

АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ 8-ОН-DPAT И NAN-190 У ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕФИЦИТЕ ЭСТРОГЕНОВ

Ю. О. Федотова, С. Г. Пивина, Н. Э. Ордян¹

Исследование посвящено сравнительному анализу действия агониста 5-HT_{1A}-рецепторов — 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг подкожно) и антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов — NAN-190 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно), вводимых в течение 14 дней, на уровень тревожности пренатально стрессированных самок крыс при экспериментальном дефиците эстрогенов, созданным овариоэктомией. Введение 8-ОН-DPAT овариоэктомированным самкам оказывает анксиолитический эффект, а также корректирует нарушенный уровень фоллитропина и эстрадиола. Введение NAN-190 крысам повышает уровень тревожности и в еще большей степени ухудшает соотношение между уровнем тропных и периферических половых гормонов.

Ключевые слова: 8-ОН-DPAT, NAN-190, тревожность, гормональный статус, овариоэктомия, пренатальный стресс, самки

ВВЕДЕНИЕ

Серотонинергическая система головного мозга участвует в реализации практически всех жизненно важных функций организма и играет важнейшую роль в регуляции многих форм поведения и гормональной секреции [1, 5]. Доказано тесное взаимодействие между овариальной гормональной и серотонинергической нейромедиаторной системами в механизмах обучения и памяти, полового поведения, сна, аффективных расстройств, депрессии и шизофрении [2, 15].

В предыдущих исследованиях нами установлено, что хроническое введение агониста 5-HT_{1A}-рецепторов — 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг подкожно) овариоэктомированным самкам крыс оказывает анксиолитический эффект, тогда как хроническое введение NAN-190 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) не изменяет характер тревожноподобного поведения у овариоэктомированных (ОЭ) самок в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” [8, 14] (рисунок). Наши дальнейшие исследования позволили установить, что позитивный эффект 8-ОН-DPAT на уровень тревожности ОЭ самок сопровождается нормализацией нарушений в уровне тропных и периферических половых гормонов, обусловленных дефицитом эстрогенов [11].

В настоящее время обсуждается вопрос о роли пренатального стресса в качестве одного из наиболее существенных факторов в развитии поведенческих и нейроэндокринных нарушений, особенно у особей женского пола. Показано, что у крыс, рожденных от матерей, перенесших стресс во время беременности, наблюдаются значительные изменения в функциональном состоянии серотонинергической системы головного мозга [9, 10]. Учитывая это положение, можно предполагать, что эффекты психотропных препаратов

могут различаться у нестрессированных и пренатально стрессированных самок крыс, вследствие чего может быть необходима иная схема проведения экспериментальной фармакотерапии. Основываясь на данных о роли пренатального стресса в механизмах аффективных расстройств и данных, полученных нами ранее о действии агониста и антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов у самок крыс в условиях дефицита эстрогенов, мы разработали данное исследование.

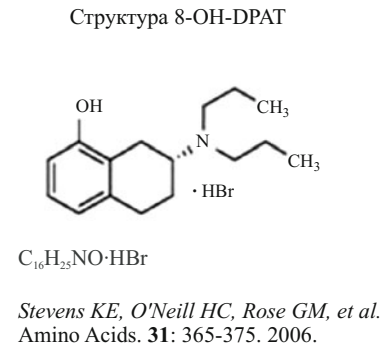
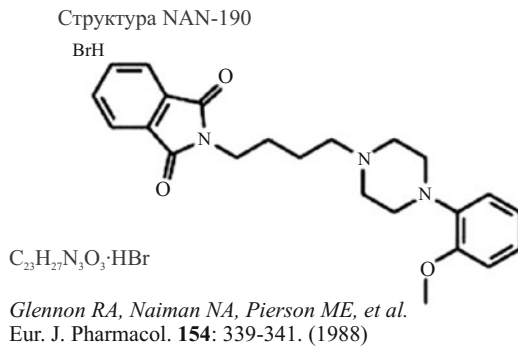
Целью работы являлся сравнительный анализ эффектов агониста и антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов на тревожноподобное поведение и гормональный статус половозрелых самок крыс при экспериментальном дефиците эстрогенов, матери которых подверглись пренатальному стрессу в период беременности.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе было использовано потомство от 12 первородящих самок крыс линии Вистар. Животных содержали в виварии в условиях 24-часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 7:00), контролируемой температуры (22 ± 2 °C) и влажности (65 ± 10 %) воздуха при свободном доступе к воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). Все исследования проводили в утренние часы (10.00 – 13.00) согласно этическим принципам, изложенным в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Для выполнения поведенческой методики крыс разделяли на группы по 10 особей в каждой.

Моделирование пренатального стресса осуществляли следующим образом. Беременных самок ($n = 12$) с 15-го по 19-ый день гестации подвергали ежедневному иммобилизационному стрессу в течение 1 ч в узких пластиковых пеналах размером $20 \times 7 \times 6$ см в условиях повышенной освещенности, которую создавали

¹ Лаборатория нейроэндокринологии (рук. — Н. Э. Ордян) Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6.



лампой 60 Вт, расположенной на высоте 30 см. Полученное от самок потомство содержали совместно с матерью до 30-дневного возраста и далее по 6 особей в клетке. Такой тип стрессорного воздействия на беременных самок крыс вызывает у их потомков женского пола выраженные нарушения в психоэмоциональной сфере (повышенную тревожность и депрессивность поведения) и ухудшение способности к обучению, сопровождающиеся значительными изменениями активности гормональных систем [7].

По достижению самками, которые родились от матерей, подвергшихся пренатальному стрессу, 3-месячного половозрелого возраста осуществляли удаление яичников (овариэктомию). Удаление яичников проводили согласно общепринятой методике [6]. Через 2 недели после операционного периода выполняли поведенческие и биохимические тесты. Уровень тревожности самок крыс оценивали в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” [4]. Характер поведенческих реакций, таких как общая двигательная активность (горизонтальная и вертикальная) и продолжительность грумминга определяли в тесте “открытое поле” [3].

Пренатально стрессированное потомство женского пола было распределено по следующим группам по 10 особей в каждой: 1-я группа — интактные пренатально стрессированные (ПС) самки, получавшие физиологический раствор (контроль 1); 2-я группа — овариэктомированные ПС самки, получавшие физиологический раствор (контроль 2); 3-я группа — овариэктомированные ПС самки, получавшие 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг подкожно); 4-я группа — овариэктомированные ПС самки, получавшие NAN-190 (0,1 мг/кг внутривенно). Введение фармакологических веществ осуществляли в тех же дозах в течение 14 дней,

что и в наших предыдущих исследованиях у овариэктомированных самок, которые не подвергались пренатальному стрессу [8, 11, 14].

Уровень половых гормонов (лютеинизирующий гормон — ЛГ, фолликулостимулирующий гормон — ФСГ, эстрадиол — Э и 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 полученных данных проводили с использованием дисперсионного анализа one-way ANOVA test с последующим Dunnett's post-hoc тестом с помощью пакета программ SPSS 9.0. Различия между значениями при $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” хроническое введение 8-ОН-DPAT овариэктомированным ПС самкам приводило к анксиолитическому эффекту, достоверно повышая время нахождения и количество заходов в “открытые” рукава по сравнению с контрольными животными ($[F(7, 36) = 11, 23, p < 0,05]$ и $[F(5, 72) = 20, 34, p < 0,01]$ соответственно, табл. 1). Хроническое введение NAN-190 овариэктомированным ПС крысам, напротив, оказывало анксиогенное действие, достоверно понижая время нахождения и количество заходов в “открытые” рукава по сравнению с контрольными животными ($p < 0,05$, табл. 1).

В тесте “открытое поле” установлено, что хроническое введение обоих серотонинергических веществ

Таблица 1. Влияние 8-ОН-DPAT и NAN-190 на тревожноподобное поведение у пренатально стрессированных овариэктомированных самок крыс ($M \pm m, n = 10$)

Группа животных	Время в “открытых рукавах”, с	Время в “закрытых рукавах”, с	Количество заходов в “открытые рукава”	Количество заходов в “закрытые рукава”
ПС интактные самки (контроль 1)	42,6 ± 4,2	213,6 ± 22,4	1,8 ± 0,2	3,8 ± 0,2
ПС овариэктомированные самки (контроль 2)	21,6 ± 4,2*	278,4 ± 5,2*	0,4 ± 0,2*	3,9 ± 0,2*
ПС овариэктомированные самки + 8-ОН-DPAT	40,0 ± 2,6**	260,0 ± 4,6*	1,8 ± 0,2**	3,4 ± 0,6*
ПС овариэктомированные самки + NAN-190	1,3 ± 0,2* **	298,7 ± 6,8*	0,2 ± 0,1* **	3,8 ± 0,2*

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: ПС — пренатально стрессированные крысы. * — $p < 0,05$, достоверное отличие от ПС интактных самок (контроль 1), ** — $p < 0,05$, достоверное отличие от ПС овариэктомированных самок (контроль 2).

овариоэктомированным ПС самкам приводило к снижению вертикальной двигательной активности, исследовательской активности и продолжительности груминга по сравнению с контрольными интактными и овариоэктомированными ПС самками ($p < 0,05$, табл. 2). Наряду с этим введение NAN-190 овариоэктомированным ПС самкам понижало и горизонтальную двигательную активность, тогда как введение 8-ОН-DPAT не влияло на данный параметр по сравнению с контрольными ПС овариоэктомированными самками (табл. 2).

Полученные данные указывают на то, что позитивные или негативные изменения, выявленные в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” у овариоэктомированных ПС самок на фоне введения серотонинергических веществ, не соответствуют изменениям, найденным в структуре поведения в тесте “открытое поле” и являются разнонаправленным действием данных веществ, как и в случае их эффектов у нестрессированных овариоэктомированных самок, установленных нами ранее [8, 11, 14].

Гормональный анализ выявил достоверные различия в эффектах серотонинотропных веществ у овариоэктомированных ПС самок крыс. Так, у овариоэктомированных ПС самок, получавших 8-ОН-DPAT, уменьшалась концентрация ФСГ при параллельном повышении уровня Э практически до значений показателей у интактных ПС крыс, но не изменялись уровни П и ЛГ в сыворотке крови овариоэктомированных ПС самок по сравнению с контрольными ПС интактными или овариоэктомированными самками ($p < 0,05$, табл. 3). С другой стороны, хроническое введение NAN-190, напротив, повышало концентрации ФСГ и П, не меняя содержание ЛГ, но достоверно понижало уровень Э в сыворотке крови овариоэктомированных

ПС самок по сравнению с контролями 1 и 2 ($p < 0,05$, табл. 3).

Таким образом, результаты гормонального анализа свидетельствуют о том, что введение агониста 5-НТ_{1А}-подтипа серотониновых рецепторов у ПС самок оказывает корректирующее влияние на уровень тропных и периферических половых гормонов в крови при искусственно созданном дефиците эстрогенов, тогда как введение антагониста 5-НТ_{1А}-подтипа серотониновых рецепторов еще более снижает уровень Э и повышает уровень ФСГ в крови овариоэктомированных ПС самок крыс, что указывает на специфичность действия этих веществ.

Сопоставляя результаты настоящего исследования и данные, полученные нами ранее [8, 11, 14], можно говорить о том, что анксиолитический эффект 8-ОН-DPAT реализуется как у нестрессированных, так и у ПС овариоэктомированных самок крыс. Это позволяет говорить о выраженной гипофункции 5-НТ_{1А}-рецепторов в условиях дефицита эстрогенов, а также об универсальном положительном действии стимуляции 5-НТ_{1А}-рецепторов на тревожноподобное поведение, которое не зависит от наличия или отсутствия фактора пренатального стресса в анамнезе. В то же время, эффекты антагониста NAN-190 на тревожноподобное поведение при дефиците эстрогенов различны у нестрессированных и ПС самок крыс. Как было показано нами ранее [8, 14], в условиях отсутствия стрессорного фактора во время беременности введение NAN-190 не оказывает какого-либо влияния на тревожноподобное поведение овариоэктомированных самок крыс, тогда как при наличии фактора пренатального стресса реализуется выраженный негативный эффект NAN-190 на тревожноподобное поведение овариоэктомированных самок, который выражается в еще бо-

Таблица 2. Влияние 8-ОН-DPAT и NAN-190 на поведение в тесте “открытое поле” у пренатально стрессированных овариоэктомированных самок крыс ($M \pm m$, $n = 10$)

Группа животных	Двигательная активность		Исследовательская активность	Эмоциональность	
	перемещение	вставание		груминг	дефекация
ПС интактные самки (контроль 1)	57,4 ± 3,8	12,7 ± 1,4	7,0 ± 0,8	3,0 ± 0,2	0
ПС овариоэктомированные самки (контроль 2)	63,6 ± 2,6	18,0 ± 2,2	7,6 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,1 ± 0,2
ПС овариоэктомированные самки + 8-ОН-DPAT	58,8 ± 3,8	8,6 ± 1,2* **	2,9 ± 0,2* **	1,6 ± 0,2* **	1,9 ± 0,2**
ПС овариоэктомированные самки + NAN-190	27,1 ± 3,8* **	7,3 ± 0,8* **	2,1 ± 0,2* **	1,4 ± 0,2* **	1,6 ± 0,2

Таблица 3. Влияние 8-ОН-DPAT и NAN-190 на концентрации тропных и периферических половых гормонов в сыворотке крови у пренатально стрессированных овариоэктомированных самок крыс ($M \pm m$, $n = 10$)

Группа животных	ФСГ, МЕд/л	ЛГ, МЕд/л	Прогестерон, нмоль/л	Эстрадиол, пг/мл
ПС интактные самки (контроль 1)	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,2	0,3 ± 0,03
ПС овариоэктомированные самки (контроль 2)	2,7 ± 0,4*	2,8 ± 0,4*	0,7 ± 0,3*	0,1 ± 0,03*
ПС овариоэктомированные самки + 8-ОН-DPAT	1,6 ± 0,2**	2,2 ± 0,4	0,8 ± 0,2*	0,3 ± 0,06**
ПС овариоэктомированные самки + NAN-190	4,2 ± 0,2* **	2,4 ± 0,2	1,9 ± 0,2**	0,1 ± 0,02*

лее значительном повышении степени тревожности. Следует отметить также, что сходная закономерность наблюдается и во влиянии этих препаратов на гормональный статус ПС самок, которое характеризуется коррекцией уровня тропных и периферических половых гормонов при введении 8-ОН-DPAT и деструктивным влиянием NAN-190 на уже имеющееся патологическое соотношение между уровнем ФСГи ЛГ и уровнем П и Э.

Можно предполагать, что выявленные разнонаправленные эффекты у нестрессированных и ПС овариэктомированных самок на эмоциональные формы поведения и гормональный статус могут быть детерминированы измененным функциональным состоянием гипофизарно-адреналовой системы вследствие действия стрессорного фактора. Известно, что механизм действия многих серотонинотропных препаратов, применяемых для терапии аффективных расстройств, связан с их влиянием на уровни АКТГ и кортикостерона, а также на количество и активность глюкостероидных рецепторов [12, 13]. По-видимому, разнонаправленные эффекты NAN-190 у овариэктомированных самок на фоне пренатального стресса и в отсутствие последнего могут быть обусловлены тем, что в его механизм действия вовлекаются гормоны гипофизарно-адреналовой системы. Кроме того, можно говорить о том, что однонаправленные эффекты 8-ОН-DPAT как у нестрессированных, так и у ПС самок в условиях дефицита эстрогенов в большей степени обусловлены его воздействием на серотонинергическую систему мозга и гипофизарно-овариальную гормональную систему. Однако для однозначного утверждения данных предположений требуется проведение дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-04-01765.

ВЫВОДЫ

1. Хроническое введение агониста 5-HT_{1A}-рецепторов 8-ОН-DPAT овариэктомированным самкам крыс, матери которых подверглись пренатальному стрессу во время беременности, оказывает анксиолитический

эффект, а также корректирует нарушенный уровень тропных и периферических половых гормонов.

2. Хроническое введение антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов NAN-190 овариэктомированным самкам крыс, матери которых подверглись пренатальному стрессу во время беременности, повышает уровень тревожности и в еще большей степени ухудшает соотношение между уровнем тропных и периферических половых гормонов.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Н. Бабичев, *Усп. физиол. наук.*, **36**, 54 – 67 (2005).
2. А. С. Батуев, Г. А. Варганян, У. Г. Гасанов и др., *Нейробиология обучения и памяти*, Наука, Москва (1990).
3. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991).
4. Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, ИИА Ремедиум, Москва (2000), сс. 126 – 130.
5. Н. Д. Ещенко, *Биохимия психических и нервных болезней*, Санкт-Петербургский Университет, СПб (2004).
6. Я. Д. Киршенблат, *Практикум по эндокринологии*, Высшая школа, Москва (1969).
7. Н. Э. Ордян, С. Г. Пивина, *Рос. физиол. журн.*, **89**, 52 – 59 (2003).
8. Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, Е. И. Малыгина, *Бюл. экпер. биол.*, **137**, 51 – 55 (2004).
9. А. Г. Резников, В. П. Пишак, Н. Д. Носенко и др., *Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология*, Медакадемия, Черновцы (2004).
10. Т. Ф. Татарчук, *Эндокринная гинекология*, **3**, 5 – 13 (2006).
11. Ю. О. Федотова, *Психофармакол. биол. наркол.*, **8**, 2380 – 2385 (2008).
12. L. Lanfumey, R. Mongeau, C. Cohen-Salmon, et al., *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **32**, 174 – 184 (2008).
13. E. Fakra, J. M. Azorin, M. Adida, et al., *Encephale.*, **36**, Suppl 6, 183 – 184 (2010).
14. J. O. Fedotova, G. Hartmann, L. Lenard, N. S. Sapronov, *Acta Physiologica Hung.*, **91**, 175 – 184 (2004).
15. A. Markou, T. Duka, G. M. Prelevic, *Hormones*, **4**, 1 – 9 (2005).

Поступила 13.09.11

ANALYSIS OF 8-OH-DPAT AND NAN-190 EFFECTS IN YOUNG PRENATALLY STRESSED RATS UNDER EXPERIMENTAL ESTROGEN DEFICIENCY CONDITIONS

Yu. O. Fedotova, S. G. Pivina, and N. E. Ordyan

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, St. Petersburg, 199034, Russia

* e-mail: julia.fedotova@mail.ru

The present work was aimed at a comparative investigation of the effects of chronic administration of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT (0.05 mg/kg, s.c.) and 5-HT_{1A} receptors antagonist NAN-190 (0.1 mg/kg, i.p.) for 14 days on anxiety-like behavior in prenatally stressed female with the experimental estrogen deficiency induced by ovariectomy. Chronic administration of 8-OH-DPAT to ovariectomized prenatally stressed females resulted in an anxiolytic effect and led to correction of the impaired levels of follitropine and estradiol. Administration of NAN-190 to ovariectomized prenatally stressed females increased the level of anxiety and more profoundly destroyed a relation between the levels of gonadotropic hormones and peripheral gonadal hormones.

Key words: 8-OH-DPAT, NAN-190, anxiety, hormonal status, prenatal stress, ovariectomy, female rats