

Анксиолитическая активность афобазола в условиях гипокинезии у крыс с высокой и низкой двигательной активностью

М.Г.Баласанян

ЕрГМУ им.М.Гераци, кафедра фармакологии

375025 Ереван, ул.Корюна,2

Ключевые слова: гипокинезия, афобазол, диазепам, тревожность, анксиолитическая активность

Исследованиями, проведенными коллективом кафедры фармакологии ЕрГМУ, показано, что в условиях гипокинезии, вызванной ограничением двигательной активности крыс продолжительностью 15–90 суток, обнаружены глубокие нарушения кровоснабжения мозга [1,2], биохимические сдвиги в тонких механизмах функционирования мозговой ткани [6,7], патогистологические изменения в тканях мозга и его сосудов, характерные для ишемических процессов [5]. При этом наряду с понижением скорости мозгового кровотока, нарушениями метаболизма и структуры мозга, в условиях гипокинезии происходит также и изменение поведенческих реакций животных, в том числе и развитие тревожности [12].

С целью фармакологической коррекции анксиогенности, наблюдаемой в условиях гипокинезии, нами были исследованы эффекты нового анксиолитика – афобазола на поведение крыс в сравнении с эффектами диазепама в тех же условиях.

Афобазол (2-[2-(морфолино)этилтио]-5-этоксibenзимидазола дигидрохлорид) – селективный анксиолитик, синтезированный и разработанный в НИИ фармакологии РАМН, оказывающий влияние на животных с определенным генетически детерминированным фенотипом эмоционально стрессовой реакции (ЭСР). В широком диапазоне доз афобазол проявляет анксиолитическое действие на экспериментальных животных с «пассивным» фенотипом ЭСР и, в отличие от бензодиазепинов, не вызывает седативного эффекта у животных с «активным» фенотипом ЭСР. В экспериментальных исследованиях показано, что афобазол, не являясь агонистом бензодиазепиновых рецепторов, препятствует развитию мембранозависимых изменений в ГАМК-бензодиазепиновом рецепторном комплексе, наблюдаемых при формировании ЭСР и приводящих к снижению доступности бензодиазепинового рецепторного участка для лиганда [11]. Результаты клинического изучения препарата подтвердили наличие у него анксиолитического действия с активирующим компонентом при отсутствии седативного и миорелаксантного эффектов [8]. Как известно, анксиосе-

лективность характерна и для бензодиазепинов: бензодиазепиновые транквилизаторы оказывают анксиолитический эффект с активирующим компонентом у животных с низкой двигательной активностью, в то время как животные с высокой двигательной активностью отвечают дозозависимой седацией [17].

В настоящей работе приведены результаты исследования особенностей развития тревожности у животных с низкой и высокой двигательной активностью в условиях гипокинезии, вызванной ограничением двигательной активности и под влиянием указанных препаратов.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 82 беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария в клетках по 6 особей в каждой в течение не менее двух недель до начала эксперимента, на стандартной диете при свободном доступе к воде. Экспериментальное моделирование гиподинамии крыс проводилось методом, разработанным в Институте медико-биологических проблем РФ [13]. Анксиолитическая активность препаратов исследована в тесте приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) [19]. Разделение крыс на высокоактивных (ВА) и низкоактивных (НА) проводилось с применением теста «Открытое поле» (ОП) [20].

Препараты вводились внутривентриально в дозе 1 мг/кг по 0,2 мл на 100 г веса животного. Афобазол вводили в физиологическом растворе, диазепам растворяли после предварительного эмульгирования с несколькими каплями Твин-80. Контрольную группу составили интактные животные, которым вводился физраствор.

Статистическая обработка полученных данных проводилась методом однофакторного дисперсионного анализа по ANOVA [14]. Достоверность полученных данных оценивалась по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Данные, представленные на рис.1, свидетельствуют, что при ограничении двигательной активности у крыс в условиях избранной модели отмечается развитие тревожности. Статистический анализ этих данных говорит о выраженном влиянии гипокинезии на основные показатели поведения: на 15-е сутки гипокинезии статистически достоверно уменьшалось время пребывания экспериментальных животных в центре лабиринта [$F_{(1,25)} = 86,89$ ($P < 0,01$)]; одновременно снижалось общее число заходов их в рукава ПКЛ [$F_{(1,25)} = 77,9$ ($P < 0,01$)], почти неизменным оставалось поведение, характеризуемое процентом заходов в открытые рукава лабиринта [$F_{(1,25)} = 0,41$ ($P > 0,05$)]. Несмотря на понижение времени пребывания животных в открытых рукавах лабиринта [$F_{(1,25)} = 4,87$ ($P > 0,05$)], этот показатель отличается большим разбросом в диапазоне полученных данных.

Дисперсионный анализ эффектов афобазола на поведение крыс подтвердил выраженный характер фармакологического действия препарата в условиях ограничения двигательной активности животных: введение препарата в дозе 1 мг/кг статистически досто-

верно повышало время пребывания животных в открытых рукавах [$F_{(1,19)} = 17,37$ ($P < 0,01$)], общее число заходов в рукава [$F_{(1,21)} = 40,90$ ($P < 0,05$)] и процент заходов в открытые рукава лабиринта [$F_{(1,21)} = 8,33$ ($P < 0,05$)]. Следует отметить, что время задержки животных в центральной площадке лабиринта характеризовалось тенденцией в сторону увеличения, однако этот показатель не достигал статистически значимого уровня [$F_{(1,21)} = 2,85$ ($P > 0,05$)].

При сравнении анксиолитического действия афобазола с эффектами диазепама в условиях ограничения двигательной активности был продемонстрирован сходный статистически достоверный характер изменения всех параметров поведения: после введения диазепама наблюдается статистически значимое увеличение времени, проведенного животными в открытых рукавах лабиринта [$F_{(1,19)} = 27,62$ ($P > 0,05$)] и общего числа заходов в рукава [$F_{(1,19)} = 47,91$ ($P < 0,05$)] при одновременном увеличении времени задержки в центре лабиринта [$F_{(1,19)} = 5,29$ ($P > 0,05$)] и процента заходов в открытые рукава [$F_{(1,19)} = 8,87$ ($P > 0,05$)].

Таким образом, исследование процесса развития тревожности в условиях ограничения двигательной активности крыс свидетельствует, что гипокинезия продолжительностью 15 суток способствует развитию

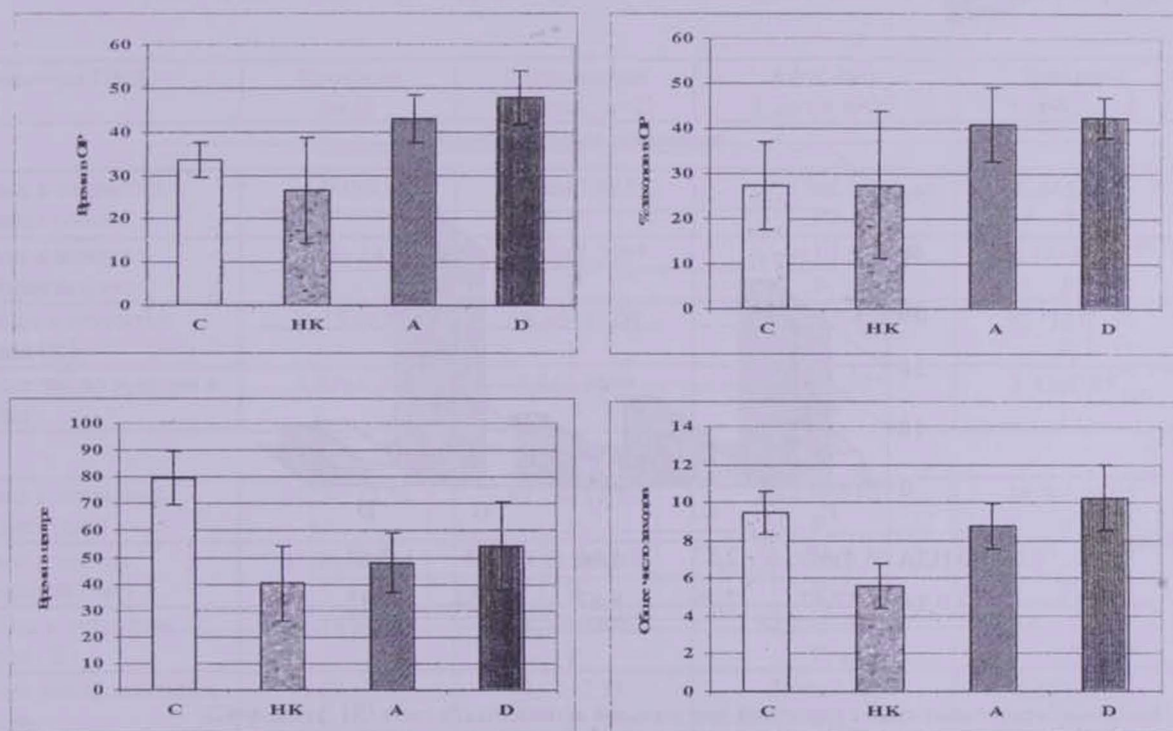


Рис.1. Влияние афобазола и диазепама на поведение крыс в тесте ПКЛ ($M \pm m$, $n=20$).
Обозначения: С – контроль; НК – гипокинезия; А – афобазол; Д – диазепам.

анксиогенного эффекта, который может быть устранен введением афобазола, анксиолитический эффект которого в данных условиях несколько уступает диазепаму.

Однако, как видно из приведенных результатов, изменения, наблюдаемые в поведении животных в условиях гипокинезии и на фоне введения исследуемых препаратов, отличаются большим разбросом в диапазоне полученных данных. Предположение о том, что подобный разброс, вероятно, связан с тем, что животные с различной двигательной активностью неодинаково реагируют на ограничение двигательной активности, послужило основой для исследования особенностей в развитии тревожности у ВА и НА животных в ответ на гипокинезию и введение исследуемых анксиолитиков в условиях ограничения двигательной активности.

В наших экспериментах для разделения животных на особей с высокой и низкой двигательной активностью в тесте ОП в качестве основного параметра поведения был использован уровень общей двигательной активности животных (рис.2), что позволило выбрать из гетерозиготной популяции крыс (127 животных) группы особей с неодинаковым фенотипом ЭСР: ВА (29 крыс), которые характеризовались высоким уровнем как периферической, так и центральной и вертикальной активности и относительно низким уровнем дефекаций, общая двигательная активность

которых оказалась выше 30; НА (33 крысы), которые характеризовались низким уровнем периферической, центральной и вертикальной активности и высоким уровнем дефекаций, общая двигательная активность которых была ниже 10.

Исследование тревожности у крыс после их типирования в ОП полностью подтвердило предположение относительно возможных различий в анксиогенном воздействии гипокинезии у животных с различным фенотипом ЭСР: к ограничению двигательной активности более чувствительными оказались НА животные.

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют, что к исследуемому сроку гипокинезии у этих крыс отмечается выраженное развитие тревожности, проявляющееся изменением основных параметров, характеризующих поведение животных в ПКЛ: времени пребывания в открытых рукавах – $F_{(1;26)} = 27,95$ ($P < 0,01$); времени задержки на центральной площадке лабиринта – $F_{(1;26)} = 21,12$ ($P < 0,01$); общего числа заходов – $F_{(1;26)} = 12,43$ ($P < 0,01$). Для всех указанных параметров поведения, индуцированных ограничением двигательной активности крыс сроком 15 суток, было характерно статистически достоверное уменьшение по сравнению с контрольным уровнем. Статистической значимости не достигали лишь изменения в поведении, характеризуемом процентом заходов в открытые рукава, – $F_{(1;26)} = 3,40$ ($P > 0,05$).

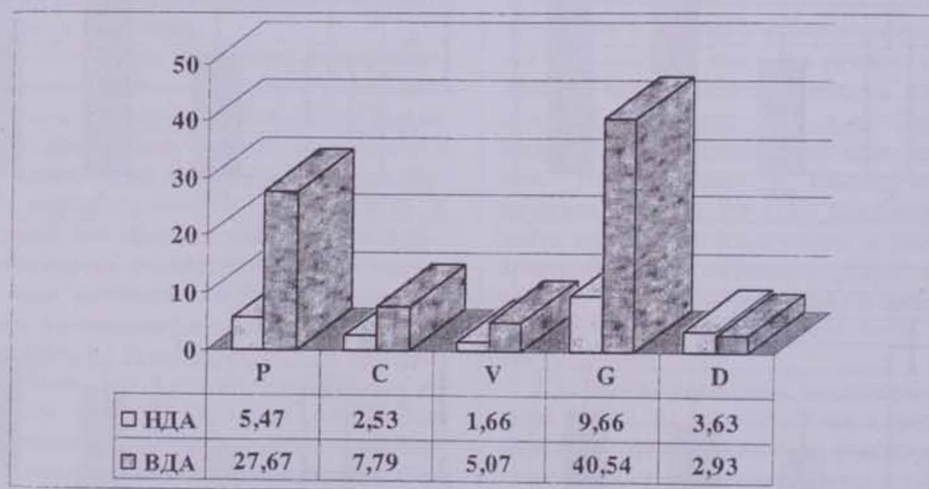


Рис. 2. Поведение беспородных крыс с различной двигательной активностью в тесте ОП ($M \pm m$, $n=62$).

Обозначения: P – периферическая активность; C – центральная активность; V – вертикальная активность; G – общая двигательная активность; D – число дефекаций; НДА – животные с низкой двигательной активностью; ВДА – животные с высокой двигательной активностью.

Как видно, эффекты как афобазола, так и диазепам на НА животных по большинству оцениваемых в данной модели показателей поведения намного выражены. Афобазол в дозе 1 мг/кг приводит к увеличению времени пребывания животных в центре лабиринта более чем в три раза – $F_{(1;28)} = 83,9$ ($P < 0,01$); довольно выражено и статистически достоверно повышается и процент заходов в открытые рукава – $F_{(1;28)} = 25,54$ ($P < 0,01$). Изменения указанных параметров поведения сопровождаются выраженным увеличением продолжительности пребывания животных на центральной площадке – $F_{(1;28)} = 37,95$ ($P < 0,01$) и повышением общего числа заходов в рукава лабиринта – $F_{(1;28)} = 59,89$ ($P < 0,05$).

Использование диазепама при изучении поведения НА крыс выявило аналогичное с афобазолом, однако менее выраженное, повышение времени пребывания их в открытых рукавах лабиринта – $F_{(1;27)} = 45,84$ ($P < 0,01$); процента заходов в открытые рукава – $F_{(1;27)} = 10,96$ ($P < 0,01$) и общего числа заходов – $F_{(1;27)} = 8,96$ ($P < 0,01$). В использованной дозе препарата было зафиксировано значительное увеличение времени за-

держки животных в центре лабиринта – $F_{(1;27)} = 36,47$ ($P < 0,01$).

При оценке поведения ВА животных в ответ на ограничение двигательной активности было получено еще одно доказательство относительно различий в поведении животных с неодинаковой двигательной активностью в ответ на стрессогенное воздействие. Из данных таблицы следует, что к 15-м суткам гипокинезии ни один из параметров поведения ВА животных в ПКЛ не зависел от фактора ограничения двигательной активности: время в открытых рукавах – $F_{1;26} = 2,87$ ($P > 0,05$); время задержки на центральной площадке лабиринта – $F_{1;26} = 4,76$ ($P > 0,05$); общее число заходов – $F_{1;26} = 4,68$ ($P > 0,05$) и процент заходов в открытые рукава лабиринта – $F_{1;26} = 0,04$ ($P > 0,05$).

При оценке эффектов исследуемых препаратов на поведение ВА крыс в тесте ПКЛ также оказалось, что значения параметров поведения этих животных после введения как афобазола, так и диазепама отличались от исходных показателей незначительно. Как видно, применение афобазола при изучении поведения ВА животных не выявило влияния данного препарата на

Таблица

Поведение крыс с низкой и высокой двигательной активностью в тесте ПКЛ в условиях 15-дневной гипокинезии на фоне введения афобазола и диазепама

Параметры ПКЛ	Контроль n=25	Гипокинезия 15 суток; n=22	Афобазол 1 мг/кг; n=12	Диазепам 1 мг/кг; n=9
Низкоактивные животные				
Время в открытых рукавах (сек)	25,00±6,81	10,66±7,98** P	37,67±8,16** P ₁	26,64±3,98** P ₁
Время в центре лабиринта (сек)	43,66±14,57	24,33±7,29** P	44,8±10,60** P ₁	50,71±15,17** P ₁
Заходы в открытые рукава (%)	24,15±9,33	16,66±11,09 P	37,44±11,42** P ₁	30,71±11,76* P ₁ *
Общее число заходов в рукава	5,87±1,30	3,8±1,86** P	8,73±1,62* P ₁ *	5,43±0,85** P ₁
Высокоактивные животные				
Время в открытых рукавах (сек)	49,29±12,54	42,14±11,52 P	44,43±8,10* P ₁	44,79±11,51 P ₁
Время в центре лабиринта (сек)	63,94±12,74	53,21±13,87 P	53,00±13,69 P ₁	62,71±10,67* P ₁ *
Заходы в открытые рукава (%)	35,18±4,83	34,02±15,02 P	32,23±10,90 P ₁	28,53±6,07 P ₁
Общее число заходов в рукава	11,07±2,62	9,14±2,51 P	9,64±1,82 P ₁	8,07±1,73 P ₁

Обозначения: P – по сравнению с контролем; P₁ – по сравнению с гипокинезией;

* P, P₁ < 0,05; ** P, P₁ < 0,01.

измеряемые параметры: время пребывания животных в открытых рукавах – $F_{1,26} = 3,98$ ($P > 0,05$); время задержки в центре лабиринта – $F_{1,26} = 0,0085$ ($P > 0,05$); общее число заходов – $F_{1,26} = 4,18$ ($P > 0,05$) и процент заходов в открытые рукава лабиринта – $F_{1,26} = 2,2$ ($P > 0,05$).

При применении диазепама у ВА животных в условиях гипокинезии только показатель времени пребывания на центральной площадке оказался чувствительным к действию препарата – $F_{1,26} = 5,18$ ($P > 0,05$). Для остальных параметров действия препарата не было выявлено: времени пребывания в открытых рукавах – $F_{1,26} = 3,24$ ($P > 0,05$), общего числа заходов – $F_{1,26} = 0,11$ ($P > 0,05$), а также процента заходов в открытые рукава – $F_{1,26} = 0,44$ ($P > 0,05$).

Анализ представленных результатов позволяет заключить, что гипокинезия у животных с различной двигательной активностью приводит к неоднозначным изменениям поведения, что, в частности, проявляется различной реакцией их на анксиогенное воздействие ограничения двигательной активности. При этом неодинакова и реакция этих животных на анксиолитическое действие препаратов: анксиолитическая активность афобазола на НА крыс проявляется сильнее, чем у диазепама, в то время как до типирования животных более выраженными были эффекты диазепама.

Зависимость качественного действия бензодиазепинов от фенотипа ЭСР доказана и в других исследо-

ваниях на гетерозиготных животных [3,16,18]. Так, показано [21], что у беспородных животных с высокой и низкой двигательной активностью, так же как и у имбредных животных с генетически детерминированной эмоционально-стрессовой реакцией при помещении в новую обстановку [15] подтверждаются хорошо известные клинические наблюдения относительно индивидуальных различий в фармакологических эффектах бензодиазепиновых транквилизаторов, включая анксиолитическое и гипноседативное действие [8–10]. Кроме того, Т.А. Воронина [4], разделив беспородных крыс по типу поведения в тесте «конфликтная ситуация» по числу наказуемых подходов к поилке на высоко- (возбудимые) и низко- (тормозные) активных животных, заключила, что влияние феназепама в значительной степени определяется «биологически-конституционным типом реакции». Наконец, разделение беспородных крыс на высоко- и низкоактивных в тесте ОП позволило установить, что бензодиазепины вызывают дозозависимую седацию у ВА крыс, активируя в низких дозах НА животных [22].

Таким образом, результаты наших исследований, а также данные литературы свидетельствуют, что фармакологическую коррекцию психоневрологических последствий гипокинезии необходимо проводить с учетом генетически детерминированного фенотипа ЭСР.

Поступила 07.04.03

Աֆորազոլի տագնապամարիչ ակտիվությունը բարձր և ցածր շարժողական ակտիվության առնետների մոտ սակավաշարժության պայմաններում

Մ.Գ.Բալասանյան

Ուսումնասիրված է տագնապամարիչ նոր դեղամիջոցի՝ աֆորազոլի ազդեցությունը առնետների վարքի վրա սակավաշարժության պայմաններում զարգացող տագնապի դեղաբանական համադրման նպատակով և համալրված դիագնոստիկ էֆեկտների հետ բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոսի քեստում:

Պարզվել է, որ սակավաշարժության տագնապածին ազդեցությունը տարբեր է հուզասթրեսային ռեակցիայի տարբեր ֆենոտիպով կենդանիների մոտ. տագնապի զարգացումը առավել արտահայտված է բաց դաշտի քեստում ցածր ընդհանուր շարժողական

ակտիվություն ցուցաբերող առնետների մոտ: Միանշանակ չէ մասնալ կենդանիների պատասխանը ուսումնասիրվող դեղամիջոցների ազդեցության նկատմամբ. քն աֆորազոլի, քն դիագնոստիկ տագնապամարիչ ազդեցությունը ավելի ցայտուն է ցածր շարժողական ակտիվությամբ կենդանիների մոտ:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ սակավաշարժության հոգեհարկային հետևանքների դեղաբանական համադրման ժամանակ անհրաժեշտ է հաշվի առնել հուզասթրեսային ռեակցիայի ժառանգականորեն որոշված ֆենոտիպը:

The anxiolytic effects of afobazole in rats with low and high activity in conditions of hypokinesia

M.G. Balasanyan

With the purpose of pharmacological correction of hypokinesia-induced anxiety the effects of a new selective anxiolytic afobazole was investigated using elevated pluse maze test in rats subjected to hypokinesia, and compared to similar effects of diazepam. It was established, that the anxiogenic influence of hypokinesia on animals with unequal emotional stress reaction (ESR) phenotypes is different: hypokinesia-induced anxiety is more expressed in

rats with low activity after open field test exposure. High and low activity rats differed by their response to investigated anxiolytics: the anxiolytic activity of both afobazole and diazepam is more expressed in animals with low general locomotor activity. It was concluded that the genetically determined type of ESR should be evaluated in the pharmacological correction of neuropsychic consequences of hypokinesia.

Литература

1. Аюбян В.П. Гипокинезия и мозговое кровообращение. М., 1999, с. 120.
2. Балян Л.С., Канаян А.С. Медицинская наука Армении, 2002, т. XLII, 1, с. 14.
3. Вальдман Е.А., Козловская М.М., Медведев Д.С. Фармакологическая регуляция эмоционального стресса. М., 1979.
4. Воронина Т.А., Вихляев Ю.И., Неробкова Л.Н. и др. Феназепам, Киев, 1982, с. 87.
5. Кочарян А.Ж. Автореф. дисс. канд. Ереван, 1994.
6. Манукян А.А. Влияние ранней гипокинезии на процессы перекисного окисления липидов. International Journal on Immunorehabilitation, 1999, 12, с. 75.
7. Мелконян К.В. Материалы II Всероссийской конф. «Гипоксия, механизмы, адаптация, коррекция». 1999, с. 48.
8. Незнамов Г.Г., Сюняков С.А., Чумаков Д.В. и др. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2001, т.64, 2, с. 15.
9. Середенин С.Б., Бадиситов Б.А., Незнамов Г.Г. и др. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2001а, т.64, 2, с. 3.
10. Середенин С.Б., Бадиситов Б.А., Незнамов Г.Г. и др. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2001в, т.64, 1, с. 3.
11. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Незнамов Г.Г. и др. Вестник РАМН, 1998, 11, с. 3.
12. Степанян З.В. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Ереван, 2000.
13. Федоров И.В. В кн.: Обмен веществ при гиподинамии. М., 1982, с. 17.
14. Analyzing ANOVA Designs. Biometrics Information Handbook 5, 1995, 07, p. 9.
15. Broadhurst P.L. Behav. Genet., 1975, 5, p. 299.
16. Clement Y., Catalaayud F., Belzung C. Brain Research Bulletin, 2002, 57, 1, p. 57.
17. Lepicard E.M., Joubert C., Hagneau I., Perez-Diaz F. et al. Pharmacology, Biochemistry, and Behavior, 2000b, 67, p. 739.
18. Lepicard E.M., Venault P., Perez-Diaz F. et al. Behav. Brain Res., 2000a, 117, p. 185.
19. Pellow S., Chopin P., File S.E., M. Briley. J. of Neuroscience Methods, 1985, 14, p. 149.
20. Seredenin S.B., Viglinskaya I.V., Kashevskaya O.P. The pharmacogenetic approach to the evaluation of the effect of tranquillisers. In: "Biological Basis of Individual Sensitivity to Psychotropic Drugs". York, 1994, p. 47.
21. Seredenin S.B., Blednov Yu.A., Badishtov B.F. et al. Drug dependence and emotional behavior: Neurophysiol. and Neurochem., A.V.Valdman (ed.) York, 1994a, p. 47.
22. Seredenin S.B., Blednov Yu.A., Badishtov B.F. et al. Drug dependence and emotional behavior: Neurophysiol. and Neurochem., A.V.Valdman (ed.), York, 1994a, p. 25.