

СОЧЕТАННОЕ ВВЕДЕНИЕ NAN-190 С НИЗКОЙ ДОЗОЙ ТЕСТОСТЕРОНА ПРОПИОНАТА КОРРЕКТИРУЕТ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ РЕФЛЕКСА ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ АНДРОГЕНОВ У КРЫС

Ю. О. Федотова¹, Н. С. Сапронов²

Целью исследования явилось изучение сравнительной оценки влияния комбинированного введения агониста или антагониста 5-HT_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов с низкой дозой тестостерона пропионата на воспроизведение условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и на поведение у гонадэктомированных (ГЭ) самцов крыс среднего возраста (12 – 15 мес.) в тесте “открытое поле”. Агонист 5-HT_{1A}-рецепторов — 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг, подкожно) и антагонист 5-HT_{1A}-рецепторов — NAN-190 (0,1 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) вводили хронически (14 сут) изолированно или в комбинации с тестостероном пропионатом в низкой дозе (0,5 мг/кг, подкожно) ГЭ самцам среднего возраста. Установлено, что NAN-190 в комбинации с тестостероном пропионатом полностью восстанавливает воспроизведение УРПИ у ГЭ самцов среднего возраста. При этом, на фоне введения NAN-190 в сочетании с тестостероном пропионатом у ГЭ самцов среднего возраста наблюдали увеличение исследовательской активности и представленности груминга в тесте “открытое поле”. Напротив, 8-ОН-DPAT, введенный изолированно или в комбинации с тестостероном пропионатом, еще в большей степени нарушал воспроизведение УРПИ и не влиял на поведение ГЭ самцов среднего возраста в тесте “открытое поле”. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о позитивном эффекте блокады 5-HT_{1A}-рецепторов на фоне введения тестостерона пропионата на воспроизведение УРПИ при дефиците андрогенов у самцов крыс среднего возраста.

Ключевые слова: 8-ОН-DPAT; NAN-190; 5-HT_{1A}-рецепторы; тестостерон; рефлекс пассивного избегания; гонадэктомия; возраст; крысы

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных задач современной нейропсихофармакологии является разработка новых подходов для фармакокоррекции мнестических и поведенческих расстройств с параллельным восстановлением адекватного гормонального баланса при его нарушении. Суть таких разработок заключается в проведении комбинированной фармакотерапии гормональным и нейротропными препаратами, введенными в низких дозах, для сбалансированной коррекции нарушений как в гормональной, так и в нейромедиаторной системах, а также с целью снижения побочных эффектов примененного гормонального препарата в высоких дозах [3].

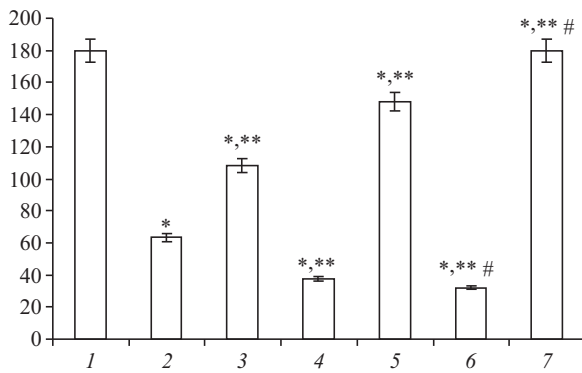
Изыскание новых способов лечения когнитивно-аффективных расстройств и коррекции гормонального статуса при дефиците андрогенов с учетом возрастного фактора. Необходимо подчеркнуть, что на сегодняшний день эта проблема стоит весьма остро, и занимает одно из лидирующих положений в современном обществе в связи со значительным ухудшением экологической обстановки и увеличением числа фак-

торов, неблагоприятно воздействующих на продукцию тестостерона у мужчин [4, 5, 8]. По данным A. Vermeulen и соавт. (2002), у мужчин в возрасте 40 – 60 лет снижение уровня тестостерона и возникновение дефицита андрогенов выявляется в 7 % случаев, в возрасте 60 – 80 лет — 21 %, у лиц старше 80 лет частота его регистрации достигает 35 % [11]. Однако следует отметить, что на сегодняшний день, клиницисты заявляют о падении уровня тестостерона на 15 % и развитии дефицита андрогенов у мужчин уже в 30 – 35 лет [4, 7, 8].

Большинство пациентов, не зависимо от возраста при снижении уровня тестостерона, помимо общеизвестных проблем с эректильной функцией, отмечают снижение памяти, способности концентрировать внимание, ухудшение интеллектуальных способностей в целом, а также появление симптомов тревожно-депрессивного поведения [6, 8, 9]. Таким образом, фармакологическая коррекция нарушенных механизмов работы головного мозга, лежащих в основе патофизиологии мнестических расстройств, является важнейшей задачей врачей, занимавшихся ранее терапией внешних симптомов при дефиците андрогенов в организме. К сожалению, на эти показатели мужчины обращают не столь значительное внимание, вследствие определенных традиций в обществе и воспитания. Тем не менее, совокупность негативных эффектов, возникающих в когнитивной сфере пациентов с дефи-

¹ Лаборатория нейроэндокринологии (руководитель — Н. Э. Ордян) Институт 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 РАН, 197198, Санкт-Петербург, П. С., Малый пр., 13.



Влияние 8-ОН-DPAT и NAN-190, введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата на воспроизведение УРПИ гонадэктомированных (ГЭ) самцов крыс среднего возраста.

По оси абсцисс — группы животных; по оси ординат — латентный период, с. 1 — интактные самцы, получавшие физиологический раствор, 2 — ГЭ самцы, 3 — ГЭ самцы, получавшие тестостерона пропионат, 4 — ГЭ самцы, получавшие 8-ОН-DPAT, 5 — ОЭ самцы, получавшие NAN-190, 6 — ГЭ самцы, получавшие 8-ОН-DPAT в комбинации с тестостероном пропионатом, 7 — ГЭ самцы, получавшие NAN-190 в комбинации с тестостероном пропионатом.

Отличие достоверно ($p < 0,05$): * — от контрольных интактных самцов, ** — от ГЭ самцов, *** — от ГЭ самцов, получавших низкую дозу тестостерона пропионата. Данные представлены в виде $M \pm m$, животных в группах — 10.

цитом андрогенов, усугубляет снижение качества их жизни. Проблема лечения нарушений в когнитивно-эмоциональной сфере у пациентов с гипоандрогенным синдромом разного возраста остается не достаточно изученной. Проведено очень мало доклинических и клинических исследований, посвященных данной проблеме. Хотя, существенную помощь в этом направлении могли бы оказать научные исследования, использующие современные экспериментальные модели обучения, основанные на нарушении образования следа памяти, процесса консолидации, а также на воспроизведении полученной информации [1].

Функциональная активность гипофизарно-гонадной системы тесно связана с активностью целого ряда нейромедиаторных систем головного мозга [4, 7, 11]. С другой стороны, известно, что половые гормоны и серотонин принимают участие в развитии одних и тех же нервно-психических заболеваний [3, 4]. В связи с этим особый интерес представляет изучение механизмов взаимного влияния андрогенной и серотонинергической систем на протекание ряда мнестических и нервно-психических заболеваний.

В связи с этим, целью работы явился сравнительный анализ эффектов стимуляции и блокады 5-HT_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов на когнитивно-мнестический компонент поведения на модели непространственного обучения (воспроизведение рефлекса пассивного избегания), а также на структуру локомоторной и ориентировочно-исследовательской поведенческой реактивности в тесте “открытое поле”

при дефиците андрогенов в организме у самцов крыс среднего возраста.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 140 белых самцах крыс линии Вистар 12 – 15 месяцев, массой 250 – 280 г, полученных из питомника “Рапполово”. Животных содержали в виварии в условиях 24-часового фоторежима (12 ч день : 12 ч ночь, включение света в 7 ч), контролируемой температуры (22 ± 2 °C) и влажности (65 ± 10 %) воздуха при свободном доступе к воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). Для содержания животных использовали пластмассовые клетки ($47 \times 35 \times 17$ см) с проволочной металлической крышкой и подстилкой из опилок лиственных пород. Тестируемые животные были приучены к рукам экспериментатора до начала экспериментов. Все исследования проводили в первой половине дня (10 – 13 ч) согласно этическим принципам, изложенным в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

Все фармакологические препараты получены из компании “Sigma” (США). В качестве агониста 5-HT_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов использовали 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг, подкожно), в качестве антагониста 5-HT_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов — NAN-190 (0,1 мг/кг, внутривенно), тестостерона пропионат вводили подкожно в минимальной “поведенческой” дозе 0,5 мг/кг, в которой последний не вызывает достоверных изменений структуры поведения при тестировании в “открытом поле”. Серотонинергические вещества растворяли в физиологическом растворе и вводили в объеме 0,2 мл на крысу массой 250 г. Тестостерона пропионат растворяли в стерильном подсолнечном масле и также вводили в объеме 0,2 мл на крысу массой 250 г. Выбор именно такой дозы тестостерона пропионата обусловлен тем, что экспериментальными исследованиями была установлена эффективность данной дозы тестостерона пропионата в адекватной коррекции эмоционального и гормонального статуса гонадэктомированных (ГЭ) самцов крыс среднего возраста. Контрольным крысам вводили эквивалентное количество растворителя. Вещества вводили в течение 14-и суток до начала поведенческого теста через две недели после операции. Операцию гонадэктоми проводили согласно общепринятой методике [2].

Для выполнения поведенческих тестов крыс случайным образом разделяли на несколько групп по 10 особей в каждой: 1-я группа — контрольные интактные самцы, получавшие физиологический раствор (контроль), 2-я группа — контрольные ГЭ самцы, получавшие физиологический раствор, 3-я группа — ГЭ самцы, получавшие тестостерона пропионат, 4-я группа — ГЭ самцы, получавшие 8-ОН-DPAT, 5-я группа

— ГЭ самцы, получавшие NAN-190, 6-я группа — ГЭ самцы, получавшие 8-ОН-ДРАТ в комбинации с тестостерона пропионатом, 7-я группа — ГЭ самцы, получавшие NAN-190 в комбинации с тестостерона пропионатом. Выполнение поведенческих тестов осуществляли через 45 мин после последнего введения фармакологических веществ.

Сохранение следа памяти оценивали по условному рефлексу пассивного избегания (УРПИ) [1]. УРПИ вырабатывали на основе однократного электрокожного подкрепления в установке, состоящей из двух камер — большой (освещенной) и малой (темной) с электрифицированным полом, сообщающихся между собой круглым отверстием. При обучении крысу помещали на 3 мин в середину освещенной камеры хвостом к отверстию в темную. Животное исследовало камеру, находило отверстие в темную часть и проникало в нее. Вследствие своих биологических особенностей (врожденное предпочтение темных участков пространства у грызунов) крыса предпочитала находиться в темном помещении, где проводила приблизительно 2/3 времени. Регистрировали латентный период захождения животного в темную камеру. В конце третьей минуты на электродный пол темной камеры подавали электрический ток (50 Гц, 6 мА), заставлявший крысу перебежать в освещенную камеру, откуда ее удаляли. У такого животного считали, что УРПИ выработан. Воспроизведение УРПИ определяли через 24 ч. Для этого крысу помещали в установку на 3 мин. Регистрировали тот же параметр, что и при обучении. Не захождение в темную камеру расценивали как воспроизведение навыка пассивного избегания, а укорочение времени нахождения в освещенной камере — как амнезию навыка.

Поведение животных оценивали в тесте “открытое поле” [10]. Регистрировали следующие параметры: двигательную горизонтальную активность (“перемещение”) и двигательную вертикальную активность (“вставание”); исследовательскую активность (исследование крысой круглых сквозных отверстий, расположенных на полу); груминговые реакции (вычесыва-

ние, вылизывание, умывание и др.); эмоциональные реакции (дефекация и уринация).

Статистическую обработку данных проводили с использованием дисперсионного анализа one-way ANOVA тест с последующим Ньюман-Коулс тестом с помощью пакета программ Statistica для Windows 6.0. Различия между значениями при $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На модели УРПИ было установлено, что ГЭ у самцов среднего возраста вызывает нарушение процесса воспроизведения УРПИ через 24 ч после предварительного обучения, по сравнению с группой контрольных интактных самцов ($p < 0,05$, рисунок). Хроническое введение тестостерона пропионата в низкой дозе ГЭ крысам самцам среднего возраста в некоторой степени улучшало процесс воспроизведения УРПИ по сравнению с контрольными ГЭ самцами ($p < 0,05$, рисунок). Хроническое введение 8-ОН-ДРАТ ГЭ самцам среднего возраста существенно нарушало воспроизведение УРПИ по сравнению с контрольными ГЭ самцами ($p < 0,05$, рисунок). Кроме того, при введении 8-ОН-ДРАТ в сочетании тестостерона пропионата не проявлялся позитивный эффект гормонального препарата на воспроизведение УРПИ. С другой стороны, на фоне хронического введения NAN-190 у ГЭ самцов среднего возраста наблюдали значительное улучшение способности животных к воспроизведению УРПИ. В условиях комбинированного введения NAN-190 и тестостерона пропионата проявлялось стимулирующее действие обоих веществ на процесс пассивного обучения, что выражалось в полном воспроизведении УРПИ, как и в группе контрольных интактных самцов ($p < 0,05$, рисунок).

В тесте “открытое поле” было выявлено, что введение 8-ОН-ДРАТ изолированно или в комбинации с тестостерона пропионатом не меняло общий характер поведения ГЭ самцов (таблица). На фоне введения NAN-190 и тестостерона пропионата в низкой дозе на-

Влияние 8-ОН-ДРАТ и NAN-190, введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата на поведение гонадэктомированных (ГЭ) самцов крыс среднего возраста в тесте “открытое поле” ($M \pm m, n = 10$)

Группа животных	Двигательная активность		Исследовательская активность	Эмоциональность	
	Перемещение	Вставание	Норка	Груминг	Дефекация
1 Интактные самцы	53,3 ± 2,8	9,1 ± 1,2	3,4 ± 0,8	2,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2
2 Гонадэктомия	52,4 ± 2,2	12,6 ± 2,0	3,2 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,2 ± 0,2
3 ГЭ + тестостерон	60,2 ± 2,2	11,9 ± 2,2	3,3 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2
4 ГЭ + 8-ОН-ДРАТ	52,4 ± 2,2	12,6 ± 2,0	3,2 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,2 ± 0,2
5 ГЭ + NAN-190	57,8 ± 2,4	12,4 ± 1,2	6,8 ± 0,4 ^{***#}	5,3 ± 0,2 ^{***#}	0,9 ± 0,2
6 ГЭ + 8-ОН-ДРАТ + тестостерон	55,9 ± 2,6	10,2 ± 1,4	2,4 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2
7 ГЭ + NAN-190 + тестостерон	51,2 ± 2,8	11,0 ± 0,8	7,4 ± 0,8 ^{***#}	5,9 ± 0,2 ^{***#}	1,2 ± 0,2

Примечание. Отличие достоверно ($p < 0,05$): * — от контрольных интактных самцов, ** — от ГЭ самцов, *** — от ГЭ самцов, получавших низкую дозу тестостерона пропионата.

блюдали увеличение представленности груминга ($p < 0,05$), и исследовательской активности ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными группами интактных и ГЭ крыс, а также с группой ГЭ крыс, получавших только тестостерона пропионат (таблица).

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о неоднозначном влиянии стимуляции или блокады 5-НТ_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов на процессы непространственного обучения в условиях дефицита андрогенов у самцов крыс среднего возраста. Кроме того, полученные результаты исследования доказывают, что препараты, влияющие на серотонинергическую нейротрансмиссию, могут модулировать когнитивные процессы у ГЭ самцов среднего возраста. Как свидетельствуют результаты экспериментов, дефицит андрогенов у самцов среднего возраста приводит к нарушению процесса воспроизведения УРПИ. Полученные результаты согласуются с рядом данных литературы о разной способности самцов крыс к выработке условных рефлексов в зависимости от возрастного и гормонального факторов [4, 7, 8]. Однако некоторые исследователи не обнаружили связи между возрастом, уровнем андрогенов в организме экспериментальных животных и их способностью к непространственным формам обучения [5, 8, 9].

Анализ результатов настоящей работы показывает, что хроническое введение 8-ОН-ДРАТ и NAN-190 в комбинации с тестостерона пропионатом оказывает разнонаправленное действие на воспроизведение УРПИ у ГЭ самцов крыс. Так, сочетанное введение антагониста 5-НТ_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов и тестостерона пропионата в низкой дозе оказывает антиамнестический эффект, т.е. нормализует процесс воспроизведения УРПИ у ГЭ крыс. При этом, наблюдается потенцирование позитивных эффектов NAN-190 и тестостерона пропионата на воспроизведение следа памяти у ГЭ самцов. Выявленные изменения в поведенческих реакциях в тесте “открытое поле” у ГЭ самцов, получавших NAN-190 в комбинации с тестостероном пропионатом, соответствуют наблюдаемому улучшению процесса воспроизведения УРПИ. Следует также отметить, что используемая доза NAN-190, как и доза тестостерона пропионата, были весьма низкими. Исходя из этого можно предположить, что корректирующее действие NAN-190 реализуется именно через 5-НТ_{1A}-подтип серотониновых рецепторов. Данные, полученные в тесте УРПИ у ГЭ самцов при комбинированном введении NAN-190 и тестостерона пропионата, позволяют говорить о перmissive роли низкой дозы тестостерона в коррекции процесса воспроизведения УРПИ. Кроме того, сочетанное введение нейротропного и гормонального препаратов в низких дозах приводит к полной нормализации нарушенных процессов обучения, в отличие от их изолированного введения. В то же время, введение агониста 5-НТ_{1A}-рецепторов — 8-ОН-ДРАТ отдельно или в комбинации с тестостерона пропионатом

не улучшало показатели воспроизведения УРПИ, а напротив, еще в большей степени нарушало воспроизведение УРПИ.

Противоположно направленные эффекты агониста и антагониста 5-НТ_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов на условнорефлекторную деятельность у ГЭ самцов могут быть связаны с измененным метаболизмом серотонина и характером экспрессии 5-НТ_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов, а также с измененной экспрессией андрогеновых рецепторов и их связывающей способности в структурах головного мозга, имеющих непосредственное отношение к когнитивным функциям.

Необходимо также отметить, что следует с осторожностью проводить какую-либо фармакокоррекцию когнитивного статуса в условиях дефицита андрогенов веществами, воздействующими на 5-НТ_{1A}-подтип серотониновых рецепторов в эксперименте, поскольку это может еще более усугублять когнитивные нарушения.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о существенной роли 5-НТ_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов в когнитивных процессах у самцов крыс среднего возраста в условиях дефицита андрогенов. Данное исследование доказывает участие серотонинергической системы в условнорефлекторной деятельности при колебаниях уровня андрогенов в организме и способствует лучшему пониманию комплексного взаимодействия андрогенной и серотонинергической систем мозга. Результаты исследования указывают на необходимость дальнейшего изучения эффектов серотонинергических веществ в качестве средств фармакокоррекции нарушений высших функций мозга при дефиците андрогенов в организме.

ВЫВОДЫ

1. Хроническое введение NAN-190 в комбинации с тестостерона пропионатом полностью восстанавливает воспроизведение условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у гонадэктомированных крыс самцов среднего возраста.
2. Хроническое введение NAN-190 в сочетании с тестостерона пропионатом в низкой дозе гонадэктомированным самцам крыс среднего возраста вызывает активацию ориентировочно-исследовательского поведения животных в тесте “открытое поле”.
3. Хроническое введение 8-ОН-ДРАТ как изолированно, так и в сочетании с низкой дозой тестостерона пропионата нарушает воспроизведение УРПИ и не влияет на структуру поведения в тесте “открытое поле” гонадэктомированных самцов крыс среднего возраста.

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).
3. Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, *Гормоны гипоталамо-гипофизарно-оварияльной системы и мозг*, Формиздат, Санкт-Петербург (2009).
4. M. M. Cherrier, *Front. Horm. Res. Basel, Karger*, **37**, 150 – 162 (2009).
5. M. I. Geerlings, D. Stroyk, K. Masaki, et al., *Ann. Neurol.*, **60**(3), 346 – 355 (2006).
6. E. Hogervorst, F. E. Matthews, C. Brayne, *Biochim. Biophys. Acta*, **1800**(10), 1145 – 1152 (2010).
7. J. Holland, S. Bandelow, E. Hogervorst, *Maturitas.*, **69**(4), 322 – 337 (2011).
8. R. H. Matousek, B. B. Sherwin, *Horm. Behav.*, **57**(3), 352 – 359 (2010).
9. M. Muller, A. Aleman, D. E. Grobbee, et al., *Neurology*, **64**(5), 866 – 871 (2005).
10. L. Prut, C. Belzung, *Eur. J. Pharmacol.*, **463**(1 – 3), 3 – 33 (2003)
11. A. Vermeulen, J. M. Kaufman, S. Goemaere, I. van Pottelberg, *Aging Male*, **5**(2), 98 – 102 (2002).

Поступила 05.07.13

CO-ADMINISTRATION OF NAN-190 WITH LOW DOSE OF TESTOSTERONE PROPIONATE IMPROVES PASSIVE AVOIDANCE PERFORMANCE IN RATS WITH ANDROGEN DEFICIENCY

Yu. O. Fedotova¹ and N. S. Sapronov²

¹ Laboratory of Neuroendocrinology, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, St. Petersburg, 199034, Russia

² Department of Neuropharmacology, Institute for Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, Malyi pr. 13, St. Petersburg, 197198, Russia

We have studied the effect of stimulation or blockade of the 5-HT_{1A} receptors on the passive avoidance performance and open-field test behavior in gonadectomized (GDX) male rats of middle age treated with a low dose of testosterone propionate. of The 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT (0.05 mg/kg, s.c.) or 5-HT_{1A} receptor antagonist NAN-190 (0.1 mg/kg, i.p.) were chronically (for 14 days) administered alone and in a combination with low dose of testosterone propionate (0.5 mg/kg, s.c.) in GDX rats of middle age (12 – 15 months). The co-administration of NAN-190 with low dose of testosterone propionate completely restored impaired passive avoidance performance in GDX males of middle age. Moreover, GDX rats of middle age treated with NAN-190 and low dose of testosterone propionate demonstrated increased exploratory and grooming behavior in the open-field test. Both 8-OH-DPAT alone and in combination with low dose of testosterone propionate markedly impaired passive avoidance learning and failed to modify behavior in the open-field test in GDX rats of middle age. The results of the present study are indicative of a positive effect of NAN-190 in combination with low dose of testosterone propionate on the passive avoidance learning at androgen deficiency in male rats of middle age.

Keywords: 8-OH-DPAT; NAN-190; 5-HT_{1A}-receptors; androgens; passive avoidance performance; gonadectomy; rat age