

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИАГРЕССИВНОГО ДЕЙСТВИЯ АНКСИОЛИТИКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТРЕССА

Г. М. Молодавкин¹, Т. А. Воронина¹, Ж. Алдармаа², О. К. Мелетова²

На беспородных белых крысах-самцах исследовано влияние стресса различной этиологии (длительная изоляция, неизбежное раздражение лап) на антиагрессивные эффекты анксиолитиков разных групп. Установлено, что в отличие от антиконфликтного действия ослабевающего под влиянием стресса, антиагрессивный эффект анксиолитиков претерпевает качественные изменения. В норме анксиолитики повышают порог агрессивной реакции, оказывая антиагрессивное действие. Под влиянием стресса порог агрессивной реакции повышается, а диазепам, феназепам, клоназепам, алпразолам снижают его, возвращая к норме и оказывая проагрессивное действие. Степень выраженности изменений и скорость восстановления исходной активности веществ зависит от мощности анксиолитика, силы и длительности действия стрессора, а также длительности применения препарата в период последствия стресса. Возможным механизмом этого явления может быть взаимодействие ГАМК-бензодиазепиновой и опиатной эндогенных систем.

Ключевые слова: анксиолитики, антиагрессивное действие, стресс

ВВЕДЕНИЕ

Ранее было установлено, что под влиянием стресса разной этиологии основной, антиконфликтный, эффект анксиолитиков существенно уменьшается [4]. Представляло интерес выяснить, как изменяются под влиянием стресса другие виды активности этих препаратов, в частности, антиагрессивное действие. Поскольку в проявлении агрессивной реакции, вызываемой электрическим раздражением, могут принимать участие механизмы боли, представлялось также важным изучение анальгетических эффектов анксиолитиков при стрессе.

Целью настоящего исследования является изучение влияния стресса разной этиологии на антиагрессивное действие анксиолитиков и исследование их влияния на пороги болевой реакции после действия стресса.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на беспородных белых крысах-самцах массой 200–220 г.

Агрессивное поведение крыс изучали по изменению порогов агрессивной реакции, которые определяли при раздражении пары крыс постепенно увеличивающимся по силе прерывистым электротоком, подаваемым на электродный пол камеры [2].

Крыс парами высаживали на электродный пол стандартной камеры из плексигласа размерами

27,5 × 27,5 × 40 см, на который с помощью специально разработанного стимулятора подавали переменное напряжение, постепенно увеличивавшейся амплитуды, начиная с 15 В. Раздражение подавали периодами по 3 с, разделенными паузами 1 с. Если после трех предъявлений стимула одной интенсивности агрессивные реакции не возникали, напряжение увеличивали на 1 В и продолжали стимуляцию до возникновения агрессии в ответ не менее, чем на три импульса одной силы. Это напряжение считали пороговым. Крыс разбивали на 2 группы, из которых одну использовали для изучения порогов агрессии в норме, а во второй пороги агрессивности определяли после стресса. Каждую из этих групп в свою очередь делили на подгруппы, из которых одна служила контрольной (животным этой группы вводили физиологический раствор с несколькими каплями твин-80), остальным вводили анксиолитики в возрастающих дозах. Каждую дозу исследовали на группе, состоящей из 5 пар животных.

Влияние анксиолитиков на пороги болевой реакции изучали до и после стресса. Болевую чувствительность изучали по порогу вокализации, возникающей в ответ на электростимуляцию хвоста [1]. Для этого крыс помещали в стандартный пенал, ограничивающий их свободу. В хвосты животных вкалывали подкожно биполярные стимулирующие электроды с расстоянием между полюсами 1 см. На электроды подавали прямоугольные импульсы постоянного напряжения длительностью 500 мс нарастающей силы с выхода стимулятора ЭСЛ-2. Если после трех импульсов одной интенсивности вокализацию получить не удавалось, напряжение увеличивали на 0,5 В. Порогом считали

¹ Лаборатория психофармакологии (зав. — проф. Т. А. Воронина) ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

² Институт народной медицины Монголии.

величину напряжения, при которой вокализация возникла в ответ на все три стимула одной силы [1]. Крыс другой группы подвергали действию стресса. После завершения стрессового воздействия у них также определяли пороги болевой реакции.

В работе были исследованы: диазепам, феназепам, клоназепам, алпразолам, гидазепам, медазепам и буспирон. Вещества вводили внутривентрикулярно в диапазоне доз 1 – 10 мг/кг за 40 мин до проведения эксперимента.

Использовали следующие виды стресса: длительную изоляцию, при которой крыс содержали поодиночке в камерах размерами 10 × 15 × 25 см в течение 1 – 2 мес, и стресс при неизбежном раздражении лап на электродном полу. Процедура создания этих видов стресса подробно описана ранее [4, 10].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью многофакторного дисперсионного анализа MANOVA в программе Statgraphics for Windows [3]. Достоверность влияния анксиолитиков на пороги агрессивной реакции оценивали по суммар-

ному действию фактора А с числом градаций 7 (контроль, рассматриваемый как введение анксиолитика в дозе 0 мг/кг, и веществ в шести нарастающих дозах) и фактора Б-действие стресса с числом градаций 2 (наличие или отсутствие стресса).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в норме (без действия стресса) порог агрессивной реакции у крыс составляет около 27 В. В этих условиях диазепам, феназепам, клоназепам, алпразолам, гидазепам, медазепам оказывают ярковыраженное антиагрессивное действие, повышая пороги возникновения агрессивной реакции (таблица). Буспирон не оказывает влияния на агрессивность.

Под влиянием стресса (длительная изоляция) порог агрессивности в контрольной группе значительно повышается и составляет приблизительно 54 В. В этих условиях диазепам, феназепам, клоназепам, алпразолам, медазепам независимо от дозы уменьшают пороги агрессивной реакции, снижая их до уровня, приблизительно равного величинам до действия стресса, и про-

Изменение порогов агрессивной реакции беспородных белых крыс под влиянием длительной (в течение 2 мес) изоляции

Показатель	Доза, мг/кг	Пороги агрессивной реакции, В						
		Диазепам	Феназепам	Клоназепам	Алпразолам	Гидазепам	Медазепам	Буспирон
До стресса	К	29,4 ± 2,6	27,2 ± 2,9	31,1 ± 3,1	26,7 ± 2,1	26,9 ± 2,2	30,5 ± 2,9	27,6 ± 2,8
	0,25	24,2 ± 2,4	26,5 ± 1,9	25,1 ± 2,3	26,7 ± 1,8	23,1 ± 1,1	23,9 ± 1,1	23,1 ± 0,9
	0,50	26,1 ± 3,5	30,2 ± 1,8	27,7 ± 1,9	28,4 ± 2,1	24,6 ± 1,4	25,5 ± 1,4	27,6 ± 0,8
	1,00	30,4 ± 3,0	31,0 ± 1,6	31,6 ± 2,1	28,5 ± 2,0	32,5 ± 1,8*	25,8 ± 0,9	28,1 ± 1,1
	2,50	31,1 ± 2,6	32,1 ± 2,0*	57,1 ± 3,8*	56,2 ± 4,4*	35,6 ± 2,0*	27,4 ± 1,1	28,8 ± 1,4
	5,00	33,4 ± 3,1	33,3 ± 3,7*	61,8 ± 4,9*	55,3 ± 5,3*	37,7 ± 3,1*	29,1 ± 1,3	24,9 ± 1,3
	7,50	37,8 ± 2,0*	46,7 ± 3,5*	52,2 ± 4,1*	52,1 ± 4,1*	42,4 ± 4,4*	32,4 ± 0,7	27,1 ± 1,5
	10,00	48,5 ± 3,1*	59,7 ± 2,9*	48,2 ± 3,9*	47,1 ± 3,6*	61,8 ± 5,6*	36,7 ± 1,3*	28,2 ± 1,8
После длительной изоляции	К	53,4 ± 5,6 [#]	51,4 ± 5,9 [#]	55,6 ± 5,6 [#]	54,7 ± 5,1 [#]	55,3 ± 5,2 [#]	52,8 ± 4,9 [#]	49,6 ± 4,8 [#]
	0,25	48,5 ± 4,9	46,9 ± 5,1	52,3 ± 5,3	53,8 ± 4,8	56,4 ± 5,1	49,1 ± 4,1	48,3 ± 3,5
	0,50	46,4 ± 3,8	44,6 ± 4,8	52,7 ± 3,9	53,1 ± 3,1	59,3 ± 5,1	48,8 ± 4,2	45,3 ± 3,4
	1,00	44,8 ± 3,6*	40,6 ± 3,9*	49,1 ± 3,1	48,2 ± 3,0	61,3 ± 4,9	47,6 ± 4,2	44,6 ± 3,6
	2,50	42,6 ± 3,0*	38,7 ± 3,5*	45,6 ± 2,8*	45,2 ± 2,9*	62,2 ± 3,9	46,3 ± 3,6	43,6 ± 3,7
	5,00	40,2 ± 3,7*	37,5 ± 3,2*	42,5 ± 2,9*	41,1 ± 2,3*	64,4 ± 4,1	44,6 ± 3,7	43,2 ± 4,1
	7,50	38,0 ± 3,5 ^{&}	32,1 ± 3,1 ^{&}	38,6 ± 3,1*	37,3 ± 2,1 ^{&}	65,7 ± 3,2*	42,4 ± 2,5*	42,6 ± 3,7
	10,00	36,3 ± 2,9 ^{&}	28,4 ± 2,9 ^{&}	31,9 ± 2,9 ^{&}	33,2 ± 2,6 ^{&}	67,3 ± 4,3*	41,2 ± 2,7*	44,5 ± 3,7
После неизбежной электростимуляции лап	К	51,6 ± 3,8	50,4 ± 5,9	52,8 ± 6,2	53,0 ± 3,9	52,8 ± 4,5	50,6 ± 4,8	51,9 ± 4,1
	2,50	44,1 ± 3,6*	36,8 ± 4,9*	43,9 ± 5,1*	43,4 ± 3,1*	62,9 ± 4,1	47,4 ± 5,2	44,5 ± 3,7
	5,00	39,2 ± 4,9*	34,7 ± 4,5*	40,5 ± 4,8*	39,1 ± 4,7*	65,3 ± 3,8*	45,8 ± 4,6	43,7 ± 4,2
Восстановление (после длительной изоляции и введения феназепама в дозе 1 мг/кг/день в течение 7 дней)	К	31,2 ± 2,8	29,2 ± 2,6	30,4 ± 3,2	28,4 ± 2,5	27,4 ± 2,5	29,4 ± 2,6	27,3 ± 3,1
	0,25	27,4 ± 2,9	28,7 ± 2,8	27,4 ± 2,5	26,3 ± 2,3	23,9 ± 1,7	23,7 ± 1,4	24,2 ± 1,5
	0,50	30,2 ± 3,1	32,4 ± 2,4	28,9 ± 3,6	28,1 ± 2,3	25,2 ± 2,2	25,1 ± 1,8	26,8 ± 1,3
	1,00	32,5 ± 3,2	33,5 ± 2,6	37,8 ± 4,3	32,6 ± 2,5	33,1 ± 2,4*	26,3 ± 1,3	28,4 ± 1/4
	2,50	34,1 ± 2,9	35,7 ± 2,9*	55,3 ± 3,5*	52,3 ± 4,6*	35,9 ± 2,4*	27,8 ± 1,5	28,5 ± 1,6
	5,00	36,7 ± 3,4	38,4 ± 3,2*	62,4 ± 4,2*	54,9 ± 4,9*	38,5 ± 3,3*	29,3 ± 1,6	28,1 ± 1,7
	7,50	42,5 ± 4,2*	47,7 ± 3,7*	55,6 ± 3,3*	51,5 ± 4,3*	47,7 ± 4,9*	33,5 ± 1,3	27,8 ± 1,4
	10,00	49,4 ± 3,5*	58,9 ± 3,8*	51,6 ± 4,2*	46,3 ± 3,8*	60,5 ± 5,2*	35,9 ± 1,5*	28,5 ± 1,5

Примечание. Различия достоверны: * — со "своей" контрольной группой при $p < 0,05$; [&] — то же при $p < 0,01$; [#] — между показателями контрольных групп до и после стресса при $p < 0,01$.

являя, таким образом, проагрессивную активность (см. таблицу). Проагрессивному эффекту анксиолитиков не препятствует их миорелаксантное действие. Даже после введения препаратов в высоких дозах, когда миорелаксация ярко выражена, агрессивные реакции продолжают.

Дневной анксиолитик гидазепам в этой ситуации проявляет свойства, отличные от остальных препаратов бензодиазепинового ряда. У интактных животных гидазепам, так же как и традиционные бензодиазепины, проявляет антиагрессивное действие. Однако после стресса этот эффект в противоположность другим бензодиазепинам сохраняется, хотя выражен слабее, чем у интактных животных. При этом повышение порога агрессивной реакции наблюдается выше уровня, уже увеличенного в результате стресса (см. таблицу). У животных, подвергнутых действию стресса, буспирон, который в норме не обладает антиагрессивным действием, подобно мощным анксиолитикам, оказывает проагрессивное действие (см. таблицу).

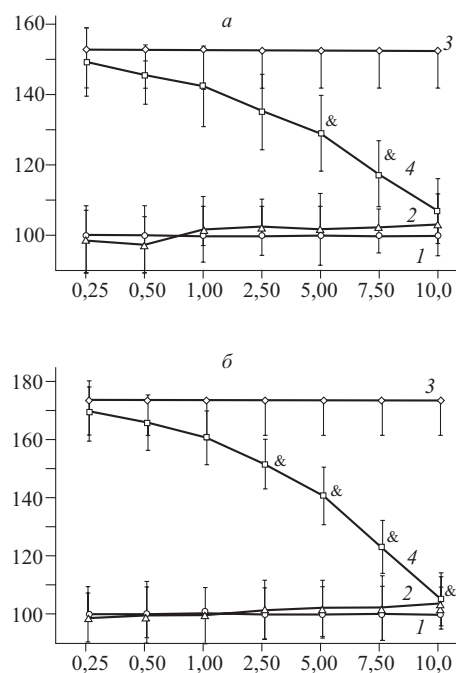
Аналогичное изменение агрессивности выявлено и при использовании другого вида стресса-неизбегаемого раздражения лап крыс. Под влиянием этого стресса пороги агрессивной реакции также повышаются; диазепам, феназепам, клоназепам, алпразолам и медазепам снижают пороги, оказывая проагрессивное действие, а гидазепам их повышает.

Длительность восстановления антиагрессивного действия анксиолитиков, как и антиконфликтного [4], зависит от типа стрессора. Быстрее восстановление происходит после неизбежного электрораздражения лап: в этом случае уже через 1–2 нед после стресса наблюдается восстановление исходных (низких) порогов агрессивности у контрольных животных и происходит восстановление антиагрессивного действия. После длительной изоляции естественное восстановление не наблюдалось ни в одном из случаев, и всегда требовалось введение анксиолитиков.

Следует отметить, что характер восстановления зависит также от типа анксиолитика. После длительного введения мощных препаратов имело место возвращение к норме, как порогов агрессивности, так и антиагрессивного действия самих анксиолитиков. После введения гидазепама наблюдаются снижение порогов агрессивной реакции и усиление антиагрессивного действия, сниженного, а не инвертированного, как в случае мощных анксиолитиков. При введении медазепама и буспирона имеет место восстановление низких порогов агрессивности без роста антиагрессивного действия.

Таким образом, было установлено, что в результате действия изоляционного стресса и неизбежного электрораздражения лап развивается модификация антиагрессивного действия.

Поскольку для создания агрессивной реакции использовалось электроболевое раздражение, можно было предположить, что пороги агрессивной реакции после



Повышение порогов болевой чувствительности белых крыс под влиянием неизбежного электрораздражения лап (*а*) и длительной изоляции (*б*) и их восстановление под влиянием диазепама (*а*) и феназепама (*б*).

1 — порог болевой реакции контрольных крыс до стресса; 2 — влияние анксиолитика на порог болевой реакции до стресса; 3 — порог болевой реакции контрольных крыс после стресса; 4 — влияние анксиолитика на порог болевой реакции после стресса. По оси абсцисс — дозы, мг/кг; по оси ординат — изменение порогов вокализации, вызванной электростимуляцией основания хвоста в процентах от контроля, принятого за 100. & — различие с порогом после стресса достоверно $p < 0,05$.

стресса повышаются в результате изменения болевой чувствительности, а анксиолитики, купируя эффекты стресса, способствуют восстановлению нормальной болевой чувствительности. Для проверки этого предположения было исследовано влияние стресса на пороги боли и их изменение под влиянием анксиолитиков.

Установлено, что в норме диазепам не оказывает влияния на порог болевой реакции (рисунок). После стресса (неизбегаемое болевое раздражение) имеет место повышение порога вокализации, что указывает на снижение болевой чувствительности (рисунок, *а*). Поскольку в данном случае изменялся порог возникновения именно вокализации, можно предположить, что указанные изменения болевой чувствительности не спинального, а центрального происхождения. Диазепам при однократном введении стрессированным животным снижал болевые пороги (рисунок, *а*). После длительного (в течение 2 нед) введения диазепама (2 мг/кг в день внутривентриально) отмечалось возвращение болевой чувствительности к исходному уровню. Однократное введение диазепама этим крысам после недельного перерыва вызывало отчетливое антиагрессивное действие.

Аналогичные изменения болевой чувствительности наблюдаются и при использовании после длительной

изоляции феназепама (рисунок, б), однако в этом случае анальгезия более выражена по сравнению с электрораздражением лап. Так, феназепам, как и диазепам в предыдущем случае, зависимым от дозы образом снижает болевую чувствительность, повышенную в результате стресса, и не оказывает влияния на этот показатель до изоляции животных (рисунок, б). Для восстановления нормальной болевой чувствительности требуется введение феназепама в течение 2 нед (1 мг/кг/день внутривенно). Как и в случае с диазепамом, феназепам после этого начинал оказывать обычное антиагрессивное действие. Аналогичное действие оказывают и другие анксиолитики.

Таким образом, было установлено, что под влиянием стресса имеет место инверсия антиагрессивного действия типичных бензодиазепиновых анксиолитиков, динамика развития которой коррелирует с динамикой изменения анальгезии, вызываемой стрессом.

Следовательно, антиагрессивное действие вероятно связано с активностью структур мозга, вызывающих анальгезию. Действительно, имеются данные как об участии опиоидных систем в регуляции агрессивного поведения [7], так и о тесном взаимодействии опиоидной и ГАМК-бензодиазепиновой систем [5, 9]. Показано также, что антагонист бензодиазепиновых рецепторов RO 15 – 1788 вызывает анальгезию, купируемую налоксоном [6], а также установлена способность бензодиазепинов и налоксона влиять на анальгезию, вызываемую стрессом [8].

Поэтому можно считать, что антиагрессивный и антиконфликтный компоненты действия анксиолитиков, вероятно, опосредованы разными механизмами: антиконфликтный собственно ГАМК-бензодиазепиновым рецепторным комплексом, а антиагрессивный тем же комплексом в тесном взаимодействии с опиоидной системой.

Выявленный в данной работе факт может быть использован для предварительного скрининга анксиолитиков: если на фоне повышенного под влиянием стресса порога агрессивной реакции вещество снижает его, то есть, оказывает проагрессивное действие, можно ожидать у этого вещества наличие анксиолити-

ческих свойств, которые могут быть установлены в дальнейшем с помощью специфических методов (конфликтной ситуации, приподнятого крестообразного лабиринта, открытого поля с линейными животными).

ВЫВОДЫ

1. Стресс различной этиологии (длительная изоляция, болевое раздражение) повышает пороги агрессивной реакции животных.
2. Традиционные анксиолитики бензодиазепинового строения (дiazepam, феназепам, клоназепам, алпразолам, медазепам) после стресса оказывают проагрессивное действие, что выражается в снижении порогов агрессивной реакции.
3. Новый отечественный анксиолитик гизазепам оказывает антиагрессивное действие как в обычных условиях, так и после стресса, повышая пороги агрессивной реакции.
4. Буспирон не оказывает влияния на пороги агрессивной реакции ни до, ни после стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Булаев, Н. В. Коробов, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2000), сс. 162 – 163.
2. Т. А. Воронина, С. Б. Середнин, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* Москва (2000), сс. 126 – 130.
3. В. Дюк, *Обработка данных на ПК в примерах*, Питер, Санкт-Петербург (1997).
4. Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, Е. Я. Рамхин, Ж. Алдармаа, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(4), 3 – 6 (2002).
5. M. Bianchi, P. Mantegazza, R. Tammiso, et al., *Archives Internat. Pharmacodyn. Therapie*, **322**, 5 – 13 (1993).
6. S. Davidovich, D. Niv, E. Geller, and G. Urea, *Europ. J. Pharmacol.*, **146**, 175 – 179 (1988).
7. K. A. Miczek, E. Weerts, M. Haney, and J. Tidey, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **18**, 97 – 110 (1994).
8. L. C. Rovati, P. Sacerdote, P. Fumagalli, et al., *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, **36**, 123 – 126 (1990).
9. K. Sasaki, L. W. Fan, L. T. Tien, et al., *Brain Res. Bull.*, **57**(5), 689 – 694 (2002).
10. L. Valzelli, *Psychopharm.*, **31**, 305 – 320 (1973).

Поступила 24.04.03.

STRESS-INDUCED ALTERATION OF THE ANTIAGGRESSIVE EFFECT OF ANXIOLYTICS

G. M. Molodavkin¹, T. A. Voronina¹, Zh. Aldarmaa² and O. K. Meletova²

¹ Laboratory of Psychopharmacology, Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia;

² Institute of National Medicine of Mongolia, Ulan-Bator, Mongolia

The influence of stresses of various etiology (prolonged isolation, inescapable electrostimulation) on the antiaggressive effect of anxiolytics was studied in outbred white male rats. It was established that, in contrast to the anticonflict effect (decreasing under the action of stress), then antiaggressive action of the drugs studied (diazepam, phenazepam, clonazepam, alprazolam) exhibits qualitative changes. In the absence of stress, the threshold of aggressive reaction is low and anxiolytics increase this level. Under the action of stress, the threshold of aggressive reaction increases, and the same drugs reduce this threshold to the normal level, thus producing proaggressive action. The degree of changes and the rate of restoration of the initial activity depend on the efficacy of anxiolytics, the strength and duration of stress, and on the duration of drug administration during the stress aftereffect. A possible mechanism of this phenomenon can be the interaction of the GABA – benzodiazepine and opiate endogenous systems.