

УДК 612.015.4:(577.17:612.1:616-092.9):582.282.23(1-923)

ВПЛИВ МЕЛАНІНУ З АНТАРКТИЧНИХ ДЖЕРЕЛ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ КОРТИЗОЛУ В КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ДІЇ СТРЕСУ

Т.М. Фалалєєва¹, О.І. Цирюк¹, Н.В. Чижанська², В.П. Жарова³

¹ Відділ фармако-фізіології НДІ фізіології біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка, проспект Глушкова, 2, корпус 12, м. Київ, Україна, tfalalyeueva@mail.ru

² Полтавська державна аграрна академія, вул. Сковороди, 1/3, Полтава, Полтавська обл., 36003, Україна, pdaa@agroak.poltava.ua

³ Національний антарктичний науковий центр, бульв. Тараса Шевченка, 16, Київ, 01601, Україна, uac@uac.gov.ua

Реферат. У щурів, підданих дії 24-годинного іммобілізаційного стресу, в слизовій оболонці шлунка утворюються виразки, ерозії та масивні крововиливи, супроводжувані різким зростанням концентрації кортизолу в крові. Меланін захищає слизову оболонку шлунка від розвитку уражень, викликаних стресом, знижуючи при цьому в 1,81 раза концентрацію кортизолу в крові. Зроблено висновок, що падіння рівня кортизолу в крові на фоні дії меланіну є результатом активного впливу меланіну на одну з ланок механізму виділення кортизолу.

Влияние меланина на концентрацию кортизола в крови крыс при условии действия стресса. Т.М. Фалалеева, Е.И. Цирюк, Н.В., Чижанская, В.П. Жарова

Реферат. У крыс после воздействия 24-часового иммобилизационного стресса в слизистой оболочке желудка образуются язвы, эрозии и массивные кровоизлияния, сопровождаемые резким возрастанием концентрации кортизола в крови. Меланин защищал слизистую оболочку желудка от развития поражений, вызванных стрессом, понижая при этом в 1,81 раза концентрацию кортизола в крови. Сделан вывод, что падение уровня кортизола в крови на фоне действия меланина является результатом активного влияния меланина на одно из звеньев механизма выделения кортизола.

The influence of melanin on concentration of cortisol in the blood of the rats in conditions of stress action. T.M. Falalyeueva, O.I. Tsyryuk, N.V. Chyzhanskaya, V.P. Zharova

Abstract. Immobilizational stress exposure time of which was 24 hour evoked in gastric mucosa of rats formation of ulcers, erosions and hemorrhages with simultaneous drastic increase of cortisol blood level. Melanin defended gastric mucosa against development of injuries evoked by stress and at the same time reduced cortisol blood level by 1,81 times. It was concluded that a decrease in cortisol blood level against a background of melanin action is the result of active influence of melanin on one of the links of mechanism of cortisol liberation.

Key words: melanin, stress, gastric mucosa, injury, cortisol.

1. Вступ

Сьогодні для лікування виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки розроблені й широко використовуються досить ефективні фармакологічні засоби, арсенал же засобів для профілактики розвитку та рецидивів виразкової хвороби обмежений. Зважаючи на те, що часто стрес, який постійно супроводжує людину в сучасному суспільстві, є пусковою ланкою механізму патогенезу виразкової хвороби, зусилля багатьох вчених направлені на дослідження механізму дії стресу на гастро-дуоденальну слизову та розробку засобів профілактики дії стресу на неї. Відомо, що стрес характеризується активацією симпто-

адреналової системи, яка веде до зростання в крові рівня «гормону стресу» – кортизолу [12,16]. Доведено участь кортизолу у формуванні виразок шлунка різної генези [2, 4, 11, 14, 17], в тому числі викликаних стресом [6, 7, 13]. Аналіз сучасної літератури та наші попередні дані дозволяють стверджувати, що можливими перспективними засобами профілактики стресових уражень слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки будуть речовини природного походження на основі поліфенольних сполук. До таких речовин належить меланін, який є продуктом життєдіяльності дріжджеподібних грибів *Nadsoniella nigra* штам X-1.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідити рівень кортизолу в крові щурів до і після стресу на фоні дії меланіну.

2. Об'єкт і методи досліджень

Дослідження проведено на білих статевозрілих щурах-самцях. Постановка експериментів відповідала нормативам Конвенції з біоетики Ради Європи (1997 року), Хельсінської декларації Всесвітньої Медичної Асоціації (1996 року), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), іншим міжнародним угодами та національному законодавству в цій галузі [1, 5, 8, 9].

Тварини були розділені на 3 групи по 6 у кожній. За добу до початку експерименту всі щури були позбавлені їжі, але мали вільний доступ до води. Тварини I групи слугували інтактним контролем. Забір крові у них робили через 24 години голодування. Щури II та III груп були піддані дії «соціального стресу» («іммобілізаційний стрес у модифікації Гройсмана і Каревіної [3]). Перед початком дії стресу щурам II групи перорально вводили 0,9 мл фізіологічного розчину. Щурам III групи перорально вводили меланін у дозі 5 мг/кг, розчинений в 0,9 мл фізіологічного розчину. Через 24 години щурів умертвляли і відбирали кров для визначення рівня кортизолу в крові. Діставали шлунок, розрізали його по малій кривизні, вивертали слизовою назовні, ретельно промиваючи фосфатним буфером PBS при температурі 4°C.

Меланін, який ми використали в наших дослідженнях, є продуктом життєдіяльності чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* штам X-1, висіяних з вертикальних скель о. Галіндез (Українська антарктична станція Академік Вернадський). Меланін даного походження на 95% складається з поліфенолкарбонового комплексу.

Концентрацію кортизолу в крові визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу у сироватці крові інтактних і піддослідних тварин, застосовуючи набори реактивів «СтероїдІФА-кортизол». Враховуючи циркадні ритми виділення кортизолу в кров [18], експерименти розпочинали й закінчували в один і той же час, тобто забір крові на визначення рівня кортизолу в крові проводили в один і той же час доби.

У зв'язку з невеликим об'ємом вимірки для перевірки розподілу на нормальність було застосовано W тест Шапіро–Уїлксона. Ймовірність похибки першого роду $b > 0,05$. Оскільки наші дані виявились нормально розподіленими, порівняння вибірок проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Для наших даних ми приймали рівень значущості $p < 0,05$.

3. Результати досліджень та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів контрольної групи в слизовій оболонці шлунка уражень не виявлено. Після дії 24-годинного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів утворювались виразки, ерозії та масивні крововиливи (табл.1). Введення меланіну щурам перед початком нанесення стресу повністю усувало утворення виразок, кількість ерозій в одному шлунку зменшувалось на 78,3%, кількість масивних крововиливів – на 67,9%.

Т.М. Фалалєєва: ВПЛИВ МЕЛАНІНУ З АНТАРКТИЧНИХ ДЖЕРЕЛ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ КОРТИЗОЛУ...

У контрольній групі щурів концентрація кортизолу в сироватці крові складала $20,46 \pm 0,58$ нмоль/л (табл.2).

Таблиця 1

Вплив меланіну на ураження в слизовій оболонці шлунка щурів, викликаних імібізаційним стресом

Ураження	Кількість уражень на один шлунок, (M±SD)		
	контроль	стрес + 0,9 мл фізіологічного розчину, per os (n=10)	стрес + меланін (5 мг/кг, per os) (n=10)
Виразки	0	$1,03 \pm 0,56$	0***
Ерозії	0	$4,48 \pm 0,51$	$0,97 \pm 0,62$ **
Масивні крововиливи	0	$1,56 \pm 0,76$	$0,50 \pm 0,34$ **

Примітка: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ відносно стресу; n – кількість тварин.

Після 24-годинного стресу концентрація кортизолу різко зростала і складала $105,89 \pm 2,65$ нмоль/л, що було на 417,5% більше порівняно з контролем. У щурів III групи, яким перед нанесенням стресу вводили меланін, концентрація кортизолу у сироватці крові після закінчення дії 24-годинного стресу складала $67,66 \pm 3,25$ нмоль/л, що було на 230,7% більше, ніж у контролі, але в 1,81 раза менше, ніж у щурів II групи, яким перед нанесенням стресу вводили фізіологічний розчин.

Таблиця 2

Вплив меланіну на концентрацію кортизолу в сироватці крові, M±SD

Групи тварин	n	Концентрація кортизолу у сироватці крові (нмоль/л)	Ефект у відсотках по відношенню до контролю
Контроль	6	$20,46 \pm 1,42$	
Стрес + 0,9 мл фізіологічного розчину, per os	6	$105,89 \pm 6,49$ ***	> 417,5%
Стрес+меланін (5 мг/кг, per os)	6	$67,66 \pm 7,96$ ***/##	> 230,7%

Примітка: *** - $p < 0,001$ по відношенню до контролю, ## - $p < 0,01$ по відношенню до групи щурів, яким перед нанесенням стресу вводили фізіологічний розчин.

На відміну від Lechin та співавт. [15], які показали, що у хворих з виразкою дванадцятипалої кишки рівень кортизолу в крові різко зростає, а після гоєння виразкового дефекту повертається до контрольних значень, в наших експериментах меланін в 1,81 раза зменшував рівень кортизолу в крові, який під впливом стресу зростав в 5,18 раза. Зважаючи на те, що меланін на 100% захищав слизову оболонку шлунка від утворення виразок та різко зменшував утворення ерозій та масивних крововиливів, ми зробили висновок, що падіння рівня кортизолу в крові на фоні дії меланіну є результатом не гоєння уражень, а активного впливу меланіну на одну з ланок механізму виділення кортизолу.

Цей механізм полягає в тому, що будь-який фізіологічний або екзогенний стресовий вплив на організм спричиняє стимуляцію виділення кортикотропін-релізінг-гормону, який секретується переважно паравентрикулярними ядрами гіпоталамуса і є головним регулятором

синтезу й секреції в аденогіпофізі адренокортикотропного гормону. Останній стимулює виділення глюкокортикоїдів (в тому числі кортизолу) з кори наднирників, що забезпечують адаптацію організму до стресових факторів зовнішнього середовища, під якими ми розуміємо весь комплекс впливів на організм – від інфекційних і травмуючих агентів до емоційних стресів.

Роботами останніх років показано, що глюкокортикоїди в супрафізіологічних дозах захищають слизову оболонку шлунка від сильних ульцерогенних впливів [10] через механізм покращення мікроциркуляції у сливовій оборонці шлунка. Таким чином, зменшений під дією меланіну, але не відновлений до контрольних величин рівень кортизолу в крові є важливим фактором, що забезпечує захист слизової оболонки шлунка від стресових уражень.

4. Висновки

У щурів, підданих дії 24-годинного іміобілізаційного стресу, в слизовій оболонці шлунка утворюються виразки, ерозії та масивні крововиливи, супроводжувані різким зростанням концентрації кортизолу в крові. Меланін захищає слизову оболонку шлунка від розвитку уражень, викликаних стресом, знижуючи при цьому в 1,81 раза концентрацію кортизолу в крові. Падіння рівня кортизолу в крові, викликане меланіном, є результатом активного впливу меланіну на одну з ланок механізму виділення кортизолу.

Література

1. **Биомедицинская этика** / Под ред. В.И. Покровского. М., 1997.
2. **Голиков П.П., Пахомова Г.В., Тверитнева Л.Ф., Николаева Н.И.** Изменение в глюкокортикоид-связывающей функции транскортина при острых гастродуоденальных кровотечениях // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41. – С. 48–50.
3. **Гройсман С.Д., Каревина Т.Г.** О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. указ. ВИНТИ. Деп. Рукописи. – 1979. – № 12. – Б/о 131.
4. **Лазебник Л.В., Арбузова В.Г., Соколова Г.Н.** и др. Роль стресса в этиопатогенезе дуоденальной язвы у молодых пациентов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2002. – № 5. – С. 30–37.
5. **Мальцев В.И., Белоусов Д.Ю.** Этическая оценка методик проведения исследований // Еженедельник Аптека. – 20001. – № 34 (305).
6. **Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б.** Процессы биосинтеза белка в сердечной мышце и кардиопротекторное действие лигандов μ -опиатных рецепторов при иммобилизационном стрессе // Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 2.
7. **Подколзин А.А., Большаков Г.В., Шаныгина Д.В., Гуревич К.Г.** Выделение кортизола со слюной у больных артериальной гипертензией при стоматологическом стрессе: индивидуальные особенности // Российский биомедицинский журнал. – 2001. – Т. 2. – С. 209–211.
8. **Рекомендации Комитета по этике** проводящим экспертизу биомедицинских исследований // Женева. – 2000.
9. **Сторожков Г.И., Мальшева Е.А.** Оценка методик проведения исследований // Качественная клиническая практика. – 2001. – № 1. – С. 21–30.
10. **Филаретовна Л.П., Багаева Т.Р., Подвигина Т.Т., Морозова О.И.** Дефицит продукции глюкокортикоидов у крыс усиливает ульцерогенные эффекты стимулов разной модальности и интенсивности // Российский Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т. 88. – С. 602–611.

Т.М. Фалалеева: ВПЛИВ МЕЛАНІНУ З АНТАРКТИЧНИХ ДЖЕРЕЛ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ КОРТИЗОЛУ...

11. **Фролков В.К., Полушина Н.Д., Шварц В.И.** и др. Гормональные механизмы патогенеза и терапии экспериментальной гастродуоденальной язвы при помощи метода Окабэ // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1992. – С. 37–40.

12. **Christensen N.J., Jensen E.W.** Effect of psychosocial stress and age on plasma norepinephrine levels: a review // Psychosom. Med. – 1994. – Vol. 56. – P. 77–83.

13. **Furr M.O., Murray M.J., Ferguson D.C.** The effects of stress on gastric ulceration, T3, T4, reverse T3 and cortisol in neonatal foals // Equine Vet. J. – 1992. – Vol. 24. – P. 37–40.

14. **Lau J.Y., Lo S.Y., Ng E.K.** et al. A randomized comparison of acute phase response and endotoxemia in patients with perforated peptic ulcers receiving laparoscopic or open patch repair // Am. J. Surg. – 1998. – Vol. 175, N 4. – P. 325–327.

15. **Lechin F., van der Dijs B., Rada I. et al.** Plasma neurotransmitters and cortisol in duodenal ulcer patients. Role of stress // Dig. Dis. Sci. – 1990. – Vol. 35, № 11. – P. 1313-1319.

16. **Namiki M.** Aged people and stress // Nippon Ronen Igakkai Zasshi. – 1994. – Vol. 31. – P. 85-95.

17. **Orlicz-Szczesna G., Jablonski M., Gorzelak M.** Hypoplasia of G cells in long term steroid-treated rats after ultra-high dose of salmon calcitonin // Acta Histochem. – 1994. – Vol. 96. – P. 379-386.

18. **Ruis M.A., Te Brake J.H., Engel B. et al.** The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: effects of age, gender, and stress // Physiol. Behav. – 1997. – Vol. 62. – P. 623-630.