

ОПТИМИЗИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СОЧЕТАННОГО ВВЕДЕНИЯ 8-ОН-DPAT И ГАЛАНТАМИНА НА ДЕПРЕССИВНО-ТРЕВОЖНОЕ ПОВЕДЕНИЕ СТАРЫХ КРЫС С ДЕМЕНЦИЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕРОВСКОГО ТИПА

Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, Н. А. Лосев¹

Изучали эффект хронического комбинированного введения агониста 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов — 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг подкожно) или антагониста 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов NAN-190 (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) и ингибитора ацетилхолинэстеразы галантамина гидробромида (1 мг/кг внутривнутрибрюшинно) ежедневно в течение 14 дней на депрессивное и тревожное поведение в условиях экспериментальной деменции альцгеймеровского типа у старых (24 месяца) крыс-самцов. Хроническое введение агониста 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов 8-ОН-DPAT в комбинации с галантамином оказывает выраженное антидепрессивное и анксиолитическое действие в условиях экспериментальной деменции.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, старение, галантамин, 8-ОН-DPAT, NAN-190, депрессия, тревожность

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время считают, что ведущим патогенетическим звеном развития болезни Альцгеймера (БА) является дегенерация холинергических нейронов и снижение активности ацетилхолинтрансферазы, приводящие к дефициту ацетилхолина [6]. С другой стороны, доказано, что нейромедиаторный статус при БА характеризуется отчетливым снижением активности ряда других нейромедиаторных систем: глутаматергической, ГАМК-ергической, моноаминергических [9, 13].

Клинические исследования свидетельствуют о том, что помимо выраженных когнитивных расстройств, у 40% больных с деменцией альцгеймеровского типа наблюдаются такие характерные симптомы аффективных расстройств как тревожность, депрессия, эмоциональная лабильность [1, 5]. Терапевтические подходы к лечению БА в значительной степени основаны на попытках компенсации холинергической недостаточности [6]. При этом не уделяется соответствующего внимания компенсации дисфункции моноаминергических систем при БА, играющих важную роль в механизмах аффективных расстройств. Известно, что одним из патофизиологических механизмов депрессии является снижение чувствительности, связывающей способности и количества серотониновых рецепторов подтипов 1A и 2A в головном мозге [8]. Вместе с тем четкие сведения о роли серотонинергической системы в формировании аффективных расстройств при деменции альцгеймеровского типа отсутствуют. С этой точки зрения представляет интерес оценить участие серотониновых

рецепторов 1A подтипа (5-HT_{1A}-рецепторов) в депрессивном и тревожном поведении на фоне стимуляции холинергической системы у старых крыс-самцов на модели БА.

Целью настоящей работы являлся сравнительный анализ влияния активации и блокады 5-HT_{1A}-рецепторов при параллельной стимуляции м-холинорецепторов на депрессивное и тревожное поведение крыс-самцов старого возраста на модели экспериментальной деменции альцгеймеровского типа.

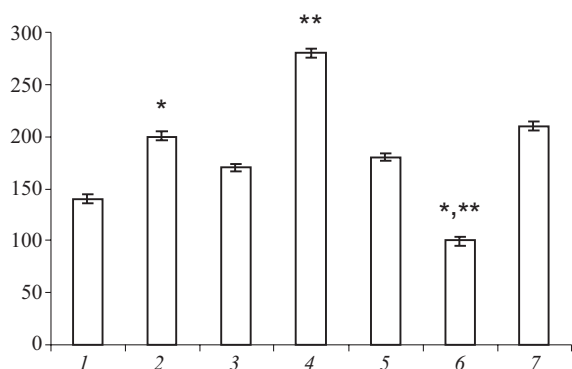
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 140 белых крысах-самцах линии Вистар в возрасте 24 месяцев, массой 320 – 350 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 ч – 12 ч).

Моделирование деменции альцгеймеровского типа (далее деменция) осуществляли следующим образом. β-Амилоид предварительно растворяли из расчета 3 мкг вещества в 1 мкл воды для инъекций. В соответствии с координатами атласа мозга крысы [3] через трепационное отверстие в черепе вводили канюлю в четвертый желудочек мозга. Животным экспериментальных групп инъецировали через канюлю β-амилоид в количестве 15 мкг (5 мкл), а животным контрольных групп — воду для инъекций (5 мкл). Поведенческие эксперименты начинали на 21-е сутки после интрацеребровентрикулярной инъекции.

Для выполнения поведенческих тестов крыс разделяли на несколько групп по 8 – 10 особей в каждой: 1-я группа — крысы-самцы, получавшие физиологи-

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.



Влияние хронического введения 8-ОН-DPAT или NAN-190 в комбинации с галантамином на депрессивное поведение в тесте Порсолта у старых самцов крыс с деменцией.

По оси абсцисс — группы животных: 1 — самцы + физиологический раствор (контроль 1), 2 — самцы + β -амилоид (контроль 2), 3 — самцы с деменцией + 8-ОН-DPAT, 4 — самцы с деменцией + NAN-190, 5 — самцы с деменцией + галантамин, 6 — самцы с деменцией + 8-ОН-DPAT + галантамин, 7 — самцы с деменцией + NAN-190 + галантамин. По оси ординат — время неподвижности, с. Различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении: * — с контролем 1; ** — с контролем 2.

ческий раствор (контроль 1), 2-я группа — крысы, получавшие β -амилоид (контроль 2), 3-я группа — самцы с деменцией, получавшие агонист 5-HT_{1A}-рецепторов 8-ОН-DPAT (“Sigma”, США) (0,05 мг/кг подкожно), 4-я группа — самцы с деменцией, получавшие антагонист 5-HT_{1A} рецепторов NAN-190 (“Sigma”, США) (0,1 мг/кг внутривнутрибрюшинно), 5-я группа — самцы с деменцией, получавшие ингибитор ацетилхолинэстеразы галантамина гидробромид (“Sigma”, США) (1 мг/кг внутривнутрибрюшинно), 6-я группа — самцы с деменцией, получавшие 8-ОН-DPAT в комбинации с галантамином в тех же дозах, 7-я группа — самцы с деменцией, получавшие NAN-190 в комбинации с галантамином в тех же дозах. Введение фармакологических веществ осуществляли ежедневно в течение 14 дней.

Депрессивное поведение животных изучали в тесте Порсолта [10]. Суть метода состоит в том, что крыс помещают в сосуд 30 – 40 см в диаметре и глубиной 60 см, заполненный водой с температурой 25 ± 2 °C. Животные, попадая в воду, стараются выбраться из сосуда. Убедившись в тщетности своих попыток, крысы оставляют их и зависают в воде в характерной неподвижной позе. Показателем выраженности депрессивноподобного состояния по данному тесту является длительность неподвижности, которую оценивали визуально. В первый день эксперимента животное помещали в сосуд с водой, где оно плавало в течение 15 мин, после чего животное изымали, обсушивали и помещали в домашние клетки. Через 24 ч проводили тестирование выраженности депрессивноподобного состояния. Животное снова помещали в сосуд с водой и в течение 5 мин регистрировали время подвижности и неподвижности.

Уровень тревожности у животных определяли с использованием общепринятого теста приподнятого крестообразного лабиринта [12]. Лабиринт состоит из двух открытых и двух закрытых рукавов, расположенных крестообразно и приподнятых над полом на 50 см. Ширина рукавов составляет 10 см при длине 45 см, высота стенок в закрытых рукавах — 10 см. Сверху все рукава открыты. В месте перпендикулярного пересечения рукавов находится площадка размером 10 × 10 см, на которую сажают тестируемую крысу. Поведение животных оценивали в течение 5 мин и регистрировали следующие параметры: время нахождения в открытых и закрытых рукавах, число заходов в открытые и закрытые рукава.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA; post-hoc: Fisher LSD test) при $p < 0,05$ с применением интегрированного пакета статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте Порсолта установлено, что у крыс с деменцией (группа 2) наблюдалось достоверное увеличение времени неподвижности по сравнению с интактными крысами (контроль 1, рисунок). В условиях деменции хроническое введение агониста 5-HT_{1A}-рецепторов 8-ОН-DPAT самцам крыс (группа 3) сопровождалось тенденцией к снижению времени неподвижности, тогда как хроническое введение антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов — NAN-190 (группа 4) достоверно увеличивало время неподвижности крыс ($p < 0,05$) по сравнению с контролем 2. Введение галантамина животным с деменцией (группа 5), также как и введение 8-ОН-DPAT (группа 3) не вызывало достоверного снижения времени неподвижности у этих животных по сравнению с контролем 2, однако наблюдалась тенденция к уменьшению данного параметра. Наряду с этим у самцов с деменцией, получавших 8-ОН-DPAT в комбинации с галантамином (группа 6), отмечалось достоверное уменьшение времени неподвижности ($p < 0,05$) по сравнению с контролем 1 и 2. В то же время у крыс с деменцией, получавших NAN-190 в комбинации с галантамином, выраженность депрессивного состояния не изменялась по сравнению с контролем 2.

При определении уровня тревожности были выявлены такие же закономерности в изменении поведения животных, как и в тесте Порсолта. На фоне введения β -амилоида у крыс (группа 2) было зарегистрировано снижение времени нахождения в открытых рукавах и числа заходов в эти рукава ($p < 0,05$) при одновременном повышении времени нахождения и количества заходов в закрытые рукава лабиринта по сравнению с контролем 1 (таблица). При хроническом введении 8-ОН-DPAT крысам с деменцией (группа 3) наблюдалось увеличение времени пребывания животного в от-

крытых рукавах ($p < 0,05$) по сравнению с контролем 2, тогда как введение NAN-190 (группа 4) достоверно понижало время и число заходов в открытые рукава по сравнению с контролем 2. Введение одного галантамина животным с деменцией (группа 5) не оказывало позитивного влияния на уровень тревожности по сравнению с контролем 2. Вместе с тем у самцов с деменцией, получавших 8-ОН-DPAT в комбинации с галантамином (группа 6), отмечалось значительное увеличение времени нахождения в открытых рукавах и числа заходов в эти рукава ($p < 0,05$) при одновременном снижении времени нахождения и количества заходов в закрытые рукава лабиринта по сравнению с контролем 1 и 2. Напротив, у самцов с деменцией, получавших NAN-190 в комбинации с галантамином (группа 7), отмечалось достоверное понижение времени захождения в открытые рукава по сравнению с контролем 2.

Как показывают результаты настоящего исследования, стимуляция и блокада 5-HT_{1A}-рецепторов в условиях стимуляции м-холинорецепторов (введение галантамина) приводят к разнонаправленным эффектам на депрессивно-тревожное поведение у крыс с моделью болезни Альцгеймера. Так, введение агониста 5-HT_{1A}-рецепторов оказывало положительный эффект на выраженность депрессивноподобного и тревожного поведения у крыс, получавших β-амилоид, хотя и не в полной мере, тогда как его введение в сочетании с ингибитором ацетилхолинэстеразы приводило к значительному уменьшению признаков депрессии и тревоги не только по сравнению с контрольными крысами, получавшими β-амилоид, но и с интактными животными. Наблюдаемый эффект усиления при сочетанной стимуляции холинергической и серотонинергической системы в условиях деменции создает предпосылки для возможного снижения доз применяемых фармакологических веществ. Согласно данным литературы, комбинированное применение ингибиторов обратного захвата серотонина и ацетилхолинэстеразы полностью восстанавливает волновой спектр электроэнцефалограммы и когнитивный дефицит, наблюдаемые при бо-

лезни Альцгеймера [2]. С другой стороны, введение антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов оказывало негативное действие на депрессивно-тревожное поведение на фоне применения β-амилоида. При этом комбинация NAN-190 с галантамином не влияла на степень депрессии, но сходным образом, как и введение антагониста 5-HT_{1A}-рецепторов, еще более ухудшало тревожное поведение у крыс с деменцией по сравнению с такими же крысами, но без терапии NAN-190. По-видимому, блокада 5-HT_{1A}-рецепторов при одновременной стимуляции м-холинорецепторов не способствует устранению дисбаланса между холинергической и моноаминергической системами, а, наоборот, усугубляет его.

В настоящее время продемонстрировано, что серотониновые рецепторы 1A подтипа (5-HT_{1A}-рецепторы), наряду с холинорецепторами, принимают участие в механизмах реализации поведенческих процессов [11, 14]. Согласно данным литературы, холинергическая и серотонинергическая системы могут совместно регулировать поведенческие процессы [4, 11]. Анатомически эти системы могут непосредственно взаимодействовать друг с другом на уровне тел холинергических нейронов и их дендритов в области переднего мозга, а также модулировать функциональную активность таламических, кортикальных и гиппокампальных нейронов через различные подтипы серотониновых рецепторов [7, 9]. Биохимические исследования показали, что вещества, действующие на серотониновые рецепторы могут активировать или ингибировать вход/выход ацетилхолина из кортикальных нейронов [1, 7]. Исходя из этого, можно предполагать, что введение 8-ОН-DPAT — агониста 5-HT_{1A}-рецепторов, стимулирует выход ацетилхолина из пресинаптических холинергических нервных окончаний. При сочетанном введении ингибитора ацетилхолинэстеразы галантамина с 8-ОН-DPAT, по-видимому, имеет место сложение количеств высвобожденного ацетилхолина из пресинаптических нервных окончаний и накопленного в синаптической щели в силу ингибирования ацетилхолинэстеразы. Таким образом, стимуляция пресинап-

Влияние хронического введения 8-ОН-DPAT или NAN-190 в комбинации с галантамином на уровень тревожности крыс-самцов в тесте приподнятый «крестообразный» лабиринт

Группа животных	Время нахождения в открытых рукавах, с	Время нахождения в закрытых рукавах, с	Количество заходов в открытые рукава	Количество заходов в закрытые рукава
Интактные самцы (контроль 1)	70,0 ± 2,4	230,0 ± 3,8	1,2 ± 0,4	2,0 ± 0,2
Самцы + β-амилоид	35,0 ± 4,4*	265,0 ± 3,4*	0,5 ± 0,1*	4,6 ± 0,2*
Самцы с деменцией + 8-ОН-DPAT	86,5 ± 4,6**	213,5 ± 2,6**	0,8 ± 0,2	3,5 ± 0,4*
Самцы с деменцией + NAN-190	18,0 ± 2,4**,*	282,0 ± 4,4*	0,2 ± 0,02**,*	4,0 ± 0,2*
Самцы с деменцией + галантамин	39,0 ± 3,6*	261,0 ± 3,4*	0,6 ± 0,2*	4,2 ± 0,2*
Самцы с деменцией + 8-ОН-DPAT + галантамин	126,5 ± 4,6**,*	173,5 ± 2,6**	4,5 ± 0,4**,*	2,0 ± 0,4**
Самцы с деменцией + NAN-190 + галантамин	20,0 ± 1,4**,*	280,0 ± 4,4*	0,1 ± 0,02**,*	4,7 ± 0,4*

Примечание. Различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении: * — с контролем 1; ** — с контролем 2.

тических 5-HT_{1A}-рецепторов 8-ОН-DPAT при одновременной стимуляции м-холинорецепторов галантамином может способствовать устранению патогенетических причин проявления депрессивно-тревожного поведения при болезни Альцгеймера через модуляцию активности м-холинорецепторов или высвобождение ацетилхолина из гиппокампальных нейронов, поскольку гиппокамп является одной из ведущих структур мозга, контролирующей поведение [8]. По-видимому, стимуляция 5-HT_{1A}-рецепторов при введении ингибитора ацетилхолинэстеразы может создавать условия для устранения дисбаланса между функциональной активностью серотонинергических структур мозга и холинергической системой при деменции.

Результаты исследования указывают на возможность нового подхода в фармакотерапии аффективных расстройств при старении или болезни Альцгеймера с использованием агонистов 5-HT_{1A}-рецепторов и ингибиторов ацетилхолинэстеразы.

Таким образом, хроническое введение агониста 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов 8-ОН-DPAT в комбинации с галантамином оказывает выраженное антидепрессивное и анксиолитическое действие в условиях деменции альцгеймеровского типа у старых крыс-самцов.

ВЫВОДЫ

1. Хроническое введение агониста 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов в комбинации с ингибитором ацетилхолинэстеразы оказывает выраженное антидепрессивное и анксиолитическое действие в условиях деменции альцгеймеровского типа у старых самцов крыс.

2. Хроническое введение антагониста 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов в комбинации с ингибитором ацетилхолинэстеразы не проявляет антидепрессивного эффекта и приводит к анксиогенному эффекту в тех же условиях.

Работа выполнена при поддержке РФФИ — грант № 04-04-49025.

ЛИТЕРАТУРА

1. Y. Abe, A. Aoyagi, T. Hara, et al., *J. Pharmacol. Sci.*, **93**, 95 – 105 (2003).
2. A. C. Dringenberg and P. Diavolitsis, *Neuropharmacol.*, **42**, 154 – 161 (2002)
3. E. Fifkova and J. Marsala, *Stereotaxic atlases for the cat, rabbit and rat brains. Praha*, St. zdravotnicke nakald (1960).
4. M. Luttgen, E. Elvander, N. Madjid, and S. O. Ogren, *Neuropharmacol.*, **48**, 830 – 852 (2005).
5. M. F. Mendez, R. J. Martin, K. A. Smyth, et al., *J. Neuropsych. Clin. Neurosci.*, **2**, 28 – 33 (1990).
6. *The Neurobiology of Alzheimer's Disease.*, Ann. N. Y. Acad. Sci., 777 (1996).
7. M. Ohno and S. Watanabe, *Brain Res*, **736**, 180 – 188 (1996).
8. J. P. Olie, J. Costa E Silva, and J. P. Macher, *Neuroplasticity: a new approach to the pathophysiology of depression*, Science Press, London UK (2004).
9. A. M. Palmer and S. T. DeKosky, *J. Neural. Transm.*, **91**, 135 – 159 (1993).
10. R. D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **47**, 379 – 391 (1978).
11. Jr. P. Riekkinen, *Eur. J. Pharmacol.*, **262**, 77 – 90 (1994).
12. R. J. Rodgers, B. J. Cao, A. Dalvi A., et al., *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **30**, 289 – 304 (1997).
13. G. L. Wenk, D. J. Pierce, R. G. Struble, et al., *Neurobiol. Aging*, **10**, 11 – 19 (1989).
14. W. J. Wilson and J. A. Cook, *Acta Neurobiol. Exp.*, **154**, 377 – 381 (1994).

Поступила 02.11.05

OPTIMIZING EFFECT OF THE COMBINED ADMINISTRATION OF 8-OH-DPAT AND GALANTAMINE ON DEPRESSION – ANXIETY BEHAVIOR IN OLD RATS WITH DEMENTIA OF ALZHEIMER'S TYPE

N. S. Saprnov, Yu. O. Fedotova, and N. A. Losev

Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Akademika Pavlova 12, St.-Petersburg, 197376 Russia

The effect of chronic (14 days) administration of the serotonin 5-HT_{1A} receptors agonist 8-OH-DPAT (0.05 mg/kg, s.c.) and the 5-HT_{1A} receptors antagonist NAN-190 (0.1 mg/kg, i.p.) alone or in combination with the acetylcholinesterase inhibitor galantamine (1.0 mg/kg, i.p.) on depression and anxiety was studied in old (24 months) male rats with dementia of Alzheimer's type. The results indicated that chronic combined administration of 8-OH-DPAT with galantamine resulted in pronounced antidepressant and anxiolytic action.