

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.143.29>**ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ МЕЛАТОНИНА ПРИ ОБРАТИМОЙ ПЕРЕВЯЗКЕ ЛЕВОЙ ПЕРЕДНЕЙ НИСХОДЯЩЕЙ АРТЕРИИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

Научная статья

Хамидов Д.Х.<sup>1</sup>, Инчина В.И.<sup>2</sup>, Коробков Д.М.<sup>3,\*</sup>, Морозкина А.А.<sup>4</sup>, Фленов А.А.<sup>5</sup>, Бухаров Ю.А.<sup>6</sup>, Романова Д.С.<sup>7</sup>, Катайкина К.О.<sup>8</sup>, Арюкова Э.Н.<sup>9</sup>, Повернова Т.С.<sup>10</sup>, Козырькова Н.В.<sup>11</sup>, Степанова К.Ю.<sup>12</sup>, Кузьмин П.Д.<sup>13</sup>, Климкина Ю.А.<sup>14</sup>, Федотова А.Ю.<sup>15</sup>, Рамазанова Х.Ф.<sup>16</sup>, Образцова И.Ю.<sup>17</sup>, Проничкина Я.С.<sup>18</sup>, Доронькин Л.Д.<sup>19</sup>

<sup>3</sup>ORCID : 0000-0001-8948-0052;

<sup>1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19</sup> Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Российская Федерация

\* Корреспондирующий автор (doctordmk[at]mail.ru)

**Аннотация**

В данной работе мы изучили влияние экзогенного мелатонина на ряд биохимических показателей и гистопатологические изменения при обратимой перевязке левой передней нисходящей артерии (ПЛПНА) у крыс. При ПЛПНА активность ЛДГ в плазме у животных в группе 2, увеличилась в 2,5 раза, ( $p < 0,001$ ), тогда как при применении мелатонина, происходило подавление активности ЛДГ ( $p < 0,001$ ). На фоне применения мелатонина в группе 3, отмечено статистически значимое снижение титров b-D-глюкуронидазы на 43,9% в сравнении с группой 2, ( $p < 0,05$ ). Можно предположить, что кардиопротекторные эффекты мелатонина при окислительном повреждении, вызванной ишемией, вероятно связаны с увеличением количества эндогенных антиоксидантов.

**Ключевые слова:** мелатонин, сердце, ишемическая болезнь сердца.**EVALUATION OF MELATONIN USE IN REVERSIBLE LIGATION OF THE LEFT ANTERIOR DESCENDING ARTERY IN RATS UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS**

Research article

Khamidov D.K.<sup>1</sup>, Inchina V.I.<sup>2</sup>, Korobkov D.M.<sup>3,\*</sup>, Morozkina A.A.<sup>4</sup>, Flenov A.A.<sup>5</sup>, Bukharov Y.A.<sup>6</sup>, Romanova D.S.<sup>7</sup>, Kataikina K.O.<sup>8</sup>, Aryukova E.N.<sup>9</sup>, Povernova T.S.<sup>10</sup>, Kozirkova N.V.<sup>11</sup>, Stepanova K.Y.<sup>12</sup>, Kuzmin P.D.<sup>13</sup>, Klimkina Y.A.<sup>14</sup>, Fedotova A.Y.<sup>15</sup>, Ramazanova K.F.<sup>16</sup>, Obraztsova I.Y.<sup>17</sup>, Pronichkina Y.S.<sup>18</sup>, Doronkin L.D.<sup>19</sup>

<sup>3</sup>ORCID : 0000-0001-8948-0052;

<sup>1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19</sup> National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

\* Corresponding author (doctordmk[at]mail.ru)

**Abstract**

In this work, we studied the effect of exogenous melatonin on a number of biochemical parameters and histopathological changes during reversible ligation of the left anterior descending artery (LADA) in rats. During LADA, LDH activity in plasma of animals in group 2 increased 2.5-fold ( $p < 0.001$ ), whereas during melatonin application, LDH activity was suppressed ( $p < 0.001$ ). Against the background of melatonin application in group 3, there was a statistically significant decrease in b-D-glucuronidase titres by 43.9% in comparison with group 2, ( $p < 0.05$ ). It can be assumed that cardioprotective effects of melatonin in oxidative damage caused by ischaemia are probably associated with an increase in the amount of endogenous antioxidants.

**Keywords:** melatonin, heart, coronary heart disease.**Введение**

Среди хронических заболеваний ишемическая болезнь сердца (ИБС) является наиболее частой причиной госпитализации в развитых странах. Наиболее оптимальной моделью воспроизведения ИБС у крыс является перевязка левой передней нисходящей артерии (ПЛПНА) [1]. Достоверно известно, что при ишемии, возникает дефицит подачи кислорода, блокируется митохондриальный синтез аденозинтрифосфата (АТФ), запускаются компенсаторные механизмы, ведущие к окислительному стрессу и апоптозу, и как итог ИБС [2]. Мелатонин и его метаболиты – прямые поглотители свободных радикалов, в ходе данного исследования мы проверили гипотезу о том, что мелатонин, благодаря своим антиоксидантным эффектам, может оказывать терапевтическое действие при ИБС. Цель данной работы – изучить влияние экзогенного мелатонина на ряд биохимических показателей и гистопатологические изменения при перевязке левой передней нисходящей артерии у крыс в эксперименте.

**Методы и принципы исследования**

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [3]. Эксперимент проводился на 45 животных (нелинейные белые крысы обоего пола массой 210-345 г.). Все животные находились в стандартных условиях вивария. Животным выполнен (наркоз), включающее интраперитонеальное введение (и/п) препаратов: «Ксилазин» (0,5 мл/кг массы тела) и «Золетил 100» (8мг/кг массы тела) [4]. На аппаратном комплексе «ВЮРАС» в соответствии со стандартными методиками производился мониторинг артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС), в соответствии со стандартными методиками [5]. Животные были разделены на 3 группы: 1-ая группа (контроль 1) (n=15) ложнооперированные животные (n = 15):

крысам, предварительно введено 0,9% раствор NaCl, 1 мл/кг, интраперитонеально (и/п) за 72 часа, 48 часов, 24 часа и 30 минут до операции. 2-ая - контроль 2 (n = 15): крысам предварительно введен 0,9% раствор NaCl, 1 мл/кг, за 72 часа, 48 часов, 24 часа и 30 минут до операции в течение 60 минут, затем под наркозом выполнена левосторонняя торакотомия, с обеспечением доступа к сердцу и последующей ПЛПНА по стандартной методике, на 30 минут с последующей реперфузией [1]. 3-ья – операция+мелатонин (n = 15): крысам, предварительно вводился мелатонин (фармацевтическая субстанция, CAS Number: 73-31-4) и/п в дозе 10 мг/кг, за 72 часа, 48 часов, 24 часа и 30 минут до операции, затем под наркозом выполнена левосторонняя торакотомия, с обеспечением доступа к сердцу и последующей ПЛПНА, по стандартной методике на 30 минут с последующей реперфузией [1]. Образцы крови были взяты из хвостовой вены по стандартной методике, через 60 минут после операции. Уровни лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинкиназы (КФК), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), b-D-глюкуронидазы, b-галактозидазы, щелочной фосфатазы (ЩФ) в плазме измеряли с использованием стандартных диагностических наборов (анализатор BS-240). После вывода животных из эксперимента путем эвтаназии, проводилось гистопатологическое исследование сердечной ткани (предварительно ее фиксировали в 10% формальдегиде, обезжизивали в спиртовой серии, обрабатывали толуолом, готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике), делали микрофотографии, отцифровывали их и оценивали изменения. Для статистической обработки был применен t-критерия Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты представлены следующим образом,  $M \pm m$  ( $M$  – среднее,  $m$  – ошибка среднего). Данные принимались за статистически значимые при  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Статистически значимых различий между группами по уровню АД и ЧСС, зафиксированных в начале эксперимента, не отмечено. В группе №3, после операции уровень АД составил  $104,69 \pm 1,18$  мм.рт.ст., что статистически значимо ниже на 12,5% в сравнении с группой 1, ( $p < 0,05$ ); и на 16,95 % статистически значимо ниже в сравнении с группой 2, ( $p < 0,05$ ). При анализе ЧСС после операции, нами не отмечено, статистически значимых различий: так ЧСС составила в группе 1 –  $388,5 \pm 9,34$  уд/мин, в группе 2 -  $403,5 \pm 8,59$  уд/мин, в группе 3 –  $399,5 \pm 5,31$  уд/мин. Перевязка коронарных артерий не оказала никакого влияния на ЧСС, учитывая неизменную частоту сердечных сокращений после перевязки коронарной артерии, можно предположить, что поддержание высокого сердечного ритма в раннем послеоперационном периоде, обусловлено компенсаторными механизмами, и адекватной сократительной функцией миокарда. На фоне ПЛПНА активность ЛДГ в плазме у животных в группе 2, увеличилась в 2,5 раза, что указывает на генерализованное повреждение тканей ( $p < 0,001$ ), тогда как при применении мелатонина, происходило подавление активности ЛДГ ( $p < 0,001$ ), (Таб. 1).

Таблица 1 - Биохимические показатели в исследуемых группах

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.143.29.1>

Показатель, ЕД/мл	Группа 1. Ложнооперированные животные (n = 15).	Группа 2. Операция+ 0,9% раствор NaCl, 1 мл/кг (n = 15).	Группа 3. Операция+мелатонин и/п в дозе 10 мг/кг (n = 15).
ЛДГ	$1366,43 \pm 91,34$	$3344,65 \pm 219,15^*$	$1965,85 \pm 192,25^{*#}$
КФК	$1715,54 \pm 146,4$	$2520,23 \pm 169,31^*$	$1720,45 \pm 193,23^{\#}$
АСТ	$62,16 \pm 8,17$	$109,75 \pm 9,1^*$	$76,15 \pm 7,71^{*#}$
АЛТ	$57,58 \pm 5,47$	$117,7 \pm 13,9^*$	$70,13 \pm 10,29^{*#}$
b-D-глюкуронидаза	$0,35 \pm 0,02$	$0,66 \pm 0,05^*$	$0,37 \pm 0,05^{\#}$
b-галактозидаза	$0,47 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,05^*$	$0,50 \pm 0,05^{\#}$
ЩФ	$1,77 \pm 0,08$	$2,57 \pm 0,21^*$	$1,94 \pm 0,12^{\#}$

Примечание: \* – различия статистически значимы по отношению к группе 1 (контроль) ( $p < 0,05$ );

# – различия статистически значимы по отношению к группе 2 ( $p < 0,05$ )

Наряду с высокой активностью ЛДГ в плазме, также отмечалось повышение в крови титров АСТ, АЛТ, КФК. Важнейшую роль в деградации поврежденных клеточных компонентов играют лизосомы, стабильность и целостность мембраны коррелирует с титрами лизосомальных ферментов (b-D-глюкуронидазы, b-галактозидазы) в биологических жидкостях организма, а высвобождение гидролитических ферментов из лизосом - причинный фактор развития клеточной деструкции миокарда. ПЛПНА вызывала значительное повышение уровня лизосомальных ферментов в плазме, так на фоне применения мелатонина в группе 3, отмечено статистически значимое снижение титров b-D-глюкуронидазы на 43,9% в сравнении с группой 2, ( $p < 0,05$ ); также нами отмечено статистически значимое снижение титров b-галактозидазы у животных в группе 3 на 36,7% в сравнении с группой 2, ( $p < 0,05$ ) (Таб. 1). В нашем исследовании применение мелатонина снижало активность лизосомальных гидролаз в сыворотке крови у крыс с ПЛПНА (возможно, этот эффект обусловлен ингибирующим действием мелатонина на перекисное окисление липидов (ПОЛ) лизосомальной мембраны. Ишемия миокарда связана с ПОЛ, которое представляет собой автокаталитический

механизм, приводящий к окислительному разрушению клеточных мембран [6], [7], а их разрушение может привести к образованию токсичных, реактивных метаболитов и гибели клеток [8], [9], [10]. В ходе гистологической оценки, нами установлено, что у крыс с ПЛПНА, в группе 2 происходили различные морфологические изменения такие как, выраженный межмышечный отек в строме, острое нарушение кровообращения (сладж эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла), а также выраженный периваскулярный отек и волнообразная деформация мышечных волокон (рис.1), в группе 3, подобные изменения носили менее выраженный характер.

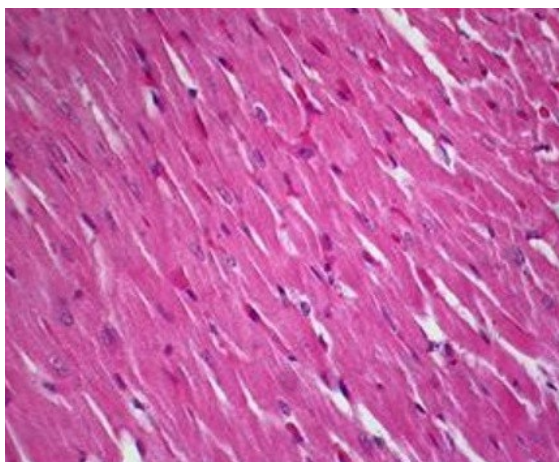


Рисунок 1 - Пример гистологических изменений в миокарде у крыс в экспериментальной группе 2  
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.143.29.2>

*Примечание: Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x400. Отек и миолиз кардиомиоцитов, потеря исчерченности, нечеткость границ мышечных волокон, ядра пикнотичные*

### Заключение

Результаты исследования показали, что введение мелатонина, оказывает кардиопротекцию при окислительном повреждении, вызванном ишемией, что может быть обусловлено увеличением количества эндогенных антиоксидантов и ингибированием ПОЛ за счет поддержания баланса оксидантно-антиоксидантного статуса. Можно предположить, что ПОЛ, как система, генерирующая свободные радикалы, тесно связана с ишемически индуцированным повреждением тканей, и вполне целесообразным является изучение влияния экзогенного мелатонина на титры малонового диальдегида, супероксиддисмутазы, каталаза и пероксидазы, надеемся, что в следующих исследованиях мы сможем дать ответ на эти вопросы.

### Конфликт интересов

Не указан.

### Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

### Conflict of Interest

None declared.

### Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

### Список литературы на английском языке / References in English

1. Ku H. Left Anterior Descending Coronary Artery Ligation for Ischemia-Reperfusion Research: Model Improvement via Technical Modifications and Quality Control / H. Ku, D. Chien, C. Chao [et al.] // J. Vis. Exp.— 2022.— №190. — DOI: 10.3791/63921
2. Alexander E.D. Teriflunomide treatment exacerbates cardiac ischemia reperfusion injury in isolated rat hearts / E.D. Alexander, J.L. Aldridge, T.S. Burlison [et al.] // Cardiovasc Drugs Ther. — 2023. — 37(5). — p. 1021-1026.
3. Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123): Guidelines for accommodation and care of animals (Article 5 of the Convention) // Council of Europe. — 2006. — URL: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treaty-num=123> (accessed: 21.04.24)
4. Inchina V.I. A Study of the Severity of Neurological Deficit in Rats with Cerebral Pathology of Traumatic Genesis and Concomitant Hypoxia in the Acute Period / V.I. Inchina, D.M. Korobkov, A.O. Petrunin // Modern Problems of Science and Education. — 2020. — 3. — p. 1-8.

5. Reference Manual for AcqKnowledge® 4.4 Software & MP150/MP36R, BioHarness, B-Alert Mobita or Stellar Hardware/Firmware on Windows® 10, 8, 7 or Vista, or Mac OS® X 10.5-10.9. — 2010 — URL: [https://www.biopac.com/wp-content/uploads/BSL-PRO-3\\_7-Manual.pdf](https://www.biopac.com/wp-content/uploads/BSL-PRO-3_7-Manual.pdf) (accessed: 21.04.2024)
6. Sehirli A.O. Role of Melatonin in Angiotensin and Aging / A.O. Sehirli, S.Sayiner, U. Chukwunyere [et al.] // *Molecules*. — 2021. — 26(15). — p. 4666.
7. Garcia-Villalon A.L. Coronary response to diadenosine triphosphate after ischemia-reperfusion in the isolated rat heart / A.L. Garcia-Villalon // *Exp Biol Med* (Maywood). — 2012. — 237(8).— p. 966-972
8. Tordjman S. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits / S. Tordjman, S. Chokron, R. Delorme // *Curr Neuropharmacol*. — 2017. — 15(3). — p. 434-443.
9. Pinto A.R. Melatonin: exceeding expectations / A.R. Pinto, N.C. da Silva, L. Pinato // *Physiology* (Bethesda). — 2016. — 20(1). — p. 339-344.
10. Baltatu O.C. Melatonin, mitochondria and hypertension / O.C. Baltatu, F.G. Amaral, L.A. Campos [et al.] // *Cell Mol Life Sci*. — 2017. — 74(21).— p. 3955-3964.