

ГАМК-ЕРГИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОГО ЭФФЕКТА МЕЛАТОНИНА

Д. В. Масленников, Т. С. Ганьшина, О. Н. Олейникова,
И. Н. Курдюмов, Р. С. Мирзоян¹

В экспериментах на крысах мелатонин в большинстве опытов значительно увеличивает локальный мозговой кровоток при глобальной преходящей ишемии головного мозга и при этом понижает уровень артериального давления; в меньшей степени усиливает кровоснабжение мозга и не влияет на артериальное давление интактных животных. Анализ механизма действия мелатонина с помощью бикикуллина показал, что цереброваскулярная активность эпифизарного гормона реализуется через ГАМК-ергические механизмы сосудов мозга. Мелатонин в дозах 1 и 5 мг/кг существенно повышает выживаемость крыс в условиях гравитационных перегрузок.

Ключевые слова: мелатонин, мозговое кровообращение, глобальная преходящая ишемия мозга, бикикуллин, ГАМК_A-рецепторы сосудов мозга, гравитационная ишемия

ВВЕДЕНИЕ

Мелатонин — основной гормон эпифиза, обеспечивающий суточные и сезонные биоритмы, а также адаптацию организма к агрессивным факторам внешней и внутренней среды, обладает широким спектром фармакологической активности [1, 23]. В сосудах мозга крыс выявлены M₁-рецепторы мелатонина [9]. Показано, что мелатонин угнетает реакции базилярной артерии кролика на хлорид калия, норадреналин, серотонин и ангиотензин-1 [18, 19]. Однако у крыс мелатонин повышает тонус изолированных сосудов мозга и хвостовой артерии [11], потенцирует вазоконстрикцию, вызванную норадреналином [21], уменьшает диаметр пиальных артериол в опытах *in vivo* [16]. Установлено, что мелатонин в условиях гиперкапнии у крыс вызывает дозозависимое уменьшение кровотока во фронтальной коре и повышает нижнюю границу ауторегуляции [15]. Вместе с тем он не вызывает существенных изменений диаметра базилярной артерии у крыс в условиях экспериментального субарахноидального кровоизлияния [22], а согласно данным [8], где использована методика транскраниальной доплерографии, мелатонин не вызывает изменений мозгового кровотока у пациентов.

Многочисленные данные указывают на то, что мелатонин обладает выраженной нейропротекторной активностью при экспериментальных цереброваскулярных расстройствах [14, 17, 23]. Так, мелатонин препятствует развитию некроза в культурах нейронов мозга крыс, вызванного свободными радикалами [10]. Гормон значительно уменьшает зону инфаркта и способствует сохранности нейронов и глиальных клеток в области пенумбры у крыс в результате преходящей окклюзии средней мозговой артерии [7]. Обнаружена

способность мелатонина предупреждать развитие отека мозга, вызванного окклюзией средней мозговой артерии с последующей реперфузией у крыс [20]. У монгольских песчанок мелатонин увеличивает выживаемость и уменьшает гиперактивность, вызванную преходящей окклюзией сонных артерий [12]. Наконец, удаление эпифиза или длительное содержание при ярком освещении существенно увеличивает у животных размеры некротического поражения при моделировании фототромботического инсульта [13].

Учитывая противоречивые результаты изучения мозгового кровообращения и тонуса сосудов мозга под влиянием мелатонина, а также наличие у гормона нейропротекторной активности, провели сравнительное изучение влияния мелатонина на кровоснабжение мозга крыс интактных и в условиях экспериментальных цереброваскулярных расстройств ишемической природы с последующим анализом механизма его действия. Исследовано также влияние мелатонина на выживаемость крыс при гравитационных перегрузках.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 88 наркотизированных (уретан 1,2 г/кг, внутривенно) нелинейных крысах-самцах массой 180 – 400 г.

Состояние мозгового кровообращения у животных оценивали с помощью методики лазерной доплеровской флоуметрии. Для регистрации локального мозгового кровотока в теменной области коры большого мозга крыс использовали флоуметр ALF-21 фирмы “Transonic System Inc.” (США). Игольчатый датчик флоуметра диаметром 0,8 мм устанавливали на теменной области коры большого мозга крысы с помощью микроманипулятора и коромысла. Одновременно регистрировали изменения артериального давления через предварительно введенный в бедренную артерию полиэтиленовый катетер. Запись показателей кровотока

¹ НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

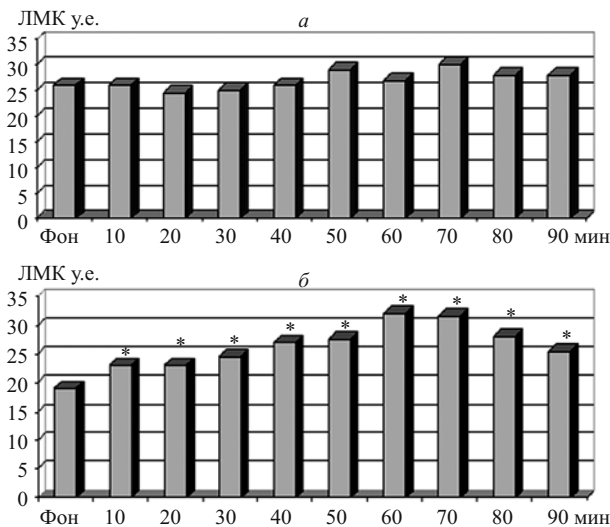


Рис. 1. Влияние мелатонина (1 мг/кг, в вену) на локальный мозговой кровоток (ЛМК) у интактных животных (*a*) и животных после преходящей глобальной ишемии (*б*) в условных единицах (у. е.).

ка и артериального давления производили на полиграфе фирмы “БИОРАК” (США), соединенном с персональным компьютером. Исследуемые вещества вводили через полиэтиленовый катетер в бедренную вену животных.

Глобальную преходящую ишемию у крыс вызывали 10-минутной окклюзией обеих общих сонных артерий с одновременным снижением артериального давления до 40–50 мм рт. ст. методом кровопускания с последующей реинфузией.

В работе также изучали влияние мелатонина на выживаемость животных в условиях гравитационных перегрузок [2]. Для этого бодрствующих крыс помещали в специальные контейнеры центрифуги в краниокаудальном направлении относительно вектора ускорений. Скорость нарастания перегрузок составляла 40–50 с. При краниокаудальном векторе ускорений (9g в течение 12 мин) происходит перемещение крови в каудальном направлении. В результате резкого снижения перфузионного давления во всех сосудах головы до нулевого уровня развивается ишемия мозга.

Использовали мелатонин фирмы “Sigma-Aldrich” (США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistika 8,0 (Statistika Inc., США). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В основном нормальное распределение отсутствовало, поэтому для дальнейшей обработки данных использовали непараметрический метод Уилкоксона для связанных выборок. Данные по выживаемости животных в условиях циркуляторной ишемии обрабатывали с помощью критерия Фишера. Результаты рассматривали как значимые при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние мелатонина на локальный мозговой кровоток в коре большого мозга у крыс интактных и после глобальной преходящей ишемии

Опыты показали, что мелатонин (1 мг/кг в вену) при введении интактным животным вызывает незначительное уменьшение локального мозгового кровотока в течение 40 мин. Далее в большинстве опытов наблюдается медленно развивающееся восстановление исходного уровня кровотока. Затем имеет место его повышение, которое к 70-й минуте после введения составляет 15 % от исходного уровня ($p < 0,05$), (рис. 1, *a*). В этих же опытах отмечается некоторое повышение артериального давления, однако, статистически значимая разница отсутствует.

В следующей серии опытов изучали влияние мелатонина на локальный мозговой кровоток в коре большого мозга крыс после глобальной преходящей ишемии. Опыты показали, что в этих условиях препарат в большинстве случаев (10 из 16) сразу после введения вызывает увеличение кровотока в коре, которое постепенно нарастает и к 70-й минуте составляет 56 % от исходного уровня. Затем наблюдается постепенное уменьшение мозгового кровотока, не достигающее исходного состояния до конца эксперимента (рис. 1, *б* и 2, *a*). В шести экспериментах мелатонин не оказывал существенного влияния на кровоснабжение мозга. Уровень артериального давления в этой серии опытов после введения препарата постепенно снижается в среднем на 21 % от фоновых значений. Разнонаправленные изменения кровотока и артериального давления под влиянием мелатонина указывают на его способность оказывать непосредственное влияние на сосуды мозга.

Влияние мелатонина на локальный мозговой кровоток в коре большого мозга у крыс после глобальной преходящей ишемии на фоне действия биккуллина

В соответствии с полученными данными, указывающими на способность мелатонина усиливать в большинстве опытов кровоснабжение ишемизированного мозга, представлялось важным выявить механизм этого действия препарата. Можно было предположить два варианта. Первый — обнаруженный цереброваскулярный эффект обусловлен непосредственным влиянием гормона на расположенные в сосудах мозга M_1 -рецепторы, второй — это действие реализуется через ГАМК_A-рецепторы, которые присутствуют в сосудах мозга. Следует отметить, что ранее в лаборатории были получены результаты, указывающие на то, что способность усиливать кровоснабжение мозга характерно для препаратов с ГАМК-ергическим компонентом действия [3–6]. В связи с этим исследование было начато с анализа роли ГАМК-ергического компонента в действии мелатонина. Влияние гормона на кровоснабжение ишемизированного мозга проводили

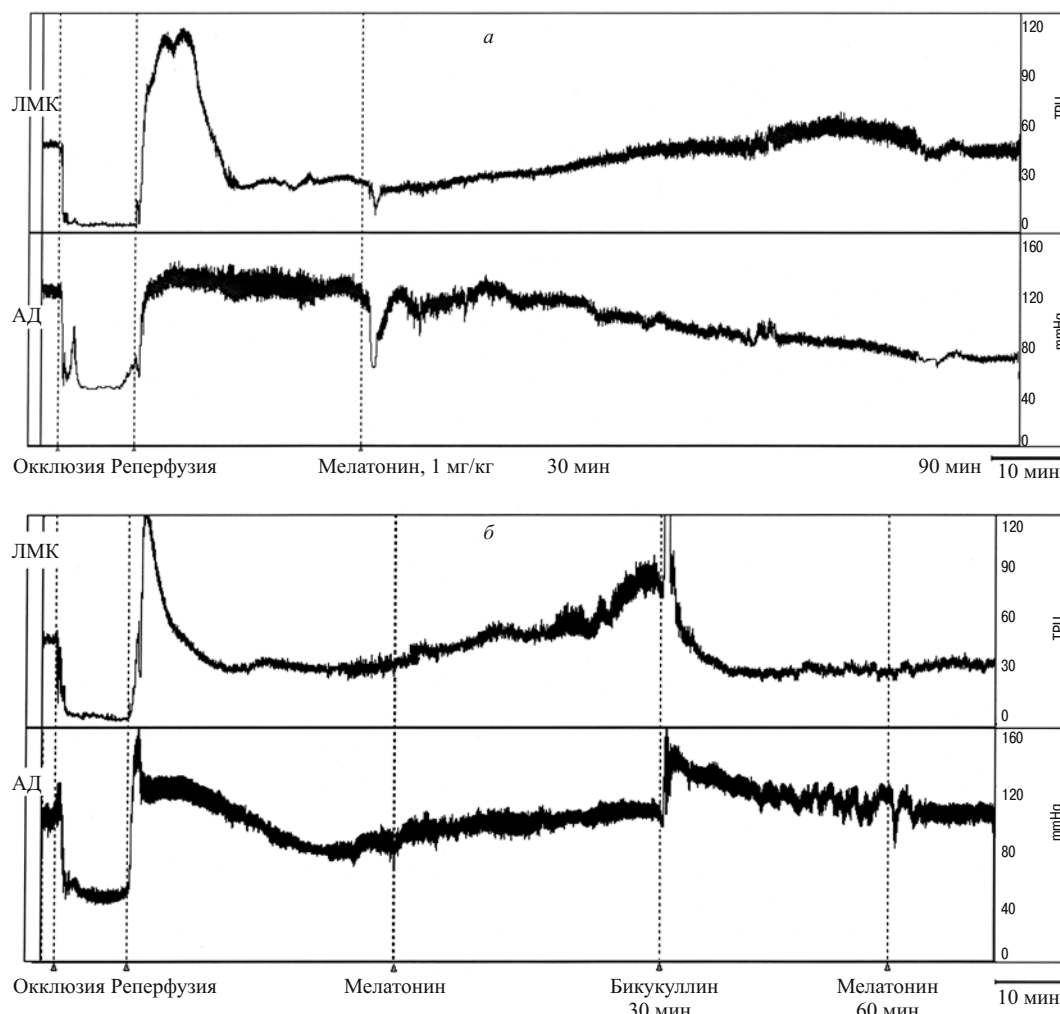


Рис. 2. Влияние мелатонина (1 мг/кг, в вену) на локальный мозговой кровоток (ЛМК, у. е.) и артериальное давление (АД, мм рт. ст.) у крыс после глобальной преходящей ишемии (а) и на фоне введения бикукуллина (0,5 мг/кг, в вену) после ишемии (б).

в условиях блокады бикукуллином ГАМК-рецепторов сосудов мозга. Учитывая то обстоятельство, что мелатонин не во всех опытах усиливает мозговое кровообращение крыс, перенесших глобальную преходящую ишемию, прежде чем проводить анализ, необходимо было убедиться в способности гормона расширять сосуды мозга. Поэтому проводили глобальную преходящую ишемию головного мозга, затем через 30 мин после этого вводили мелатонин в дозе 1 мг/кг. В тех случаях, когда наблюдали выраженное увеличение мозгового кровотока, на 30-й минуте действия мелатонина вводили бикукуллин в дозе 0,5 мг/кг. Сразу после введения бикукуллина локальный мозговой кровоток резко снижался. Через 30 мин после бикукуллина повторно вводили мелатонин в той же дозе. Оказалось, что повторное введение гормона не вызывало увеличения мозгового кровотока (рис. 2, б). Следовательно, бикукуллин блокирует действие мелатонина, что указывает на ГАМК-ергический механизм цереброваскулярного эффекта мелатонина.

Влияние мелатонина на выживаемость крыс в условиях гравитационных перегрузок

В отдельной серии опытов изучали влияние мелатонина при предварительном внутривенном введении в дозах 0,1 – 0,5 – 1 – 5 мг/кг на выживаемость бодрствующих крыс в условиях гравитационных перегрузок. Опыты показали, что в контроле от гравитационных перегрузок погибает 80 % животных. При применении мелатонина в дозе 0,5 мг/кг выживаемость животных составила 50 %. При увеличении дозы до 1, а затем до 5 мг/кг выживаемость крыс повысилась до 80 %. Разница статистически значима при $p < 0,05$. Таким образом, мелатонин при ишемическом поражении мозга, вызванном гравитационными перегрузками, проявляет противоишемические свойства в дозе 1 мг/кг, как и при глобальной преходящей ишемии.

ВЫВОДЫ

1. В большинстве опытов мелатонин значительно увеличивает локальный мозговой кровоток при глобальной преходящей ишемии головного мозга, что

обусловлено понижением тонуса сосудов мозга, так как при этом понижается уровень артериального давления.

2. Анализ механизма действия мелатонина показал, что цереброваскулярная активность эпифизарного гормона реализуется через ГАМК_A-рецепторы сосудов мозга.

3. Мелатонин при предварительном введении в дозах 1 и 5 мг/кг бодрствующим крысам повышает их выживаемость в условиях гравитационных перегрузок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(9), 40 – 47 (2010).
2. М. Д. Гаевый, Л. М. Аджиенко, Л. М. Макарова, А. А. Абдулсалам, *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(3), 63 – 64 (2000).
3. И. Н. Курдюмов, Т. С. Ганьшина, Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(4), 26 – 29 (2008).
4. Е. В. Луньшина, Т. С. Ганьшина, Л. М. Макарова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(1), 20 – 22 (2003).
5. Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(2), 53 – 56 (2003).
6. И. В. Силкина, Т. С. Ганьшина, С. Б. Середенин, Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(1), 20 – 24 (2005).
7. С. V. Borlongan, M. Yamamoto, N. Takei, M. Kumazaki, *The FASEB Journal.*, **14**, 1307 – 1317 (2000).
8. J. S. Cook, C. L. Sauder, C. A. Ray, *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.*, **300**(2), 670 – 674 (2011).
9. P. Chucharoen, B. Chetsawang, A. Srikiatkachorn, P. Govitrapong, *Neuroscience Letters*, **341**, 259 – 261(2003).
10. C. Harms, M. Lautenschlager, A. Bergk, D. Freyer, M. Weih, U. Dirnagl, J. R. Weber, H. Hortnagl, *The FASEB Journal.*, **14**, 1814 – 1824 (2000).
11. G. G. Geary, S. Duckles, *Br. J. Pharmacol.*, **123**(8), 1533 – 1540(1998).
12. J. M. Guerrero, R. J. Reiter, *G. Ortiz J. Pineal Res.*, **23**, 24 – 31 (1997).
13. E. Kilic, Y. Ozdemir, H. Bolay, J. Cerebr. *Blood Flow Metabol.*, **19**, 511 – 516 (1999).
14. C. Nopparat, J. E. Porter, M. Ebadi, P. Govitrapong, *Jpineal Res.*, **49**, 382 – 389 (2010).
15. O. Regrigny, P. Delagrang, E. Scalbert, I. Lartaud-Idjouadiene, J. Atkinson, J-M. Chillon, *Br. J. Pharmacol.*, **127**(7), 1666 – 1670 (1999).
16. R. J. Reiter, D. Tan, J. Leon, U. Kilic, E. Kilic, *Exp. Biol. Med.*, **230**, 104 – 117 (2005).
17. N. Satake, S. Shibata, T. Takagi, *Gen Pharmacol*, **17**(5), 553 – 558 (1986).
18. S. Shibata, N. Satake, T. Takagi, H. Usui, *Gen Pharmacol.*, **20**(5), 677 – 680 (1989).
19. K. Torii, H. Uneyama, H. Nishino, *J. Pineal Res.*, **36**, 18 – 24 (2004).
20. C. Vandeputte, P. Giummelly, J. Atkinson, P. Delagrang, E. Scalbert, C. Capdeville-Atkinson, *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.*, **280**, 420 – 425 (2001).
21. J. M. Zabramski, R. F. Spetzler, S. W. Coons, *Barrow Quarterly.*, **15**(3), (1999).
22. X. Wang, *CNS Neurosci Ther.*, **15**(4), 345 – 357 (2009).
23. J. B. Zawilska, D. J. Skene, J. Arendt, *Pharmacol Rep.*, **61**(3), 383 – 410 (2009).

Поступила 21.02.12

GABAERGIC MECHANISM OF THE CEREBROVASCULAR EFFECT OF MELATONIN

D. V. Maslennikov, T. S. Gan'shina, O. N. Oleinikova, I. N. Kurdyumov, and R. S. Mirzoyan

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

In most experiments on rats under conditions of cerebral global transient ischemia, melatonin substantially enhanced local blood flow and decreased arterial blood pressure. In intact rats, the effect of melatonin on brain perfusion was much less pronounced and the arterial pressure was not influenced at all. The mechanism of melatonin action has been studied with the aid of bicuculline. It is established that the cerebrovascular activity of the epiphyseal hormone is mediated by GABA-A receptors of cerebral vessels. Melatonin (in doses of 1.0 and 5.0 mg/kg) significantly increased survival of rats under conditions of hypergravity ischemia.

Key words: Melatonin, cerebral blood flow, global transient ischemia, bicuculline, GABA-A receptors of cerebral vessels, hypergravity ischemia