

ВВЕДЕНИЕ КВИНПИРОЛА С 17 β -ЭСТРАДИОЛОМ В НИЗКОЙ ДОЗЕ КОРРЕКТИРУЕТ УСЛОВНОЕ АКТИВНОЕ ИЗБЕГАНИЕ У ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫХ САМОК КРЫС

Ю. О. Федотова¹, Н. С. Сапронов²

Изучено влияние агонистов D₁/D₂ дофаминовых рецепторов на динамику выработки и угашения рефлекса активного избегания и на поведение в тесте “открытое поле” у овариоэктомированных самок крыс. Агонист D₁ дофаминовых рецепторов SKF-38393 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) и агонист D₂ дофаминовых рецепторов квинпирол (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) вводили хронически (14 дней) изолированно или в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола (0,5 мкг на животное, подкожно) самкам после овариоэктомии. Выявлено, что квинпирол в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола полностью восстанавливает нарушения в процессах формирования и сохранения рефлекса активного избегания у овариоэктомированных животных. При этом также наблюдалась параллельная коррекция структуры поведения в тесте “открытое поле” у овариоэктомированных самок на фоне введения квинпирола. При недостатке эстрогенов в организме самок SKF-38393, введенный изолированно или в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола, не оказывал корректирующего влияния на формирование и воспроизведение рефлекса активного избегания и существенно не влиял на характер поведения. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о существенной роли D₂ дофаминовых рецепторов в активном избегательном поведении при дефиците эстрогенов.

Ключевые слова: SKF-38393; квинпирол; 17 β -эстрадиол; активное обучение; овариоэктомия

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в основе расстройств высших интегративных функций мозга, включая обучение, память, познавательную деятельность, может лежать нарушение функционирования важнейших нейромедиаторных систем головного мозга и эндокринной системы организма в целом [1, 3]. В настоящее время широкое распространение получили исследования, направленные на изучение эффектов высокоселективных модуляторов моноаминергических и гормональных систем. Наиболее интересными в этом плане являются дофаминергическая нейромедиаторная система и гипофизарно-овариальная гормональная система. Интерес к дофаминергической нейротрансдукции в мозге обусловлен известной ролью последней в осуществлении двигательных, когнитивных, нейроэндокринных функций, а также ее вовлечением в патогенез ряда важнейших нервно-психических заболеваний: болезни Паркинсона, Альцгеймера, шизофрении и некоторых других [10]. Традиционно дофаминовые рецепторы подразделяют на 2 основных семейства: D₂-подобные (включает D₂-, D₃- и D₄-рецепторы) и D₁-подобные (содержит D₁- и D₅-рецепторы соответственно) [9]. Отличительной особенностью D₂/D₃ дофаминовых рецепторов считается их локализация не только постсинаптически, но и пресинаптически, свидетельствуя об их ауторецепторной функции [9, 10]. С другой стороны, патологические изменения в гипофизарно-овариальной системе ока-

зывают выраженное модулирующее влияние на функциональную активность nigростриатной дофаминергической системы [7, 13]. В целом, под влиянием эстрогенов в течение полового цикла у крыс происходят следующие события: изменяется активность тирозингидроксилазы в стриатуме, синтез и секреция дофамина, концентрация дофаминовых рецепторов разных подтипов, а также стимулированный амфетамином выход дофамина [11 – 13]. В связи с этим представляет интерес оценить степень участия разных типов дофаминовых рецепторов в реализации процессов обучения и памяти при дисбалансе эстрогенов в организме. Согласно данным литературы, такие исследования носят единичный характер и неоднозначны вследствие отсутствия детальной оценки действия как агонистов, так и антагонистов разных типов дофаминовых рецепторов на поведенческий статус самок с разным уровнем эстрогенов в организме.

Целью настоящей работы был сравнительный анализ эффектов хронического введения агонистов D₁/D₂ дофаминовых рецепторов, введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола на процесс активного обучения самок крыс при дефиците эстрогенов.

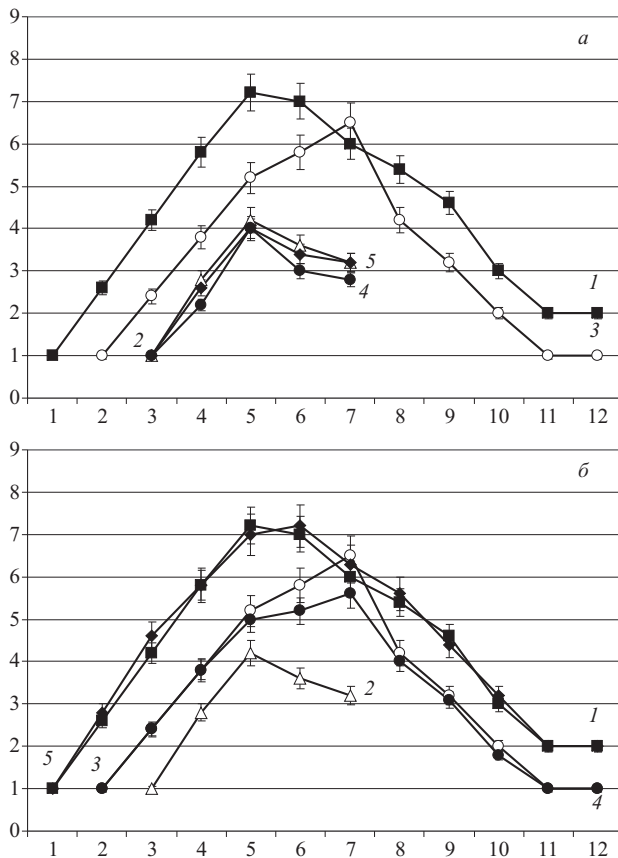
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 140 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 3 – 4 месяцев, массой 200 – 220 г, полученных из питомника “Рапполово”. Животных содержали в виварии при естественном освещении и максимальной стандартизации температурного и пищевого режимов со свободным доступом к еде и воде. Исследования проводили в первой половине дня (9.00 – 12.00).

Для выполнения поведенческих тестов крыс случайным образом разделяли на несколько групп по 10 особей

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

² Отдел нейрофармакологии им. С. В. Аничкова (руководитель — проф. П. Д. Шабанов) НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург.



Влияние SKF-38393 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) и квинпиrolа (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно), введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола (0,5 мкг на животное) на поведение овариоэктомированных самок крыс (условная реакция активного избегания).

По оси абсцисс — дни эксперимента, по оси ординат — число правильных ответов.

(а) 1 — интактные самки, получавшие физиологический раствор (линия с темными квадратами), 2 — овариоэктомированные (ОЭ) самки (линия со светлыми треугольниками), 3 — ОЭ самки, получавшие 17 β -эстрадиол (линия со светлыми кружками), 4 — ОЭ самки, получавшие SKF-38393 (линия с темными кружками), 5 — ОЭ самки, получавшие SKF-38393 в комбинации с 17 β -эстрадиолом (линия с темными ромбами).

(б) 1 — интактные самки, получавшие физиологический раствор (линия с темными квадратами), 2 — овариоэктомированные (ОЭ) самки (линия со светлыми треугольниками), 3 — ОЭ самки, получавшие 17 β -эстрадиол (линия со светлыми кружками), 4 — ОЭ самки, получавшие квинпиrol (линия с темными кружками), 5 — ОЭ самки, получавшие квинпиrol в комбинации с 17 β -эстрадиолом (линия с темными ромбами).

в каждой: 1-я — интактные самки, получавшие физиологический раствор (контроль 1), 2-я — овариоэктомированные (ОЭ) самки (контроль 2), 3-я — ОЭ самки, получавшие 17 β -эстрадиол (0,5 мкг на крысу, подкожно), 4-я — ОЭ самки, получавшие SKF-38393 (0,1 мг/кг, внутривнутрибрюшинно), 5-я — ОЭ самки, получавшие квинпиrol (0,1 мг/кг, внутривнутрибрюшинно), 6-я — ОЭ самки, получавшие SKF-38393 в комбинации с 17 β -эстрадиолом, 7-я — ОЭ самки, получавшие квинпиrol в комбинации с 17 β -эстрадиолом.

Все фармакологические препараты были получены из компании Сигма (США). Применяемые вещества растворяли в воде с добавлением минимального количества диметилсульфоксида (5 мкл) и вводили в объеме 0,1 мл на крысу массой 200 г. 17 β -Эстрадиол растворяли в стерильном подсолнечном масле и также вводили в объеме 0,1 мл на крысу массой 200 г. Выбор такой дозы 17 β -эстрадиола обусловлен тем, что установлена эффективность данной дозы 17 β -эстрадиола в мягкой коррекции эмоционального и гормонального статуса овариоэктомированных самок [7]. Контрольным крысам вводили эквивалентное количество растворителя. Введение веществ осуществляли в течение 14 дней до начала поведенческого теста через две недели после операции. Удаление яичников проводили согласно общепринятой методике [5]. Условную реакцию активного избегания (УРАИ) у крыс вырабатывали в Y-образном лабиринте, состоящем из трех отсеков [2]. При этом каждый отсек становился то стартовым, то целевым и наоборот. При обучении крысу помещали в лабиринт на 5 мин для адаптации к обстановке. Условным стимулом служило включение света на 10 с в одном из трех отсеков, безопасном для животного. Если крыса в течение этого времени не перебежала в безопасную часть установки, то на электродный пол остальных отсеков подавали электрический ток (50 Гц, 10 мс), побуждавший ее перебежать в освещенный отсек. Пороговые значения тока (2–4 мА) определяли по вокализации. В освещенном отсеке крыса находилась в течение 30 с. Обучение проводили в режиме постоянного подкрепления. Ежедневно животным предъявляли 10 сочетаний условного (свет) и безусловного (ток) сигналов. Выполнение реакции считалось правильным, если животное перебежало в безопасный отсек до включения тока. Для тестирования угашения УРАИ через 24 ч (т.е. на 8-й день эксперимента) крысу помещали в лабиринт и предъявляли такое же количество условных сигналов, но без подкрепления током. Выработанный рефлекс активного избегания считался сохраненным даже при появлении первого правильного ответа. Тестирование проводили в течение 5 дней.

Поведение животных в тесте “открытое поле” [6]. “Открытое поле” представляло собой квадратную площадку размером 80 × 80 см и боковыми стенками высотой 36 см. Пол площадки был разделен на 16 равных квадратов размером 19,5 × 19,5 см. Площадка равномерно освещалась источником света мощностью 100 Вт. Животное помещали в центр “открытого поля” на 3 мин. Контроль изменений в поведении животного осуществлялся автоматически с помощью программно-аппаратного комплекса “Биологическая установка “открытое поле” (Государственный электро-технический университет им. Д. И. Ульянова, Санкт-Петербург). Регистрировали следующие параметры: двигательную горизонтальную активность (“перемещение”) и двигательную вертикальную активность (“вставание”); исследовательскую активность (исследование крысой круглых сквозных отверстий, расположенных на полу); груминговые реакции (вычесывание, вылизывание, умывание и др.); эмоциональные реакции (дефекация и мочеиспускание).

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На модели УРАИ установлено, что после овариэктоми у самок первая правильно выполняемая реакция на условный сигнал наблюдалась на 3-ий день обучения (рисунок). На 4-ый день эксперимента количество правильных ответов на условный сигнал было достоверно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с группой интактных крыс. При тестировании через 24 ч (8-ой день эксперимента) после завершения курса обучения, в отсутствие подкрепления электрическим током у ОЭ самок не наблюдалось воспроизведение навыка активного избегания. Введение низкой дозы 17β-эстрадиола ОЭ самкам в некоторой степени улучшало динамику приобретения и угашения УРАИ по сравнению с ОЭ самками, не получавшими гормонального препарата ($p < 0,05$). На фоне хронического введения квинпирила у ОЭ самок наблюдалось значительное улучшение показателей формирования и воспроизведения УРАИ. Так, первое появление УРАИ было отмечено уже на 2-ой день обучения (рисунок). При тестировании на 8-ой день число правильных ответов было достоверно ниже контрольной группы интактных крыс ($p < 0,05$). В условиях комбинированного введения квинпирила и низкой дозы 17β-эстрадиола проявлялось стимулирующее действие обоих веществ на процесс активного обучения. У ОЭ самок, получавших квинпирил в сочетании с 17β-эстрадиолом, первое появление правильного ответа на условный сигнал было отмечено уже в 1-ый день обучения (рисунок). К 4-му дню эксперимента уровень обученности этой группы ОЭ самок соответствовал принятому критерию для группы интактных самок. К 12-му дню эксперимента уровень воспроизведения УРАИ полностью соответствовал степени угашения в контрольной группе. В то же время введение SKF-38393 изолированно или в сочетании с 17β-эстрадиолом самкам

не меняло динамику выработки и угашения УРАИ по сравнению с контрольными ОЭ самками.

В тесте “открытое поле” было выявлено, что введение SKF-38393 изолированно или в комбинации с 17β-эстрадиолом не меняло общий характер поведения ОЭ самок в тесте “открытое поле”, кроме снижения представленности груминга ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными группами интактных и ОЭ животных, а также с группой ОЭ крыс, получавших 17β-эстрадиол (таблица). На фоне введения квинпирила в сочетании с 17β-эстрадиолом происходило увеличение представленности груминга ($p < 0,05$) и исследовательской активности ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными группами интактных и ОЭ крыс, а также с группой ОЭ крыс, получавших 17β-эстрадиол (таблица).

Проведенные исследования выявили, что стимуляция D₂-дофаминовых рецепторов путем введения квинпирила оказывает позитивное действие на процесс активного обучения в условиях дефицита эстрогенов. Квинпирил восстанавливает способность ОЭ самок приобретать и воспроизводить рефлекс активного избегания. Выявленные изменения в поведенческих реакциях в тесте “открытое поле” у ОЭ самок, получавших квинпирил в комбинации с 17β-эстрадиолом, соответствуют наблюдаемому улучшению процесса активного обучения. Следует также отметить, что используемая доза квинпирила являлась так же, как и доза 17β-эстрадиола, весьма низкой. Исходя из этого можно предполагать, что корректирующее действие квинпирила реализуется именно через пресинаптические D₂-рецепторы. Данные, полученные на модели УРАИ у ОЭ самок при комбинированном введении квинпирила и 17β-эстрадиола позволяют говорить о триггерной роли низкой дозы 17β-эстрадиола в активации нормализации динамики выработки и сохранения рефлекса активного избегания. Кроме того, сочетанное введение нейротропного и гормонального препаратов в низких дозах приводит к полной коррекции нарушенных процессов обучения, в отличие от их изолированного введения. Вместе с тем, стимуляция D₁-типа рецепторов путем введения SKF-38393 не оказывает какого-либо влияния на процесс активного обучения, свидетельствуя о том, что постсинаптические D₁-рецепторы, по-видимо-

Влияние SKF-38393 (0,1 мг/кг) и квинпирила (0,1 мг/кг), введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой 17β-эстрадиола (0,5 мкг на крысу), на поведение овариэктомированных самок крыс в тесте “открытое поле”

Группы животных	Двигательная активность		Исследовательская активность	Эмоциональность	
	перемещение	вставание	Норка	Груминг	Дефекация
Интактные самки	57,4 ± 3,8	12,7 ± 1,4	3,6 ± 0,8	2,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2
Овариэктомия (ОЭ)	63,6 ± 2,6	11,0 ± 2,2	3,0 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,1 ± 0,2
ОЭ + 17β-E ₂	60,1 ± 2,6	12,1 ± 2,0	3,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,0 ± 0,2
ОЭ + SKF-38393	66,5 ± 3,8	10,9 ± 0,8	2,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2 ^{*,**,#}	1,4 ± 0,2
ОЭ + квинпирил	57,1 ± 3,8	12,3 ± 1,2	6,9 ± 0,4 ^{*,**,#}	4,6 ± 0,2 ^{*,**,#}	1,6 ± 0,2
ОЭ + SKF-38393 + 17β-эстрадиол	58,1 ± 2,6	12,8 ± 1,6	2,6 ± 0,2	1,0 ± 0,2 ^{*,**,#}	1,4 ± 0,2
ОЭ + квинпирил + 17β-эстрадиол	61,8 ± 3,4	11,3 ± 1,4	6,2 ± 0,8 ^{*,**,#}	4,4 ± 0,2 ^{*,**,#}	1,5 ± 0,2

Примечание. Отличие достоверно * — $p < 0,05$ от контрольных интактных самок, ** — $p < 0,05$ от овариэктомированных самок, # — $p < 0,05$ от овариэктомированных самок, получавших низкую дозу 17β-эстрадиола. Данные представлены в виде $M \pm m$, количество животных в группах — $N = 10$.

му, не играют существенной роли в этом типе обучения. Наряду с этим, при введении SKF-38393 и 17 β -эстрадиола в низких дозах не отмечается триггерная роль последнего.

Известно, что ДА принимает участие в осуществлении нормальных функций мозга и в регуляции деятельности эндокринных желез [4, 8, 9]. Полагают, что его влияние на высшие функции мозга при гормональном дисбалансе может реализовываться в основном двумя путями: на уровне головного мозга и трансгипофизарно. Дофаминовые рецепторы модулируют функциональную активность структур ЦНС, имеющих прямое отношение к обучению и памяти [9, 10]. Другой возможный путь влияния ДА на условнорефлекторную деятельность — его способность оказывать модулирующее влияние в качестве медиатора нервных импульсов на тропные функции гипофиза [8 – 10]. Можно говорить о том, что стимуляция D₂ дофаминовых рецепторов, вызываемая введением квинпирила, может приводить как к изменениям в содержании гонадотропина, так и/или к созданию необходимого уровня активности дофаминергической системы для осуществления нормального протекания условно-рефлекторной деятельности. Причем, по-видимому, это создает состояние сбалансированности протекания физиологических процессов как со стороны нейромедиаторной системы, так и со стороны гормональной системы.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о существенной роли D₂ дофаминовых рецепторов в активном избегательном поведении у самок крыс при дефиците эстрогенов.

ВЫВОДЫ

1. Хроническое введение квинпирила в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола восстанавливает способ-

ность к активному избегательному обучению при дефиците эстрогенов у крыс.

2. Хроническое введение SKF-38393 изолированно или в комбинации с низкой дозой 17 β -эстрадиола не влияет на процесс активного обучения при дефиците эстрогенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, *Стимуляторы психических процессов*, Ставроп. мед. акад. Ставрополь, 2003. 304 с.
2. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, “Высшая школа”, Москва (1991).
3. Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **61**(4), 3 – 9, (1998).
4. Н. Д. Ещенко, *Биохимия психических и нервных болезней*, Санкт-Петербургский Университет, Санкт-Петербург (2004).
5. Я. Д. Киршенблат, *Практикум по эндокринологии*, Высшая школа, Москва (1969).
6. Е. С. Петров, Н. С. Лазаренко, С. В. Кунцевич, *Журн. высш. нервн. деят.*, **32**(2), 347 – 356 (1982).
7. Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, *Гормоны гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы и мозг*, Формиздат, Санкт-Петербург (2009).
8. В. М. Сторожук, *Дофаминергическая модуляция нейронной активности в коре головного мозга бодрствующего животного*, Киев (2008).
9. К. С. Раевский, *Вопр. мед. хим.*, **43**(6), 553 – 565 (1997).
10. П. Д. Шабанов, *Психофармакология*, Элби-СПб, Санкт-Петербург (2008).
11. J. V. Becker, *Neurosci Lett.*, **118**, 169 – 171 (1990).
12. J. V. Becker, *Neuronal and Cognitive Effects of Oestrogens*, D. Chadwick, J. Goode (Eds.), Wiley, England (2000), 134 – 145.
13. E. Jacobsa, M. D’Esposito, *J. Neurosci.*, **31**, 5286 – 5293 (2011).

Поступила 10.05.12

ADMINISTRATION OF QUINPEROLE WITH 17 β -ESTRADIOL IN LOW DOSES CORRECTS ACTIVE AVOIDANCE PERFORMANCE IN OVARIECTOMIZED FEMALE RATS

Yu. O. Fedotova¹ and N. S. Sapronov²

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034, Russia;

² Institute for Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, 197376, Russia

The influence of D1/D2 types of dopaminergic receptors on the dynamics of acquisition and extinction of active avoidance performance and the behavior of ovariectomized female rats has been studied in the open field test. The D1-type dopaminergic receptor agonist SKF-38393 (0.1 mg/kg, i.p.) and D2-type dopaminergic receptor agonist quinperole (0.1 mg/kg, i.p.) were administered chronically (14 days) alone or in combination with low dose of 17 β -estradiol (0.5 μ g/rat, s.c.) in animals after ovariectomy. It is established that quinperole in combination with low dose of 17 β -estradiol completely corrected impairments in the mechanisms of formation and retention of active avoidance performance in ovariectomized females. After quinperole treatment, this effect was also accompanied by the correction of behavior in the open field test. In contrast, the administration of SKF-38393 alone or in combination with low dose of 17 β -estradiol in female rats with estrogen deficiency neither corrected the formation and reproduction of active avoidance response of animals nor modified their behavior in the open field test. The results of the present study suggest important role of D2-type dopaminergic receptors in active avoidance performance development in animals with estrogen deficiency.

Key words: SKF-38393; quinperole; 17 β -estradiol; active avoidance performance; open field test; female rats; ovariectomy