

О СПОСОБНОСТИ ЦИПРАМИЛА КОРРЕКТИРОВАТЬ УСЛОВНОЕ ПАССИВНОЕ ИЗБЕГАНИЕ У ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС-САМОК

Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов¹

Изучалась возможность применения ципрамила — селективного ингибитора нейронального захвата серотонина для коррекции условнорефлекторной деятельности у овариоэктомированных крыс-самок на модели пассивного избегания. Установлено, что у овариоэктомированных крыс ципраamil в комбинации с эстрадиолом оказывает корригирующее воздействие на способность животных приобретать и воспроизводить навык пассивного избегания, а также улучшает эмоциональный компонент поведения в тесте “открытое поле”.

Ключевые слова: ципраamil, овариоэктомия, обучение, эстрогены, открытое поле

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущих исследованиях нами проведен анализ влияния ряда серотонинергических веществ на поведенческие процессы у овариоэктомированных крыс-самок, в результате чего установлена некоторая закономерность в изменении динамики условнорефлекторной деятельности у крыс в условиях дефицита эстрогенов при использовании данных соединений [6]. Основываясь на полученных результатах, представлялось интересным оценить эффективность применения обычной гормональной заместительной терапии эстрадиолом в комбинации с ципраamilом — селективным ингибитором нейронального захвата серотонина, на реализацию условнорефлекторной деятельности у овариоэктомированных крыс.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния ципрамила или его комбинации с эстрадиолом на характер условнорефлекторной деятельности у овариоэктомированных крыс-самок.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 80 белых беспородных половозрелых крысах-самках массой 180 – 200 г, полученных из питомника Рапполово. Животных содержали при естественном освещении и максимальной стандартизации температурного и пищевого режимов со свободным доступом к еде и воде. Все исследования проводили в первой половине дня (9.00 – 12.00). Для выполнения поведенческих тестов крыс разделяли на группы по 8 – 10 особей в каждой: 1-я — интактные самки, получавшие масляный растворитель (контроль № 1); 2-я — интактные самки, получавшие ципраamil (“Н. Lundbeck”, Нидерланды, 20 мг/кг, внутривентриально); 3-я — овариоэктомированные самки, полу-

чавшие 0,5 мл масляного растворителя внутримышечно (контроль № 2); 4-я — овариоэктомированные самки, получавшие стандартную дозу эстрадиола (5 мкг в 0,5 мл масляного раствора на каждое животное, внутримышечно) ежедневно в течение 7 дней, через 21 день после операции удаления яичников; 5-я — овариоэктомированные самки, получавшие ципраamil ежедневно в течение 7 дней, через 21 день после кастрации; 6-я — овариоэктомированные самки, получавшие ципраamil ежедневно в течение 7 дней, через 21 день после кастрации, в комбинации с эстрадиолом в той же дозе, что и овариоэктомированные самки, не получавшие ципраamil.

Удаление яичников осуществляли согласно общепринятой методике [3]. Эффективность действия экзогенного введения эстрадиола у овариоэктомированных самок оценивали по влагиалищным мазкам.

Процесс обучения исследовали на модели условной реакции пассивного избегания (УРПИ) [1]. Поведение животных оценивали в тесте “открытое поле” [4].

Уровень половых гормонов (лютеинизирующий гормон — ЛГ, фолликулостимулирующий гормон — ФСГ, эстрадиол — Э, прогестерон — П) определяли в сыворотке крови с помощью гормональных тест-наборов для иммуноферментного анализа *in vitro* у человека (“Хема”, Россия) с предварительной раститровкой всех наборов и подбором оптимального разведения сывороток крови крыс для каждого набора.

Статистическую обработку данных проводили с помощью параметрических и непараметрических методов с использованием пакета программ SPSS.

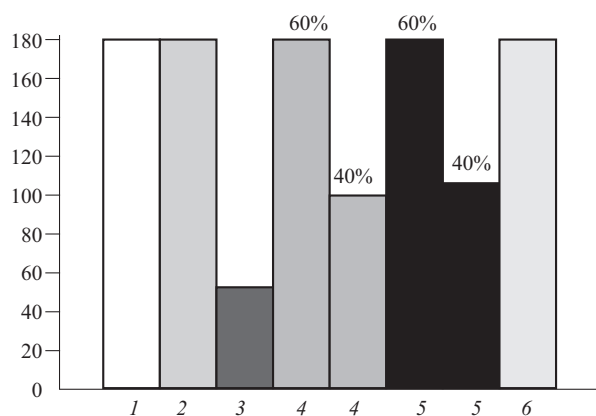
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На модели УРПИ установлено, что ципраamil не изменял характера условнорефлекторной деятельности у интактных самок. Овариоэктомия резко ухудшала воспроизведение УРПИ у крыс-самок. На фоне введения эстрадиола или ципрамила в 60 % случаев у овариоэктомированных крыс отмечалось воспроизведение реф-

¹ Отдел нейрофармакологии им. С. В. Аничкова (руководитель — член-корр. РАМН Н. С. Сапронов) Научно-исследовательского института экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

лекса пассивного избегания, тогда как в остальных 40 % случаев позитивный эффект терапии отсутствовал. Однако при введении ципрамила вместе с эстрадиолом наблюдалось полное восстановление способности воспроизводить УРПИ у всех овариоэктомированных животных (рисунок).

Результаты, полученные в тесте “открытое поле”, показали, что введение ципрамила интактным или овариоэктомированным животным в 2,5 и 4 раза соответственно понижало горизонтальную двигательную активность ($16,2 \pm 1,4$ и $10 \pm 1,4$ перемещений соответственно) по сравнению с контрольными интактными и овариоэктомированными крысами (табл. 1). Вместе с тем введение ципрамила в комбинации с эстрадиолом овариоэктомированным крысам также понижало горизонтальную двигательную активность по сравнению с контролями № 1 и № 2, но в значительно меньшей степени, чем использование одного ципрамила. Овариоэктомия существенно не изменяла параметры поведенческих реакций животных, за исключением увеличения эмоционального компонента поведения ($5,8 \pm 0,2$ дефекаций, $p < 0,05$). Введение эстрадиола овариоэктомированным крысам в 1,8 раз понижало горизонтальную двигательную активность ($24,2 \pm 3,7$ перемещений, $p < 0,05$), а также представленность груминга ($0,6 \pm 0,2$ груминговых реакций, $p < 0,05$) по сравнению с интактными и контрольными овариоэктомированными крысами. Кроме того, у данной группы животных отсутствовал эмоциональный компонент поведения. Уровень исследовательской активности на фоне введения ципрамила овариоэктомированным крысам также в несколько раз уменьшался ($0,8 \pm 0,2$ обследованных норок, $p < 0,05$) по сравнению с контролями № 1 и № 2. Следует отметить, что введение одного ципрамила овариоэктомированным животным приводило к угнетению грумингового и эмоционального компонентов поведения. Комбинированное вве-



Влияние ципрамила или его комбинации с эстрадиолом на формирование и воспроизведение условной реакции пассивного избегания у овариоэктомированных крыс-самок.

Столбики — латентный период захождения животного в темную камеру при тестировании условной реакции пассивного избегания через 24 ч в секундах. 1 — контроль № 1 (интактные крысы), 2 — интактные крысы + ципраamil, 3 — контроль № 2 (овариоэктомированные крысы), 4 — овариоэктомированные крысы + эстрадиол (в 60 % случаев наблюдается воспроизведение УРПИ, в 40 % — нет), 5 — овариоэктомированные крысы + ципраamil (в 60 % случаев наблюдается воспроизведение УРПИ, в 40 % — нет), 6 — овариоэктомированные крысы + эстрадиол + ципраamil.

дение эстрадиола и ципрамила, хотя и снижало эмоциональный компонент поведения ($2,2 \pm 0,2$ дефекаций, $p < 0,05$) по сравнению с контролем № 2, однако этот показатель приближался к его значению у интактных крыс.

Сравнительный анализ гормонального статуса показал, что введение ципрамила интактным крысам достоверно понижает ($p < 0,05$) уровень ФСГ в крови по сравнению с контролем № 1 (табл. 2). Овариоэктомия не приводила к существенному изменению содержания ФСГ (см. табл. 2).

Введение ципрамила интактным животным также достоверно уменьшало ($p < 0,05$) уровень ЛГ в крови по сравнению с контрольными интактными самками

Таблица 1. Влияние ципрамила, введенного одного или в комбинации с эстрадиолом, на поведение овариоэктомированных крыс-самок в тесте “открытое поле” в течение 180 с

Группа животных ($n = 10$)	Параметры				
	Двигательная активность		Исследовательская активность	Эмоциональность	
	Перемещение	Вставание		Груминг	Дефекация
Контроль № 1 (интактные крысы)	$41,0 \pm 4,9$	$7,4 \pm 1,2$	$4,2 \pm 1,2$	$3,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$
Интактные + ципраamil	$16,2 \pm 1,4^*$	$4,8 \pm 1,2$	$2,4 \pm 0,7$	$2,4 \pm 0,7$	$2,6 \pm 0,7$
Контроль № 2 (овариоэктомированные крысы)	$45,4 \pm 2,8$	$4,8 \pm 1,2$	$2,4 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,5$	$5,8 \pm 0,2^*$
Овариоэктомированные крысы + эстрадиол	$24,2 \pm 3,8^{***}$	$3,4 \pm 1,5$	$2,4 \pm 0,8$	$0,6 \pm 0,2^{***}$	0
Овариоэктомированные крысы + ципраamil	$10,0 \pm 1,4^{***}$	$3,8 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,2^{***}$	0	0
Овариоэктомированные крысы + эстрадиол + ципраamil	$29,6 \pm 3,3^{***}$	$5,8 \pm 1,1$	$2,6 \pm 0,7$	$3,4 \pm 1,03$	$2,2 \pm 0,2^{**}$

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 различия достоверны при ($p < 0,05$) по сравнению: * — с контролем № 1, ** — с контролем № 2.

Таблица 2. Влияние ципрамила, введенного одного или в комбинации с эстрадиолом, на уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в МЕд/л в сыворотке крови овариоэктомированных крыс-самок

Группа животных ($n = 10$)	ФСГ	ЛГ
Контроль № 1 (интактные крысы)	$2,4 \pm 0,2$	$7,1 \pm 1,2$
Интактные + ципрамил	$0,8 \pm 0,1^*$	$1,7 \pm 0,4^{***}$
Контроль № 2 (овариоэктомированные крысы)	$2,3 \pm 0,5$	$18,8 \pm 4,2^*$
Овариоэктомированные крысы + эстрадиол	$1,9 \pm 0,2$	$18,7 \pm 2,6^*$
Овариоэктомированные крысы + ципрамил	$2,5 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2^{***}$
Овариоэктомированные крысы + эстрадиол + ципрамил	$1,3 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,04^{***}$

(см. табл. 2). Овариоэктомия приводила к достоверному понижению уровня ЛГ ($p < 0,05$) в крови по сравнению с интактными животными. Введение эстрадиола овариоэктомированным самкам достоверно повышало ($p < 0,05$) содержание ЛГ в крови по сравнению с контролем № 1. В то же время уровень ЛГ в крови у овариоэктомированных крыс, получавших ципрамил один или в комбинации с эстрадиолом, был достоверно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с контролями № 1 и № 2.

На фоне ципрамила у интактных крыс также достоверно увеличивался ($p < 0,05$) уровень П в крови по сравнению с контролем № 1 (табл. 3). Овариоэктомия приводила к многократному снижению концентрации П в крови по сравнению с контрольными интактными самками. Введение эстрадиола, ципрамила или его комбинации с эстрадиолом не влияло на уровень П в крови по сравнению с контролем № 2.

Овариоэктомия приводила к резко выраженному снижению количества Э по сравнению с интактными крысами (см. табл. 3). Заместительное введение эстрадиола в несколько раз увеличивало содержание Э в крови овариоэктомированных крыс по сравнению с контролем № 2. Введение ципрамила интактным самкам достоверно понижало ($p < 0,05$) уровень Э по сравнению с контролем № 1, но в 7 раз увеличивало уровень этого гормона в крови овариоэктомированных крыс по сравнению с контролем № 2. Следует отметить, что введение ципрамила в комбинации с эстрадиолом овариоэктомированным самкам более, чем в 2 раза повышало уровень Э по сравнению с контролями № 1 и № 2.

Проведенные исследования демонстрируют, что ципрамил в комбинации с эстрадиолом нормализует процесс пассивного обучения и уменьшает выраженность эмоциональности у овариоэктомированных животных. Сочетанное использование этих фармакологических веществ в несколько раз повышает содержание эстрадиола в крови овариоэктомированных самок, что может быть обусловлено как увеличением продукции

Таблица 3. Влияние ципрамила, введенного одного или в комбинации с эстрадиолом, на уровень прогестерона (в нмоль/л) и эстрадиола (в пг/мл) в сыворотке крови овариоэктомированных крыс-самок

Группа животных ($n = 10$)	Прогестерон	Эстридиол
Контроль № 1 (интактные крысы)	$57,7 \pm 4,2$	$123,03 \pm 4,8$
Интактные + ципрамил	$81,7 \pm 3,1^{***}$	$42,7 \pm 3,1^*$
Контроль № 2 (овариоэктомированные крысы)	$7,6 \pm 0,6^*$	$3,9 \pm 0,4^*$
Овариоэктомированные крысы + эстрадиол	$6,9 \pm 0,6^*$	$133,8 \pm 5,9^{**}$
Овариоэктомированные крысы + ципрамил	$8,5 \pm 0,5^*$	$23,3 \pm 3,1^{**}$
Овариоэктомированные крысы + эстрадиол + ципрамил	$7,8 \pm 0,6^*$	$279,7 \pm 5,6^{***}$

эстрадиола надпочечникового происхождения, так и торможением деградации экзогенно введенного эстрадиола. Так, показано [11], что у интактных самок введение прекурсора серотонина — 5-гидрокситриптофана (5-НТ) в больших дозах повышает сохранение эстрадиола в гипоталамусе и гипофизе.

Несомненно, что между эстрогенами и серотонинергической системой существует тесная связь. Так, овариоэктомия уменьшает содержание серотонина (С) и его оборот в миндалине, латеральной перегородке, вентральном ядре таламуса и вентромедиальном ядре гипоталамуса [9]. В ядрах шва ствола мозга также снижается количество переносчиков С [10]. Параллельно падает уровень экспрессии м-РНК 5-НТ_{1А} и 5-НТ_{2С} рецепторов и соответственно их количество в гипоталамусе [7]. В свою очередь, серотонинергическая система, как полагают, участвует в реализации негативного обратного действия эстрогенов [8, 11]. Выявлено контролирующее влияние С на секрецию ЛГ на уровне гонадотропинов и нейронов, содержащих ЛГ-рилизинг-гормон. Обнаружено также, что С оказывает ингибирующее влияние на высокий уровень секреции ЛГ, обусловленный овариоэктомией [8]. Данные нашего исследования свидетельствуют о значительном снижении уровня ЛГ в крови овариоэктомированных крыс, получавших ципрамил с эстрадиолом.

Одним из возможных объяснений позитивного эффекта данной комбинации может быть антиоксидантное свойство С [2]. Показано, что введение высоких доз *L*-триптофана интактным крысам, подобно действию селенита натрия, α -токоферола или пирацетама, восстанавливает сохранение следа памяти при фармакологических амнезиях (введение скополамина) на моделях пассивного или активного обучения. При этом с помощью спектрометрии обнаружено наличие антирадикальной активности у *L*-триптофана, идентичной активности пирацетама, с чем авторы связывают антиамнестический эффект *L*-триптофана на память.

Выявлено также, что введение прекурсора С — 5-гидрокситриптофана нормализует пролиферацию нейрональных клеток в зубчатой извилине у овариоэктомированных крыс, тогда как введение эстрадиола (стандартная гормональная терапия) овариоэктомированным самкам, предварительно получавшим параклорфенилаланин, не способно устранить данные нарушения [5].

ВЫВОДЫ

1. При недостатке эстрогенов заместительная терапия эстрадиолом в комбинации с ципрамилом полностью восстанавливает способность животных приобрести и воспроизводить навык пассивного избегания.

2. Введение эстрадиола в комбинации с ципрамилом снижает повышенный уровень эмоциональности у овариоэктомированных животных в тесте “открытое поле” по сравнению с применением одного эстрадиола.

3. Эстрадиол в комбинации с ципрамилом более выражено повышает уровень эстрадиола и снижает содержание лютеинизирующего гормона в крови у овариоэктомированных крыс по сравнению с применением одного эстрадиола.

Работа поддержана грантами РФФИ № 01-04-48816 и № 02-04-07545.

ЛИТЕРАТУРА

1. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991), сс. 135 – 240.
2. Л. А. Громов, В. А. Портнягина, П. И. Середа и др., *Пат. физиол.*, **1**, 8 – 10 (1993).
3. Я. Д. Киршенблат, *Практикум по эндокринологии*, Высшая школа, Москва (1969), сс. 55 – 57.
4. Е. С. Петров, Н. С. Лазаренко, С. В. Кунцевич, *Ж. высш. нервн. деят.*, **32**, 347 – 351, (1982).
5. M. Banasr, M. Hery, J. M. Brezun, et al., *Eur. J. Neurosci.*, **14**, 1417 – 1424 (2001).
6. J. O. Fedotova and N. S. Sapronov, *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **3**, 304, (2000) (XXIIInd C. I. N. P. Congress, 9 – 13 July 2000, Brussels (Belgium)).
7. G. Fink, J. McQueen, C. R. Rose, et al., *J. Endocrinol.*, Suppl., **152**, 130 (1997).
8. S. Iyengar and J. Rabii, *Brain Res. Bull.*, **10**, 339 – 343, (1983).
9. V. N. Luine, S. T. Richards, V. Y Wu., et al., *Horm. Behav.*, **34**, 149 – 162 (1998).
10. J. K. McQueen, H. Wilson, R. C. Dow, et al., *J. Physiol. Proc.*, **495**, 114 – 119 (1996).
11. W. H. Rotsztein, F. Gogan, B. Mess, et al., *Neuroendocrinol.*, **21**, 88 – 96 (1976).

Поступила 20.09.02

CYPRAMIL IMPROVES PASSIVE AVOIDANCE PERFORMANCE IN OVARIECTOMIZED FEMALE RATS

Yu. O. Fedotova and N. S. Sapronov

Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, ul. akademika Pavlova Str, 12, St. Petersburg, 197376 Russia

The ability of cypramil, a selective inhibitor of serotonin re-uptake, to modify the cognitive performance was studied in ovariectomized female rats with passive avoidance paradigm and in the open-field test. It was found that cypramil in combination with estradiol restored the formation and retention of the passive avoidance performance. In addition, cypramil improved the emotional component of behavior in the open-field test.