

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ДИНАМИКУ СУТОЧНОЙ ПОДВИЖНОСТИ КРЫС С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ АРТРИТОМ

А. В. Попов, С. С. Наумов, Э. Б. Арушанян¹

Воспалительный артрит у крыс вызывает дезорганизацию суточного ритма двигательной активности, которая усиливается контрольными инъекциями физиологического раствора. Хроническое введение мелатонина (5 мг/кг) ограничивает патологическую дизритмию. Под влиянием диклофенака показана лишь тенденция к нормализации ритмики.

Ключевые слова: циркадианный ритм; воспаление; мелатонин; диклофенак.

ВВЕДЕНИЕ

У мелатонина — основного гормона мозговой железы эпифиза — в последние годы показаны широкие терапевтические возможности при самых различных формах патологии, в том числе воспалительного характера [4]. Известно, что даже региональному воспалительному процессу сопутствуют системные нарушения, в структуру которых зачастую включаются расстройства сна. Механизмы регуляции циклов сон — бодрствование тесно сопряжены с организацией суточного периодизма. Между тем у мелатонина показаны как гипногенные, так и ритмстабилизирующие свойства [1, 2]. В этой связи представлялось интересным изучить его влияние на перестройку ритма циркадианной локомоции, возникающую у крыс при моделировании воспалительного артрита, и сопоставить его действие с эффектом стандартного противовоспалительного препарата диклофенака из группы НПВС.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 50 белых беспородных крысах-самцах массой 180–240 г в зимние месяцы (декабрь — январь). В соответствии с ранее описанным подходом [6] для регистрации ритма циркадианной (суточной) локомоции животных помещали в изолированные подвижные боксы собственной конструкции с автоматической подачей стандартизированного корма и воды. Это позволяло на протяжении длительного периода времени производить компьютерную оценку двигательного поведения животных. После их 3-дневной адаптации к условиям содержания в дальнейшем (на протяжении 7 сут) количественно учитывали число переходов по клетке. Крыс содержали при фиксированном световом режиме (свет — темнота 12:12 с включением освещения в 8.00 и выключением в 20.00) при максимальной стандартизации окружающей температуры и соблюдением требований Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными.

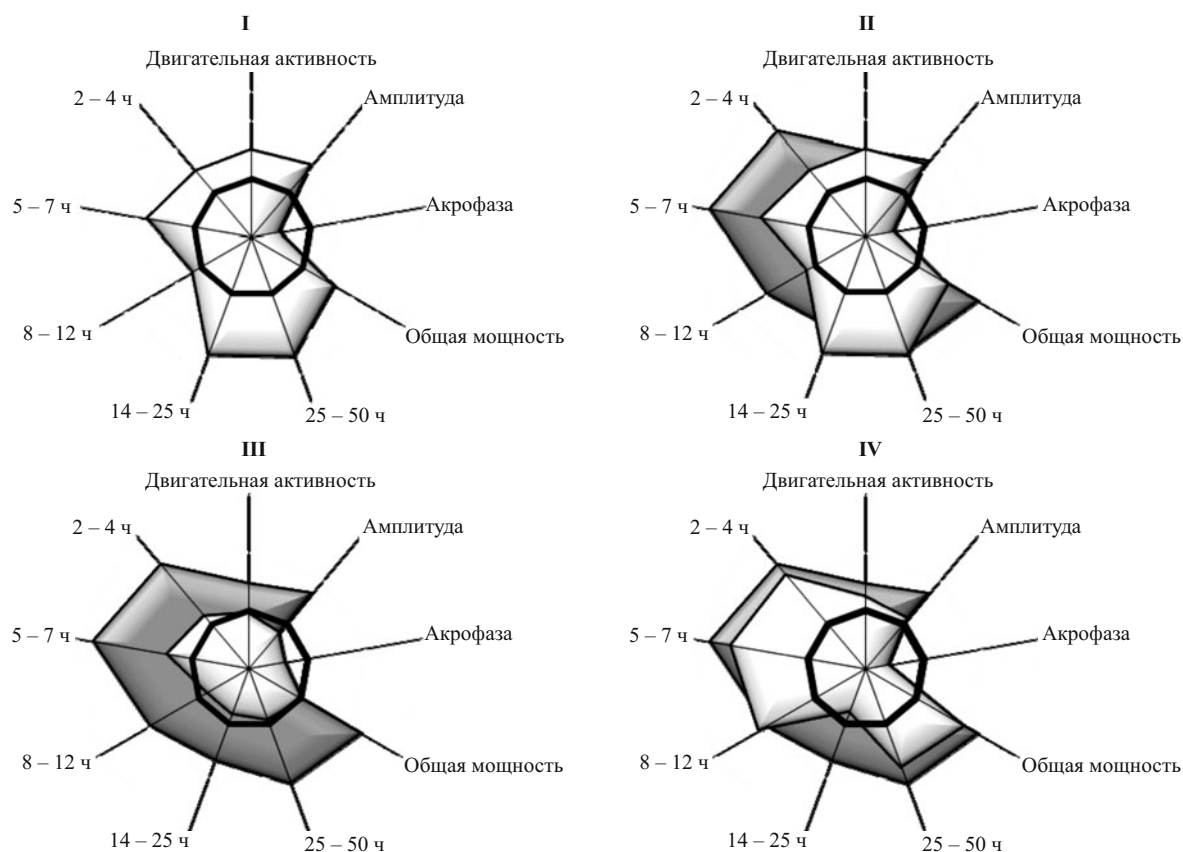
Предварительно всех крыс разделили на 5 групп (по 10 в каждой). Затем у всех, кроме интактных живот-

ных (1 группа), моделировали воспалительный артрит (однократное субплантарное введение 0,1 мл 2 % водного раствора формалина в область сустава задней конечности), вторая (контрольная) группа оставалась без всякого воздействия, в третьей животные получали в вечерние часы (18.00–19.00) в течение недели ежедневные внутривентральные инъекции 0,5 мл физиологического раствора, в четвертой и пятой по той же схеме применяли мелатонин (5 мг/кг) и диклофенак (8 мг/кг).

Оценку циркадианной локомоции проводили методом косинор-анализа [7], позволявшим учитывать амплитуду и акрофазу ритма. Для определения мощности колебательного процесса и его частотных составляющих использовали спектральный анализ. Кроме того, на протяжении всего срока регистрации рассчитывали общую двигательную активность животных и отдельно число совершаемых движений за световой и темный периоды суток. При статистической обработке результатов использовали *t*-критерий Стьюдента.

Учитывая большое число переменных, характеризующих ритм циркадианной локомоции крыс, для его характеристики применяли разработанный нами интегративный хронобиологический показатель (ИХП). Он позволяет, на наш взгляд, упростить оценку адаптивных возможностей животных и дать более корректную оценку фармакологического эффекта. Величину ИХП определяли с учётом основных параметров циркадианного ритма (двигательная активность, акрофаза, амплитуда и спектральная мощность колебаний). На предварительном этапе в популяции из 120 интактных животных для каждого регистрируемого показателя отдельно определяли среднегрупповую величину (M), ошибку средней ($M \pm m$) и среднее квадратичное отклонение ($M \pm SKO$). Затем показатели каждого животного сравнивали с полученными результатами. Если они находились в пределах ошибки средней, выделялась зона нормы (0 баллов), если в пределах ($M \pm SKO$), то выделялась зона умеренных отклонений («+» или «-» 1 балл). Если значения показателя выходили за пределы $M \pm SKO$, фиксировали отклонения от нормы (± 2 балла). По сумме баллов (абсолютных значений без учёта знака) для каждой крысы от-

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, 355017, ул. Мира, 310.



Комплексная векторографическая оценка влияния мелатонина и диклофенака на основные показатели ритма (спектральная мощность волн часового диапазона, значения косинор-анализа: амплитуда и положение акрофазы ритма; общая двигательная активность) околосоуточной подвижности крыс с воспалительным артритом.

На каждой оси векторограммы, обозначающей один из параметров ритма, результаты представлены в % к данным у интактных животных (их профиль активности очерчен жирной линией): I — реакция на воспаление, II — ответ на инъекционный стресс (темная область), III — после введения мелатонина, IV — после введения диклофенака.

дельно определяли величину отклонений от нормы и индивидуальный ИХП.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс с локальным воспалительным поражением конечности по сравнению с интактными животными заметно менялась картина суточной подвижности. В целом происходило её усиление, особенно значительно в ночные часы. При этом отмечена тенденция к возрастанию амплитуды циркадианного ритма со смещением его акрофазы на более раннее ночное время (1 ч 18 мин). Такие изменения, согласно результатам спектрального анализа, сопровождались некоторой реорганизацией ритма в сторону увеличения мощности околосоуточных колебаний с периодом 25 ч и более. В результате среднее значение ИХП оказывалось несколько выше, чем в интактной группе ($2,5 \pm 0,5$ и $4,8 \pm 0,8$). Всё это в совокупности сказывалось на профиле комплексной векторограммы (таблица, рисунок).

Описанные хронобиологические нарушения прогрессировали у животных, которые на фоне воспаления дополнительно получали инъекции физиологического раствора. Теперь, в соответствии с ранее опубли-

кованными данными [6], изменение целого ряда параметров ритма приобретало статистически значимый вид. По сравнению с первой группой резче повышались средняя двигательная активность и амплитуда ритмики, особенно в тёмное время суток со сдвигом акрофазы на ещё более ранние ночные часы (0 ч 24 мин). Менялись и спектральные характеристики в виде увеличения доли не только продолжительных (свыше 25 ч), но и более частых (8–12 и менее) волн. Следствием служили дальнейший рост ИХП (до $6,0 \pm 0,5$) и в целом негативная реорганизация векторографического профиля активности у крыс данной группы (таблица, рисунок). Тем самым, дизритмия воспалительной природы усугублялась, очевидно, за счёт стрессорного характера инъекционной процедуры.

Повторное введение мелатонина (5 мг/кг) на фоне воспалительного процесса в целом оказывало нормализующее влияние на временную динамику циркадианной подвижности животных. По сравнению с результатами, полученными у первой и особенно второй группы крыс, это проявлялось в снижении величины общей двигательной активности и амплитуды ритма. Величины обоих показателей приближались к тем, что

были зарегистрированы в интактной группе. Эффект вещества можно было констатировать уже при визуальной оценке первичных хронограмм. В отличие от контрольных крыс с введением физиологического раствора в целом меньше оказывалась мощность колебательного процесса со смещением акрофазы ритма на более позднее время (2 ч 36 мин). Отмечена тенденция и к нормализации спектральных характеристик суточного ритма. Ограничение профиля спектрограммы проявлялось в снижении числа не только самых медленных (25 – 50 ч) волн, но и всего набора колебаний, в том числе высокочастотных. В конечном счёте резко снижалась величина ИХП (2,3 против 6,4 при введении физиологического раствора). Эти факты позволяют говорить о существовании у гормонального препарата в условиях воспалительной дизритмии ритморганизующей активности. И такой вывод наглядно демонстрирует сравнение суммарных векторограмм (таблица, рисунок).

Использованный для сравнения нестероидный противовоспалительный препарат диклофенак также обнаруживал определённые хронотропные свойства. У животных, получавших его повторно, несколько ниже, чем в контрольной группе с инъекциями физ. раствора, оказывались средняя величина общей двигательной активности, амплитуда циркадианного ритма и мощность колебательного процесса. Установлена тенденция и к смещению акрофазы ритма на поздние часы и к более адекватной перестройке спектрограммы с некоторым, уменьшением ИХП. Однако в целом по выраженности указанных сдвигов диклофенак заметно уступал мелатонину, что отчётливо проявляется не только в разнице средних величин тех или иных параметров ритмики, но и при внешнем сопоставлении рисунка векторограмм (таблица, рисунок).

Таким образом, как показано на модели воспалительного артрита, подобная патология сопровождается хронобиологическим дефектом в виде изменения отдельных статических и динамических характеристик околосуточного ритма локомоторной активности крыс. Инъекционный стресс способствует усилению,

тогда как повторное введение мелатонина, напротив, ограничению такого рода дизритмии.

В основе описанного эффекта мелатонина, по-видимому, лежат несколько причин. Одну из них следует, вероятно, искать в сосуществовании у него одновременно аналгетической и противовоспалительной активности. Наличие первой подтверждают и результаты работы Laste с соавторами [8]. Как показано ими в опытах, проведённых также на крысах с адьювантным артритом, ограничение местного воспалительного процесса мелатонином чётко коррелировало с повышением порога болевой чувствительности, определяемого методом горячей пластины. Если рассматривать собственные противовоспалительные свойства мелатонина, то они, в свою очередь, обусловлены целой совокупностью обобщённых ранее и подробно описанных клеточных механизмов [5, 9].

Между тем традиционные противовоспалительные средства и, в частности, изученный нами диклофенак обладают той и другой формами фармакологической активности. Потому нельзя исключить, что данное обстоятельство отчасти определяет происхождение обнаруженных нами и у него некоторых хронотропных свойств. Однако по их выраженности он заметно уступает мелатонину, а это побуждает искать дополнительные объяснения полученному факту.

В частности, существенное и вполне очевидное различие между обоими веществами заключается в отсутствии у диклофенака, в отличие от мелатонина, способности менять функцию центральных аппаратов управления биоритмами и обеспечивать их ресинхронизацию в условиях разной формы дизритмии [2, 10]. Ещё одним аргументом в пользу более высокой ритм-стабилизирующей активности мелатонина может служить присущая ему и отсутствующая у диклофенака способность оказывать адаптогенное воздействие на психоэмоциональную сферу человека и животных [3].

ВЫВОДЫ

1. У крыс с воспалительным артритом отмечается дезорганизация циркадианной подвижности с изменением статических и динамических характеристик рит-

Влияние мелатонина и диклофенака на основные параметры ($M \pm m$) ритма циркадианной локомоции крыс с воспалительным артритом

Группа	Двигательная активность	Косинор-анализ			Спектральный анализ, ч					ИХП
		Амплитуда	Акрофаза	Мощность волн	25 – 50	14 – 25	8 – 12	5 – 7	2 – 4	
Интактные	591,6 ± 38,2	4,1 ± 0,25	2,5 ± 0,40	40,7 ± 2,3	9,4 ± 1,20	2,3 ± 0,40	5,8 ± 0,9	5,4 ± 0,7	16,8 ± 0,53	2,5 ± 0,54
Воспаление	871,4 ± 137,4	6,5 ± 1,0	1,2 ± 0,5	66,9 ± 3,2	20,2 ± 1,4 [#]	4,8 ± 0,8 [#]	6,7 ± 0,9	9,7 ± 1,6	24,5 ± 1,2	4,8 ± 0,82
Физ. раствор	862,4 ± 90,2	6,9 ± 1,1	0,1 ± 0,7 [#]	90,4 ± 3,7 [#]	19,7 ± 1,5 [#]	3,8 ± 0,7	11,3 ± 0,78 [#]	14,5 ± 3,1 [#]	39,2 ± 1,1 [#]	6,4 ± 0,73 [#]
Мелатонин	561,6 ± 65,3	3,3 ± 0,41*	1,6 ± 0,8*	43,3 ± 2,1*	8,8 ± 1,0*	1,9 ± 0,38*	4,8 ± 0,8*	7,6 ± 2,2*	19,6 ± 0,9*	2,3 ± 0,51*
Диклофенак	735,9 ± 51,4	4,6 ± 0,52	1,0 ± 0,49	79,5 ± 2,7	16,8 ± 1,7	1,8* ± 0,3	12,1 ± 1,2	12,5 ± 1,9	35,2 ± 1,3	4,8 ± 0,76

Примечание: [#] — показатель достоверности при сравнении с интактными животными; * — при сравнении фармакологического эффекта с реакцией на физиологический раствор (для $p < 0,05$).

ма. Хронобиологические нарушения усугубляются контрольными инъекциями физиологического раствора.

2. Хроническое введение мелатонина (5 мг/кг) достоверно ограничивает патологическую дизритмию по сравнению с результатами, полученными у контрольных животных. Под влиянием препарата сравнения диклофенака показана лишь тенденция к нормализации ритмики.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Н. Анисимов, *Мелатонин: роль в организме, применение в клинике*, Санкт-Петербург (2007).
2. Э. Б. Арушанян, *Уникальный мелатонин*, Ставрополь (2006).
3. Э. Б. Арушанян, *Ж. высш. нервн. деят.*, 61, 6, 645 – 659 (2011).
4. Э. Б. Арушанян, *Клин. мед.*, 2, 4 – 7 (2013).
5. Э. Б. Арушанян, С. С. Наумов, *Клин. мед.*, 7, 18 – 22 (2013).
6. Э. Б. Арушанян, А. В. Попов, *Экспер. и клин. фармакол.*, 69(2), 14 – 17 (2006).
7. И. П. Емельянов, *Форма колебаний в биоритмологии*, Новосибирск (1976).
8. G. Laste, I. C. de Macedo, J. Ripoll Rozisky, et al., *J. Pain Res.*, 5, 359 – 360 (2012).
9. R. J. Reiter, J. P. Calvo, M. Karbownik, et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 917, 376 – 386 (2000).
10. J. B. Zawilska, D. J. Scene, J. Arendt, *Pharmacol. Rep.*, 61, 383 – 410 (2009).

Поступила 15.04.14

INFLUENCE OF MELATONIN AND DICLOFENAC ON CIRCADIAN RHYTHM OF LOCOMOTOR ACTIVITY IN RATS WITH LOCAL INFLAMMATORY ARTHRITIS

A. V. Popov, S. S. Naumov, and E. B. Arushanyan

Department of Pharmacology, Stavropol State Medical University, ul. Mira 310, Stavropol, 355017 Russia

Inflammatory arthritis is accompanied by disorganization of the circadian rhythm of locomotion in rats. Control saline injections increased the rhythm disturbances. Chronic administration of melatonin (5 mg/kg) attenuated these chronopathological shifts. Diclofenac demonstrated much lower positive chronopharmacological activity than did melatonin.

Keywords: circadian rhythm, inflammation, melatonin, diclofenac