

Elżbieta Czarnecka, Kazimierz Kowalczyk, Anna Szadowska

BADANIA NAD INTERAKCJĄ ALKOHOLU ETYLOWEGO Z MIANSERYNĄ W ZAKRESIE OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO*

W poprzednich badaniach /1, 2/ wykazaliśmy, że imipramina i amitryptylina potęgują centralne działanie etanolu u myszy, szczurów i królików. Stwierdzono, że interakcja etanolu z amitryptyliną może być bardziej niebezpieczna niż z imipraminą, bowiem amitryptylina w odróżnieniu od imipraminy nasila ostrą toksyczność etanolu. Zaobserwowano różnice skutków interakcji etanolu z trójcyklicznymi antydepresantami w zależności od czasu ich stosowania: jednorazowo, czy wielokrotnie.

W obecnej pracy oceniono wpływ skojarzonego stosowania etanolu z mianseryną, lekiem przeciwdepresyjnym drugiej generacji, na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt doświadczalnych.

METODY

Doświadczenia przeprowadzono na myszach szczepu Swiss o masie 18-24 g oraz na szczurach szczepu Wistar o masie 180-240 g. Zwierzęta karmiono paszą granulowaną oraz podawano im wodę pod dostatkiem. Etanol wstrzykiwano do otrzewnowo w 20% roztworze w/v. Mianserynę (Miansan - ZORKA SABAC) podawano dożołądkowo jednorazowo w dawkach 10 mg/kg / $1/20$ LD₅₀/ i 40 mg/kg / $1/5$ LD₅₀/ 30 minut przed etanolem lub w dawce 10 mg/kg/dobę przez 21 dni, a następnego dnia po ostatniej dawce podawano etanol.

Ponadto w doświadczeniach na królikach mieszańcach obu płci o masie 2,4 - 2,7 kg oceniono skojarzony wpływ mianseryny i etanolu na czynność bioelektryczną mózgu.

Ostra toksyczność. Ostrą toksyczność etanolu zbadano metodą Litchfielda i Wilcoxa /5/. Doświadczenia wykonano na 18 grupach myszy po 6 zwierząt w grupie. Myszy otrzymywały różne dawki etanolu i po 24 godzinach określano liczbę padłych zwierząt. Po obliczeniu LD₅₀ samego etanolu określono wpływ mianseryny podawanej jednorazowo lub przewlekle na jego LD₅₀.

Test rota-rod. Myszy samce (grupy po 10 myszy) umieszczano na 5 minut na precie obracającym się z szybkością 11 obrotów na minutę. Szybkość obrotów

* Praca wykonana w ramach CPBR 11.8

ustalono w ten sposób, aby myszy kontrolne utrzymywały się na przęcie przez 5 minut. Po obliczeniu ED_{50} etanolu metodą Litchfielda i Wilcozona oznaczono wpływ jednorazowego (10mg/kg) lub wielokrotnego podawania mianseryny na jego ED_{50} .

Hipotermia etanolowa. Doświadczenia wykonano na myszach samcach w grupach po 10 zwierząt. Zwierzęta przed i podczas trwania doświadczenia umieszczono w klatkach grupując je po 5 i 10 osobników. Przebywały one w klimatyzowanym pomieszczeniu o temperaturze 20°C przez 3 dni poprzedzające oraz w dniu doświadczenia. Ciepłotę ciała mierzono w odbycie termometrem elektrycznym firmy Ellab. Temperaturę wyjściową oznaczano trzykrotnie w odstępach 30 minutowych i średnie z tych pomiarów stanowiły wartości porównawcze. Alkohol podawano w dawce 2,5 g/kg i.p. bez mianseryny oraz po jednorazowym lub wielokrotnym jej podaniu. Ciepłotę ciała mierzono co 30 minut przez 2 godziny po podaniu etanolu.

Sen etanolowy. Sen wywołano u myszy obu płci dootrzewnowym wstrzyknięciem etanolu w dawce 4g/kg bez podania mianseryny oraz po jednorazowym lub wielokrotnym jej podaniu. Za kryterium snu przyjęto zniesienie odruchu postawy. Doświadczenia wykonano w grupach liczących 10 myszy.

Ruchliwość spontaniczną zbadano przy pomocy pomiarów fotoelektrycznych na myszach samcach w grupach po 10 zwierząt. Ruchliwość rejestrowano przez 90 minut po podaniu etanolu bez mianseryny lub po równoczesnym jednorazowym lub wielokrotnym podawaniu mianseryny.

Badania EEG. Królikom przewlekłe zaimplantowano elektrody jednobiegunowe do: kory okolicy czołowej (A - 3 mm, L - 2 mm), hipokampa grzbietowego (P - 3 mm, L - 5 mm, H - 5 mm) i układu siatkowego śródmózgowia (P - 8 mm, L - 3 mm, H - 15 mm). Elektrody implantowano posługując się współrzędnymi wg Sawyera i wsp. /11/. Zapisy EEG analizowano w zakresie 6 pasm częstotliwości (0,5 - 4 c/sek, 4 - 7 c/sek, 7 - 10 c/sek, 10 - 13 c/sek, 13 - 30 c/sek, 30 - 45 c/sek) przy użyciu automatycznego analizatora produkcji COTM w Białymstoku. Analizie statystycznej poddano 10 histogramów z każdego okresu badania. Alkohol etylowy wstrzykiwano dożylnie w dawce 0,8 g/kg (40% w/v roztwór) i po 15 i 60 minutach od jego podania rejestrowano zapisy EEG. Mianserynę w dawce 5 mg/kg podawano dożyłkowo, a po 30 minutach po jej wprowadzeniu króliki otrzymywały dożylnie etanol.

Badania rozwoju tolerancji na etanol. Rozwój tolerancji na hipotermiczne i nasenne działanie etanolu zbadano na szczurach zmodyfikowaną metodą Majchrowicza /8/. U zwierząt otrzymujących mianserynę w dawce 20 mg/kg i.p.

przez 21 dni podawanie etanolu rozpoczynano w 17 dniu jej stosowania. Początkowo wstrzykiwano etanol w dawce 5 g/kg i.p. Mierzono czas trwania odruchu postawy oraz ciepłotę ciała. W następnych trzech dniach szczirom podano dożołądkowo etanol w jednorazowej dawce 5 g/kg. Piątego dnia szczirom wstrzyknięto dootrzewnowo etanol w dawce 5 g/kg i ponownie zmierzono ciepłotę ciała i czas trwania utraty odruchu postawy.

METODY STATYSTYCZNE

W obliczeniach statystycznych równość wariancji sprawdzono testem Fishera-Snedecora, a wnioskowanie statystyczne przeprowadzono przy użyciu testu t-Studenta.

W ocenie badań EEG posłużono się testem znaków (porównanie w obrębie grupy) lub testem serii (porównanie pomiędzy grupami).

WYNIKI

Ostra toksyczność etanolu. Mianseryna podana myszom jednorazowo w dawkach 10 mg/kg i 40 mg/kg oraz przewlekle przez 21 dni (20 mg/kg) nie zwiększa znamienne statystycznie ostrej toksyczności etanolu, jednakże wartości LD_{50} są niższe niż w grupie kontrolnej /tabela 1/.

Koordynacja ruchowa. Mianseryna podawana jednorazowo w dawce 10 mg/kg oraz przewlekle przez 21 dni nie zmienia działania etanolu na koordynację ruchową myszy /tabela 2/.

Hipotermia etanolowa. Mianseryna wstrzyknięta myszom jednorazowo nasila, a podawana przewlekle nie wpływa na hipotermiczne działanie etanolu /tabela 3/.

Sen etanolowy. Mianseryna przedłuża w sposób zależny od dawki czas trwania snu etanolowego u myszy. Podawana przewlekle także nasila jego działanie nasenne /tabela 4/.

Ruchliwość spontaniczna. Po jednorazowym podaniu mianseryny i etanolu następuje bardzo duże obniżenie ruchliwości myszy. Mianseryna podawana przez 21 dni zapobiega hamującemu wpływowi etanolu na ruchliwość. Wyniki statystycznie znamienne uzyskano po 90 minutach po wprowadzeniu etanolu /tabela 5/.

Rozwój tolerancji na etanol. U szczurów kontrolnych obserwuje się rozwój tolerancji na etanol w przebiegu pięciu dni jego stosowania. Czas trwania snu etanolowego jest krótszy w piątym niż w pierwszym dniu podawania etanolu. Stabilnie również efekt hipotermiczny etanolu. W czasie równoczesnego pięciodniowego stosowania mianseryny i etanolu większość szczurów padła.

Badanie EEG. Alkohol etylowy podany królikom dożylnie w dawce 0,8 g/kg powoduje największe zmiany w zapisie EEG rejestrowanym z kory czołowej

i układu siatkowatego i znacznie mniejsze w zapisie z hipokampa. Zwiększa się procentowy udział w zapisie rytmu o częstotliwości 10 - 13, 7 - 10 i 4 - 7 c/sek w układzie siatkowatym także 0,5-4 c/sek, a obniża się procentowy udział rytmu o częstotliwości 30 - 45 c/sek. / Ryc. 1./.

Mianseryna (5 mg/kg p.o.) powoduje bardzo wyraźne zmiany w czynności bioelektrycznej mózgu. Widoczne są one we wszystkich badanych strukturach. /Ryc. 2/.

Alkohol etylowy podany po mianserynie powoduje zmiany w zapisie EEG podobne do tych, jakie obserwowano po samej mianserynie. /Ryc. 2/.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że mianseryna podana jednorazowo nasila nasenne i hipotermiczne działanie etanolu oraz jego wpływ na ruchliwość spontaniczną. Podawana przez 21 dni nasila działanie nasenne etanolu, nie wpływa na hipotermię etanolową i znosi poetanolo we zahamowanie ruchliwości spontanicznej.

Mianseryna podana myszom jednorazowo lub wielokrotnie obniża LD_{50} etanolu chociaż wartości te nie różnią się znamienne od wartości porównawczej. Wyraźne nasilenie toksyczności etanolu obserwowano u szczurów otrzymujących długotrwale mianserynę, u których próbowano ocenić rozwój tolerancji na etanol. Przy równoczesnym stosowaniu etanolu i mianseryny w trakcie wywoływania tolerancji większość zwierząt padła. Należy więc brać pod uwagę, że niebezpiecznym skutkiem interakcji etanolu z mianseryną może być nasilenie toksyczności etanolu.

Mianseryna wywiera bardzo silny i długotrwały wpływ na zapis EEG u królików. Działanie to było obserwowane po 30 minutach od jej podania i zapis nadal wykazywał cechy wpływu mianseryny, pomimo podania w dalszym okresie czasu dużej dawki etanolu.

Alkohol etylowy wywiera swoje działanie ośrodkowe poprzez wpływ na syntezę, uwalnianie i metabolizm amin katecholowych i serotoniny. Zastosowany jednorazowo początkowo zwiększa obrót noradrenaliny, a następnie obniża obrót noradrenaliny i dopaminy /3/. Stosowany przewlekłe zwiększa obrót noradrenaliny i na ogół obniża obrót dopaminy /9/. Wykazano również, że etanol zmniejsza wrażliwość ośrodkowych receptorów adrenergicznych /12/.

W mechanizmie interakcji alkoholu etylowego z lekami antydepresyjnymi może odgrywać rolę wpływ tych związków na ośrodkowe układy monoaminergiczne. Zwraca uwagę różnica skutków interakcji etanolu z mianseryną w zależności od podania leku jednorazowo lub wielokrotnie. Podobne obserwacje poczyniliśmy

w odniesieniu do interakcji etanolu z amitryptyliną i imipraminą /1, 2/. Może to zależeć od różnic w mechanizmie działania antydepresantów stosowanych jednorazowo i przewlekłe. Amitryptylina i imipramina podane w dawce pojedynczej hamują wychwyt zwrotny noradrenaliny i serotoniny ze szczeliny synaptycznej. Mianseryna blokuje receptory α_2 -adrenergiczne, α_1 -adrenergiczne, serotoninowe (5-HT₂) i histaminowe (H₁) /6, 10/. Leki te stosowane długotrwale zmieniają wrażliwość ośrodkowych receptorów /4, 7/. W interakcji etanol - mianseryna mogą również odgrywać rolę mechanizmy farmakokinetyczne, co wymaga prowadzenia dalszych badań

A STUDY OF INTERACTION BETWEEN ETHYL ALCOHOL AND MIANSERIN IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

SUMMARY

Combined action of ethyl alcohol and mianserin was studied in mice. The effect of mianserin on the acute toxicity of ethanol, post-ethanol co-ordination disorders (the rota-rod test), ethanol sleep and ethanol hypothermia was assessed. Moreover, the influence of the two agents on spontaneous mobility in mice was determined. Mianserin was administered either in a single dose (10 and 40 mg/kg p.o.) or on 21 successive days.

Besides, in experiments carried out on rabbits the combined effect of mianserin and ethanol on EEG was investigated. It was found that mianserin administered in a single dose resulted in an enhanced soporific and hypothermal action of ethanol, increasing also its effect on spontaneous mobility. Due to long-term administration of mianserin soporific action of ethanol was enhanced. Mianserin decreases LD₅₀ of ethanol, but this effect is not statistically significant. In rabbits mianserin had also a very pronounced and sustained influence on EEG pattern, which was not modified by ethanol administration.

tłumaczyła Barbara Mroziak

PIŚMIENNICTWO

1. Czarnicka E., Kowalczyk K., Pietkiewicz B.: The effect of combined treatment with ethanol and imipramine or amitriptyline on rabbit EEG. *Pol.J.Pharmacol.Pharm.*, 1989, 41, 239-246.
2. Czarnicka E., Kowalczyk K., Koźbial H.: Interaction between central effect of ethanol and tricyclic antidepressants, imipramine and amitriptyline in mice and rats. *Pol.J.Pharmacol.Pharm.*, 1989, 41, 231-237.
3. Hunt W.A., Majchrowicz E.: Studies of neurotransmitter interactions after acute and chronic ethanol administration. *Pharmacol.Biochem.Behav.*, 1983, 18, Suppl, 1, 371-374.
4. Kostowski W.: Rola substancji neuroprzekaznikowych w mechanizmach działania leków psychotropowych, w: *Psychofarmakologia Doświadczalna i Kliniczna*. PZWL Warszawa, 1986.
5. Litchfield J.P., Wilcoxon F.: Simplified method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1949, 96, 99.
6. Maj J.: Atypical antidepressant drug-psychofarmacological profile and mechanism of action. *Pharmacopsychiatria*, 1982, 15, 26-30.
7. Maj J., Przegaliński E., Mogilnicka E.: Hypotheses concerning the mechanism of action of antidepressant drugs. *Rev.Physiol.Biochem.Pharmacol.*, 1984, 100, 1-74.
8. Majchrowicz E.: Induction of psychical dependence upon ethanol and the associated behavioral changes in rats. *Psychopharmacologia*, 1975, 43, 245-254.
9. Pohorecky L.A.: Effect of ethanol on central and peripheral noradrenergic neuros. *J. Pharmacol.Exp. Ther.*, 1974, 189, 380, 391.
10. Pużyński S.: Lek przeciwdepresyjne, w: *Psychofarmakologia Doświadczalna i Kliniczna*. PZWL, Warszawa, 1986.
11. Sawyer Ch.H., Everett J.W., Green J.D.: The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J.Compar.Neurol.*, 1954, 101, 801-824.
12. Szmigielski A., Szmigielska H., Wejman I.: The effect of prolonged ethanol administration on central adrenoceptors sensitivity. *Pol.J.Pharmacol. Pharm.* /w druku/.

Tabela 1. Wpływ mianseryny na ostrą toksyczność alkoholu etylowego u myszy

Srodek i dawka	LD ₅₀ etanolu /g/kg/ (5% poziom istotności)
0,9% roztwór NaCl /grupa kontrolna/	9,2 /8,28 - 10,21/
Mianseryna 10 mg/kg p.o.	7,4 /5,65 - 9,11/
Mianseryna 40 mg/kg p.o.	6,9 /4,75 - 10,0 /
Mianseryna 20 mg/kg p.o. przez 21 dni	7,8 /6,78 - 8,97/

Tabela 2. Wpływ mianseryny na poetanolowe zaburzenia koordynacji w teście „rota-rod” u myszy

Srodek i dawka	LD ₅₀ etanolu /g/kg/ (5% poziom istotności)
0,9% roztwór NaCl /grupa kontrolna/	1,7 /1,45 - 1,98/
Mianseryna 10 mg/kg p.o.	2,0 /1,65 - 2,42/
Mianseryna 20 mg/kg p.o. przez 21 dni	2,0 /1,8 - 2,23/

Tabela 3. Wpływ mianseryny na hipotermiczne działanie alkoholu etylowego u myszy

Środek i dawka	Średnie obniżenie ciepłoty ciała w °C po:			
	30 min	60 min	90 min	120 min
0,9% roztwór NaCl /grupa kontrolna/	2,21 ± 0,17	1,79 ± 0,26	1,08 ± 0,23	1,08 ± 0,12
Mianseryna 10 mg/kg p.o.	^x 2,38 ± 0,1	^x 2,14 ± 0,17	1,21 ± 0,07	0,79 ± 0,06
Mianseryna 40 mg/kg p.o.	^x 3,15 ± 0,14	^x 2,67 ± 0,09	^x 2,01 ± 0,18	^x 1,93 ± 0,17
Mianseryna 20 mg/kg p.o. przez 21 dni	^{xx} 1,05 ± 0,1	1,67 ± 0,12	1,11 ± 0,1	0,95 ± 0,1

± SEM

^x p < 0,05, ^{xx} p < 0,001

Alkohol etylowy był podawany w dawce 2,5 g/kg i.p.

Tabela 4. Wpływ mianseryny na czas trwania snu etanolowego u myszy

Środek i dawka	Czas trwania snu etanolowego w minutach
0,9% roztwór NaCl /grupa kontrolna/	13,4 ± 0,46
Mianseryna 10 mg/kg p.o.	17,82 ± 0,61 ^x
Mianseryna 40 mg/kg p.o.	30,82 ± 0,61 ^{xx}
0,9% roztwór NaCl /grupa kontrolna/	12,8 ± 0,53
Mianseryna 20 mg/kg p.o. przez 21 dni	49,2 ± 2,48 ^{xx}

± SEM

^x p < 0,05, ^{xx} p < 0,001Alkohol etylowy był podawany
w dawce 4 g/kg i.p.

Tabela 5. Wpływ mianseryny na działanie alkoholu etylowego na ruchliwość spontaniczną myszy

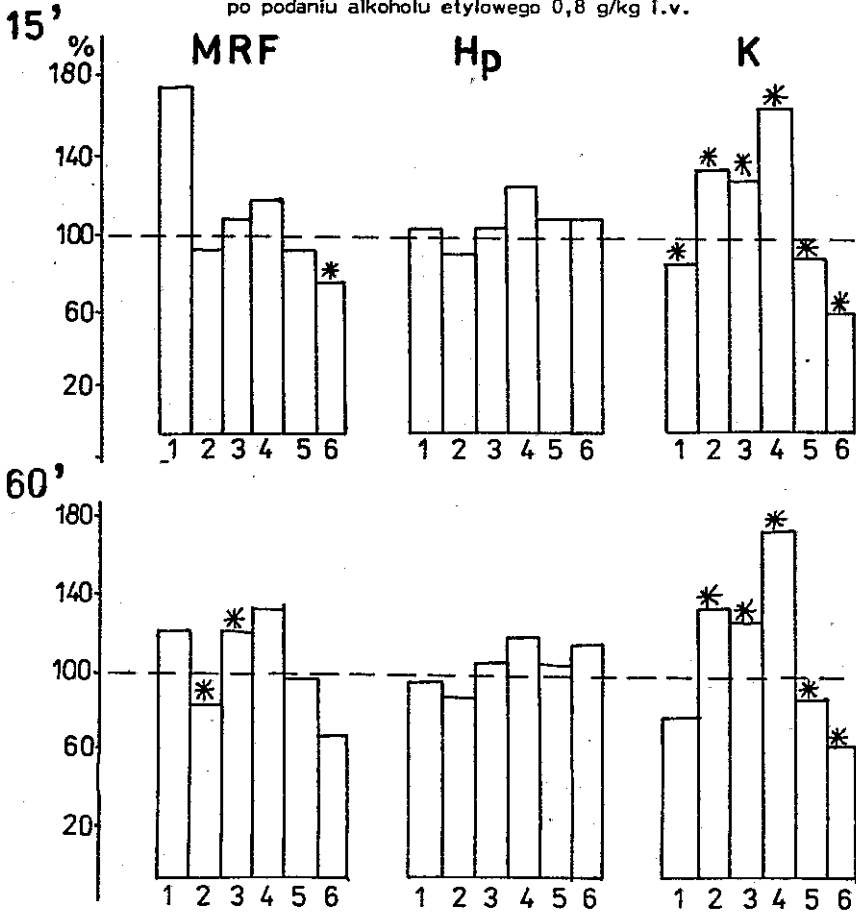
Środek i dawka	Średnia ruchliwość po:		
	30 min	60 min	90 min
0,9% roztwór NaCl /grupa kontrolna/	140,6 ± 17,0	53,0 ± 11,7	38,7 ± 9,1
Mianseryna 10 mg/kg p.o.	77,5 ± 11,6	30,9 ± 7,3	36,1 ± 14,7
Mianseryna 40 mg/kg p.o.	19,6 ± 4,2 ^x	8,6 ± 1,4 ^x	11,1 ± 2,4 ^x
Mianseryna 20 mg/kg p.o. przez 21 dni	167,6 ± 11,3	102,3 ± 12,0	155,9 ± 20,8 ^x

± SEM

^x p < 0,05

Alkohol etylowy był podawany
w dawce 2 g/kg i.p.

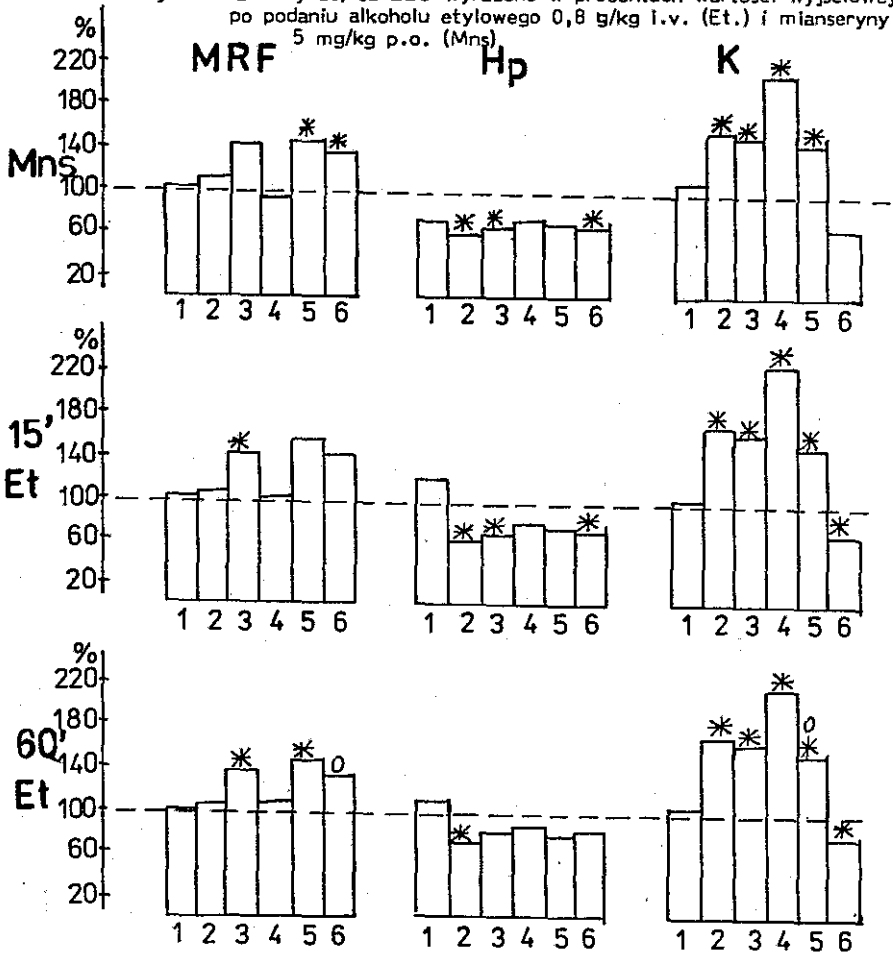
Ryc. 1. Zmiany zapisu EEG wyrażone w procentach wartości wyjściowej po podaniu alkoholu etylowego 0,8 g/kg i.v.



1. 0,5-4 c/sek.
2. 4-7 c/sek.
3. 7-10 c/sek.
4. 10-13 c/sek.
5. 13-30 c/sek.
6. 30-45 c/sek.

K - kora czołowa
 H - hipokamp
 MRF - układ siatkowaty śródmózgowia
 * - różnica znamienna w porównaniu do wartości wyjściowej $p < 0,05$ /test znaków/

Ryc. 2 Zmiany zapisu EEG wyrażone w procentach wartości wyjściowej po podaniu alkoholu etylowego 0,8 g/kg i.v. (Et.) i mianseryny 5 mg/kg p.o. (Mns)



* - różnica znamienna w porównaniu do wartości wyjściowej $p < 0,05$ (test znaków)

0 - różnica znamienna w porównaniu do etanolu $p < 0,05$ (test serii)

Oznaczenie struktur i częstotliwości jak ryc.1