

УДК 591.18

Исмайлова Х.Ю.¹,

Мяджиди Мохаммед Багхер оглы², Иноземцев А.Н.³

¹ Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана (г. Баку)

² Исламский университет «Азад» (г. Тебриз, Иран)

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

ВЛИЯНИЕ ФЛУОКСЕТИНА НА СУДОРОЖНЫЕ РЕАКЦИИ У КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К АУДИОГЕННЫМ СУДОРОГАМ

Kh. Ismailova¹, M. Majidi², A. Inozemcev³

¹ A.I. Karaev Institute of Physiology
of Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku

² Islamic Azad University, Tebriz, (Iran)

³ M.V. Lomonosov Moscow State University

EFFECT OF FLUOXETINE ON SEIZURE REACTIONS IN WISTAR RATS WITH HIGH PREDISPOSITION TO AUDIOGENIC SEIZURES

Аннотация. Однократное введение селективного блокатора обратного захвата серотонина флуоксетина крысам-самцам линии Вистар с предрасположенностью к аудиогенным судорогам позволило изучить влияние повышенного уровня серотонина на проявление судорожной активности. Показано, что у судорожно-чувствительных животных препарат приводил к ослаблению выраженности судорожных реакций. Полученные результаты свидетельствуют о возможных противосудорожных эффектах исследуемого препарата у крыс линии Вистар с различным исходным уровнем моноаминов головного мозга.

Ключевые слова: крысы-самцы линии Вистар, флуоксетин, аудиогенные судорожные реакции.

Abstract. Single administration of serotonin selective reuptake inhibitor (fluoxetine) to male Wistar rats with high predisposition to audiogenic seizures made it possible to study the effect of serotonin on seizure activity. It was shown that in the seizure-sensitive rats characterized by high predisposition to audiogenic seizures, this drug decreased the strength of seizure reactions. The results indicate possible anti-seizure effects of the studied drug in Wistar rats with different original brain monoamines levels.

Key words: male Wistar rats, fluoxetine, audiogenic seizure reactions.

Судорожные расстройства относятся к числу наиболее распространенных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС). Судорожные припадки, развивающиеся при действии сильного звука у лабораторных животных (аудиогенная эпилепсия), используются в качестве модели судорожных состояний человека. Интенсивный эпилептиформный припадок клонико-тонического типа, формирующийся в ответ на звук у крыс, позволяет изучить механизмы как возникновения патологической судорожной активности, так и противосудорожного эффекта новых лекарственных препаратов. С другой стороны, известно, что в патогенезе вызванной звуком судорожной реакции важная роль принадлежит моноаминергическим системам мозга [4]. При этом наиболее значимым нейротрансмиттером на мозговом уровне выступает серотонин, который является важным биохимическим фактором формирования множества физиологических и психологических процессов, а нарушение в его содержании или рецепции может привести к психоэмоциональным расстройствам [7]. Именно дефицит серотонина приводит к нарушению синаптической передачи в нейронах ЦНС и формиру-

ет депрессивные состояния и повышенную тревожность. В связи с этим многие используемые в лечебной практике анксиолитики и антидепрессанты нацелены на повышение серотониновой нейротрансмиссии. Среди препаратов, вмешивающихся в интрасинаптический обмен серотонина, ведущая роль отводится селективным ингибиторам обратного захвата серотонина, таким, как флуоксетин [14]. Механизм его действия заключается в угнетении функции и количества серотонинового транспортера, осуществляющего обратный перенос высвободившегося из нервных окончаний медиатора в клетку. В результате этого угнетения происходит увеличение концентрации серотонина в синаптической щели и усиление серотонинергической нейротрансмиссии. Уже через 1 час после применения препарата во многих отделах мозга отмечается повышение уровня экстраклеточного серотонина [6].

С другой стороны, в настоящее время известно несколько линий лабораторных животных, у которых в ответ на звуковой раздражитель с достаточным постоянством возникает генерализованный судорожный припадок (линии KM, WAG/Rij, DBA/2j) [12]. Однако среди крыс других генетических линий, широко используемых в различных нейрофизиологических и биохимических экспериментах, отмечается некоторый процент животных с аудиогенными судорогами [8]. В частности, из общей популяции крыс линии Вистар лишь 20% животных в ответ на действие звонка впадали в тонико-клонические судороги, сопровождающиеся иногда вокализацией. Учитывая вышеизложенное, представляло интерес изучить влияние селективного ингибитора обратного захвата серотонина – флуоксетина на проявления судорожного припадка у крыс линии Вистар с повышенной чувствительностью к аудиогенным стрессовым воздействиям. Аудиогенная судорожная активность у крыс используется как модель для анализа физиологических и биохимических механизмов эпилепсии и поиска способов профилактики и лечения этой болезни [2].

Методика исследования

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар массой 250 - 300 г. Предварительно животных тестировали на аудиогенность и неаудиогенность, выявляли склонность или отсутствие склонности к аудиогенным судорогам (электрозвонок 90-110 дБ в течение 2-х мин. в звукоизолированной камере). При явном развитии эпилептоподобного статуса звук немедленно выключали. Это ограничение длительности звукового раздражителя предотвращает смертность животного и развитие больших субдуральных кровоизлияний [5]. У одной части животных – их было большинство, в ответ на включение звонка появлялась либо короткая ориентировочная реакция, либо поведение существенно не изменялось. У другой части животных – в ответ на сильное звуковое раздражение регистрировались все стадии судорожного припадка (1 – сильное моторное возбуждение, безудержно-манежный бег, прыжки; 2 – клонические судороги в позе “на животе”; 3 – клонико-тонические судороги с падением животного на бок; 4 – тонические судороги всей мускулатуры) [10]. В наших экспериментах вторая, третья и четвертая стадии припадка представлялись обобщенно в виде признака “клонико-тонические судороги”, сопровождавшиеся иногда вокализацией. В эксперименты брали крыс, у которых при повторных 3-4-кратных воздействиях на них звуком наблюдались эти реакции. Различие животных по врожденной предрасположенности к судорогам послужило основанием их деления на судорожно-чувствительных (СЧ) и судорожно-толерантных (СТ).

Из общего числа (111) были отобраны 29 СТ и 27 СЧ к акустическому стрессу крыс. Обе группы животных были подразделены на экспериментальные и контрольные. Животным экспериментальной группы (СТ (n=15), СЧ (n=14) вводили флуоксетин (Pharme science, Montreal, Canada) в дозе 25 мг/кг в желудок через зонд за 1 час до опыта. Контрольные крысы (СТ (n=14), СЧ (n=13)

получали соответствующий объем растворителя – дистиллированной воды. В течение двух дней перед основными экспериментами по 5 мин. ежедневно животных брали в руки, чтобы уравнивать их реакцию к этому раздражителю. Крыс содержали по шесть-семь особей в клетке в стандартных условиях вивария Института физиологии им. А.И. Караева НАНА при свободном доступе к воде и корму. Эксперименты проведены в соответствии с международными правилами гуманного обращения с животными и утверждены соответствующим комитетом Института. Для обработки результатов применяли непараметрический U-критерий Вилкоксона-Манн-Уитни, а также t-критерий Стьюдента. Математические расчеты производили с помощью пакета статистических программ “Statistica for Windows”.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение влияния флуоксетина на чувствительность животных к действию акустического стрессового раздражителя показало, что если у контрольных СЧ крыс в ответ на стрессовый раздражитель в 100% случаях отмечались приступы безудержного манежного бега с прыжками, как один из признаков судорожного припадка, переходившего в 70% случаях в клонико-тонические судороги (рис.1), то через 1 час после однократного введения флуоксетина картина судорожного состояния резко изменилась. У опытных крыс в ответ на стрессовый раздражитель отмечалось ослабление судорожных манифестаций: только в 60% случаях ($p < 0,05$) наблюдались приступы манежного бега и не регистрировались клонико-тонические судороги. Более того, влияние флуоксетина проявлялось и в виде достоверного увеличения латентного времени двигательного возбуждения по сравнению с контрольной группой животных ($93,8 \pm 12,3$ и $49,6 \pm 9,2$ сек. соответственно) ($p < 0,5$) (рис. 2).

Острое введение флуоксетина крысам с предрасположенностью к судорожной актив-

ности вызывает заметное ослабление выраженности судорожных припадков. Известно, что в патогенезе вызванной звуком судорожной реакции важная роль принадлежит врожденным особенностям метаболизма мозга [4]. В ранее проведенных исследованиях биохимический анализ содержания моноаминов в мозге выявил у СТ (не предрасположенных к аудиогенным судорогам) к стрессу крыс повышенное содержание НА и пониженное содержание 5-НТ, а у СЧ животных, характеризующихся повышенной предрасположенностью к аудиогенным судорогам – повышенное содержание 5-НТ и ДА, тем самым указывая на важное значение баланса активности 5-НТ- и КА-систем в поддержании нормального поведения животных и на связь некоторых врожденных особенностей поведения с дисбалансом активности этих систем [1]. Тем не менее, выявлено, что эпилептические судороги развиваются на фоне дефицита 5-НТ в головном мозге [9]. В наших же экспериментах, возможно, что у СЧ крыс уровень 5-НТ в структурах головного мозга недостаточно высок, чтобы воспрепятствовать развитию судорог, и его искусственное повышение с помощью флуоксетина ослабляет судорожную активность.

Повышенный уровень 5-НТ в головном мозге у СЧ крыс, по нашему мнению, свидетельствует о том, что он носит компенсаторный характер и способствует снижению эпилептической активности у СЧ крыс, у которых, видимо, отсутствуют гены, определяющие толерантность по отношению к стрессорным стимулам. На существование такого рода генов, определяющих стрессорную устойчивость, косвенным образом указывают результаты исследования Унгара [13], обнаружившего существование низкомолекулярного пептида – амелитина в головном мозге у крыс, который способствовал повышению устойчивости животных (снижение эпилептической активности) к воздействию аудиогенных стрессорных сигналов. Отсутствие же эпилепсии у СТ к стрессу крыс, характеризующиеся исходным сниженным содержанием 5-НТ в мозгу, возможно, обусловлено

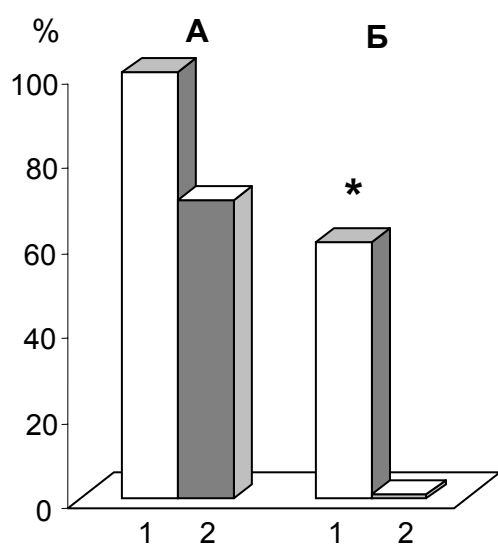


Рис. 1. Манифестация фаз судорожного припадка (%) у судорожно-чувствительных крыс под влиянием флуоксетина. А – контрольные животные; Б – экспериментальные животные. 1. манежный бег+прыжки; 2. клонико-тонические судороги. Достоверность различий данных между контролем и опытом по t-критерию Стьюдента: * $p < 0,05$.

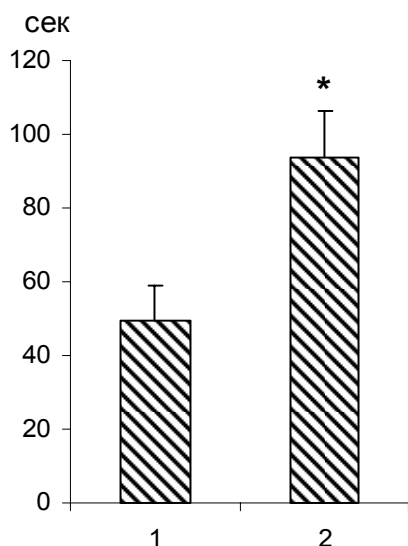


Рис. 2. Латентный период начала двигательного возбуждения (сек) у судорожно-чувствительных крыс под влиянием флуоксетина. А - контрольные животные ($n=13$); Б – экспериментальные животные ($n=14$). Достоверность различий данных между контролем и опытом по t-критерию Стьюдента: * $p < 0,05$.

тем, что у неаудиогенных (отсутствие склонности к аудиогенным судорожным припадкам) крыс в отличие от аудиогенных отмечается повышенная активность генетического аппарата нервных клеток, содержащих повышенный уровень в них молекул РНК [3]. Выраженная противосудорожная активность флуоксетина, по мнению многих исследователей [11], свидетельствует о том, что активация серотонинового рецептора 5-НТ_{1А} вызывает мембранный гиперполяризационный ответ, обусловленный повышенной натриевой проводимостью, оказывая при этом противосудорожный эффект на свободно подвижных крысах. Считается, что антипаанический эффект флуоксетина основан на его способности избирательно блокировать обратный захват 5-НТ пресинаптической мембраной, что приводит к повышению этого медиатора в синаптической щели и усилению 5-НТ-ергического действия в ЦНС, ответственного за развитие противотревожного эффекта.

Учитывая вышеизложенное, можно предположить, что ослабление выраженности судорожных припадков у СЧ крыс под влиянием острого введения флуоксетина, возможно, связано с различным характером влияния повышенного уровня серотонина на серотониновые рецепторы, имеющие пониженный уровень экспрессии в нервных клетках у СЧ животных. Такой характер экспрессии серотониновых рецепторов обусловлен значительным исходными уровнем серотонина в нервных клетках этих животных. Таким образом, предполагается, что у крыс линии Вистар исходный уровень биогенных аминов головного мозга обуславливает противосудорожные эффекты исследуемого препарата.

ЛИТЕРАТУРА:

- Исмаилова Х.Ю., Агаев Т.М., Семенова Т.П. Индивидуальные особенности поведения (моноаминергические механизмы). – Баку: Изд-во “Нурлан”, 2007. – 228 с.
- Кузнецова Г.Д. Аудиогенные судороги у крыс разных генетических линий // Журнал высшей нервной деятельности. – 1998. – Т. 48, № 1. – С. 143-152.

3. Кулагин Д.А., Болондинский В.К. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке // Успехи физиологических наук.– 1986.– Т. 17, № 1.– С.92- 109.
4. Маликова Л.А., Федотова И.Б., Наркевич В.Б. и др. Содержание моноаминов и их основных метаболитов в структурах мозга крыс линии Крушинского-Молодкиной при действии нового антиконвульсанта леветирацетама // Журнал высшей нервной деятельности.– 2008.– Т. 25, № 4.– С. 323-326.
5. Меерсон Ф.З., Мамалыга Л.М. Защитное действие адаптации к гипоксии при аудиогенной эпилепсии и его пролонгирование с помощью фармакологических средств // Патологическая физиология и общая патология.– 1994.– № 2.– С. 120-123.
6. Шишкина Г.Т. Нейроадаптивные изменения в мозге при действии блокаторов обратного захвата серотонина // Российский физиологический журнал.– 2007.– Т. 93, № 11.– С.1245-1251.
7. Den Boer J.A. Social anxiety disorder/social phobia: epidemiology, diagnosis, neurobiology, and treatment // *Comp.Psychiatry.*– 2000, v. 41, № 6.– P.405-414.
8. Jobe P.C., Mishra P.K., Ludvig N., Dalley J.M. Genetic models of the epilepsies. *Epilepsy Models, Mechanisms and Concepts.* Ed. A. Schwartzkruin. – Cambridge Univ. Press. – 1993.– 140 p.
9. Jobe P.C. Common pathogenic mechanisms between depression and epilepsy: an experimental perspective // *Epilepsy Behaviour.*– 2003. V. 4, Suppl. 3.– P.14-24.
10. Laird II H. E., Jobe P.C. The genetically epilepsy-prone rat. In: Jobe PC and Laird II H. E. (Eds) // *Neurotransmitters and epilepsy.*– Clifton: Humana Press.–1987.– P. 57-94.
11. Okuhara D.Y, Beck S.G. 5-HT1A receptor linked to inward-rectifying potassium current in hippocampal CA3 pyramidal cells // *Journal Neurophysiol.*–1994. – V.71.– P. 2161–2167.
12. Ross K.S., Coleman G.R // *Ibid.*– 2000. V.24, № 6.– P. 639-653.
13. Ungar G. Is there a chemical memory trace? // *Isr. J. Chem.*– 1975. – V.14.– P. 160-176.
14. Wong D.T., Perry K.W., Bymaster F.P. Case history the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac) // *Nat. Rev. Drug Discov.*– 2005. – T.4, № 9.– С. 764-774.