

© Л.Д.Чеботар, О.І.Цебржинський

УДК 612.172+612.176+612.4

Л.Д.Чеботар, О.І.Цебржинський

## МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА СЕРЦЕ

Миколаївський національний університет імені В.О.Сухомлинського (м. Миколаїв)

Робота виконана в рамках теми «Вплив мелатоніну на функції систем організму» (№ держреєстрації 0106U002994).

**Вступ.** Відомо, що мелатонін є універсальним ендогенним адаптогеном [6; 9], має антиоксидантні [24], імуномодулюючі властивості, а зниження його продукції при порушенні світлового режиму супроводжується ознаками прискороеного старіння та збільшенням ризику розвитку новоутворень [13]. Відомі його кардіопротективні ефекти при хворобах серця завдяки антиішемічній та антигіпертензивній дії [11].

Отже, важливим напрямом сучасної біології та медицини є дослідження ролі мелатоніну у процесах регуляції функцій та адаптації організмів [3; 5; 6; 21]. Це обумовлено його різноманітними властивостями, які реалізуються через рецептори мембран клітин практично всіх органів та тканин [11; 23] і можуть широко використовуватися для корекції патологічних станів [14].

Загально визнано, що епіфіз та його гормон мелатонін є важливим компонентом циркадної системи і продукція мелатоніну в організмі значною мірою обумовлена рівнем освітленості. Низька нічна продукція мелатоніну, кардіальний синдром, у хворих зі стенокардією покою порівняно з хворими стенокардією напруження свідчать про можливу роль порушення продукції мелатоніну у патогенетичних механізмах коронарної патології [14].

Оскільки важливою медичною і соціально-економічною проблемою України і всього світу залишаються захворювання серцево-судинної системи, вивчення дії мелатоніну на серцево-судинну систему відкриває нові можливості у корекції функціонального стану серця [2; 8; 14; 24].

Загально відома також роль стресу в розвитку серцево-судинних порушень [7]. Фундаментальним виявом негативної дії стресу на клітинному рівні є підсилення процесів вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) [16]. Ключовою ланкою в патогенезі серцево-судинних захворювань є зміна балансу у прооксидантно-антиоксидантній системі з переважанням неферментативного ВРПО біополімерів, яке ініціюється генерацією активних форм кисню і лімітується антиоксидантним захистом (АОЗ). Отже, інтенсивність синтезу мелатоніну, який має сильний антиоксидантний ефект, може значно змінюватись в умовах різної освітленості, що впливає на стан антиоксидантної системи серця.

На сьогодні залишаються відсутні дані про вплив недостатньої кількості або надлишку мелатоніну на зміни прооксидантно-антиоксидантної системи (ПАС), від стану якої залежить функціонування серцево-судинної системи. З огляду на

це, доцільним є вивчення функціонування серцево-судинної системи, стану пероксидації у ній, клітинних порушень в умовах гіпермелатонінемії або гіпомелатонінемії.

Мета даної роботи – визначити функціональні, біохімічні, морфологічні особливості серця при нестачі та надлишку мелатоніну в організмі тварин.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконані на 101 статевозрілому білому щурі – самці лінії Wistar масою 220-260 г. Тварин утримували у віварії на стандартному раціоні. Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням принципів „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Було проведено дві серії експериментів: вивчення впливу короткотривалих та довготривалих гіпо- та гіпермелатонінемії.

Гіпофункцію епіфізу викликали цілодобовим освітленням інтенсивністю 1000-1500 Лк двома лампами з обох боків клітки [21]. Гіпермелатонінемію викликали пероральним введенням водного розчину мелатоніну у дозах 0,3 мг на кг маси тіла щурів на добу – 5 або 55 діб та 1,0 мг/кг добу – 10 діб [4]. Функціональний стан серця оцінювали за зміною біоелектричної активності серця методом електрокардіографії (ЕКГ) [18]. Механічну роботу серця оцінювали за низкою гемодинамічних показників: хвилинному об'єму крові і частоті серцевих скорочень (ЧСС), які визначали реографічним методом за допомогою 8-канального поліграфа П84-01 [15].

Стан ПАС у міокарді аналізували за концентрацій первинних (дієнові кон'югати) і вторинних (малоновий діальдегід – МДА) продуктів ВРПО, активностей супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази, вмісту відновлених глутатіону та аскорбінової кислоти. У сироватці крові визначали параметри індикаторів пошкодження серцевого м'яза – активності аспартатамінотрансферази (АсАт), креатинінфосфокинази (КФК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), вміст креатиніну за допомогою біохімічного аналізатора (Super-Z-818 – Міцубісі, Японія, реактиви тест-систем фірми Хормен, Германія). Ступінь структурних порушень оцінювали за результатами світлової мікроскопії [17; 20]: проводився загальний огляд препаратів і визначення патологій мітозів [1; 12]. Визначали наявність апоптозів шляхом електрофорезу ДНК, яка була виділена з серця щурів. Отримані цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням для оцінки ймовірності різниць окремих груп даних за критерієм Ст'юдента. За статистично достовірні вважали зміни при  $p < 0,05$ .

### Результати досліджень та їх обговорення.

Електрофізіологічні, біохімічні, гістологічні дослідження серця при гіпо- та гіпермелатонінемічних станах різної тривалості, дозволили встановити зміни стану ПАС та гістологічних характеристик міокарда різного ступеню вираженості та спрямованості. При цьому суттєвих змін ЕКГ-показників та показників скоротливої здатності міокарду в умовах короткотривалої гіпо- та гіпермелатонінемії не виявлено.

Насамперед треба відзначити, що найбільш вагомими змінами при усіх змодельованих станах спостерігалися при тривалих термінах. Так, короткотривала гіпомелатонінемія не викликала суттєвих змін ані з боку функціональних показників діяльності і фізіологічних властивостей міокарду (ЧСС, ХОК, ЕКГ-показники), ані з боку майже всіх біохімічних показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи, ані пошкодження міокарду по підвищенню активності маркерів або гістологічно.

Результати вивчення впливу п'ятидобової гіпермелатонінемії на функціональний стан серця не виявили суттєвих змін значень приросту МДА без стимуляції пероксидації та за умов стимуляції аскорбінатом або НАДФН. Також не змінилася активності АсАт, СОД та концентрація білка у гомогенаті, але спостерігалася деяке підвищення активності каталази (на 13%). Інакше кажучи, короткотривала гіпермелатонінемія не призводила до будь-яких суттєвих змін функціональних та біохімічних показників серця. У той же час гістологічні дослідження виявили у кардіоміоцитах часткову гомогенізацію лізосом, паренхіматозну дистрофію з пікнозом ядер; навколо м'язових волокон спостерігалася утворення пучків ніжноволокнистої сполучної тканини, а артеріоли серця мали ознаки спазму та лімфогістіоцитарної інфільтрації біля новоутвореної сполучної тканини. Тобто, виникали умови для розвитку периваскулярного та осередкового кардіосклерозу. При цьому майже відсутніми були клітини у стані мітозу та не спостерігалися явні патології мітозу. Електрофорез ДНК кардіоміоцитів за 1,5 та 3 години не виявив ознак апоптозу.

Таким чином, при 5-добових гіпо- та гіпермелатонінеміях суттєвих змін ЕКГ-показників і змін прооксидантно-антиоксидантного балансу не було відзначено, але спостерігалися деякі гістологічні відмінності. Відомо, що дія стрес-чинників різного походження викликає розвиток неспецифічного адаптаційного синдрому [22], який складається у щурів з трьох стадій різної тривалості [10; 16; 19]. При цьому класична "реакція тривоги" протікає протягом перших двох тижнів, а специфічні ознаки адаптації до чинника відповідно його походженню краще проявляються майже через два місяці.

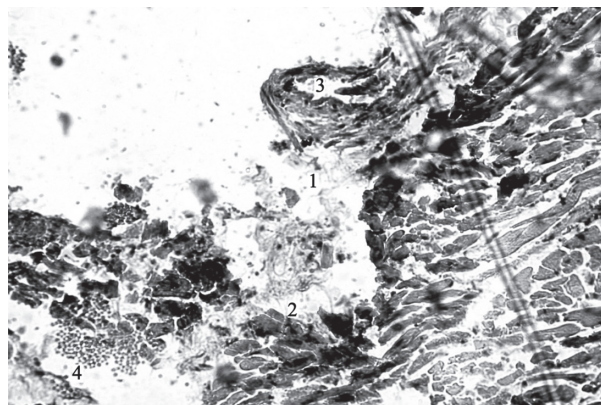
Дійсно, при короткотривалих гіпо- та гіпермелатонінемії спостерігали майже відсутність суттєвих змін з боку фізіологічних показників, які характеризують функціонування серця та біохімічні процеси в ньому. Певним чином, це можна розцінювати як ознаки схожості, неспецифічні при такому короткому

терміні дії чинника. У той же час деякі розбіжності в гістологічних змінах можуть свідчити про те, що на цьому рівні і при короткочасній гіпо- та гіпермелатонінемії вже відбуваються певні специфічні зміни, які, ймовірно, є основою майбутніх фізіологічних відмінностей.

Виходячи з вище викладеного, для більш чіткого визначення ролі мелатоніну були вивчені впливи станів гіпо- та гіпермелатонінемії більшої тривалості (55 діб).

При 55-добовому штучному освітленні спостерігалися суттєві зміни ПАС серця: посилення процесів пероксидації та послаблення антиоксидантного захисту, що збігається з відомими даними про перебіг біохімічних процесів при дії стрес-факторів [19].

Згідно результатам гістологічних досліджень встановлено, що при хронічній гіпомелатонінемії була збільшена кількість мітозів сполучнотканинних клітин, набряк клітин, скупчення лейкоцитів біля зон ішемій, викликаних розширенням капілярів та



**Рис. 1. Порушення мікроциркуляції у міокарді щурів при довготривалій гіпомелатонінемії:**  
**1 – периваскулярна сполучна тканина;**  
**2 – кардіоміоцити у стані поділу;**  
**3 – десквамація ендотеліальних клітин у просвіт судин;**  
**4 – мілко-краплинний крововилив у паренхіму органу.**  
**Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення: Об. х 20. Ок. 10 х.**

стазом. Мітотичний індекс збільшений, але гальмування мітозів проходить у метафазі (**рис. 1**).

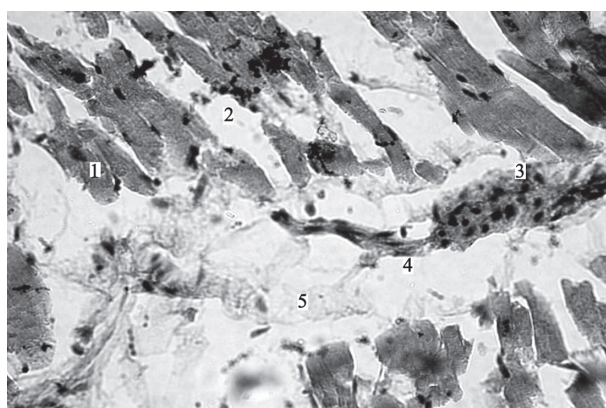
Отже, штучне цілодобове освітлення, яке призводить до нестачі мелатоніну, сприяє порушенню балансу ПАС у бік активації прооксидантної ланки, а також підвищує мітотичну активність клітин, що підтверджує здатність мелатоніну до підвищення антиоксидантного захисту [24] та регенераторної здатності тканин.

У той же час, довготривала гіпермелатонінемія не викликала яскравих змін досліджуваних біохімічних показників. Так, внаслідок хронічної гіпермелатонінемії коефіцієнт маси серця, вміст вторинних продуктів пероксидації, активність СОД, концентрації відновлених та окислених форм глутатіону та аскорбінової кислоти суттєво не змінилися у порівнянні зі значенням норми. Але з тенденцією до

достовірності збільшилася активність каталази у міокарді, що може бути пояснено впливом на експресію її гену. Активність АсАт, ЛДГ у сироватці крові не змінилися, але знизилася активність КФК та креатиніну.

Таким чином, на підставі змін активності каталази, КФК та креатиніну можна вважати, що мелатонін певним чином посилював антиоксидантний захист у серці, а також сприяв стабілізації мембран кардіоміоцитів та економній енергетиці м'язових тканин.

У той же час гістологічна картина вказує на порушення просторового розташування волокон м'язів серця, розростання молодого сполучної тканини за рахунок активації генерації фібробластів (**рис. 2**).



**Рис. 2. Формування молоді сполучної тканини у серці щурів при гіпермелатоніемії:**  
**1 – кардіоміоцит;**  
**2 – між'язові простори;**  
**3 – скупчення фібробластів;**  
**4 – фіброцит;**  
**5 – колагенові волокна.**  
**Забарвлення гематоксиліном та еозином.**  
**Збільшення: Об. х 40. Ок. 10 х.**

З другого боку мітотичний індекс при хронічній гіпермелатоніемії був майже вдвічі менший ніж при гіпомелатоніемії, що підтверджує його антимітотичні властивості, які лежать в основі його антиканцерогенної дії [3].

Співставлення результатів дослідження коротко- і довготривалих гіпо- та гіпермелатоніемії свідчить, що при короткотривалих станах суттєвих змін стану ПАС не відбувалося, довготривалі стани характеризувалися певною мірою протилежними за характером змінами: активацією прооксидантної ланки при гіпомелатоніемії та майже відсутністю змін ПАС в умовах гіпермелатоніемії.

Це дозволяє прийти до висновку про не специфічність змін, які відбуваються при гіпо- та гіпермелатоніемії на коротких строках. У той же час при великих строках (55 дб) проявляються не стільки безпосередньо ефекти мелатоніну, як антиоксиданта, скільки негативні зміни при його нестачі, що свідчить про прояви специфіки цих станів і підтверджує, що перебіг подій які відбуваються при цих станах, обумовлений певною мірою розвитком адаптаційного стрес-синдрому.

**Висновки.** Узагальнюючи результати дослідження функціонального стану серця при нестачі та надлишку мелатоніну можна сказати, що вони певним чином підтверджують його сприятливі властивості, але введення мелатоніну безпосередньо в організм викликає скоріше несприятливі зміни в функціональному стані серця, що є цілком зрозумілим. Вочевидь, спостерігати позитивну дію мелатоніну можливо у тих випадках, коли має місце те чи інше порушення ПАС або інших процесів в функціонуванні серця.

**Перспективи подальших досліджень.** У майбутньому планується визначити гістологічні зміни міокарду при інших термінах та дозах гіпо- та гіпермелатоніеміях.

### Список літератури

1. Алов И. А. Цитофизиология і патология мітозу / Алов И. А. – М.: Медицина, 1972. – 262 с.
2. Амосова Е. Н. Рекомендации Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению стабильной стенокардии: что нового? / Амосова Е. Н. // Терапія. – 2006. – № 11. – С. 5–12.
3. Анисимов В. Н. Мелатонин: роль в организме, применение в клинике / Анисимов В. Н. – СПб.: Изд.-во «Система», 2007. – 40 с.
4. Анисимов С. В. Генетические аспекты биологии мелатонина / Анисимов С. В., Половик Н. // XII Росс. научн. конгресс «Человек и лекарство», 18-22 апреля 2005 г. – М., 2005. – С. 733.
5. Арушанян Э. Б. Эпифизарный мелатонин как естественный ноотропный агент. Современные аспекты хронофизиологии и хронофармакологии / Арушанян Э. Б. – Ставрополь, 2004. – 245 с.
6. Арушанян Э. Б. Место гиппокампа в биологической организации поведения / Арушанян Э. Б., Бейер Э. В. // Успехи физиол. наук. – 2001. – Т. 32. – С. 79–95.
7. Баевский Р. М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе / Баевский Р. М., Кириллов О. И., Клецкин С. М. – М.: Наука, 1984. – С. 220.
8. Барабой В. А. Биоантиоксиданты / Барабой В. А. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
9. Бейер Э. В. Влияние различных анксиолитиков на тревожные состояния, возникающие у крыс после прекращения электрической стимуляции дорсального гиппокампа / Бейер Э. В., Арушанян Э. Б. // Экспер. и клин. фармакол. – 1999. – Т. 62. – С. 7–10.
10. Евстафьева Е. В. Изменения показателей липидного обмена и системы крови у крыс при адаптации к гипокинезии: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. биол. наук: спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных» / Евстафьева Елена Владимировна; Институт физиологии имени И. П. Павлова АН СССР. – Ленинград, 1985. – 23 с., вкл. обл., 6 ил. – Библиогр.: с. 22–23.
11. Заславская Р. М. Хронодиагностика и хронотерапия заболеваний сердечно-сосудистой системы / Заславская Р. М. // Москва: Медицина, 1991. – 319 с.
12. Казанцева И. А. Патология мітозу в пухлинах людини / Казанцева И. А. – Новосибирск: Наука, 1981. – 144 с.

13. Кветная Т. В. Мелатонин: роль и значение в возрастной патологии / Кветная Т. В., Князькин И. В. – СПб.: ВмедА, 2003. – 93 с.
14. Малиновская Н. К. Роль мелатонина в организме человека / Малиновская Н. К. // Клиническая медицина. – 1998. – № 10. – С. 15–22.
15. Матвейков Г. П. Клиническая реография / Матвейков Г. П., Пшоник С. С. – Минск, 1976. – 176 с.
16. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Меерсон Ф. З. – М.: Медицина, 1984. – 269 с.
17. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / Под ред. Саркисова Д. С., Перова Ю. Л. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
18. Мурашко В. В. Электрокардиография / Мурашко В. В., Струтынский А. В. – М.: Медицина, 1991. – 288 с.
19. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса / Панин Л. Е. – Новосибирск.: Наука, 1983. – 234 с.
20. Пирс Э. Гистохимия / Пирс Э. – М.: Мир, 1962. – 962 с.
21. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / Пішак В. П. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152 с.
22. Селье Г. Стресс без дистресса / Селье Г. – Рига: Виєда, 1992. – 102 с.
23. Смирнов А. Н. Ядерные рецепторы мелатонина / Смирнов А. Н. // Биохимия. – 2001. – Т. 66, № 1. – С. 28–36.
24. Reiter R. J. Melatonin: that ubiquitously acting pineal hormone / Reiter R. J. // News Physiol. Sci. – 1991. – Vol. 6. – P. 223–228.

**УДК 612.172+612.176+612.4**

### **МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА СЕРЦЕ**

**Чеботар Л.Д., Цебржинський О.І.**

**Резюме.** Експериментальні дослідження функціонування серця 101 щура виявили істотні зміни прооксидантно-антиоксидантної системи серця, морфологічних характеристик міокарду, які виникали на різних термінах спостереження, а також електрокардіографічних показників на тлі гіпо- і гіпермелатоніемії.

**Ключові слова:** гіпермелатоніемія, гіпомелатоніемія, прооксидантно-антиоксидантна система, електрокардіографія, гістологія серця.

**УДК 612.172+612.176+612.4**

### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАТОНИНА НА СЕРДЦЕ**

**Чеботарь Л.Д., Цебржинский О.И.**

**Резюме.** Экспериментальные исследования функционирования сердца 101 крысы в условиях коротко- и длительного недостатка и избытка мелатонина показали существенные изменения прооксидантно-антиоксидантной системы сердца, морфологических характеристик миокарда, а также электрокардиографических показателей которые возникали на разных сроках наблюдения.

**Ключевые слова:** гипермелатонинемия, гипомелатонинемия, прооксидантно-антиоксидантная система, электрокардиография, гистология сердца.

**UDC 612.172+612.176+612.4**

### **Morphofunctional Effects Of Melatonin Heart**

**Chebotar L.D., Tsebrzhinsky O.I.**

**Summary.** Experimental investigations of 101 rats' hearts functioning showed essential changes of prooxidant-antioxidant heart system, of morphological characteristics, the changes were seen in electrocardiographic indexes of at different terms of investigations .

**Key words:** hypermelatoninemia, hypermelatoninemia, prooxidant-antioxidant system, electrocardiography, heart's histology.

Стаття надійшла 7.07.2011 р.