

**УДК 57.01**

## **РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭНДОТЕЛИЯ**

*Раваева М. Ю., Чуюн 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 (1мг/кг) происходит достоверное увеличение функциональной активности эндотелия на 154 %, ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений, зарегистрированных у интактных животных. Это приводит к росту интегральных показателей микрогемодинамики, что свидетельствует об увеличении перфузии периферических тканей и модуляции кровотока в микрососудах за счет повышения эндотелий-зависимой вазодилатации. Рассматриваются возможные механизмы действия мелатонина на микрогемодинамику.

**Ключевые слова:** лазерная доплеровская флоуметрия, микрогемодинамика, функциональная активность эндотелия, мелатонин.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Повышенное внимание исследователей привлекают исследования регуляторной роли эпифиза и его основного гормона мелатонина (МТ) в различных физиологических функциях организма. Ключевая роль МТ определяется тем обстоятельством, что ритмам его продукции подчинены все эндогенные ритмы организма. В частности, наличие циркадианной ритмики артериального [1] и центрального венозного давления у людей [2] свидетельствует об участии МТ и в регуляции функций сердечно-сосудистой системы.

Однако на сегодняшний день получены противоречивые сведения о влиянии МТ на тонус сосудов. Одни исследования свидетельствуют о вазоконстрикторном действии МТ [3], другие, наоборот – вазодилаторном [4]. Амбивалентность действия МТ объясняется тем, что в сосудистой стенке идентифицированы две функционально различные субпопуляции МТ рецепторов. Как установлено с помощью меченого агониста йодмелатонина и ауторадиографии, низкие наномолярные концентрации МТ «запускают» МТ<sub>1</sub> рецепторы, ответственные за сужение сосудов, их расширение – следствие включения МТ<sub>2</sub> рецепторов при более высоком уровне гормона в крови [5].

В этой связи целью настоящего исследования явилась оценка характера влияния МТ в физиологических концентрациях (1мг/кг) на функциональную активность эндотелия у крыс линии Вистар.

## **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», норм биомедицинской этики.

Для экспериментов отбирали животных одинакового возраста, характеризующихся средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью в тесте «открытого поля». 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. Доза МТ выбрана в соответствии с данными литературы [6, 7].

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. ЛДФ-метрию проводили через 1 час после введения МТ (у экспериментальной группы) и физиологического раствора (у контрольной группы).

Поскольку метод ЛДФ-метрии является высокочувствительным, то для сведения к минимуму внешних помех крысу на время записи помещали в прозрачный пенал из оргстекла, ограничивающий подвижность животного. Размер пенала регулировался индивидуально и подбирался так, чтобы животное могло свободно дышать, и ни одна часть тела не была плотно зажата. Хвост крысы фиксировали на ровной поверхности на одной линии с телом в горизонтальном положении тканевым пластырем. Оптоволоконный зонд прибора «ЛАКК-02» также фиксировался тканевым пластырем перпендикулярно у основания хвоста. Запись сигнала велась, когда животное сидело неподвижно и спокойно.

В качестве параметров, анализируемых методом ЛДФ, регистрировали неосцилляторные показатели базального кровотока: показатель перфузии (ПМ, перф. ед.), среднее квадратичное отклонение (флакс, СКО, перф. ед.), коэффициент вариации (КВ, %) [8]. С помощью вейвлет-анализа ЛДФ-сигнала определяли амплитуду колебаний кровотока с низкой частотой (0,0095–0,02 Гц), которая характерна для эндотелиальных колебаний, обусловленных периодическими сокращениями цитоскелета эндотелиоцитов. Эндотелиальные колебания отражают воздействие гуморально-метаболических факторов на микрососудистое русло и характеризуют состояние нутритивного кровотока [9]. 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 у животных экспериментальной группы уже после однократного введения МТ существенно увеличивались амплитуды колебаний эндотелиального генеза (Аэ, на 23 %,  $p \leq 0,05$ ) относительно значений, зарегистрированных у интактных животных. Данная динамика сохранялась на протяжении последующих измерений и после 10-кратного введения МТ Аэ составила 154 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно показателей в контрольной группе животных. Поскольку Аэ синхронизированы с периодическим релизингом оксида азота (NO) эндотелием сосудов [10], то повышение данного показателя свидетельствует об увеличении секреции NO эндотелием и, как следствие, развитии эндотелий-зависимой вазодилатации.

Данные изменения микрогемодинамики нашли свое отражение в увеличении неосцилляторных показателей базального кровотока (рис.), динамика которых была схожа с таковой осцилляторных показателей. Так, после первого введения МТ наблюдалось достоверное увеличение ПМ на 29 % ( $p \leq 0,05$ ), СКО – на 25 % ( $p \leq 0,05$ ) и Кв – на 27 % ( $p \leq 0,05$ ), а после 10-кратного введения данные показатели увеличились соответственно на 44 % ( $p \leq 0,05$ ), 35 % ( $p \leq 0,05$ ) и на 28 % ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений этих показателей, зарегистрированных у животных контрольной группы, что указывает на увеличение перфузии крови и модуляцию кровотока во всех частотных диапазонах.

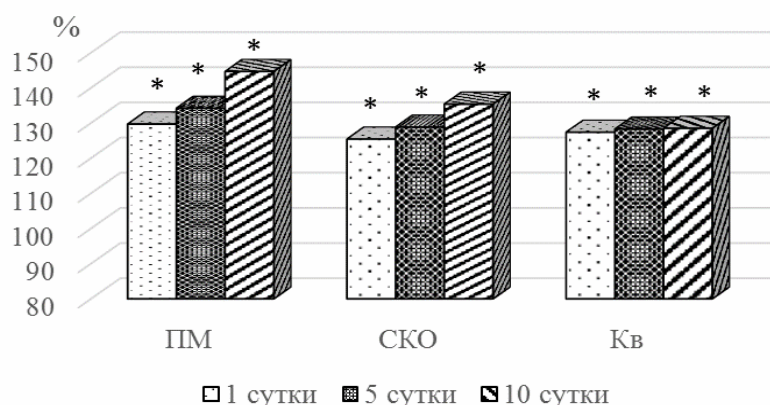


Рис. 1. Динамика неосцилляторных показателей микроциркуляции у животных после 1-, 5- и 10-кратного (соответственно 1, 5 и 10 сутки эксперимента) введения МТ, что соответствовало 1, 5 и 10 суткам эксперимента (в % по отношению к значениям данных показателей в контрольной группе, принятым за 100 %).

Таким образом, введение экзогенного МТ приводило к улучшению тканевой микрогемодинамики за счет увеличения эндотелий-зависимой вазодилатации, усилению метаболической активности эндотелия. Необходимо отметить, что увеличение кратности применения МТ привело к прогрессивному увеличению вазотропных реакций, и как следствие – снижению тонуса микрососудов, что согласуется с результатами исследований [11], которые показали, что в среднем на 5-е сутки введения МТ развивался стойкий эффект, являющийся гипотензивным.

Действительно, в большом числе исследований на животных в условиях повышенного тонуса артериальных сосудов *in vitro* и *in vivo* продемонстрировано, что МТ оказывает значимый сосудорасширяющий эффект [12]. В экспериментах на животных выявлено, что пинеалэктомия приводит к стойкому повышению артериального давления [13], уровень которого снижается до нормальных цифр при экзогенном введении МТ. У пинеалэктомизированных животных также определена повышенная чувствительность рецепторного аппарата сосудов к вазоконстрикторным агентам [14]. Совокупность экспериментальных и клинических данных является основанием называть МТ одним из главных эндогенных центральных гипотензивных факторов [15].

Выявлено, что экзогенное введение МТ достоверно увеличивает эндотелиальные осцилляции, что отражает увеличение метаболической активности эндотелия. Вероятно, это обусловлено стимулирующим влиянием МТ на продукцию NO-синтазы клетками эндотелия сосудов с последующим увеличением продукции оксида азота и вазодилатацией. Данный механизм показан в эксперименте на крысах со спонтанной гипертензией [16]. Кроме этого, отмечено повышение продукции оксида азота на фоне приема МТ по сравнению с исходным уровнем [17].

Показанное в настоящем исследовании увеличение неосцилляторных показателей микроциркуляции является интегральной характеристикой улучшения тканевой микрогемодинамики, вклад в которую могут вносить не только сосудистые осцилляции, но и реологические свойства крови. В пользу этого свидетельствуют данные о способности МТ замедлять агрегацию тромбоцитов, на которых обнаружены места его специфического связывания, через ограничение выработки тромбксана и, наоборот, активацию синтеза простаглицина. Показана прямая зависимость между уровнем гормона в крови людей, степенью дезагрегантного эффекта и подавления продукции тромбксана. Наконец, его способность подавлять высвобождение тромбоцитарного серотонина, обуславливающего сужение сосудов, служит дополнительным источником вазодилатации [18]. Кроме того, МТ может понижать периферическое сосудистое сопротивление току крови за счет своего антиатерогенного действия. Под влиянием гормона снижается плазменное содержание атерогенных липидов и тормозится их перекисное окисление [19].

Таким образом, МТ в физиологической дозе обладает способностью оказывать вазодилататорное действие на микрососуды. Вероятно, именно с непосредственным влиянием на микрогемодинамику связан его гипотензивный эффект при системной артериальной гипертензии. В то же время, как показали результаты настоящего исследования, МТ оказывает влияние и на внесосудистые компоненты регуляции

сосудистого тонуса, что подтверждает многочисленные сведения о его универсальном модулирующем действии на деятельность центральной нервной системы, а также периферических органов и тканей, демонстрируя высокий терапевтический потенциал при различных заболеваниях [20], особенно, связанных с нарушением циркадианной ритмики, к которым можно отнести практически все «болезни цивилизации».

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования вносят существенный вклад в понимание механизмов терапевтической эффективности МТ и демонстрируют перспективность дальнейших исследований действия МТ на микрогемодинамику в различных экспериментальных моделях.

*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. 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.
2. Engel B. T. Diurnal variations in central venous pressure. / Engel B. T., Talan M. I. // *Acta. Physiol. Scand.* – 1991. – V.141. – P.273–278.
3. Aarseth J. J. Melatonin potentiates the vasoconstrictive effect of noradrenalin in renal artery from newborn hooded seals and harp seals / J. J. Aarseth, E. S. Nordog, K. A. Stokkan // *J. Comp. Physiol.* – 2001. – Vol. 171, №6. – P. 491–496.
4. Weekley L. B. Pharmacologic studies on the mechanism of melatonin-induced vasorelaxation in rat aorta. / Weekley L. B. // *J. Pineal Res.* – 1995. – V. 19. – P.133–138.
5. Doolen S. Melatonin mediates two distinct responses in vascular smooth muscle / S. Doolen, D. N. Krause, M. Dubocovich // *Eur.J. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 345. – P. 67–69.
6. Canpolat S. Effects of melatonin on catecholaminergic neurotransmitters in brain areas regulating food intake in the female rat / Canpolat S., Sandal S., Kutlu S., Aydin M., Yilmaz B., Kelestimur H. // *Endocrine Abstratscs.* – 2004. – Vol. 7. – P. 160.
7. Chen H. M. Melatonin reduces pancreatic prostaglandins production and protects against caerulein-induced pancreatitis in rats / Chen H. M., Chen J. C., Ng C. J., Chen M. F. // *J. Pineal Res.* – 2006. – Vol. 40, No 1. – P. 34–39.
8. 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.

9. 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.
10. Engel B. T. Diurnal variations in central venous pressure. / Engel B. T., Talan M. I. // *Acta. Physiol. Scand.* – 1991. – V. 141. – P.273–278.
11. 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.
12. 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.
13. Маколкин В. И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии / В. И. Маколкин, В. В. Бранько, Э. А. Богданова // Пособие для врачей. – М.: Россельхозакадемия, 1999. – 48 с.
14. Козлов В. И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии: пособие для врачей. / Козлов В. И. // М.: Медицина, 2001. – 201 с.
15. 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. – V. 40. – P. 293–301.
16. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system / A. Stefanovska, M. Bracic // *Contemporary Physics*. – 1999. – V. 40, №1. – P. 31–35.
17. 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., Grebe R. // *Int. J. Microcir.* 1997. – V.17. – P. 346–359.
18. Арушанян Э. Б. Хронофармакология на рубеже веков / Э. Б. Арушанян. – Ставрополь, 2005. – 575 с.
19. 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.
20. Satake N. 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.

## **THE ROLE OF MELATONIN IN THE REGULATION OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENDOTHELIAL**

*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 by 10 times with daily administration of melatonin (1 mg / kg) there is a significant increase in functional activity of endothelial 154 %, ( $p \leq 0,05$ ) relative values recorded in intact animals. This leads to the growth of integrated indicators microhemodynamics, indicating that increase peripheral tissue perfusion and blood flow in microvessels modulation by increasing the endothelium-dependent vasodilatation. Possible mechanisms of action of melatonin on microhemodynamics.

MT in a physiological dose has the ability to exert a vasodilator effect on microvessels. Probably, it is with direct influence on microhemodynamics that its hypotensive effect is associated with systemic arterial hypertension. At the same time, as the results of this study have shown, MT also affects the extravascular components of vascular tone regulation, which confirms numerous data on its universal modulatory effect on the activity of the central nervous system and peripheral organs and tissues, demonstrating the high therapeutic potential in various diseases, especially associated

with the disruption of circadian rhythm, to which almost all "diseases of civilization" can be attributed.

The results of our study make a significant contribution to understanding the mechanisms of therapeutic effectiveness of MT and demonstrate the promise of further studies of the effect of MT on microhemodynamics in various experimental models.

**Keywords:** laser Doppler flowmetry, microhemodynamics, functional endothelial activity of melatonin.

### References

1. 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).
2. Engel B. T., Talan M. I. Diurnal variations in central venous pressure, *Acta. Physiol. Scand.*, **141**, 273 (1991).
3. Aarseth J. J., Nordog E. S., Stokkan K. A. Melatonin potentiates the vasoconstrictive effect of noradrenalin in renal artery from newborn hooded seals and harp seals, *J. Comp. Physiol.*, **171**, **6**, 491 (2001).
4. Weekley L.B. Pharmacologic studies on the mechanism of melatonin-induced vasorelaxation in rat aorta, *J. Pineal Res.*, **19**, 133 (1995).
5. Doolen, S. Melatonin mediates two distinct responses in vascular smooth muscle / S. Doolen, D.N. Krause, M. Dubocovich, *Eur.J. Pharmacol.*, **345**, 67 (1998).
6. Canpolat S., Sandal S., Kutlu S., Aydin M., Yilmaz B., Kelestimur H. Effects of melatonin on catecholaminergic neurotransmitters in brain areas regulating food intake in the female rat, *Endocrine Abstracts.*, **7**, 160 (2004).
7. Chen H. M., Chen J. C., Ng C. J., Chen M. F. Melatonin reduces pancreatic prostaglandins production and protects against caerulein-induced pancreatitis in rats, *J. Pineal Res.*, **40**, **1**, 34 (2006).
8. Rapoport S. I., Malinovskaya N. K. Melatonin i serdechno-sosudistaya sistema. Terapevticheskiye vozmozhnosti melatoninu bol'nykh arterial'noy gipertenziyey, *RMZH*, **18**, **3**, 140 (2010).
9. 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).
10. Engel B. T., Talan M. I. Diurnal variations in central venous pressure, *Acta. Physiol. Scand.*, **141**, 273 (1991).
11. 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).
12. 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).
13. Makolkin V.I. Bran'ko V.V., Bogdanova È.A. *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii v kardiologii*, Posobiye dlya vrachey, 48 (M.: Rossel'khozakademiya, 1999).
14. Kozlov V. I. *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii: posobiye dlya vrachey*, 201 (M. Meditsina. 2001).
15. 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).
16. Stefanovska A., Bracic M. Physics of the human cardiovascular system, *Contemporary Physics.*, **40**, **1**, 31 (1999).
17. 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).
18. Arushanyan E. B. *Khronofarmakologiya na rubezhe vekov*, 575 (Stavropol'. 2005).
19. Weekley, L.B. Pharmacological studies on the mechanism of melatonin induced vasorelaxation in rat aorta, *J. Pineal Res.*, **19**, 133 (1995).
20. 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).