

DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-12-13-16

АНКСИОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ СУРФАГОНА ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ ИНТАКТНЫМ И ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫМ САМКАМ КРЫС

О. О. Масалова¹, С. Б. Казакова², П. Д. Шабанов¹

Изучали влияние аналога гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) сурфагона (2 мкг/кг, внутривнутрибрюшинно, однократно) на тревожное поведение взрослых интактных и овариоэктомированных самок крыс. Введение сурфагона интактным самкам сопровождалось снижением горизонтальной двигательной активности и угнетением исследовательской активности в тесте “Открытое поле” (в среднем в 1,5 – 2,7 раза, $p \leq 0,05$), а также уменьшением числа заходов в закрытые рукава и времени пребывания в открытых рукавах в “Приподнятом крестообразном лабиринте” — в 4,6 раз ($p \leq 0,01$). У овариоэктомированных крыс после введения сурфагона отмечалось снижение исследовательской активности и увеличение частоты груминга в тесте “Открытое поле”. Поведение овариоэктомированных крыс, получивших сурфагон, в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” значимо не отличалось от такового у овариоэктомированных крыс, которым вводили физиологический раствор.

Ключевые слова: гонадотропин-рилизинг гормон; лютеинизирующий гормон; фолликулостимулирующий гормон; эстрадиол; тревожность; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Тревожные расстройства и депрессия относятся к наиболее распространенным формам психической патологии. В современной литературе важная роль в формировании эмоциональных нарушений отводится гипоталамо-гипофизарно-гонадной системе. Это подтверждается многочисленными данными о значительном увеличении риска развития тревожных нарушений, дистимии и депрессии в период угасания репродуктивной функции. При этом распространенность подобной патологии значительно выше у женщин, чем у мужчин [7]. Перименопаузальный период характеризуется повышенной частотой диагностики различных аффективных нарушений даже при отсутствии таковых в анамнезе [10, 11]. Кроме того, у женщин с отягощенным анамнезом в этот период значительно возрастает вероятность рецидива тревожных нарушений и депрессии [7, 11]. Двусторонняя овариоэктомика, проведенная до наступления менопаузы, также сопряжена с повышенным риском возникновения проявлений аффективных расстройств [10]. Причины снижения настроения при недостаточной функции яичников до сих пор являются предметом дискуссий. Предполагается, что их развитие может быть связано с резким снижением выработки эстрогенов, прогрессивным нарастанием концентраций гонадотропинов, а также с расстройством цикличности выброса ГнРГ [6, 12].

¹ ФГБНУ “Институт экспериментальной медицины”, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12.

² ФГБУ НИИ гриппа имени А. А. Смородинцева Минздрава России, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17.

Целью настоящей работы являлась оценка влияния аналога ГнРГ сурфагона на тревожное поведение взрослых интактных и овариоэктомированных (о/э) самок крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 80 половозрелых беспородных самок крыс массой тела 200 – 300 г, полученных из питомника лабораторных животных “Рапполово”. Животных содержали в стандартных условиях освещения и пищевого режима. Все исследования проводили в первой половине дня (10 – 14 ч).

За 21 день до начала эксперимента части опытных животных была проведена двусторонняя овариоэктомика (ОЭ). Операцию проводили под эфирным наркозом по стандартной методике [3]. В день проведения эксперимента у интактных животных определяли фазу эстрального цикла по клеточному составу влагалищных мазков [3]. Все интактные самки, используемые в эксперименте, находились в фазе диэструса.

В работе был использован агонист ГнРГ -сурфагон (Мосагрон, Россия), который вводили однократно в дозе 2 мкг/кг, внутривнутрибрюшинно, за 2 ч до проведения поведенческих тестов. Контрольные животные получали физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Экспериментальные животные были разделены на четыре группы, содержащие по 20 животных в каждой: группа № 1 — интактные крысы, получавшие изотонический раствор натрия хлорида; группа № 2 — крысы после ОЭ, получавшие 0,9 % раствор NaCl; группа № 3 — интактные крысы, получавшие сурфагон; группа № 4 — крысы после ОЭ, получавшие сурфагон.

Поведение животных изучали в тестах “Открытое поле” (180 с) — ОП и “Приподнятый крестообразный лабиринт” 300 с — ПКОЛ [2, 4]. Тестирование проводили через 2 ч после введения сурфагона, так как в это время наблюдаются его максимальные эффекты в отношении гипофизарно-гонадной оси и структур головного мозга [1].

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом *one-way ANOVA test* последующим *Newman-Keuls post-hoc* анализом с помощью пакета прикладных программ “SPSS Statistics 17.0”. Результаты представлены в таблицах как среднее арифметическое значение \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SEM$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте ОП было показано, что сурфагон достоверно снижал горизонтальную двигательную активность intactных животных (группа № 3), по сравнению с соответствующим контролем (группа № 1, $p < 0,01$) (табл. 1). Собственно ОЭ (группа № 2) также привела к уменьшению числа перемещений ($p < 0,05$). Достоверные различия в уровнях горизонтальной двигательной активности между самками после ОЭ, получившими сурфагон, и intactными животными (группы № 4 и 1), отсутствовали. Что касается норковой активности, то данный показатель был снижен у intactных и у самок после ОЭ, получивших сурфагон (группы № 3 и 4), по сравнению с животными, получившими физиологический раствор. В тоже время, такой показатель исследовательского поведения, как количество вставаний на задние лапы, не различался во всех экспериментальных группах. При оценке эмоционального состояния было отмечено, что сурфагон только у крыс после ОЭ (группа № 4) вызывал увеличение количества актов груминга, по сравнению с intactными самками группы № 1 ($p < 0,01$). У животных после ОЭ (группа № 2) отмечено повышение числа дефекаций, по сравнению с intactными самками (группа № 1, $p < 0,05$). Количество болюсов дефекаций не различалось у крыс после ОЭ, получивших сурфагон (группа № 3), и intactных животных (группа № 1). Отсутствовали значимые различия частоты актов груминга и де-

фекаций между intactными животными, получившими сурфагон (группа № 3) и intactными животными из группы № 1.

В тесте ПКОЛ было отмечено снижение числа заходов в открытые рукава только у самок после ОЭ (группа № 2), по сравнению с intactными животными (группа № 1, $p < 0,01$) (табл. 2). Число заходов в открытые рукава достоверно не отличалось у животных после ОЭ и intactных крыс, получивших сурфагон (группы № 3 и 4), по сравнению с самками, которым вводили физиологический раствор. Число заходов в закрытые рукава было значимо снижено у intactных крыс, получивших сурфагон (группа № 3), по сравнению с intactными животными (группа № 1, $p < 0,01$). ОЭ (группа № 2) также снижала число заходов в закрытые рукава по сравнению с intactными животными (группа № 1, $p < 0,01$). Значимые различия в числе заходов в закрытые рукава между животными после ОЭ и крысами после ОЭ, получившими сурфагон (группы № 2 и 4), отсутствовали. Время пребывания в открытых рукавах значимо снижалось у получивших сурфагон intactных крыс (группа № 3), по сравнению с intactными и животными после ОЭ из групп № 1 и 2 ($p < 0,001$ и $p < 0,01$, соответственно). Отмечено снижение времени пребывания в открытых рукавах у крыс после ОЭ и животных, перенесших ОЭ и получивших сурфагон (группы № 2 и 4), по сравнению с intactными самками (группа № 1, $p < 0,01$ и $p < 0,05$, соответственно). При этом, различия во времени нахождения в открытых рукавах между крысами после ОЭ (группа № 2) и крысами после ОЭ, получившими сурфагон (группа № 4), отсутствовали.

Таким образом, однократное введение агониста ГнРГ сурфагона intactным самкам сопровождалось снижением горизонтальной двигательной активности, о чем свидетельствует уменьшение количества перемещений в тесте ОП и снижение числа заходов в закрытые и открытые рукава ПКОЛ. Сурфагон при введении intactным животным проявлял анксиогенные свойства. Действительно, у intactных самок, получивших сурфагон, наблюдалось достоверное снижение времени пребывания в открытых рукавах ПКОЛ и угнетение исследовательской активности (числа обследованных норок) в тесте ОП. Необходимо отметить,

Таблица 1. Влияние сурфагона на поведение самок крыс в тесте “Открытое поле” ($M \pm SEM$)

Исследуемый показатель	1 группа (физиологический раствор)	2 группа (овриэктомия + физиологический раствор)	3 группа (сурфагон)	4 группа (овариоэктомия + сурфагон)
Количество перемещений	47,7 \pm 2,4	36,9 \pm 2,7*	30,4 \pm 3,6**	39,7 \pm 5,0
Количество вставаний	12,9 \pm 1,4	16,6 \pm 2,3	11,1 \pm 2,8	11,3 \pm 2,1
Количество заглядываний в норки	8,3 \pm 0,9	9,0 \pm 1,6	3,0 \pm 0,8**	2,4 \pm 0,8**.&&
Число актов груминга	2,3 \pm 0,5	3,8 \pm 1,0	2,1 \pm 0,3	6,6 \pm 1,5**
Число болюсов	1,6 \pm 0,5	3,2 \pm 0,5*	0,4 \pm 0,2	1,9 \pm 0,9

Примечание. Здесь и в таблице 2: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, по сравнению с 1 группой; & $p < 0,05$, && $p < 0,01$, по сравнению со 2 группой.

что время пребывания в открытых рукавах у интактных самок крыс, получивших сурфагон, было значимо снижено не только по сравнению с интактными крысами, но даже по сравнению с животными после ОЭ.

Введение сурфагона самкам после ОЭ не оказало существенного влияния на горизонтальную двигательную активность в тесте ОП. Тем не менее, сурфагон на фоне ОЭ достоверно снижал исследовательскую активность по сравнению с интактными и самками после ОЭ. Также самки, перенесшие ОЭ и получавшие сурфагон, характеризовались повышением эмоциональной лабильности (увеличение частоты груминга), по сравнению с интактными животными, хотя различия в числе актов груминга между группами № 2 и 4 носили лишь характер тенденции. Результаты, полученные в тесте ОП для группы самок после ОЭ, получавших сурфагон, (сниженное число обследованных норок и высокий уровень груминга) коррелировали с таким показателем тревожности в лабиринте как выраженное снижение времени пребывания в открытых рукавах, по сравнению с интактными животными.

Таким образом, анализируя полученные результаты, можно утверждать, что сурфагон оказывает умеренное анксиогенное действие на фоне дефицита эстрогенов. Однако, более выражено анксиогенные свойства сурфагон проявлял в группе интактных самок крыс, находящихся в фазе диэструса (фаза покоя).

Известно, что сурфагон при однократном введении оказывает стимулирующее влияние на гонадотропную функцию гипофиза и на функциональную активность периферических половых желез. При этом пик концентрации ЛГ у крыс возникает через 2 ч после введения сурфагона в дозе 2 мкг/кг [1]. Стимуляция секреции ФСГ также наблюдается через 2 ч после введения сурфагона и сохраняется в течение 3 ч. Кроме того, однократное введение сурфагона вызывает значительное повышение концентрации половых стероидов уже через 1,5 ч после введения [1].

Повышение тревожности после введения сурфагона может быть обусловлено значительным увеличением концентрации ЛГ и ФСГ в крови, а также прямым действием аналога ГнРГ на структуры головного мозга, участвующие в регуляции эмоционального поведения [5, 13]. В связи с этим необходимо отметить, что анксиогенный эффект сурфагона после однократного введения обнаруживался у интактных самок, несмотря на то, что данный аналог ГнРГ вызывает повышение

уровней прогестерона и эстрадиола у этих крыс. Более того, выраженность анксиогенного эффекта сурфагона была выше у интактных животных (значительное снижение времени пребывания в открытых рукавах) по сравнению с крысами после ОЭ, получившими указанный препарат.

Более значительное повышение тревожности у интактных крыс после однократного введения сурфагона можно объяснить десенситизацией рецепторов ЛГ и ФСГ в головном мозге самок после ОЭ. Действительно, длительное повышение уровней этих гонадотропных гормонов в крови после кастрации может приводить к ослаблению чувствительности их рецепторов, и, следовательно, к ослаблению поведенческих эффектов сурфагона [5].

Несмотря на отсутствие влияния сурфагона на двигательную активность самок, перенесших ОЭ, можно утверждать, что указанный препарат оказывал анксиогенный эффект в этой группе животных. Об этом свидетельствует почти четырехкратное снижение норковой активности и выраженное повышение груминга у крыс с ОЭ после введения сурфагона, тогда как у интактных самок аналог ГнРГ не вызывал достоверных изменений эмоциональной лабильности.

В тесте ПКОЛ сурфагон на фоне дефицита эстрогенов снижал число заходов в открытые и закрытые рукава в 1,4 и 2,1 раза, соответственно и в 2,4 раза — время пребывания в открытых рукавах по сравнению с интактными крысами. Это подтверждает анксиогенный профиль агониста ГнРГ и коррелирует с результатами, полученными в тесте ОП. Однако при сравнении показателей тревожности у крыс после ОЭ, получавших физиологический раствор, сурфагон оказывал разнонаправленное действие. Так число заходов в открытые и закрытые рукава незначительно повышалось, а время нахождения в открытых рукавах существенно не различалось в обеих группах. Интересен тот факт, что время пребывания в открытых рукавах у крыс, перенесших ОЭ, после введения сурфагона было в 1,9 раз выше, чем у интактных крыс после введения аналога ГнРГ.

Разнонаправленность в поведенческих эффектах сурфагона а также его менее выраженный анксиогенный профиль в условиях дефицита эстрогенов могут быть связаны со сложной гормональной дисрегуляцией, наблюдаемой после ОЭ, включая повышение экспрессии рецепторов ГнРГ [9] при одновременном по-

Таблица 2. Влияние сурфагона на поведение самок крыс в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” ($M \pm SEM$)

Исследуемый показатель	1 группа (физиологический раствор)	2 группа (овариэктомиа + физиологический раствор)	3 группа (сурфагон)	4 группа (овариэктомиа + сурфагон)
Число заходов в открытые рукава	4,0 ± 0,8	0,8 ± 0,4**	2,3 ± 0,6	2,9 ± 0,7
Число заходов в закрытые рукава	4,8 ± 0,6	1,8 ± 0,4**	2,0 ± 0,5**	2,3 ± 0,5**
Время пребывания в открытых рукавах	82,6 ± 7,5	48,0 ± 4,2**	17,7 ± 5,5***.&&	34,0 ± 11,6*

давлении экспрессии рецепторов ЛГ и ФСГ в гиппокампе и других структурах лимбической системы на фоне высоких концентраций этих гонадотропных гормонов в крови [5]. Наконец, нельзя исключить особое влияние сурфагона на секрецию нейроэстрадиола на фоне вызванного ОЭ нарушения экспрессии рецепторов эстрогенов различных подтипов. Действительно, существование гипоталамо-гипофизарно-гиппокампальной системы подтверждается многочисленными современными исследованиями, а связывание эстрадиола с разными подтипами эстрогеновых рецепторов (ЭР) в структурах лимбической системы головного мозга объясняет разнонаправленное действие этого стероида на тревожность в различных поведенческих тестах у грызунов. Так, активация ЭР α сопровождается повышением уровня тревожности, связывание эстрадиола с ЭР β обеспечивает анксиолитический эффект, а мембранный ЭР GPR30, связанный с G-белком, может как увеличивать, так и уменьшать поведение, подобное беспокойству [6].

Более выраженное влияние сурфагона на эмоциональность животных после ОЭ может быть связано с повышением экспрессии рецептора ГнРГ в структурах лимбической системы у о/э самок [9], а также анксиолитическим действием прогестерона и эстрадиола, в повышенных количествах выделяемых яичниками, у интактных самок, получавших сурфагон [5, 6, 8].

ВЫВОДЫ

1. Сурфагон в дозе 2 мкг/кг при однократном внутривнутрибрюшинном введении интактным самкам крыс оказывал выраженное анксиогенное действие, что проявлялось угнетением исследовательской активности в тесте “Открытое поле” (в среднем в 1,5–2,7 раза, $p \leq 0,05$) и уменьшением времени пребывания в открытых рукавах “Приподнятого крестообразного лабиринта” в 4,6 раз ($p \leq 0,01$).

2. На фоне дефицита эстрогенов сурфагон проявлял анксиогенное действие, по сравнению с интактными самками в фазе диэструса (уменьшение времени пребывания в открытых рукавах “Приподнятого крестообразного лабиринта” в 2,4 раза, $p \leq 0,05$), однако выраженных различий в поведении, по сравнению с овариоэктомизированными животными не отмечалось.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. Н. Алфимцев, Н. А. Алфимцев, Ю. М. Букреев, В. С. Кузин, Патент № RU 2 428 144 C1, Бюл. № 25 (2011).
2. А. В. Калугин, *Стресс, тревожность и поведение (актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных)*, CSF, Киев (1998).
3. Я. Д. Киршенблат, *Практикум по эндокринологии*, Высшая школа, Москва (1969).
4. А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян и др., *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012).
5. Н. С. Сапронов, *Гонадолиберины*, Арт-Экспресс, СПб (2012).
6. A. P. Borrow, R. J. Handa, *Vitam. Horm.*, **103**, 27–52 (2017); doi: 10.1016/bs.vh.2016.08.004.
7. C. Faravelli, M. A. Scarpato, G. Castellini, C. Lo Sauro, *Psychiatry Res.*, **210**(3), 1301–1303 (2013); doi:10.1016/j.psychres.2013.09.027.
8. B. Filova, M. Malinova, J. Babickova, et al., *Neurosci. Bul.*, **31**(3), 288–296 (2015); doi: 10.1007/s12264-014-1510-8.
9. L. Jennes, B. Brame, A. Centers, et al., *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **33**(1), 104–110 (1995); doi: 10.1016/0169-328x(95)00113-7.
10. W. A. Rocca, B. R. Grossardt, Y. E. Geda, et al., *Menopause*, **25**(11), 1275–1285 (2018); doi:10.1097/GME.0000000000001229.
11. N. Sagsöz, O. Oguztürk, M. Bayram, M. Kamaci, *Arch. Gynecol. Obstet.*, **264**(4), 199–202 (2001); doi:10.1007/s004040000108.
12. C. N. Soares, *Psychiatr. Clin. North. Am.*, **40**(2), 239–254 (2017); doi: 10.1016/j.psc.2017.01.007.
13. A. C. Wilson, M. S. Salamat, R. J. Haas, et al., *J. Endocrinol.*, **191**(3), 651–663 (2006); doi: 10.1677/joe.1.07047.

Поступила 01.03.20

ANXIOGENIC EFFECT OF SURFAGON UPON SINGLE ADMINISTRATIONS TO INTACT AND OVARIECTOMIZED FEMALE RATS

O. O. Masalova¹, S. B. Kazakova², and P. D. Shabanov¹

¹ Institute of Experimental Medicine, ul. Akademika Pavlova 12, St. Petersburg, 197376 Russia

² A. A. Smorodintsev Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Professora Popova 15/17, St. Petersburg, 197376 Russia

We studied the effect of gonadotropin-releasing hormone agonist surfagon (2 mg/kg, once, intraperitoneally) on anxious behavior in adult intact and ovariectomized female rats. Surfagon reduced the horizontal activity and number of head dippings in the open-field test (1.5–2.7 times on average, $p < 0.05$) and decreased the number of entries into closed arms and the time spent in open arms of elevated plus maze in intact rats (4.6 times, $p < 0.01$). Surfagon reduced the number of head dippings and increased grooming in the open-field test in ovariectomized rats. No significant differences in the elevated plus maze test behavior was found between ovariectomized rats receiving surfagon and ovariectomized rats receiving saline.

Keywords: gonadotropin-releasing hormone; luteinizing hormone; follicle-stimulating hormone; estradiol; anxiety; rat.