

**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](http://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 (Вороница 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 28<sup>0</sup>-29<sup>0</sup>С) 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 аликвоты замораживали при  $-20\text{ C}^0$ . 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 28<sup>0</sup>С) 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.**

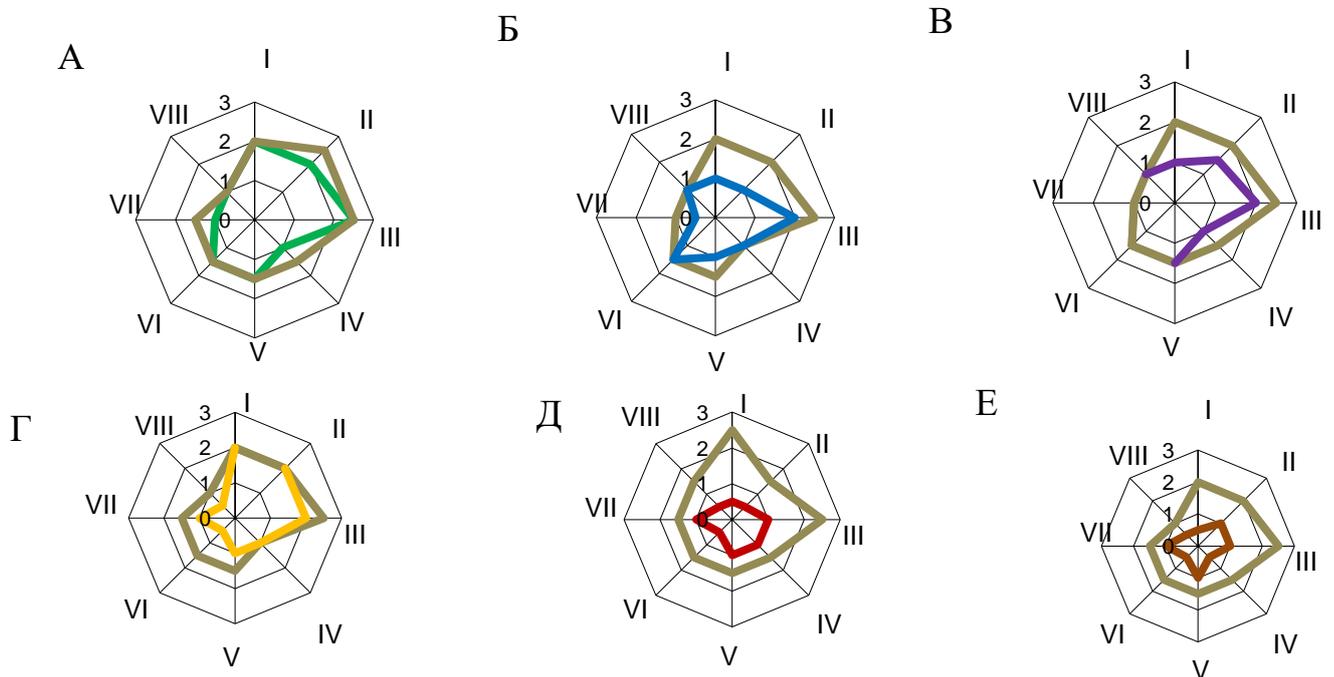
#### **Влияние мелатонина на действие анксиолитиков**

*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.



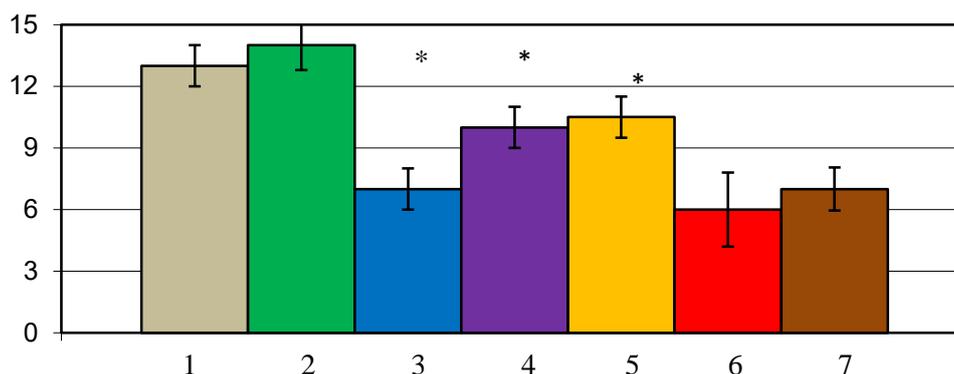


Рисунок 1 - Влияние анксиолитиков и мелатонина на тревожно-фобическое состояние крыс (по данным многопараметрической оценки,  $n=12$ )

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).

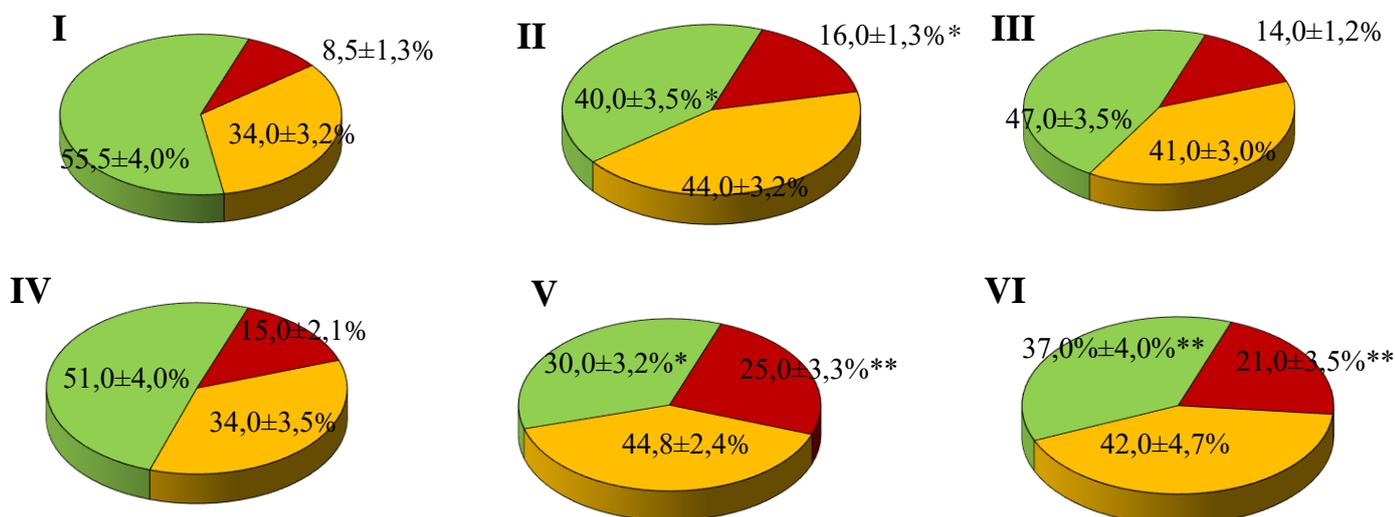


Рисунок 2 - Соотношение периодов разной длительности (в %) в ритмической структуре плавания крыс после введения физ. раствора (I), мелатонина (II), феназепам (III), тофизопама (IV) и комбинации мелатонина с феназепамом (V) и тофизопамом (VI). \* - статистически значимые различия по сравнению с контролем 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).

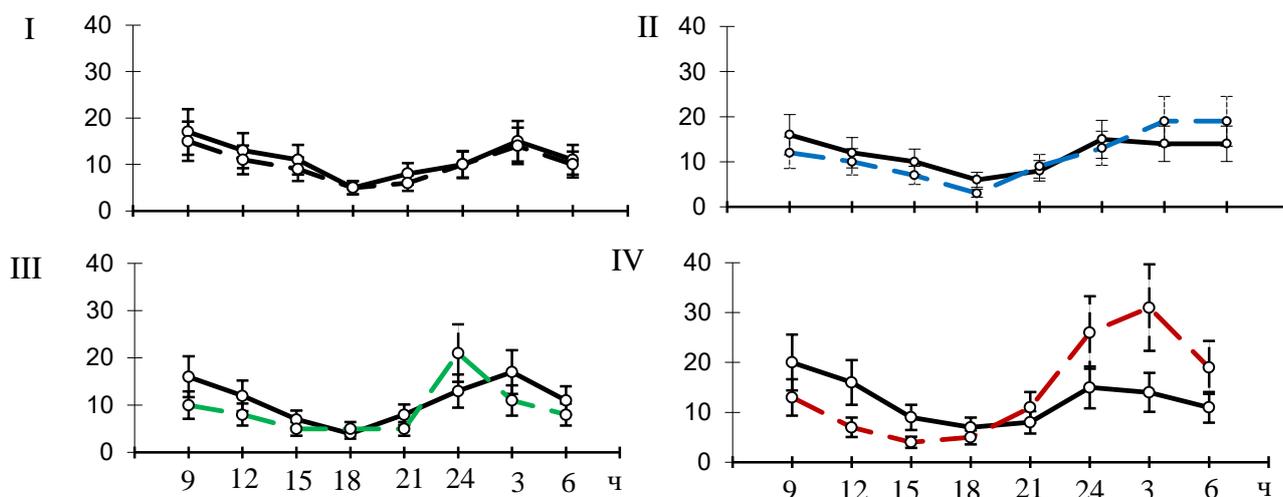


Рисунок 3 - Влияние феназепама (II), мелатонина (III) и их комбинации (IV) на циркадианную подвижность стрессированных крыс в сравнении с контрольным введением физиологического раствора (I).

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  $5600 \pm 300$  до  $8000 \pm 370$ ;  $P < 0,01$ ). 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 ( $4000 \pm 320$  и  $8000 \pm 370$  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% ( $4100 \pm 270$ ;  $P < 0,05$ ). Особенно необходимо отметить тот факт, что гормон устранял дисрегуляторные сдвиги, которые вызывал феназепам (рис. 4).

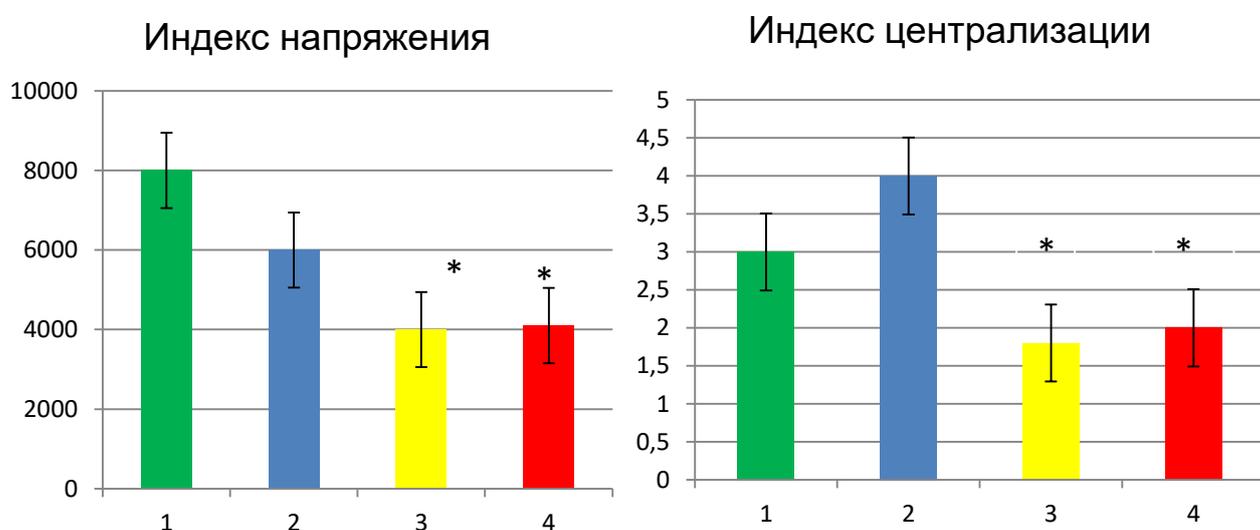


Рисунок 4 - Влияние феназепама (2), мелатонина (3) и их комбинации (4) на показатели кардиоинтервалограммы у стрессированных крыс в сравнении с физ. раствором (1).

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 феназепама, 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 значимо 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).

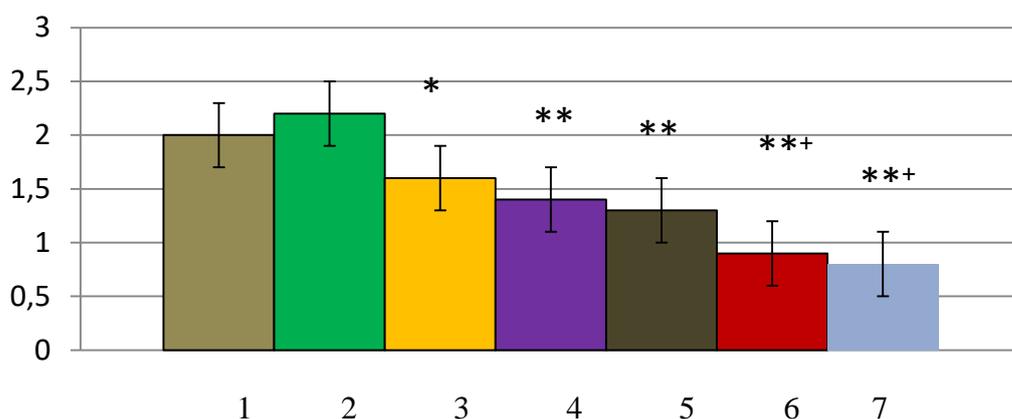


Рисунок 5 - Влияние антидепрессантов, мелатонина и их комбинации на ритмологический показатель депрессивности у крыс.

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.

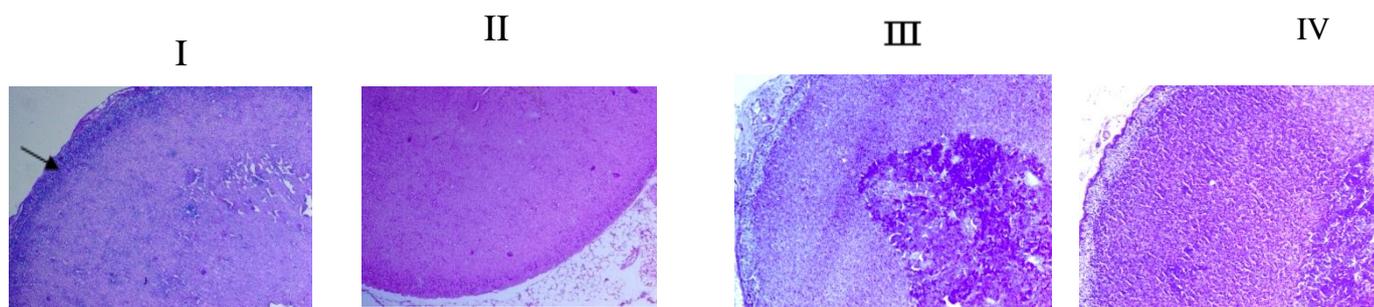


Рисунок 6 - Гистологическая структура надпочечников стрессированных крыс, получавших физиологический раствор (I), феназепам (II), мелатонин (III) и их комбинацию (IV). Окраска гематоксилин-эозин.  $\times 100$ . Стрелкой обозначена область гиперплазии коры.

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 мм<sup>2</sup>. Феназепам ограничивал площадь язвенного поражения желудка, но этот эффект не носил статистически значимого характера (7,5±1,4 мм<sup>2</sup>). Достоверные сдвиги вызывал мелатонин (7,0±0,7 мм<sup>2</sup>;  $P<0,05$ ), а наибольшее протективное действие отмечено в случае совместного введения веществ (4,0±0,5 мм<sup>2</sup>;  $P<0,01$ ).

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