

УДК 612:615.214:616.89(043.3)

С.А. Богданова, Г.А. Фролова

ОЦЕНКА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БЕЛЫХ КРЫС К СТРЕССОВОМУ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Донецкий национальный университет (г. Донецк)

Данная работа выполнена согласно плана научно-исследовательской работы кафедры физиологии человека и животных Донецкого национального университета по теме «Роль біологічно активних речовин в регуляції фізіологічних функцій організму в нормі та при патологічних станах», державний реєстраційний номер 0109U008621.

Вступление. Проблема возрастных заболеваний как нельзя остро стоит в наше время информационных технологий. Особенно ощущается нехватка данных о механизмах адаптации к стрессу у различных возрастных групп. Так известно, что с возрастом увеличивается число больных такими заболеваниями как шизофрения, болезнь Паркинсона и т.д. Согласно наблюдениям многих авторов, паркинсонизм часто сопровождается депрессией [6]. В то же время фармакологические препараты, которые эффективно действуют на одну группу людей, оказываются бездейственными по отношению к другой [2, 10]. Физиологи, нейроэтологи мира пытаются определить какие физиологические особенности лежат в основе таких различий. Для достижения этих целей они используют проведение экспериментальных исследований на животных как наиболее информативном материале.

Известно, что одной из основных причин развития неврогенной или реактивной депрессии является эмоциональный стресс и соответственно комплекс процессов, связанных с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, увеличением секреции глюкокортикоидов, их связыванием со специфическими рецепторами мембран нервных клеток и реализацией быстрых эффектов, изменяющих возбудимость нейронов и эффективность синаптической передачи, а также отсроченных эффектов, связанных с нуклеарным действием глюкокортикоидов на экспрессию генов и биосинтез определенных белков, т.е. на процессы синаптогенеза нейронов [1, 2]. С другой стороны есть предположение, что неадекватное патологическое реагирование организма на изменения внешней среды обусловлено генетическими нарушениями в нейротрансмиссивном функционировании [3]. Впервые Mettler высказал

предположение, что характерные для шизофрении нарушения восприятия и мышления возникают в результате функциональной недостаточности хвостатого ядра, которое перестает выполнять роль фильтра, регулирующего приток сенсорной информации в отделы неокортекса, формирующие нервные модели воспринимаемых процессов и событий [4]. Поскольку неостриатум получает достаточно плотную дофамин- и серотонинергическую иннервацию, было установлено, что фармакологические вещества, которые усиливают пресинаптическое высвобождение дофамина (амфетамин) или имитируют постсинаптические эффекты серотонина (диэтиламид лизергиновой кислоты – LSD) в указанной структуре, способны вызвать нарушения восприятия и мышления, характерные для галлюцинаторно-параноидной шизофрении; предшественник в процессе биосинтеза дофамина – L-ДОФА способен при системном введении обострять психотические симптомы, а блокаторы дофаминовых и серотониновых рецепторов, нейролептики, обладают клиническим антипсихотическим действием и устраняют поведенческие эффекты амфетамина и LSD у экспериментальных животных [4, 14]

К настоящему времени наиболее разработана моноаминергическая теория патогенеза депрессий [5, 7]. Следует отметить, что нейромедиаторные системы мозга находятся в сложном динамическом взаимодействии. Ни одно психотропное средство, в том числе и антидепрессанты, не оказывает избирательного действия на определенное нейробиологическое звено, что затрудняет понимание нейробиологических основ депрессивных состояний.

Цель исследования. Установить возрастные особенности чувствительности к эмоциональному стрессу и действию антидепрессанта, стимулирующего активность дофаминергической системы, с учетом индивидуально-типологических особенностей.

В соответствии с целью, были поставлены следующие задачи: 1) используя показатели поведения в ряде общепринятых тестов провести психогенетический анализ в двух популяциях белых крыс в возрасте 6 (зрелые)

и 12 (старые) месяцев; 2) сопоставить параметры поведения животных разных возрастных групп, подвергшихся эмоциональному стрессу; 3) сопоставить параметры поведения стрессированных животных разных возрастных групп в ответ на фармакологическое воздействие на дофаминергическую систему мозга.

Объект и методы исследования. Эксперимент был выполнен на 60 беспородных половозрелых лабораторных белых крысах-самцах в возрасте 6 (масса 180 ± 7 г.) и 12 (масса 350 ± 12 г.) месяцев, содержащихся в виварии в стандартных условиях. Уровни депрессивности и поведенческой активности определялись с помощью стандартных методик «вынужденное плавание» [8, 12, 15] (тест Порсолта) (ВП).

Состояние эмоционального стресса (иммобилизация) моделировалось путем помещения животного на 3 часа в течение 5 дней в индивидуальные клетки-пеналы [13]. На 5-е сутки животные проходили повторное тестирование. Активация дофаминергической трансмиссии производилась блокированием пресинаптических центральных D_2 -рецепторов мезолимбической и мезокортикальной систем головного мозга 3-х дневным в/бр введением эглонила (сульпирида) в дозе 1 мг/кг [9, 11]. По истечении трех дней крыс тестировали повторно.

Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью общепринятых методов математической статистики. Разделение исследуемых популяции животных на группы с различными индивидуально-типологическими особенностями проводилось согласно правилу $\pm 0,67\delta$. Для оценки достоверности различий между контрольными и опытными значениями, а так между животными разных возрастов использовался

U-критерий Манна-Уитни. С помощью корреляционного анализа устанавливали наличие связей между определяемыми поведенческими показателями животных. Математическая обработка материала проводилась с помощью пакета программ STATISTIKA 6.0 и Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. На диаграмме (рис. 1) приведено распределение животных на три подгруппы с разными уровнями депрессивности (высоким, средним и низким) с учетом степени выраженности суммарного времени иммобилизации (ВрИм) в тесте ВП.

Популяция 6-ти месячных животных разделилась на приблизительно равные по количеству особей подгруппы (в среднем по 9-11 особей в каждой подгруппе, рис. 1, А). В группе годовалых крыс большая часть (18 особей) была отнесена к подгруппе со средним уровнем депрессивности (УД) (рис. 1, Б).

При изучении влияния иммобилизации на подгруппы крыс возрастом 6 месяцев было обнаружено разнонаправленное действие этого стрессового фактора на маркерный показатель – суммарное время иммобилизации. Так, в подгруппе с низким УД значение ВрИм (рис. 2, А) увеличилось относительно исходных данных на $43,2 \pm 3,41\%$ ($p_u < 0,05$), в группах с высоким и средним УД этот показатель сократился на $70,0 \pm 6,83\%$ ($p_u < 0,01$) и $25,7 \pm 1,31\%$ ($p_u < 0,05$) соответственно. Однако обращает на себя внимание увеличение (в среднем на $28,9-43,0\%$, $p_u < 0,05$) числа коротких (до 6 секунд) замираний в подгруппах с исходно крайней выраженностью уровня депрессивности. Кроме того, установлено угнетение эмоциональности во всех исходных подгруппах 6-месячных крыс, на что указывает сокращение количества фекальных болюсов у этих животных в среднем в 2,6-4,4 раз ($p_u < 0,05$).

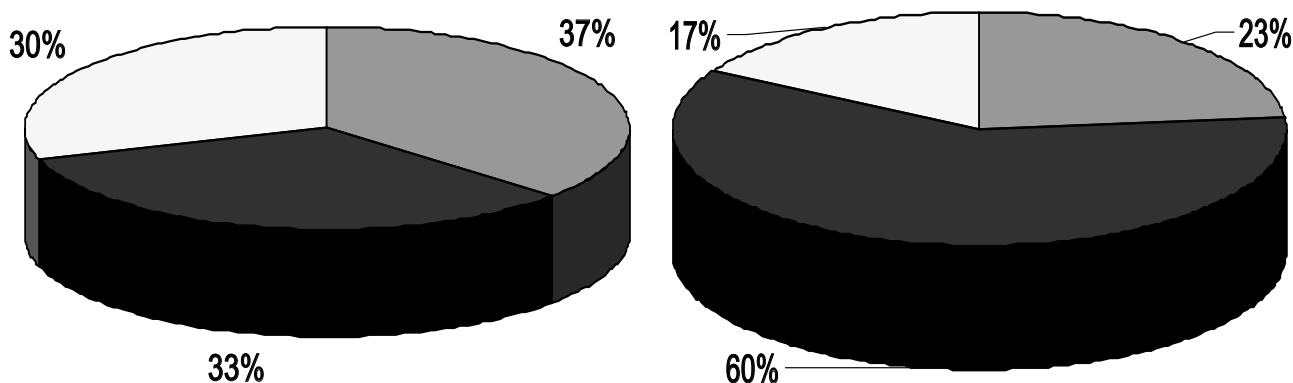


Рис. 1. Распределение животных на подгруппы с разным уровнем депрессивности ($n=60$). УД – уровень депрессивности, А – 6-ти месячные животные, Б – 12-ти месячные.

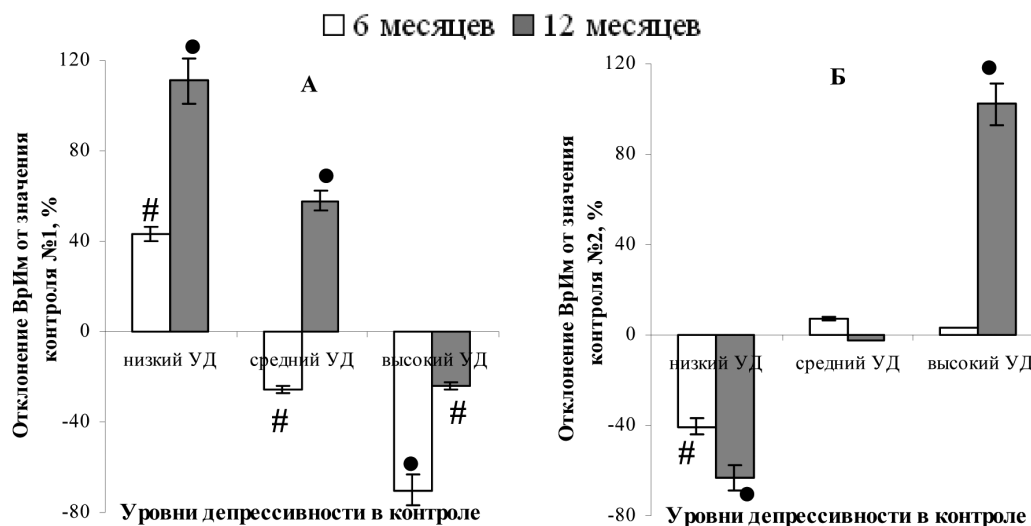


Рис. 2. Изменения суммарного времени иммобилизации относительно значений контрольного и «стрессового» тестирования. А – за 0 приняты результаты контрольного тестирования (контроль №1), Б – за 0 приняты результаты тестирования после воздействия иммобилизации (контроль №2).

Примечание: # и • – разница статистически значима при $p_u < 0,05$ и $p_u < 0,01$ соответственно.

В результате воздействия эглонила (сульпирида) – препарата, обладающего умеренным антидепрессивным эффектом – выявлено, что только подгруппа низкодепрессивных животных оказалась чувствительной к действию данного препарата: ВрИм у этих животных сократилось на $40,4 \pm 3,48\%$ ($p_u < 0,05$) относительно значений, полученных на фоне

действия иммобилизационного стресса (рис. 2, Б).

Интересным оказался тот факт, что количество коротких периодов замираний сократилось во всех подгруппах в среднем на $18,9-42,3\%$ ($p_u < 0,05$). Абсолютные значения поведенческих характеристик в тесте вынужденного плавания представлены в таблице 1.

Таблица 1

Абсолютные значения показателей у молодых крыс (6 месяцев, $n=30$)

Группы	Исследование	$t < 6$	$6 < t < 18$	$18 < t < 36$	$t > 36$	общее ВрИм, сек	Дефекации
низкий УД ($n=11$)	Контроль	$15,2 \pm 0,89^{\#}$	$0,3 \pm 0,09^{\#}$	$0,0 \pm 0,00$	$0,0 \pm 0,00$	$28,0 \pm 1,50^{\#}$	$3,5 \pm 0,29^{\#}$
	Стресс	$19,6 \pm 1,01^*$	$0,7 \pm 0,27^*$	$0,0 \pm 0,00$	$0,0 \pm 0,00$	$40,1 \pm 4,64^*$	$0,8 \pm 0,16^{**}$
	Эглонил	$11,3 \pm 1,13^{**}$	$0,3 \pm 0,17^{**}$	$0,1 \pm 0,06$	$0,1 \pm 0,06$	$23,9 \pm 2,83^{**}$	$2,7 \pm 0,32^{**}$
средний УД ($n=10$)	Контроль	$19,5 \pm 0,69$	$0,9 \pm 0,18$	$0,1 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$	$52,2 \pm 2,06$	$4,7 \pm 0,70$
	Стресс	$18,5 \pm 1,49$	$0,9 \pm 0,18$	$0,1 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$	$38,8 \pm 4,58^*$	$1,8 \pm 0,28^*$
	Эглонил	$15,0 \pm 1,23^*$	$0,7 \pm 0,17$	$0,0 \pm 0,00$	$0,1 \pm 0,06$	$41,6 \pm 6,59$	$1,7 \pm 0,33$
высокий УД ($n=9$)	Контроль	$14,2 \pm 1,59^{\#}$	$3,9 \pm 0,31^{\#}$	$1,4 \pm 0,13^{\#}$	$0,3 \pm 0,09^{\#}$	$119,3 \pm 2,38^{\#}$	$5,1 \pm 0,70^{\#}$
	Стресс	$20,3 \pm 1,14^*$	$0,6 \pm 0,13^*$	$0,1 \pm 0,06^*$	$0,0 \pm 0,00^*$	$35,8 \pm 4,12^{\bullet}$	$1,8 \pm 0,29^*$
	Эглонил	$14,1 \pm 1,12^*$	$0,9 \pm 0,25$	$0,1 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$	$36,9 \pm 4,13$	$0,8 \pm 0,08^{**}$

Примечание: *, • – отличия достоверны ($p_u < 0,05$) и ($p_u < 0,01$) соответственно при сравнении контроль-стресс и стресс-эглонил; #, ■ – отличия достоверны ($p_u < 0,05$) и ($p_u < 0,01$) соответственно, при сравнении показателей условного контроля (средний уровень депрессивности) с группами низкого и высокого уровней депрессивности.

Старые крысы (12-месячные) оказались более чувствительными к действию эмоционального стресса. Так, в подгруппах с низким и средним УД, выявлено увеличение ВрИм на $110,8 \pm 12,75\%$ ($p_u < 0,05$) и $57,9 \pm 7,12\%$ ($p_u < 0,05$) соответственно. Положительная направленность изменения количества коротких пе-

риодов замираний (их увеличение в среднем на $28,1-78,1\%$, $p_u < 0,05$) наблюдалась во всех исходных подгруппах 12-ти месячных крыс. Относительно уровня эмоциональности можно отметить угнетение данного психоэмоционального показателя во всех подгруппах контроля ($p_u < 0,05$).

Таблица 2

Абсолютные значения показателей поведения у старых крыс (12 месяцев, n=30)

Группы	Исследование	t<6	6<t<18	18<t<36	t>36	общее ВрИм, сек	Дефекации
низкий УД (n=7)	Контроль	7,3±0,54 [■]	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00	12±0,74 [■]	3,9±0,44
	Стресс	13,0±1,06 ^{**}	0,4±0,20 [*]	0,0±0,00	0,0±0,00	25,3±3,07 [●]	2,7±0,65 [*]
	Эглонила	12,6±1,56	0,6±0,21	0,0±0,00	0,0±0,00	9,3±4,26 [#]	2,6±0,38
средний УД (n=18)	Контроль	12,1±0,75	0,2±0,08	0,0±0,00	0,0±0,00	24,2±1,26	4,1±0,52
	Стресс	15,5±1,48 [*]	1,1±0,38	0,1±0,06	0,0±0,00	38,2±2,97 [●]	3,0±0,38
	Эглонила	13,8±0,81	0,8±0,24	0,1±0,06	0,1±0,04	37,3±3,58	2,4±0,32
высокий УД (n=5)	Контроль	9,6±0,28 [#]	3,0±0,29 [■]	0,2±0,08	0,4±0,16 [#]	61,0±2,76 [■]	4,2±0,24
	Стресс	13,4±3,44 ^{**}	3,0±0,55 [#]	0,2±0,20	0,0±0,00 [*]	46,5±5,42 ^{**}	1,8±0,72 ^{**}
	Эглонила	18,6±1,12 ^{**}	1,6±0,24 ^{**}	0,8±0,20 ^{**}	0,4±0,10 ^{**}	94,0±11,72 [●]	2,2±0,35

Примечание: *, ● – отличия достоверны ($p_u < 0,05$) и ($p_u < 0,01$) соответственно при сравнении контроль-стресс и стресс-эглонила; #, ■ – отличия достоверны ($p_u < 0,05$) и ($p_u < 0,01$) соответственно, при сравнении показателей условного контроля (средний уровень депрессивности) с группами низкого и высокого уровней депрессивности.

Действие эглонила на годовалых крыс выявило противоположные эффекты на подгруппы животных с исходно крайними УД. Так, низкодепрессивные в контроле крысы оказались чувствительными к действию умеренного антидепрессанта (ВрИм у них сократилось на 63,2±5,27% ($p_u < 0,05$), что по направленности совпало с результатами, полученными на 6-ти месячных животных для данной подгруппы). А у исходно высокодепрессивных крыс выявлен значительный рост маркерного показателя – на 102,2±9,27% ($p_u < 0,01$) относительно значений, полученных на фоне действия стресса (рис. 2, контроль №2 или Б).

Таким образом, можно утверждать, увеличение дофаминергической трансмиссии вызывает депрессивно-подобное состояние у высокодепрессивных животных. Остальные абсолютные значения поведенческих показателей в тесте ВП представлены в таблице 2.

Таким образом, установлено, что наиболее чувствительной к действию антидепрессанта, увеличивающего дофаминергическую трансмиссию, является подгруппа животных с низким уровнем депрессивности как в группе зрелых, так и в группе старых животных. Согласно этим данным, подтверждается гипотеза о взаимном влиянии концентраций нейромедиаторов [10]. При воздействии одним и тем же фармакологическим препаратом, степень снижения продукции аденилатциклазы и увеличение цАМФ будет зависеть от порога чувствительности гипоталамуса к действию этого препарата (сульпирида). При этом он косвенно будет влиять на концентрацию катехоламинов, что в свою очередь приводит к изменениям поведенческих характеристик. Это может объяснить полученные результаты, когда часть животных после воздействия антидепрессанта показывает больший уровень депрессивности, так как

на фоне увеличения концентрации одного нейромедиатора, уменьшается концентрация другого, который также отвечает за поведенческие характеристики. Если в крови повышается концентрация дофамина, то он по механизму отрицательной обратной связи тормозит активность гипоталамуса, а значит, продукцию другого нейромедиатора – серотонина и норадреналина.

По нашему мнению, именно гипоталамические сдвиги, свойственные нормальному старению, делают адаптационную систему все хуже регулируемой, более инертной. Это означает, что гипоталамус хуже воспринимает регулирующие сигналы, становясь к ним менее чувствительным, что неизбежно приводит к нарушению закона постоянства внутренней среды.

Выводы. Установлено, что среди старых животных максимальное количество особей характеризуется средними значениями уровня депрессивности. 6-ти месячные животные распределяются по подгруппам с разными УД в практически одинаковых долях. Чувствительность к выбранным воздействиям у животных разного возраста и разного исходного уровня выраженности показателя депрессивности отличается. Так, наиболее чувствительными к действию стресса и наименее чувствительными к действию антидепрессанта являются годовалые животные. При установлении зависимости между исходным уровнем выраженности показателя депрессивности и результатом стрессового и фармакологического воздействия в обеих экспериментальных группах (зрелые и старые крысы) установлено, что чувствительными к воздействиям оказываются низкодепрессивные в контроле животные. Установлено, что увеличение дофаминергической трансмиссии на группу 12-ти месячных животных ин-

дуцировало развитие депрессивно-подобного состояния в подгруппе с исходно высоким уровнем депрессивности.

Перспективы дальнейших исследований. Результаты, представленные в данной статье, могут применяться для выявления наиболее эффективных препаратов при определенных психосоматических нарушениях. Открыв закономерности влияния одного и того же воздействия на различные группы животных, в будущем возможно прогнозирование направленности эффектов у людей. Поэтому в дальнейшем планируется изучение влияния препаратов другого механизма действия, а также сравнение их эффективности с изученными ранее, что в свою очередь позволит облегчить процесс фармакологической коррекции различных психических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авин А.И. Нарушение внутрикорковых взаимодействий при эндогенной депрессии / А.И. Авин // Журн. высш. нервн. деят. — 1992. — Т. 42, вып. 1. — С. 157-160.
2. Андрух П.Г. Этиология, нейрохимия и клиника современных форм тревожно-депрессивных расстройств / П.Г. Андрух // Мед. исследов. — 2001. — Т. 1, вып. 1. — С. 109-110.
3. Бархатова В.П. Нейротрансмиттеры и экстрапирамидная патология / В.П. Бархатова. — М.: Медицина, 1988.
4. Горизонты психофармакологии: попытки выхода за рамки моноаминергических гипотез / И.И. Абрамец // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. — 2006. — Т. 2, № 1-2. — С. 8-13.
5. Динамические изменения серотонинергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование / Д.Ф. Августинювич, О.В. Алексеев и др. // Усп. физиол. наук. — 2004. — Т. 35, № 4. — С. 19-40.
6. Дофаминергические механизмы мозга и депрессия / Э.Б. Арушанян // Журнал невропатологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. — 1987. Т. 87, Вып. 6. — С. 925-931.
7. Исмаилова Х.Ю. Индивидуальные особенности поведения (моноаминергические механизмы) / Х.Ю. Исмаилова, Т.М. Агаев, Т.П. Семенова. — Баку: Нурлан, 2007. — 229 с.
8. Калувев А.В. Стресс, тревожность и поведение: актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / А.В. Калувев. — К.: CSF, 1998. — 98 с.
9. Мосолов С.Н. Клиническое применение современных антидепрессантов / С.Н. Мосолов. — СПб.: Мед. информ. агентство, 1995. — 565 с.
10. Сравнительная оценка влияния галоперидола на организм молодых и старых крыс / Р.Х. Хафизьянова, А.А. Грязнов, И.М. Бурыкин, Э.Р. Галимуллин // Тезисы докл. межвуз. конф. мол. ученых. — СПб., 2003. — С. 23.
11. Судаков К.В. Экспериментальные подходы к индивидуальной медицине: зависимость эффектов фармакологического воздействия от характера поведения животных / К.В. Судаков, А.В. Котов, С.С. Перцов // Вестн. Уральской мед. академической науки. — 2004. — № 1. — С. 51-57.
12. Abel E.L. Behavioral effects of isatin on open field activity and immobility in the forced swim test in rats / E.L. Abel // Physiol. Behav. — 1995. — № 57. — P. 611-613.
13. Karakoc Y., Sibel Turhan L., Ejder Akgun Yildirim S., Murat Mengi L., Yurdakos Er., Barutcu B. Neuropeptide Y alters stress-induced changes in trace element concentrations of brain in chronically immobilized rats // The Jour. of Trace Elements in Exper. Med. — 2004. — Vol. 17, is. 4. — P. 283-290.
14. Mattysse S. Dopamine and pharmacology of schizophrenia: state of the evidence // J. Psychiat. Res. — 1974. — Vol. 11. — P. 107-113.
15. Porsolt R.D. Animal models of depression. Utility for transgenic research // Rev. Neurosci. — 2000. — № 11. — P. 53-59.

УДК 612:615.214:616.89(043.3)

ОЦІНКА ІНДИВІДУАЛЬНОЇ ЧУТЛИВОСТІ БІЛИХ ЩУРІВ ДО СТРЕСОВОГО ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОГО ВПЛИВІВ

Богданова С.О., Фролова Г.О.

Резюме. Вивчили вплив стресу (імобілізація) й антидепресанта (сульпірид) на тварин різного віку (6 та 12 місяців) в умовах тесту діряве поле. Виявили, що серед старих тварин максимальна кількість особин характеризується середніми значеннями рівня депресивності. Чутливість до обраних впливів у тварин різного віку та різного початкового рівня вираженості показника депресивності відрізняється. Найбільш чутливими до дії стресу і найменш чутливими до дії антидепресанта є однорічні тварини. Найбільш чутливими до різних впливів виявляються низькодепресивні у контролі тварини. Збільшення дофамінергічної трансмісії на групу 12-ти місячних тварин індукувати розвиток депресивно-подібного стану в підгрупі з початково високим рівнем депресивності.

Ключові слова: стрес, індекс депресивності, антидепресант, дофамінергічна трансмісія, індивідуальна чутливість.

UDC 612:615.214:616.89(043.3)

ESTIMATION of INDIVIDUAL SENSITIVITY of WHITE RATS to STRESSFUL and PHARMACOLOGICAL INFLUENCES

Bogdanova S.A., Frolova G.A.

Summary. Studied the influence of stress (immobilization) and antidepressant (sulpiride) in animals of different age (6 and 12 months) in a test holeboard. The research results show that among the old animals, the maximum number of individuals characterized by average values of the level of depression. Sensitivity to the selected effects in animals of different age and a different initial level of index depression differs. The most sensitive to action of stress and the least sensitive to action of an energizer are one-year-old animals. The most sensitive to various influences are low-depressive in the control animals. The increase dopaminergic transmission in the group of 12-month-old animals induced the development of depressive-like state in the subgroup with initially high levels of depression.

Key words: stress, index of depression, antidepressant, dopaminergic transmission, individual sensitivity.

Стаття надійшла 4.02.2010 р.