

КАМИНСКАЯ ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА

**КОРРЕКЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
АНКСИОЛИТИКОВ И АНТИДЕПРЕССАНТОВ**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена на кафедре фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармакологии;

Бейер Эдуард Владимирович

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, декан лечебно-профилактического факультета, председатель объединённого ученого совета лечебно-профилактического факультета, военного учебного центра, подготовительного факультета по обучению иностранных граждан и факультета по обучению иностранных студентов, ординаторов и аспирантов ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Сафроненко Андрей Владимирович

Доктор медицинских наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Изможерова Надежда Владимировна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2025 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.02, созданного при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России по адресу 400066, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «_____» _____ 2025 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Шаталова Ольга Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Клинико-эпидемиологические исследования, проведенные в последние годы, выявили высокую распространенность невротических и депрессивных расстройств, а также сохраняющуюся тенденцию к их росту (Dobson K.G. et al., 2020; Goodwin G.M., 2021; Ren X. et al., 2020; Stein D.J., et al., 2021). Это обусловлено изменением темпа и характера современной жизни, а также влиянием различных биологических и экологических факторов. Ситуацию значительно усугубила пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), поскольку само заболевание и сопутствующие карантинные меры спровоцировали взрывной рост тревожных и депрессивных проявлений у населения всего мира (Shah S.M. et al., 2021; Bauerle A. et al., 2020). При этом прямые (оказание медицинской помощи, социальные выплаты) и косвенные (нетрудоспособность и смертность) экономические потери, связанные с этими заболеваниями, могут достигать 1,3% ВВП Российской Федерации (Куликова А.Ю., Дедюрина Ю. М., 2011).

Используемые в клинической практике традиционные анксиолитические и антидепрессивные препараты демонстрируют невысокую эффективность, часто не превышающую 50%. Во многих случаях наблюдается неполный выход из невротических и депрессивных состояний, что сопряжено с увеличенным риском рецидивов, суицидов, снижением социальной адаптации и инвалидизации. В процессе терапии отмечаются многочисленные побочные эффекты, в том числе ухудшение когнитивных функций, угнетение моторики, выраженное ограничение эмоциональной реактивности, сонливость и вегетативные расстройства (Арушанян Э.Б., Ованесов К.Б., 2017; Braund T.A. et al., 2021; Kendrick T. Br., 2021; Lundsgaard C.C., Videbech P., Ugeskr. Laeger. 2020; Saha K. et al., 2021).

Важно отметить, что формирование и невротических, и депрессивных расстройств неизбежно сопровождается развитием дизритмии, что объединяет их с хронобиологических позиций. В роли пусковых факторов нарушения ритмостаза обычно выступают эмоциональный стресс или расстройства в функции центральных пейсмекерных структур головного мозга. Возникающий десинхроноз, в свою очередь, может поддерживать и даже усугублять психоэмоциональные нарушения (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2019; Арушанян, Э.Б., 2005; Арушанян, Э.Б., 2015).

Между тем в последние годы пристальное внимание исследователей привлекает гормон мелатонин, продуцируемый клетками мозговой железы эпифиза и обладающий универсальной хронотропной активностью (Cardinali D.P., 2021; Oishi A. et al., 2020; Vlachou M. et al., 2021; Wu J. et al., 2021). Очевидно, что, среди прочего, благодаря ей вещество обладает широким диапазоном фармакологического действия, направленного на защиту центральной нервной системы и внутренних органов от различных повреждений. В частности, у мелатонина в экспериментальных

условиях показаны противотревожные и антистрессорные свойства (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2015; Madsen V.K. et al., 2020; Yildiz G.A. et al. 2021). Доказана также эффективность при депрессии самого гормона и созданных на его основе стимуляторов мелатониновых рецепторов, например, антидепрессанта вальдоксана (агомелатина) (Gorwood P. et al. 2021; Rebai R. et al., 2021; Yao X.-W. et al. 2021). В связи с этим ритмстабилизирующие свойства гормона могут значительно повысить эффективность лечения данных форм психопатологии.

Однако монотерапия мелатонином самых различных заболеваний в настоящее время в клинической практике не востребована. Это обусловлено невозможностью его использования без учёта целого ряда обстоятельств (выбор адекватной дозы вещества, времени применения и др.). Но сочетанное применение мелатонина и традиционных средств специфической терапии заболеваний существенно расширяет его терапевтический потенциал (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. 2019)

Имеются убедительные экспериментальные и клинические доказательства способности гормона усиливать фармакологическую активность лекарственных веществ, принадлежащих к разным фармакологическим группам. К их числу наряду с нейротропными средствами (наркозные препараты, психостимуляторы, ноотропы) принадлежат антигипертензивные, антиангинальные, противомикробные, противовирусные и противоопухолевые препараты (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2017; Juuybari K.V. et al., 2020; Reiter R.J. et al. 2020; Zhou B. et al. 2019). Одновременно, сочетание мелатонина с другими лекарственными средствами ведёт к существенному ограничению выраженности их нежелательных реакций (Atalik K.E. et al., 2010; Kesik V. et al., 2010).

В связи с изложенными фактами, изучение особенностей комбинированного использования мелатонина с анксиолитическими и антидепрессивными препаратами, которое ранее не проводилось, представляется весьма актуальным, поскольку может существенно повысить эффективность указанных средств и ограничить их побочные эффекты.

Степень разработанности темы исследования

Эпифизарный гормон мелатонин обладает уникальной широтой фармакологических возможностей, в числе которых ритмстабилизирующие и иммуностропные свойства, способность нормализовать работу практически всех периферических органов, эндокринной системы и противоопухолевый эффект (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2019). Среди прочего, психотропная активность мелатонина служит объектом пристального внимания многих исследователей. В частности, обнаружено, что снижение функции пинеальной железы способствует развитию аффективных расстройств, в том числе усилению тревожности (Carpenter J.S. et al., 2021; Comai S. et al., 2019; Liu J. et al., 2021), а гормон демонстрирует анксиолитические свойства (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2015). Аналогичное действие мелатонина выявлено и у людей (Patel T., Kurdi M.S.J., 2015; Brignardello-Petersen R., 2019). Наряду с описанными свойствами, у мелатонина обнаружены и антидепрессивные возможности.

Представлены экспериментальные и клинические данные, согласно которым снижение секреции гормона неизбежно сопутствуют развитию психической депрессии. В ряде экспериментов показано, что введение резерпина и эпифизэктомия оказывают сходное продепрессивное действие (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2019; Manchia M. et al., 2019; Zhao W. et al., 2017). При этом введение мелатонина приводит к обратным сдвигам (Nie L. et al., 2017).

Имеются факты, свидетельствующие о способности мелатонина выступать в качестве синергиста традиционных препаратов, используемых для лечения церебральной и соматической патологии. Оказалось, что при сочетании с центральными нейротропными средствами из самых разных фармакологических групп он стабильно потенцирует их активность (Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2017; Otmani S. et al., 2008). Однако взаимодействие мелатонина с анксиолитическими и антидепрессивными препаратами практически не изучено и требует экспериментального обоснования.

Цель исследования: изучить влияние эпифизарного гормона мелатонина на проявление специфической и хронотропной активности анксиолитических и антидепрессивных препаратов.

Задачи исследования

1. Провести сравнительную оценку влияния психотропных препаратов (анксиолитиков и антидепрессантов), мелатонина и их комбинации на психоэмоциональное состояние экспериментальных животных.

2. Изучить изменения во временной организации функций (циркадианном ритме подвижности, колебательной структуре плавательного поведения и вариативности сердечного ритма) после использования анксиолитических и антидепрессивных средств, мелатонина и их сочетанного применения.

3. Оценить влияние анксиолитиков, мелатонина и их комбинации на психоэмоциональные, дизритмические и морфологические нарушения у крыс, вызванные повторным стрессированием.

4. Изучить влияние удаления эпифиза на уровень тревожных и депрессивно-подобных проявлений в поведении животных и ритмическую организацию функций.

5. Оценить выраженность специфических и хронотропных эффектов анксиолитиков и антидепрессантов при их изолированном использовании, а также в комбинации с мелатонином у эпифизэктомированных крыс.

6. Исследовать влияние мелатонина, психотропных препаратов и их комбинации на выраженность стресс-индуцированных окислительных процессов в структурах переднего мозга крыс.

Научная новизна

Впервые проведена сравнительная оценка психотропных свойств эпифизарного мелатонина и традиционных анксиолитических и антидепрессивных препаратов. Обнаружено, что гормон демонстрирует собственную фармакологическую активность и заметно усиливает действие изученных веществ.

Показано, что ослабление тревожных и депрессивно-подобных реакций сопровождается перестройкой ритмической организации поведения и сердечной деятельности. Обладая выраженной хронотропной активностью, мелатонин повышает эффекты психотропных средств.

Впервые обнаружено, что феназепам и мелатонин ограничивают индуцированную хроническим иммобилизационно-болевым стрессом дизритмию, что совпадает с ослаблением тревожных реакций в поведении животных. При этом максимальный эффект отмечен при совместном введении препаратов. Мелатонин, в отличие от феназепама, отчетливо ослабляет симпатическую активность и нивелирует дисрегуляторные сдвиги в системе управления сердечным ритмом, обусловленные введением бензодиазепинового анксиолитика у стрессированных крыс.

Приведены прямые морфологические доказательства усиления мелатонином антистрессорного действия феназепама. Максимальное уменьшение процессов инволюции тимуса, гиперплазии надпочечников и язвообразования в желудке, вызванных повторным стрессированием крыс, отмечено при комбинированном применении препаратов.

Антидепрессивные вещества демонстрируют хронотропную активность, способствуя синхронизации суточного ритма двигательной активности крыс и адаптивной перестройке временной динамики плавания со снижением показателя депрессивности. При этом эпифизарный гормон также усиливает их ритмстабилизирующее действие.

Получены факты, свидетельствующие о том, что удаление эпифиза провоцирует нарушение нормальной ритмической организации поведения с сопутствующим повышением тревожных и депрессивно-подобных проявлений в поведении крыс. В этих условиях снижается специфическое действие феназепама и флуоксетина. Введение мелатонина частично нивелирует последствия эпифизэктомии, но его способность усиливать эффекты психотропных препаратов заметно ослабевает.

Впервые показано, что одним из компонентов антистрессорного действия психотропных препаратов и мелатонина служат их антиоксидантные свойства, которые возрастают при совместном введении веществ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные сведения существенно расширяют представления о терапевтических возможностях эпифизарного мелатонина при лечении невротических и депрессивных расстройств. Обладая собственной психотропной активностью, продемонстрированной на разных экспериментальных моделях, гормон способен усиливать специфическое действие анксиолитических и антидепрессивных препаратов. При этом важным компонентом действия мелатонина служит его синхронизирующее влияние на различные по продолжительности ритмы поведения. Дизритмические расстройства, объединяющие невроз и депрессию с хронобиологических позиций, успешнее устраняются при совместном введении мелатонина и традиционных психотропных препаратов.

Одним из источников формирования десинхроноза, согласно полученным данным, может служить эмоциональный стресс, являющийся пусковым фактором в развитии и взаимной трансформации эмоциональных и дизритмических сдвигов. Комбинация мелатонина и феназепама демонстрирует высокую эффективность в

их ограничении и может быть востребована в клинической практике для профилактики и коррекции стресс-индуцированных расстройств.

Существенное значение имеют полученные факты, свидетельствующие о том, что эпифизарная недостаточность способствует нарушению временной организации поведения с сопутствующим усилением тревожных и депрессивно-подобных реакций у крыс. Важно, что в этих условиях заметно снижается активность феназепама и флуоксетина, а также возможность мелатонина усиливать действие этих препаратов.

Показано, что повышение мелатонином специфических эффектов анксиолитиков и антидепрессантов, среди прочего, может быть обусловлено его антиоксидантными свойствами. Активация окислительных процессов в структурах переднего мозга крыс, вызванная повторным стрессированием, ограничивалась всеми изученными веществами, но наиболее отчетливое антиоксидантное действие обнаружено при сочетанном применении гормона и психотропных препаратов.

На основании всех представленных данных можно рекомендовать использование в клинической практике низких доз мелатонина в комплексной терапии невротических и депрессивных расстройств.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных в работе цели и задач использовались методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств (Воронина Т.А. и др., 2012). Хронотропные свойства препаратов оценивали с помощью теста «принудительное плавание» в модификации Е.В. Щетинина (Щетинин Е. В. И др., 1989), удаление эпифиза производили в соответствии с методом, предложенным К.Б. Ованесовым (Ованесов К.Б., 2020), суточная динамика двигательной активности крыс оценивалась оригинальным способом, разработанным А.В. Поповым (Попов А.В. и др. 2006).

Для изучения патоморфологических особенностей надпочечников и тимуса крыс использовали микроскопический и морфометрический методы (Западнюк И.П. и др., 1983). Состояние антиоксидантной системы мозга определяли с помощью иммуноферментного анализа. Полученные результаты подвергались комплексной статистической обработке.

Положения, выносимые на защиту

1. Эпифизарный гормон мелатонин обладает отчетливыми психотропными свойствами и усиливает специфическую активность анксиолитических и антидепрессивных препаратов при совместном введении в различных экспериментальных условиях.

2. Синхронизация разных по продолжительности ритмов поведения является важным слагаемым действия мелатонина и изученных психотропных препаратов. При этом наибольшее ритмстабилизирующее действие наблюдается в случае сочетанного применения гормона с анксиолитиками и антидепрессантами.

3. Мелатонин усиливает антистрессорное действие феназепама. При комбинированном введении веществ отмечается максимальное ослабление тревожных реакций, дезорганизации циркадианных колебаний подвижности и симпатизации сердечного ритма, вызванных повторным стрессированием крыс.

4. Удаление эпифиза вызывает дизритмические явления в поведении животных, а также оказывает анксиогенное и продепрессивное действие. В этих условиях специфические и синхронизирующие эффекты психотропных препаратов существенно ослабевают. Введение экзогенного мелатонина частично ограничивает последствия эпифизэктомии, но способность гормона усиливать действие лекарственных веществ у эпифизэктомированных крыс в значительной степени нивелируются.

5. Мелатонин уменьшает выраженность стресс-индуцированных морфологических изменений (инволюция тимуса, гиперплазия надпочечников, язвообразование в желудке), а также степень активации окислительных процессов в структурах переднего мозга крыс. Сходные эффекты феназепам и флуоксетина заметно усиливаются при сочетанном введении с гормоном.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследований основывается на достаточном количестве изученной выборки животных и объеме полученных экспериментальных данных, применением стандартизованных и оригинальных методов исследований, использованием современных фармакологических препаратов и методов статистической обработки результатов в соответствии с поставленными задачами работы.

Материалы исследования представлены на Международных молодежных форумах «Неделя науки» ФГБОУ ВО СтГМУ МЗ РФ (Ставрополь, 2015; 2016; 2017; 2018), VI международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Москва, 2015), XXIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2017), Международной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология» (Ставрополь, 2018), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018), VIII международной конференции «Физико-химическая биология» (Ставрополь, 2020), II Международной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология» (Ставрополь, 2022).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения работы внедрены в учебный процесс кафедр фармакологии, клинической фармакологии, патологической физиологии, общей и биологической химии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 17 печатных работ, в том числе 6 в журналах из перечня ведущих рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ, 11 тезисов в материалах российских и международных конференций.

Личный вклад автора

Автор работы является основным исполнителем проведенного исследования на всех этапах: анализа данных литературы по теме, проведения практической части исследования и анализа полученных результатов. Автор принимал активное участие в подготовке основных публикаций по результатам работы.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 160 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 главы собственных результатов, их обсуждения, выводов и списка цитиру-

емой литературы, включающего источника. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 36 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на 620 белых нелинейных крысах-самцах массой 180-220 г. Каждая группа крыс, на которых проводили исследования, включала 8-12 особей. Содержание животных и проведение экспериментов соответствовали правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №199Н от 01.04.2016) и с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите животных, используемых при экспериментальных исследованиях (Strasburg, 1986).

Открытое поле. Представляет собой круг с диаметром 2 метра, разделенный на 16 периферических и 8 центральных сегментов. У основания «открытого поля» закреплены лампы мощностью по 100 Вт. Опыт начинали с помещения животных в один из периферических сегментов и наблюдали за их поведением в течение 5 минут. Отдельно регистрировали число пересеченных периферических и центральных сегментов, а также общую двигательную активность, определяемую как сумму тех и других. Кроме того, определяли число вертикальных стоек.

В приподнятом крестообразном лабиринте в виде четырехугольной платформы, от которой отходят перпендикулярные лучи-дорожки, две из которых открыты (открытые рукава), а две другие имеют затворы (закрытые рукава) регистрировали количество входов и выходов в открытые и закрытые рукава, время пребывания в них (двигательная активность и тревожность), вертикальные стойки и свешивания (поисково-исследовательская активность).

Темно-светлая камера представляет собой закрытый ящик, состоящий из двух отсеков, разделенных перегородкой: большого светлого (30 x 26 x 20 см) и малого темного (10 x 10 x 20 см) с отверстием между ними (3 x 3 см). Над светлым отсеком располагается электрическая лампа мощностью 40 Вт. Тестирование длилось 300 с, в ходе которых визуально регистрировали: число и латентность (с) выглядываний из темного отсека в светлый через отверстие в перегородке и число выходов в светлый отсек.

Принудительное плавание оценивали визуально в течение 18 минут в стеклянном сосуде (диаметр 30 см), заполненном водой (температура 28⁰-29⁰С) до уровня 25-30 см. Учитывали три разных уровня активности животных в воде: активное (сильные гребковые движения и перемещение по периметру резервуара), пассивное (слабые гребки) плавание, а также состояние неподвижности (иммобилизации). Для изучения ритмической структуры локомоции все циклы, как активного плавания, так и неподвижности делили на 3 гармоник: короткие (до 6 с), средние (6-18 с), длительные (18-36 с). По соотношению числа коротких циклов иммобилизации и общего количества периодов активного плавания рассчитывали ритмологический показатель депрессивности (Щетинин Е. В. и др., 1989).

Суточную динамику подвижности животных оценивали в специально сконструированном приборе, состоящем из 18 жилых клеток, соединенных с компьютером. Жилая клетка размерами 40x20x20 см связана посредством рычага и шарнира

с кнопкой. При перемещении крысы в один конец бокса контакт замыкался, а при размыкании контакта фиксировалось следующее перемещение. Программа в автономном режиме суммировала число таких перемещений за каждый час эксперимента. Подсчитывали общее количество переходов за трехчасовые промежутки времени с последующим построением хронограммы циркадианного ритма подвижности.

Вариативность сердечного ритма изучали с помощью метода кардиоинтервалографии. Крыса помещалась в иммобилизационную камеру, которая подключалась клеммами к компьютеру. ЭКГ у животных регистрировали при помощи компьютерного электрокардиографа «Поли-Спектр-8/Е».

Для фармакологического моделирования депрессии вводили раунатин (содержит 90% резерпина и других алкалоидов раувольфии) в дозе 4 мг/кг. Выраженность «резерпинового синдрома» оценивали спустя 4 часа после введения препарата по поведению крыс в «открытом поле», выраженности блефароптоза и величине ректальной температуры. Также оценивали поведение животных в «открытом поле». Степень блефароптоза оценивали в миллиметрах (мм) и баллах в соответствии с общепринятыми критериями (Воронина Т.А., 2012). Температуру измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра.

Удаление эпифиза производили по методике, предложенной в нашей лаборатории (Ованесов К.Б., 2020). После вскрытия черепа слева от саггитального синуса производили разрез твердой мозговой оболочки. В разрез под оболочку вводили бранши глазного пинцета к месту расположения эпифиза, который хорошо виден через обескровленный синус. Железу извлекали за сосудистую ножку. Затем производили микроскопирование удаленного эпифиза под малым увеличением. По целостности капсулы судили о надежности экстирпации. При ложной операции костный лоскут выделялся несколько кпереди от проекций эпифиза с целью сохранения его нервных и сосудистых связей.

Для изучения патоморфологических особенностей надпочечников и тимуса крыс использовали микроскопический и морфометрический методы. Для микроскопического исследования надпочечники и тимус крыс фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина и далее подвергали стандартной парафиновой обработке. Изготовленные тонкие парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Препараты изучали с помощью светового микроскопа «Olympus-CX 31» и цифровой фотокамеры «Olympus C5050 ZOOM». Микроморфометрия производилась с использованием русифицированного программного обеспечения «ImageJ2x», которое позволяет вычислить линейные размеры объекта, выделенного на фотографии микропрепаратов.

Определение уровня антиоксидантных ферментов. Под эфирным наркозом производили декапитацию животных. На льду кору головного мозга и гиппокамп быстро извлекали. Выделенные структуры размельчали в холодной ступке с ледяным физиологическим раствором. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин в течении 10 мин. Осадок отбрасывали, супернатант центрифугировали при 14 000 об/мин. в течении 20 мин. Полученные аликваты замораживали при -20 C^0 . Активность каталазы, глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы определяли с по-

мощью наборов для определения иммуноферментным методом и анализировали с помощью микропланшетного фотометра Immunochem - 2100.

Для создания стрессовой ситуации животных помещали в резервуар с водой (температура 28⁰С) на 18 минут. В зависимости от целей эксперимента принудительному плаванию крыс подвергали однократно или ежедневно в течение 5 суток. В части опытов использовали иммобилизационно-болевого стресс. Для его создания животных в закрытом боксе с электрифицированным полом подвергали ударам током (0,3 мА, по 2 сс интервалами 30 с в течение 5 мин).

Фармакологические исследования. На описанных выше экспериментальных моделях исследовали фармакологические эффекты препаратов с анксиолитическим и антидепрессивным свойствами. Использовали препарат эпифизарного гормона мелатонина (0,1 мг/кг) (Unipharm). При оценке тревожно-фобического состояния животных эффекты вещества сравнивали с активностью анксиолитиков феназепама 0,1 мг/кг (Валента Фарм) и тофизопама 10 мг/кг («Грандаксин» БИОКОМ-ЗАО), а при изучении антидепрессивных свойств – с действием антидепрессантов флуоксетина 5мг/кг (АЛСИ Фарма), имипрамина («Мелипрамин» Фармацевтический завод ЭГИС) 10 мг/кг. Для оценки острых эффектов вещества вводили за 40 минут до тестирования. Хронически препараты применяли в течение 7 дней. Контролем в каждой серии экспериментов служила группа животных, которым инъецировали физиологический раствор. Все изученные препараты вводили внутривентриально в объеме 0,5-0,8 мл. Эксперименты проводили в одно и то же время суток (16-19 ч).

Обработка результатов. При количественной обработке результатов сопоставляли данные, полученные в опытных группах, с контролем и исходными показателями. Результаты животных с поврежденными структурами мозга сравнивали с данными ложнопериоперированных крыс. Анализ и сопоставление вариационных рядов производили при помощи критерия Стьюдента (стандартные пакеты статистического анализа MS Office и Statistica V.8.0). Учитывая, что по данным критерия Шапиро-Уилка в ряде исследований распределения не соответствовали нормальному, применяли методы непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони). Для подтверждения и детального изучения колебательных процессов использовали спектральный анализ, проводимый путем компьютерной обработки вариационного ряда по оригинальной программе.

Результаты работы и их обсуждение.

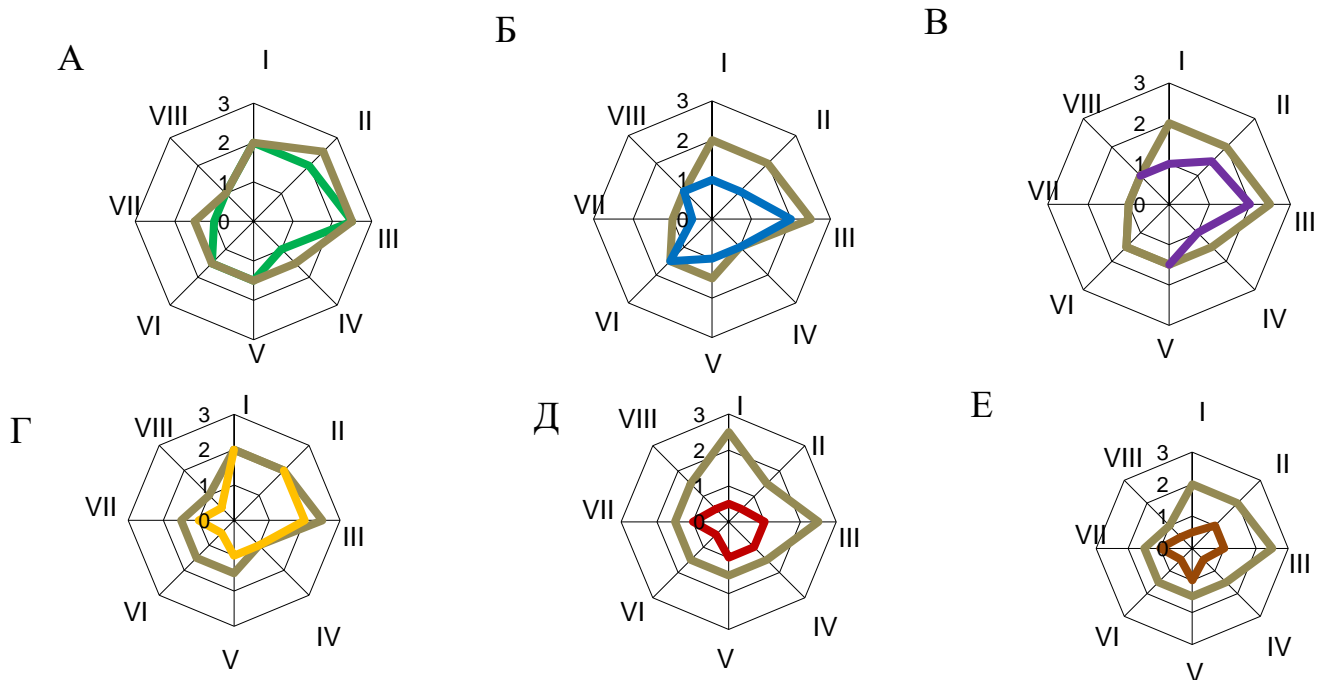
Влияние мелатонина на действие анксиолитиков

Специфическая активность. Проводили сравнительную оценку эффектов традиционных анксиолитических средств (феназепама, тофизопама) и мелатонина при их изолированном и сочетанном введении крысам. На разных моделях изучали выраженность противотревожного действия препаратов и их хронотропной активности. Все исследования выполняли на нормальных и стрессированных животных, а также крысах, подвергнутых операции эпифизэктомии.

Обнаружено, что феназепам заметно усиливал горизонтальную активность животных в «открытом поле», в результате чего число пересеченных периферических сегментов достоверно возросло (до 11,5±1,2; 6,0±0,9 в контрольной группе, P<0,05). Увеличивалось количество вертикальных стоек (5,4±0,4; 3,0±0,5 в контроле, P<0,05) и исследованных отверстий (4,9±0,6 у контрольных животных и 5,2±0,6

в опытной группе; $P < 0,05$). Тофизопам также вызывал повышение двигательной активности крыс и, как следствие, рост количества пересеченных периферических сегментов поля (до $14,8 \pm 1,1$; $P < 0,01$). Мелатонин несколько иначе менял поведение крыс. Гормон в меньшей степени двигательную активность крыс, чем бензодиазепиновые анксиолитики, судя по числу пересеченных периферических сегментов ($11,0 \pm 0,5$; $P < 0,05$), но после его введения животные чаще заходили в центральные отделы поля ($5,0 \pm 1,0$; в контроле $1,0 \pm 0,2$; $P < 0,01$). Еще одной отличительной особенностью действия мелатонина было существенное усиление вертикальной активности крыс, о чем свидетельствовал рост количества стоек ($9,0 \pm 0,5$; $P < 0,05$) и исследованных отверстий ($6,5 \pm 0,3$, в контрольной группе $3,1 \pm 0,5$; $P < 0,01$). При сочетанном введении мелатонина с феназепамом и тофизопамом наблюдалось отчетливое усиление эффекта препаратов. Животные обеих групп пересекали наибольшее число сегментов поля ($17,5 \pm 1,1$ и $19,5 \pm 1,1$ соответственно, $P < 0,01$), и это сочеталось с высокой вертикальной активностью ($9,6 \pm 1,0$ и $9,5 \pm 0,8$ стоек, $P < 0,05$).

При оценке поведения многопараметрическим методом животные демонстрировали заметные индивидуальные отличия в проявлениях реакций тревоги и страха. Феназепам укорачивал латентный период выполнения крысами моторных тестов. Они быстрее, чем особи контрольной группы, спускались с высоты, проходили через отверстие и чаще покидали бокс. Фобические реакции на руку экспериментатора также становились менее резкими (рисунок 1). Тофизопам оказывал сходное, но менее выраженное действие.



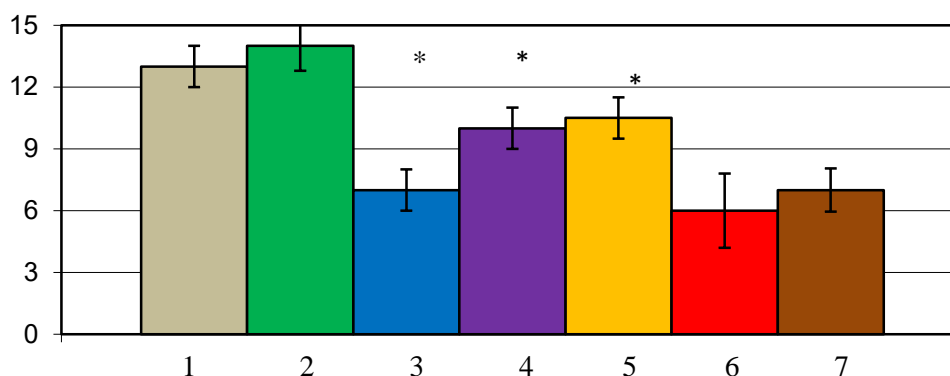


Рисунок 1 - Влияние анксиолитиков и мелатонина на тревожно-фобическое состояние крыс (по данным многопараметрической оценки, $n=12$)

На векторограммах показан профиль поведения крыс до (светло-коричневая линия) и после введения препаратов (в баллах). I-IV - латентные периоды соответственно спуска с высоты, прохождения через отверстие, выхода из бокса и ухода из центра открытого поля; V-VIII - реакции на руку экспериментатора - движение назад, затаивание, вокализация, прижимание ушей. Столбики – значения суммарного балла тревожности (по вертикальной оси). 1 – данные интактных крыс; А,2 – после введения физ. раствора; Б,3 – феназепам, В,4 – тофизопам; Г,5 – мелатонина; Д,6 – мелатонина и феназепам, Е,7 – мелатонина и тофизопам. * - $P<0,05$.

Вещество преимущественно ускоряло двигательные реакции крыс, в меньшей степени влияя на фобические реакции. Мелатонин, напротив, несколько ограничивал подвижность крыс, что проявлялось в некоторой отсрочке во времени спуска с высоты и прохождения через отверстие. При совместном введении гормон заметно усиливал противотревожное действие феназепам и тофизопам, судя по выраженному снижению суммарного балла оценки поведения (рисунок 1).

Феназепам увеличивал время пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта и его центральной части ($61,3\pm 4,3$ с, в контроле $24,3\pm 4,3$ с; $P<0,01$). Тофизопам сходным образом повышал время пребывания животных в открытых рукавах по сравнению с контрольной группой, но его эффект был выражен более отчетливо ($77,2\pm 6,7$ с; $P<0,01$). Мелатонин не столь заметно увеличивал время нахождения крыс в открытых рукавах лабиринта ($44,3\pm 4,1$; $P<0,05$), но статистически достоверно повышал число вертикальных стоек и свешиваний. При сочетанном введении феназепам и мелатонина животные находились в открытых рукавах лабиринта более длительное время, чем при их изолированном применении ($80,5\pm 4,5$ с; $P<0,01$).

В условиях конфликтной ситуации феназепам увеличивал число наказуемых взятий воды, а также число подходов к поилке, не завершившихся питьем. Одновременно усиливалась двигательная активность, перемежавшаяся частыми вертикальными стойками (таблица 1). Тофизопам также усиливал локомоцию животных, при сопоставимом изменении числа наказуемых взятий воды. Мелатонин увеличивал число взятий воды с электроболевым наказанием. Из прочих параметров значимо повышалось только количество вертикальных стоек. Наибольшее противотревожное действие обнаружено в случае введения комбинации феназепам и то-

физопама с гормоном. В этом случае животные совершали наибольшее число наказуемых взятий воды (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние препаратов с анксиолитическими свойствами на показатели поведения крыс в конфликтной ситуации

Показатели Группы	Наказуемые взятия воды	Подходы к поилке	Вертикальные стойки	Пересеченные линии
Интактные	2,6±0,4	3,0±0,22	3,1±0,25	21,0±3,5
Физ. раствор	2,1±0,25	2,2±0,18	2,2±0,3	14,0±2,7
Феназепам	4,9±0,8*	4,7±0,7*	5,2±0,6*	35,0±5,2**
Тофизопам	4,7±0,25*	5,7±0,55**	6,5±1,3*	35,0±5,5**
Мелатонин	4,0±0,4*	3,2±0,6	8,8±1,7**	25,0±3,3*
Феназепам+ мелатонин	9,5±1,3**+	7,5±1,4**	10,7±1,3**	33,5±3,5*
Тофизопам+ мелатонин	8,2±1,4**+	6,9±0,8**	9,7±2,5**	37,0±4,1*

Примечание: * - статистически значимые отличия (P<0,05); ** - P<0,01.

Согласно полученным результатам, на всех моделях, традиционно используемых для оценки анксиолитического эффекта, мелатонин снижал выраженность тревожных реакций в поведении животных и усиливал специфические эффекты бензодиазепиновых анксиолитиков.

Хронотропные свойства. Изучали влияние анксиолитиков на различные по продолжительности ритмические процессы (суточную динамику двигательной активности, временную организацию плавания и вариативность сердечного ритма), сопоставляя их действие с эффектами известного хронотропного агента – мелатонина. Кроме того, на использованных хронобиологических моделях оценивали результаты совместного применения гормона и анксиолитических средств.

Плавательное поведение интактных крыс обнаруживало заметные индивидуальные колебания. У одних особей доминировало активное плавание, у других – неподвижность, а у части животных все основные состояния плавания были представлены примерно равными временными интервалами. Однако в целом в ритмической структуре поведения преобладали циклы малой и средней продолжительности (рисунок 2).

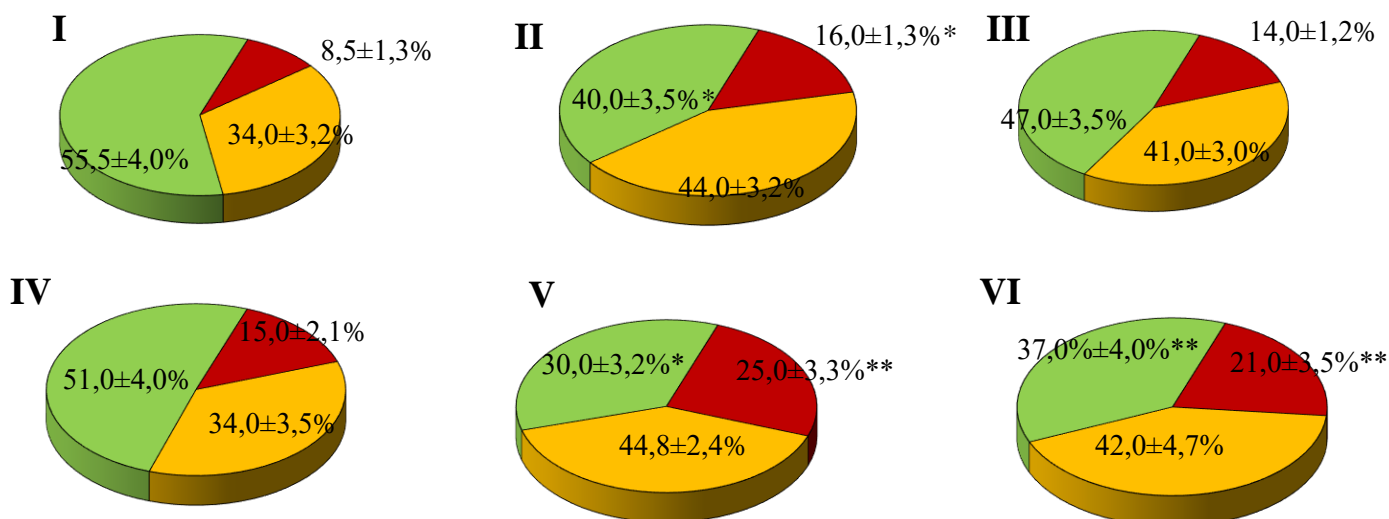





Рисунок 2 - Соотношение периодов разной длительности (в %) в ритмической структуре плавания крыс после введения физ. раствора (I), мелатонина (II), феназепам (III), тофизопама (IV) и комбинации мелатонина с феназепамом (V) и тофизопамом (VI). * - статистически значимые различия по сравнению с контролем при $P < 0,05$ (** - $P < 0,01$).  - циклы менее  - 6-18  - более 18 с.

Мелатонин ограничивал самых коротких циклов как активности, так и неподвижности, в результате чего возрастала доля продолжительных эпизодов плавания (до $16,0 \pm 1,3\%*$, в контрольной группе $8,5 \pm 1,3\%$, $P < 0,05$). Феназепам увеличивал общее время активного плавания преимущественно за счет эпизодов средней длительности. Сходное действие оказывал тофизопам. При сочетанном введении мелатонина с феназепамом или тофизопамом в ритмической структуре поведения доминировали продолжительные эпизоды активности ($25,0 \pm 3,3\%**$ и $21,0 \pm 3,5\%**$ соответственно, $P < 0,01$). В целом плавание животных выглядело более рациональным: интенсивные и длительные попытки выбраться из резервуара с водой сменялись эпизодами отдыха (рисунок 2).

Крысы, ведущие, как известно, ночной образ жизни большее количество переходов по жилой клетке совершали именно в это время чуток. Феназепам снижал локомоцию на протяжении 2-3 часов после инъекции. Однако затем активность животных быстро нарастала, оставаясь достаточно высокой всю вторую половину ночи, а ее акрофаза смещалась на более позднее время. В результате происходило статистически достоверное повышение амплитуды ритма ($4,3 \pm 0,3$, в контрольной группе $2,3 \pm 0,2$; $P < 0,01$). Тофизопам оказывал сходное, но менее выраженное действие. Мелатонин, обладающий отчетливыми хронотропными свойствами, вызывал усиление ночной подвижности крыс, при этом акрофаза ритма смещалась на ранние утренние часы. Количество переходов в дневное время, напротив, сокращалось, что в итоге приводило к увеличению амплитуды ритма ($5,2 \pm 1,5$; $P < 0,01$). При совместном применении с мелатонином синхронизирующее действие феназепам и тофизопама заметно усиливалось. Ночная подвижность крыс возрастала, ритм становился более контрастным, его акрофаза смещалась на ранние утренние часы, а амплитуда увеличивалась с высокой степенью достоверности ($5,8 \pm 0,4$; $5,7 \pm 0,3$ соответственно, $P < 0,01$).

Влияние мелатонина на выраженность антистрессорных свойств анксиолитиков
Иммобилизационно-болевого стресс резко усиливал проявление тревожных реакций в поведении крыс, судя по результатам тестирования в «открытом поле». Двигательная активность падала в два раза, и животные лишь изредка пересекали несколько периферических сегментов ($5,0 \pm 0,4$ до $2,0 \pm 0,5$, $P < 0,01$). В центральные отделы установки они не заходили. Также резко (более чем в 2 раза) снижалось число вертикальных стоек ($9,0 \pm 0,35$ до $4,0 \pm 0,3$; $P < 0,01$). Феназепам восстанавливал подвижность животных до уровня интактных особей ($2,0 \pm 0,5$ и $3,0 \pm 0,4$ соответственно), но вертикальная активность оставалась низкой. Мелатонин, напротив, увеличивал число вертикальных стоек ($4,0 \pm 0,2$ до $6,0 \pm 0,8$; $P < 0,01$), существенно не меняя двигательную активность. Однако наибольшее выраженное ослабление тревожных реакций у этих животных, обнаружено при совместном введении препаратов. В этом случае достаточно высокая подвижность крыс ($9,0 \pm 0,6$ пересечен-

ных периферических сегментов, в контроле $4,0 \pm 0,6$; $P < 0,05$) сочеталась с усилением исследовательской активности ($9,5 \pm 0,45$ вертикальных стоек, у контрольных крыс $4,0 \pm 0,3$; $P < 0,01$). Сходные результаты получены и при многопараметрической оценке поведения стрессированных крыс.

После стресса у большинства животных наблюдалась резкая дезорганизация циркадианного ритма. В части случаев происходило расщепление кривой суточной локомоции на ультрадианные составляющие или даже инверсия ритмики со снижением ее амплитуды (с $3,1 \pm 0,3$ до $1,5 \pm 0,25$; $P < 0,05$). Феназепам ослаблял вызванную стрессом дезорганизацию циркадианной подвижности. Количество дневных переходов уменьшалось, и вследствие этого несколько возрастала амплитуда ритма ($1,3 \pm 0,2$ в контроле и $1,9 \pm 0,25$ после введения вещества). Мелатонин превосходил феназепам по ритмстабилизирующей активности. Гормон способствовал формированию более контрастного ритма циркадианной подвижности, судя по возрастанию амплитуды ритма в два раза (до $2,6 \pm 0,25$, $P < 0,05$). При этом максимум подвижности более чем в 75% случаев приходился на 24-3 часа ночи. Еще сильнее дестрессирующий эффект проявлялся при совместном введении феназепама и мелатонина. Ночная подвижность, угнетенная стрессом, достоверно восстанавливалась. Вследствие этого существенно повышалась амплитуда ритма (с $1,3 \pm 0,2$ в контрольной группе до $2,9 \pm 0,2$, при $P < 0,01$) (рисунок 3).

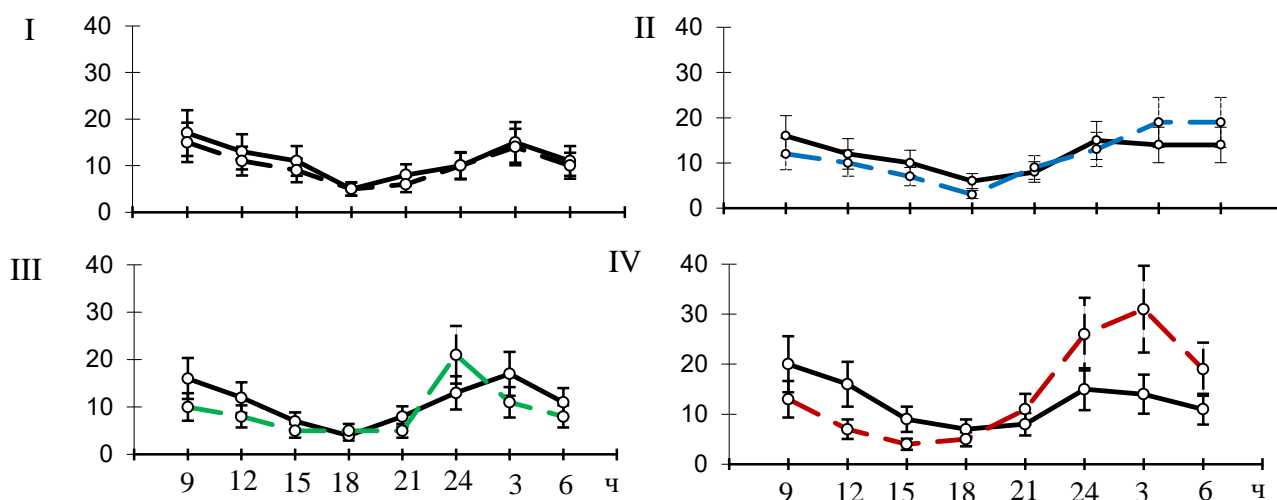


Рисунок 3 - Влияние феназепама (II), мелатонина (III) и их комбинации (IV) на циркадианную подвижность стрессированных крыс в сравнении с контрольным введением физиологического раствора (I).

Сплошной линией обозначены исходные хронограммы подвижности, пунктирной - после инъекций соответствующих веществ. По вертикальной оси – число переходов по жилой клетке, по горизонтальной – время суток (часы).

По данным кардиоинтервалограммы, после иммобилизационно-болевого стресса у животных отмечалось резкое усиление симпатической активности по сравнению с исходными значениями. Вариативность сердечного ритма снижалась, мода смещалась влево по оси абсцисс, а её амплитуда росла. В итоге индекс напряжения достоверно увеличивался на 42% (с 5600 ± 300 до 8000 ± 370 ; $P < 0,01$). Фе-

назепам незначительно ослаблял стресс-индуцированное повышение симпатического тонуса, но вызывал рассогласование между основными и спектральными характеристиками (снижению индекса напряжения сопутствовало увеличение индекса централизации) (рисунок 4). Мелатонин более отчетливо ослаблял стресс-индуцированную симпатизацию. При этом индекс напряжения оказывался в 2 раза меньше, чем в контрольной группе (4000 ± 320 и 8000 ± 370 соответственно; $P < 0,01$). При сочетанном введении препаратов показано наибольшее ослабление симпатической активности, обусловленной стрессом. Об этом свидетельствовало усиление вариативности кардиоциклов, увеличение моды со снижением её амплитуды и индекса напряжения на 48% (4100 ± 270 ; $P < 0,05$). Особенно необходимо отметить тот факт, что гормон устранял дисрегуляторные сдвиги, которые вызывал феназепам (рис. 4).

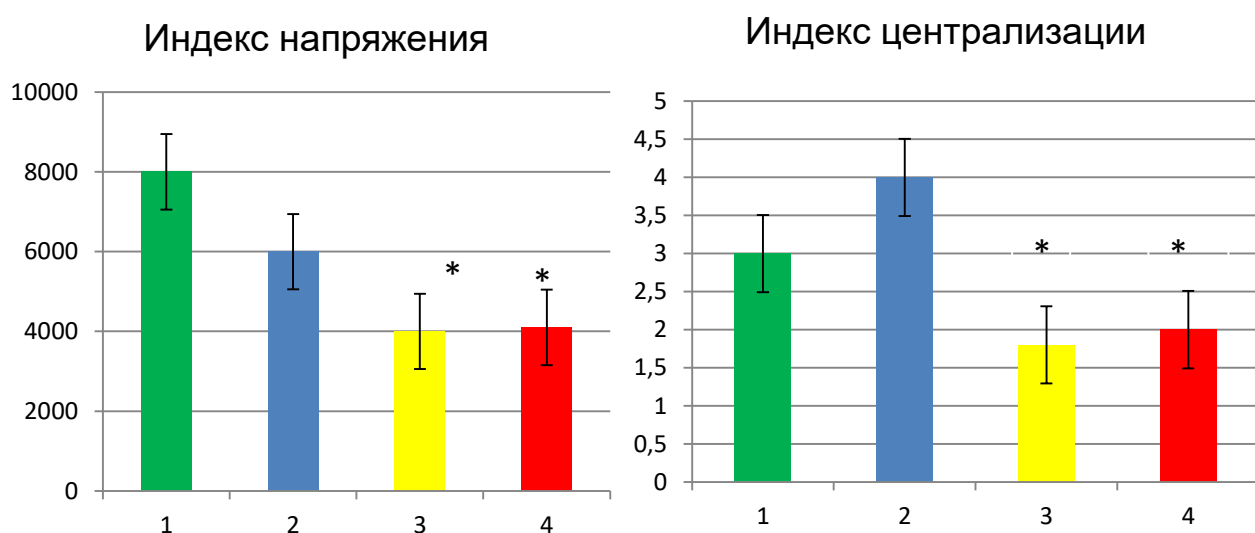


Рисунок 4 - Влияние феназепاما (2), мелатонина (3) и их комбинации (4) на показатели кардиоинтервалограммы у стрессированных крыс в сравнении с физ. раствором (1).

По вертикальной оси – абсолютные значения показателей. * - статистически значимые отличия ($P < 0,05$).

Таким образом, иммобилизационно-болевого стресс вызывает нарастание тревожных реакций в поведении крыс, дезорганизацию циркадианного ритма подвижности и усиление симпатической активности. Феназепам и мелатонин сходным образом ослабляют анксиогенное и дизритмическое влияние стресса, причем максимальный эффект отмечен при совместном введении препаратов. При этом мелатонин, в отличие от феназепам, отчетливо ослабляет симпатизацию сердечного ритма и нивелирует дисрегуляторные сдвиги, обусловленные введением бензодиазепинового анксиолитика.

Влияние удаления эпифиза на проявление анксиолитического эффекта. Экстирпация эпифиза приводила к повышению тревожности крыс, судя по результатам тестирования в «открытом поле». Горизонтальная активность снижалась почти в 2 раза по

сравнению с данными ложноперирированных животных ($10,0 \pm 1,7$ и $5,5 \pm 0,8$ соответственно; $P < 0,01$). Феназепам несколько усиливал подвижность эпифизиэктомированных особей, не влияя на другие показатели поведения. Мелатонин, напротив, повышал вертикальную активность. При совместном введении препаратов все исследованные параметры поведения возрастали и достигали уровня интактных и ложноперирированных животных. Однако статистически значимых сдвигов при сравнении с изолированным введением препаратов не обнаружено. Сходные данные обнаружены при монопараметрической оценке поведения и тестирования в условиях конфликтной ситуации.

Удаление эпифиза привело к снижению числа переходов крыс по жилой клетке в ночные часы с уменьшением значений амплитуды ритма (с $3,7 \pm 0,3$ до $2,7 \pm 0,2$; $P < 0,05$). Возрастала активность животных в ранние ночные часы (21 ч), вследствие чего акрофаза ритма у 50% особей смещалась на это время. Мелатонин частично восстанавливал профиль циркадианного ритма, нарушенный удалением железы. Число переходов по жилой клетке в темновой период возрастало, и амплитуда ритма увеличивалась (до $3,2 \pm 0,15$; $P < 0,05$). Феназепам не влиял на ночную подвижность, но усиливал локомоцию в дневное время. При совместном введении веществ наблюдалось одновременное увеличение числа переходов в ночные и дневные часы с некоторым увеличением амплитуды ритма ($3,25 \pm 0,5$).

После экстирпации железы наблюдалось преобладание коротких циклов в ритмической структуре плавания. Мелатонин восстанавливал структуру поведения, но существенно не влиял на действие феназепама.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что удаление эпифиза заметно усиливает выраженность тревожных реакций и вызывает дезорганизацию ритмической структуры поведения крыс. В этих условиях резко снижается специфическое и хронотропное действие феназепама. Мелатонин отчасти нивелирует последствия эпифизиэктомии, но при совместном введении с анксиолитиком его способность повышать активность этого препарата проявляется в гораздо меньшей степени.

Влияние мелатонина на антидепрессивный эффект

Проводили сравнительную оценку действия антидепрессивных средств (имипрамина, флуоксетина) и мелатонина при изолированном введении крысам и в комбинации с гормоном. Изучали выраженность специфического действия препаратов и их хронотропной активности. Все исследования выполняли на нормальных крысах и животных, подвергнутых операции эпифизиэктомии.

Специфическое действие на модели «резерпиновой депрессии». Раунатин, содержащий 90% резерпина и других алколоидов раувольфии, вызывал резкое угнетение горизонтального и вертикального поведения крыс. Примерно 50% животных, так и оставались на протяжении всего времени тестирования в том сегменте поля, куда их поместили изначально. После введения имипрамина и флуоксетина наблюдалась тенденция к ослаблению угнетающего влияния раунатина. Мелатонин не влиял на двигательную активность животных, но достоверно повышал число вертикальных стоек (с $0,5 \pm 0,3$ до $3,0 \pm 0,8$; $P < 0,01$). Наиболее отчетливое ограничение угнетающего действия раунатина отмечено в случае сочетанного использования антидепресс-

сантов и мелатонина. Количество пересеченных сегментов открытого поля достигало значения контрольных животных ($11,0 \pm 1,2$ и $12,0 \pm 1,0$ соответственно; $P < 0,01$). Возрастала и вертикальная активность, судя по числу вертикальных стоек ($5,0 \pm 0,4$; $P < 0,01$). В результате по большинству критериев эффективность комбинации препаратов была достоверно выше, чем при их изолированном применении.

После введения раунатина развивался либо полный птоз, либо ширина глазной щели существенно уменьшалась, не превышая $0,9$ мм ($2,5 \pm 0,2$ балла). Имипрамин и флуоксетин сходным образом ослабляли блефароптоз ($1,7 \pm 0,15$ и $1,9 \pm 0,25$ баллов; $P < 0,05$). Мелатонин также несколько уменьшал выраженность блефароптоза, но его действие не выходило за рамки недостоверной тенденции ($2,2 \pm 0,7$ балла). При совместном применении с мелатонином отмечалось ослабление блефароптоза, которое на $18,75\%$ превосходило результаты, полученные при изолированном введении антидепрессантов ($1,4 \pm 0,15$ баллов; $P < 0,05$).

После введения раунатина ректальная температура снижалась почти на $0,7^{\circ}\text{C}$ (с $37,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ до $36,9 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$; $P < 0,01$). Имипрамин и флуоксетин сопоставимо и значительно ослабляя гипотермию ($37,2 \pm 0,1$ и $37,1 \pm 0,15$ соответственно). Мелатонин также несколько способствовал снижению гипотермического действия раунатина, но этот сдвиг не выходил за рамки недостоверной тенденции. При совместном введении с антидепрессантами отмечено максимальное ослабление гипотермии. Абсолютные значения ректальной температуры в этом случае приближались к нормальным величинам ($37,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; $P < 0,05$).

Имипрамин существенным образом изменял циркадианный ритм подвижности крыс. Вещество вызывало некоторое нарастание активности в ночные часы, в результате на это время смещалась и акрофаза ритма. Вследствие этого значительно увеличивались значения амплитуды ритма ($4,7 \pm 0,4$, в контрольной группе $2,8 \pm 0,2$; $P < 0,05$). Флуоксетин также повышал двигательную активность крыс ночью, увеличивая амплитуду ритма (до $4,0 \pm 0,2$; $P < 0,05$). При совместном введении мелатонина с антидепрессантами отмечалось усиление синхронизирующего эффекта. Контрастность суточного ритма заметно возрастала, а его амплитуда еще больше увеличивалась (до $6,0 \pm 0,3$; $P < 0,01$), превышая результат изолированного введения флуоксетина на 46% .

В соответствии с ранее сделанными наблюдениями, в ритмической структуре плавательного поведения преобладали циклы малой и средней продолжительности. Мелатонин достоверно ограничивал количество самых коротких эпизодов как активного плавания, так и неподвижности, что привело к снижению индекса депрессивности (рисунок 5). Имипрамин уменьшал число коротких циклов иммобилизации и, соответственно, снижался ритмологический показатель депрессивности. Флуоксетин усиливал плавательную активность крыс и число продолжительных эпизодов в ней. В случае сочетанного введения антидепрессантов и мелатонина происходило потенцирование описанных эффектов (рисунок 5). Длительные циклы активности с попытками выбраться из резервуара сменялись не менее продолжительными периодами отдыха. Указанные изменения в ритмической структуре плавания привели к статистически значимому уменьшению индекса депрессивности при сравнении с результатами изолированного введения веществ (рисунок 5).

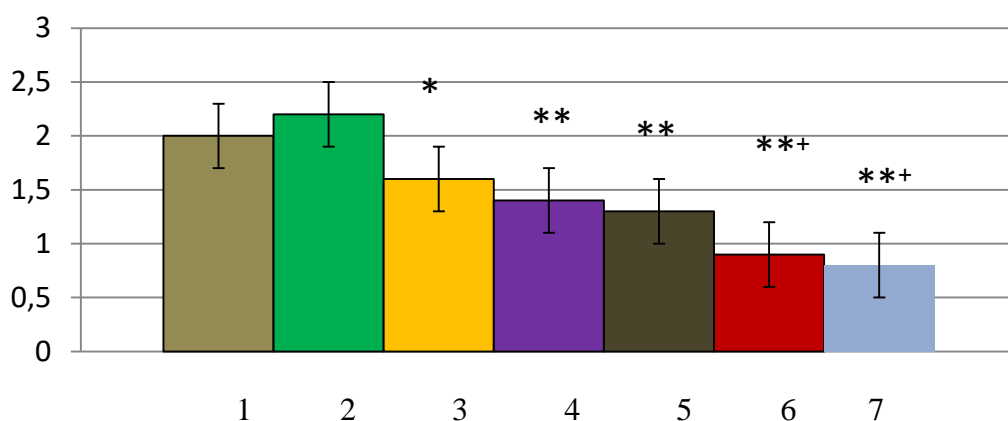


Рисунок 5 - Влияние антидепрессантов, мелатонина и их комбинации на ритмологический показатель депрессивности у крыс.

Столбиками обозначены значения показателя у интактных крыс (1), после введения физ. раствора (2), мелатонина (3), имипрамина (4), флуоксетина (5), комбинации имипрамина и мелатонина (6), флуоксетина и мелатонина (7). По вертикальной оси обозначены абсолютные значения показателя. * - статистически значимые отличия при $P < 0,05$ (** - $P < 0,01$).

Обнаружено, что эпифизэктомия усиливает депрессогенное действие раунатина и вызывает нарушения в организации ритмической структуры поведения крыс. В этих условиях снижается специфическое и хронотропное действие антидепрессанта флуоксетина. Мелатонин отчасти нивелирует последствия экстирпации железы, но при совместном введении с антидепрессантом существенно не влияет на их активность.

Таким образом, согласно полученным результатам, имипрамин и флуоксетин отчетливо ослабляют вызванные введением резерпина депрессивно-подобные реакции в поведении крыс. Мелатонин, уступая антидепрессантам по выраженности антирезерпинового эффекта, заметно усиливает их специфическое действие. Кроме того, все вещества демонстрируют хронотропную активность, способствуя синхронизации суточного ритма двигательной активности крыс и адаптивной перестройке временной динамики плавания со снижением показателя депрессивности. При этом эпифизарный гормон также усиливает ритмстабилизирующее действие антидепрессантов.

Морфологические и биохимические свидетельства антистрессорного действия мелатонина

У животных, подвергнутых хроническому иммобилизационно-болевному стрессу, изучали влияние феназепама, мелатонина и их комбинации на морфологические изменения, возникающие в надпочечниках, тимусе и желудке. Кроме того, оценивали состояние антиоксидантной системы в ткани мозга и влияние на ее активность изолированного и сочетанного введения психотропных препаратов и мелатонина.

Морфологические маркеры стресс-реакции. В соответствии с общеизвестными фактами, хронический стресс вызвал инволюцию тимуса у крыс. Снижение его веса оказалось достоверным по сравнению с данными интактных крыс ($233,0 \pm 9,8$ и

175,0±6,5 г соответственно; $P<0,01$). Точно также статистически значимо увеличивалась масса надпочечников (37,6±2,2 г, в контрольной группе 18,5±1,5 г; $P<0,01$). Феназепам снизил степень инволюции тимуса по сравнению с контрольной группой животных, но этот сдвиг наблюдался на уровне тенденции. В то же время препарат на уменьшил выраженность гипертрофии надпочечников на 25% (30,0±1,8; $P<0,05$). Более отчетливое стресс-протективное действие продемонстрировал мелатонин. Гормон статистически достоверно по сравнению с контролем ограничивал как инволюционные изменения в тимусе (214,0±3,0 г; $P<0,05$), так и гипертрофию надпочечников (28,0±2,3 г; $P<0,05$). Однако, максимальное стресс-протективное действие было обнаружено при комбинированном введении веществ. В этом случае отмечены минимальные отклонения веса тимуса и надпочечников от показателей контрольной группы (230,0±5,5 г и 24,0±1,3 г соответственно; $P<0,01$).

При гистологическом исследовании препаратов надпочечников у стрессированных животных контрольной группы обнаружено значимое увеличение ширины коркового слоя (2001,59±120 рх, у интактных 1243,85±100рх; $P<0,01$). При этом четко прослеживалась делипоидизация клубочкового слоя коры, сморщенные клетки с обеднённой, скудной цитоплазмой и гиперхромными ядрами.

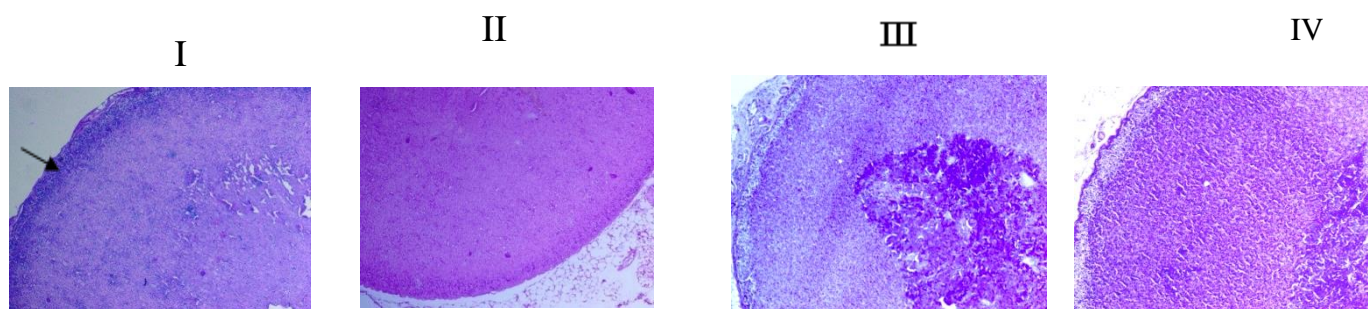


Рисунок 6 - Гистологическая структура надпочечников стрессированных крыс, получавших физиологический раствор (I), феназепам (II), мелатонин (III) и их комбинацию (IV). Окраска гематоксилин-эозин. $\times 100$. Стрелкой обозначена область гиперплазии коры.

Феназепам ограничивал гиперплазию коры надпочечников преимущественно за счет пучковой зоны, но этот эффект не носил статистически значимого характера (1780,0±90 рх). Мелатонин оказывал сходное действие. При использовании комбинации препаратов ширина коры надпочечников составила 1500,00±90 рх, что было на 25% меньше, чем в контрольной группе ($P<0,05$). При этом явлений делипоидизации клубочкового слоя не выявлено.

Степень язвенного поражения слизистой весьма отличалась у разных животных. В большинстве случаев (8 крыс) отмечались 2-3 язвы общей площадью 10,0±1,2 мм². Феназепам ограничивал площадь язвенного поражения желудка, но этот эффект не носил статистически значимого характера (7,5±1,4 мм²). Достоверные сдвиги вызывал мелатонин (7,0±0,7 мм²; $P<0,05$), а наибольшее протективное действие отмечено в случае совместного введения веществ (4,0±0,5 мм²; $P<0,01$).

Согласно полученным данным, хроническое стрессирование приводило к повышению уровня каталазы в ткани мозга крыс контрольной группы по сравнению с интактными животными (710,0±22,0 и 297,0±12,0 нг/мл; $P<0,01$). Содержание глю-

татионпероксидазы и супероксиддисмутазы при этом, напротив, уменьшалось (с $5,5 \pm 0,3$ до $2,0 \pm 0,2$ и с $282,0 \pm 24,0$ до $87,0 \pm 11,0$ нг/мл; $P < 0,05$ соответственно). Феназепам ограничивал индуцированные стрессом изменения количества антиоксидантных ферментов. В частности, уровень каталазы оказывался на 17 % ниже, чем у особей контрольной группы ($520,0 \pm 11,0$; $P < 0,01$). В значительно меньшей степени также уменьшались показатели глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы ($3,9 \pm 0,3$ и $200,0 \pm 11,0$ нг/мл; $P < 0,01$).

Таблица 10 - Влияние психотропных препаратов, мелатонина и их комбинации на уровень антиоксидантных ферментов в ткани переднего мозга крыс (нг/мл)

Группы животных	Каталаза	Глутатионпероксидаза	Супероксиддисмутаза
Интактные	$297,0 \pm 12,0$	$5,5 \pm 0,3$	$282,0 \pm 24,0$
Стресс+физ. р-р	$710,0 \pm 22,0$	$2,0 \pm 0,2$	$87,0 \pm 11,0$
Стресс+феназепам	$520,0 \pm 11,0^{**}$	$3,9 \pm 0,3^{**}$	$200,0 \pm 11,0^{**}$
Стресс+мелатонин	$510 \pm 17,0^*$	$4,0 \pm 0,25^{**}$	$200,0 \pm 14,0^{**}$
Стресс+феназепам +мелатонин	$360,0 \pm 12,0^{***+}$	$5,0 \pm 0,2^{***+}$	$230,0 \pm 11,0^{*+}$
Стресс+флуоксетин	$490,0 \pm 16,0^{**}$	$3,9 \pm 0,3^{**}$	$195,0 \pm 12,0^{**}$
Стресс+флуоксетин +мелатонин	$410,0 \pm 14,5^{***+}$	$4,5 \pm 0,2^{***+}$	$223,0 \pm 13,0^{**}$

Примечание: * - статистические различия при сравнении с контрольной группой (физ. р-р); ** - $P < 0,01$. + - достоверные сдвиги по отношению к результатам изолированного введения веществ.

Мелатонин оказывал сходное действие, ослабляя все вызванные стрессом сдвиги. После его введения содержание каталазы в мозговой ткани стрессированных крыс составило $510 \pm 17,0$ нг/мл, глутатионпероксидазы – $4,0 \pm 0,25$ нг/мл и супероксиддисмутаза – $200,0 \pm 14,0$ нг/мл ($P < 0,01$ при сравнении с данными контрольной группы). Важно, что при сочетанном введении веществ их антиоксидантное действие, судя по нашим данным, заметно усиливалось. Так, уровень каталазы после стресса возрастал в гораздо меньшей степени, чем при изолированном применении препаратов ($360,0 \pm 12,0$ нг/мл, $P < 0,05$). Точно также не столь значительно снижалось содержание глутатионпероксидазы и супероксиддисмутаза ($5,0 \pm 0,2$ нг/мл и $230,0 \pm 11,0$ соответственно, $P < 0,05$).

Таким образом, согласно полученным данным, мелатонин и изученные психотропные препараты ослабляют морфологические и биохимические нарушения, вызванные хроническим стрессом. При этом гормон заметно усиливает антиоксидантные свойства феназепама и флуоксетина.

ВЫВОДЫ

1. Мелатонин (0,1 мг/кг) на всех моделях, традиционно используемых для оценки анксиолитического эффекта, оказывает противотревожное действие у крыс и повышает специфическую активность бензодиазепиновых анксиолитиков (феназепама (0,1 мг/кг) и тофизопама (10 мг/кг)).
2. Мелатонин и анксиолитические средства вызывают сходные сдвиги в ритмической организации поведения животных, которые отчетливо усиливаются при

совместном введении веществ. Наблюдаются синхронизация суточного ритма двигательной активности и адаптивные изменения во временной динамике принудительного плавания,

3. Феназепам и тофизопам ограничивают вариативность сердечного ритма у крыс, свидетельствующее о повышении активности симпатического отдела нервной системы. Это действие успешно нивелируется при их комбинированном использовании с мелатонином.
4. Повторный иммобилизационно-болевой стресс вызывает дезорганизацию циркадианного ритма подвижности и уменьшение вариативности кардиоциклов, наряду с повышением тревожности крыс Феназепам и мелатонин ослабляют дизритмическое и анксиогенное влияние стресса, причем максимальный эффект отмечен при сочетанном применении препаратов.
5. Мелатонин усиливает специфическое и ритмстабилизирующее действие антидепрессантов (имипрамина (10 мг/кг) и флуоксетина (5 мг/кг)). При совместном введении веществ наблюдаются максимальное ослабление проявлений «резерпиновой депрессии» у крыс, синхронизация суточного ритма двигательной активности и перестройка временной динамики плавания со снижением показателя депрессивности.
6. Удаление эпифиза оказывает анксиогенное и продепрессивное действие, совпадающее с нарушением нормальной ритмической структуры поведения животных. Специфические и хронотропные эффекты феназепама и флуоксетина у этих особей отчетливо ослабевают. Введение экзогенного мелатонина частично ограничивает последствия эпифизэктомии, но способность гормона усиливать действие анксиолитика и антидепрессанта в значительной степени нивелируются.
7. Сочетанное введение мелатонина с изученными психотропными препаратами в большей степени ослабляет морфологические (инволюция тимуса, гиперплазия надпочечников, язвообразование в желудке) и биохимические (изменение активности антиоксидантных ферментов в переднем мозге) нарушения у стрессированных крыс, чем изолированное применение веществ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты выполненных исследований позволяют сделать заключение о способности эпифизарного гормона мелатонина усиливать активность анксиолитических и антидепрессивных препаратов. На основании всех представленных данных и после дополнительного изучения мелатонин может быть рекомендован для использования в клинической практике в комплексной терапии невротических и депрессивных расстройств.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях:

1. Анксиолитики ограничивают стрессорную дизритмию / Э.Б. Арушанян, **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер // Курортная медицина – 2018. - №3. – С.22-25.
2. Сравнительная оценка антистрессорного действия феназепама, мелатонина и их комбинации / Э.Б. Арушанян, **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии – 2021. – Т.19. - №1. – С.107-110.

3. Позитивные аспекты сочетанного влияния мелатонина и феназепам на поведенческую активность крыс / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер, **О.В. Каминская**, Л.К. Сотникова // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2015. – Т. 10. – №1. – С.84-88.
4. **Каминская О.В.** Сравнительная оценка действия мелатонина и флуоксетина на модели резерпиновой депрессии / **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер, Э.Б. Арушанян // Медицинский Вестник Северного Кавказа – 2017. – Т. 12. – №2. – С. 180-183.
5. **Каминская О.В.** Влияние хронического введения флуоксетина, мелатонина и их комбинации на динамику суточного ритма двигательной активности крыс / **О.В. Каминская**, А.В. Попов // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т.13. – №2. – С.399-402.
6. **Каминская О.В.** Влияние феназепам, мелатонина и их комбинации на уровень антиоксидантных ферментов в переднем мозге стрессированных крыс / **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер, К.С. Эльбекьян, Э.Б. Арушанян // Медицинский Вестник Северного Кавказа – 2021. – Т.16. – №3. – С.306-307.

Тезисы:

7. **Каминская О.В.** Сравнительная оценка влияния мелатонина, флуоксетина и их комбинации на динамику принудительного плавания животных / **О.В. Каминская** // Неделя науки 2015: материалы Всероссийского молодежного форума с международным участием. - 2015 - С. 483.
8. Значение индивидуальных особенностей крыс для реализации антистрессорного действия мелатонина / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер, **О.В. Каминская** // Экспериментальная и клиническая Фармакология – Прил. 2015 (6 международная конференция «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам»)
9. **Каминская О.В.** Влияние мелатонина на антидепрессивную активность флуоксетина у эпифизэктомированных крыс / **О.В. Каминская** // Неделя науки 2016: материалы Всероссийского молодежного форума с международным участием. – 2016 - С. 402-403.
10. Мелатонин усиливает анксиолитическое действие феназепам / Э.Б. Арушанян, **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер, К.Б. Ованесов // XXIV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». - 2017 - С.117
11. **Каминская О.В.** Влияние феназепам, мелатонина и их комбинации на показатели кардиоинтервалограммы у крыс / **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер, А.Г. Аревин, Э.Б. Арушанян // XXIV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». - 2017 - С.143
12. **Каминская О.В.** Сравнительная оценка действия мелатонина и флуоксетина на модели «резерпиновая депрессия» у эпифизэктомированных крыс / **О.В. Каминская** // Неделя науки 2017: материалы Всероссийского молодежного форума с международным участием. - 2017- С. 497 - 498.
13. Удаление эпифиза ослабляет специфическое действие анксиолитиков и антидепрессантов / Э.Б. Арушанян, **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер // Международная конференция «Психофизиология и психонейроэндокринология». Материалы международной конференции. – 2018. – Т.16, С.18
14. **Каминская О.В.** Влияние флуоксетина, мелатонина и их комбинации на динамику циркадианного ритма локомоции крыс / **О.В. Каминская**, А.В. Попов, Э.Б. Арушанян // V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». – 2018. – С.105.
15. Хронобиологические доказательства анксиолитического действия мелатонина / Э.Б. Арушанян, **О.В. Каминская**, Э.В. Бейер // V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». – 2018. – С.17.
16. **Каминская О.В.** Влияние удаления эпифиза на проявление противотревожного действия феназепам / **О.В. Каминская** // Неделя науки 2018: материалы Всероссийского молодежного форума с международным участием. - 2018 - С. 502-503.
17. Мелатонин потенцирует специфическое и антиоксидантное действие феназепам у стрессированных крыс / К.С. Эльбекьян, Э.В. Бейер, Э.Р. Матвиенко, **О.В. Каминская** // Материалы VIII международная конференция «Физико-химическая биология». – 2020 – С.61-64.

КАМИНСКАЯ ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА
КОРРЕКЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
АНКСИОЛИТИКОВ И АНТИДЕПРЕССАНТОВ

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук