

© К. В. Ломоносова, 2016  
УДК 599.323.4:616.831.45  
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2016.11083>  
ISSN 2073-8137

## МЕЛАТОНИН И РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ: РОЛЬ ЭКЗОГЕННОГО ГОРМОНА И ЭПИФИЗЭКТОМИИ

К. В. Ломоносова

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

## MELATONIN AND RHEUMATOID ARTHRITIS: THE ROLE OF EXOGENOUS HORMONE AND PINEALECTOMY

Lomonosova K. V.

Stavropol State Medical University, Russia

У крыс с адьювантным артритом наблюдались гематологические нарушения и расстройства в поведенческой сфере. Экзогенный мелатонин устранял подобные сдвиги, в то время как эпифизэктомия приводила к более тяжелому течению экспериментального ревматоидного артрита.

*Ключевые слова:* артрит, мелатонин, эпифизэктомия

Hematological disturbances and behavioral disorders were observed in rats with adjuvant arthritis. Exogenous melatonin eliminated these changes, while epiphysectomy caused more severe course of experimental rheumatoid arthritis.

*Key words:* arthritis, melatonin, epiphysectomy

**Р**евматоидный артрит (РА) является хроническим заболеванием соединительной ткани, основной мишенью которого являются периферические суставы. Лечение таких пациентов, как правило, проводится препаратами базисной терапии и средствами «скорой помощи» – метотрексатом, нестероидными противовоспалительными препаратами и глюкокортикоидами. Однако этих средств не всегда бывает достаточно, что диктует необходимость поиска новых подходов к лечению данной патологии.

Эпифизарный гормон мелатонин (МТ) уже не одно десятилетие привлекает внимание ученых и успел зарекомендовать себя как универсальное терапевтическое средство при различных заболеваниях. Среди прочих свойств было обнаружено, что препарат обладает иммуностропной и противовоспалительной активностью [1]. В связи с этим представлялось интересным изучить его влияние на развитие и течение экспериментального артрита.

**Материал и методы.** Опыты были выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 150–230 г, проведены согласно международным принципам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, 1986).

В первой серии экспериментов на 15 крысах изучалась роль экзогенного мелатонина на модели адьювантного артрита. Вторая серия была посвящена влиянию эпифизарного дефицита на поведенческие и гуморальные проявления артрита.

Для создания адьювантного артрита (АА) крысам субплантарно в заднюю лапку вводился 0,1 мл адьюванта Фрейнда (PierceBiotechnology, США). Микобактерии в его составе при попадании в организм

вызывали аутоиммунное воспаление суставов. На этом фоне изучалось действие МТ в дозах 1 и 5 мг/кг (мелаксен фирмы «Unipharm», США) на течение ревматоидного артрита и сопутствующие ему расстройства поведения. Для сравнения использовали животных, у которых применялся физиологический раствор в идентичных объемах. Препараты вводили с 15 по 28 сутки после введения адьюванта. Результаты оценивали в вечернее время на следующий день после окончания инъекций.

При моделировании эпифизарного дефицита выполнялась хирургическая эпифизэктомия (ЭЭ). Для этого у 11 животных трепанировали череп и через разрез в твердой мозговой оболочке пинцетом извлекали железу, целостность которой подтверждали макроскопически. Далее костный лоскут укладывали на место, рану ушивали. В качестве контроля служило такое же число крыс, у которых была сделана ложная операция в виде трепанации черепа без удаления эпифиза. Через 5 суток моделировался АА, последствия которого оценивались спустя 14 и 28 дней.

Для регистрации поведенческих расстройств использовали стандартные поведенческие тесты: «открытое поле» (ОП), приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ), темно-светлая камера (ТСК). В ОП регистрировали горизонтальную двигательную активность (число пересеченных сегментов арены) и вертикальную двигательную активность (вертикальные стойки и обнюхивания отверстий). Показателем поисково-исследовательского поведения служили число стоек и свешиваний с края платформы ПКЛ, количество переходов между отсеками ТСК. Для изучения уровня тревожности в этих же тестах учитывали время, проведенное в открытом («опасном») рукаве и светлом отсеке.

Для оценки выраженности воспалительного процесса и уровня иммунной реактивности изучались следующие гематологические показатели: число лейкоцитов (на гематологическом анализаторе Sysmex XT-2000), С-реактивный белок (СРБ) (методом иммунотурбидиметрии на биохимическом модуле анализатора Cobas 6000 (12)), циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) (путем иммунного турбидиметрического анализа на спектрофотометре ImmuноChem-2100 MicroplateReader с помощью набора реагентов «ЦИК-ХЕМА») и ревматоидный фактор – РФ (методом двухстадийного иммуноферментного анализа с использованием того же спектрофотометра).

Полученные результаты обработаны посредством однофакторного дисперсионного анализа с помощью пакета программ BIOSTAT. Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ , в случае  $0,05 < p < 0,10$  изменения характеризовались как тенденция.

**Результаты и обсуждение.** Здоровые животные в начале эксперимента обладали нормальным аппетитом, шерсть была чистой и гладкая, движения в суставах свободные. В поведенческих тестах наблюдались умеренная подвижность и низкий уровень тревожности. Показатели крови соответствовали обычным значениям.

**Эффекты экзогенного мелатонина.** В ответ на введение адьюванта спустя 4–5 дней на месте инъекции развивалась воспалительная реакция с отеком и гиперемией в области сустава, отмечалось ограничение объема движений. Конечность увеличивалась в диаметре, животные прихрамывали на больную лапку, падало потребление пищи и жидкости. В среднем масса тела сократилась на 10 %.

Крысы избегали посещения светлого отсека ТСК, редко осуществляли переходы между камерами. Сократилось время и число заходов в открытые рукава ПКЛ, снизилась вертикальная и горизонтальная двигательная активность в ОП. В крови регистрировался лейкоцитоз, подъем СРБ, показателей иммунной реактивности – ЦИК и РФ. Все это свидетельствует о возникновении системной воспалительной реакции и развитии поведенческих нарушений, которые можно расценивать как показатель роста тревожности. После инъекций физиологического раствора в течение 2 недель существенных изменений поведения и показателей крови зарегистрировано не было.

Длительное применение МТ в обеих дозах снижало поведенческие нарушения. Уменьшались локальные проявления воспалительного процесса. Движения в суставах становились более активными, крысы опирались на обе лапки. В тесте ОП достоверно увеличилось число пересеченных сегментов и вертикальная двигательная активность. В ПКЛ зарегистрировано снижение тревожности при введении меньшей дозы препарата.

Регулярные инъекции МТ приводили к сдвигам показателей крови. Причем выраженность эффекта в некоторой мере зависела от применяемой дозы. В меньшей дозе препарат достоверно ограничивал гематологические проявления воспалительного процесса по сравнению с физиологическим раствором. Установлено, что МТ в дозе 5 мг/кг значительно снижал уровень СРБ и ЦИК, чем в дозе 1 мг/кг (табл. 1).

**Эпифизэктомия.** Поведенческие и гематологические показатели оценивались у животных обеих групп спустя 5 дней после операции. Характерно, что незначительные нарушения имели место и у ложнопериовариованных крыс, несмотря на сохранность железы. Вероятнее всего, это было связано с операционным стрессом и/или влиянием наркоза.

Таблица 1

**Влияние мелатонина на некоторые гематологические показатели при адьювантном артрите**

День исследования	Физ. раствор	МТ, 1 мг/кг	МТ, 5 мг/кг
Лейкоциты, $10^9$ /л			
Исходные данные	4,4±0,3	4,42±0,2	4,46±0,4
На 14 день АА	29,4±1,8	23,2±1,8	25,0±1,8
На 28 день АА	34,2±2,4	8,75±0,8 <sup>+</sup>	8,7±0,8 <sup>+</sup>
С-реактивный белок, мг/л			
Исходные данные	0,2±0,07	0,18±0,03	0,5±0,3
На 14 день АА	36,0±4,5	29,8±3,2	31,4±4,8
На 28 день АА	57,75±9,1	7,94±1,6 <sup>+</sup>	2,5±1,5 <sup>+</sup>
Циркулирующие иммунные комплексы, ЕД			
Исходные данные	28,0±6,4	41,6±9,2	51,0±8,4
На 14 день АА	76,7±11,7	85,8±6,1	106,8±13,0
На 28 день АА	126,8±33,8	45,2±9,0 <sup>+</sup>	24,2±10,72 <sup>+</sup>
Ревматоидный фактор, МЕ/мл			
Исходные данные	19,5±3,7	19,74±4,0	15,5±2,2
На 14 день АА	38,5±2,07	74,0±6,6	43,8±4,3
На 28 день АА	45,13±2,1	32,04±6,7 <sup>+</sup>	30,8±5,0 <sup>+</sup>

*Примечание:* <sup>+</sup> – достоверные различия с группой животных, получавших физиологический раствор (однофакторный дисперсионный анализ,  $p < 0,05$ ).

У эпифизэктомированных животных на 5 сутки после операции наблюдались выраженные поведенческие сдвиги. Это проявлялось в достоверном снижении числа пересеченных сегментов и стоек в тесте ОП, уменьшении частоты посещений светлого отсека ТСК и времени пребывания в нем. В ПКЛ статистически значимо сократилось время пребывания в открытом рукаве, а также число стоек и свешиваний, что свидетельствует об усилении тревожности и снижении поисковой активности.

Поведенческим изменениям сопутствовали некоторые изменения со стороны иммунной системы (табл. 2). У животных, лишенных эпифиза, отмечался умеренный рост СРБ и числа лейкоцитов (в 2,5 раза).

В ответ на введение адьюванта появлялись местные признаки воспаления, поведенческие и гематологические сдвиги. На фоне ЭЭ артрит развивался и протекал с более серьезными проявлениями. У таких животных отмечался выраженный отек и скованность пораженного сустава. В поведенческих тестах двигательная активность была достоверно ниже, чем у ложнопериовариованных крыс. Сократилось число пересеченных сегментов и стоек в ОП. Время в «опасном» рукаве ПКЛ уменьшилось с 14,6 до 9,5 секунд, а частота свешиваний сократилась вдвое. Снижались показатели в ТСК, однако по сравнению с ЛО группой достоверных различий не было.

У ЭЭ крыс наблюдались глубокие нарушения со стороны иммунной системы. Уровни лейкоцитов и СРБ были в 1,5–2 раза выше, чем в группе сравнения. Число иммунных комплексов и иммуноглобулинов свидетельствовало о чрезмерной продукции аутоантител и образовании иммунных комплексов.

Таблица 2

Гематологические показатели при удалении эпифиза

Показатель	Группа животных	Исходные данные	Через 5 суток после операции	Через 14 суток после введения АФ	Через 28 суток после введения АФ
СРБ	ЭЭ	0,37±0,09	5,34±0,9	63,21±4,6	66,81±8,4*
	ЛО	0,29±0,04	1,98±0,4	32,58±2,2	44,7±3,8
Лейкоциты, *10 <sup>9</sup> /л	ЭЭ	4,61±0,2	11,5±1,4	45,2±2,4	42,1±1,8*
	ЛО	4,52±0,6	8,9±1,6	31,3±1,8	31,6±1,9
ЦИК, ЕД	ЭЭ	19,9±2,3	20,0±2,1	113,2±17,4	156,7±15,4*
	ЛО	23,1±4,1	22,9±1,3	87,4±9,3	104,5±6,9
РФ, МЕ/мл	ЭЭ	15,4±2,3	15,5±2,4	78,9±3,1	92,4±5,8*
	ЛО	16,7±3,1	15,7±2,1	43,6±1,7	42,2±4,1

Примечание: \* – достоверные различия с ложнооперированными животными (однофакторный дисперсионный анализ при  $p < 0,05$ ); ЭЭ – эпифизэктомия; ЛО – ложнооперированные животные; АФ – адьювант Фрэйнда.

Повторная оценка состояния животных спустя 2 недели показала дальнейшее прогрессирование двигательных расстройств у животных с ЭЭ. Наблюдался рост уровня аутоиммунной агрессии, судя по увеличению числа ЦИК и РФ. У ЛО крыс также отмечалось нарастание числа иммунных комплексов, но менее выраженное.

Полученные данные свидетельствуют том, что введение МТ извне влияет на поведенческие и гематологические нарушения, сопутствующие артриту. ЭЭ усугубляет его течение, что лишний раз подтверждает вклад эпифиза в течение воспалительного процесса и тревожных расстройств.

Данные об иммунотропных свойствах МТ были обобщены ранее [2]. Согласно представленному обзорному материалу, гормон оказывает преимущественно модулирующее воздействие на иммунную систему в зависимости от ее исходного состояния. Так, в условиях предшествующей гиперактивности проявлялись отчетливые иммунодепрессивные свойства, в то время как стимулирующий эффект выявлялся на фоне угнетенного иммунного ответа.

Влияние МТ на защитную систему организма реализуется различными путями. Рецепторы к гормону были обнаружены на CD4, CD8 Т-лимфоцитах и В-клетках [11]. По данным S. Y. Kumar с соавт., МТ модулировал пролиферацию лимфоцитов селезенки в связи с наличием мест специфического связывания на поверхности клеток. При этом его действие подавлялось при введении как селективных (4P-PDOT), так и неселективных (лузиндол) антагонистов МТ рецепторов [9]. Эпифизарный гормон оказывал тормозящее действие на пролиферацию фибробластоподобных синовицитов, являющихся одним из ключевых звеньев в патогенезе РА [12]. Подобные факты говорят о способности МТ влиять на клеточное звено патогенеза заболевания.

Противовоспалительное действие МТ может объясняться наличием у него антиоксидантных свойств. Известно, что гормон способен служить «ловушкой» для свободных радикалов, снижая выраженность окислительного стресса, имеющего место при различных типах воспалительного процесса [7, 14].

В результате моделирования различных видов воспаления отмечается подъем уровня провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли-альфа, ИЛ-1b, ИЛ-6, а также индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы-2. МТ в довольно широком диапазоне доз (1 и 50 мг/кг) ограничивает образование медиаторов воспаления и сопутствующие проявления окислительного стресса [8, 15].

Имунотропные свойства эпифизарного гормона также могут реализоваться путем довольно сложных взаимодействий между эпифизом и корой надпочечников. Так, эпифизэктомии у крыс сопутствует увеличение продукции кортикостероидов, концентрация которых нарастает при адьювантном артрите. Как показали наши предыдущие исследования, внутривентральные инъекции МТ (5 мг/кг) достоверно ограничивали гиперпродукцию кортизола. Данные факты позволяют предположить, что эпифизарный гормон может играть важную роль в нормализации нарушенных при артрите эпифизарно-адренкортикальных связей [4].

Важную роль в патогенезе РА играют представители системы протеолиза – матриксные металлопротеиназы (ММП). В частности, ММП-3 и ММП-9 с максимальной активностью участвуют в разрушении структуры соединительной ткани и отвечают за аутоиммунное воспаление и эрозию суставов [6]. МТ способен ингибировать активность ММП-9, что, несомненно, свидетельствует в пользу целесообразности его применения при РА [13].

Оправданность рекомендаций МТ для клинического применения подтверждается тем, что у него имеются гипногенные и болеутоляющие свойства. В исследовании на больных РА было установлено, что МТ в дозе 3 мг/сут на ночь достоверно уменьшает продолжительность утренней скованности, интенсивность боли, количество и болезненность пораженных суставов. Его применение привело к улучшению качества сна; общее состояние улучшилось у 47,4–63,2 % пациентов [5]. Анальгетический эффект связан со способностью МТ стабилизировать психическое состояние, что приводит к повышению болевого порога. Мелатонин в довольно высокой дозе (50 мг/кг) оказывал хроностабилизирующее, антиноцицептивное и умеренное противовоспалительное действие у крыс с АА [10]. Немаловажный вклад в реализацию обезболивающего действия принадлежит опиоидергическим и ГАМК-ергическим механизмам [3].

**Заключение.** Экзогенный мелатонин способен ограничивать гематологические и поведенческие проявления ревматоидного артрита, причем его эффект зависит от дозы и продолжительности введения. ЭЭ утяжеляет течение воспалительного процесса, что сопровождается более серьезными нарушениями поведения и показателей крови. Приведённые факты позволяют рассматривать МТ в качестве вещества, пригодного для коррекции нарушений у людей с ревматоидным артритом.

### Литература

1. Арушанян, Э. Б. Универсальные терапевтические возможности мелатонина / Э. Б. Арушанян // Клиническая медицина. – 2013. – № 2. – С. 4–8.
2. Арушанян, Э. Б. Иммунотропные свойства эпифизарного мелатонина / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 5. – С. 73–80.
3. Арушанян, Э. Б. Мелатонин: биология, фармакология, клиника / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер. – Ставрополь, 2015. – 396 с.
4. Арушанян, Э. Б. Влияние мелатонина и диклофенака на эпифизарно-адренокортикальные отношения у крыс с экспериментальным ревматоидным артритом / Э. Б. Арушанян, С. С. Наумов, К. В. Ломоносова // Материалы IX международной научно-практической конференции «Achievement of high school – 2013». – София, 2013. – С. 60–61.
5. Каратеев, А. Е. Первый опыт применения мелатонина для коррекции нарушений сна у больных с ревматоидным артритом / А. Е. Каратеев, Д. Е. Каратеев, Е. Л. Лучихина, В. А. Насонова // Научно-практическая ревматология. – 2004. – № 4. – С. 73–76.
6. Турна, А. А. Матриксные металлопротеиназы в развитии деструктивных процессов при ревматоидном артрите / А. А. Турна // Научно-практическая ревматология. – 2010. – № 3. – С. 59–64.
7. Gitto, E. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin / E. Gitto, S. Pellegrino, P. Gitto [et al.] // J. Pineal Res. – 2009. – Vol. 46, № 2. – P. 128–139.
8. Jung, K. H. Melatonin downregulates nuclear erythroid 2-related factor 2 and nuclear factor-kappaB during prevention of oxidative liver injury in a dimethylnitrosamine

### References

1. Arushanjan Je. B. *Klinicheskaja medicina*. – *Clinical medicine*. 2013;2:4-8.
2. Arushanjan Je. B., Bejer Je. V. *Jeksperimentalnaja i klinicheskaja farmakologija*. – *Experimental and clinical pharmacology*. 2002;65(5):73-80.
3. Arushanjan Je. B. Melatonin: biologija, farmakologija, klinika. Stavropol: «Izd-vo StGMU»; 2015. 396 p.
4. Arushanjan Je. B., Naumov S. S., Lomonosova K. V. Materialy IX mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Achievement of high school – 2013». Sofija; 2013. P. 60-61.
5. Karateev A. E., Karateev D. E., Luchihina E. L., Nasonova V. A. *Nauchno – prakticheskaja revmatologija*. – *Scientific-practical rheumatology*. 2004;4:73-76.
6. Turna A. A. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija*. – *Scientific-practical rheumatology*. 2010; 3: 59-64.
7. Gitto E., Pellegrino S., Gitto P., Barberi I., Reiter R. J. *J. Pineal Res*. 2009;46(2):28-139.
8. Jung K. H., Hong S. W., Zheng H. M., Lee D. H., Hong S. S. *J. Pineal Res*. 2009;47(2):173-183.

- model / K. H. Jung, S. W. Hong, H. M. Zheng [et al.] // *J. Pineal Res*. – 2009. – Vol. 47, № 2. – P. 173–183.
9. Kumar, Y. S. Melatonin regulates splenocytes proliferation via IP3-dependent intracellular Ca<sup>2+</sup> release in seasonally breeding bird, *Perdica asiatica* / S. Y. Kumar, C. Haldar, S. S. Kumar, D. Dash // *J. Recept. Signal Transduct. Res*. – 2014. – Vol. 34, № 4. – P. 233–240.
10. Laste, G. Melatonin treatment entrains the rest-activity circadian rhythm in rats with chronic inflammation / G. Laste, L. Vidor, I. C. de Macedo [et al.] // *Chronobiol. Int*. – 2013. – Vol. 30, № 9. – P. 1077–1088.
11. Lin, G. J. Modulation by Melatonin of the Pathogenesis of Inflammatory Autoimmune Diseases / G.-J. Lin, S.-H. Huang, S.-J. Chen [et al.] – 2013. – Vol. 14, № 6. – P. 11742–11766.
12. Nah, S. S. Melatonin inhibits human fibroblast-like synoviocyte proliferation via extracellular signal-regulated protein kinase/P21(CIP1)/P27(KIP1) pathways / S.-S. Nah, H.-J. Won, H. J. Park [et al.] // *J. Pineal Res*. – 2009. – Vol. 47, № 1. – P. 70–74.
13. Rudra, D. S. Melatonin inhibits matrix metalloproteinase-9 activity by binding to its active site / D. S. Rudra, U. Pal, N. C. Maiti [et al.] // *J. I. Pineal Res*. – 2013. – Vol. 53, № 4. – P. 398–405.
14. Shin, E.-J. Melatonin attenuates memory impairment induced by Klotho gene deficiency via interactive signaling between MT2 receptor, ERK, and Nrf2-related antioxidant potential / E.-J. Shin, Y. H. Chung, H.-L. T. Le [et al.] // *Int. J. Neuropsychopharmacol*. – 2015 – Vol. 18, № 6. – P. 1–14.
15. Veneroso, C. Melatonin reduces cardiac inflammatory injury induced by acute exercise / C. Veneroso, M. J. Tuñón, J. González-Gallego, P. S. Collado // *J. Pineal. Res*. – 2009. – Vol. 47, № 2. – P. 184–191.

9. Kumar S. Y., Haldar C., Kumar S. S., Dash D. *J. Recept. Signal Transduct. Res*. 2014;34(4):233-240.
10. Laste G., Vidor L., de Macedo I. C., Rozisky J. R., Medeiros L., de Souza A., Meurer L., de Souza I. C. C., Torres I. L. S., Caumo W. *Chronobiol. Int*. 2013;30(9):1077-1088.
11. Lin G.-J., Huang S.-H., Chen S.-J., Wang C.-H., Chang D.-M., Sytwu H.-K. *Int. J. Mol. Sci*. 2013;14(6):11742-11766.
12. Nah S.-S., Won H.-J., Park H. J., Ha E., Chung J.-H., Cho H. Y., Baik H. H. *J. Pineal Res*. 2009;47(1):70-74.
13. Rudra D. S., Pal U., Maiti N. C., Reiter R. J., Swarnakar S. *J. Pineal Res*. 2013;53(4):398-405.
14. Shin E.-J., Chung Y. H., Le H.-L. T., Jeong J. H., Dang D.-K., Nam Y., Wie M. B., Nah S.-Y., Nabeshima Y.-I., Nabeshima T., Kim H.-C. *Int. J. Neuropsychopharmacol*. 2015;18(6):1-14.
15. Veneroso C., Tuñón M. J., González-Gallego J., Collado P. S. *J. Pineal. Res*. 2009;47(2):184-191.

### Сведения об авторе

Ломоносова Ксения Владимировна, аспирант кафедры фармакологии;  
тел.: (8652)354881; e-mail: skise@yandex.ru