

На правах рукописи

БУЛГАКОВА МАРИНА ДМИТРИЕВНА

**КАТАЛЕПТОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ГАЛОПЕРИДОЛА У КРЫС И
ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
СОСТОЯНИЯ ЯИЧНИКОВ И НАДПОЧЕЧНИКОВ**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

ВОЛГОГРАД – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Северо-Кавказский федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ: Манвелян Элеонора Аслибековна

доктор фармацевтических наук, профессор
кафедры медицинской биохимии,
клинической лабораторной диагностики
и фармации ФГАОУ ВПО «Северо-
Кавказский федеральный университет»

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Гарибова Таисия Леоновна

доктор биологических наук, профессор
главный научный сотрудник лаборатории
психофармакологии ФГБУ «НИИ
фармакологии имени В.В. Закусова»

Багметова Виктория Владимировна

доктор медицинских наук, научный
сотрудник НИИ фармакологии ГБОУ ВПО
«Волгоградский государственный
медицинский университет» Минздрава
России

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: ФГБУ «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения» Минздрава России

Защита состоится «___» _____ 2015 г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

Автореферат разослан «___» _____ 201__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Для успешного лечения психических заболеваний, число которых продолжает расти, необходим дальнейший анализ механизмов действия фармакологических средств с антипсихотической активностью (Александровский Ю.А., 2005, 2013; Чуркин А. А., Творогова Н. А., 2009; Van Os J., Kapur S., 2009; Ашер-Сванум Х. и соавт., 2012; Попов М.Ю., 2012). Особую актуальность приобретает детальное исследование специфической и побочной активности нейролептиков, в том числе стриатного механизма реализации действия нейролептиков (Батурин В.А., 1992; Арушанян Э.Б., 2008; Манвелян Э.А. и соавт., 2012) и возможная взаимосвязь стриатума и гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы (ГГЯС) в развитии их эффектов. С другой стороны, на действие антипсихотических средств и стриатную функцию очевидно влияние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) (Басенко С.Н., 1999; Самохвалова Т.Н., 1999). При этом, важным фактором, модифицирующим активность нейролептиков, является стресс-воздействие, как состояние гиперфункции ГГНС.

Следует обратить внимание на зависимость фармакологической активности названной группы препаратов от гендерной принадлежности (Манвелян Э., 2008; Cotton S. M. et al., 2009). Методами фармакоэпидемиологии установлены большая тяжесть и частота нейролептического синдрома у женщин, получающих «типичные» нейролептики, а также подтверждена высокая чувствительность пациенток к побочным эффектам антипсихотических средств (Манвелян Э., Батурин В., 2011). Однако при менопаузе половые различия в лекарственной чувствительности сглаживаются (McEwen B. S., 2002; Heitmiller D. R. et al., 2004; Kelly D.L., 2006; Грошев И. В., 2007; Riecher-Rossler A., Kulkarni J., 2011; Залуцкая Н.М., 2012).

На эффективности антипсихотических препаратов отражаются колебания уровня половых стероидов в женском организме, на протяжении жизни изменяющие активность нейроэндокринной и вегетативной нервной системы, влияющие на психоэмоциональное состояние и секрецию гормонов стресс-реакции (McEwen B. S., 2002; Колодийчук Е.В., 2004; Бабичев В. Н., 2005, 2006; Сапронов Н.С., Федотова Ю. О., 2009; Hayes E., 2012; Gogos A. et al., 2012).

С другой стороны, до сих пор до конца не ясен вопрос, опосредуются ли различные фармакологические свойства нейролептиков одним и тем же нейрохимическим механизмом или в реализации отдельных компонентов эффектов этих соединений участвуют разные системы (Carlson C. et al., 2003; Garner D.L., 2006; Novak T. et al., 2006; Hamamura T., Harada T., 2007; Арушанян Э.Б., 2008; Костюкова Е.Г., Мосолов С.Н., 2013; Andreasen N.C. et al., 2013). До конца не исследован структурный, морфо-функциональный уровень действия препаратов.

Литературные данные позволяют предположить, что на синаптическую дофаминергическую передачу влияние нейролептиков опосредуется фоном модулирующего гормонального воздействия (Щетинин Е.В., 1991; Батурин В.А., 1992; Самохвалова Т.Н., 1999; Арушанян Э.Б., 2008). Фармакоэпидемиологически установлены различия в эффективности нейролептиков у мужчин и женщин, большая выраженность осложнений нейролептической терапии в клинических условиях у пациенток с шизофренией; изменения в структуре и количестве назначений, развитии эффектов у овариоэктомированных женщин при шизофрении (Манвелян Э., Батурин В., 2011). Показана зависимость интенсивности галоперидоловой каталепсии от функционального состояния яичников в утренние и вечерние часы (Манвелян Э.А., 2008). Однако циркадианный фармакогенный ритм побочно-

го эффекта типичного нейролептика не исследован, хотя ритмические колебания активности психотропных препаратов высокочувствительны к изменениям гормонального фона. Яичники не являются ведущей железой в организме, влияние ГГЯС нельзя рассматривать изолированно, вне взаимосвязи с ГГНС, поскольку при утрате яичников их функции частично компенсируются изменением функциональной активности оси гипоталамус-надпочечники. Вклад в реализацию каталептогенного эффекта нейролептиков желез внутренней секреции яичников и надпочечников, роль их взаимного влияния на нигростриатную систему для возникновения нейролептической каталепсии у животных остается неизученным. Вместе с тем, данные сведения необходимы для понимания механизма действия антипсихотических препаратов.

Степень разработанности проблемы

Существенный вклад в изучение феномена нейролептической каталепсии, в том числе каталептогенного действия галоперидола, внесли ведущие российские и зарубежные ученые (Александровский Ю. А., Арушанян Э.Б., Батурин В.А., Щетинин Е.В., Манвелян Э.А., Волков В.П., Точиллов В.А., Кушнир О.Н., Полозова Т. М., Ретюнская М.В., Сурина Н. М., Boyers J., Bolam P., Costall B., Naylor R.J., Sachdev P., Tarsy D., Matthysse S., Snyder S.H. и др.). В развитии нейролептогенных экстрапирамидных нарушений с позиций нейрохимии и нейрофизиологии исследована роль чёрной субстанции и стриатума, однако участие других структур, вероятно, вовлекаемых в формирование каталепсии меньше изучено. Экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют о необходимости учёта большого числа нейромедиаторов в генезе лекарственного паркинсонизма и других экстрапирамидных расстройств. Кроме того, доказана роль нейроэндокринного взаимодействия в реализации эффектов нейропсихотропных средств. В ряде проведенных ранее исследований, в том числе на базе ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет», показано выраженное действие на эффекты психотропных средств, включая нейролептики, функционального состояния эндокринных желез (Манвелян Э.А., 2008; Манвелян Э.А. и соавт., 2013). Принимая во внимание существенное влияние нейроэндокринного взаимодействия на эффекты нейропсихотропных средств, актуальной представляется комплексная оценка вклада желез внутренней секреции в генез нейролептической каталепсии. С этих позиций интересным представляется исследование взаимоотношений гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипофизарно-гонадной систем, а именно, роли яичников и надпочечников в происхождении и развитии каталептогенной активности нейролептиков.

Цель исследования

Определить изменения каталептогенной активности галоперидола у крыс в зависимости от функционального состояния яичников и надпочечников.

Задачи исследования

1. Изучить суточный периодизм каталептогенной активности галоперидола у интактных и стрессированных самцов и самок крыс.
2. Выявить изменения каталептогенного эффекта галоперидола и его суточной динамики в течение эстрального цикла у самок крыс на фоне и без стресса.
3. Оценить действие овариоэктомии и сочетания стресса и овариоэктомии на суточный периодизм каталептогенного эффекта галоперидола у самок крыс в разных сроках после кастрации.
4. Определить влияние заместительной терапии синестролом на интенсивность галоперидоловой каталепсии и ее суточный ритм у самок с учетом сроков после кастрации и стресс-воздействия.
5. Изучить влияние односторонней адреналэктомии, а также сочетанной адренал- и оварио-

эктомии на выраженность галоперидоловой каталепсии у самок крыс с учетом стресс-воздействия.

6. Изучить морфологические и гистологические изменения надпочечника в условиях овариоэктомии, унилатеральной адреналэктомии изолированной и в сочетании с овариоэктомией.

Работа выполнена в рамках НИР ГОУ ВПО «Ставропольский государственный университет» – ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет» Министерства образования и науки, тема исследования утверждена решением Ученого Совета университета (протокол № 7 от 06.02.2009 г.).

Научная новизна исследования

В исследовании впервые:

- на основании экспериментов на животных в лабораторных условиях с использованием хронофармакологического подхода показан суточный периодизм в выраженности галоперидоловой каталепсии у самцов и самок крыс. Установлено изменение интенсивности каталепсии при стрессировании крыс, выраженность каталепсии также зависела от времени суток, половой принадлежности животных.

- выявлен суточный периодизм каталептогенного действия галоперидола в зависимости от функционального состояния яичников в течение эстрального цикла. Показана большая чувствительность самок к нейротропному эффекту нейролептика в проэструсе / эструсе, преимущественно, в светлые часы суток. При этом стрессирование ослабляет выраженность галоперидоловой каталепсии отчетливее в проэструсе / эструсе наиболее заметно в светлое время суток.

- установлено изменение циркадианного ритма каталептогенного эффекта нейролептика после овариоэктомии и стресс-воздействия у самок крыс. Овариоэктомия ослабляла среднесуточную выраженность галоперидоловой каталепсии у самок более выраженно в поздних, нежели ранних сроках после кастрации. Стрессирование овариоэктомизированных крыс, напротив, усиливало каталептогенную активность нейролептика, отчетливее в раннем периоде после овариоэктомии и при введении меньшей дозы лекарственного средства.

- показан суточный периодизм в действии синэстрола на каталептогенную активность галоперидола в двух исследованных дозах. При этом в условиях хронической эстрогенизации в ранних сроках после овариоэктомии каталепсия была более выражена в вечернее время, а в позднем периоде – в утренние часы.

- установлено, что после адреналэктомии ослаблялась интенсивность галоперидоловой каталепсии при введении нейролептика в дозе 0,5 мг/кг. Стрессирование в условиях унилатеральной адреналэктомии или комбинации адренал- и овариоэктомии потенцировало каталепсию у самок крыс на фоне галоперидола в дозе 0,5 мг/кг.

- выявлено, что адреналэктомия вызывает компенсаторную гипертрофию интактного надпочечника. Обнаружена диффузная гиперплазия всех слоев сохранившегося надпочечника при унилатеральной адреналэктомии. Если адреналэктомия выполнялась у овариоэктомизированных крыс, гипертрофия надпочечника была менее выраженной. При этом выявлялась диффузно-очаговая гипертрофия сохранившегося надпочечника с выраженной гиперплазией сетчатой зоны.

Научно-практическая значимость

Полученные данные раскрывают новые аспекты механизма действия нейролептических средств, показывая вовлеченность яичников и надпочечников в регуляцию суточного периодизма каталептогенного эффекта этих препаратов, наиболее отчетливо при стресс-воздействии.

Изучение циркадианной организации чувствительности мужского и женского организмов к каталептогенному влиянию галоперидола у экспериментальных животных позволило практически доказать вариативность реакций на нейролептические лекарственные

средства в зависимости от активности системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники-гонады.

Полученные результаты явились основой для рекомендаций по скринингу и исследованию нейрорепрессивных средств с учетом циркадианных ритмов в активности веществ, функционального состояния яичников и надпочечников, влияния стресс-факторов. Данные подтвердили важность хронофармакологической оценки изменения параметров организма в ответ на введение антипсихотических лекарственных средств, учитывая большую чувствительность и информативность подобного подхода.

Материалы исследования могут быть использованы в учебном процессе медицинских, фармацевтических вузов, биологических факультетов университетов при преподавании курсов фармакологии, патофизиологии, нейроэндокринологии, психиатрии, неврологии, общей физиологии, физиологии ВВД, хронофизиологии, хронофармакологии.

Реализация результатов исследования

Исследование было выполнено в рамках приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в РФ и перечня критических технологий РФ, утвержденных Президентом РФ Д.А. Медведевым 7 июля 2011 года № 899 «Науки о жизни» и «Биомедицинские и ветеринарные технологии»; Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями на 2007-2011 годы», подпрограммы «Психические расстройства» (постановление Правительства РФ от 10.05.07 г., № 280).

Материалы, изложенные в диссертации, используются в учебном процессе на специальных кафедрах Ставропольского государственного медицинского университета, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета, Северо-Кавказского федерального университета.

Методология и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами использованы современные информативные подходы, имеющиеся в СКФУ. В исследовании использован комплексный подход к изучению роли яичников и надпочечников в реализации каталептогенной активности галоперидола и ее циркадианной организации у крыс. Объектами исследования являлись белые крысы-самки и самцы линии Wistar, а также самки после овариоэктомии, адреналэктомии и сочетания оварио- и адреналэктомии в условиях стресса и без. Изучение изменения каталептогенной активности галоперидола проводили согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств (А.Н.Миронов, Н.Д.Бунятян, 2012) с использованием соответствующих методов статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Особенности циркадианной организации нейротропного эффекта галоперидола у особей разного пола зависимы от воздействия стресс-факторов, обусловлены вовлечением надпочечников и яичников в реализацию нежелательных лекарственных реакций организма.

2. Яичники вовлечены в реализацию циркадианной ритмики нейротропного эффекта галоперидола. Стресс усиливает ослабленный овариоэктомией каталептогенный эффект галоперидола, проявляющийся более выражено в ранних сроках после кастрации. Стресс в сочетании с эстрогенизацией при овариоэктомии усиливает каталепсию, отчетливее при введении меньшей дозы галоперидола в раннем периоде после кастрации.

3. Надпочечники вовлечены в реализацию каталептогенного действия нейрорепрессивных. После адреналэктомии изолированной и в сочетании со стрессом, овариоэктомией или в комбинации со стрессом и овариоэктомией ослабляется каталептогенная активность галоперидола в дозе 0,5 мг/кг. Стресс при адреналэктомии или комбинации

адренал- и овариоэктомии потенцирует галоперидоловую каталепсию у самок крыс.

Личный вклад

Автор самостоятельно выполнял эксперименты, осуществлял статистическую обработку полученных результатов, принимал непосредственное участие в обобщении, анализе данных и подготовке публикаций.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности результатов исследования подтверждается значительным объемом экспериментальных данных, применением соответствующего оборудования, адекватных общепринятых методов и критериев биостатистики, параметрических и непараметрических методов анализа результатов, обоснования и согласованности проведенных ранее исследований с полученными новыми данными.

Материалы диссертационного исследования были доложены

– на конференциях: научно-практической «Проблемы клинической фармакологии и моделирования в фармакологии и биомедицине» (Ростов-на-Дону, 2006); научно-практической с международным участием «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины» (Астрахань – Волгоград – Москва, 2006); Межрегиональной научной «Физиологические проблемы адаптации» (Ставрополь, 2008); VIII Всероссийской с международным участием «Нейроэндокринология – 2010» (Санкт-Петербург, 2010); 2-й Всероссийской научно-практической «Физиология адаптации» (Волгоград, 2010); 5-й Международной «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Москва, 2010); 54-й научной МФТИ "Проблемы фундаментальных и прикладных естественных и технических наук в современном информационном обществе" «Молекулярная и биологическая физика» (Москва, 2011); Всероссийской с международным участием «Физиологические процессы адаптации» (Ставрополь, 2013); научно-практической «Университетская наука – региону» (Ставрополь, 2006 – 2013).

– XIV Международном симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2009);

– съездах фармакологов России: III – «Фармакология – практическому здравоохранению» (Санкт-Петербург, 2007); IV – «Инновации в современной фармакологии» (Казань, 2012);

– XV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2008).

По результатам исследования в печати опубликовано 19 работ, в том числе, монография, 7 статей, из них 4 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 170 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, главы собственных результатов исследований, обсуждения, заключения, выводов, научно-практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический список включает 366 источников: 195 иностранных и 171 отечественный. Диссертация иллюстрирована 36 рисунками, 2 таблицами и схемой.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе приведены данные исследований отечественных и зарубежных авторов о роли яичников и надпочечников в развитии нейротропных эффектов нейролептических средств. В первом и втором разделах освещены вопросы феномена нейролептической каталепсии и взаимоотношений гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипоталамо-гипофизарно-гонадной систем (ГГГС). Обсуждены гендерные нейрохимические и психофизиологические отличия организмов, приведены сведения о различиях в

активности нейролептических препаратов, зависимых от фактора пола, в третьем и четвертом разделах. В пятом и шестом разделах приведены сведения о фармакологических эффектах эстрогенов на ЦНС и особенности развития психофармакологического ответа в зависимости от состояния женского организма. С учетом анализа данных литературы высказано предположение о возможной вовлеченности яичников и надпочечников в реализацию эффектов антипсихотических препаратов. Вероятно, надпочечники играют роль вторичного звена в опосредовании влияния яичников, ГГНС выступает как модулятор ГТГС. Предложено с применением хронофармакологического подхода изучить особенности нейротропного влияния галоперидола в экспериментальных условиях, позволяющих моделировать разные уровни функциональной активности ГТГС, ГГНС, различные варианты патологических состояний (стресс, овариоэктомия, эстрогенизация, разные сроки после гонадэктомии, адреналэктомия, сочетание адренал- и овариоэктомии), оказывающих существенное влияние на состояние ЦНС и nigro-стриатной системы.

Во второй главе диссертации представлены материалы и методы исследования. Серии исследований выполнены на экспериментальных животных (1166 половозрелых белых крыс – самцов и самок линии Wistar (питомник лабораторных животных ФГПУ «Рапполово» РАМН (Ленинградская область)). Животные содержались при естественном освещении, стандартной температуре в виварии. Уход, кормление осуществлялись в привычном для животных режиме вивария в период с 8 до 10 ч согласно рекомендациям национального стандарта РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (The European Convention, 1986), с соблюдением пунктов «Приказа МЗ РФ № 750», рекомендаций ВОЗ по экспериментальной работе с использованием животных (Г.П.Червонская, Г.П.Панкратова, Л.Л.Миронова, 1998). Животным был обеспечен свободный доступ к пище, воде. Экспериментальная часть работы выполнена в соответствии с заключением этической экспертизы: протокол № 36 от 23 января 2014 г.

Дизайн исследования:

Методики Животные	Хронофармакологические исследования	Оценка действия в разных стадиях ЭЦ	Морфологические исследования надпочечника
Интактные и стрессированные самцы (n=237)	+		
Интактные и стрессированные самки (n=228)	+	+	
ОЭ самки в ранних сроках после кастрации со стрессом и без (n=218)	+		
ОЭ самки в поздних сроках после кастрации со стрессом и без (n=140)	+		
ОЭ самки + синэстрол в ранних сроках после кастрации со стрессом и без (n=143)	+		
ОЭ самки + синэстрол в поздних сроках после кастрации со стрессом и без (n=140)	+		+
АЭ самки со стрессом и без (n=32)			+
ОЭ+АЭ самки со стрессом и без (n=28)			+
Всего: 1166			

У самок определяли фазы эстрального цикла (ЭЦ), исследуя влагалищные мазки (Кабак Я. И., 1968). Мазки 5-6 минут фиксировали смесью (1:1) эфира диэтилового и

спирта этилового (ПХФК ОАО «Медхимпром», Россия), окрашивая далее красителем метиленовым синим (ОАО ПО «ТОС», Московская область). Краситель смывали водой спустя 20 мин, препарат на 1-2 часа оставляли для подсушки на воздухе. Под микроскопом Микмед-2 (ОАО «ЛМО», г. Санкт-Петербург) изучали мазок, определяя фазы ЭЦ по составу клеток содержимого влагалища в начале опыта. В дальнейшем сравнивали полученные результаты в фазах ЭЦ проэструс / эструс и диэструс $\frac{1}{2}$ (Колодийчук Е. В., 2004, Манвелян Э., Батурин В., 2011; Манвелян Э.А. и соавт., 2013, 2014).

Тотальная овариоэктомия, односторонняя адреналэктомия, сочетание оварио- и адреналэктомии проводились под эфирным наркозом (ПХФК ОАО «Медхимпром», Россия) согласно рекомендациям Я. М. Кабака (1968), Буреш Я. и соавт. (1991). При **унилатеральной адреналэктомии** на операционном станке животное закрепляли лежащим на животе, выстригали шерсть в области слева от позвоночника, обрабатывали 5%-ным спиртовым раствором йода (ЗАО «Производственная фармацевтическая компания «Обновление», Новосибирская обл.) операционное поле. Слева от позвоночника на расстоянии 1 см разрезали кожу и мышцы, отступив книзу от реберной дуги на 1,5 см. Мышечный разрез расширяли крючками, анатомическим пинцетом захватывали левый надпочечник с окружающей жировой тканью и тяжем из соединительной ткани, удаляли, далее зашивали послойно операционную рану. Кожный шов обрабатывали 5%-ным спиртовым раствором йода.

При проведении **двусторонней овариоэктомии** у фиксированной самки делали разрез (4-5 см) по средней линии живота. Яичник находили, определив рог матки (правый или левый) и следуя по яйцеводу. Наложив лигатуру на верхнюю часть яйцевода и поддерживающую связку, удаляли яичник. Подобным образом удаляли другой яичник. Далее ушивали мышцы, кожу, обрабатывали кожный шов 5%-ным спиртовым раствором йода.

Сочетание адренал- и овариоэктомии. Для оценки взаимоотношений ГГТС и ГГНС по методикам, описанным выше, у животных сначала выполнялась овариоэктомия, а спустя неделю проводилась адреналэктомия.

Оперированных адреналэктомированных (АЭ), овариоэктомированных (ОЭ), оварио- и адреналэктомированных (АОЭ) самок помещали в чистую клетку, в последующем каждый день однократно обрабатывали рану 1%-ным спиртовым раствором бриллиантового зеленого (Производственная фармацевтическая компания «Обновление», Новосибирская обл.). Спустя 7-8 дней рана заживала. Все запланированные эксперименты на АЭ самках начинали спустя неделю после операции, на ОЭ самках – спустя 2 недели (в ранних сроках) и 6 месяцев (в позднем периоде), при сочетании адренал- и овариоэктомии – спустя 2 недели после оперативных вмешательств.

Контрольная ложная операция. Ложнооперированные (ЛО) особи являлись контрольными по отношению к оперированным самкам. У групп животных – ЛО соответственно для самок с кастрацией, адреналэктомией, адренал- и овариоэктомией – при ложной операции проводили разрез соответствующей области и ушивали ее. Уход за ЛО крысами после операций, условия содержания были сходны с таковыми для самок с овариоэктомией, адреналэктомией, адренал- и овариоэктомией.

Стрессирование проводили, подвешивая животное за дорсальную кожную складку в течение часа за три часа до начала тестирования (Спасов А.А., Богачев Н.А., 1985). Отсутствием нарушений со стороны эстрального цикла при подобном стресс-воздействии определялся выбор методики (Басенко С.Н., 1999; Колодийчук Е.В., 2004). Спустя 2 часа после

окончания стресса у животных проводили оценку интенсивности каталепсии.

Морфометрический анализ включал оценку изменения массы и длины, светооптическое и электронно-микроскопическое исследования сохранившегося надпочечника после оварио-, адренал-, а также сочетания оварио- и адреналэктомии (Меркулов Г.А., 1969; Тимченко Л.Д., Вакулин В.Н., 2005). Животных после экспериментов декапитировали в первой половине дня. В последующем вскрывали брюшную полость, выделяли надпочечник. После отделения от жировой капсулы, визуально оценивали состояние надпочечников, их взвешивали на весах лабораторных ВСН-3 (ООО «Вессервис-Нева», г. Санкт-Петербург), определяли длину миллиметровой линейкой (BRAUBERG «Quantum»), фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина 10% (Первая лабораторная компания, г. Санкт-Петербург). Парафиновые срезы надпочечника окрашивали гематоксилином и эозином (ООО «Научно-производственная фирма «БликМедиклПродакшн», г. Москва). Проводили светооптическое и морфометрическое исследование (измерение ширины коры надпочечника) в универсальном микроскопе «Микмед-5У» (ОАО «ЛМО», г. Санкт-Петербург). Микрофотографирование осуществлялось при помощи комплекса визуализации изображения, состоящего из микроскопа «Микмед-5У» и цифровой фотокамеры «Olympus-5060» («Olympus Corporation Shinjuku Monolith», Japan). Общий план строения надпочечников крыс линии Вистар соответствует таковому для всех млекопитающих.

Оценивали действие типичного нейролептика галоперидола на модели каталепсии – «поза лектора». (Хабриев Р.У., 2005; Воронина Т. А. с соавт., 2008; Манвелян Э., Батурин В., 2011; Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., 2012). Определяли длительность удержания крысой (с) приданного вертикального положения на опоре: 1-й и 2-й латентный периоды (ЛП) – время, за которое животное убирало одну и вторую лапу соответственно. В течение одного эксперимента у каждой особи проводили десять определений ЛП с помощью секундомера (Hangzhou Chitai Electronic Company Limited).

Состояние каталепсии формировали, применяя галоперидол (Gedeon Richter, Венгрия) в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг внутрибрюшинно за 1 час до начала тестирования. Выбор доз был основан на анализе данных литературы (Арушанян Э.Б., 2008; Манвелян Э., Батурин В., 2011) и предварительного проведенных экспериментов для выявления пороговой и эффективной каталептогенных доз (титрование доз).

Для устранения нехватки эндогенных эстрогенов в условиях кастрации самкам вводили масляный раствор синэстрола (ОАО «Дальхимфарм», г. Хабаровск) в дозе 0,1 мг/кг внутрибрюшинно ежедневно однократно в течение 14 дней в ранних и поздних сроках после овариоэктомии (Колодийчук Е.В., 2004; Манвелян Э.А., 2008). В группах ОЭ самок, получавших стресс-воздействие, синэстрол в последний день инъектировался за 6 часов до тестирования.

При сравнении эффектов лекарственных средств у особей разного пола использовали средние арифметические данные по итогам полного тестирования. Проводили относительный сравнительный анализ, в том числе вычисляя средние значения ЛП для каждого временного интервала тестирования в течение суток (n=20), а также величину ЛП в среднем за сутки (n=160) – среднесуточный ЛП. Для наилучшего определения различий в действии нейролептика у самцов и самок, а также с учетом неодинаковой чувствительности к психотропным препаратам на протяжении суток (Lynch H.J., Deng M. H., 1986; Манвелян Э. А. и соавт., 2012) использовали хронобиологический подход. Каждое тестирование (разные группы животных) начинали в 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3 и 6 ч с продолжительностью процедуры изучения каталепсии для групп крыс 1-1,5 часа.

В ходе обработки и анализа результатов сопоставляли показатели опытных групп с контрольными и исходными данными. Результаты тестирования особей после оварио- и адреналэктомии сравнивались с данными группы ложнооперированных животных.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя стандартные компьютерные программы «Excel» (2010) в среде Windows, пакеты прикладных программ Primer of Biostatistics (Version 4.03, by Stanton A. Glantz), BioStat 2009 Professional 5.8.4. Для всех показателей выполнялась описательная статистика, при проверке данных на нормальность распределения использовался W-критерий Шапиро-Уилка. Применяли стандартные параметрические и непараметрические критерии: общепринятые t-критерий Стьюдента, критерии Манна-Уитни, Уилкоксона (Гланц С., 1999; Реброва О.Ю., 2006). Для характеристики циркадианных ритмов каталепсии был проведен косинор-анализ (Батурин В.А., 1992). Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

В третьей главе представлены результаты исследования.

1. Оценка особенностей фармакологического эффекта антипсихотического лекарственного препарата у экспериментальных животных

Интенсивность галоперидоловой каталепсии у самцов и самок крыс

Установлены отличия в интенсивности каталептогенного эффекта нейролептика у самцов и самок в зависимости от дозы и времени суток. Так, галоперидол на самок крыс оказывал более выраженное каталептогенное действие, нежели на самцов (Рисунок 1, 2 А). При использовании препарата в дозе 0,5 мг/кг среднесуточный ЛП составил: самцы: $n=160$; $27,34 \pm 3,51$ с; самки: $n=160$; $37,12 \pm 4,49$ с; при применении в дозе 1 мг/кг: самцы: $n=160$; $51,23 \pm 2,7$ с; самки: $n=160$; $89,9 \pm 2,34$ с. Существенные половые различия выявлены были в дневные и вечерние часы при применении 0,5 мг/кг галоперидола, а также в ранние ночные часы при использовании нейролептика в дозе 1 мг/кг.

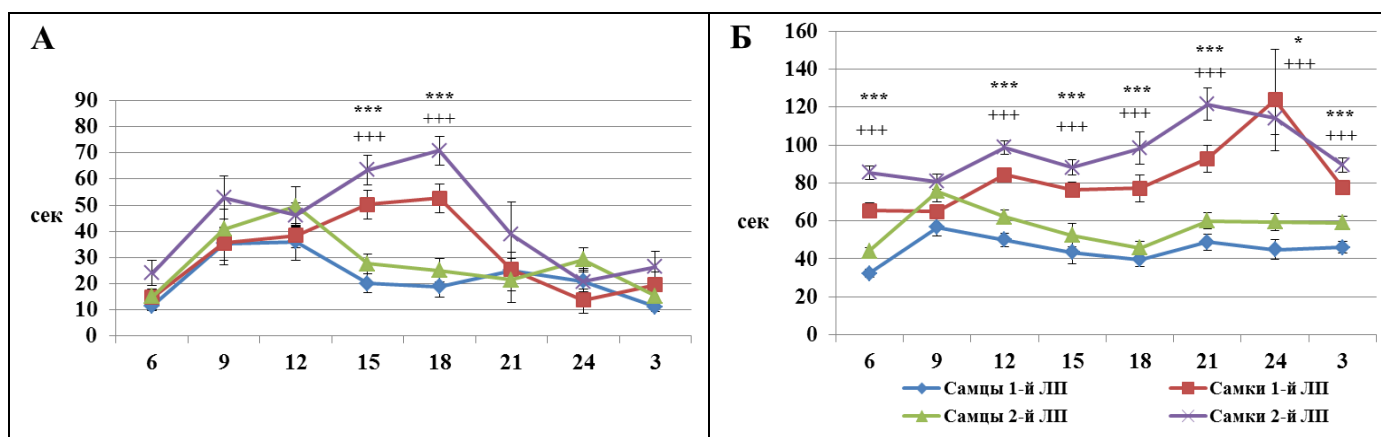


Рисунок 1 – Выраженность каталептогенного эффекта галоперидола у крыс - самцов и самок

Ось абсцисс – время начала тестирования (час); ось ординат (с) – ЛП самцов и самок, получавших 0,5 (А) и 1 мг/кг (Б) галоперидола. Отличия статистически значимы при сравнении первого (*) и второго (+) ЛП между группами самцов и самок: * (+) – $P < 0,05$; ** (++) – $P < 0,01$; *** (+++) – $P < 0,001$ (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

Результаты согласуются с наблюдениями о большей тяжести и частоте нейролептического синдрома у женщин, получавших лечение «типичными» нейролептическими средствами (Манвелян Э. А., 2008; Манвелян Э. А., Булгакова М.Д., 2010, 2011; Manvelian E., Baturin B., 2006, 2011)

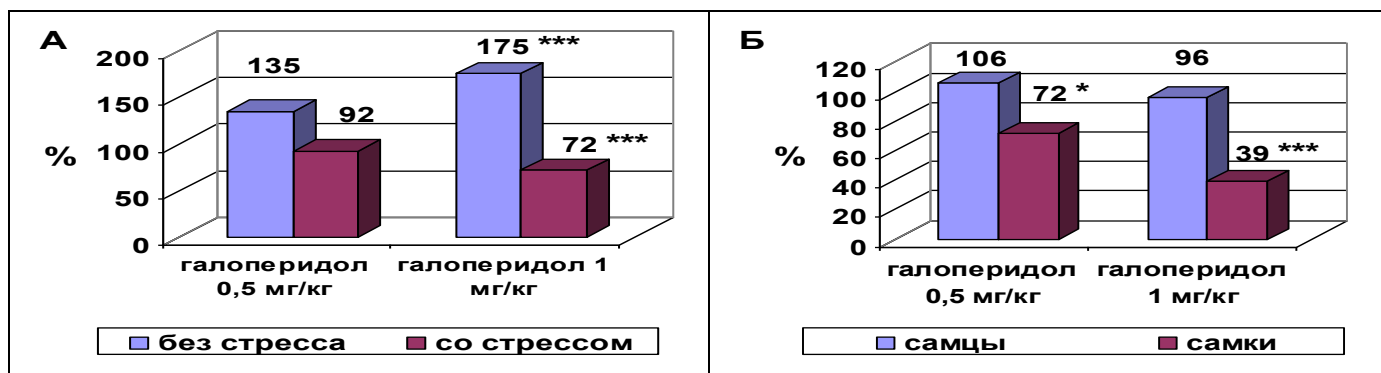


Рисунок 2 – Изменение выраженности галоперидоловой каталепсии у самцов и самок крыс без и после стрессирования

А: Ось ординат – изменение среднесуточных ЛП самок крыс (%) относительно среднесуточных ЛП самцов крыс без и после стресса, принятых за 100%.

Б: Ось ординат – изменение среднесуточных ЛП животных, подвергнутых стрессированию (%), относительно среднесуточных ЛП соответственно самцов и самок крыс без стресс-воздействия, принятых за 100%. Изменения статистически значимы при * – $P < 0,05$; *** – $P < 0,001$ (критерий Стьюдента).

Различия в эффектах галоперидола были установлены у самок животных в зависимости от колебаний уровня половых стероидов в разных стадиях ЭЦ (Рисунок 3). Галоперидол оказывал более выраженное каталептогенное действие у самок в проэструсе / эструсе преимущественно в светлое время суток.

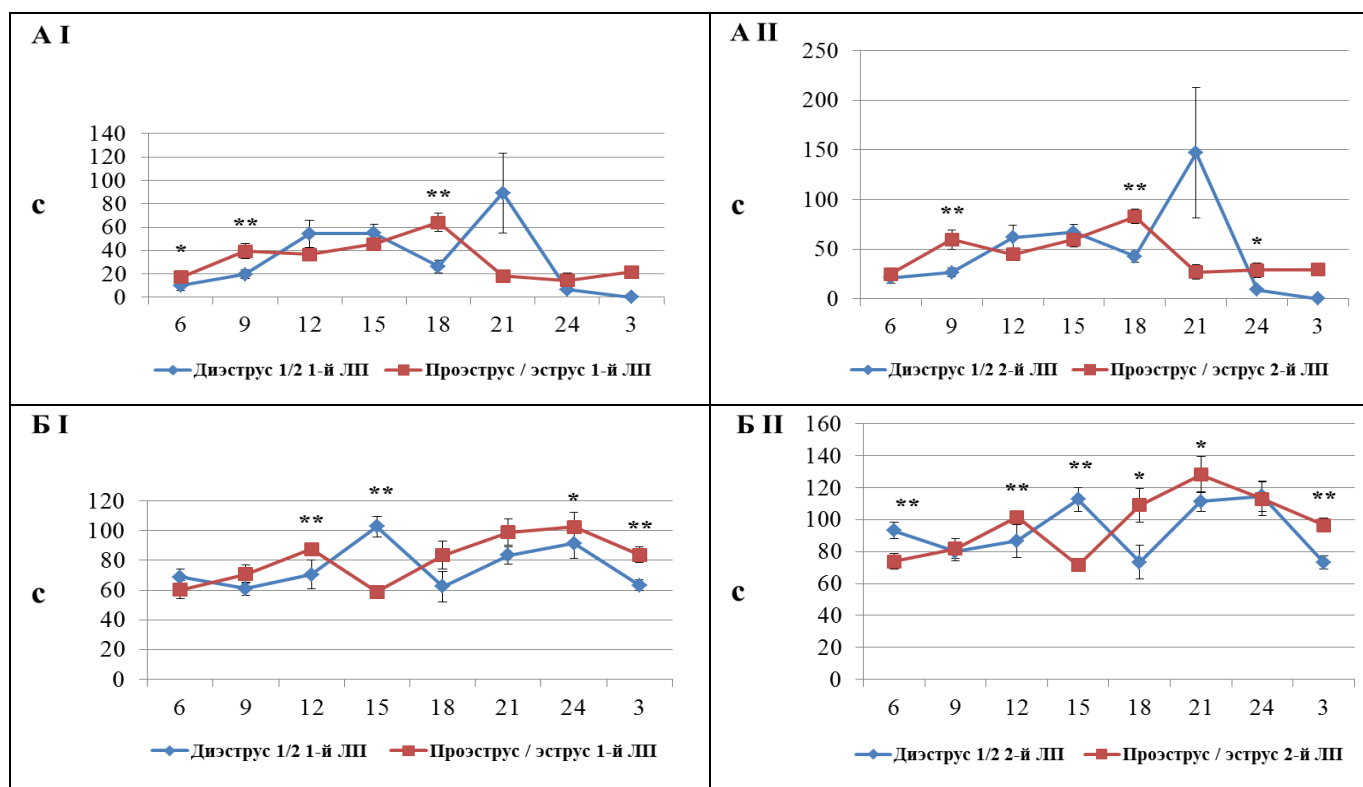


Рисунок 3 – Каталептогенная активность галоперидола в разных стадиях эстрального цикла у крыс-самок

Ось абсцисс – время начала тестирования (час), ось ординат (с) – первый (I) и второй (II) ЛП.

А (I) – ЛП первый после введения галоперидола в дозе 0,5 мг/кг; **А(II)** – ЛП второй после введения галоперидола в дозе 0,5 мг/кг. **Б (I)** – ЛП первый после введения галоперидола в дозе 1 мг/кг; **Б (II)** – ЛП второй после введения галоперидола в дозе 1 мг/кг. Статистически значимые отличия в разных стадиях эстрального цикла при: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

Стрессирование заметно влияло на каталептогенный эффект галоперидола у самок, существенно снижая выраженность каталепсии (при введении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг: $26,75 \pm 2,34$ с; $n=160$, 72,1% ($p<0,05$) (100 % – ЛП интактных самок без стресса); при введении галоперидола в дозе 1 мг/кг: $35,26 \pm 2,32$ с; $n=160$; 39,3%; ($p<0,001$). У стрессированных самцов на фоне 0,5 мг/кг галоперидола среднесуточный ЛП был равен: $29,05 \pm 2,51$ с; $n=160$, 106% (100 % – ЛП интактных самцов без стресса); при введении препарата в дозе 1 мг/кг: $49,25 \pm 2,76$ с; $n=160$; 96,1%. Заметные половые отличия в нейротропном действии препарата после стрессирования выявлялись в дневные и ранние ночные часы (Рисунок 2 Б, 4).

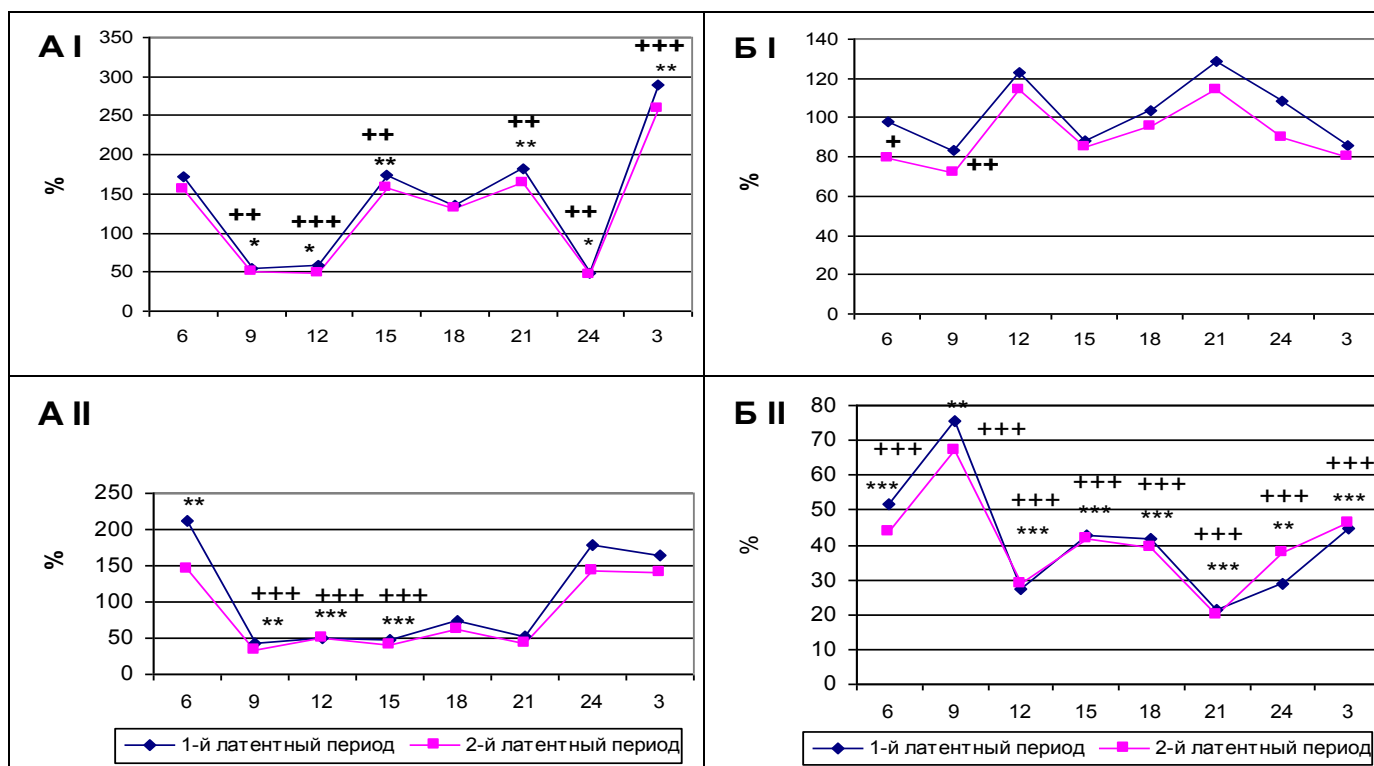


Рисунок 4 – Изменение интенсивности галоперидоловой каталепсии у стрессированных самцов и самок крыс

Ось абсцисс – время начала тестирования (час); ось ординат – изменение (%) ЛП стрессированных самцов (I) и самок (II) при применении галоперидола в дозах 0,5 (А) и 1 мг/кг (Б) (первый и второй) относительно показателей ЛП соответственно не стрессированных самцов и самок, принятых за 100%. Отличия статистически значимы при сравнении первого (*) и второго (+) ЛП: * (+) – $P < 0,05$; ** (++) – $P < 0,01$; *** (+++) – $P < 0,001$ (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

Ослабление интенсивности галоперидоловой каталепсии стрессом у самок крыс наблюдалось и в зависимости от стадии ЭЦ. Особенно заметное стресс-индуцированное ограничение каталептогенного эффекта нейролептика происходило в фазу проэструса / эструса, наиболее выражено в светлое время суток (Рисунок 5). После стресса среднесуточный ЛП при введении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг в диэструсе $\frac{1}{2}$ ограничивался до 63,1%, в проэструсе / эструсе статистически значимо снижался до 55,1% ($p<0,01$) по сравнению с данными особей в соответствующей стадии ЭЦ, не подвергнутых стресс-воздействию (приняты за 100%).

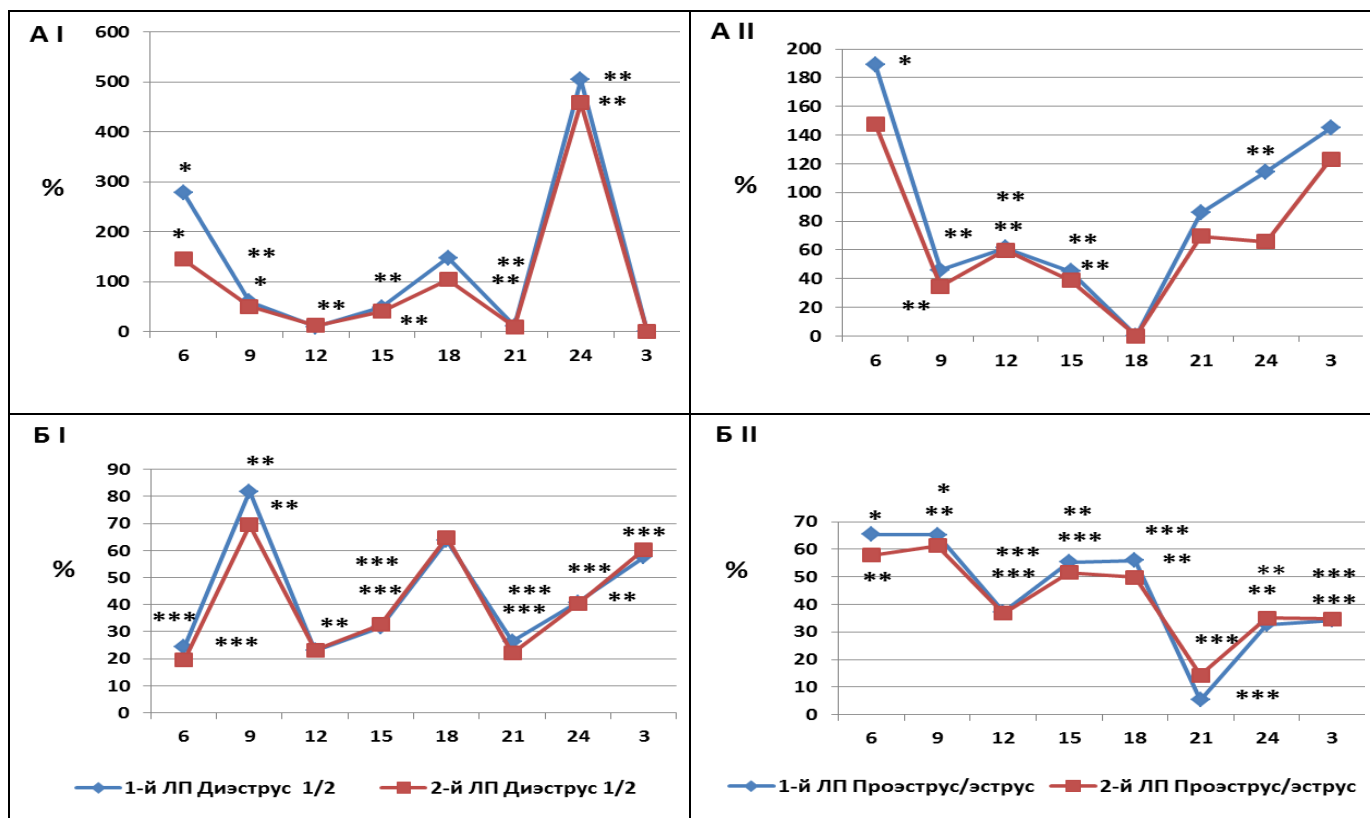


Рисунок 5 – Изменение каталептогенного действия галоперидола у самок крыс под воздействием стресса в разных стадиях эстрального цикла

А – галоперидол – 0,5 мг/кг, Б – галоперидол – 1 мг/кг. I – стадия диэструс ½, II – стадия проэструс / эструс. Ось абсцисс – время тестирования, ось ординат – изменение (%) ЛП (первый и второй) относительно ЛП самок без стресса в соответствующей стадии ЭЦ, принятых за 100%. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

Изменение выраженности галоперидоловой катаlepsии у самок животных в ранних и поздних периодах после овариоэктомии

Статистически значимых отличий между показателями ЛО и интактных самок не было выявлено, все последующие сравнения ЛП оперированных самок проводили с данными интактных особей. В ранних сроках после овариоэктомии ослаблялось каталептогенное влияние галоперидола (Рисунок 6, А). Среднесуточный ЛП у ОЭ самок при введении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг составил $36,15 \pm 5,92$ с; $n=160$; в дозе 1 мг/кг – $82,64 \pm 3,88$ с, $n=160$. Стресс при кастрации, напротив, заметно усиливал галоперидоловую катаlepsию у самок крыс. Среднесуточный ЛП у ОЭ самок со стрессом на фоне галоперидола в дозе 0,5 мг/кг составил: $106,12 \pm 7,09$ с; $n=160$; в дозе 1 мг/кг – $144,45 \pm 6,17$ с; $n=160$. Наиболее отчетливое повышение на фоне стресса каталептогенной активности препарата в дозе 0,5 мг/кг на протяжении суток отмечалось в 21 час, а при введении в дозе 1 мг/кг – рано утром и днем – в светлое время суток (Рисунок 6, А, Б; 7). После стресса и кастрации суточный максимум каталептогенного эффекта нейролептика у самок смещался.

Среднесуточные значения выраженности каталептогенного действия нейролептика у крыс в поздних сроках после кастрации были ниже, чем у ОЭ самок в раннем периоде и у интактных самок (среднесуточный ЛП при введении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг: $23,58 \pm 1,67$ с; $n=160$; на фоне галоперидола в дозе 1 мг/кг: $79,1 \pm 2,26$ с; $n=160$). При этом ограничение интенсивности катаlepsии в позднем периоде было более выраженным, нежели в ранних сроках после овариоэктомии (Рисунок 8).

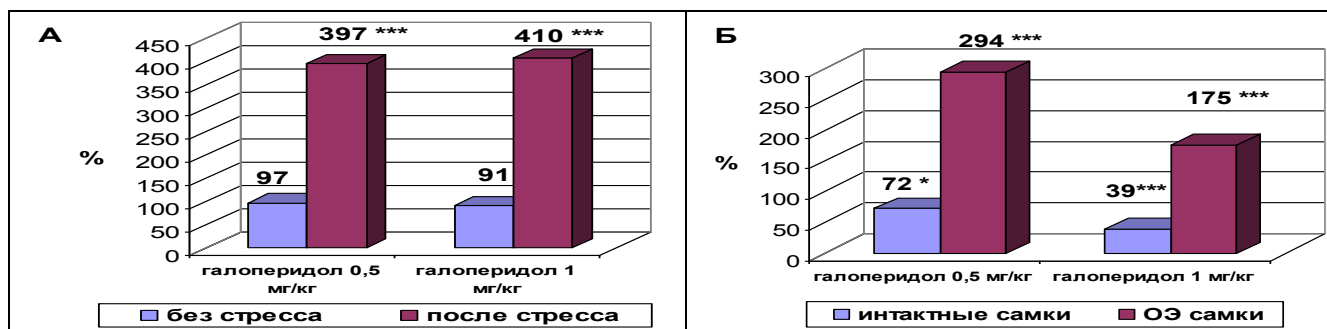


Рисунок 6 – Изменение каталептогенного эффекта галоперидола у интактных и овариоэктомированных самок крыс без и после стресс-воздействия

А: Изменение каталептогенного эффекта галоперидола у кастрированных самок без и после стресса. Ось ординат – изменение (%) среднесуточного ЛП самок относительно среднесуточных ЛП самок крыс с сохранными гонадами соответственно без и после стресса, принятых за 100%.

Б: Изменение каталептогенной активности галоперидола у кастрированных самок и самок с сохранными гонадами после стресса. Ось ординат – изменение (%) среднесуточного ЛП самок относительно среднесуточных ЛП соответственно самок с сохранными гонадами и ОЭ самок без стресса, принятых за 100%. *** – $P < 0,001$ (критерий Стьюдента).

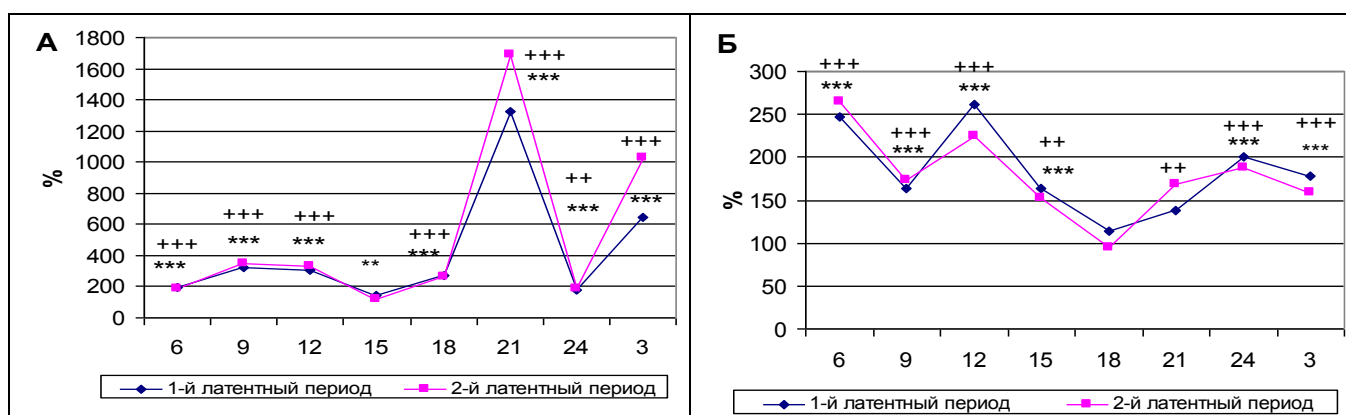


Рисунок 7 – Циркадианные различия каталептогенного действия галоперидола у овариоэктомированных самок крыс, подвергнутых стрессированию

Ось абсцисс – время начала тестирования (час). Ось ординат – изменение (%) ЛП стрессированных ОЭ самок, получавших галоперидол в дозах 0,5 мг/кг (А) и 1 мг/кг (Б) (первый и второй ЛП) относительно показателей ЛП ОЭ самок без стресса, принятых за 100%. Отличия статистически значимы при сравнении первого (*) и второго (+) ЛП: ** (++) – $P < 0,01$; *** (++) – $P < 0,001$ (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

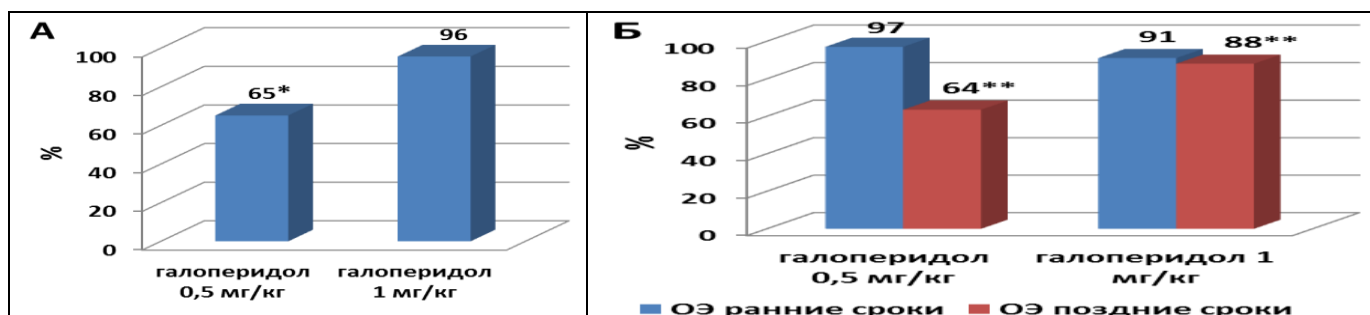


Рисунок 8 – Изменение каталептогенного эффекта галоперидола у овариоэктомированных самок животных в поздних периодах после гонадэктомии

А: Изменение интенсивности галоперидоловой катаlepsии у самок крыс в поздних сроках после кастрации. Ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП ОЭ самок в поздних сроках после кастрации относительно среднесуточных ЛП ОЭ самок в ранних сроках после овариоэктомии, принятых за 100%. **Б:** Интенсивность галоперидоловой катаlepsии у ОЭ самок в ранних и поздних периодах после гонадэктомии. Ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП ОЭ самок в ранних и поздних сроках после кастрации относительно среднесуточных ЛП интактных самок, принятых за 100%. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ (критерий Стьюдента).

Стрессирование в поздних сроках после кастрации, так же, как и в раннем периоде, усиливало галоперидоловую (0,5 мг/кг) каталепсию у самок крыс (среднесуточный ЛП при введении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг: $38,96 \pm 2,63$ с; $n=160$; на фоне галоперидола в дозе 1 мг/кг: $144,45 \pm 6,17$ с; $n=160$). Однако в поздних сроках каталепсия на фоне стресса была почти вдвое менее интенсивна, нежели в раннем периоде овариоэктомии. При этом потенцирующее действие стресса более чем в 1,5 раза было сильнее при использовании нейролептика в меньшей дозе (0,5 мг/кг) (Рисунок 9).

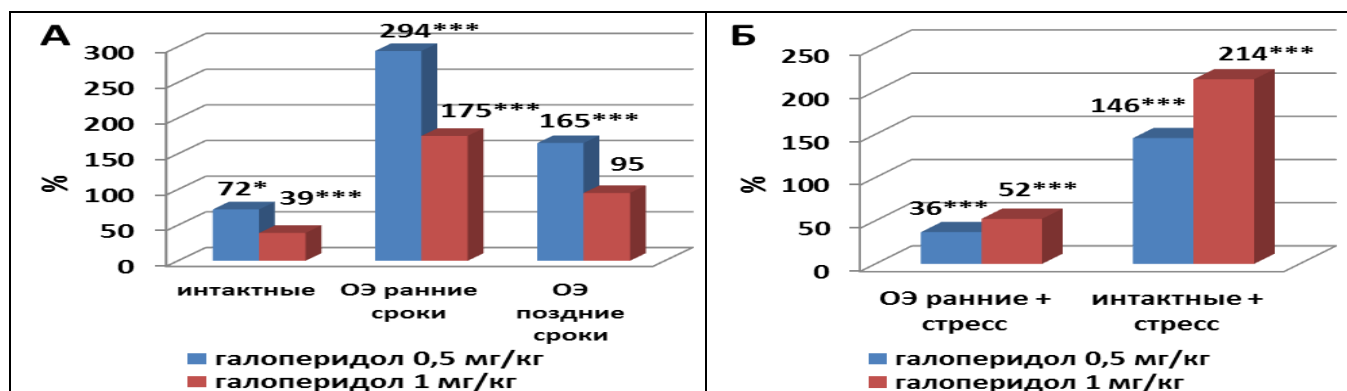


Рисунок 9 – Влияние стресса на каталептогенное действие галоперидола у интактных и овариоэктомированных самок в ранних и поздних периодах после гонадэктомии

А: ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП стрессированных самок с сохранными гонадами и ОЭ самок в ранних и поздних периодах после кастрации относительно среднесуточных ЛП соответственно нестрессированных интактных и ОЭ самок в ранних и поздних сроках после овариоэктомии, принятых за 100%. **Б:** ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП стрессированных ОЭ самок в поздних сроках после кастрации относительно среднесуточных ЛП стрессированных ОЭ в ранних сроках после кастрации и интактных самок, принятых за 100%. * – $P < 0,05$; *** – $P < 0,001$ (критерии Стьюдента).

Изменение каталептогенной активности галоперидола у овариоэктомированных самок животных при хронической эстрогенизации

В ранних и поздних периодах после овариоэктомии компенсирующие свойства синэстрола в отношении интенсивности каталепсии зависели от использованной дозы препарата, применения стресс-воздействия, времени суток. В раннем периоде после кастрации и при эстрогенизации частично восстанавливалась каталептогенная активность нейролептика, заметно при использовании в дозе 0,5 мг/кг в вечернее время (Рисунок 9, 10). Потенцирующее действие синэстрола в раннем периоде отчетливо проявлялось в отношении галоперидола в большей дозе (среднесуточный ЛП эстрогенизированных ОЭ самок: $100,2 \pm 12,1$ с; $n=160$). Вместе с тем, синэстрол оказывал и угнетающее действие, более выражено при введении меньшей дозы нейролептика преимущественно в светлое время суток (среднесуточный ЛП эстрогенизированных ОЭ самок: $21,43 \pm 5,27$ с; $n=160$).

После овариоэктомии в позднем периоде среднесуточная интенсивность галоперидоловой (1 мг/кг) каталепсии у эстрогенизированных самок была ниже, чем у особей в раннем периоде после кастрации и у интактных самок ($68,2 \pm 2,89$ с; $n=160$) (Рисунок 11). Вместе с тем, чувствительность к нейролептику при использовании в меньшей дозе повышалась на фоне эстрогенного препарата. Вероятно, в поздних сроках после овариоэктомии компенсаторные механизмы организма частично восполняли вызванный кастрацией дефицит эстрогенов (Федотова Ю. О., 2008).

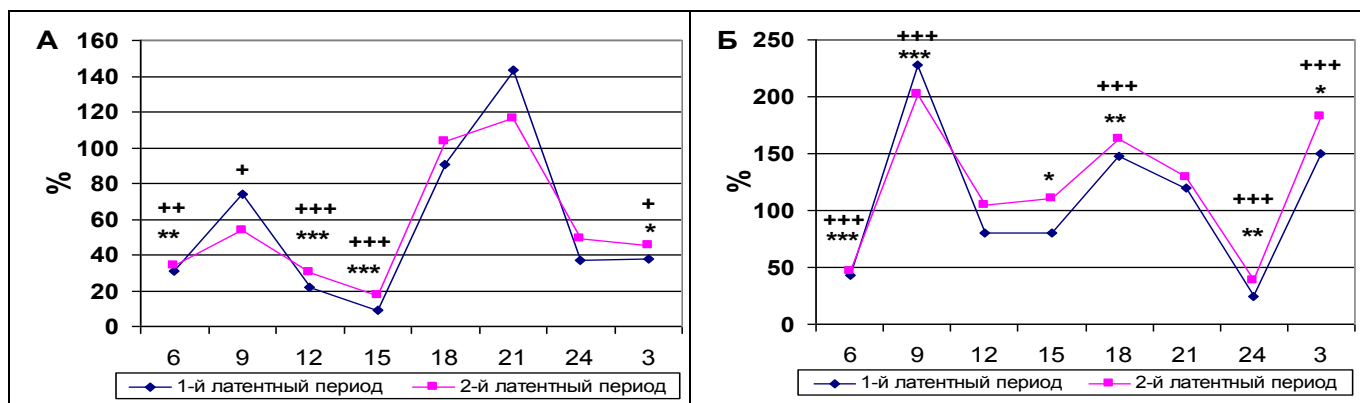


Рисунок 10 – Циркадианные изменения каталептогенного действия галоперидола у овариоэктомизированных эстрогенизированных самок по сравнению с данными интактных самок крыс. Ось абсцисс – время начала тестирования (час); ось ординат – изменение (%) ЛП ЭОЭ самок на фоне галоперидола 0,5 (А) и 1 мг/кг (Б) относительно ЛП интактных самок, принятых за 100%. Отличия статистически значимы при сравнении первого (*) и второго (+) ЛП: * (+) – $P < 0,05$; ** (++) – $P < 0,01$; *** (+++) – $P < 0,001$ (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

На фоне сочетанного применения с синэстролом выраженность эффекта галоперидола повышалась в позднем периоде после овариоэктомии преимущественно в утренние часы, восстанавливаясь до уровня интактных самок, что, возможно, связано с потенцирующим влиянием эстрогенного препарата. В вечернее время эффект нейролептика при комбинации с синэстролом ограничивался.

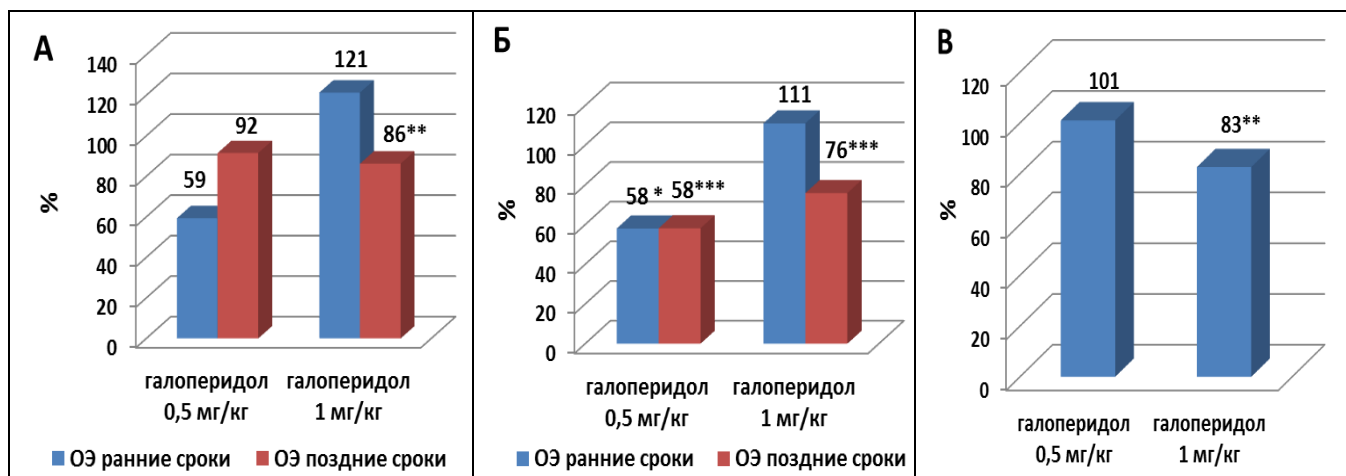
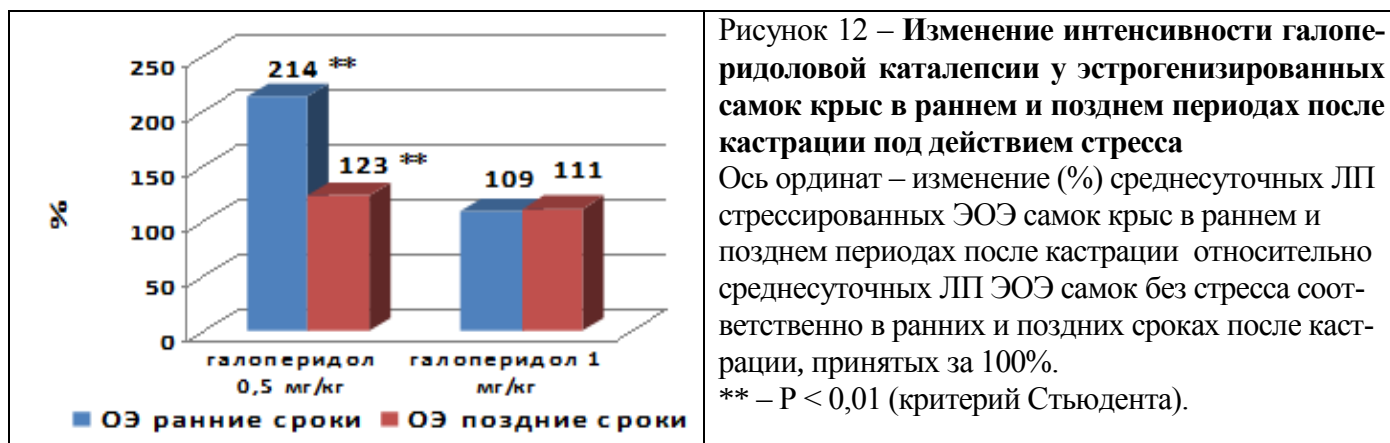


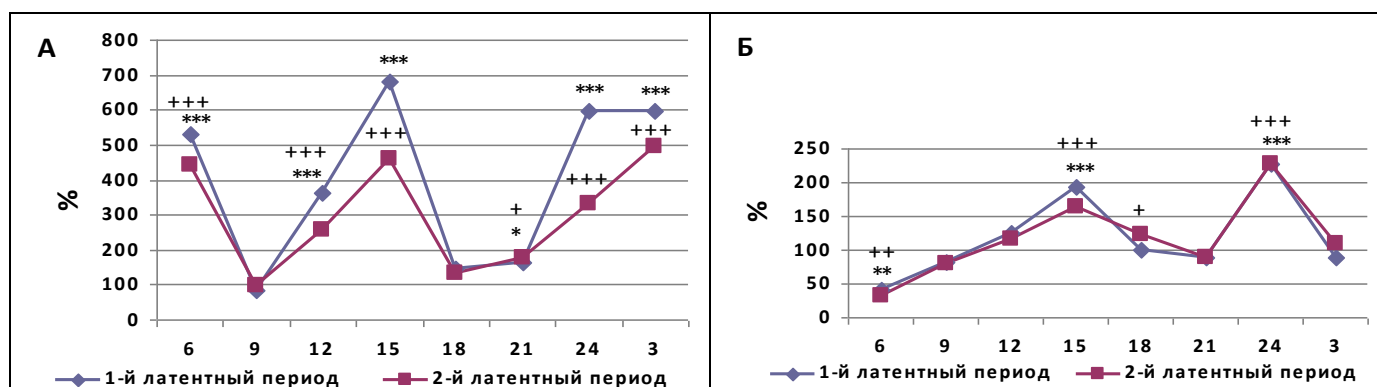
Рисунок 11 – Изменение каталептогенного действия галоперидола у овариоэктомизированных самок, эстрогенизированных в раннем и позднем периодах после кастрации.

А: ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП ЭОЭ самок в раннем и позднем периодах после кастрации относительно среднесуточных ЛП неэстрогенизированных ОЭ самок соответственно в ранних и поздних сроках после кастрации, принятых за 100%. **Б:** ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП ЭОЭ самок в раннем и позднем периодах после кастрации, относительно среднесуточных ЛП интактных самок животных, принятых за 100%. **В:** ось ординат – изменение (%) среднесуточных ЛП ЭОЭ самок крыс в поздних сроках после кастрации, относительно среднесуточных ЛП ЭОЭ самок в раннем периоде после овариоэктомии, принятых за 100%. * – $P < 0,05$. ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ (критерий Стьюдента).

Стресс-воздействие в ранних сроках после овариоэктомии и эстрогенизации усиливало галоперидоловую каталепсию у самок крыс, наиболее отчетливо при введении малой дозы нейролептика преимущественно в дневное и ночное время (среднесуточный ЛП ЭОЭ самок со стрессом: $45,75 \pm 5,67$ с; $n=160$). (Рисунок 12, 13).



При овариоэктомии в поздних сроках потенцирующее действие стресса на интенсивность каталепсии на фоне эстрогенизации сохранялось, но по сравнению с ранними сроками было заметно слабее и смещено преимущественно на вечерние часы (среднесуточный ЛП эстрогенизированных ОЭ самок со стрессом при введении галоперидола 0,5 мг/кг: $26,55 \pm 0,84$ с; $n=160$, при введении галоперидола 1 мг/кг: $75,94 \pm 3,91$ с; $n=160$).



При этом усиливающее каталепсию влияние стресса более выражено было при введении меньшей дозы нейролептика (Рисунок 13).

Изменение каталептогенной активности галоперидола у самок крыс после адреналэктомии, овариоэктомии и стрессирования

Эксперименты с АЭ самками были проведены в 18 часов. Статистически значимых отличий между показателями ЛО и интактных самок не было выявлено, все последующие сравнения проводили с данными животных, тестированных в это время суток. Адреналэктомия ослабляла каталептогенную активность галоперидола, использованного в дозе 0,5 мг/кг (АЭ самки: $18,1 \pm 3,23$ с; $n=20$; интактные самки: $61,7 \pm 9,1$ с; $n=20$) (Рисунок 14, А).

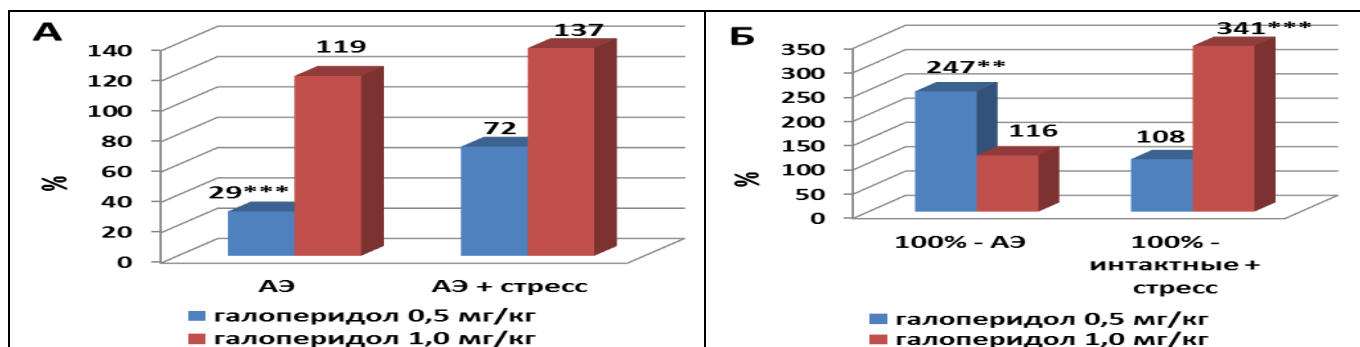


Рисунок 14– Влияние адреналэктомии и стресса на выраженность галоперидоловой каталепсии у самок крыс. **А:** ось ординат – изменение ЛПИ (%) у адреналэктомизированных самок без (АЭ) и после стресса (АЭ + стресс) относительно ЛПИ интактных самок без стресса, принятых за 100%. **Б:** ось ординат – изменение ЛПИ (%) у АЭ самок после стресса относительно ЛПИ соответственно АЭ самок без стресса (АЭ) и самок крыс с сохраненными гонадами после стресса, принятых за 100%.. * – $P < 0,05$; *** – $P < 0,001$ (критерий Стьюдента).

Стрессирование на фоне адреналэктомии усиливало галоперидоловую каталепсию у самок крыс, наиболее отчетливо при использовании дозы 0,5 мг/кг (ЛПИ у АЭ самок со стрессом на фоне галоперидола 0,5 мг/кг – $44,6 \pm 8,8$ сек; $n=20$; галоперидола 1 мг/кг – $120,6 \pm 16,2$ сек; $n=20$). Потенцирующее действие стресса у АЭ самок не только восстанавливало каталептогенную активность нейролептика в большей дозе до уровня интактных нестрессированных самок, но и превышало его и более чем в 3 раза усиливало интенсивность каталепсии по сравнению с уровнем стрессированных особей (Рисунок 14, А, Б).

После адреналэктомии в сочетании с овариоэктомией достоверно ослаблялась интенсивность каталепсии у особей, получавших 0,5 мг/кг галоперидола (ЛПИ у АОЭ самок: $16,9 \pm 3,9$; $n=20$). При вычленении эффекта адреналэктомии (100% – ОЭ самки) также установили ослабление каталептогенной активности нейролептика в малой дозе. В условиях овариоэктомии адреналэктомия менее выражено ограничивала интенсивности каталепсии (Рисунок 15).

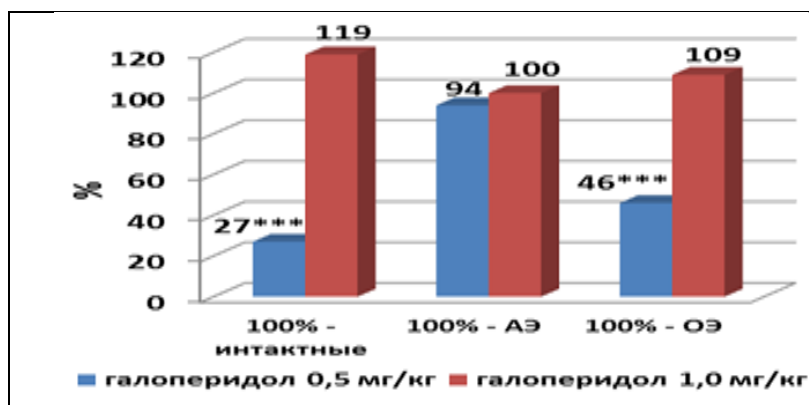


Рисунок 15 – Влияние сочетания адреналэктомии и овариоэктомии на выраженность галоперидоловой каталепсии у самок крыс. Ось ординат – изменение (%) ЛПИ АОЭ самок животных относительно ЛПИ соответственно АЭ, ОЭ и интактных самок крыс, принятых за 100%.. *** – при $P < 0,001$ (критерий Стьюдента).

При адреналэктомии в сочетании с овариоэктомией и стресс-воздействием каталептогенная активность галоперидола в дозе 0,5 мг/кг была заметно ниже, чем у самок с сохраненными железами на фоне и без стрессирования, а также ОЭ стрессированных самок (Рисунок 16).

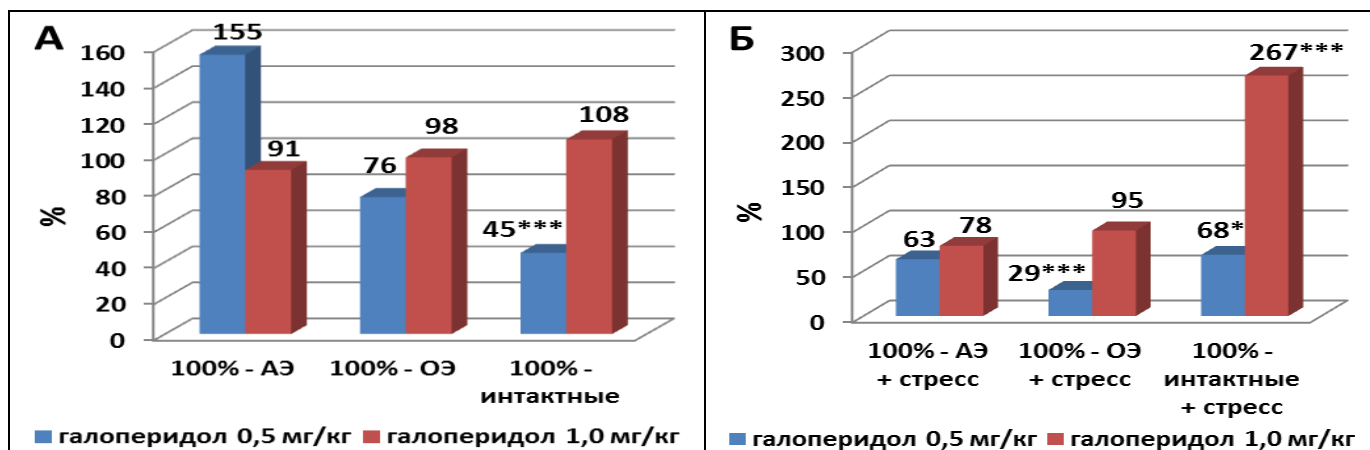


Рисунок 16 – Влияние сочетания адrenaлэктомии, овариоэктомии и стресса на выраженность галоперидоловой каталепсии у самок крыс

А: ось ординат – изменение (%) ЛПИ у стрессированных АОЭ самок крыс относительно ЛПИ соответственно АЭ, ОЭ и интактных самок животных без стресса, принятых за 100%.

Б: ось ординат – изменение (%) ЛПИ у стрессированных АОЭ самок крыс относительно ЛПИ соответственно АЭ, ОЭ и интактных самок после стресса, принятых за 100%. * – $P < 0,05$; *** – $P < 0,001$. (критерии Стьюдента, Манна-Уитни).

Вместе с тем, на фоне комбинации нейролептика, адrenaл- и овариоэктомии проявлялось потенцирующее каталепсию влияние стрессирования.

Влияние адrenaлэктомии и овариоэктомии на надпочечники у самок крыс

У самок крыс после овариоэктомии было отмечено ограничение массы надпочечника при несущественном росте длины (Таблица 2). После односторонней адrenaлэктомии установлено было увеличение на 26,8% массы и на 40,5% длины оставшегося надпочечника. При сочетании адrenaл- и овариоэктомии был зарегистрирован рост массы сохранившегося надпочечника на 33,95% и длины его на 21,8%. При этом сравнение с изолированными эффектами удаления яичников выявило увеличение массы сохранной адrenaловой железы на 45,1% и длины на 17,9%, а при сравнении с действием только адrenaлэктомии установлен рост массы на 5,7% и уменьшение длины на 13,3%.

Таблица №2. Влияние адrenaлэктомии (АЭ), овариоэктомии (ОЭ) и сочетания адrenaл- и овариоэктомии (АЭ + ОЭ) на массу (М, мг) и длину (L, мм) надпочечника у самок крыс

самки крыс	интактные		ОЭ		АЭ		АЭ + ОЭ	
	М	L	М	L	М	L	М	L
	36,73±5,0 n=11	4,27±0,3 n=12	33,91±5,39 n=34	4,41±0,11 n=34	46,57±7,62 n=7	6,0±0,44 n=7	49,2±7,33 n=5	5,2±0,49 n=5
% (100% – интактные)			92,3	103,3	126,8	140,5	133,95	121,8
% (100% – АЭ)							105,7	86,7
% (100% – ОЭ)							145,1	117,9

Таким образом, овариоэктомия ограничивала, а адrenaлэктомия изолированно и в сочетании с овариоэктомией синергично вызывала увеличение массы надпочечника. Изолированная адrenaлэктомия более выражено, чем в сочетании с овариоэктомией, вызывала увеличение

длины надпочечника, а овариоэктомия в сочетании с адреналэктомией почти вдвое ограничивала рост в длину сохранившегося надпочечника.

Гистологические исследования показали, что при адреналэктомии в сохранившемся надпочечнике происходила диффузная гиперплазия всех слоев с увеличением размеров эндокриноцитов, их ядер, количества и размеров липидных капель. При овариоэктомии в надпочечниках происходила избирательная гиперплазия сетчатой зоны коры. При сочетанной адренал- и овариоэктомии отмечалась диффузно-очаговая гиперплазия сохранившегося надпочечника с выраженной гиперплазией сетчатой зоны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты выполненного исследования и анализ литературы показали, что в реализацию нейротропного действия типичных нейролептиков и его циркадианную организацию могут быть вовлечены яичники и надпочечники. Галоперидоловая катаlepsия, связанная с мобилизацией влияний стриатума в отношении двигательной сферы животных и обусловленная блокадой дофаминергических рецепторов nigro-стриатной системы, отличается у самцов и самок. Формирование катаlepsии, ее выраженности, в определенной степени, вероятно, может зависеть от функции яичников. Действительно, в различных стадиях эстрального цикла выраженность галоперидоловой катаlepsии меняется: она более интенсивна в проэструсе / эструсе, когда уровень эстрогенов максимален, и менее отчетлива в диэструсе $\frac{1}{2}$. Различия в катаlepsогенной активности галоперидола, зависящие от фазы эстрального цикла, возможно, связаны с действием эстрогенов на дофаминергическую систему. Удаление яичников и соответствующее снижение уровня эстрогенов влияет на nigro-стриатную систему: действие эстрогенов, подобное влиянию нейролептиков, исчезает, и выраженность катаlepsии ослабляется. При введении экзогенных эстрогенов у овариоэктомированных самок интенсивность галоперидоловой катаlepsии восстанавливается. Полученные данные позволяют предполагать, что яичниковые гормоны – эстрогены – усиливают действие нейролептиков, в том числе галоперидола, на дофаминергическую передачу в nigro-стриатной системе (Схема 1).

Согласно данным исследования выраженность катаlepsии меняется также при изменении функции другой эндокринной железы – надпочечников. Интенсивность галоперидоловой катаlepsии ослаблялась у интактных животных при стрессе, сопровождаемом повышением уровня кортикостероидов в крови, что подтверждает вовлечение надпочечниковых гормонов в развитие эффектов нейролептиков. С другой стороны, при унилатеральном удалении надпочечника, а, следовательно, ослаблении активности ГГНС, выраженность катаlepsии уменьшалась при введении галоперидола в меньшей дозе и усиливалась при использовании в большей дозе. Это, вероятно, может свидетельствовать о модулирующем воздействии на дофаминергическую передачу в стриатуме надпочечников.

Интересно было обнаружить факт взаимного влияния исследованных желез внутренней секреции, при реализации которой на фоне сочетанной адренал- и овариоэктомии ослаблялась катаlepsия в случае введения галоперидола в меньшей дозе. Однако при этом катаlepsогенная активность нейролептика была выраженнее, нежели при одной адреналэктомии. Это, вероятно, может служить доказательством изменения чувствительности рецепторов и синтеза дофамина. Возможно, на интенсивность галоперидоловой катаlepsии и функцию стриатума указанные железы способны оказывать однонаправленное синергичное действие.

Следовательно, можно предполагать, что на реализацию катаlepsогенного действия галоперидола и на nigro-стриатную систему яичники и надпочечники оказывают модифицирующее действие.

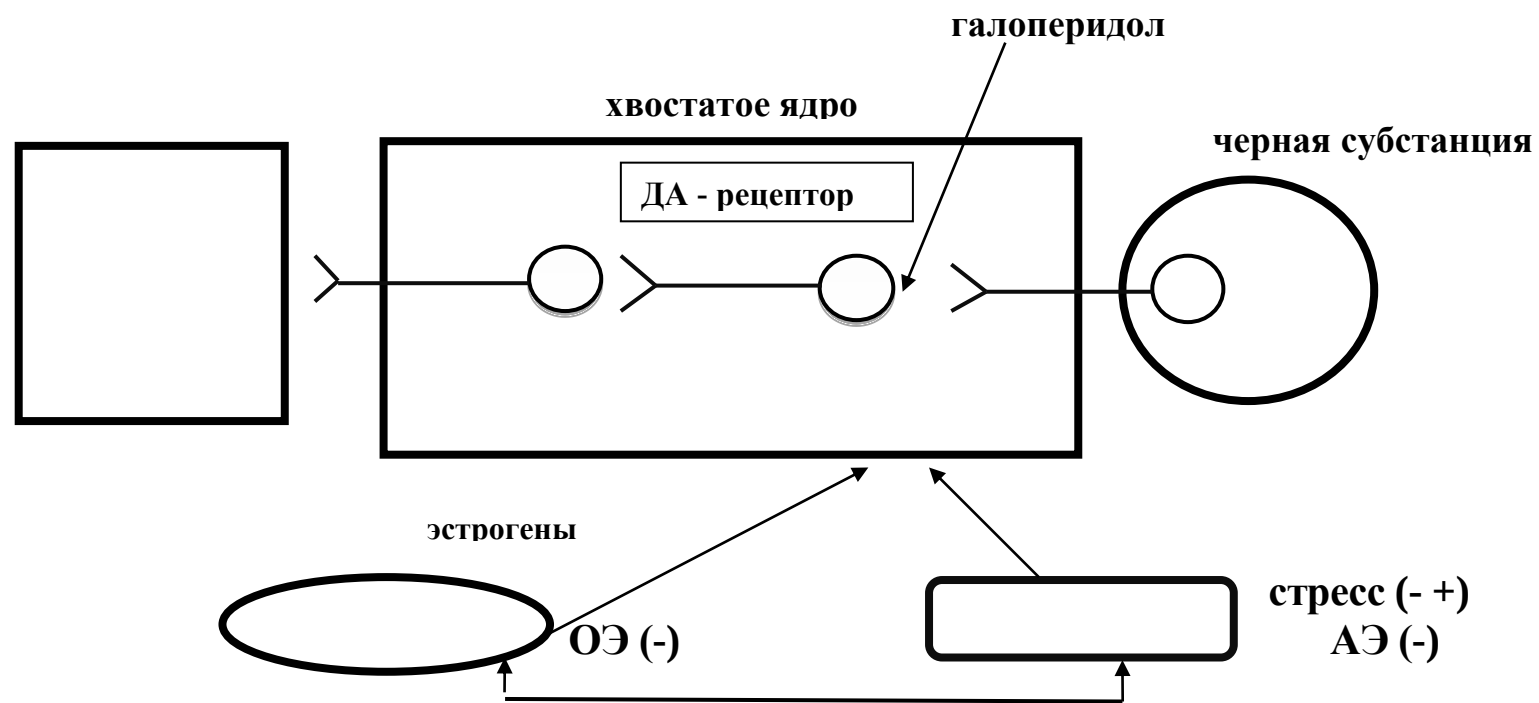


Схема 1 – Роль яичников и надпочечников в развитии нейротропного эффекта галоперидола

ВЫВОДЫ

1. Установлены изменения суточного периодизма каталептогенного действия галоперидола в разных дозах при стресс-воздействии у самцов и самок крыс. Галоперидоловая каталепсия выраженнее у самок: при введении нейролептика в дозе 0,5 мг/кг среднесуточный ЛП у самок составлял 135,8%, в дозе 1 мг/кг – 175,5% ($p < 0,001$) от уровня соответствующего ЛП у самцов. Заметные половые различия при применении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг установлены днем и вечером, в дозе 1 мг/кг – в ранние ночные часы. Стресс существенно снижает интенсивность каталепсии, особенно у самок. После стресса при использовании нейролептика в дозе 0,5 мг/кг среднесуточный ЛП у самок составлял 72,1% ($p < 0,05$), в дозе 1 мг/кг – 39,3% ($p < 0,001$) от соответствующего ЛП у нестрессированных самок. После стресса каталепсия выраженнее у самцов, при этом отчетливые половые различия в нейротропном эффекте выявляются днем и в ранние ночные часы.

2. Выявлены различия в суточном периодизме нейротропной активности галоперидола в зависимости от фазы эстрального цикла. Чувствительность самок к каталептогенному эффекту нейролептика выше в стадии проэструс / эструс преимущественно в светлые часы суток. Стресс-воздействие ослабляет выраженность галоперидоловой каталепсии, отчетливее в фазе проэструс / эструс наиболее заметно в светлое время суток. После стресса при использовании нейролептика в дозе 0,5 мг/кг среднесуточный ЛП у самок в диэструсе $\frac{1}{2}$ составлял 63,1%, в проэструсе / эструсе – 55,1% ($p < 0,01$) от ЛП у нестрессированных самок соответственно в состоянии диэструс $\frac{1}{2}$ и проэструс / эструс.

3. Определены особенности циркадианной организации каталептогенного действия галоперидола у самок крыс после кастрации и сочетания кастрации и стресса. Стресс при овариоэктомии усиливает галоперидоловую каталепсию. Потенцирующее действие стресса лучше прослеживается на фоне малой дозы нейролептика и в ранних сроках после овариоэктомии. После стресса у ОЭ самок в ранних сроках после кастрации среднесуточный ЛП при использовании галоперидола в дозе 0,5 мг/кг составлял 293,6% ($p < 0,001$), в дозе 1 мг/кг – 174,8% ($p < 0,001$); в поздних сроках после овариоэктомии при введении галоперидола в меньшей дозе – 165,2% ($p < 0,001$) от соответствующего ЛП у нестрессированных ОЭ самок.

4. Показана суточная динамика изменения синэстролом каталептогенного действия галоперидола в условиях стресс-воздействия в разных сроках после кастрации. Хроническая эстрогенизация потенцирует каталепсию в ранних сроках после овариоэктомии преимущественно вечером, а в позднем периоде – утром, восстанавливая активность препарата до уровня показателей интактных самок животных. В поздних сроках после удаления яичников по сравнению с ранним периодом чувствительность к галоперидолу на фоне синэстрола выше при введении меньших доз нейролептика. Стресс в сочетании с эстрогенизацией при овариоэктомии усиливает каталепсию, отчетливее при введении меньшей дозы галоперидола. После стресса у ЭОЭ самок среднесуточный ЛП при использовании галоперидола в дозе 0,5 мг/кг в ранних сроках после кастрации составлял 213,5% ($p < 0,01$), в поздних сроках – 123,1% ($p < 0,01$) от соответствующего ЛП у нестрессированных ЭОЭ самок. Потенцирующий эффект комбинации стресса и синэстрола в позднем сроке после кастрации

слабее, чем в раннем периоде, и смещен с дневных на, преимущественно, вечерние часы.

5. Адреналэктомия изолированно и в сочетании с овариоэктомией ослабляет каталепсию при введении галоперидола в дозе 0,5 мг/кг: среднесуточный ЛП у АЭ самок составлял 29,2% ($p < 0,001$), у АОЭ особей – 27,3% ($p < 0,001$) от соответствующего ЛП у интактных самок. Стресс на фоне адреналэктомии или комбинации адренал- и овариоэктомии потенцирует галоперидоловую (0,5 мг/кг) каталепсию у самок крыс: после стресса среднесуточный ЛП у АЭ самок составлял 247,4% ($p < 0,001$), у АОЭ особей – 168% от ЛП соответственно у нестрессированных АЭ и АОЭ самок.

6. После односторонней адреналэктомии наблюдается компенсаторная гипертрофия сохранившегося надпочечника с диффузной гиперплазией всех слоев железы. Диффузно-очаговая гиперплазия с выраженной гиперплазией сетчатой зоны отмечается в сохранившемся надпочечнике при сочетании адренал- и овариоэктомии и в обоих надпочечниках при овариоэктомии.

Научно-практические рекомендации

1. При доклиническом и клиническом исследовании антипсихотических средств, при скрининге новых соединений важно учитывать суточный периодизм в развитии побочных нейротропных эффектов (каталептогенного действия, нейролептического синдрома), вероятные изменения активности препаратов после стресс-воздействия.

2. Применение «типичных» нейролептических лекарственных средств рекомендуется проводить с учетом суточных, гендерных различий в развитии нейротропных эффектов, большей вероятности проявлений побочных эффектов у пациенток.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

I. Статьи:

1. Зависимость от пола и времени суток интенсивности галоперидоловой каталепсии у крыс / В. А. Батурин, Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Биомедицина. – 2006. – №4. – С. 78-79.

2. Хронобиологические особенности галоперидоловой каталепсии у овариоэктомизированных самок крыс в ранние и поздние периоды после кастрации / Э.А. Манвелян, В. А. Батурин, **М.Д. Булгакова** // Психофармакология и биол. наркология. – 2007. – Т.7, ч.2. – С. 1848–1849.

3. Циркадианные различия в выраженности галоперидоловой каталепсии у самок и самцов крыс / Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2010. – Приложение. – С. 60.

4. Изменение каталептогенной активности галоперидола у стрессированных самок и самцов крыс / Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Вестн. Ставропольск. гос. ун-та. – 2011. – № 74. – С. 53–58.

5. Влияние стресса на галоперидоловую каталепсию у интактных и овариоэктомизированных самок крыс в разное время суток / В. А. Батурин, Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2012. – Т.75. – № 5. – С. 3-6.

6. Циркадианные различия интенсивности галоперидоловой каталепсии у овариоэктомизированных самок крыс без и после эстрогенизации / Э.А. Манвелян, В. А. Батурин, **М.Д. Булгакова**, Н.Н. Громова // Биомедицина. – 2012. – №2. – с.14-21.

7. Влияние стресса на галоперидоловую каталепсию у самок крыс в различных

стадиях эстрального цикла на протяжении суток / В. А. Батулин, Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Мед. вестник Северного Кавказа. – 2013. – №1. – с.14–21.

II. Монографии:

1. Роль яичников и надпочечников в реализации каталептогенной активности галоперидола / Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова**, В. А. Батулин. Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2013. – 137 с.

III. Публикации:

1. Половые различия в эффектах антипсихотических препаратов / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян, В. А. Батулин // Физиологические проблемы адаптации: сб. науч. статей. – Ставрополь: Изд-во СГУ, 2008. – С.48–50.

2. Половые различия в интенсивности галоперидоловой каталепсии у крыс в разное время суток / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XIV междунар. симп. 9-10 апр., 2009 г. – Москва: РУДН, 2009. – С. 109-110.

3. Половые и циркадианные различия в выраженности галоперидоловой каталепсии у крыс / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян // Нейроэндокринология – 2010: материалы VIII Всерос. конф. 20-22 апр., 2010г. – Спб, 2010. – С. 37–38.

4. Циркадианные и половые различия в интенсивности галоперидоловой каталепсии при стрессировании крыс / Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Физиология адаптации: сб. материалов 5 Всерос. науч.-практ. конф. 22–24 июня, 2010 г. – Волгоград: Волгоградское научное изд-во, 2010. – С. 125–128.

5. Половые и циркадианные различия в интенсивности галоперидоловой каталепсии у крыс / **М.Д. Булгакова** // Биоразнообразие, биоресурсы, новые материалы и здоровье населения региона: сб. материалов 55-й науч.-практ. конф. «Университетская наука – региону». 6-30 апр., 2010. – Ставрополь: Изд-во СГУ, 2010. – С.125–127.

6. Хронобиологические и половые различия в интенсивности галоперидоловой каталепсии у крыс / Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова** // Естествознание и гуманизм: сб. науч. работ. – Томск: Изд-во Томск. гос. ун-та и Сиб. гос. мед. ун-та, 2010. – Т.6, №1. – С. 75.

7. Влияние овариоэктомии и эстрогенизации на интенсивность галоперидоловой каталепсии у самок крыс / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян // Проблемы фундаментальных и прикладных естественных и технических наук в современном информационном обществе: труды 54-й науч. конф. МФТИ. – 10-30 ноября, 2011. – Москва: МФТИ, 2011. – С. 116–118.

8. Изменение выраженности галоперидоловой каталепсии у самок крыс под влиянием стресса, овариоэктомии и эстрогенизации / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян // Биоразнообразие, биоресурсы, биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона: сб. материалов 57-й науч.-метод. конф. «Университетская наука – региону». 2-30 апр., 2012. – Ставрополь: Изд-во СГУ, 2012. – С. 95–96.

9. Циркадианные различия интенсивности галоперидоловой каталепсии у самок крыс в разных стадиях эстрального цикла на фоне и без стресса / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян // Инновации в современной фармакологии: материалы IV съезда фармакологов России. 18-21 сент., 2012. – Москва, Изд-во: «Фолиум», 2012. – С. 219-220.

10. Суточные различия интенсивности галоперидоловой каталепсии у самок крыс в ранних и поздних сроках после овариоэктомии / **М.Д. Булгакова**, Э.А. Манвелян, В. А. Батулин // Биоразнообразие, биоресурсы, биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона: сб. материалов 1-й науч.-метод. конф. «Университетская наука – региону». – Ставрополь, 2-30 апр., 2013. – Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2013. – С.94–95.

11. Влияние стресса на галоперидоловую каталепсию у самок крыс в ранних и

поздних сроках после овариоэктомии / Э.А. Манвелян, **М.Д. Булгакова**, В. А. Батурич // Биоразнообразие, биоресурсы, биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона: сб. материалов 1-й науч.-метод. конф. «Университетская наука – региону». – Ставрополь, 2-30 апр., 2013. – Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2013. – С.104–105.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЭ – адреналэктомированные (самки)
АОЭ – адреналэктомированные овариоэктомированные (самки)
ГГГС – гипоталамо-гипофизарно-гонадная система
ГГНС – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система
ГГЯС – гипоталамо-гипофизарно-яичниковая система
ЗГТ – заместительная гормональная терапия
ЛО – ложнооперированные (самки)
ЛП – латентный период
ОМЦ – овариально-менструальный цикл
ОЭ – овариоэктомированные (самки)
ЭОЭ – эстрогенизированные овариоэктомированные (самки)
ЭЦ – эстральный цикл

Выражаем глубокую признательность за консультативную помощь Батуричу Владимиру Александровичу – доктору медицинских наук профессору, заведующему кафедрой клинической фармакологии, аллергологии и иммунологии с курсом ПДО ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет».