

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТОВ МЕЛАТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПРОФИЛЬ ЭКСКРЕЦИИ 6-СУЛЬФАТОКСИМЕЛАТОНИНА У КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ КОМБИНИРОВАННОМУ СТРЕССУ

А. С. Тарасов¹, В. В. Степанова¹, Е. И. Морковин^{1,2}

¹Волгоградский государственный медицинский университет,

²Волгоградский медицинский научный центр

В статье приводятся данные о влиянии фабомотизола и мелатонина на экскрецию 6-сульфатоксимелатонина у крыс на фоне комбинированного стресса. Обнаружено, что агонисты мелатониновых рецепторов могут смягчать дезадаптацию мелатонинэргической системы, вызванной хроническим, но не острым стрессирующим воздействием.

Ключевые слова: мелатонин, дезадаптация, стресс, метаболизм.

EFFECTS OF MELATONIN AGONISTS ON 6-SULFATOXYMELATONIN EXCRETION PROFILE IN RATS EXPOSED TO COMBINED STRESS

Tarasov A. S.¹, Stepanova V. V.¹, Morkovin E. I.^{1,2}

¹SFEE HPE «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Public Health of the Russian Federation,

²Volgograd Medical Research Center

This article describes the effects of fabomotizole and melatonin on excretion of 6-sulfatoxymelatonin in rats exposed to combined stress. We found that melatonin agonists can mitigate maladaptation of melatonergic system following exposure to chronic rather than acute stress.

Key words: melatonin, maladaptation, stress, metabolism.

Значение дезадаптации, связанной со стрессом различного происхождения, непрерывно возрастает в современном обществе [1]. Это способствует возникновению конфликтных ситуаций, в условиях которых появляются неврологические и вегетативные нарушения, ведущие к снижению выработки мелатонина, внутреннего синхронизатора биологических ритмов. Изменения в секреции мелатонина могут отражать как срыв адаптационных процессов, так и их восстановление [1, 3, 4], что может быть применено в ходе доклинических испытаний лекарственных средств для уточнения их влияния на мелатонинэргическую систему.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение показателей экскреции 6-сульфатоксимелатонина (6-СМТ), основного метаболита мелатонина, у крыс, подвергнутых стрессирующему воздействию на фоне введения известных агонистов мелатониновых рецепторов — мелатонина и фабомотизола.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проводилось на 24 половозрелых крысах самцах линии Wistar массой

(250 ± 30) г, содержащихся на экологичном водно-зерновом рационе в стандартных условиях вивария НИИ фармакологии ВолгГМУ. Животные были рандомизированы и разделены на 4 группы в соответствии с типом воздействия и терапией. Первую группу составили животные, не подвергавшиеся стрессирующему воздействию и не получавшие каких-либо препаратов, то есть интактный контроль. Оставшиеся группы подвергались стрессирующему воздействию на фоне интрагастрального введения дистиллированной воды (экспериментальный контроль) и агонистов мелатониновых рецепторов — мелатонина (3 мг/кг, Мелаксен, Юнифарм, США) и фабомотизола (10 мг/кг, Афобазол, ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия). Вещества вводились в виде водных растворов ежедневно за 3 часа до проведения каких-либо тестов, что соответствует 9 периодам полувыведения мелатонина у крыс ($T_{1/2} = 19,8$ мин) [8].

Животные тестировались в течение четырех недель (рис. 1). В ходе второй недели в экспериментальных группах проводилось моделирование хронического стресса при помощи кратковременных стрессогенных воздействий [5, 6], а в конце четвертой недели было проведено острое стрессирование путем подвешивания за холку

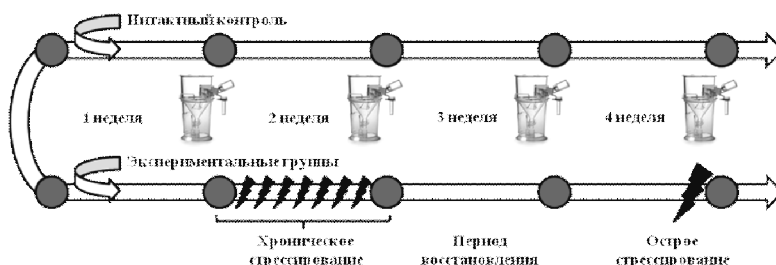


Рис. 1. Схема проводимого эксперимента

с использованием атравматичных зажимов. В конце каждой недели животные взвешивались и помещались в метаболические клетки для суточного сбора мочи.

Определение 6-CMT в моче проводилось с помощью реагентов Buhlmann EK-M6S (Buhlmann, Швейцария), предназначенных для иммуноферментного анализа. Оптическая плотность измерялась при длине волны 450 нм с помощью мультидетектора Zenyth 1100 (Biochrom). Далее вычислялась относительная оптическая плотность образцов в виде процентного соотношения оптической плотности образца с показателем нулевого калибратора (B/B_0 , %). По результатам вычислений была построена стандартная кривая зависимости оптической плотности от концентрации 6-CMT (в нг/мл) (рис. 2). Индивидуальная экскреция 6-CMT для каждого животного рассчитывалась по формуле: $CI = C \cdot V / m$ (нг/кг), где C — концентрация 6-CMT в моче (нг/мл), V — объем мочи (мл), собранный за сутки, m — масса животного (кг).

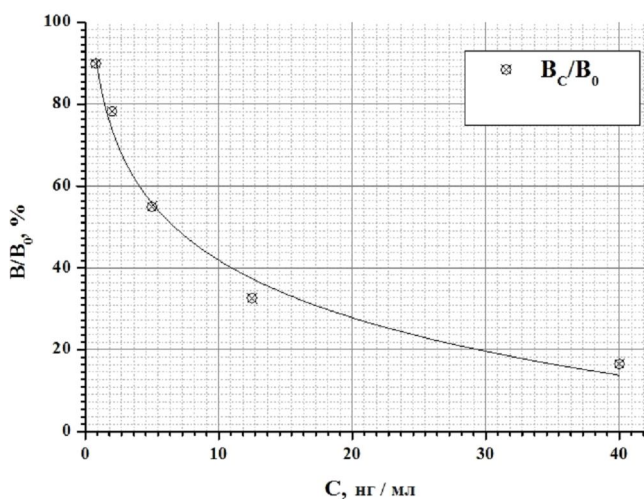


Рис. 2. Стандартная кривая: относительная оптическая плотность образцов (B/B_0 , %) и концентрации 6-CMT в калибровочных лунках

Для оценки функционального состояния почек у экспериментальных животных проводилось фотометрическое определение концентрации креатинина в моче.

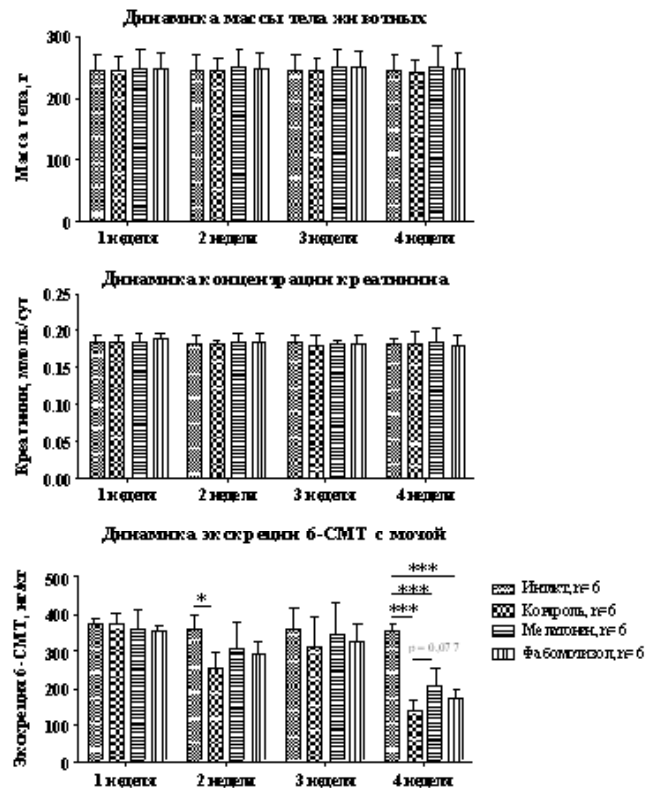
Статистическая обработка производилась с помощью программ MS Excel (Microsoft, США), GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., США) и Statistica 8.0 (StatSoft, США); проверка распределения на нормальность осуществлялась по критерию Колмогорова-Смирнова, межгрупповые различия оценивались с помощью двухфакторного дисперсионного анализа с пост-хок тестом Ньюмена-Кеулса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основные результаты работы представлены на рис. 3. Отсутствие достоверных различий в концентрациях креатинина в моче у животных в течение всего эксперимента говорит о нормальном функциониро-

вании почек. Значимых различий в динамике массы тела не наблюдалось, что говорит об отсутствии выраженной депрессивной симптоматики, сопровождающейся отказом от пищи. Таким образом, изменение показателей экскреции 6-CMT в ходе эксперимента могло быть связано лишь с видом предшествовавшего стрессорного воздействия и с вводимым веществом.

На фоне семидневного комбинированного воздействия, достаточного для развития выраженной дезадаптации [2, 7], в экспериментальных группах происходило снижение экскреции 6-CMT, наиболее выраженное у контрольной группы, получавшей дистиллированную воду (30 % от исходных значений, $p = 0,010548$ по сравнению с интактной группой). Эти изменения не были достоверны в группах, получавших мелатонин и фабомотизол ($p = 0,591456$ и $p = 0,225197$ соответственно по сравнению с интактной группой), что свидетельствует в пользу способности агонистов мелатониновых рецепторов облегчать явления дезадаптации мелатонинэргической системы на фоне комбинированного хронического стресса. Период восстановления сопровождался недостоверным ростом экскреции 6-CMT во всех экспериментальных группах и исчезновением достоверных различий между интактным и экспериментальным контролем ($p = 0,649531$). Такие изменения говорят об отсутствии выраженных различий в активности фабомотизола и мелатонина в ближайшем периоде восстановления.



Примечание: данные представлены в виде $M \pm s$; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ (двухфакторный дисперсионный анализ, пост-хок тест Ньюмена-Кеулса).

Рис. 3. Результаты эксперимента

После моделирования острого стресса в конце четвертой недели произошло резкое снижение экскреции 6-СМТ во всех экспериментальных группах ($p < 0,001$ по сравнению с интактным контролем). При этом достоверных различий между экспериментальными группами обнаружено не было, что может быть связано с неспособностью агонистов мелатониновых рецепторов предупреждать развитие дезадаптации, возникающей на фоне острого стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы была изучена динамика экскреции 6-СМТ с мочой крыс, подвергнутых комбинированному стрессирующему воздействию на фоне введения агонистов мелатониновых рецепторов. Была обнаружена способность мелатонина и фабомотизола смягчать проявления дезадаптации мелатонинэргической системы, вызванной хроническим, но не острым стрессирующим воздействием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н. А., Петров В. И., Радыш И. В., Краюшкин С. И. Хронофизиология, хронофармакология и хронотерапия. — Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005 — 336 с.

2. Волотова Е. В., Куркин Д. В., Бакулин Д. А., Филина И. С., Тюренков И. Н. // Вестник ВолгГМУ. — 2014. — № 1 (49). — С. 23—25.

3. Морковин Е. И. // Вестник ВолгГМУ. — 2012. — № 3. — С. 34—37.

4. Морковин Е. И. // Наука и Мир. — 2014. — Т. 2, № 11 (15). — С. 142—143.

5. Морковин Е. И., Тарасов А. С., Степанова В. В., Неделько Е. А. // Междунар. ж. приклад. и фундам. иссл. — 2014. — № 12—1. — С. 115—118.

6. Тарасов А. С., Морковин Е. И., Степанова В. В. // Фармация и фармакология. — 2015. — № 3 (10). — С. 66—68.

7. Тюренков И. Н., Багметова В. В., Чернышева Ю. В., Бородин Д. Д. // Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова. — 2013. — Т. 99, № 9. — С. 1045—1056.

8. Yelawar K., McLaughlin L. G., Knipe J. O., Schabach D. // J. Pineal Res. — 1997. — Vol. 22. — P. 45—51.

Контактная информация

Тарасов Александр Сергеевич — м. н. с. лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии ВолгГМУ, аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: starostyn@rambler.ru