УДК 616.832-004.2-092.9:615.214.22:612.887

О. О. Нефьодов

Нейротропні ефекти антидепресантів за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

Ключові слова: біль, депресія, м'язовий тонус, розсіяний склероз, антидепресанти

Проблема розсіяного склерозу (РС) залишається актуальною в сучасній неврології. Одним з клінічних проявів хронічного запального та демієлінізуючого процесу при цьому захворюванні є порушення вищих мозкових функцій, яким до недавнього часу приділялася недостатня увага при аналізі неврологічного статусу та оцінці ефективності лікування.

Натепер більше половини хворих уже на початкових стадіях захворювання пред'являють скарги на стійкі порушення нейропсихологічних функцій (біль, інсомнія) і практично всі в тій чи іншій мірі мають психологічні проблеми (зменшення м'язової сили, дезадаптація та депресія) [1, 2]. При цьому депресія є досить частим супутником РС. До того ж більше половини пацієнтів з РС у різні періоди хвороби відчувають настільки серйозні симптоми депресії, що потребують медикаментозного лікування [3].

Хворі на РС зазвичай отримують коморбідне лікування, яке включає базову гормональну терапію (зокрема, метилпреднізолоном) та корекцію супутніх проблем – нейрогенного больового синдрому та депресії, яка потребує використання певного арсеналу лікарських засобів [4]. Сьогодні на фармацевтичному ринку України представлений ряд антидепресантів, серед яких вибір ефективного та безпечного препарату за умов РС з урахуванням базової фармакотерапії є актуальною задачею.

Мета дослідження – порівняльний аналіз впливу антидепресантів (амітриптилін, флуоксетин, триттико та пароксетин) на формування ноцицептивної відповіді, силу м'язового тонусу та антидепресивну дію в щурів на фоні експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ).

Матеріали та методи. Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Системна фармакологія неопіоїдних анальгетиків та засобів медикаментозного захисту мозку в умовах патологічних станів» (ДР № 0114U000935). Експеримент проведено на 56 білих безпородних щурах масою 180–230 г, яких утримували за стандартних умов віварію ДЗ «ДМА МОЗ України» [5]. Методом випадкової вибірки щурів було розподілено на 7 груп (n = 8): I – інтактні тварини (пасивний контроль), II – активний контроль (ЕАЕ); III – базовий контроль (ЕАЕ + метилпреднізолон (М) у дозі 3,4 мг/кг) в/о (Метилпреднізолон-Фс, Фарма Старт, Україна); IV – ЕАЕ + М + амітриптилін 10 мг/кг в/ш) (Амітриптиліну гідрохлорид-ЗН, Здоров'я народу, Україна); V – ЕАЕ + М + флуоксетин 25 мг/кг в/ш (Флуксен, Київмедпрепарат, Україна); VI – ЕАЕ + М + триттико 40 мг/кг в/ш (Триттико, Анжеліні Франческо, Італія) та VII – ЕАЕ + М + пароксетин 8 мг/кг в/ш (Пароксин, Фарма Старт, Україна).

Для відтворення ЕАЕ використано метод введення енцефалітогенної емульсії внутрішньошкірно в подушечки пальців, у ділянки грудини чи спинки тварин, а також в основу хвоста щурів [6].

Оцінку антиноцицептивної активності антидепресантів проводили за методом електричного подразнення кореня хвоста щурів [7]. Оцінку больової чут-

© О. О. Нефьодов, 2015

ливості здійснювали за реакцією вокалізації (центральний компонент формування ноцицептивної відповіді) у вихідному стані та на 90 хв після одноразового перорального введення досліджуваних антидепресантів. Також визначали стан м'язового тонусу на фоні введення зазначених засобів за умов модельованої патології [8]. Аналіз антидепресантної активності проводили з використанням тест-моделі Порсолта (тест примусового плавання) після оцінки м'язового тонусу [9].

Усі отримані дані оброблено загально прийнятими в медико-біологічних дослідженнях методами статистичного аналізу з використанням стандартних пакетів комп'ютерних програм. Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M) та їх похибок (± m). Встановлення достовірності міжгрупових відмінностей за значеннями показника порога больового реагування проводили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента, критерію рангових сум Вілкоксона (Wilcoxon Rank-Sum test), критерію Манна-Уїтні та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при рівні $p \leq 0,05$. Перед застосуванням параметричних критеріїв проводили перевірку гіпотези про нормальний закон розподілу випадкових величин [10].

Результати та їх обговорення. Першим етапом дослідження було формування ЕАЕ: пік змін у тварин формувався на 7 добу дослідження; протягом наступних 5 днів щури отримували метилпреднізолон (М) у дозі 3,4 мг/кг як базову патогенетичну терапію. За даних умов реєстрували показники ноцицептивної відповіді на поступово зростаюче електроподразнення кореня хвоста щурів у вихідному стані (5-денне введення М) та на 90 хв після введення антидепресанту.

Встановлено, що у вихідному стані за умов сформованого ЕАЕ та базової терапії метилпреднізолоном реакція на електричне подразнення хвоста у щурів усіх груп реєструвалася на рівні від (1,35 ± 0,12) (група VI) та (1,48±0,10) (група V). За даних умов внутішньошлунково одноразово вводили антидепресивні засоби тваринам по групах, як вказано вище.

Результати дослідження надано на рисунку 1. Показано, що аналгетичний потенціал досліджуваних засобів був достатньо високим порівняно з показниками вихідного стану. Реєстрацію реакції вокалізації проводили на 90 хв досліду після введення антидепресантів. Так, максимальну знеболюючу активність спостерігали на фоні введення флуоксетину та триттико, що відповідало збільшенню аналгетичної активності в 2,7 ($p \leq 0,05$) та 3,1 ($p \leq 0,05$) разу порівняно з показниками вихідного стану. При цьому на фоні введення амітриптиліну знеболюючий потенціал на 90 хв складав 166,2 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками вихідного стану. Також зареєстровано помірну

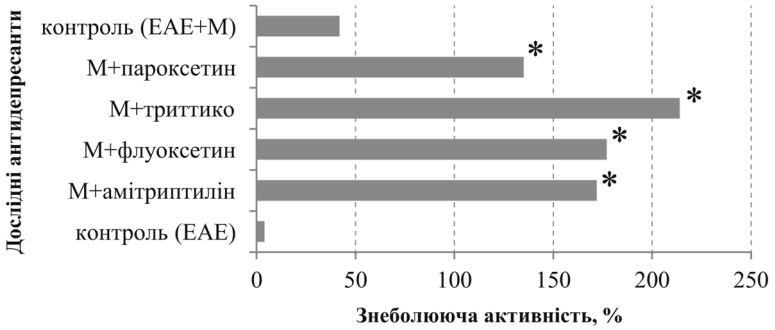

Рис. 1. Антиноцицептивний потенціал антидепресантів у щурів за умов експериментального алергічного енцефаліту та застосування метилпреднізолону й антидепресантів

*Примітка. *p ≤ 0,05 відносно показників вихідного стану.*

Таблиця

М'язовий тонус у щурів за умов експериментального алергічного енцефаліту, застосування метилпреднізолону та антидепресантів, М ± m

Дослідна група	Час утримування тварин на стрижні, що обертається, с		
	Вихідний стан	12 доба	17 доба
Експериментальний алергічний енцефаломієліт (активний контроль)	12,00 ± 2,20	4,50*± 1,40	0,60* ± 0,70
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон (базовий контроль)	9,50 ± 1,25	1,87* ± 0,65	1,77* ± 0,23
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + амітриптилін	10,60 ± 1,50	3,40* ± 0,80	2,20* ± 0,70
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + флуоксетин	13,62 ± 1,71	2,87* ± 0,93	5,12 ± 1,65
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + триттико	10,87 ± 1,40	2,75* ± 0,56	4,62 ± 1,37
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + пароксетин	11,50 ± 2,25	2,87* ± 0,90	5,00 ± 0,75

*Примітка. *p ≤ 0,05 відносно показників вихідного стану.*

знеболюючу дію в групі базового контролю (III) на фоні 5-денного введення М (+ 39,2 %) відносно показників вихідного стану (p ≥ 0,05).

За умов ЕАЕ у тварин реєстрували м'язовий тонус у вихідному стані, а також на 12 та 17 добу формування процесів демієлінізації. У вихідному стані час, протягом якого щури «зависали» на спеціальному стрижні (показник м'язової сили), становив від (9,50 ± 1,25) с (група III) до (13,62 ± 1,71) (група V). При цьому вже на 12 добу розвитку демієлінізації спостерігали зменшення м'язового тонусу в середньому в 1,5–2,5 разу для всіх досліджуваних груп (таблиця).

Встановлено, що на фоні 5-денного введення метилпреднізолону одноразове введення амітриптиліну не викликало змін сили м'язів: так, тварини були спроможні утримуватися на стрижні, що обертається, лише протягом (2,2 ± 0,7) с.

Показано, що більш виражена динаміка щодо зміцнення м'язового тонусу була зареєстрована на фоні введення флуоксетину та пароксетину: час, протягом якого щури висіли на стрижні, збільшувався на 78,4 % (p ≤ 0,05) та 74,21 % (p ≤ 0,05) порівняно з показниками на 12 добу експерименту.

Також спостерігали посилення м'язового тонусу після застосування флуоксетину, триттико та пароксетину порівняно з показниками групи базового контролю (ЕАЕ + М) на 12 добу експерименту: + 189,3 % (p ≤ 0,05), + 161,01 % (p ≤ 0,05) та + 182,5 % (p ≤ 0,05) відповідно.

Аналіз антидепресивної дії дослідних засобів за допомогою тесту Порсолта дозволив встановити, що в групі активного контролю (ЕАЕ) час іммобілізації (завмирання тварин у воді за примусового плавання) був найвищим: (209,4 ± 11,9) с (рис. 2), що відповідало високому рівню тривожності та занепокоєння. При використанні антидепресантів час іммобілізації зменшувався для групи амітриптиліну на 27,75 % (p ≤ 0,05), для флуоксетину на 33,43 % (p ≤ 0,05), для триттико на 48,05 % (p ≤ 0,05) та для пароксетину на 46,7 % (p ≤ 0,05).

При порівнянні часу іммобілізації на фоні використання антидепресантів з

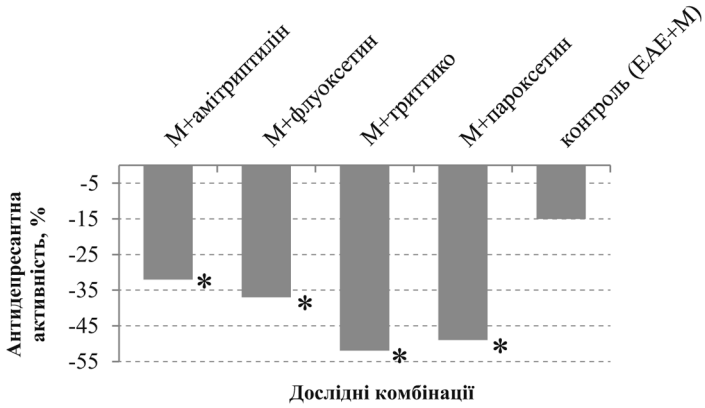

Рис. 2. Зміни часу іммобілізації в щурів з експериментальним алергічним енцефалітом на тлі фармакотерапії метилпреднізолоном та введення антидепресантів

*Примітка. *p ≤ 0,05 відносно показників групи активного контролю.*

показниками базового контролю (ЕАЕ + метилпреднізолон) показано, що для груп триттико та пароксетину він був нижчий у 1,7 (p ≤ 0,05) та у 1,6 разу (p ≤ 0,05) відповідно.

Отже, досліджені антидепресанти проявили достатній рівень протитривожної та антидепресивної дії в щурів з модельованим експериментальним розсіяним склерозом на тлі фармакотерапії метилпреднізолоном.

Висновки

1. У тварин з моделлю РС (на фоні застосування метилпреднізолону) максимальну знеболюючу активність спостерігали за умов введення флуоксетину та триттико, що відповідає збільшенню аналгетичного потенціалу в 2,7 (p ≤ 0,05) та 3,1 разу (p ≤ 0,05) порівняно з показниками вихідного стану.
2. За умов сформованого експериментального еквівалента розсіяного склерозу реєструється достовірне посилення м'язового тонусу на фоні введення флуоксетину (на 78,4 %) та пароксетину (на 74,21 %) порівняно з показниками групи тварин активного контролю (патологія без лікування).
3. За умов моделювання патологічного стану антидепресивну активність у різному ступені проявляють усі досліджені засоби. Найперспективнішими за знеболюючою, антидепресивною активністю та здатністю посилювати м'язовий тонус за умов ЕАЕ з урахуванням базової гормональної терапії метилпреднізолоном є триттико та пароксетин.

1. *Гусев Е. И.* Рассеянный склероз / Е. И. Гусев, Т. Л. Демина, А. Н. Бойко. – Москва : Нефть-газ, 1997. – С. 190–230.
2. *Ackerman K. D.* Immunologic response to acute psychological stress in MS patients and controls / K. D. Ackerman, M. Martino, R. Heyman // J. Neuroimmunol. – 1996. – V. 68. – P. 85–94.
3. *Strober L. B.* Depression in multiple sclerosis: The utility of common self-report instruments and development of a disease-specific measure / L. B. Strober, P. A. Arnett // J. Clin Exp Neuropsychol. – 2015. – V. 37 (7). – P. 722–732.
4. *Сергеев В. В.* Психические расстройства у больных с демиелинизирующими заболеваниями нервной системы / В. В. Сергеев, З. А. Скударнова // Неврозоподобные состояния: сб. научн. трудов. – Смоленск, 1988. – С. 43–46.
5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайретдинова. – Київ : ВД «Авіцена», 2002. – 155 с.
6. Нефьодов О. О. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту / О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур, Ю. В. Харченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 4, Т. 2 (114). – С. 205–208.
7. *Brune K.* Mode of action peripherical analgesic / K. Brune, K. Lanz // Arzneimittel – Forsch. – 1984. – V.34, № 9a. – P. 1060–1065.
8. *Калуев А. В.* Стресс, тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / А. В. Калуев. – Киев, 1998. – 95 с.

9. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов / Каркищенко В. Н., Капанадзе Г. В., Деньгина С. Е., Станкова Н. В. // Биомедицина. – 2011. – № 1. – С. 72–74.
10. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : «Морион», 2001. – 408 с.

О. О. Нефьодов

Нейротропні ефекти антидепресантів за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу

Розсіяний склероз є найпоширенішим демієлінізуючим захворюванням, яке вражає переважно осіб молодого працездатного віку (16–45 років) і швидко призводить до інвалідизації. Когнітивні й емоційно-афективні порушення в більшості хворих проявляються погіршенням найважливіших психічних функцій (уваги, пам'яті). При цьому понад половина хворих уже на початкових стадіях захворювання пред'являють скарги на стійкі порушення нейропсихологічних функцій (біль, інсомнія) і практично всі мають психологічні проблеми (зменшення м'язової сили, дезадаптація та депресія).

Мета дослідження – порівняльний аналіз впливу антидепресантів (амітриптиліну, флуоксетину, триттико та пароксетину) на формування ноцицептивної відповіді, силу м'язового тонусу та оцінка їхньої антидепресивної активності в щурів на фоні моделювання експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ).

Максимальну знеболюючу активність спостерігали на фоні введення флуоксетину та триттико, що відповідало збільшенню аналгетичного потенціалу в 2,7 ($p \leq 0,05$) та 3,1 разу ($p \leq 0,05$) відповідно порівняно з показниками вихідного стану. При цьому на фоні введення амітриптиліну знеболюючий потенціал на піку активності складав 166,2 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками вихідного стану.

У тварин усіх експериментальних груп на 12 добу формування демієлінізації спостерігали зменшення м'язового тонусу в середньому в 1,5–2,5 разу. Показано, що більш виражена динаміка щодо зміцнення м'язового тонусу була зареєстрована на фоні введення флуоксетину та пароксетину: збільшення часу, протягом якого щури утримувалися на стрижні, що обертається, склало відповідно 78,40 ($p \leq 0,05$) та 74,21 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками 12 доби експерименту.

У групі ЕАЕ (активного контролю) час іммобілізації (завмирання тварин у воді при примусовому плаванні) був найвищий: (209,4 ± 11,9) с, що відповідало високому рівню тривожності та занепокоєння. При використанні антидепресантів час іммобілізації зменшувався для групи амітриптиліну на 27,75 % ($p \leq 0,05$), для флуоксетину на 33,43 % ($p \leq 0,05$), для триттико на 48,05 % ($p \leq 0,05$) та для пароксетину на 46,70 % ($p \leq 0,05$).

Таким чином, найперспективнішими за знеболюючою та антидепресивною дією, а також за здатністю збільшувати м'язовий тонус у тварин з експериментальним еквівалентом розсіяного склерозу з урахуванням базової гормональної терапії метилпреднізолоном є триттико та пароксетин.

Ключові слова: біль, депресія, м'язовий тонус, розсіяний склероз, антидепресанти

А. А. Нефедов

Нейротропные эффекты антидепрессантов в условиях экспериментального эквивалента рассеянного склероза

Рассеянный склероз является наиболее распространенным демиелинизирующим заболеванием, которое поражает преимущественно лиц молодого трудоспособного возраста (16–45 лет) и быстро приводит к инвалидизации. Когнитивные и эмоционально-аффективные нарушения у большинства больных проявляются ухудшением важнейших психических функций (внимания, памяти). В то же время более половины больных уже на начальных стадиях заболевания предъявляют жалобы на стойкие нарушения нейропсихологических функций (боль, инсомния) и практически все в той или иной степени имеют психологические проблемы (уменьшение мышечной силы, дезадаптация и депрессия).

Цель исследования – сравнительный анализ влияния антидепрессантов (амитриптилина, флуоксетина, триттико и пароксетина) на формирование ноцицептивного ответа, мышечный тонус и оценка их антидепрессивного действия у крыс на фоне экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ).

Максимальную обезболивающую активность наблюдали на фоне введения флуоксетина и триттико, что соответствовало увеличению анальгетической активности в 2,7 ($p \leq 0,05$) и 3,1 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями исходного состояния. При этом на фоне введения амитриптилина обезболивающий потенциал на пике активности (90 мин) составлял 166,2 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями исходного состояния.

К 12 суткам формирования демиелинизации наблюдалось уменьшение мышечного тонуса в среднем в 1,5–2,5 раза у животных всех исследуемых групп. Показано более выраженное увеличение мышечного тонуса на фоне введения флуоксетина и пароксетина: увеличение времени, в течение которого крысы удерживались на вращающемся стержне, составило 78,40 ($p \leq 0,05$) и 74,21 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями 12 суток эксперимента.

В группе активного контроля время иммобилизации (замирание животных в воде при принудительном плавании) было высоким: (209,4 ± 11,9) с, что соответствует высокому уровню тревожности и беспокойства. При использовании антидепрессантов время иммобилизации уменьшалось для группы амитриптилина на 27,75 % ($p \leq 0,05$), для флуоксетина на 33,43 % ($p \leq 0,05$), для триттико на 48,05 % ($p \leq 0,05$) и для пароксетина на 46,70 % ($p \leq 0,05$).

Таким образом, наиболее перспективными по обезболивающему и антидепрессивному действию, а также по способности увеличивать мышечный тонус у животных с экспериментальным эквивалентом рассеянного склероза с учетом базовой гормональной терапии метилпреднизолоном являются триттико и пароксетин.

Ключевые слова: боль, депрессия, мышечный тонус, рассеянный склероз, антидепрессанты

O. O. Nefedov

Neurotropic effects of antidepressants in condition of the experimental equivalent of multiple sclerosis

Multiple sclerosis is the most common demyelinating disease that affects mainly working age young people (16–45 years) and quickly leads to disability. Cognitive and emotional-affective disorders,in the most patients manifested as slowdown and the uniformity of the most important mental functions (attention, memory). At the same time, more than half of the patients on the early stages of the disease complain of persistent violations of neuropsychological functions (pain, insomnia) and almost everyone have psychological problems (decrease in muscle strength, exclusion and depression).

The aim of the work was comparative analysis of the effects of antidepressants administration (amitriptyline, fluoxetine, paroxetine and tryttiko) on the formation of nociceptive response, muscle tone and strength of antidepressant effect in rats under experimental allergic encephalomyelitis (EAE).

It was established that the analgesic potential of the investigated drugs was higher as compared to those at the initial state. Registration of vocalization reaction was conducted for 90 min after antidepressants administration. Thus, the maximum analgesic activity was observed after administration of fluoxetine and tryttiko, which corresponded to an increase analgesic activity by 2,7 ($r \leq 0,05$) and 3,1 ($r \leq 0,05$) times compared to those of the initial state. Analgesic potential of amitriptyline at 90 min after administration (the peak activity was 166,2 % ($r \leq 0,05$) as compared to the initial state. Also registered a moderate analgesic effect of passive control group (II) against the background of 5-day introduction M (+ 39,2 % ($r \geq 0,05$) relative to that of the initial state, but the data are not credible and had character trends.

In the animals with simulated pathology EAE were recorded changes in muscle tone in the initial state, and the 12th and 17th day of the process of demyelination development. It has been shown that at 12th day of pathology formation decreased muscle tone average of 1,5–2,5 times for all investigated groups. It has been shown more pronounced dynamics to strengthen muscle tone at 17th day after fluoxetine and paroxetine administration: an increase in time during which the rat hung on rods was 78,40 % ($r \leq 0,05$) and 74,21 % ($r \leq 0,05$) compared with those at 12th day of the experiment.

When assessing the antidepressant action of drugs in the Porsolt test we determined that in animals of active control group (EAE) immobilization time (fading animals in the water at the forced swimming) was the highest: (209,4 ± 11,9) s, which corresponds to a high level of anxiety and concern. When using antidepressants immobilization time decreased in amitriptyline group to 27,75 % ($r \leq 0,05$), fluoxetine – to 33,43 % ($r \leq 0,05$,) tryttiko – to 48,05 % ($r \leq 0,05$) and paroxetine – to 46,70 % ($r \leq 0,05$).

Thus, tryttiko and paroxetine are the most promising drugs on the analgesic and antidepressant effects, as well as on the ability to increase muscle tone in animals with experimental equivalent of multiple sclerosis, taking into account the basic hormonal therapy with methylprednisolone.

Key words: pain, depression, muscle tone, multiple sclerosis, antidepressants

Надійшла: 9 вересня 2015 р.

Контактна особа: Нефьодов Олександр Олександрович, доцент, кафедра фармакології і клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Дзержинського, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: + 38 0 93 779 32 79. Електронна пошта: nefedov2406@gmail.com