

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО КСИЛАРАТНОГО КОМПЛЕКСА ГЕРМАНИЯ (IV) С ЛИТИЕМ – КСИГЕРМА-1, ЛИТИЯ ХЛОРИДА И ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА АМФЕТАМИН-УСИЛЕННЫЕ РЕАКЦИИ САМОСТИМУЛЯЦИИ У КРЫС

*Елена Ивановна Варбанец, Владлена Владимировна Годован, Алексей Антонович Шандра, Ольга Анатольевна Кащенко\**

*Одесский национальный медицинский университет*

### Реферат

**Цель.** Оценка эффектов нового соединения *bis*( $\mu$ -ксиларато)дигидроксодигерманата (IV) лития (ксигерма-1) на подкрепляющие свойства самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс по сравнению с референс-препаратами лития хлоридом и вальпроевой кислотой в условиях амфетамин-индуцированного усиления реакции самостимуляции у крыс.

**Методы.** Для формирования модели самостимуляции мозга у крыс билатерально в латеральное гипоталамическое ядро вживляли нихромовые монополярные электроды (с последующим морфологическим контролем), через 7–10 дней после операции животных обучали нажимать на педаль для электрического раздражения мозга, учитывали частоту нажатия на педаль и порог самораздражения. Исследование эффектов тестируемых соединений начинали, когда значения среднего порога самостимуляции варьировали менее чем на 10% в течение трёх последовательных сеансов самостимуляции. Животным (по 6 крыс в каждой группе) вводили ксигерма-1 в дозах 300–1800 мг/кг, вальпроевую кислоту – 30–300 мг/кг, лития хлорид – 25–200 мг/кг. В следующей серии экспериментов, используя те же группы животных, исследовали эффекты ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на амфетамин-вызванное (доза 0,5 мг/кг) усиление реакции самостимуляции мозга.

**Результаты.** В первой серии экспериментов ксигерма-1 в дозах 1200 и 1800 мг/кг, лития хлорид в дозах 100 и 200 мг/кг, вальпроевая кислота в дозе 300 мг/кг существенно повышали порог самостимуляции мозга. Ксигерма-1 и лития хлорид в высоких дозах (1800 и 200 мг/кг соответственно) вызывали достоверное снижение частоты самостимуляции мозга. При введении вальпроевой кислоты отмечена тенденция к снижению частоты нажатий, не достигшая статистической значимости. Введение ксигерма-1 и лития хлорида вызывало дозозависимое повышение порога самостимуляции мозга, сниженного с помощью амфетамина сульфата. Ксигерма-1 и лития хлорид в относительно больших дозах (1800 и 100 мг/кг соответственно) блокировали также амфетамин-вызванное повышение частоты нажатий на педаль. Вальпроевая кислота в исследуемых дозах не оказывала существенного влияния на амфетамин-вызванное усиление реакции самостимуляции мозга.

**Вывод.** Новое соединение ксигерма-1 оказывает выраженное влияние на поведение, в частности на подкрепляющие системы мозга, которое сходно с действием лития хлорида и отличается от действия вальпроевой кислоты.

**Ключевые слова:** ксигерма-1, лития хлорид, вальпроевая кислота, психофармакологические средства, самостимуляция мозга, эксперименты на животных.

**A COMPARATIVE STUDY OF THE NEW XYLARATE GERMANIUM (IV) COMPLEXE WITH LITHIUM (XYGERM-1), LITHIUM CHLORIDE AND VALPROIC ACID TO THE AMPHETAMINE-ENHANCED SELF-STIMULATION REACTIONS IN RATS** *E.I. Varbanets, V.V. Godovan, A.A. Shandra, O.A. Kaschenko, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine.* **Aim.** To estimate the effect of novel lithium *bis*( $\mu$ -xylarato)dihydrogermanate (IV) (Xygerm-1) on reinforcing properties of the lateral hypothalamus self-stimulation in rats compared to the reference drugs (lithium chloride and valproic acid) in rats with amphetamine-induced self-stimulation. **Methods.** To form a model of the brain self-stimulation, nichrome monopolar electrodes were implanted bilaterally in the lateral hypothalamic nucleus, followed by morphological control, and 7–10 days after the operation, the rats were trained to press a pedal for electrical stimulation of the brain. The effects of self-stimulation were assessed by analyzing the maximum rate of pedal pressing and the self-stimulation threshold. Study of the test compounds effects had been started when average self-stimulation threshold values varied by less than 10% for three consecutive sessions of the brain self-stimulation. Xygerm-1 (300–1800 mg/kg), valproic acid (30–300 mg/kg) and lithium chloride (25–200 mg/kg) were introduced as intraperitoneal injections to animals of the corresponding study groups (6 rats each). At the next stage of the experiment, effects of Xygerm-1, lithium chloride and valproic acid on amphetamine-induced (dose 0.5 mg/kg) brain self-stimulation reaction increase were studied at the same animal groups. **Results.** At the first stage of the experiment Xygerm-1 (1200 and 1800 mg/kg), lithium chloride (100 and 200 mg/kg) and valproic acid (300 mg/kg) had significantly increased self-stimulation threshold. High doses of Xygerm-1 and lithium chloride (1800 and 200 mg/kg correspondingly) had relevantly decreased the average self-stimulation rate. There was also a tendency for the average self-stimulation rate to decrease in animals administered valproic acid, though, not statistically significant. The use of Xygerm-1 and lithium chloride induced the dose-dependant self-stimulation threshold increase, decreased by the use of amphetamine sulfate. Rather high doses of Xygerm-1 and lithium chloride (1800 and 100 mg/kg correspondingly) had also blocked amphetamine-induced increase in pedal pressing rate. Studied doses of valproic acid did not altered the amphetamine-induced brain self-stimulation reaction increase. **Conclusion.** The novel compound *bis*( $\mu$ -xylarato)dihydrogermanate (IV) has a strong influence on behavior, in particular on the brain reward systems, which is similar to the action of lithium chloride and differs from the effect of valproic acid. **Keywords:** Xygerm-1, lithium chloride, valproic acid, psychopharmacological drugs, brain self-stimulation, rats.

Биполярные расстройства (БР), или маниакально-депрессивные психозы, относят к числу тяжёлых хронических психических расстройств, характеризующихся чередованием мании и депрессии, прерывающихся периодами относительно нормального психического состояния [5]. Этиология и основные патофизиологические механизмы БР остаются во многом невыясненными [10]. Одна из причин недостаточной изученности патофизиологии БР — отсутствие адекватных экспериментальных моделей на животных. Последнее является также фактором, сдерживающим разработку новых фармакотерапевтических средств лечения БР [10]. В течение многих лет препаратами выбора для лечения пациентов с БР остаются нормотимики (соли лития) и противосудорожные средства, несмотря на частое возникновение у многих пациентов неадекватной реакции и развитие толерантности к ним [4, 9, 11].

Один из существенных факторов, лимитирующих моделирование БР у животных, — циклическая природа БР, чередование мании и депрессии. Сегодня разработано несколько валидных экспериментальных моделей депрессии [8, 15], однако адекватные модели маниакального состояния воспроизвести не удалось. Тем не менее, разнообразные фармакологические или психологически индуцированные формы поведения животных, возможно, представляют определённые симптомы заболевания. Одной из наиболее часто используемых фармакологических моделей мании служит модель гиперактивности, индуцированная с помощью психостимуляторов [2]. Последние, включая амфетамин, вызывают появление симптомов мании у людей и усиливают их проявление у пациентов с БР [3]. Указанные эффекты амфетамина редуцируются с помощью лития хлорида и вальпроатов [7]. Психостимуляторы вызывают не только появление маниеподобной гиперактивности у экспериментальных животных, но и индуцируют такие изменения, как редуцирование сна, эйфория, усиление мотиваций и гедонических проявлений, гиперсексуальность и др. [15]. Также широко используют для объективного исследования мотивационных состояний у животных модель самостимуляции мозга (СМ), которая состоит в том, что животные стремятся к повторному раздражению собственного мозга через вживлённые в мозг электроды [13]. Данная поведенческая парадигма основ-

вается на открытии Олдса и Милнера [13], показавших, что крысы путём повторного нажатия на педаль вызывают стимуляцию специфических компонентов мозговой системы подкрепления или вознаграждения. Результаты исследований подтвердили адекватность модели СМ для исследования эффектов препаратов как усиливающих, так и тормозящих подкрепляющий эффект [2, 6]. Показано, что психостимуляторы вызывают облегчение поведенческих реакций СМ [12], указывающее на гиперактивность мозговой системы вознаграждения. Полагают, что эти эффекты в определённой степени соответствуют симптомам повышенного настроения и гедонических мотиваций, наблюдаемым у пациентов с БР [10]. В нескольких исследованиях показано, что под влиянием препаратов лития повышался порог самораздражения [7], в то время как вальпроевая кислота не влияла на этот показатель [12].

Ранее нами было показано, что новый ксиларатный комплекс германия (IV) с литием — *бис*( $\mu$ -ксиларато)дигидроксодигерманат (IV) лития, ксигерм-1, созданный на кафедре общей химии и полимеров Одесского национального университета им. И.И. Мечникова под руководством профессора И.И. Сейфуллиной, оказывает эффекты на нарушенное поведение, проявляя выраженное антипсихотическое действие в условиях модели стереотипного поведения, вызванного с помощью амфетамина [1]. Известно, что такие противосудорожные препараты, как карбамазепин, вальпроаты и другие, оказывают выраженные эффекты при БР [11].

Целью исследования были оценка и сравнение эффектов ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на подкрепляющие свойства стимуляции латерального гипоталамуса у крыс. Отдельной задачей исследования было также выяснить эффекты указанных соединений в условиях амфетамин-индуцированного усиления реакции СМ у крыс.

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Вистар с массой тела 300–350 г, полученных из вивария Одесского национального медицинского университета. Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках по 6 особей в каждой в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, с естественной сменой света и темноты, при температуре  $22,0 \pm 2,0$  °С. Эксперименты выполнены в осенне-зимний период.

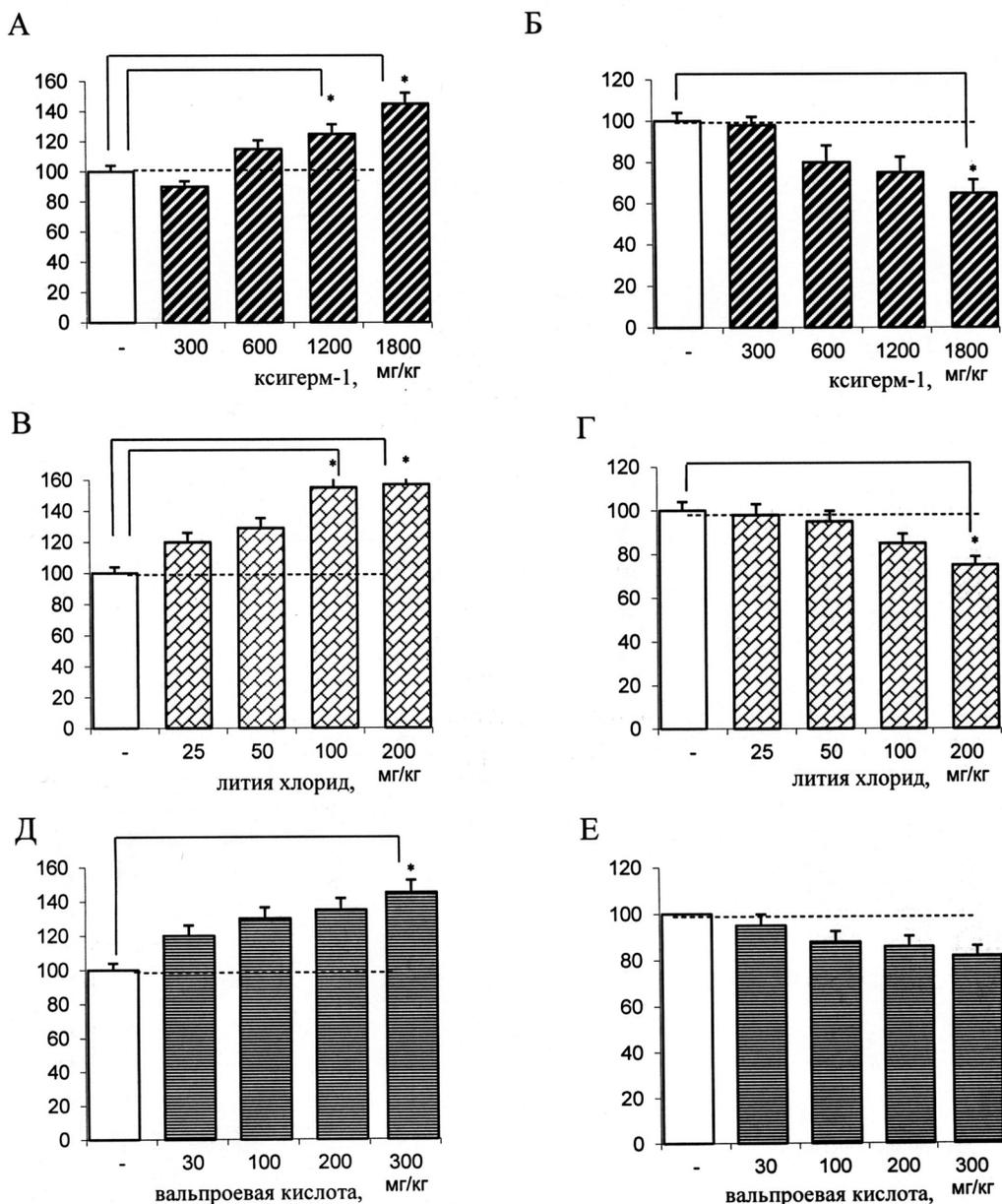


Рис. 1. Влияние ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на реакцию самостимуляции у крыс, выраженное в % по отношению к показателям до введения препаратов. По оси абсцисс – дозы препаратов (мг/кг): – ксигерм-1, – лития хлорид, – вальпроевая кислота, – контроль. По оси ординат – порог самостимуляции, мКА (А, В, Д), и максимальная частота нажатия на педаль, мин<sup>-1</sup> (Б, Г, Е). \*р < 0,05 – различия с показателями до введения препаратов (контролем).

Вживление электродов в мозг крысам осуществляли под нембуталовым («Abbot», США) наркозом (45,0 мг/кг) с помощью стереотаксического аппарата. Билатерально в латеральное гипоталамическое ядро вживляли нихромовые монополярные электроды диаметром 0,25 мм в стеклянной изоляции, за исключением кончика, по следующим координатам: AP=2,5 мм назад от брегмы, L=1,8 мм латерально от сагиттального шва,

H=8,5 мм от поверхности черепа согласно атласу Paxinos, Watson [14]. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе крысы. Электроды фиксировали на черепе животного с помощью самотвердевающей пластмассы. По окончании экспериментов производили морфологический контроль локализации кончиков электродов. Через 7–10 дней после операции крыс обучали нажимать на пе-

даль для осуществления электрического раздражения мозга в соответствии с методикой [6]. Каждое нажатие на педаль обеспечивало включение стимулятора постоянного тока (прямоугольные импульсы отрицательной полярности длительностью 0,1 мс с частотой 100 Гц в течение 0,5 с, пороговые значения тока в режиме «фиксированных пачек»). Для повторного раздражения животное было вынуждено снова нажимать на педаль. Частота и длительность нажатий регистрировались автоматически. Выраженность эффектов СМ оценивали путём анализа частоты нажатия на педаль и порога самораздражения. Исследование эффектов тестируемых соединений начинали, когда значения среднего порога СМ варьировали менее чем на 10% в течение трёх последовательных сеансов СМ.

В первой серии экспериментов исследовали влияние ксигерма-1, лития хлорида («Химреактив», Украина), вальпроевой кислоты («Фарма Старт», Украина). С этой целью животным (по 6 крыс в каждой группе) вводили ксигерм-1 в дозах 300,0; 600,0; 1200,0 и 1800,0 мг/кг, вальпроевую кислоту — 30,0; 100,0; 200,0 и 300,0 мг/кг, лития хлорид — 25,0; 50,0; 100,0 и 200,0 мг/кг. Выбор доз лития хлорида и вальпроевой кислоты основывался на данных литературы [7, 12], в которых указан ряд доз препаратов использовали для исследования их эффектов на поведенческие и функциональные показатели. Им соответствуют дозы ксигерма-1, составляющие 1/10, 1/20, 1/40 и 1/60 части дозы, вызывающей токсические эффекты у 50% животных, которая была определена в тесте «вращающегося стержня». Животным контрольных групп вводили соответствующий объём 1% раствора Твин 80 (Sandoz GmbH, Австрия). Все соединения вводили внутривенно.

Во второй серии экспериментов исследовали влияние ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на амфетамин-индуцированное усиление реакции СМ. Регистрацию реакции СМ начинали через 5 мин после введения 0,5 мг/кг амфетамина сульфата («Фармсинтез», Россия). Сравнивали показатели до и после введения исследуемых препаратов. Влияние препаратов на величину порога и частоту СМ определяли по методу ANOVA, достоверность различий — с использованием t-критерия Фишера. Выведение животных из эксперимента осуществляли путём передозирования нембутала в дозе 100,0 мг/кг.

*Влияние ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на реакции СМ у крыс.* Задачей первой серии экспериментов было исследование дозозависимых эффектов ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на реакции СМ. Повышение порога СМ свидетельствует об угнетении, а его снижение указывает на активацию внутримозговых систем подкрепления [6]. Изменения порога СМ и максимальной частоты нажатий на педаль после однократного введения препаратов представлены на рис. 1. Ксигерм-1 в дозах 1200 и 1800 мг/кг (рис. 1 А), лития хлорид в дозах 100,0 и 200,0 мг/кг (рис. 1 В), вальпроевая кислота в дозе 300,0 мг/кг (рис. 1 Д) существенно повышали порог СМ. Ксигерм-1 и лития хлорид в наиболее высоких дозах (1800,0 и 200,0 мг/кг соответственно) вызывали достоверное снижение частоты СМ (рис. 1 Б и Г). В условиях введения вальпроевой кислоты отмечена тенденция к снижению частоты нажатий, которая, однако, не достигала статистической значимости (рис. 1 Е).

*Влияние ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на амфетамин-индуцированное усиление реакции СМ.* В следующей серии экспериментов, используя те же группы животных, исследовали эффекты ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на амфетамин-вызванное усиление реакции СМ. В соответствии с литературными данными [2, 12], введение амфетамина сульфата вызывало дозозависимую активацию реакции СМ. Наши результаты также показали, что введение амфетамина сульфата в дозе 0,5 мг/кг вызывает снижение порога СМ и повышение количества нажатий на педаль (рис. 2 А, Б). Это свидетельствует об активации подкрепляющих систем. Введение ксигерма-1 и лития хлорида вызывало дозозависимое повышение порога СМ, сниженного с помощью амфетамина сульфата (см. рис. 2 А, Б). Ксигерм-1 и лития хлорид в относительно больших дозах (1800,0 и 100,0 мг/кг соответственно) блокировали также амфетамин-вызванное повышение частоты нажатий на педаль (рис. 2 Б, Г). Вальпроевая кислота в исследуемых дозах не оказывала существенного влияния на амфетамин-вызванное усиление реакции СМ (рис. 2 Д, Е).

Таким образом, проведённые исследования показали, что ксигерм-1, лития хлорид и вальпроевая кислота в относительно больших дозах значительно повышали порог реакций СМ, что позволяет предположить ингибирующее действие исследуемых соеди-

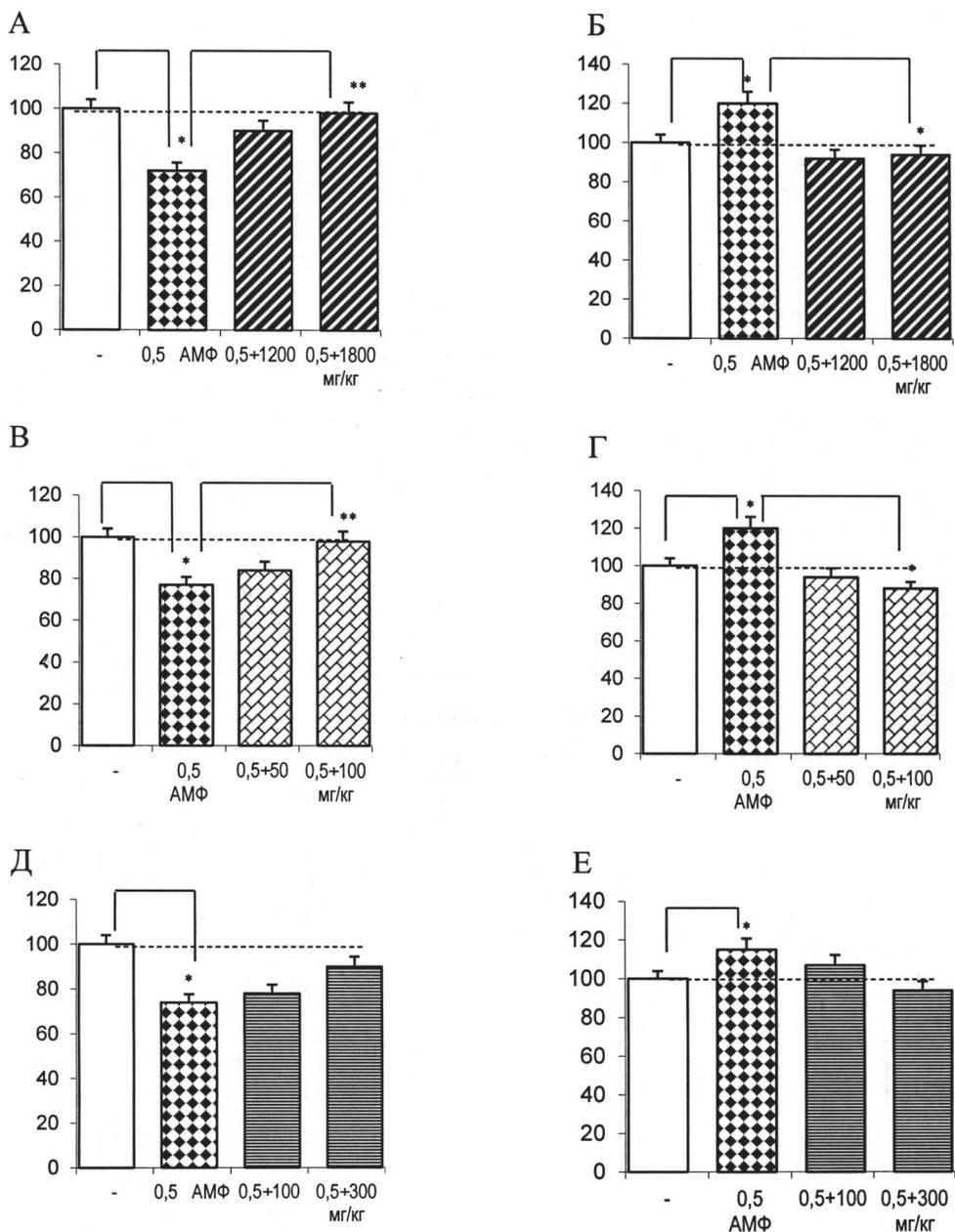


Рис. 2. Влияние ксигерма-1, лития хлорида и вальпроевой кислоты на амфетамин-индуцированное (АМФ-индуцированное) усиление реакции самостимуляции у крыс, выраженное в процентах, по отношению к показателям до введения препаратов. По оси абсцисс – дозы препаратов (мг/кг): – АМФ, – АМФ + ксигерм-1, – АМФ + лития хлорид, – АМФ + вальпроевая кислота, – контроль. По оси ординат – порог самостимуляции, мкА (А, В, Д), и максимальная частота нажатия на педаль, мин<sup>-1</sup> (Б, Г, Е); \*p < 0,05, \*\*p < 0,001 – различия с показателями до введения препаратов и АМФ.

нений на систему вознаграждения. Кроме того, только ксигерм-1 и лития хлорид в наибольших дозах (1800 и 200 мг/кг соответственно) значительно снижали максимальную частоту реакции СМ. Под влиянием вальпроевой кислоты в больших дозах также отмечены сходные изменения частоты самораздражения, однако они не достигали статистической значимости.

Полученные данные о влиянии лития хлорида и вальпроевой кислоты на порог СМ соответствуют данным других авторов [7], описавших сходные эффекты препаратов. Ранее нами было показано, что ксигерм-1 оказывает выраженное действие в условиях модели стереотипии, вызванной введением амфетамина сульфата [1]. В настоящем исследовании показаны ингиби-

рующие эффекты ксигерма-1 на систему вознаграждения, весьма сходные с влиянием на неё лития хлорида. Далее мы исследовали, влияют ли изученные препараты на амфетамин-индуцированное усиление реакций СМ. Показано, что амфетамина сульфат подобно другим веществам, обладающим возбуждающим действием на нервную систему, значительно снижал порог и увеличивал частоту СМ, что свидетельствует, по-видимому, о повышении активности системы вознаграждения. Эти результаты согласуются с данными о том, что амфетамина сульфат облегчает реакции самораздражения, вызванные стимуляцией гипоталамуса и других структур мозга [2]. В условиях введения амфетамина сульфата выявлены некоторые различия в действии исследуемых соединений. Так, показано, что ксигерма-1 и лития хлорид дозозависимо блокировали активирующие эффекты амфетамина, в то время как вальпроевая кислота не оказывала существенного влияния на них. Возможно, активирующие реакции СМ эффекты амфетамина обусловлены его способностью увеличивать высвобождение дофамина в синапсах ЦНС [3]. В связи с этим можно предположить, что ингибирующие эффекты ксигерма-1 и лития хлорида на амфетамин-индуцированное усиление реакции СМ обусловлены их влиянием на дофаминергическую систему. Подтверждением могут служить данные о том, что под влиянием лития хлорида происходит снижение уровня дофамина в гипоталамусе [7]. Наши данные согласуются с результатами М. Маврикaki и соавт. [12], которые показали ингибирующие эффекты лития хлорида и его комбинаций с вальпроевой кислотой на амфетамин-усиленные реакции самостимуляции гипоталамуса у крыс. Установлена также способность лития хлорида блокировать и другие поведенческие эффекты амфетамина сульфата у животных [7].

## ВЫВОД

Новое соединение ксигерма-1 оказывает выраженное влияние на поведение, в частнос-

ти на подкрепляющие системы мозга, которое сходно с действием лития хлорида и отличается от действия вальпроевой кислоты.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Варбанець О.И., Годован В.В., Кащенко О.А. Вплив нових ксиларатних комплексів германію (IV) на прояви синдрому стереотипної поведінки у щурів // Одес. мед. ж. — 2012. — №4. — С. 15-18.
2. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Любимов А.В. и др. Динамика реакции самостимуляции мозга у крыс после форсированного введения психоактивных веществ // Психофармакол. и биологич. наркол. — 2009. — Т. 9, вып. 1-2. — С. 2524-2529.
3. Anand A., Verhoeff P., Seneca N. et al. Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patients // Am. J. Psychiatry. — 2000. — Vol. 157. — P. 1108-1114.
4. Baldessarini R.J. Treatment research in bipolar disorder: issues and recommendations // CNS Drugs. — 2002. — Vol. 16. — P. 721-729.
5. Belmaker R.H. Bipolar disorder // N. Engl. J. Med. — 2004. — Vol. 351. — P. 476-486.
6. Carlezon Jr.W.A., Chartoff E.H. Intracranial self-stimulation (ICSS) in rodents to study the neurobiology of motivation // Nat. Protoc. — 2007. — Vol. 2. — P. 2987-2995.
7. Cassens G.P., Mills A.W. Lithium and amphetamine: opposite effects on threshold of intracranial reinforcement // Psychopharmacologia. — 1973. — Vol. 30. — P. 283-290.
8. Einat H. Establishment of a battery of simple models for facets of bipolar disorder: a practical approach to achieve increased validity, better screening and possible insights into endophenotypes of disease // Behav. Genet. — 2007. — Vol. 37. — P. 244-255.
9. Fountoulakis K.N., Vieta E., Siamouli M. et al. Treatment of bipolar disorder: a complex treatment for a multi-ceted disorder // Ann. Gen. Psychiatry. — 2007. — Vol. 6. — P. 27.
10. Goodwin F.K., Jamison K.R. Manic-depressive illness: bipolar disorders and recurrent depression. — Oxford: Oxford university press, 2007. — 324 p.
11. Kahn D.A., Sachs G.S., Printz D.J. et al. Medication treatment of bipolar disorder 2000: a summary of the expert consensus guidelines // J. Psychiatr. Pract. — 2000. — Vol. 6. — P. 197-211.
12. Mavrikaki M., Nomikos G., Panagis G. Effects of mood stabilizers on brain reward processes in rats: studies using the intracranial self-stimulation paradigm // Europ. Neuropsychopharmacol. — 2009. — Vol. 19. — P. 205-214.
13. Olds J., Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain // J. Comp. Physio. Psychol. — 1954. — Vol. 47. — P. 419-427.
14. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinate, sixth. — Amsterdam: Elsevier, 2007. — 457 p.
15. Slattery D.A., Markou A., Cryan J.F. Evaluation of reward processes in an animal model of depression // Psychopharmacol. — 2007. — Vol. 190. — P. 555-568.