

Циркадианные различия интенсивности галоперидоловой каталепсии у овариоэктомированных самок крыс без и после эстрогенизации

Э.А. Манвелян, В.А. Батулин, М.Д. Булгакова, Н.Н. Громова

Ставропольская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития,

Ставрополь

Ставропольский государственный университет, Ставрополь

Контактная информация: д.ф.н. Манвелян Элеонора Аслибековна manveljan@rambler.ru

В экспериментах на белых крысах-самках линии Вистар сравнивали интенсивность галоперидоловой каталепсии (0,5 и 1 мг/кг) у intactных, овариоэктомированных и эстрогенизированных овариоэктомированных самок крыс в 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3 ч. Оценку выраженности каталепсии проводили путем регистрации (в сек) длительности удержания животным заданного вертикального положения в позе «лектора».

Выполненное исследование выявило циркадианные различия в интенсивности каталепсии у intactных и овариоэктомированных самок крыс без и после эстрогенизации. Действие нейролептика зависело от дозы, времени тестирования, сохранности яичников, уровня эстрогенов. После удаления яичников каталептогенное действие нейролептического средства ослаблялось. Эстрогенизация на фоне овариоэктомии вызывала тенденцию к ослаблению суммарного среднесуточного каталептогенного эффекта галоперидола в дозе 0,5 мг/кг и к усилению в дозе 1 мг/кг.

Ключевые слова: галоперидоловая каталепсия, овариоэктомия, синэстрол, циркадианные различия.

Достаточно широкое использование антипсихотических лекарственных средств в клинической практике делает актуальными нейрофармакологические исследования на животных. Несомненные успехи в изучении механизмов специфической активности нейролептиков достигнуты за последние годы. Однако хронофармакология антипсихотических препаратов в женском организме остается слабо изученной. Свидетельства о вовлечении дофаминергической системы в эффекты нейролептиков позволили широко использовать блокатор дофаминовых рецепторов — галоперидол и вызываемое им состояние каталепсии для оценки функционального состояния дофаминергической передачи [1, 3, 8, 9, 15]. Нарушение мышечного тонуса ней-

ролептиками принимают за показатель блокады дофаминергической передачи в структурах головного мозга, а снижение выраженности каталепсии — как свидетельство уменьшения количества функционирующих дофаминовых рецепторов стриатума и снижение их аффинитета [1, 3, 14]. Нигрострионигральная система обеспечивает не только регуляцию двигательных актов, но и координирует сложные поведенческие ответы.

Вместе с тем, большой интерес представляет направленное выяснение особенностей влияния уровня половых гормонов на фармакологические эффекты антипсихотических лекарственных средств. В этой связи, целью настоящего исследования была хронобиологическая оценка выраженности галоперидоловой каталеп-

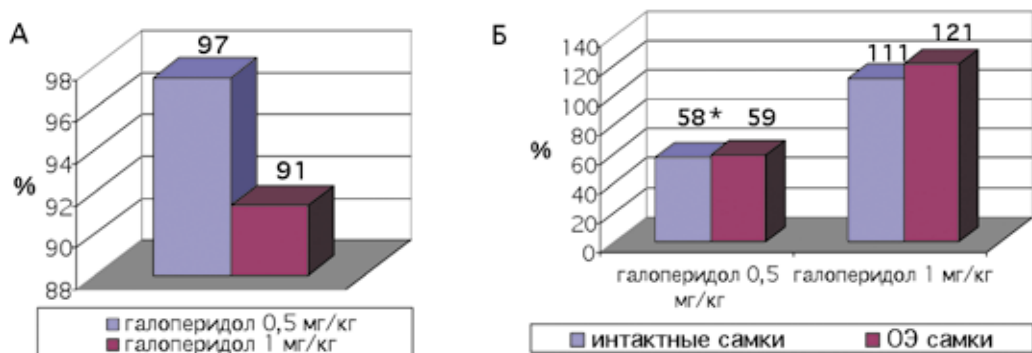


Рис. 1. Изменение выраженности галоперидоловой каталепсии у овариоэктомированных самок крыс без и после эстрогенизации.

По оси ординат (%) — время вертикализации самок крыс.

Диаграмма А: Изменение интенсивности галоперидоловой каталепсии у ОЭ самок крыс. 100% — среднесуточное среднеарифметическое время вертикализации интактных самок.

Диаграмма Б: Изменение каталептогенной активности галоперидола у эстрогенизированных овариоэктомированных самок. 100% — среднесуточное среднеарифметическое время вертикализации соответственно интактных и ОЭ самок крыс. * — при $P < 0,05$.

сии у интактных (И) и овариоэктомированных (ОЭ), а также, с учетом хорошо известных пермиссивных свойств, эстрогенов кастрированных эстрогенизированных (ОЭЭ) самок крыс [4, 7, 10, 12, 13, 21, 22].

Материалы и методы

Опыты были выполнены на белых половозрелых интактных и овариоэктомированных самках крыс линии Вистар (питомник Рапполово) со средней массой 200–220 г (по 10 крыс в группе). Животных содержали в клетках-ваннах (по 5–6 крыс) при естественном освещении и максимальной стандартизации температурного режима. Кормление (комбикорм) и уход осуществляли в привычном для животных режиме вивария. Обеспечивался свободный доступ крыс к пище и воде.

Для моделирования нейролептической каталепсии галоперидол вводили в дозах 0,5 и 1 мг/кг внутривенно.

Через час после инъекции приступали к оценке выраженности каталепсии путем регистрации (в сек) длительности удержания животным заданного вертикального положения на опоре (так называемая поза «лектора»). Выполняли 10 определений у каждой особи, при этом регистрировали время, когда крыса убирала с опоры первую лапу (первый латентный период) и вторую лапу (второй латентный период). Овариоэктомию выполняли по общепринятой методике [6]. Запланированные опыты на овариоэктомированных крысах начинали спустя 2 недели после операции. Синэстрол в дозе 0,1 мг/кг вводили внутривенно в течение двух недель после кастрации, затем проводили тестирование крыс. Эксперименты проводили в 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3 и 6 часов.

Во время работы с животными соблюдались принципы Хельсинкской Декларации о гуманном обращении с объектами исследования.

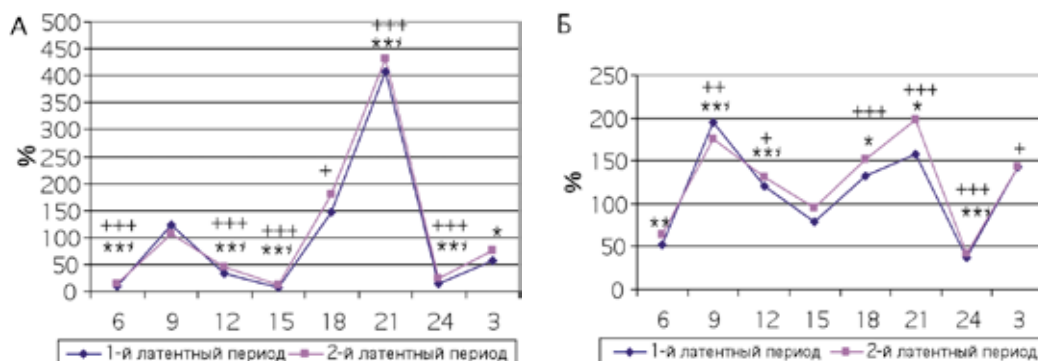


Рис. 2. Циркадианные изменения интенсивности галоперидоловой катаlepsии у овариэктомированных эстрогенизированных самок крыс по сравнению с показателями кастрированных самок. По оси абсцисс — время тестирования; по оси ординат (%) — время вертикализации овариэктомированных эстрогенизированных самок при введении галоперидола 0,5 мг/кг (А) и 1 мг/кг (Б) (первый и второй латентный периоды). 100% — показатели овариэктомированных самок без эстрогенизации. Достоверность отличий при сравнении первого (*) и второго (+) латентных периодов: * (+) — при $P < 0,05$; ** (++) — при $P < 0,01$; *** (+++) — при $P < 0,001$.

Полученные результаты обрабатывались статистически с использованием пакета компьютерных программ. Данные тестирования представляли графически. Проводили относительный сравнительный анализ, в том числе, вычисляя среднесуточное среднеарифметическое значение латентного периода. Сопоставляли данные о влиянии галоперидола у интактных, овариэктомированных и эстрогенизированных овариэктомированных самок. Выявление статистически значимых отличий проводили с помощью критериев Стьюдента, Вилкоксона, Манна-Уитни [11].

Результаты и их обсуждение

В ходе наблюдений были выявлены циркадианные различия в интенсивности галоперидоловой катаlepsии у интактных и овариэктомированных самок крыс без и под влиянием экзогенно вводимого эстрогенного препарата.

1. Тестирование интактных и овариэктомированных самок крыс.

Анализ среднесуточных среднеарифметических латентных периодов вертикализации ОЭ крыс, получавших галоперидол в дозе 0,5 мг/кг, по сравнению с интактными самками, также получавшими нейролептик в указанной дозе (данные приняты за 100%), не выявил заметных отличий в интенсивности катаlepsии (ОЭ: $n=160$, $36,15 \pm 5,92$; И: $n=160$, $37,12 \pm 4,49$) (рис. 1А). Однако на протяжении суточного цикла выраженность катаlepsии у гонадэктомированных крыс была достоверно ниже, чем у интактных особей в 9, 12, 18, 21 ч, и выше в 6, 15, 24 ч.

На фоне большей дозы галоперидола (1 мг/кг) среднесуточный показатель катаlepsии у кастрированных крыс был несколько ниже, чем у интактных самок (ОЭ: $n=160$, $82,64 \pm 3,88$; И: $n=160$, $89,9 \pm 2,34$). При этом в течение суток интенсивность катаlepsии у самок без гонад была достоверно ниже в 6, 12, 21 ч и выше в 3 ч по сравнению с интактными особями.

Тем самым, показано ослабление суммарной катаlepsитогенной активности гало-

периода у овариоэктомированных крыс по сравнению с интактными самками.

2. Тестирование эстрогенизированных овариоэктомированных самок крыс.

Сравнение среднесуточного среднеарифметического показателя вертикализации на фоне 0,5 мг/кг галоперидола у эстрогенизированных ОЭ крыс с данными кастрированных самок (100%) выявило уменьшение интенсивности каталепсии синэстролом (ОЭЭ: $n=160$, $21,43 \pm 5,27$) (рис. 1А). На протяжении суточного цикла выраженность каталепсии у ОЭ крыс, получавших эстрогенный препарат, была достоверно ниже, чем у кастрированных особей без синэстрола в 3, 6, 15, 24 ч, и выше в 18, 21 ч (рис. 2А).

При введении большей дозы галоперидола среднесуточный среднеарифметический показатель каталепсии ОЭ эстрогенизированных крыс был немного выше, чем у ОЭ самок (ОЭЭ: $n=160$, $100,2 \pm 12,1$). При этом на протяжении суток интенсивность каталепсии у ОЭ крыс на фоне синэстрола была достоверно ниже в 6, 24 ч и выше в 3, 9, 12, 18, 21 ч по сравнению с кастрированными особями (рис. 2Б).

Тем самым, показано ослабление суммарной каталептогенной активности галоперидола в дозе 0,5 мг/кг у ОЭ крыс после эстрогенизации, выражено в ночные, утренние и дневные часы. Большая доза нейролептика (1 мг/кг) в сочетании с синэстролом вызывала более интенсивную каталепсию у кастрированных самок в дневное и вечернее время.

Сравнение среднесуточного среднеарифметического показателя вертикализации при использовании малой дозы нейролептика у эстрогенизированных ОЭ и интактных самок (100%) выявило заметное снижение интенсивности каталепсии (ОЭЭ: $n=160$, $21,63 \pm 5,27$; $p < 0,05$) (рис. 1Б). На протяжении суточного цикла выраженность каталепсии у кастрированных крыс, получавших синэстрол, была достоверно ниже, нежели у интактных особей в 6, 9, 12, 15 и 3 ч (рис. 3А).

На фоне большей дозы галоперидола и синэстрола среднесуточный среднеарифметический показатель полного тестирования ОЭ крыс был несколько выше, чем у интактных самок (ОЭЭ: $n=160$, $100,2 \pm 12,05$). При этом на протяжении суток интенсивность каталепсии

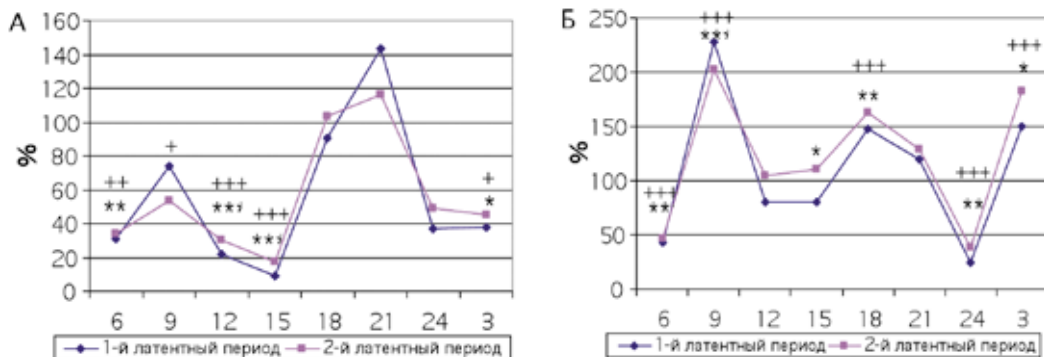


Рис. 3. Циркадианные изменения интенсивности галоперидоловой каталепсии у овариоэктомированных эстрогенизированных самок крыс по сравнению с показателями интактных самок. По оси ординат (%) — время вертикализации овариоэктомированных эстрогенизированных самок. 100% — показатели интактных самок. Остальные обозначения на рис. 2.

у ОЭЭ крыс была достоверно ниже в 6, 24 ч и выше в 3, 9, 18 ч по сравнению с интактными особями (рис. 3Б).

Тем самым, у эстрогенизированных кастрированных крыс по сравнению с интактными самками ограничивалась суммарная каталептогенная активность галоперидола в дозе 0,5 мг/кг. Интенсивность каталепсии на фоне нейролептика в большей дозе (1 мг/кг) при этом была несколько выше активности препарата у интактных самок.

Таким образом, эстрогенизация на фоне овариоэктомии вызывала тенденцию к ослаблению суммарного среднесуточного каталептогенного действия галоперидола в дозе 0,5 мг/кг и к усилению в дозе 1 мг/кг.

Согласно полученным результатам, после кастрации у самок ослабляется каталептогенное действие галоперидола, что, вероятно, можно объяснить экспериментальным фактом выраженного снижения плотности дофаминовых рецепторов D1- и D2- подтипов без изменения их чувствительности после овариоэктомии у самок крыс [17]. Наши наблюдения коррелируют с ранее полученными данными об ограничении после удаления яичников специфической антиконфликтной активности диазепама, гидазепама, антидепрессивного влияния амитриптилина в плавательном тесте, седативного эффекта галоперидола и клозапина в «открытом поле» [10]. Сходное изменение фармакологического эффекта показано при изучении действия у овариоэктомированных самок кардиотропных средств по данным кардиоинтевалографии, вариационной пульсометрии [4].

С другой стороны, у овариальных эстрогенов показаны дофаминоблокирующие свойства. Поскольку аналогичная активность лежит в основе специфического

эффекта нейролептиков, этим обосновывается происхождение их синергичного с гормонами действия на психику [1, 3, 13].

В наших исследованиях заместительная терапия синэстролом приводила к частичной коррекции нарушенного поведения у ОЭ самок крыс. При комбинированном использовании с нейролептиком после овариоэктомии синэстрол потенцировал галоперидоловую каталепсию, наиболее отчетливо — при введении препарата в дозе 1 мг/кг в вечернее время. Наши наблюдения согласовывались с ранее полученными сведениями о частичном восстановлении синэстролом противотревожной активности амитриптилина, диазепама при многопараметрическом тестировании, в конфликтной ситуации и в «открытом поле» и работами авторов, показавших оптимизирующее действие на вегетативный баланс по данным вариационной пульсометрии сочетания эстрадиола с пропранололом и каптоприлом [4, 10]. Сходный потенцирующий эффект эстрадиола на антидепрессивное действие кетансерина, 8-ОН - DPAT показан в тесте Порсолта [7, 12, 13].

Вместе с тем, при сочетании синэстрола с нейролептиком, особенно в малой дозе, было показано ограничение каталептогенной активности последнего. Полученные результаты косвенно согласуются с данными клиницистов о том, что у женщин в постменопаузе, страдающих болезнью Паркинсона, использование эстрогенов облегчало симптомы заболевания. При этом было установлено, что дополнительное назначение эстрогенов повышает эффективность дофаминергической терапии [2, 3, 16]. Учитывая эти сведения, можно предположить, что целенаправленное совместное фармакологическое воздействие как на дофами-

новые, так и на эстрогеновые рецепторы приводит к восстановлению дофаминергических процессов у ОЭ самок.

Возможно, механизм изменения интенсивности каталепсии у кастрированных самок крыс после эстрогенизации связан с повышением эстрадиолом нейронального синтеза дофамина без истощения его содержания в стриатуме, но не изменяет содержание метаболита дофамина — диоксифенилуксусной кислоты [3, 18, 19]. Предполагают, что эстрадиол подавляет захват дофамина в стриатуме за счет ингибирования мембранного транспортера [24]. Введение эстрадиола ОЭ самкам повышает связывающую способность D2-подтипа рецепторов в гипофизе и в гипоталамусе (мезолимбическая и нигростриатная системы), а также стимулирует рост нейритов дофаминергических нейронов [17, 20]. Показано, что эстрогены могут повышать активность дофаминергической нейротрансдачи за счет десенситизации D2-подтипа рецепторов, а также влияя на опосредованную ГАМК-регуляцию дофамина [22].

Полученные нами результаты могут быть связаны с нормализующим действием синэстрола на дисбаланс эстрогенов и скоординированность между функциональной активностью гормональной системы и активностью медиаторных систем в условиях тотальной овариоэктомии.

В ходе исследования были выявлены циркадианные различия в динамике каталепсии, а, следовательно, в ответной фармакологической реакции при введении антипсихотического средства, которые, в определенной мере, могут быть обусловлены особенностями хронэргии и хронестезии у интактных и кастрированных особей [1, 5, 23]. Для циркадианных различий в фармакологической чувстви-

тельности имеет значение аффинность дофаминовых рецепторов и плотность их связывания с мембранами, в частности, клеток стриатума. Различная активность ряда метаболизирующих ферментов печени, зависящая от уровня половых гормонов, несомненно, сказывается на фармакокинетике нейролептика [3].

Таким образом, выполненное исследование выявило циркадианную диссимилиацию двигательных ответов при введении галоперидола интактным и овариоэктомированными самкам крыс без и после эстрогенизации.

Выводы

1. Отмечаются циркадианные различия в интенсивности каталепсии у интактных и овариоэктомированных самок крыс без и после эстрогенизации.

2. Овариоэктомия ослабляет интенсивность галоперидоловой каталепсии у самок крыс.

3. Эстрогенизация на фоне овариоэктомии вызывает тенденцию к ослаблению суммарного среднесуточного каталептогенного эффекта галоперидола в дозе 0,5 мг/кг и к усилению в дозе 1 мг/кг.

Список литературы

1. Арушанян Э.Б., Батурич В.А., Белозерцев Ю.А. Нейролептические средства. Чита. 1984. 100 с.
2. Арушанян Э.Б. Половые различия в чувствительности к психотропным средствам // Эксперим. и клин. фармакол. 2007. т. 70. № 1. С. 63–71.
3. Арушанян Э.Б. Психофармакология. Ставрополь: Изд-во Ставропольской государственной медицинской академии. 2008. т.1. 671 с.
4. Батурич В.А., Колодийчук Е.В. Половая диссимилиация эффектов кардиотропных средств. Ставрополь. Изд-

- во Ставропольской государственной медицинской академии. 2003. 111 с.
5. **Батурич В.А., Манвелян Э.А., Булгакова М.Д.** Зависимость от пола и времени суток интенсивности галоперидоловой каталепсии у крыс // Биомедицина. 2006. № 4. С. 78–79.
6. **Кабак Я.М.** Практикум по эндокринологии. Основные методики экспериментально-эндокринологических исследований. М.: Изд-во Московского университета. 1968. 276 с.
7. **Казакова С.Б., Федотова Ю.О., Сапронов Н.С.** Влияние тамоксифена на тревожность у интактных и овариоэктомизированных самок крыс // Эксперим. и клин. фармакол. 2007. т. 70. № 5. С. 3–8.
8. **Козловский В.Л., Прахье И.В., Кенунен О.Г.** Влияние блокаторов кальциевых каналов на эффекты галоперидола и фенамина у мышей и крыс // Эксперим. и клин. фармакол. 1996. т. 59. № 3. С. 12–15.
9. **Коршунов А.М., Воронина Т.А., Чурюканов В.В., Яхно Н.Н.** Влияние галоперидола в малой дозе на развитие синдрома паркинсонизма в эксперименте // Эксперим. и клин. фармакол. 1995. т. 58. № 6. С. 7–9.
10. **Манвелян Э.А.** Половая диссимилизация эффектов психотропных средств. Ставрополь: Изд-во Ставропольского государственного университета. 2008. с. 106.
11. **Реброва О.Ю.** Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: МедиаСФЕРА. 2002. 212 с.
12. **Сапронов Н.С., Федотова Ю.О., Кузнецова Н.Н.** Антиамнестический эффект антагониста $\text{N}\alpha 7$ -никотиновых рецепторов RJR-2403 у овариоэктомизированных крыс среднего возраста с деменцией Альцгеймеровского типа // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2006. т. 142. № 12. С. 656–658.
13. **Федотова Ю.О., Сапронов Н.С.** Эффекты эстрогенов в центральной нервной системе // Успехи физиол. наук. 2007. т. 38. № 2. С. 46–62.
14. **Эпштейн О.И., Воронина Т.А., Белопольская М.Л., Хейфец И.А., Дугина Ю.Л., Сергеева С.А.** Исследование феномена бипатии на примере галоперидола // В кн. «Человек и лекарство». М. 2008. 735 с.
15. **Якимовский А.Ф.** Сравнение эффектов галоперидола при системном введении и инъекции в стриатум у крыс // Эксперим. и клин. фармакол. 1993. т. 56. № 1. С. 11–13.
16. **Blanchert P.J., Fang F., Hyland K. et al.** Short-term effects of high-dose 17beta-estradiol in post-menopausal PD patients: a crossover study // Ibid. 2000. v. 53. P. 91–95.
17. **Daniel J.M., Sulzer J.K., Hulst J.L.** Estrogen increases the sensitivity of ovariectomized rats to the disruptive effects produced by antagonism of D2 but not D1 dopamine receptors during performance of a response learning task // Horm. Behav. 2006. v. 49. P. 38–44.
18. **Di Paolo T., Rouillard C., Bedard P.** 17 β -estradiol and a physiological dose acutely increases dopamine turnover in rat brain // Eur. J. Pharmacol. 1985. v. 117. P. 197–203.
19. **Di Paolo T.** Modulation of brain dopamine transmission by sex steroids // Rev. Neurosci. 1994. v. 5. P. 27–42.
20. **McEwen B. S., Chao H., Angulo J.** Glucocorticoid and estrogen effects on the nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic system // Trophic Regulation of the Basal Ganglia. / Eds. Fuxe K., Ag-

- nati L., Bjelke B., Ottoson D.L. — London: Pergamon Press. 1994. P. 67–88.
21. **McEwen B.S., Alves S.E.** Estrogen actions in the central nervous system // *Endocrine Rew.* 1999. v. 20. P. 279–307.
22. **McEwen B.S.** Estrogen actions throughout the brain // *Rec/ Progress Horm. Res.* 2002. v. 57. P. 357–384.
23. **Reinberg A.** Advances in human chronopharmacology // *Chronobiologia.* 1976. № 2. P. 151–166.
24. **Tompson T.L., Moore C.C., Smith B.** Estrogen priming modulates autoreceptor-mediated potentiation of dopamine uptake // *Eur. J. Pharmacol.* 2000. v. 401. P. 357–363.

Circadian variations in the intensity of haloperidol's catalepsis in female rats without and after estrogen used

E.A. Manveljan, V.A. Baturin, M.D. Bulgakova, N.N. Gromova

In experiments haloperidol's catalepsis intensity (0.5 and 1 mg/kg) of intact ovariectomized and estrogen ovariectomized (at 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3 o'clock) rats were compared. Assessment of the severity of catalepsis was performed by registration (in seconds) the duration of retention of animals given a vertical situation in the pose of "lecturer".

Circadian variations in the intensity of catalepsis in intact female rats and ovariectomized without and after estrogen used carried out the study found. Neuroleptic action on the dose, test time, keeping the ovaries, estrogen levels depended. Cataleptogenic neuroleptic action after removal of the ovaries means weakened. Estrogen used against ovariectomy a tendency to reduce the total average daily cataleptogenic effect of haloperidol in dose of 0.5 mg/kg and to increase in dose of 1 mg/kg caused.

Key words: haloperidol's catalepsis, ovariectomy, synoestrolum, circadian differences.