.507WL. Исследование базального кровотока проводилось в течение 6-ти минут на 1, 5 и 10 сутки эксперимента, что соответствовало 1-, 5- и 10-кратному введению МТ.

В качестве параметров, анализируемых методом ЛДФ, после вейвлет-анализа ЛДФ-сигнала определяли амплитуды колебаний кровотока разных частотных диапазонов. Колебания в частотах 0,07–0,15 Гц, или миогенные колебания, обусловлены периодической активностью гладкомышечных волокон артериол, приводящих к изменению диаметра их просвета (вазомоции) [6]. На такую периодичность констрикции и дилатации микрососудов накладываются нейрогенные колебания (0,02–0,046 Гц), отражающие симпатическую регуляторную активность [6–8]. К высокочастотным колебаниям относятся дыхательные (0,15–0,4 Гц) и пульсовые (0,8–0,16 Гц). Дыхательные волны представлены периодическими изменениями давления в венозном отделе сосудистого русла, вызываемыми дыхательными экскурсиями грудной клетки [7]. Пульсовые колебания кровотока обусловлены перепадами внутрисосудистого давления, которые в большей или меньшей степени синхронизированы с кардиоритмом [7, 8].

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета «STATISTICA – 8.0». Поскольку распределение значений переменных отличалось от нормального, оценка достоверности межгрупповых различий проводилась с помощью U-теста Манна – Уитни.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате исследования установлено, что после введения МТ у животных экспериментальной группы наблюдались значительные изменения осцилляторных показателей тканевой микрогемодинамики, причем достоверные изменения микрогемодинамики регистрировались уже после однократного введения МТ. Введение МТ приводило к достоверному увеличению амплитуды миогенных ритмов (Ам) уже после первого введения на 18 % ( $p \leq 0,05$ ), а после 10-кратного введения – на 30 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно таковых в контрольной группе, что отражает снижение тонуса прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол [9]. Поскольку известно, что ритмы данного диапазона обусловлены колебаниями концентрации  $Ca^{2+}$  через мембраны мышечных клеток [6, 9], то

повышение Ам свидетельствует о снижении тонуса прекапилляров вследствие развития  $Ca^{2+}$ -зависимой мышечной релаксации.

Повышение амплитуд колебаний ЛДФ-граммы в нейрогенном диапазоне (Ан) происходило как после однократного (на 21 %,  $p \leq 0,05$ ), так и после 5- и 10-кратного (на 35 % ( $p \leq 0,05$ ) и 48 % ( $p \leq 0,05$ ) соответственно) введения МТ. Ан связаны с симпатическими адренергическими влияниями на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артерио-венулярных анастомозов [10], а их увеличение отражает снижение периферического сопротивления в данных областях микроуacula, следствием чего является улучшение нутритивного кровотока.

Наряду с описанными выше показателями произошло увеличение амплитуд пульсовых колебаний (Ап) после однократного введения МТ на 22 %, ( $p \leq 0,05$ ), а после 10-кратного – на 43 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений этих показателей, зарегистрированных у интактных животных. Известно, что Ап отражает перфузионное давление в микрососудах, обусловленное как сердечным выбросом, перепадами систолического и диастолического давления, так и влиянием посткапиллярного сопротивления [9].

Необходимо отметить, что наименее чувствительными к действию МТ оказались амплитуды дыхательных колебаний (Ад), которые связаны с дыхательной модуляцией венулярного кровотока и с респираторными влияниями на вегетативное обеспечение деятельности сердца [9]. Этот показатель достоверно увеличился (на 21 %,  $p \leq 0,05$ ) только после 5-го введения нейрогормона и оставался на этом же уровне после 10-кратного введения.

Таким образом, введение экзогенного МТ приводило к улучшению тканевой микрогемодинамики за счет увеличения эндотелий-независимой вазодилатации, снижению активности симпатических адренергических вазомоторов и снижению периферического сопротивления, увеличению притока крови в нутритивное микрососудистое русло, улучшению венулярного оттока.

Наши данные согласуются с литературными и существенно дополняют их сведениями о том, что вазодилатационный эффект МТ реализуется в его способности воздействовать (и/или модулировать) на все звенья многоуровневого контроля микрогемодинамики, в котором эндотелиальная активность, нейрогенный, миогенный, пульсовой и дыхательный компоненты осцилляции задействованы в реализации вазодилатирующего эффекта МТ.

Нами показано снижение периферического сопротивления за счет снижения симпатических адренергических влияний на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артерио-венулярных анастомозов (повышение Ан) при действии МТ. Подобное ограничение симпатических влияний на функцию сердечно-сосудистой системы можно отнести за счет центральных свойств МТ [11], к которым причисляют и воздействие на адренергические и пептидергические окончания периваскулярных нервов [12], воздействие на адренергические рецепторы или вторичные мессенджеры в цепи адренергической стимуляции мышечного сокращения [12], блокирование серотонинергической стимуляции гладкомышечного сокращения [13], ингибирование секреции серотонина структурами ЦНС [14] и тромбоцитами [15], вазопрессина гипоталамусом [16] и норадреналина надпочечниками [17], а также

ингибирование высших вегетативных центров межучного мозга (микроинъекции гормона в область переднего гипоталамуса приводили к снижению давления как у нормальных, так и стрессированных крыс [18].

Известно, что механизмы, посредством которых МТ оказывает влияние на сосудистый тонус, включают в себя непосредственное действие на гладкомышечные клетки сосудов путем связывания МТ с собственными рецепторами гладкомышечных клеток и эндотелия сосудов [12]. Действительно, наши исследования показали достоверное уменьшение тонуса гладкомышечных прекапилляров (увеличение Ам), что обусловлено развитием  $Ca^{2+}$ -зависимой мышечной релаксации. Можно предположить, что введение МТ блокирует поступление ионов  $Ca^{2+}$ , как это показано в экспериментальных исследованиях на крысах [19], где МТ конкурентно ингибировал  $Ca^{2+}$ -каналы клеточных мембран кардиомиоцитов, ослабляя эффекты нифедипина

Изменения Ад и Ап, зарегистрированные в настоящем исследовании, указывают, что в основе вазодилатации лежат также и экстравазальные факторы, такие как увеличение притока артериальной крови в микроуло и облегчение венозного оттока вследствие изменения деятельности всей кардиореспираторной системы организма. Действительно, показано, что введение МТ оказывает брадикардическое действие, отрицательный хронотропный эффект и существенно уменьшает энергетические затраты миокарда [20].

Результаты настоящего эксперимента дополняют наши предыдущие исследования [21], вносят существенный вклад в понимание механизмов терапевтической эффективности МТ и демонстрируют перспективность дальнейших исследований действия МТ на микрогемодинамику в различных экспериментальных моделях.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. Методом лазерной доплеровской флоуметрии установлено, что при введении мелатонина наблюдаются изменения осцилляторных показателей тканевой микрогемодинамики, что свидетельствует об увеличении перфузии периферических тканей и модуляции кровотока в микрососудах за счет повышения эндотелий-независимой вазодилатации, снижения периферического сопротивления, увеличения притока крови в нутритивное микрососудистое уло и улучшения веноулярного оттока.
2. 10-кратное введение экзогенного мелатонина приводит к прогрессивному достоверному увеличению сосудистых компонентов регуляции микроциркуляции: Ан – на 50 % ( $p \leq 0,05$ ), Ам – на 30 % ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствует об усилении метаболической активности эндотелия, повышении числа функционирующих прекапилляров за счет снижения активности симпатических адренергических вазомоторов.
3. Изменение внесосудистых компонентов регуляции микроциркуляции после 10-кратного введения МТ, а именно увеличение Ап на 43 %, Ад на 20 % ( $p \leq 0,05$ ), свидетельствует об увеличении притока артериальной крови в микроуло и улучшении венозного оттока.

*Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».*

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта А № 15-04-06054.*

*Работа выполнена на оборудовании ЦКП ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика».*

### Список литературы

1. Рапопорт С. И. Мелатонин и сердечно-сосудистая система. Терапевтические возможности мелатонина у больных артериальной гипертензией / Рапопорт С. И., Малиновская Н. К. // РМЖ. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 140–144.
2. Circadian rhythms of atrial natriuretic peptide, blood pressure and heart rate in normal subjects. / Portaluppi F., Montanari L., Bagni B. [et al.] // Cardiology. – 1989. – V.76. – P.428–432.
3. Engel B. T. Diurnal variations in central venous pressure / Engel B. T., Talan M. I. // Acta. Physiol. Scand. – 1991. – V.141. – P.273–278.
4. Viswanathan M. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. / Viswanathan M., Laitinen J. T., Saavedra J. M. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1990. – V.87. – P.6200–6203.
5. Autoradiographic localization of putative receptors in the brains of two old world primates: cercopithecus aethiops and papio ursinus. / Stankov B., Capsoni S., Lucini V. et al. // Neuroscience. – 1993. – V.52. – P.459–468.
6. Маколкин В. И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии / В. И. Маколкин, В. В. Бранько, Е. А. Богданова // Пособие для врачей. – М.: Россельхозакадемия, 1999. – 48 с.
7. Козлов В. И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии: пособие для врачей / Козлов В. И. – М.: Медицина, 2001. – 201 с.
8. Hoffman U. The frequency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion. / Hoffman U., Yanar A., Bolinger A. // Microvascul. Res. – 1990. – 40. – P. 293–301.
9. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system / A. Stefanovska, M. Bracic // Contemporary Physics. – 1999. – V. 40, №1. – P.31–35.
10. Schmid-Schonbein H. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations. / Schmid-Schonbein H., Ziege S. // Int. J. Microcir. – 1997. – 17. – P. 346–359.
11. Арушанян Э. Б. Хронофармакология на рубеже веков / Э. Б. Арушанян. – Ставрополь, 2005. – 575 с.
12. Weekley L. B. Pharmacological studies on the mechanism of melatonin induced vasorelaxation in rat aorta / L. B. Weekley // J. Pineal Res. – 1995. – Vol. 19. – P. 133–138.
13. Satake N., Oe H. Vasorelaxing action of melatonin in rat isolated aorta: possible endothelium dependent relaxation. / Satake N., Oe H., Sawada T., Shibata S. // Gen. Pharmacol. – 1991. – V.22. – P.1127–1133.
14. Chuang J. I. Melatonin decrease brain serotonin release, arterial pressure and heart rate in rats. / Chuang J. I., Chen S. S., Lin M. T. // Pharmacology. – 1993. – V.47. – P.91–97.
15. Martin F. G. Melatonin effect on serotonin uptake and release in rat platelets diurnal variation in responsiveness / F. G. Martin, G. Atienza, M. Aldegunde [et al.] // Life Sci. – 1993. – Vol. 53, №13. – P. 1079–1087.
16. Yasin S. The in vivo effect of melatonin on neurohypophysial hormone release in the rat. / Yasin S., Bojanowska E., Forsling M. L. // J. Physiol. – 1994. – V.475. – P.142–5.
17. Potentially beneficial cardiovascular effects of melatonin administration in women. / Cagnacci A., Arangino S., Angiolucci M. [et al.] // J. Pineal Res. – 1997. – V.22. – P.16–19.
18. Xia C. M. Effects of melatonin on blood pressure in stress-induced hypertension in rats / C. M. Xia, C. H. Shao, L. Xin [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2008. – Vol. 35, №10. – P. 12.

19. Tan D. X. Ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in the isolated rat heart: prevention by melatonin. / Tan D. X., Manchester L. C., Reiter R. J., Qi W., Kim S. J., El-Sokkary G. H. // *J. Pineal Res.* – 1998. – V.25. – P.184–91.
20. Заславская Р. М. Мелатонин (мелаксен) в комплексном лечении ишемической болезни сердца / Р. М. Заславская, Г. В. Лилица, Э. А. Щербань // *Практикующий врач.* – 2006. – № 2. – С. 14–19.
21. Чуян Е. Н. Влияние хронического гипокинетического стресса на тканевую микрогемодинамику / Е. Н. Чуян, М. Ю. Раваева // *Российский физиологический журнал имени И. М. Сеченова.* – 2015. – Т. 101, № 3. – С. 316–325.

## THE ROLE OF MELATONIN IN THE REGULATION OF MICROGEMODYNAMICS

*Ravaeva M. Y., Chuyan E. N., Pavlova L. V.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation  
E-mail: m-ravaeva@rambler.ru*

A method of laser Doppler flowmetry found that when daily 10-times with administration of melatonin (1 mg / kg) was observed change oscillator indicators tissue microhemodynamics, indicating an increase in perfusion of peripheral tissues and blood flow modulation in microvessels by improving endothelium-independent vasodilation, reduced peripheral resistance, increase blood flow in the microvasculature and Nutritional improvement venular outflow. Possible mechanisms of action of melatonin on tissue microhemodynamics.

The introduction of exogenous MT led to an improvement in tissue microhemodynamics due to an increase in endothelium-independent vasodilatation, a decrease in the activity of sympathetic adrenergic vasomotors and a decrease in peripheral resistance, an increase in blood flow to the nutrient microvascular bed, and an improvement in venular outflow.

Our data are consistent with the literature data and significantly supplement them with information that the vasodilatation effect of MT is realized in its ability to influence (and / or modulate) all the links of the multilevel control of microhemodynamics in which the endothelial activity, neurogenic, myogenic, pulse and respiratory components of the oscillations are involved in the implementation of the vasodilating effect of MT.

The results of this experiment complement our previous studies, make a significant contribution to understanding the mechanisms of therapeutic efficacy of MT and demonstrate the promise of further studies of the effect of MT on microhemodynamics in various experimental models.

**Keywords:** laser Doppler flowmetry, tissue microhemodynamics, melatonin.

### References

1. Rapoport S. I., Malinovskaya N. K. Melatonin i serdechno-sosudistaya sistema. Terapevticheskiye vozmozhnosti melatonina u bol'nykh arterial'noy gipertenziyey, *RMZH*, 18, 3, 140 (2010).
2. Portaluppi F., Montanari L., Bagni B. et al. Circadian rhythms of atrial natriuretic peptide, blood pressure and heart rate in normal subjects, *Cardiology*, 76, 428 (1989).

3. Engel B. T., Talan M. I. Diurnal variations in central venous pressure, *Acta. Physiol. Scand.*, **141**, 273 (1991).
4. Viswanathan M., Laitinen J. T., Saavedra J. M. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**, 6200 (1990).
5. Stankov B., Capsoni S., Lucini V. et al. Autoradiographic localization of putative receptors in the brains of two old world primates: cercopithecus aethiops and papio ursinus, *Neuroscience*, **52**, 459 (1993).
6. Makolkin V. I., Bran'ko V. V., Bogdanova Ye. A. *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii v kardiologii*, Posobiye dlya vrachey, 48 (M.: Rossel'khozakademiya, 1999).
7. Kozlov V. I. *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii: posobiye dlya vrachey*, 201 (M. Meditsina. 2001).
8. Hoffman U., Yanar A., Bolinger A. The frequency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion. *Microvascul. Res.*, **40**, 293 (1990).
9. Stefanovska A., Bracic M. Physics of the human cardiovascular system, *Contemporary Physics.*, **40**, **1**, 31 (1999).
10. Schmid–Schonbein H., Ziege S., Grebe R. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations, *Int. J. Microcir.*, **17**, 346 (1997).
11. Arushanyan E. B. *Khronofarmakologiya na rubezhe vekov*, 575 (Stavropol', 2005).
12. Weekley L. B. Pharmacological studies on the mechanism of melatonin induced vasorelaxation in rat aorta, *J. Pineal Res.*, **19**, 133 (1995).
13. Satake N., Oe H., Sawada T., Shibata S. Vasorelaxing action of melatonin in rat isolated aorta: possible endothelium dependent relaxation, *Gen. Pharmacol.*, **22**, 1127 (1991).
14. Chuang J. I., Chen S. S., Lin M. T. Melatonin decrease brain serotonin release, arterial pressure and heart rate in rats, *Pharmacology.*, **47**, 91 (1993).
15. Martin F. G., Atienza G., Aldegunde M. [et al.] Melatonin effect on serotonin uptake and release in rat platelets diurnal variation in responsiveness, *Life Sci.*, **53**, **13**, 1079 (1993).
16. Yasin S., Bojanowska E., Forsling M. L. The in vivo effect of melatonin on neurohypophysial hormone release in the rat, *J. Physiol.*, **475**, 142 (1994).
17. Cagnacci A., Arangino S., Angiolucci M., et al. Potentially beneficial cardiovascular effects of melatonin administration in women, *J. Pineal Res.*, **22**, 16 (1997).
18. Xia C. M., Shao C. H., Xin L. [et al.] Effects of melatonin on blood pressure in stress-induced hypertension in rats, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **35**, **10**, 12 (2008).
19. Tan D. X., Manchester L. C., Reiter R. J., Qi W., Kim S. J., El–Sokkary G. H. Ischemia/reperfusion–induced arrhythmias in the isolated rat heart: prevention by melatonin, *J. Pineal Res.*, **25**, 184 (1998).
20. Zaslavskaya R. M., Lilitsa G. V., Shcherban' E. A. Melatonin (melaksen) v kompleksnom lechenii ishemiceskoy bolezni serdtsa, *Praktikuyushchiy vrach.*, **2**, 14 (2006).
21. Chuyan Ye. N., Ravayeva M. YU. Vliyaniye khronicheskogo gipokineticheskogo stressa na tkanevuyu mikrogemodinamiku, *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni I.M. Sechenova.*, **101**, **3**, 316 (2015).