© А. В. Попов, Э. Б. Арушанян, 2015
УДК 612.826
DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10099>
ISSN – 2073-8137

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

А. В. Попов, Э. Б. Арушанян

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

CHRONOBIOLOGICAL VARIATIONS OF LOCAL INFLAMMATORY PROCESS

Popov A. V., Arushanian E. B.

Stavropol State Medical University, Russia

Воспалительный артрит у крыс сопровождался нарушением амплитудно-частотных характеристик околосуточного ритма двигательной активности и короткопериодных колебаний плавательного поведения. Как предполагается, обнаруженные сдвиги могут зависеть от изменения функции центральных аппаратов управления биологическими ритмами.

Ключевые слова: воспаление, формалиновый артрит, циркадианные ритмы, временная динамика принудительного плавания

Inflammatory arthritis in rats is accompanied by disruption of circadian rhythm of locomotion and reorganization of time-course in forced swimming. As proposed, the observed shifts depend on activity of central rhythm organized structures.

Key words: inflammation, experimental arthritis, circadian rhythm, forced swimming test

Как известно, любая форма патологии неизменно сопровождается нарушением во временной организации той или иной физиологической функции [6]. Естественно, дизритмия сопутствует и любым генерализованным воспалительным реакциям независимо от их происхождения (инфекционные заболевания, поражение внутренних органов, опорно-двигательного аппарата и т. п.). Хронопатологический дефект среди прочего зачастую характеризуется реорганизацией суточного периодизма с поломкой базального ритма «сон – бодрствование» [8, 9, 11].

В этой связи представлялось интересным на модели циркадианной подвижности крыс определить особенности её перестройки при воспалительном моноартрите. Для более полного описания ритмологического статуса таких животных, на наш взгляд, необходимо было также изучить у них динамику короткопериодных колебаний поведения. Подобным образом удалось бы дать оценку адаптивных возможностей организма в условиях региональной воспалительной патологии. Как показывает опыт многолетних исследований, таким удобным и технически простым экспресс-методом может служить учёт временной динамики принудительного плава-

ния грызунов, разработанный в нашей лаборатории [7].

Материал и методы. Опыты выполнены на 40 белых беспородных крысах-самцах массой 180–240 г в зимние месяцы (декабрь – январь). Предварительно животных разделили на две равные группы. В первой изучали влияние воспалительного процесса на перестройку циркадианных ритмов двигательной активности, во второй – на динамику короткопериодных колебаний плавательного поведения. Каждая группа состояла из 10 контрольных интактных животных и 10 крыс с артритом. Воспалительный артрит моделировали однократным субплантарным введением 0,1 мл 2 % водного раствора формалина в область сустава задней конечности.

Циркадианный ритм локомоции. В соответствии с ранее описанным подходом [3] для регистрации ритма циркадианной (суточной) локомоции животных помещали в изолированные подвижные боксы собственной конструкции с автоматической подачей стандартизированного корма и воды. Это позволяло на протяжении длительного времени производить компьютерную оценку двигательного поведения животных. После их 3-дневной адаптации к условиям содержания в дальнейшем (на протяжении

6 суток) количественно учитывали число переходов по клетке.

Оценку циркадианной локомоции производили методом косинор-анализа [4], позволявшим учитывать амплитуду и акрофазу ритма. Для определения мощности колебательного процесса и его частотных составляющих использовали спектральный анализ. Рассчитывали общую двигательную активность животных и отдельно число совершаемых движений за световой и темновой периоды суток.

Учитывая большое число переменных в динамике циркадианной подвижности крыс, для её характеристики применяли разработанный нами интегративный хронобиологический показатель (ИХП) [3]. Он позволяет, на наш взгляд, дать комплексную оценку адаптивных возможностей животных. Величину ИХП определяли с учётом основных параметров циркадианного ритма (двигательная активность, акрофаза, амплитуда и спектральная мощность колебаний). На предварительном этапе в популяции из 120 интактных животных для каждого регистрируемого показателя отдельно определяли среднегрупповую величину (M), ошибку средней ($M \pm m$) и среднее квадратичное отклонение ($M \pm \text{СКО}$). Затем показатели каждого животного сравнивали с полученными результатами. Если они находились в пределах ошибки средней, выделялась зона нормы (0 баллов), если в пределах ($M \pm \text{СКО}$), выделялась зона умеренных отклонений («+» или «-» 1 балл). Если значения показателя выходили за пределы $M \pm \text{СКО}$, фиксировали отклонения от нормы (± 2 балла). По сумме баллов (абсолютных значений без учёта знака) для каждой крысы отдельно определяли величину отклонений от нормы и индивидуальный ИХП.

Временную динамику принудительного плавания оценивали на 3-й день после провокации воспаления визуально, кроме того, все движения регистрировали на видеокамеру. Животное помещали на 18 минут в стеклянный сосуд, заполненный водой (температура 28–29 °C). Учитывали три разных уровня активности крыс в воде: активное (сильные гребковые движения и перемещение по периметру резервуара) и пассивное (слабые гребки) плавание, а также состояние неподвижности (иммобилизации).

Как нами показано ранее, форсированное плавание имеет нестационарную колебательную природу, на основании анализа которой был предложен оригинальный хронобиологический подход [7]. Для изучения ритмической структуры плавательного поведения подсчитывали количество всех циклов как активного плавания, так и неподвижности, подразделяя их на 4 гармоники: короткие (до 6 с), средние (6–18 с), длительные (18–36 с) и самые длительные (больше 36 с). По соотношению числа коротких циклов иммобилизации и общего количества периодов активного плавания рассчитывали интегральный ритмологический показатель – так называемый индекс депрессивности.

Крыс содержали при фиксированном световом режиме (свет:темнота 12:12 с включением освещения в 8.00 и выключением в 20.00) при свободном доступе к пище и воде, максимальной стандартизации окружающей температуры и соблюдении требований Хельсинкской декларации о гуманном обращении с животными. При статистической обработке результатов применяли t -критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Двигательная активность интактных крыс оказывалась неодинаковой в разное время суток. В соответствии с этологическими особенностями животных она повышалась в ночной период, достигая максимума к 03 ч, а минимум приходился на 12–15 ч. Это подтверждал паттерн сглаженных суммарных хронограмм. Общая двигательная активность для интактных животных соответствовала $811,8 \pm 40,4$ перемещений. Ночью она была достоверно выше, чем днем ($106,7 \pm 5,5$ против $30,1 \pm 1,83$ днем – $p < 0,001$). В целом кривая суточной подвижности чаще имела два пика в форме усиления двигательной активности в начале и конце темнового периода. Усреднённая акрофаза ритма, согласно данным косинор-анализа, составляла $2,4 \pm 0,36$ ч (02 часа 24 минуты). По данным спектрального анализа, в структуре нормального ритма были представлены все гармоники при явном преобладании волн в высоко- ($2-4$ ч – $16,77 \pm 0,53$ ед²) и низкочастотном ($25-50$ ч – $9,4 \pm 1,2$ ед²) диапазонах спектрограммы.

У крыс с локальным воспалительным поражением конечности по сравнению с интактными животными заметно менялась картина суточной подвижности, что сопровождалось реорганизацией паттерна хронограмм. В целом происходило усиление активности, особенно значительно в ночные часы. При этом отмечена тенденция к возрастанию амплитуды циркадианного ритма со смещением его акрофазы на более раннее ночное время. Таким изменениям, согласно результатам спектрального анализа, сопутствовало некоторое увеличение мощности около-суточных колебаний с периодом 25 ч и более. Указанные сдвиги в совокупности отчётливо сказывались на профиле комплексной векторограммы (табл. 1, рис.).

Таблица 1
Влияние воспалительного артрита на статические (А) и спектральные (Б) характеристики циркадианной локомоции крыс

Группа животных	Двигательная активность	Косинор-анализ	
		Амплитуда	Акрофаза
Интактные крысы ($M \pm m$)	$591,6 \pm 38,2$	$4,1 \pm 0,25$	$2,5 \pm 0,40$
Животные с воспалительным артритом ($M \pm m$)	$871,4 \pm 137,4$	$6,5 \pm 1,0$	$1,2 \pm 0,5$

Б

Группа животных	Спектральный анализ (ч)					
	Мощность волн	25–50	14–25	8–12	5–7	2–4
Интakтные крысы ($M \pm m$)	40,7±2,3	9,4±1,20	2,3±0,40	5,8±0,9	5,4±0,7	16,8±0,53
Животные с воспалительным артритом ($M \pm m$)	66,9±3,2	20,2*±1,4	4,8*±0,8	6,7±0,9	9,7±1,6	24,5±1,2

Примечание: # – показатель достоверности при сравнении с интактными животными ($p < 0,05$).

Рис. Комплексная векторнографическая оценка влияния воспалительного артрита на основные показатели ритма (спектральная мощность волн часового диапазона, значения косинор-анализа: амплитуда и положение акрофазы ритма; общая двигательная активность) околосуточной подвижности крыс с воспалительным артритом. На каждой оси векторограммы результаты представлены в % к данным у интактных животных (их профиль активности очерчен жирной линией)

С хронобиологических позиций для оценки состояния ритмостаза при воспалительном процессе, как представляется, весьма информативным оказался использованный нами интегративный подход с определением ИХП. У животных с локальным воспалением его величина оказалась значимо выше нормы ($4,8 \pm 0,8$ против $2,5 \pm 0,54$ без воспаления при $p < 0,05$), что может служить объективным критерием патологической дизритмии.

Обнаруженная перестройка ритма околосуточной подвижности крыс с локальным воспалительным процессом в принципе совпадала с ранее полученными результатами на той же экспериментальной модели, но в иных условиях – при хроническом стрессировании животных. В случае повторных внутрибрюшинных введений им физиологического раствора, провоцирующих инъекционный стресс, нами также была описана циркадианная дизритмия с очень близкими характеристиками [3].

Одной из причин такого рода хронопатологических сдвигов могло бы служить нарушение функции центральных аппаратов управления физиологическими процессами в суточном ре-

жиме. К ним, как известно, в первую очередь, относятся супрахиазматические ядра гипоталамуса. Выполняя роль водителя циркадианного периодизма, они, с одной стороны, несут ответственность за его четкую организацию, а с другой – оказываются объектом вмешательства различных экзогенных и эндогенных патологических факторов, в том числе воспалительного характера [1, 8, 9]. Отсюда, полученные результаты отчасти можно трактовать как следствие изменения деятельности центрального пейсмекерного механизма. Интересно, что его морфологическое выключение, в свою очередь, сказывается на состоянии воспалительного процесса [10].

В циркадианную дизритмию при локальном воспалительном процессе вполне вероятно вовлечение и эндокринного посредника пейсмекерных ядер – шишковидной железы или эпифиза. Его основной гормон мелатонин выполняет в организме роль естественного хронобиотика, в силу чего эпифизэктомия приводит к некоторой дезорганизации параметров суточной локомоции, которую удаётся нивелировать введением гормона извне [2]. В этой связи показательно, что по своим хронобиологическим проявлениям эпифизарный дефицит весьма напоминает обнаруженную в настоящей работе перестройку циркадианной подвижности крыс при воспалении. В то же время воспалительный или инфекционный процесс негативно сказывается на секреторной активности эпифиза [11].

Обусловленной локальным воспалением перестройке ритма циркадианной локомоции, по нашим наблюдениям, аккомпанируют изменения короткопериодных осцилляций в структуре временной динамики принудительного плавания животных. По своим статическим характеристикам оно заметно варьировало у отдельных крыс с преобладанием одной какой-либо формы поведения (активного или пассивного плавания либо иммобилизации). Тем не менее, несмотря на такую вариабельность, в целом в ритмической структуре поведения преобладали циклы малой и средней продолжительности. Этому соответствовали невысокие значения интегрального хронобиологического показателя – индекса депрессивности ($0,6 \pm 0,1$).

В условиях принудительного плавания поведение животных с воспалительным артритом заметно отличалось. Они реже предпринимали попытки выбраться из резервуара с водой, дольше пребывали в состоянии неподвижности. В ритмической структуре плавания также отмечались заметные изменения. Весьма демонстративным было то, что при воспалении достоверно возрастало количество самых коротких (с периодом до 6 с) циклов иммобилизации (табл. 2). Как следствие, у таких крыс статистически значимо повышалась величина индекса депрессивности ($0,6 \pm 0,1$ в норме и $1,3 \pm 0,2$ при воспалении; $p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние воспалительного артрита на временную организацию принудительного плавания крыс

Группа животных	Статистические характеристики		
	Активное плавание	Пассивное плавание	Имобилизация
Интактные	252,8±26,3	262,2±41,3	557,1±32,8
Воспаление	265,9±24,7	204,8±22,6	604,7±36,4
	Ритмические характеристики		
	Секундный ритм активного плавания		
	>6 с	6-18 с	18<с
Интактные	11,2±2,6	10,5±1,9	3,4±0,3
Воспаление	24,2±4,0 [#]	10,4±1,2	2,2±0,4
	Секундный ритм иммобилизации		
Интактные	12,1±1,6	19,6±1,9	10,0±0,6
Воспаление	47,5±5,8 [#]	24,8±1,3	7,5±0,8

Примечание: <6 – количество волн с периодом меньше 6 секунд, 6–18 – соответственно с периодом от 6 до 18 секунд, >18 – с периодом больше 18 секунд. # – показатель достоверности при сравнении с интактными животными (p<0,05).

Литература

1. Арушанян, Э. Б. Тофизопам и мелатонин ослабляют перестройку ритма суточной подвижности крыс при инъекционном стрессе / Э. Б. Арушанян, А. В. Попов // Экспер. и клин. фармакол. – 2006. – Т. 69, № 3. – С. 14–17.
2. Арушанян, Э. Б. Особенности организации циркадианной подвижности крыс после удаления эпифиза / Э. Б. Арушанян, А. В. Попов // Журн. высш. нервн. деят. – 2008. – Т. 36, № 3. – С. 345–348.
3. Арушанян, Э. Б. Современные представления о роли супрахиазматических ядер гипоталамуса в организации суточной периодичности физиологических функций / Э. Б. Арушанян, А. В. Попов // Успехи физиол. наук. – 2011. – Т. 42, № 4. – С. 39–58.
4. Емельянов, И. П. Формы колебаний в биоритмологии / И. П. Емельянов. – Новосибирск: Наука, 1976. – 127 с.
5. Погожева, Е. Ю. Влияние мелатонина на клинические и эндокринологические показатели при ревматоидном артрите / Е. Ю. Погожева, А. Е. Каратеев, Е. Н. Каратеев [и др.] // Научно-практич. ревматол. – 2008. – № 5. – С. 26–31.

References

1. Arushanyan E. B., Popov A. V. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. – *Eksp. Klin. Farmakol.* 2006;69(3):14-17.
2. Arushanyan E. B., Popov A. V. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti*. – *Journal of Higher Nervous Activity*. 2008;36(3): 345-348.
3. Arushanyan E. B., Popov A. V. *Usp Fiziol Nauk*. – *Advances of Physiological Sciences*. 2011;42(4):39-58.
4. Emelyanov I. P. *Formy kolebaniy v bioritmologii*. Novosibirsk: «Nauka»; 1976. 127 p.
5. Pogozheva E. U., Karateyev A. E., Karateyev E. N. *Nauchno-praktich. revmatol. – Scientific-practical. revmatol.* 2008;5:26-31.

Сведения об авторах:

Попов Алексей Викторович, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии; тел. (8652)354881; e-mail: popov2003@bk.ru
Арушанян Эдуард Бениаминович, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии; тел. (8652)353429; e-mail: eduard.arush@mail.ru

Закключение. Таким образом, локально-му воспалительному процессу у крыс наряду с перестройкой ритма циркадианной подвижности соответствуют нарушения частоты короткопериодных колебаний поведения. Это обстоятельство позволяет рассматривать динамику коротких ритмов в качестве индикатора более масштабной дизритмии, затрагивающей околосуточный периодизм, и одновременно как критерий дезадаптации организма в целом. Вместе с тем учёт индекса депрессивности даёт основание считать, что экспериментальному артриту сопутствуют негативные сдвиги в аффективной сфере, что совпадает с результатами клинических наблюдений над больными с ревматологическими заболеваниями [5].

6. Хетагурова, Л. Г. Хронопатология / Л. Г. Хетагурова, Л. Д. Салбиев, С. Д. Беляев [и др.]. – М.: Наука, 2004. – 355 с.
7. Щетинин, Е. В. Биоритмологический подход к оценке принудительного плавания как экспериментальной модели депрессивного состояния / Е. В. Щетинин, В. А. Батурин, Э. Б. Арушанян [и др.] // Журн. высш. нервн. деят. – 1989. – Т. 39, № 5. – С. 958–964.
8. De Cata, A. Rheumatoid arthritis and the biological clock / A. De Cata, D'Agruma, R. Targuini // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 10 – P. 687–695.
9. Durrington, H. J. The circadian clock and asthma / H. J. Durrington, S. N. Farrow, A. S. Loudon // *Thorax*. – 2014. – Vol. 69. – P. 90–92.
10. Irie, M. Lesions in the suprachiasmatic nuclei suppress inflammatory mediators in sensitized rats / M. Irie, Y. Endo // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 139. – P. 299–305.
11. Verceles, A. C. Circadian rhythm disruption in severe sepsis: the effect of ambient light on urinary 6-sulfatoxymelatonin secretion / A. C. Verceles, L. Sithan, M. Terri [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2012. – Vol. 38. – P. 804–810.
6. Khetagurova L. G., Salbiyev L. D., Belyaev S. D. *Khronopatologiya*. M.: «Nauka»; 2004. 355 p.
7. Shchetinin E. V., Baturin V. A., Arushanyan E. B. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti*. – *Journal of Higher Nervous Activity*. 1989;39(5):958-964.
8. De Cata, A., D'Agruma, Targuini R. *Expert. Rev. Clin. Immunol.* 2014;10:687-695.
9. Durrington H. J., Farrow S. N., Loudon A. S. *Thorax*. 2014;69:90-92.
10. Irie M., Endo Y. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2006;139:299-305.
11. Verceles A. C., Sithan L., Terri M. *Intensive Care Med.* 2012;38:804-810.