

**УДК 591.1: 615.849.11**

**РОЛЬ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ В ИЗМЕНЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАТОНИНА  
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ  
ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ В  
НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ СТРЕССА**

*Чуян Е.Н., Махонина М.М.*

Мелатонин (МТ) – основной эпифизарный гормон, был впервые выделен и описан дерматологом Эроном Лернером в 1958 году [1]. Функции МТ связаны в основном с его гормональными свойствами, он играет важную роль в регуляции физиологических процессов в организме, занимает особое положение в системе управления гомеостазом в норме и при патологии. Этот гормон является универсальным адаптогеном, обладает выраженным антистрессорным и синхронизирующим [2] действием, участвует в регуляции активности нейроэндокринной и иммунной систем, является наиболее мощным из всех известных антиоксидантов [2 – 5].

Существуют многочисленные данные о чувствительности эпифиза к электромагнитным излучениям (ЭМИ) различных интенсивностей и диапазонов [6, 7]. Однако эпифиз не является единственным продуцентом МТ. Экстрапинеальный МТ широко распространен в организме человека и животных. Клетки, продуцирующие его, обнаружены в желудочно-кишечном тракте, дыхательных путях, поджелудочной железе, надпочечниках, щитовидной железе, тимусе, мозжечке, мочеполовой системе, плаценте и других органах. Кроме того, показан активный синтез МТ в неэндокринных клетках: тучных, естественных киллерах, лейкоцитах, тромбоцитах и эндотелиоцитах. Такое широкое распространение МТ отражает его ключевую роль как межклеточного нейроэндокринного регулятора и координатора многих сложных и взаимосвязанных биологических процессов [8].

В наших предыдущих исследованиях было показано увеличение концентрации МТ в крови при действии низкоинтенсивного ЭМИ крайне высокой частоты (КВЧ) и было высказано предположение о том, что с этим связаны антистрессорное, антиоксидантное, иммуномодулирующее и синхронизирующее действия этого вида излучения [9].

В реализации антистрессорных эффектов ЭМИ КВЧ большое значение имеет также увеличение активности стресс-лимитирующих систем, в частности, системы эндогенных опиоидных пептидов (ОпП) [10]. Поскольку известно, что блокада опиоидных рецепторов отменяет влияние МТ на стимуляцию иммунных процессов

[4] и снижает его анальгетические эффекты [11], то можно предположить, что ОпП могут вовлекаться в реализацию влияния этого гормона на физиологические процессы в организме. Однако роль системы ОпП в изменении концентрации МТ в сыворотке крови крыс при действии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ не изучена.

В соответствии с этим целью настоящей работы явилось изучение роли ОпП в изменении содержания МТ в сыворотке крови при изолированном и комбинированном со стресс-фактором воздействии ЭМИ КВЧ.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Экспериментальная часть работы выполнена на 100 белых беспородных белых крысах-самцах, массой 180 – 220 граммов, полученных из опытно-экспериментального питомника Института Гигиены и Медицинской Экологии, фирма «Феникс» (г. Киев). В экспериментальные группы отбирали животных одинакового возраста, характеризующихся одинаковой двигательной активностью в тесте «открытого поля», что позволило сформировать однородные группы животных с одинаковыми конституциональными особенностями, однотипно реагирующих на действие различных факторов.

Предварительно отобранные животные были разделены на восемь групп по 10 - 15 особей в каждой.

К первой группе относились животные, которые в течение девяти суток содержались в обычных условиях вивария и служили биологическим контролем (К, n = 15). Крысы второй группы находились в условиях обычной двигательной активности и ежедневно подвергались 30-минутному воздействию ЭМИ КВЧ на затылочно-воротниковую область (КВЧ; n = 15). Третью группу составляли крысы, находившиеся в условиях девятидневного ограничения подвижности (гипокинезии, ГК; n = 15). Крысы четвертой группы находились в условиях комбинированного воздействия ГК и ЭМИ КВЧ (ГК+КВЧ; n = 15).

Остальные группы животных дополнительно с описанными экспериментальными воздействиями подвергались введению синтетического блокатора рецепторов ОпП – налоксона (Н) (Налоксон-М 0,04 % раствор по 1 мл в ампулах, разработка ГНЦЛС, г. Харьков и ХГФП «Здоров'я народу»). Налоксон-М является ((-)-17-аллил-4,5(-эпокси-3,14-дигидроксиморфин-6-он) гидрохлорида дигидратом, принадлежит к группе неселективных блокаторов всех субтипов опиоидных рецепторов, устраняет центральное и периферическое действие ОпП, включая эндогенные эндорфины, проникает через гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. Препарат при внутримышечном введении начинает действовать через 2-3 минуты, продолжительность действия 2,5-3 часа. Средний период полураспада составляет 1 – 1,5 часа.

Н в дозе 0,4 мг/кг вводился пятой (К+Н; n = 10), шестой (КВЧ+Н; n = 10), седьмой (ГК+Н; n = 10) и восьмой (ГК+КВЧ+Н; n = 10) группам крыс внутримышечно (наружная поверхность бедра) в течение девяти дней эксперимента в одно и то же время - 8.00 – 10.00 часов, т.е. за 30 минут до КВЧ-воздействия.

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществляли ежедневно с 8.30 до 11.00 часов по 30 минут в течение девяти суток с помощью одноканальных генераторов «Луч. КВЧ–

071» (регистрационное свидетельство № 783/99 от 14.07.99, выданное КНМТ МОЗ Украины о праве на применение в медицинской практике в Украине): рабочая длина волны – 7,1 мм; плотность потока мощности – 0,1 мВт/см<sup>2</sup>; частота модуляции 10±0,1 Гц; габаритные размеры излучателя, выполненного в виде «точки» – 18 x 23 мм. Для осуществления контроля над наличием ЭМИ и его мощности на выходе канала излучателя использовали сервисный прибор «РАМЕД. ЭКСПЕРТ» (ТМ 0158.00.00.00. – СП). Приборы изготовлены Центром радиофизических методов диагностики и терапии «РАМЕД» Института технической механики НАНУ, г. Днепропетровск.

ГК моделировалась помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла (140 × 60 × 60 мм для каждой крысы), в которых они находились в течение девяти суток по 20 часов. Ограничение подвижности крыс в клетках-пеналах вызывает стрессовую реакцию, которая зависит от степени жесткости ГК [12]. В течение четырех остальных часов проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными. Полученная экспериментальная модель позволила создать одинаковую степень «жесткости» ГК для всех животных, что является необходимым условием для получения сопоставимых результатов.

На девятый день эксперимента, после проведения всех экспериментальных воздействий животных забивали методом моментальной декапитации с 11 до 14 часов дня.

Содержание МТ определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью анализатора STAT FAX 303 (USA) в биохимическом отделе ЦНИЛ Харьковского государственного медицинского университета.

Статистическая обработка материала проводилась вычислением среднего значения исследуемых величин, среднего квадратического отклонения, ошибки среднего арифметического. Оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы содержание МТ в сыворотке крови находилось в пределах 26,54±2,80 пг/мл. При введении антагониста опиоидных рецепторов налоксона содержание МТ достоверно не изменялось. По-видимому, это связано с тем, что высвобождение ОпП происходит не «тонически», а лишь при отклонении гомеостаза от нормы. Об этом свидетельствует, например, то, что в норме введение налоксона не действует на фоновое артериальное давление [13] и не влияет на порог болевой чувствительности [14].

Вместе с тем, как показали проведенные исследования, содержание МТ в сыворотке крови изменялось при различных экспериментальных воздействиях (рис. 1).

После девятидневного воздействия ЭМИ КВЧ на интактных животных произошло увеличение содержания МТ в сыворотке крови на 34% (p<0,05) относительно значений контрольной группы, что согласуется с ранее полученными данными [9].

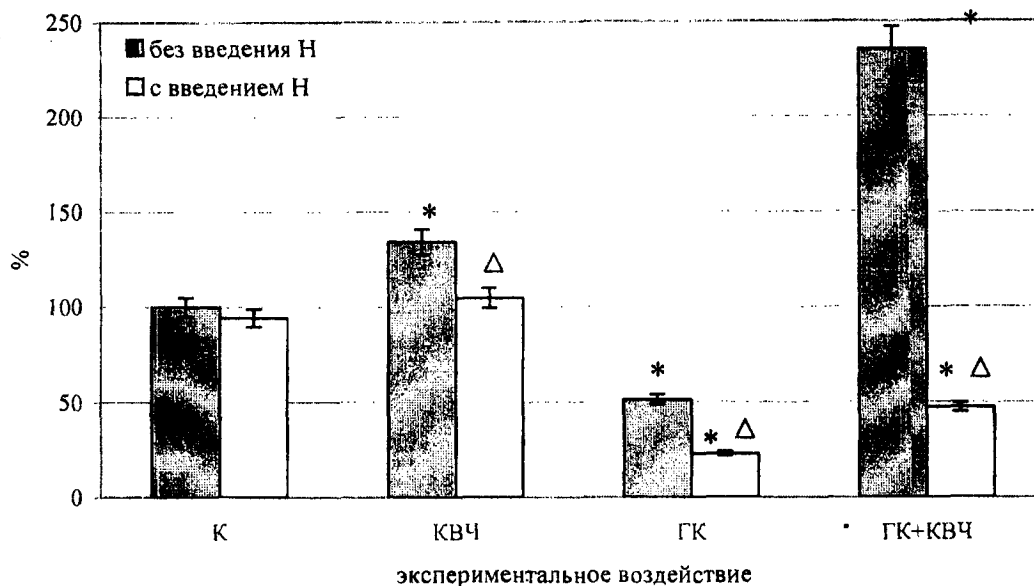


Рис. 1. Концентрация мелатонина в сыворотке крови у животных контрольной группы (К), при воздействиях ЭМИ КВЧ, гипокинезии (ГК), их комбинации (ГК+КВЧ) и ежедневного введения налоксона (Н) животным, подвергнутым тем же экспериментальным воздействиям (в процентах относительно значений контрольной группы).

Примечание: \* – достоверность различий по критерию Стьюдента относительно значения изученного показателя в контрольной группе крыс; Δ – достоверность различий по критерию Стьюдента между группами с введением налоксона и без него.

Систематическое введение налоксона крысам, подвергнутым изолированному действию ЭМИ КВЧ, нивелировало изменение содержания МТ, зарегистрированные под действием этого физического фактора. Это привело к тому, что в шестой группе крыс (КВЧ+Н) достоверных отличий концентрации МТ от значений в контрольной группе животных зарегистрировано не было ( $p > 0,05$ ) (рис. 1). Таким образом, стимулирующего эффекта ЭМИ КВЧ в отношении увеличения концентрации МТ не наблюдалось.

Под влиянием девятисуточного ограничения подвижности у животных третьей группы произошло снижение содержания МТ в сыворотке крови на 48,6% относительно значений в контрольной группе ( $p < 0,01$ ). В литературе имеются данные о вовлечении МТ в стрессорный ответ. Так, Н.К. Малиновская с соавторами [15] зарегистрировали снижение концентрации МТ в крови крыс при эмоциональном стрессе. Согласно большинству наблюдений, различные формы стресса (иммобилизация, плавание в холодной воде, инсулиновая гипогликемия) способствуют нарушению ритма выработки МТ, а именно, приводят к активации

железы в светлую, а не в темную фазу суток [2, 3]. Таким образом, при развитии ГК стресса происходит нарушение количественной продукции МТ и/или её ритма.

Ежедневное введение Н животным, подвергнутым ГК стрессу, привело к еще более значительному понижению уровня МТ (44,6% относительно значений в третьей группе крыс (ГК)). Следовательно, блокада опиоидных рецепторов привела к более выраженным негативным изменениям концентрации МТ в крови при ГК стрессе.

При воздействии ЭМИ КВЧ на гипокинезированных животных содержание МТ в сыворотке крови увеличилось на 231% ( $p < 0,01$ ) относительно значений, в группе крыс, также подвергавшихся КВЧ-воздействию, но находившихся в условиях обычного двигательного режима. По-видимому, это связано с тем, что адаптивная роль МТ в большей степени проявляется при иммунодепрессиях и других изменениях в организме, вызванных стрессом, чем в условиях физиологической нормы [9]. Именно поэтому МТ в настоящее время рассматривается как основной элемент стресс-лимитирующей системы [2].

Введение Н животным восьмой группы, подвергнутым комбинированному действию ЭМИ КВЧ и ГК, привело к снижению содержания МТ в крови крыс на 52,8% ( $p < 0,05$ ) относительно значений этого показателя у животных четвертой группы (ГК+КВЧ). При этом концентрация МТ в сыворотке крови достоверно не отличалась от значений данного показателя у животных третьей группы, находившихся в условиях изолированного действия гипокинетического стресса.

Таким образом, введение Н животным нивелировало действие ЭМИ КВЧ на изменение концентрации МТ в сыворотке крови, как при его изолированном, так и при комбинированном с ГК действии, что, во-первых, свидетельствует об участии ОпП в механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ. В наших предыдущих исследованиях уже была показана вовлеченность системы ОпП в реализацию некоторых эффектов ЭМИ КВЧ, в частности, изменение неспецифической резистентности, активности симпато-адреналовой системы, поведенческих реакций крыс [16, 17]. Эти данные согласуются с результатами других исследователей [18]. Например, при стимуляции рецепторов и нервных волокон кожи ЭМИ КВЧ происходит усиленное высвобождение в ряде структур мозга эндогенных ОпП [19]. С изменением активности эндогенных ОпП связывают, в частности, обезболивающий эффект и снижение состояния напряженности под влиянием низкоинтенсивных ЭМИ КВЧ [19].

Во-вторых, результаты проведенных исследований свидетельствуют о влиянии ОпП на изменение содержания МТ в периферической крови. На связь ОпП с МТ указывают и литературные данные. В частности, на пинеалоцитах обнаружены рецепторы к ОпП [19, 20]. При блокаде ОпП налоксоном происходит нарушение суточного ритма анальгезии, вызванной МТ [11]. Кроме того показано, что экзогенное введение  $\beta$ -эндорфина и морфина приводит к увеличению синтеза МТ эпифизом [21].

Имеются данные и о влиянии МТ на деятельность системы ОпП. Обнаружены рецепторы МТ в передней доле гипофиза [22] и других очагах синтеза  $\beta$ -эндорфинов, что предполагает прямое действие МТ на синтез ОпП.

## РОЛЬ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ В ИЗМЕНЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАТОНИНА

Экстрапинеальный МТ способен проникать через гематоэнцефалический барьер [23], модулируя активность опиоидергических систем мозга [3; 23, 24]. Плазменный МТ может стимулировать выработку  $\beta$ -эндорфина гипофизом [25]. Показано выделение эндогенных ОпП, в основном  $\beta$ -эндорфина, и повышение болевого порога под воздействием экзогенного МТ [26].

По наблюдениям G.J.M. Maestroni с сотр. [27] ОпП, индуцированные МТ, непосредственно участвуют в действии МТ на Т-лимфоциты, воспроизводят *in vivo* иммуностропные и антистрессорные свойства гормона, обнаруживая тождественный ему циркадианный ритм выработки.

Следовательно, приведенные литературные данные убедительно свидетельствуют о двусторонней связи системы эндогенных ОпП с пинеальным и экстрапинеальным МТ.

Таким образом, на основании собственных и литературных данных можно сделать вывод о вовлеченности системы ОпП в реализацию биологического эффекта ЭМИ КВЧ в отношении увеличения концентрации МТ в периферической крови.

### ВЫВОДЫ

1. Эндогенные опиоидные пептиды участвуют в механизмах биологического действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

2. Выявлена роль эндогенных опиоидных пептидов в изменении концентрации мелатонина в сыворотке крови крыс при действии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ в норме и условиях стресса.

### Список литературы

1. Lerner A.B., Case J.D., Takakashi Y, et al. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melano-cytes // J. Am. Chem. Soc. – 1958. - V. 80. – P. 2587.
2. Арушанян Э.Б. Участие эпифиза в антистрессовой защите мозга // Успехи физиол. наук. – 1996. – Т. 27, № 3. – С. 26-35.
3. Арушанян Э.Б., Арушанян Л.Г. Модуляторные свойства эпифизарного мелатонина // Проблемы эндокринологии. – 1991. – Т. 37, № 3. – С. 65-68.
4. Перцов С.С., Сосновский А.С., Пирогова Г.В. Мелатонин и язвообразование в желудке крыс при остром эмоциональном стрессе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - № 1. - С. 12 – 14.
5. Заславская Р.М., Лилица Г.В., Тейблом М.М. Антиоксидантный эффект мелатонина в комплексной терапии пожилых больных постинфарктным кардиосклерозом и сердечной недостаточностью // Материалы второго международного симпозиума «Проблемы ритмов в естествознании». – Москва, Россия. – 2004. – С. 168-169.
6. Semm P., Schneider T., Vollrath L. The effects of an earth strength magnetic field on the electrical activity of pineal cells // Nature. - 1980. – Vol. 288. - P. 607-608.
7. Темуриянц М.А., Шехоткин А.В. Современные представления о механизмах электромагнитных воздействий // Вестник физиотерапии и курортологии. – 1999. - № 1. - С. 8-13.
8. Кветной И.М., Райхлин Н.Т., Южаков В.В., Ингель И.Э. Экстрапинеальный мелатонин: место и роль в нейроэндокринной регуляции гомеостаза // бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1990. – Т. 127, № 4. – С. 364-370.
9. Чуян Е.Н. Изменение содержания мелатонина в крови крыс под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты // Ученые записки Таврического

- национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2004. – Т. 17 (56), № 1. – С. 99-107.
10. Чуян Е.Н. Нейроиммуноэндокринные механизмы адаптации к действию низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты: Автореф. дисс. ... доктора биол. наук: 03.00.13 / КНУ. – Киев, 2004. – 40 с.
  11. Ebadi M., Govitrapong P., Phansuwan-Pujito P., Nelson F. and Reiter R.J. Pineal opioid receptors and analgesic action of melatonin // *J. Pineal Res.* – 1998. - V. 24. - P. 193–200.
  12. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 307с.
  13. Holaday J. W. Cardiovascular consequences of endogenous opiate antagonism // *Biochem. Pharmacol.* — 1983. — V. 32, № 4. — P. 573—585.
  14. Goldstein A., Pryor G.T., Otis L. S. et al. On the role of endogenous opioid peptides: Failure of naloxone to influence shock escape threshold in the rat // *Life Sci.* — 1976. — V. 18. — P. 599—604.
  15. Малиновская Н.К. Роль мелатонина в организме человека // *Клиническая медицина.* – 1998. - № 10. – С. 15-22.
  16. Чуян Е.Н., Махонина М.М. Роль опиоидных пептидов в изменении функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов крови крыс при изолированном и комбинированном с гипокинезией воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* – 2005. – Т. 18 (57), № 2. – С. 172-180.
  17. Чуян Е.Н., Махонина М.М. Роль опиоидных пептидов и симпатoadреиналовой системы в механизмах антистрессорного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты // Тезисы докладов VI Международной Крымской конференции «Космос и биосфера». – Партенит, Крым, Украина. – 2005. – С. 139-140.
  18. Lai Y., Horita A., Chou C.K., Guy A.W. Low-level microwave irradiation attenuates naloxone-induced withdrawal syndrome in morphine-dependent rats // *Pharmacol. Biochem. and Behav.* – 1986. – Vol. 24, № 1. – P. 151-153.
  19. Andersson S., Lundeberg T. Acupuncture – from empiricism to science: the functional background to acupuncture effects in pain and disease // *Med. Hypotheses.* – 1995. – Vol. 45, № 3. – P. 271-281.
  20. Aloyo V.J. Identification and characterization of delta opioid binding sites in the bovine pineal gland // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1992. - V. 262. - P. 292–297.
  21. Govitrapong P., Pariyanonth M. and Ebadi M. The presence and actions of opioid receptors in bovine pineal gland // *J. Pineal Res.* – 1992. - V. 13. - P. 124–132.
  22. Stankov B. and Reiter R.J. Melatonin receptors: current status, facts, and hypotheses // *Life Sci.* – 1990. – V. 46. - P. 971–982.
  23. Fraschini F., Esposti D., Esposti G., Lucini V., Mariani M., Scaglione F., Vignati G. and Della Bella D., On a possible role of endogenous peptides on melatonin secretion // *Adv. Pineal Res.* – 1989. – V. 3. - P. 127–132.
  24. Герман С.В. Мелатонин у человека // *Клиническая медицина.* – 1993. – Т. 71, № 3. – С. 22-30.
  25. Lynch H.J., Hsuan M., Wurtman R.J. Sympathetic neural control of indolamine metabolism in the rat pineal gland // *Adv. Exp. Biol. Med.* – 1975. – V. 54. – P. 93-114.
  26. Yu C.X., Wu G.C., Su S.F. and Chen C.H. Effect of melatonin on release of beta-endorphin, norepinephrine and 5-hydroxytryptamine in rat brain // *Yao Xue Xue Bao.* – 2001. – V. 36. P. 5–9.
  27. Maestroni G. J.M., Conti A., Pierpaoli W. Melatonin, stress and the immune system // *Pineal Res. Rev.* – 1989. - V. 7. – P. 203-226.

Поступила в редакцию 28.11.2005 г.