

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

## СТИМУЛЯЦИЯ ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ D<sub>1</sub>-ТИПА УЛУЧШАЕТ ПАССИВНОЕ ОБУЧЕНИЕ У САМОК КРЫС В ТЕЧЕНИЕ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

Ю. О. Федотова<sup>1</sup>, Н. С. Сапронов<sup>2</sup>

Работа посвящена сравнительному анализу роли дофаминовых рецепторов D<sub>1</sub>-типа в механизмах реализации когнитивных процессов при естественном циклическом изменении уровня половых гормонов у взрослых самок крыс. Исследовали влияние хронического введения (14 дней) агониста дофаминовых рецепторов D<sub>1</sub>-типа — SKF-38393 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) и антагониста дофаминовых рецепторов D<sub>1</sub>-типа — SCH-23390 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) самкам в различные фазы полового цикла на условнорефлекторные реакции животных. В качестве поведенческих тестов использовали методику условной реакции пассивного избегания и водный тест Морриса. Хроническое введение SKF-38393 самкам приводило к воспроизведению условной реакции пассивного избегания в фазы проэструса и эструса в отличие от контрольных самок, но не влияло на динамику пространственного обучения в водном тесте Морриса. Хроническое введение SCH-23390 однотипно нарушало процессы непространственного и пространственного обучения у самок независимо от фазы полового цикла. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о модулирующей роли дофаминовых рецепторов D<sub>1</sub>-типа в процессе обучения у крыс в ключевые фазы полового цикла.

**Ключевые слова:** SKF-38393, SCH-23390, D<sub>1</sub>-тип дофаминовых рецепторов, обучение, половой цикл, крысы-самки

### ВВЕДЕНИЕ

Проблема изучения роли дофаминергической системы головного мозга в патофизиологических процессах неизменно вызывает интерес исследователей главным образом вследствие того, что дисфункция дофаминергической системы является одной из ключевых причин в патогенезе таких социально-значимых заболеваний, как шизофрения, деменции Альцгеймерского типа, болезнь Паркинсона [7, 8, 11]. Кроме того, дофаминергическая система мозга принимает участие в реализации многих физиологических механизмов у животных и человека: обучения и памяти, бодрствования и сна, болевого синдрома и тревожно-депрессивных состояний [6, 12].

Наряду с этим существует тесная связь между половыми гормонами и активностью дофаминергической системы головного мозга [14]. Известно, что половые гормоны принимают участие в развитии тех же нервно-психических заболеваний, что и дофамин [4, 5]. В настоящее время установлено, что эстрогены оказывают выраженное модулирующее влияние на активность nigrostriатной дофаминергической системы [13].

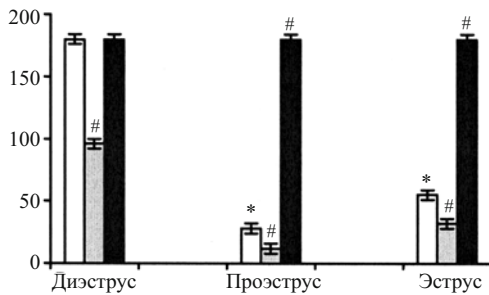
Эти данные подкрепляются параллельными биохимическими исследованиями, иллюстрирующими, что стероидные рецепторы ко-локализуются с моноаминами в нейронах, которые иннервируются адренергическими и дофаминергическими коллатеральными [6, 12]. Механизмы, лежащие в основе действия дофамина на модуляцию рецепторного связывания эстрогена или прогестерона, не очень ясны, но могут осуществляться через D<sub>1</sub>-тип рецепторов, цАМФ и цАМФ-зависимую протеинкиназу А за счет фосфорилирования и активации эстрогеновых рецепторов [9, 27].

В конце 90-х годов работами G. Diaz-Veliz и соавт. (1999) показано, что некоторые дофаминергические препараты, введенные однократно за 30 мин до проведения поведенческих тестов, могут модулировать характер когнитивно-аффективного статуса у самок в разные фазы полового цикла [10]. Однако такие исследования носят единичный характер и неоднозначны вследствие отсутствия сравнительного анализа эффектов агонистов и антагонистов разных типов дофаминовых рецепторов на поведенческий статус самок. Вместе с тем большинство исследований связано с изучением взаимодействия между дофамином и эстрогенами у овариоэктомированных самок [4].

Целью настоящей работы было изучение роли дофаминовых рецепторов D<sub>1</sub>-типа в условнорефлекторной деятельности самок крыс при естественном цик-

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

<sup>2</sup> Отдел нейрофармакологии им. С. В. Аничкова (зав. — член-корр. РАН Н. С. Сапронов) НИИ экспериментальной медицины РАН, Санкт-Петербург.



**Рис. 1.** Влияние хронического введения SCH-23390 и SKF-38393 на воспроизведение условной реакции пассивного избегания у самок крыс.

По оси ординат — латентный период захождения животного в темную камеру через 24 ч, с; по оси абсцисс — фазы овариального цикла. Здесь и на рис. 2: светлые столбики — контроль, серые — самки + SCH-23390, темные — самки + SKF-38393. \* —  $p < 0,05$ , достоверное отличие от самок в фазе диэструса; # —  $p < 0,05$ , достоверное отличие от контрольных самок в соответствующих фазах полового цикла. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , количество животных в группах — 10.

лическом изменении уровня эстрогенов в ключевые фазы овариального цикла.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в условиях хронического эксперимента на 270 белых беспородных половозрелых крысах-самках в возрасте 4 – 5 мес массой 190 – 220 г, полученных из питомника “Рапполово”. Животных содержали в виварии в условиях 24-часового фоторежима (12 ч день : 12 ч ночь, включение света в 7:00), контролируемой температуры ( $22 \pm 2$  °C) и влажности ( $65 \pm 10$  %) 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.

Все химические препараты были получены из компании “Sigma” (Германия). В качестве агониста  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов использовали SKF-38393 (0,1 мг/кг внутривенно), в качестве антагониста  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов — SCH-23390 (0,1 мг/кг внутривенно). Препараты растворяли в дистиллированной воде с добавлением диметилсульфоксида и вводили в объеме 0,1 мл на крысу массой 200 г. Контрольным крысам вводили эквивалентное количество дистиллированной воды с добавлением диметилсульфоксида. Введение всех препаратов проводили в течение 14 дней до начала поведенческих тестов.

Для определения фазы полового цикла на протяжении 8 последовательных дней до начала эксперимента у крыс брали влагалищные мазки. Фазы полового цикла (диэструс, проэструс, эструс) определяли с использованием характерных морфологических признаков по мазкам согласно описанию Я. Д. Киршенблата (1969).

В эксперименты отбирали самок, у которых наблюдали стабильный 4-дневный эстральный цикл.

Для выполнения каждой поведенческой методики крыс разделяли на следующие группы по 10 особей в каждой: группа 1 — самки крыс в фазе диэструса, физиологический раствор (контроль); группа 2 — самки крыс в фазе эструса, получавшие физиологический раствор (контроль); группа 3 — самки крыс в фазе проэструса, получавшие физиологический раствор (контроль); группа 4 — самки крыс в фазе диэструса, получавшие SKF-38393 (0,1 мг/кг внутривенно); группа 5 — самки крыс в фазе эструса, получавшие SKF-38393; группа 6 — самки крыс в фазе проэструса, получавшие SKF-38393; группа 7 — самки крыс в фазе диэструса, получавшие SCH-23390 (0,1 мг/кг внутривенно); группа 8 — самки крыс в фазе эструса, получавшие SCH-23390; группа 9 — самки крыс в фазе проэструса, получавшие SCH-23390.

Процесс обучения проводили на модели непространственного обучения — условная реакция пассивного избегания (УРПИ) [1] и на модели пространственного обучения — водный тест Морриса [3].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа two-way ANOVA test с последующим post-hoc тестом Ньюмана-Келса с помощью пакета программ SPSS 9.0. Различия между значениями при  $p < 0,05$  считали статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены результаты, двухфакторный дисперсионный анализ которых выявил достоверные эффекты действия препарата ( $F(3,90) = 4,27, p < 0,05$ ) и гормонального фактора (фаза полового цикла) ( $F(3,90) = 3,40, p < 0,05$ ), а также взаимодействия между этими факторами ( $F(3,90) = 5,81, p < 0,001$ ) на воспроизведение УРПИ у самок крыс. Post-hoc-анализ также выявил достоверные различия между контрольными и экспериментальными группами при анализе данных теста УРПИ ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что в контрольной группе самок только в фазу диэструса наблюдалось воспроизведение данного рефлекса. В то же время как в фазу эструса, так и в фазу проэструса происходила амнезия УРПИ.

На фоне хронического введения SCH-23390 (блокада  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов) у самок независимо от фазы полового цикла нарушалась способность к воспроизведению УРПИ (рис. 1). В условиях хронического введения SKF-38393 (стимуляция  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов) у самок в ключевые фазы полового цикла регистрировалось воспроизведение УРПИ (рис. 1).

Двухфакторный дисперсионный анализ данных, полученных в водном тесте Морриса при тренировочной и экспериментальной сессиях, позволил установить достоверные эффекты действия препарата

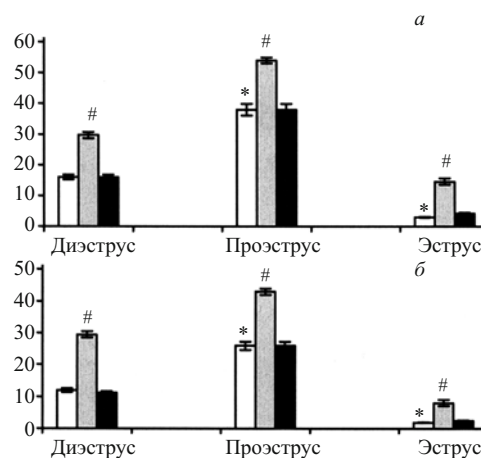
( $F(3,90) = 8,32, p < 0,05$ ), ( $F(3,90) = 5,40, p < 0,05$ ) и гормонального фактора (фаза полового цикла) ( $F(3,90) = 2,40, p < 0,05$ ), ( $F(3,90) = 2,45, p < 0,05$ ), а также взаимодействия между этими факторами ( $F(3,90) = 5,36, p < 0,005$ ), ( $F(3,90) = 2,85, p < 0,05$ ) у самок крыс. Post-hoc-анализ продемонстрировал достоверные различия между контрольными и экспериментальными группами при анализе результатов тренировочной и экспериментальной серий водного теста Морриса ( $p < 0,05$ ). Установлено, что у самок контрольной группы в фазу эструса происходит улучшение процесса пространственного обучения, тогда как в фазу проэструса — ухудшение способности животных к пространственному обучению.

Как видно из представленных результатов, при блокаде  $D_1$ -типа рецепторов независимо от фазы полового цикла существенно угнетается способность самок к пространственному обучению (рис. 2). В то же время стимуляция дофаминовых рецепторов  $D_1$ -типа как в фазу эструса, так и в фазу проэструса не влияет на процесс пространственного обучения, т.е. показатели пространственного обучения самок, получавших SKF-38393, в течение полового цикла были идентичны показателям обучения контрольных крыс (рис. 2).

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о неоднозначном влиянии селективного агониста или антагониста  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов на процессы пространственного и непространственного обучения в условиях естественного циклического изменения уровня эстрогенов в организме. Кроме того, полученные результаты доказывают, что препараты, влияющие на дофаминергическую передачу, могут модулировать когнитивные процессы у самок в ключевые фазы полового цикла.

Как свидетельствуют результаты экспериментов, в фазу эструса происходит нарушение процесса пассивного обучения, тогда как процесс пространственного обучения, напротив, улучшается, указывая на разнонаправленность эффектов низкого уровня эстрогенов на разные формы обучения. С другой стороны, при высоком уровне эндогенных эстрогенов в фазу проэструса односторонне нарушаются процессы как непространственного, так и пространственного обучения. Полученные результаты согласуются с рядом данных литературы о разной способности крыс-самок к выработке условных рефлексов в течение оварийного цикла [16]. Однако некоторые исследователи не обнаружили связи между фазами полового цикла и способностью к пространственной ориентации [14, 15]. Несоответствие данных может частично объясняться различиями в определении фаз полового цикла и типом используемых пространственных тестов.

Модель УРПИ показала, что хроническое введение самкам антагониста  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов — SCH-23390 нарушало воспроизведение УРПИ не только в фазы проэструса или эструса, но и в фазу диэструса. Это говорит о том, что блокада  $D_1$ -типа рецеп-



**Рис. 2.** Влияние хронического введения SCH-23390 и SKF-38393 на пространственное обучение в водном тесте Морриса на 8-й день тестирования у самок крыс: *a* — тренировочная сессия, *б* — экспериментальная сессия.

По оси ординат — латентный период нахождения скрытой платформы, с; по оси абсциссе — фазы оварийного цикла. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

торов нивелирует различия в способности крыс к непространственному обучению в течение полового цикла. Хроническое введение агониста  $D_1$ -типа рецепторов SKF-38393 восстанавливало воспроизведение УРПИ у самок в ключевые фазы полового цикла, т.е. блокада центральных  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов также устраняет различия в пассивном избегании, связанные с естественным гормональным статусом самок. Однако следует подчеркнуть, что влияние стимуляции или блокады  $D_1$ -типа рецепторов на пассивное обучение прямо противоположно, хотя и не определяется фазой полового цикла.

Модель пространственного обучения в водном тесте Морриса выявила сходный угнетающий эффект антагониста дофаминовых  $D_1$ -рецепторов SCH-23390 на способность к обучению самок крыс независимо от фазы полового цикла. Вместе с тем хроническое введение агониста дофаминовых  $D_1$ -рецепторов SKF-38393 intactным самкам не изменяло характер пространственного обучения самок крыс в исследуемые фазы полового цикла.

Результаты теста на пространственное обучение, подобно результатам теста на непространственное обучение, указывают на то, что центральные дофаминовые рецепторы  $D_1$ -типа играют роль в процессах обучения на нейробиохимическом уровне у самок крыс в течение полового цикла, но это является гормон-независимым процессом. По-видимому, способность к условнорефлекторной деятельности самок в течение полового цикла в большей степени определяется измененной функциональной активностью нейромедиаторных систем, возникшей вследствие разного уровня половых гормонов в организме.

Противоположно направленные эффекты агониста и антагониста  $D_1$ -типа дофаминовых рецепторов на

условнорефлекторную деятельность у самок могут быть связаны с измененным метаболизмом ДА и характером экспрессии дофаминовых D<sub>1</sub>-рецепторов, а также с измененной экспрессией β-формы эстрогеновых рецепторов и их связывающей способности в структурах головного мозга, имеющих непосредственное отношение к когнитивным функциям [4, 14]. Установлено, что многие агонисты дофаминовых D<sub>1</sub>-рецепторов могут выступать в качестве нестероидных лигандов, которые связываются непосредственно с эстрогеновыми рецепторами [9, 17]. В связи с этим можно предполагать, что противоположные эффекты SKF-38393 и SCH-23390 связаны с их разнонаправленным воздействием на эстрогеновые рецепторы.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о существенной роли дофаминовых D<sub>1</sub>-рецепторов в когнитивных процессах у интактных самок в различные фазы полового цикла. Исследование доказывает роль дофаминергической системы в условнорефлекторной деятельности при естественных колебаниях уровня половых гормонов в организме и способствует лучшему пониманию комплексного взаимодействия половых гормонов и центральной дофаминергической системы мозга. Результаты исследования указывают на необходимость дальнейшего изучения эффектов дофаминергических веществ в качестве средств для фармакокоррекции нарушений высших функций мозга в течение полового цикла.

## ВЫВОДЫ

1. Хроническое введение агониста дофаминовых D<sub>1</sub>-рецепторов SKF-38393 полностью восстанавливает способность к непространственному обучению у интактных крыс в фазы проэструса и эструса.

2. Хроническое введение антагониста дофаминовых D<sub>1</sub>-рецепторов SCH-23390 угнетает способность самок к непространственному и пространственному типам обучения независимо от фазы полового цикла.

3. Хроническое введение агониста дофаминовых D<sub>1</sub>-рецепторов SKF-38393 не влияет на динамику пространственного обучения в течение полового цикла у самок крыс.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991).
2. Я. Д. Киршенблат, *Практикум по эндокринологии*, Высшая школа, Москва (1969), сс. 55 – 57.
3. Д. Б. Пономарев, Е. П. Виноградова, *Журн. высш. нерв. деят.*, **50**, 974 – 981 (2000).
4. Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, *Гормоны гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы и мозг*, СПб: “Формиздат”, (2009).
5. Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов, *Усп. физиолог. наук*, **38**, 46 – 62 (2007).
6. П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, Ш. К. Мещеров, *Дофамин и подкрепляющие системы мозга*, СПб: Лань (2002).
7. A. Abeliovich, R. Hammond, *Dev. Biol.*, **304**, 447 – 454 (2007).
8. N. Ben-Jonathan, R. Hnasko, *Endocr. Rev.*, **22**, 724 – 763 (2001).
9. M. R. Dagger, W. Dutertre, *C. L. J. Biol. Chem.*, **277**, 1669 – 1679 (2002).
10. G. Diaz-Veliz, M. S. Benavides, S. Butron, N. Dussaubat, S. Mora, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **62**, 21 – 29 (1999).
11. O. Guillin, M. Laruelle, *Cell. Sci. Rev.*, **2**, 345 – 389 (2005).
12. D. Y. Kimberg, M. D’Esposito, *Neuropsychol.*, **41**, 1020 – 1027 (2003).
13. C. H. Lammers, U. De Souza, Z. H. Qin, S. H. Lee, S. Yajima, M. M. Mouradian, *Synapse*, **34**, 222 – 227 (1999).
14. A. Markou, T. Duka, G. M. Prelevic, *Hormones*, **4**, 9 – 17 (2005).
15. M. B. Solomon, J. P. Herman, *Physiol. Behav.*, **97**, 250 – 258 (2009).
16. D. J. Touxfes, K. M. Myers, *M. Davis Horm. Behav.*, **50**, 539 – 549 (2006).
17. M. R. Walters, M. Dutertre, C. L. Smith, *J. Biol. Chem.*, **277**, 1669 – 1679 (2002).

Поступила 02.06.11

## STIMULATION OF D1-RECEPTORS IMPROVES PASSIVE AVOIDANCE LEARNING OF FEMALE RATS DURING OVARY CYCLE

Yu. O. Fedotova<sup>1</sup> and N. S. Sapronov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Physiology I. P. Pavlov, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

<sup>2</sup> Institute for Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg  
E-mail: julia.fedotova@mail.ru

The involvement of D1-receptors in learning/memory processes during ovary cycle was assessed in the adult female rats. SKF-38393 (0,1 mg/kg, i.p.), D1-receptor agonist and SCH-23390 (0,1 mg/kg, i.p.), D1-receptor antagonist were injected chronically to adult female rats. Learning of these animals was assessed in different models: passive avoidance performance and Morris water maze. Chronic SKF-3839 administration to females resulted in the appearance of the passive avoidance performance in proestrous and estrous, as distinct from the control animals, but failed to change the dynamics of spatial learning in Morris water maze. Chronic SCH-23390 administration similarly impaired non-spatial and spatial learning in females during all phases of ovary cycle. The results of the study suggest modulating role of D1-receptors in learning/memory processes during ovary cycle in the adult female rats.

**Key words:** SKF-38393, SCH-23390, D1-receptors, learning, ovary cycle, female rats