

## УСИЛЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ ПРИ УДАЛЕНИИ ЭПИФИЗА У КРЫС

Э. Б. Арушанян, С. С. Наумов, К. В. Ломоносова

Ставропольский государственный медицинский университет

Хирургическое удаление эпифиза у крыс усугубляет поведенческие нарушения и гематологические показатели воспалительной реакции, сопутствующие адьювантному артриту. Эти сдвиги могут быть обусловлены дефицитом психотропных и противовоспалительных свойств основного эпифизарного гормона мелатонина.

*Ключевые слова:* артрит, эпифиз, мелатонин.

## PINEALECTOMY INCREASES THE RISK FOR DEVELOPING BEHAVIORAL DISTURBANCES AND HEMATOLOGICAL DISORDERS IN RATS WITH EXPERIMENTAL ARTHRITIS

E. B. Arushanian, S. S. Naumov, K. V. Lomonosova

Pinelectomized rats developed behavioral disturbances and had elevated inflammation-related hematological parameters which resulted in adjuvant arthritis. This may be related to the deficit of psychotropic and anti-inflammatory activity of the main pineal hormone, melatonin.

*Key words:* arthritis, pineal gland, melatonin.

Согласно результатам многочисленных исследований последних лет, основной гормон мозговой железы эпифиза мелатонин обладает интересным сочетанием противовоспалительных и болеутоляющих свойств. Одновременно показана его способность оказывать стабилизирующее влияние на психоэмоциональный статус животных и человека [1, 2, 5]. С другой стороны, по данным клинических наблюдений, такая распространенная ревматоидная патология, как артрит сопровождается, наряду с воспалением суставов, не только болевым синдромом, но и изменениями в психической сфере больных [6]. В этой связи представлялось интересным изучить влияние эпифиза на проявления ревматоидного артрита.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния хирургического удаления эпифиза на поведенческие нарушения и гематологические сдвиги, возникающие у крыс при моделировании экспериментального ревматоидного артрита.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 33 нелинейных крысах — самцах массой 180—220 г, которые содержались в обычных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде. Все эксперименты проводились с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. У 11 животных под наркозом (золетил 5 мг/кг, внутримышечно) производили удаление эпифиза по методу, разработанному в нашей лаборатории. Контролем для этой серии служили ложно оперированные животные, у которых трепанировали череп, повреждали твердую

мозговую оболочку, приподнимали костный лоскут без последующего удаления железы. Через 5 суток после операции у всех животных моделировали ревматоидный артрит путем однократной инъекции под кожу правой задней конечности (субплантарно) 0,1 мл адьюванта Фрейнда (АФ) (Pierce Biotechnology, США). До начала исследования, через 5 и 14 суток после эпифизэктомии из хвостовой вены крыс в вакутейнеры фирмы «DNK» (Тайвань) забирали кровь (не менее 0,5 мл).

В образцах крови определяли следующие показатели: С-реактивный белок (СРБ) — методом иммунотурбодиметрии реагентом CRPL3 на биохимическом модуле анализатора Cobas 6000, число лейкоцитов — автоматически на гематологическом анализаторе Sysmex XT-2000, ревматоидный фактор класса М (РФ) — методом двухстадийного иммуноферментного анализа реагентом «ДС-ИФА-RF-M» с использованием спектрофотометра ImmunoChem-2100 Microplate Reader, уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) оценивали с помощью набора реагентов «ЦИК-ХЕМА» методом иммуноного турбодиметрического анализа на том же спектрофотометре, уровень плазменного мелатонина определяли методом двухстадийного иммуноферментного анализа на спектрофотометре ImmunoChem-2100 Microplate Reader, уровень кортизола определяли с помощью электрохемилюминесцентного теста «ECLIA-ЭХЛА», который основан на принципе конкуренции с применением поликлональных антител, специфичных к кортизолу, на иммунохимическом анализаторе Cobas 6000.

Оценку поведенческих сдвигов производили с помощью традиционных методик «открытого поля» (ОП) и приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ). ОП — это арена стандартного размера, в которой на протяжении 5 мин учитывали горизонтальную (по чис-

лу пересеченных сегментов арены) и вертикальную (число вертикальных стоек) двигательную активность. ПКЛ представлял собой расположенную на высоте (50 см от пола) крестообразную установку с открытыми и закрытыми рукавами. Его применяли для определения степени тревожности и исследовательской активности крыс. Критерием первой служила длительность пребывания животных в том и другом рукаве, тогда как учет числа вертикальных стоек и свешиваний с горизонтальной платформы позволял судить об уровне исследовательского поведения.

Полученные результаты обработаны с использованием парного критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа посредством пакета компьютерных программ BIOSTAT. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Адьювантный артрит проявлялся выраженными отеками мягких тканей стопы, сустава, повышалась локальная температура. Отмечалось снижение объема движений в суставах и выраженная болезненность при их пальпации. Наряду с этим зарегистрировано некоторое падение горизонтальной двигательной активности в ОП, а в ПКЛ достоверное (практически в 2 раза) снижение времени, которое животные проводили в открытом рукаве ( $p < 0,05$ ), что указывало на возрастание тревожности (табл. 1). Адьювантный артрит у животных с ЛО проявлялся в некотором ограничении локомоции и исследовательского поведения в ОП и достоверном нарастании уровня тревожности в ПКЛ

( $p < 0,05$ ). ЭЭ значительно утяжеляла течение артрита у крыс. Веским аргументом тяжести состояния служил 50%-й показатель гибели животных этой группы. В ОП через 14 суток после моделирования артрита отмечалось более значимое снижение числа пересеченных сегментов и стоек (на 35 и 58 %) в сравнении с ЛО (на 20 и 30 % соответственно). У животных нарастала тревожность, судя потому что время в открытом рукаве ПКЛ достоверно сократилось, с  $(14,6 \pm 2,14)$  до  $(9,5 \pm 1,4)$  с. Зафиксировано ограничение исследовательской активности в виде уменьшения стоек и свешиваний в ПКЛ (табл. 1).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ЭЭ утяжеляет поведенческие и психоэмоциональные нарушения у животных с АА.

**Гематологические показатели.** Введение АФ вызвало выраженный воспалительный процесс, о чем свидетельствовал значительный лейкоцитоз и резкое увеличение в крови уровня СРБ (табл. 2). У животных с ЛО выявлены аналогичные сдвиги, тогда как после ЭЭ гораздо резче повышался лейкоцитоз и уровень СРБ (оказался в 2 раза выше, чем в группах с артритом и ЛО). Эти явления сопровождались существенным нарастанием в крови уровня ЦИК и РФ.

Адьювантный артрит сопровождался значительным увеличением плазменной концентрации кортизола. Сравнительный анализ показал, что у животных с сохранным эпифизом его уровень был значимо ниже, чем у эпифизэктомированных крыс. Динамика изменений содержания мелатонина в плазме имела обратную картину (рис.).

Таблица 1

**Нарушения поведения животных при адьювантном артрите на фоне хирургического удаления эпифиза**

Группа животных	Показатели	Исходные данные	Через 5 суток после ЭЭ	Через 14 дней после АА
<i>«Открытое поле»</i>				
АА	ГДА	$12,75 \pm 4,92$	$12,5 \pm 1,04$	$10,5 \pm 1,34$
	ВДА	$4,75 \pm 1,77$	$3,0 \pm 1,29$	$3,0 \pm 0,91$
АА+ЛО	ГДА	$15,33 \pm 1,91$	$12,38 \pm 1,82$	$9,25 \pm 1,6$
	ВДА	$6,88 \pm 1,06$	$4,8 \pm 0,93$	$4,75 \pm 0,49$
АА+ЭЭ	ГДА	$12,12 \pm 1,78$	$8,5 \pm 1,87$	$5,8 \pm 0,58^+$
	ВДА	$5,12 \pm 0,98$	$2,16 \pm 0,54$	$2,0 \pm 0,36$
<i>Приподнятый крестообразный лабиринт</i>				
АА	Открытый рукав	$248,8 \pm 10,9$	$248,8 \pm 10,9$	$105,8 \pm 15,3$
	Вертикальные стойки	$6,5 \pm 1,2$	$6,5 \pm 1,2$	$8,25 \pm 0,73$
АА+ЛО	Открытый рукав	$52,1 \pm 8,76$	$27,7 \pm 3,38^+$	$15,6 \pm 1,29^+$
	Вертикальные стойки	$16,91 \pm 2,02$	$12,4 \pm 1,49^+$	$7,2 \pm 1,39^+$
АА+ЭЭ	Открытый рукав	$50,6 \pm 12,06$	$14,6 \pm 2,14^{*+}$	$9,5 \pm 1,4^{*+}$
	Вертикальные стойки	$15,7 \pm 2,03$	$7,35 \pm 1,06^+$	$6,0 \pm 1,18^+$

Примечание. ГДА — горизонтальная двигательная активность, ВДА — вертикальная двигательная активность, АА — адьювантный артрит, ЛО — ложная операция, ЭЭ — эпифизэктомия.

\*Достоверность разницы по сравнению с ЛО, однофакторный дисперсионный анализ, <sup>+</sup>достоверность разницы при сравнении с адьювантным артритом.

## Влияние удаления эпифиза на гематологические показатели животных с адьювантным артритом

Показатель	Группа животных	Исходные данные	Через 5 суток после операции	Через 14 дней после введения АФ
СРБ	АА	0,24 ± 0,60	0,24 ± 0,60	33,0 ± 4,1
	ЛО+АА	0,29 ± 0,04	1,98 ± 0,40	32,58 ± 2,20
	ЭЭ+АА	0,37 ± 0,09	5,34 ± 0,90	63,21 ± 4,60
Лейкоциты, *10 <sup>9</sup> /л	АА	4,35 ± 0,20	4,35 ± 0,20	31,8 ± 1,2
	ЛО+АА	4,52 ± 0,60	8,9 ± 1,6	31,3 ± 1,8
	ЭЭ+АА	4,61 ± 0,20	11,5 ± 1,4	45,2 ± 2,4
ЦИК, ЕД	АА	20,0 ± 4,1	20,0 ± 4,1	80,0 ± 7,2
	ЛО+АА	23,1 ± 4,1	22,9 ± 1,3	87,4 ± 9,3
	ЭЭ+АА	19,9 ± 2,3	20,0 ± 2,1	113,2 ± 17,4
РФ, МЕ/мл	АА	19,0 ± 2,1	19,0 ± 2,1	35,8 ± 1,2
	ЛО+АА	16,7 ± 3,1	15,7 ± 2,1	43,6 ± 1,7
	ЭЭ+АА	15,4 ± 2,3	15,5 ± 2,4	78,9 ± 3,1

\*Достоверность разницы по сравнению с эпифизэктомизированными животными (ЭЭ+АФ), однофакторный дисперсионный анализ.

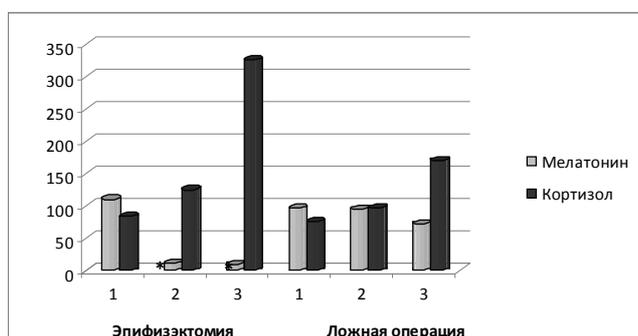


Рис. Влияние эпифизэктомии на гормональный статус животных с адьювантным артритом:

1 — фоновые показатели, 2 — через 5 суток после эпифизэктомии, 3 — через 14 суток после АА.

Как свидетельствуют полученные результаты, удаление эпифиза у крыс усугубляет поведенческие нарушения и гематологические показатели воспалительной реакции, сопутствующие адьювантному артриту. Известно, что эпифиз является источником различных биологически активных соединений пептидной и индольной природы, среди которых ведущую роль, несомненно, играет основной гормон железы мелатонин. В настоящее время существует достаточное количество экспериментальных доказательств, чтобы отнести обнаруженные сдвиги за счет специфической недостаточности именно этого гормона. Используемые в данной работе тесты («открытое поле» и крестообразный лабиринт) со всей определенностью указывают на рост тревожного состояния у эпифизэктомизированных животных с артритом. Несомненно, поведенческие расстройства при суставной патологии должны носить более сложный характер и дополнительно включать расстройства в аффективной и когнитивной сферах, в чем убеждает оценка той и другой у людей, страдающих ревматоидным артритом [6].

По данным наших предыдущих исследований, экзогенный мелатонин оказывает комплексное воздей-

ствие на психоэмоциональную сферу животных, которое определяется не только ограничением тревожности, но и ослаблением депрессивных проявлений, а также улучшением познавательной деятельности мозга [1].

Аналогичным образом усиление гематологических проявлений воспалительной реакции после удаления эпифиза тоже правомерно трактовать как следствие дефицита мелатонина, исходя из существования у него противовоспалительных свойств. Между тем ранее на разных экспериментальных моделях уже отмечалось существование у мелатонина отчетливой противовоспалительной активности, которая определяется, вероятно, комплексом причин, включая нарушение гормоном каскада арахидоновой кислоты за счет блокады активности циклооксигеназы и ограничение окислительного стресса [5, 7, 11]. К этому, безусловно, следует добавить и отчетливое болеутоляющее действие, которое в последние годы обнаружено у эпифизарного гормона [3].

Использованный в данной работе адьювантный артрит, благодаря аутоиммунному происхождению, признается близким по своему генезу ревматоидной патологии у людей. Между тем у мелатонина показана способность вмешиваться и в иммунный статус организма [4]. Вероятно, в первую очередь за счет своей иммуномодуляторной активности мелатонин демонстрирует лечебные возможности и при различных формах аутоиммунной патологии и оказывается эффективным на экспериментальных моделях системной красной волчанки [9], рассеянного склероза [8], атопического дерматита [10]. Отсюда вполне правомерно ожидать терапевтического эффекта и от использования препаратов мелатонина, в том числе при ревматоидном артрите с его аутоиммунной природой.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хирургическое удаление эпифиза утяжеляет течение адьювантного артрита. Это может быть связано

с дефицитом основного эпифизарного гормона мелатонина и ограничением его психотропных и противовоспалительных свойств. Полученные факты позволяют рекомендовать более широкое клиническое изучение этого естественного и мало токсичного агента в качестве потенциального лечебного средства для борьбы с ревматоидными заболеваниями.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арушанян Э. Б. // Журнал высшей нервной деятельности. — 2011. — Т. 61, № 6. — С. 645—659.
2. Арушанян Э. Б. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — Т. 75, № 5. — С. 44—49.
3. Арушанян Э. Б. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — Т. 75, № 8. — С. 44—48.
4. Арушанян Э. Б., Бейер Э. В. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2002. — Т. 65, № 5. — С. 73—80.
5. Арушанян Э. Б., Наумов С. С. // Клиническая медицина. — 2013. — № 7. — С. 18—22.

6. Погожева Е. Ю., Коротеев А. Е., Коротеев Е. Н. и др. // Научно-практическая ревматология. — 2008. — № 5. — С. 26—31.
7. Jimenez-Caliari A. J., Jimenez-Jorge S., Molinero P. // J. Pineal. Res. — 2005. — № 38. — P. 93—99.
8. Kashani R., Rajabi Z., Akbari M., et al. // Exp. Brain Res. — 2014. — Vol. 232. — P. 2835—2846.
9. Lechner, H. Dietrich, A. Oliveira dos Santos, et al. // J. Autoimmun. — 2000. — Vol. 14. — P. 325—335.
10. Marseglia, G. D'Angelo, S. Manti, et al. // Int. J. Mol. Sci. — Vol. 15. — P. 13482—13493.
11. Mayo J. C., Sainz R. M., Tan D. X., et al. // J. Neuroimmunol. — 2005. — Vol. 165. — P. 139—149.

## Контактная информация

**Арушанян Эдуард Бениаминович** — д. м. н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой фармакологии, Ставропольский государственный медицинский университет, e-mail: eduard.arush@mail.ru

УДК 618.14-002-08

## ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ ЭНДОМЕТРИЯ В ПЕРИМЕНОПАУЗЕ

**Л. В. Ткаченко, Н. И. Свиридова**

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра акушерства и гинекологии факультета усовершенствования врачей*

Проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 64 пациенток в возрасте от 45 до 55 лет, средний возраст ( $48,12 \pm 2,15$ ) лет, с простой и сложной гиперплазией эндометрия без атипии в сочетании с хроническим эндометритом. Разработан двухэтапный метод лечения хронического эндометрита. Полученные результаты позволяют считать научно обоснованным применение данного метода для лечения хронического эндометрита у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия в перименопаузе.

*Ключевые слова:* перименопауза, гиперпластический процесс эндометрия, хронический эндометрит.

## OPTIMIZATION OF TREATMENT CHRONIC ENDOMETRITIS IN PERIMENOPAUSAL WOMEN WITH ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

**L. V. Tkachenko, N. I. Sviridova**

Sixty-four patients aged 45—55 ( $48,12 \pm 2,15$  years) with simple and complex endometrial hyperplasia without atypia associated with chronic endometritis were enrolled into a comprehensive clinical and laboratory study. We developed a two-step method for the treatment of chronic endometritis. The two-step evidence-based method has proved effective in the treatment of chronic endometritis in perimenopausal women with endometrial hyperplasia.

*Key words:* perimenopause, endometrial hyperplastic processes, chronic endometritis.

Несмотря на значительные успехи в изучении этиологии и патогенеза гиперпластических процессов эндометрия (ГПЭ), многие вопросы лечения и профилактики данной патологии в настоящее время еще далеки от окончательного решения [1, 3, 4, 7, 9]. Высокая частота рецидивирования гиперплазии эндометрия диктует необходимость совершенствования тактики ведения больных и оптимизации принципов лечения.

В исследованиях, проведенных в последние годы, выявлены многочисленные факторы, которые самостоятельно или в различных сочетаниях, могут рассматриваться как причины развития гиперпластических процессов эндометрия [1, 3, 4, 7].

Известно, что одним из важных звеньев этиопатогенеза ГПЭ в перименопаузальном периоде является хронический эндометрит [2, 5, 6, 7]. В современных