

Влияние экзогенного мелатонина на динамику массы тела и уровень белка Клото в крови у самок крыс, подвергшихся длительной темновой депривации

Л.И. Кондакова ✉, Л.И. Бугаева, В.В. Багметова, В.С. Сиротенко, Т.С. Смирнова

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

Аннотация. Проведено исследование влияния экзогенного мелатонина (0,3 мг/кг, внутривентрикулярно в 2%-й крахмальной слизи, 14-дневный курс) на динамику массы тела и уровень белка Клото в крови у 4-месячных белых беспородных самок крыс, подвергшихся 30-суточной темновой депривации (свето-темновой режим 24/0 ч, искусственное освещение 300 Люкс). Показано, что длительная темновая депривация приводит к снижению уровня белка Клото, которое является маркером преждевременного старения; снижению уровня мелатонина, колебаниям темпа прироста массы тела у половозрелых самок крыс. Экзогенный мелатонин способствовал увеличению уровня белка Клото и восстановлению уровня мелатонина в сыворотке крови животных, а также снижению массы тела, что указывает на его протективное влияние на состояние животных с ускоренным старением, вызванным темновой депривацией.

Ключевые слова: преждевременное старение, темновая депривация, мелатонин, белок Клото, крысы-самки

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2024-21-3-154-160>

The effect of exogenous melatonin on the dynamics of body weight and the level of Klotho protein in the blood of female rats subjected to prolonged dark deprivation

L.I. Kondakova ✉, L.I. Bugaeva, V.V. Bagmetova, V.S. Sirotenko, T.S. Smirnova

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Abstract. The study of the effect of exogenous melatonin (0.3 mg/kg, intragastrically in 2% starch mucus, 14-day course) on the dynamics of body weight and the level of Klotho protein in the blood of 4-month-old white mongrel female rats subjected to 30-day dark deprivation (light-dark mode 24/0 h, artificial lighting 300 Lux). It has been shown that prolonged dark deprivation leads to a decrease in the level of Klotho protein, which is a marker of premature aging; a decrease in melatonin levels, fluctuations in the rate of body weight gain in sexually mature female rats. Exogenous melatonin contributed to an increase in the level of Klotho protein and the restoration of melatonin levels in the blood serum of animals, as well as a decrease in body weight, which indicates its protective effect on the condition of animals with accelerated aging caused by dark deprivation.

Keywords: premature aging, dark deprivation, melatonin, Klotho protein, female rats

По данным Росстата, более 50 % россиян предрасположены к избыточной массе тела [1], за последние 20 лет отмечается рост распространенности эндокринных заболеваний и нарушений обмена веществ на 48,4 % [2], что связано с изменением не только ежедневного рациона питания, но и условий окружающей среды, условий и режима труда: повышение ритма жизни, работа в ночное время, частые перелеты и смена часовых поясов и др. В связи с чем все большую распространенность приобретают нарушения свето-темнового режима: световая и темновая депривация оказывают негативное влияние на хронобиологические процессы в организме, приводя к возникновению гормональных, метаболических нарушений. Одновременно световой десинхроноз является стрессирующим фактором для всех систем организма и сопровождается развитием

ускоренного старения, может стать пусковым фактором заболеваний сердечно-сосудистой, репродуктивной и других систем организма [3, 4]. Одним из «супрессоров» старения является белок Клото, который обладает антиоксидантной и антиапоптотической активностью, оказывает модулирующее влияние на энергетический метаболизм, а также участвует в регуляции многих физиологических процессов в организме и профилактике заболеваний [5]. С учетом серьезности нарушений, вызванных световым десинхронозом, приобретает актуальность изучения влияния светового десинхроноза (темновой депривации) на динамику массы тела и уровня белка Клото в сыворотке крови животных. Ранее в исследованиях на самцах крыс было показано, что длительная темновая депривация сопровождается статистически значимым уменьшением содержания в сыворотке крови

белка Клото и эндогенного мелатонина, при этом метаболические нарушения сопровождаются колебаниями динамики и темпа прироста массы тела у животных, экзогенный мелатонин способствовал нивелированию перечисленных нарушений [6]. С учетом полового диморфизма многих физиологических процессов представляет интерес изучение влияния экзогенного мелатонина на динамику массы тела и уровень белка Клото в крови у половозрелых самок крыс, подвергшихся длительной темновой депривации.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить особенности влияния экзогенного мелатонина на динамику массы тела и уровень белка Клото в крови у половозрелых самок крыс, подвергшихся длительной темновой депривации.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 49 беспородных белых крысах самках 4-месячного возраста (питомник филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России) в соответствии с правилами лабораторной практики РФ (ГОСТ 33044-2014). Эксперименты и содержание животных осуществляли с учетом требований Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ОВО ВолгГМУ Минздрава России (справка от 25.11.2022 № 2022/164).

Крысы были разделены на 3 группы: 1-я группа – негативный контроль ($n = 17$), животные содержались при фиксированном свето-темновом режиме (12/12 часов); 2-я группа – позитивный контроль ($n = 17$) и 3-я группа – опытная ($n = 15$) – содержались при постоянном искусственном освещении (24 часа, 300 Люкс) в течение 30 дней. По окончании периода темновой депривации животные 2-й и 3-й групп содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом свето-темновом режиме, при этом крысы 3-й опытной группы получали внутривенно через зонд мелатонин (Мелатонин-С3, 3 мг, Северная Звезда НАО, Россия) в эффективной экспериментальной дозе 0,3 мг/кг [3] в виде взвеси в 2%-й крахмальной слизи в объеме 20 мл/кг в течение 14 суток (ежедневно, однократно в одно и то же время, 20.00 МСК) [2]. Животные контрольных групп в течение 14 суток получали по аналогичной схеме 2%-ю крахмальную слизь в эквивалентном объеме. На протяжении всего исследования животные контрольных и опытной групп имели свободный доступ к воде и пище (полнораационный гранулированный комбикорм).

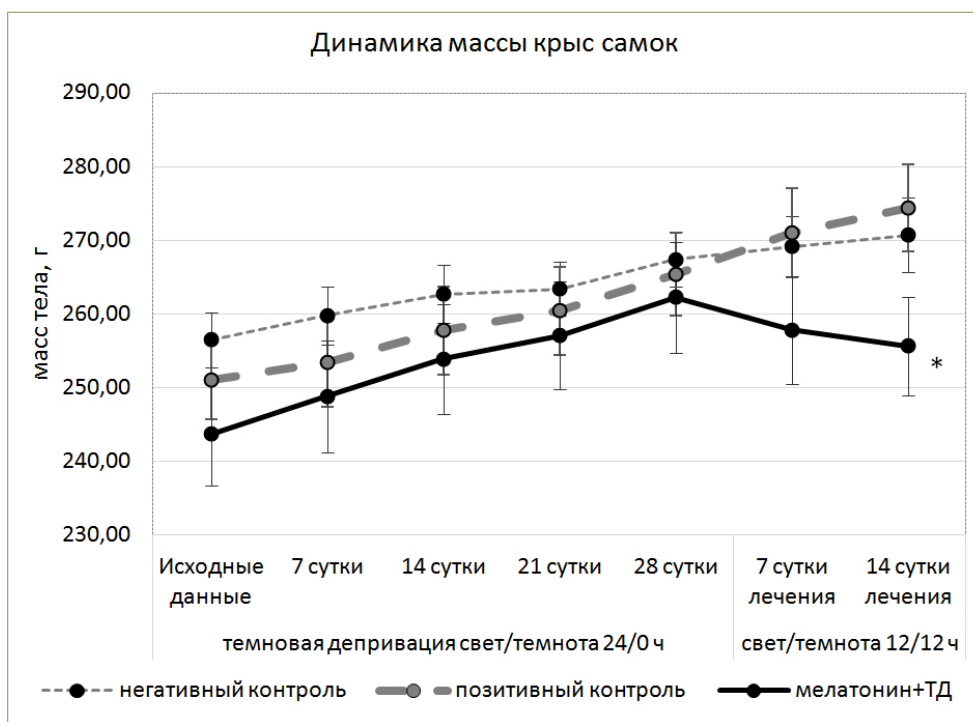
В ходе исследования каждые 7 сут. определялась динамика массы тела животных (г), оценивался темп прироста массы в % и $\Delta\%$. Забор крови для определения концентрации мелатонина, белка Клото осуществляли из брюшной аорты крыс после наркотизации путем однократного внутривенного введения хлоралгидрата (400 мг/кг) в воде очищенной в объеме 10 мл/кг. После забора крови животных подвергали эвтаназии путем декапитации с помощью гильотины (ООО «Открытая наука», Москва, Россия). В сыворотке крови определяли концентрацию мелатонина, белка Клото с помощью автоматического микропланшетного фотометра Sunrise TS4TECAN (Tecan Austria GmbH, Австрия) и набора реактивов ELISA Kit For Melatonin (MT), ELISA Kit for Klotho (KL) производства CLOUD-CLONE CORP (США).

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы GraphPad Prism 8.0 (США) с использованием рангового однофакторного дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса с апостериорным критерием Данна. Для определения нормальности распределения использовали критерий Шапиро – Уилка. Статистически значимыми считали различия при уровне статистической значимости ниже 5 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В группе негативного контроля в течение 6 недель исследования выявлена положительная динамика прироста массы тела. В начале эксперимента масса тела животных из группы негативного контроля составила в среднем ($256,47 \pm 3,71$) г, на 7-е сут. исследования масса тела контрольных животных возросла на 1,3 %, на 14-е сут. – на 0,3 % по отношению к предыдущему измерению. На 28-е сутки отмечался рост массы тела контрольных животных на 1,5 %. На 5–6-й неделе эксперимента прирост массы тела был стабильным равномерным в диапазоне 0,6–0,7 % (рис. 1, 2). Была выявлена также положительная динамика массы тела в $\Delta\%$ по отношению к исходному значению в течение всего исследования в группе негативного контроля (рис. 3).

Масса тела животных в начале эксперимента в группе позитивного контроля и опытной составила ($251,06 \pm 4,29$) и ($243,73 \pm 5,92$) г соответственно. На 7-е сут. эксперимента был выявлен прирост массы тела у животных в группе позитивного контроля и опытной на 0,94 и 2,1 % соответственно. В течение исследования у животных данных групп отмечались колебания динамики массы тела и темп ее прироста был неравномерный вплоть до регистрации отрицательных значений (преимущественно в опытной группе).



* $p < 0,05$ – по отношению к показателю группы животных негативного контроля (ранговый однофакторный анализ Краскела – Уоллиса, критерий Данна).

Рис. 1. Влияние мелатонина на динамику массы беспородных белых крыс-самок с ускоренным старением, вызванным 30-дневной темновой депривацией (свето-темновой цикл 24/0 ч), $M \pm t$

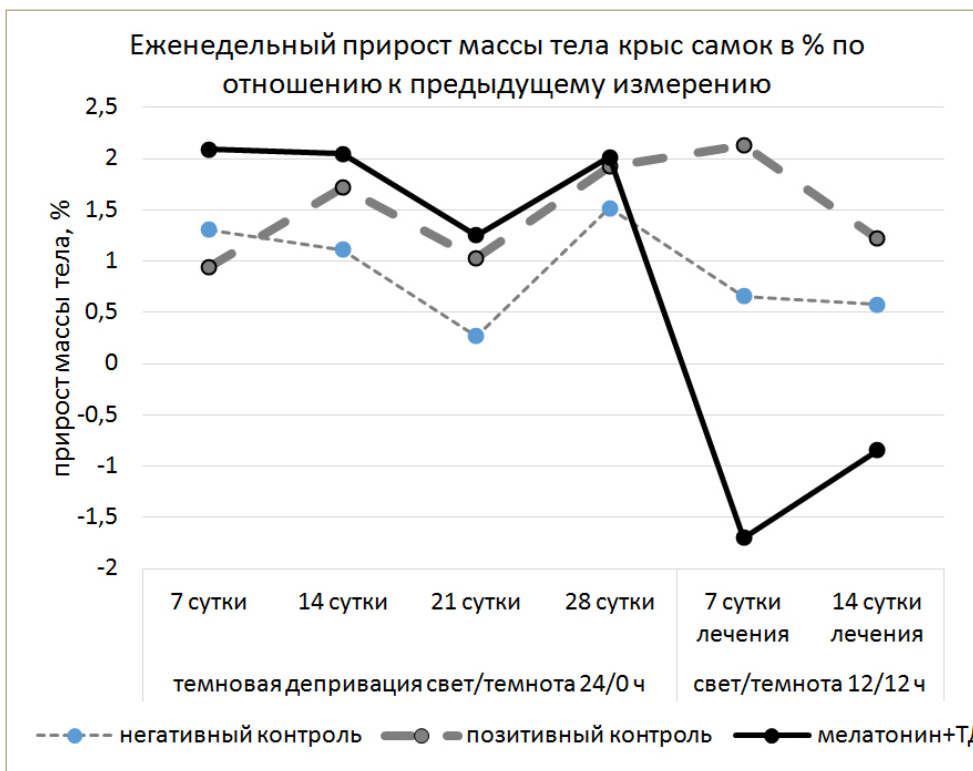


Рис. 2. Влияние мелатонина на темп прироста массы тела у беспородных белых крыс-самок с ускоренным старением, вызванным 30-дневной темновой депривацией (свето-темновой цикл 24/0 ч)

На 21-е сут. эксперимента у животных на фоне темновой депривации выявлено снижение темпа прироста массы тела (1,02 и 1,25 %, группы позитивного контроля и опытная соответственно) по сравнению с показателем крыс из группы негативного контроля, однако различия не были статистически значимыми. По окончании темновой депривации на 28-е сутки темп прироста массы тела

у крыс группы позитивного контроля и опытной составил 1,92 и 2,02 % соответственно. На фоне приема мелатонина на 7-е сутки после окончания темновой депривации темп прироста массы тела животных опытной группы приобрел отрицательные значения и составил 1,7 %, на 14-е сут. – 0,85%; также было выявлено снижение массы тела на 1,7 и 2,5% на 7 и 14 сут. соответственно.

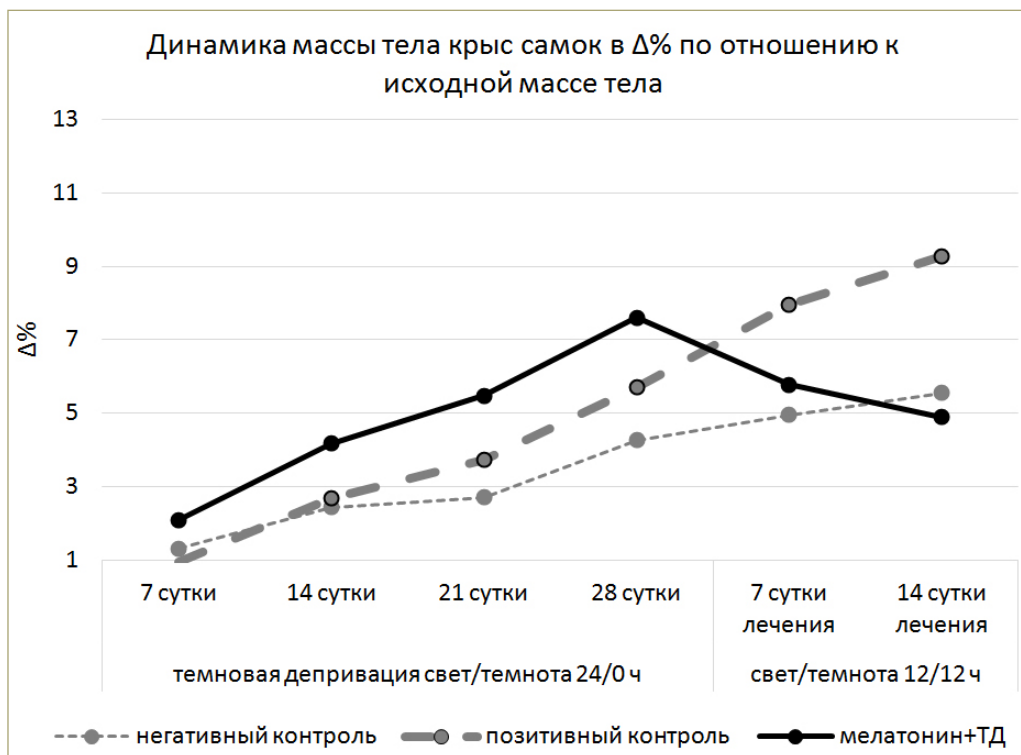


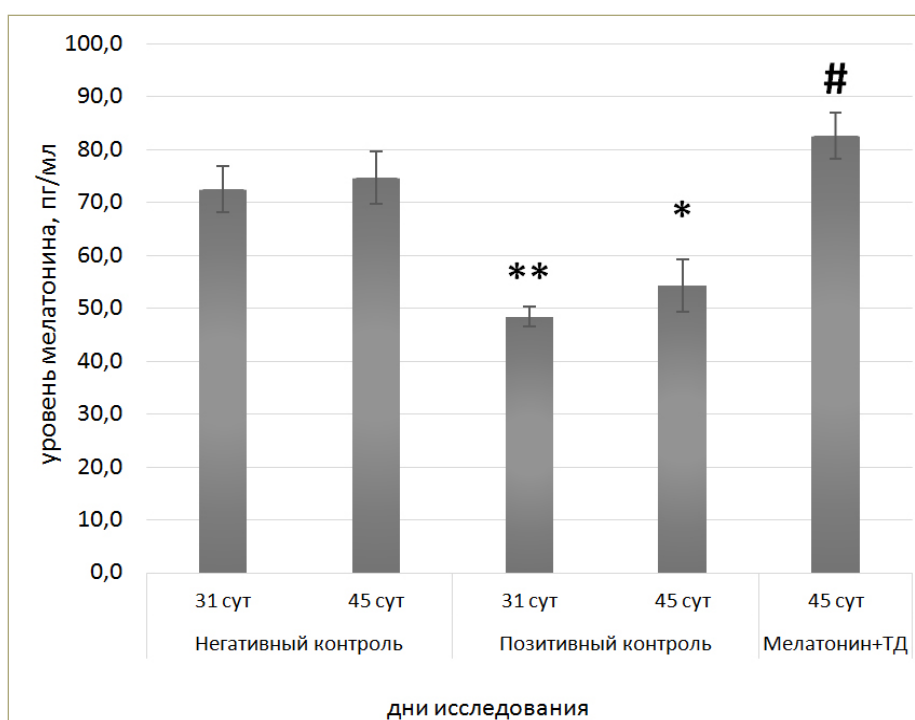
Рис. 3. Влияние мелатонина на относительный темп прироста массы тела у беспородных белых крыс-самок с ускоренным старением, вызванным 30-дневной темновой депривацией (свето-темновой цикл 24/0 ч)

У животных из группы позитивного контроля уровень мелатонина был статистически значимо меньше, чем показатели крыс из группы негативного контроля на 31-е сутки – на 30,9 %, на 45-е сутки – на 27,2 % (рис. 4). У крыс опытной группы уровень мелатонина в крови был выше, чем показатель животных позитивного контроля на 64,9 %.

Темновая депривация в течение 30 суток сопровождалась статистически значимым снижением уровня белка Клото в крови животных группы позитивного контроля – в 1,5 раза по отношению к аналогичному показателю группы негативного контроля. Через 14 суток после отмены темновой депривации у крыс данной группы отмечалось увеличение уровня белка Клото в сыворотке крови в 1,07 раза по сравнению с предыдущим измерением показателя, однако не достигал уровня группы негативного контроля. Повышение уровня белка Клото у животных позитивного контроля через 14 суток после окончания темновой депривации указывает на тенденцию к частичной компенсации наруше-

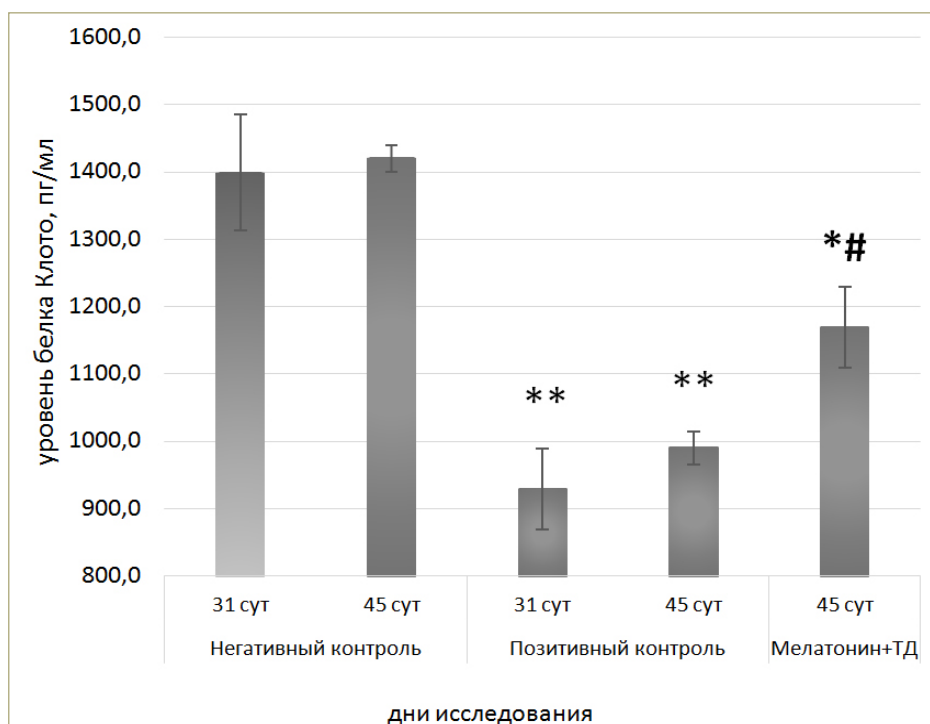
ний, вызванных световым десинхронозом. У животных в опытной группе, получавших после отмены темновой депривации 14-дневным курсом экзогенный мелатонин, уровень белка Клото был выше, по сравнению с показателем животных позитивного контроля (рис. 5).

Таким образом, отсутствие смены световой и темновой фаз приводило к снижению выработки мелатонина и уровня белка Клото в сыворотке крови у половозрелых самок крыс, что сопоставимо с данными, полученными ранее в экспериментах на самцах крыс [6]. Снижение уровня мелатонина, участвующего в регуляции цикла голод/насыщение сопровождалось ростом массы тела экспериментальных животных. Мелатонин оказывает положительное влияние на углеводный и липидный обмен, что сопровождается снижением массы тела и прироста веса при его экзогенном введении [7]. У животных, получавших лечебным курсом мелатонин, высокие значения уровня белка Клото сочетались со снижением массы тела.



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – по отношению к показателю группы животных негативного контроля; # $p < 0,05$ – по отношению к показателю группы животных позитивного контроля (ранговый однофакторный анализ Краскела – Уоллиса, критерий Данна).

Рис. 4. Влияние 30-дневной темновой депривации на уровень мелатонина в сыворотке крови беспородных белых крыс-самок (свето-темновой цикл 24/0 ч), $M \pm t$



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – по отношению к показателю группы животных негативного контроля; # $p < 0,05$ – по отношению к показателю группы животных позитивного контроля (ранговый однофакторный анализ Краскела – Уоллиса, критерий Данна).

Рис. 5. Влияние 30-дневной темновой депривации на уровень белка Клото в сыворотке крови беспородных белых крыс-самок без лечения и на фоне лечения мелатонином (свето-темновой цикл 24/0 ч), $M \pm t$

Данный факт соотносится с результатами, полученными в клинических исследованиях, в которых было показано, что у пациентов, страдающих сахарным диабетом II типа, абдоминальное ожирение сопряжено со значительным уменьшением содержания белка Клото [8]. Введение мелатонина способствует частичному восстановлению уровня белка Клото у животных [9]. Как и в ранее полученных данных на самцах крыс, мелатонин оказывал протективное влияние на физиологический статус половозрелых самок крыс, что выражалось в увеличении уровня белка Клото и восстановлении уровня мелатонина в сыворотке крови животных, а также снижении массы тела.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Световой десинхроноз, вызванный 30-суточной темновой депривацией, оказывает негативное воздействие на физиологическое состояние организма животных. Постоянное освещение приводит к снижению уровня белка Клото, которое является маркером преждевременного старения; снижению уровня мелатонина, колебаниям темпа прироста массы тела у половозрелых самок крыс. Экзогенный мелатонин способствовал увеличению уровня белка Клото и восстановлению уровня мелатонина в сыворотке крови животных, а также снижению массы тела, что указывает на его протективное влияние на состояние животных с ускоренным старением, вызванным темновой депривацией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Росстат изучил рацион россиян: Федеральная служба государственной статистики. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/313/document/70761> (дата обращения: 01.09.2023).
2. Заболеваемость населения по основным классам болезней: Федеральная служба государственной статистики. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721> (дата обращения: 01.09.2023).
3. Давыдов В.В., Медведев Д.В., Шодиев Д.Р., Некрасова М.С. Влияние нарушения светового режима на липидный обмен и функциональные показатели у интактных крыс и животных с алиментарным ожирением. *Наука молодых – Eruditio Juvenium*. 2017;2:175–184. doi: 10.23888/HMJ20172175-184.
4. Olejnik A., Franczak A., Krzywonos-Zawadzka A. et al. The Biological Role of Klotho Protein in the Development of Cardiovascular Diseases. *BioMed research international*. 2018;2018:5171945. doi: 10.1155/2018/5171945.
5. Нестерова А.А., Глинка Е.Ю., Тюренков И.Н., Перфилова В.Н. Белок Клото – универсальный регулятор физиологических процессов в организме. *Успехи физиологических наук*. 2020;51(2):88–104. doi: 10.31857/S0301179820020083.
6. Кондакова Л.И., Багметова В.В., Сиротенко В.С., Доника А.Д. Влияние мелатонина на динамику массы

тела и уровень белка Клото в крови у животных с преждевременным старением, вызванным темновой депривацией. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2022;19(4):110–117. doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-110-117.

7. Смирнова В.О., Барыкина И.Н., Саласюк А.С. и др. Возможности мелатонина пролонгированного высвобождения в коррекции симптомов метаболического синдрома. *Российский кардиологический журнал*. 2016;6(134):61–67. doi: 10.15829/1560-4071-2016-6-61-67.

8. Тимошенко О.В., Стахнева Е.М., Рагино Ю.И., Никитин Ю.П. Белок Клото в крови у мужчин с сахарным диабетом 2 типа и его ассоциации с кардиометаболическими факторами риска. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021;2:21–27. doi: 10.18699/SSMJ20210203.

9. Delpino F.M., Figueiredo L.M. Melatonin supplementation and anthropometric indicators of obesity: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*. 2021;91–92:111399. doi: 10.1016/j.nut.2021.111399.

REFERENCES

1. Rosstat studied the diet of Russians: Federal State Statistics Service. (In Russ.) URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/313/document/70761> (accessed: 01.09.2023).
2. Population incidence by major disease classes: Federal State Statistics Service. (In Russ.) URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721> (accessed: 01.09.2023).
3. Davydov V.V., Medvedev D.V., Shodiev D.R., Nekrasova M.S. effect of light regimes violations on lipid metabolism in intact rats and animals with alimentary obesity. *Nauka molodykh – Eruditio Juvenium*. 2017;2:175–184. (In Russ.) doi: 10.23888/HMJ20172175-184.
4. Olejnik A., Franczak A., Krzywonos-Zawadzka A. et al. The Biological Role of Klotho Protein in the Development of Cardiovascular Diseases. *BioMed research international*. 2018;2018:5171945. doi: 10.1155/2018/5171945.
5. Nesterova A.A., Glinka E.Yu., Tyurenkov I.N., Perfilova V.N. Protein Klotho – universal regulator of physiological processes in the organism. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk = Progress in physiological science*. 2020;51(2):88–104. (In Russ.) doi: 10.31857/S0301179820020083.
6. Kondakova L.I., Bagmetova V.V., Sirotenko V.S., Donika A.D. The effect of melatonin on the dynamics of body weight and the level of Klotho protein in the blood of animals with premature aging caused 110 by dark deprivation. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2022;19(4):110–117. (In Russ.) doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-110-117.
7. Smirnova V.O., Barykina I.N., Salasyuk A.S. et al. Slow release melatonin in metabolic syndrome symptoms correction. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2016;6(134):61–67. (In Russ.) doi: 10.15829/1560-4071-2016-6-61-67.
8. Timoshchenko O.V., Stahneva E.M., Ragino Yu.I., Nikitin Yu.P. Klotho protein in men with type 2 diabetes

mellitus blood and its association with cardiometabolic risk factors. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021;2:21–27. (In Russ.) doi: 10.18699/SSMJ20210203.

9. Delpino F.M., Figueiredo L.M. Melatonin supplementation and anthropometric indicators of obesity: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*. 2021;91–92:111399. doi: 10.1016/j.nut.2021.111399.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Лариса Игоревна Кондакова – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; ✉ larisakondakova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9028-2993>,

Любовь Ивановна Бугаева – доктор биологических наук, старший научный сотрудник по специальности «токсикология», заведующий лабораторией токсикологии, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; li_bugaeva@mail.ru

Виктория Владимировна Багметова – доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории синтеза инновационных лекарственных средств, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытным производством Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, Россия; vvbagmetova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4861-0217>

Виктор Сергеевич Сиротенко – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; sirotenko.viktor@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2249-020X>

Татьяна Семеновна Смирнова – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; tssmirnova2013@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 09.09.2023; одобрена после рецензирования 02.06.2024; принята к публикации 06.09.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Larisa I. Kondakova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; ✉ larisakondakova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9028-2993>

Lyubov I. Bugaeva – Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher in the specialty “Toxicology”, Head of the Laboratory of Toxicology, Scientific Center for Innovative Medicinal Products with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; li_bugaeva@mail.ru

Victoria V. Bagmetova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Synthesis of Innovative Medicines of the Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; vvbagmetova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4861-0217>

Viktor S. Sirotenko – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; sirotenko.viktor@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2249-020X>

Tatyana S. Smirnova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; tssmirnova2013@yandex.ru

The article was submitted 09.09.2023; approved after reviewing 02.06.2024; accepted for publication 06.09.2024.