

ЭФФЕКТЫ 8-ОН-DРАТ И m-CPP НА ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ НИЗКУЮ ДОЗУ 17 β -ЭСТРАДИОЛА

Ю. О. Федотова, С. Г. Пивина, В. К. Акулова, Н. Э. Ордян¹

Целью работы явилась сравнительная оценка действия стимуляции 5-HT_{1A}- или 5-HT_{2B/2C}-рецепторов на депрессивноподобное поведение половозрелых самок крыс при экспериментальном дефиците эстрогенов, родившихся от матерей, перенесших стресс в период беременности. Хроническое введение агониста 5-HT_{1A}-рецепторов — 8-ОН-DРАТ (0,05 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) или агониста 5-HT_{2B/2C}-рецепторов — m-CPP (0,5 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) изолированно или в сочетании с низкой дозой 17 β -эстрадиола (0,5 мкг на крысу, подкожно) овариоэктомированным пренатально стрессированным (ПС) крысам осуществляли в течение 14 сут до начала проведения поведенческих тестов и затем на протяжении их выполнения. Для оценки поведения животных были использованы тесты Порсолта и “открытое поле”. Установлено, что хроническое введение 8-ОН-DРАТ одного или с низкой дозой 17 β -эстрадиола овариоэктомированным ПС самкам приводило к антидепрессивному эффекту по тесту Порсолта. В тесте “открытое поле” у крыс опытных групп отмечали снижение представленности груминговых реакций, вертикальной двигательной и исследовательской активности. На фоне введения m-CPP у овариоэктомированных ПС самок наблюдали антидепрессивный эффект, по сравнению с контрольной группой. Однако комбинированное введение овариоэктомированным ПС самкам крыс m-CPP с низкой дозой 17 β -эстрадиола повышало уровень депрессивности, оказывая продепрессивный эффект в тесте Порсолта.

Ключевые слова: 8-ОН-DРАТ; m-CPP; 17 β -эстрадиол; депрессия; овариоэктомия; пренатальный стресс; самки.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования последних лет демонстрируют, что пренатальный стресс у потомков женского пола значительно изменяет функциональную активность серотонинергической (5-HT) системы головного мозга, которая играет ведущую роль в патофизиологических механизмах развития тревожно-депрессивных расстройств [5, 11, 12]. Установлено, что нейроны серотонинергической системы у плодов обнаруживаются на 12-ые сутки беременности, вследствие чего фактор пренатального стресса может оказывать свое негативное воздействие именно в третьем триместре беременности, нарушая функциональное состояние данной нейромедиаторной системы [9]. В то же время хорошо известно, что 5-HT система весьма чувствительна к изменению уровня эстрогенов в организме [1, 6]. Наряду с этим как эстрогены, так и 5-HT система принимают участие в механизмах формирования аффективных расстройств, депрессии и шизофрении [8, 10].

В предыдущих исследованиях было установлено, что хроническое введение агониста 5-HT_{1A}-рецепторов — 8-ОН-DРАТ (0,05 мг/кг, подкожно) овариоэктомированным самкам крыс оказывало анксиолитический эффект, тогда как хроническое введение агониста 5-HT_{2B/2C}-рецепторов — m-CPP (0,5 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) не влияло на степень депрессивности у овариоэктомированных самок в тесте Порсолта [6, 7]. Можно предположить, что эффекты психотропных препаратов, применяемых при

депрессии в эксперименте, могут различаться у нестрессированных (НС) и пренатально стрессированных (ПС) самок крыс, вследствие чего может быть необходима иная схема проведения экспериментальной фармакотерапии. Таким образом, основываясь на данных о роли пренатального стресса в механизмах депрессии и данных, полученных ранее о действии агонистов 5-HT_{1A}- или 5-HT_{2B/2C}-рецепторов у самок крыс в условиях дефицита эстрогенов, было проведено данное исследование.

Целью настоящей работы явилась сравнительная оценка действия стимуляции 5-HT_{1A}- или 5-HT_{2B/2C}-рецепторов на депрессивноподобное поведение половозрелых овариоэктомированных самок крыс, родившихся от матерей, перенесших стресс в период беременности.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было использовано потомство от 20 первородящих самок крыс линии Вистар. Всех животных содержали в одинаковых условиях в виварии в условиях 24-часового фоторежима (12 ч день: 12 ч ночь, включение света в 7 ч), контролируемой температуры (22 ± 2 °С) и влажности (65 ± 10 %) при свободном доступе к воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). Все исследования проводили в утренние часы (10.00 – 13.00).

Эксперименты проводили в соответствии с требованиями “Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей” (Страсбург, 1986).

Пренатальный стресс моделировали следующим образом: беременных самок крыс ($n = 20$) с 15-е по 19-ые сутки гестации подвергали ежедневному иммобилизацион-

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

ному стрессу в течение 1 ч в узких пластиковых пеналах размером $20 \times 7 \times 6$ см в условиях повышенной освещенности, которую создавали лампой 60 Вт, расположенной на высоте 30 см. Полученное от этих самок потомство содержали вместе с матерью до 30-суточного возраста и далее – по 6 особей в клетке. Такой тип стрессорного воздействия на беременных самок крыс вызывает у их потомков женского пола выраженные нарушения в психоэмоциональной сфере (повышенную тревожность и депрессивность поведения) и способности к обучению, сопровождающиеся значительными изменениями активности гормональных систем [4, 12].

По достижению самками 3-месячного половозрелого возраста, удаляли яичники (овариоэктомия) согласно общепринятой методике [3]. Через 2 недели после операции выполняли поведенческие тесты.

Пренатально стрессированное потомство женского пола было случайным образом распределено по группам в количестве 10 особей в каждой: 1-я группа — интактные ПС самки, получавшие физиологический раствор (контроль 1); 2-я группа — овариоэктомированные ПС самки, получавшие физиологический раствор (контроль 2); 3-я группа — овариоэктомированные ПС самки, получавшие низкую дозу 17β -эстрадиола (0,5 мкг на крысу, подкожно); 4-я группа — овариоэктомированные ПС самки, получавшие агонист 5-HT_{1A} -рецепторов — 8-ОН-DPAT (0,05 мг/кг, подкожно); 5-я группа — овариоэктомированные ПС самки, получавшие 8-ОН-DPAT и 17β -эстрадиол; 6-я группа — овариоэктомированные ПС самки, получавшие агонист $5\text{-HT}_{2B/2C}$ -рецепторов m-CPP (0,5 мг/кг, внутривенно); 7-я группа — овариоэктомированные ПС самки, получавшие m-CPP и 17β -эстрадиол. Крысы обеих контрольных групп получали эквивалентное количество физиологического раствора. Все серотонинотропные вещества были получены от компании “Sigma” (США). Введение фармакологических веществ осуществляли в тех же дозах в течение 14 сут, что и в наших предыдущих исследованиях у овариоэктомированных самок, которые не подвергались пренатальному стрессу [6, 7].

Всех животных за неделю до проведения поведенческих экспериментов ежедневно брали в руки с целью

адаптации к экспериментатору. Антидепрессивные эффекты серотонинотропных веществ оценивали по поведению животных в тесте Порсолта [13]. Влияние на двигательную активность и ориентировочно-исследовательское поведение изучали в тесте “открытое поле” [2].

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте Порсолта было установлено, что пренатальный стресс у овариоэктомированных самок вызывал достоверное увеличение времени неподвижности и времени пассивного плавания ($81,3 \pm 11,5$, $p < 0,05$ и $154,2 \pm 15,6$, соответственно, $p < 0,05$) и уменьшение времени активного и пассивного плавания ($77,2 \pm 11,5$, $p < 0,05$), по сравнению с интактными ПС самками (табл. 1). Хроническое введение 17β -эстрадиола в низкой дозе ПС овариоэктомированным самкам существенно понижало время неподвижности, но при этом не меняло показатели времени активного и пассивного плавания, по сравнению с ПС овариоэктомированными самками (контроль 2).

Хроническое введение 8-ОН-DPAT изолированно или в комбинации с 17β -эстрадиолом в низкой дозе овариоэктомированным ПС самкам приводило к антидепрессивному эффекту, что выражалось в снижении времени неподвижности, по сравнению с контролем 2 и с ПС овариоэктомированными самками, получавшими низкую дозу 17β -эстрадиола (табл. 1, $p < 0,05$). Тем не менее, следует отметить, что на остальные параметры депрессивноподобного поведения столь выраженного позитивного эффекта 8-ОН-DPAT или его комбинация с 17β -эстрадиолом в низкой дозе не отмечено. Хроническое введение m-CPP овариоэктомированным ПС крысам также оказывало антидепрессивное действие, достоверно уменьшая время неподвижности и увеличивая время активного плавания, по сравнению с группами интактных и овариоэк-

Таблица 1. Влияние 8-ОН-DPAT и m-CPP на депрессивноподобное поведение пренатально стрессированных овариоэктомированных самок крыс, получавших низкую дозу 17β -эстрадиола (тест Порсолта)

Группа животных	Время неподвижности, с	Время активного плавания, с	Время пассивного плавания, с
ПС интактные самки (контроль 1)	$12,5 \pm 2,8$	$264,2 \pm 36,0$	$22,5 \pm 4,2$
ПС овариоэктомированные самки (контроль 2)	$81,3 \pm 11,5^*$	$77,2 \pm 11,5^*$	$154,2 \pm 15,6^*$
ПС овариоэктомированные самки + E_2	$50,3 \pm 8,8^{**}$	$88,7 \pm 12,4^*$	$161,0 \pm 19,6^*$
ПС овариоэктомированные самки + 8-ОН-DPAT	$22,6 \pm 3,2^{**}$	$116,8 \pm 13,9^*$	$160,6 \pm 11,4^*$
ПС овариоэктомированные самки + 8-ОН-DPAT + E_2	$27,5 \pm 8,2^{**\#}$	$83,5 \pm 8,9^*$	$189,0 \pm 22,5^*$
ПС овариоэктомированные самки + m-CPP	$5,8 \pm 1,2^{**}$	$146,9 \pm 2,6^{**}$	$147,3 \pm 17,6^*$
ПС овариоэктомированные самки + m-CPP + E_2	$98,5 \pm 9,8^{**\#}$	$61,8 \pm 10,5^*$	$139,8 \pm 13,5^*$

Примечание: Здесь и в табл. 2: ПС — пренатально стрессированные животные; 8-ОН-DPAT — агонист 5-HT_{1A} -рецепторов; m-CPP — агонист $5\text{-HT}_{2B/2C}$ -рецепторов; E_2 — 17β -эстрадиол.

Отличия достоверны ($p < 0,05$): * — от контрольных ПС интактных самок, ** — от ПС овариоэктомированных самок, # — от ПС овариоэктомированных самок, получавших 17β - E_2 . Данные представлены в виде $M \pm m$, количество животных в группах — 10.

томированных ПС самок (табл. 1, $p < 0,05$). В то же время, комбинированное введение m-CPP и 17 β -эстрадиола овариоэктомированным ПС крысам, напротив, приводило к продепрессивному эффекту за счет резкого увеличения времени неподвижности, по сравнению с контролями 1 и 2, а также с группой ПС овариоэктомированных самок, получавших 17 β -эстрадиол низкой дозе (табл. 1, $p < 0,05$), при отсутствии достоверных изменений в показателях времени активного и пассивного плавания.

В тесте “открытое поле” показано, что ПС существенно не влияет на параметры поведенческих реакций овариоэктомированных самок крыс и у овариоэктомированных самок крыс, получавших 17 β -эстрадиол в низкой дозе. Хроническое введение 8-ОН-DPAT или его комбинации с 17 β -эстрадиолом у овариоэктомированных ПС самок приводило к снижению вертикальной двигательной и исследовательской активности, и продолжительности груминга, по сравнению с животными контрольных групп 1 и 2, а также с ПС овариоэктомированными самками, получавшими 17 β -эстрадиол в низкой дозе ($p < 0,05$, табл. 2). Кроме того, на фоне введения данных веществ у крыс самок этих групп регистрировали повышение эмоциональной реактивности, по сравнению с ПС овариоэктомированными самками, получавшими 17 β -эстрадиол в низкой дозе или растворитель. При введении m-CPP одного или в сочетании с низкой дозой 17 β -эстрадиола выявлено заметное угнетение общей поведенческой активности. В частности, выявлено падение общей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности крыс, по сравнению с животными контрольных групп 1 и 2, а также с группой ПС овариоэктомированных самок, получавших 17 β -эстрадиол в низкой дозе ($p < 0,05$, табл. 2).

Фармакологический анализ выявил, что стимуляция как 5-HT_{1A}-, так и 5-HT_{2B/2C}-рецепторов приводит к антидепрессивному эффекту у ПС овариоэктомированных крыс. В условиях сочетанного введения серотонинотропных веществ с низкой дозой 17 β -эстрадиола у ПС ова-

риоэктомированных самок только при стимуляции 5-HT_{1A}-рецепторов отмечали антидепрессивный эффект, тогда как при стимуляции 5-HT_{2B/2C}-рецепторов регистрировали продепрессивный эффект. Необходимо отметить, что позитивные или негативные эффекты стимуляции серотонинергических рецепторов, выявленные в тесте Порсолта у овариоэктомированных ПС самок крыс, не соответствуют изменениям, структуры поведения в тесте “открытое поле”, как и в случае их эффектов у неонатально стрессированных (НС) овариоэктомированных самок [6, 7]. Анализируя результаты исследования и данные, полученные ранее можно говорить о том, что антидепрессивный эффект изолированного введения 8-ОН-DPAT реализуется как у НС, так и у ПС овариоэктомированных самок крыс. Это позволяет говорить о выраженной модуляции активности 5-HT_{1A}-рецепторов в условиях дефицита эстрогенов, а также об универсальном положительном действии стимуляции 5-HT_{1A}-рецепторов на депрессивноподобное поведение, которое не зависит от наличия или отсутствия фактора пренатального стресса в анамнезе.

Эффекты комбинированного введения 8-ОН-DPAT 17 β -эстрадиола в низкой дозе у НС и ПС овариоэктомированных самок крыс, хотя и имеют однотипный положительный вектор действия на депрессивноподобное поведение животных, характеризуются существенными отличиями. Так, у овариоэктомированных ПС крыс, получавших 8-ОН-DPAT совместно с 17 β -эстрадиолом в низкой дозе, не отмечается потенцирование антидепрессивных эффектов обоих веществ, как это было установлено ранее у НС овариоэктомированных крыс [7]. Можно говорить о том, что антидепрессивный эффект у овариоэктомированных ПС крыс практически полностью реализуется за счет действия нейротропного агента, стимулирующего 5-HT_{1A}-рецепторы.

С другой стороны, эффекты m-CPP, введенного изолированно или в сочетании с 17 β -эстрадиолом в низкой дозе, на депрессивноподобное поведение при дефиците эстрогенов резко отличаются между собой у НС и ПС са-

Таблица 2. Влияние 8-ОН-DPAT и m-CPP на поведение в тесте “открытое поле” пренатально стрессированных овариоэктомированных самок крыс, получавших низкую дозу 17 β -эстрадиола (тест “открытое поле”)

Группа животных	Двигательная активность		Исследовательская активность	Эмоциональность	
	перемещение	вставание		груминг	дефекация
ПС интактные самки (контроль 1)	57,4 ± 3,8	12,7 ± 1,4	7,0 ± 0,8	3,0 ± 0,2	0
ПС овариоэктомированные самки (контроль 2)	63,6 ± 2,6	18,0 ± 2,2	7,6 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,1 ± 0,2
ПС овариоэктомированные самки + E ₂	60,1 ± 2,6	16,0 ± 2,0	7,0 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,0 ± 0,2
ПС овариоэктомированные самки + 8-ОН-DPAT	58,8 ± 3,8	8,6 ± 1,2* **	2,9 ± 0,2* **	1,6 ± 0,2* **	1,9 ± 0,2**
ПС овариоэктомированные самки + 8-ОН-DPAT+E ₂	52,3 ± 3,6	9,2 ± 0,6* ** #	2,8 ± 0,2* ** #	1,3 ± 0,2* ** #	1,9 ± 0,2** #
ПС овариоэктомированные самки + m-CPP	18,1 ± 2,6* **	2,8 ± 0,6* **	2,6 ± 0,2* **	1,4 ± 0,2* **	1,4 ± 0,2
ПС овариоэктомированные самки + m-CPP+E ₂	14,7 ± 1,2* ** #	3,4 ± 0,6* ** #	2,0 ± 0,2* ** #	1,2 ± 0,2* ** #	1,2 ± 0,2

мок крыс. Как было показано ранее, в условиях отсутствия стрессорного фактора во время беременности хроническое введение m-CPP не оказывает какого-либо влияния на депрессивноподобное поведение овариэктомизированных крыс [6, 7], тогда как, при наличии фактора пренатального стресса реализуется выраженный антидепрессивный эффект m-CPP у овариэктомизированных самок в тесте Порсолта. Интересно, что при комбинированном введении m-CPP с 17 β -эстрадиолом овариэктомизированным ПС крысам отмечается существенный продепрессивный эффект. На основании этих данных, можно сделать заключение о том, что m-CPP и 17 β -эстрадиол находятся в конкурентных взаимоотношениях за рецепторные сайты связывания в головном мозге, участвующие в механизмах аффективных расстройств. По-видимому, гормональный препарат за счет ряда молекулярно-биохимических реакций препятствует активации 5-HT_{2B/2C}-рецепторов при введении m-CPP овариэктомизированным ПС крысам.

Анализ результатов исследования позволяет говорить о том, что действие агонистов 5-HT_{1A}- и 5-HT_{2B/2C}-рецепторов у НС и ПС овариэктомизированных самок крыс различно, особенно в условиях сочетанного введения серотонинотропных веществ с низкой дозой 17 β -эстрадиола. Результаты настоящей работы также свидетельствуют о том, что комбинация агониста 5-HT_{2B/2C}-рецепторов с 17 β -эстрадиолом в низкой дозе не приводит к позитивному эффекту на депрессивноподобное поведение, как это имеет место быть у НС овариэктомизированных крыс. Можно предположить, что данные клинических исследований, в которых сообщается о негативных эффектах применяемой антидепрессантной терапии у женщин с гипострогенным синдромом [6], могут быть объяснены и связаны с наличием у таких пациентов в анамнезе фактора пренатального стресса. Однако для однозначного утверждения данных предположений требуется проведение дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ

1. Введение 8-OH-DPAT (0,05 мг/кг подкожно, 14 сут) или его комбинация с 17 β -эстрадиолом в низкой дозе (0,5 мкг на крысу, подкожно) снижает степень депрессивности у пренатально стрессированных овариэктомизиро-

ванных самок по показателю времени неподвижности в тесте Порсолта на 27,8 и 33,8 % соответственно, $p < 0,05$.

2. Введение m-CPP (0,5 мг/кг, внутривентриально, 14 сут) оказывает выраженный антидепрессивный эффект у пренатально стрессированных овариэктомизированных самок крыс по показателю времени неподвижности в тесте Порсолта на 70 %, $p < 0,05$.

3. Введение m-CPP (0,5 мг/кг, внутривентриально, 14 сут) в сочетании с 17 β -эстрадиолом в низкой дозе (0,5 мкг на крысу, подкожно) усугубляет выраженность депрессии у пренатально стрессированных овариэктомизированных самок крыс по показателю времени неподвижности в тесте Порсолта на 121 %, $p < 0,05$.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-04-01765.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Н. Бабичев, *Усп. физиол. наук.*, **36**(1), 54 – 67 (2005).
2. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991).
3. Я. Д. Киршенблат, *Практикум по эндокринологии*, Высшая школа, Москва (1969).
4. Н. Э. Ордян, С. Г. Пивина, *Рос. физиол. журн.*, **89**(1), 52 – 59 (2003).
5. А. Г. Резников, В. П. Пишак, Н. Д. Носенко и др., *Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология*, Медакадемия, Черновцы (2004).
6. Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, *Гормоны гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы и мозг*, Формиздат, Санкт-Петербург (2009).
7. Ю. О. Федотова, *Психофармакол. биол. наркол.*, **8**(1 – 2-1), 2380 – 2385 (2008).
8. Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов, *Усп. физиол. наук.*, **38**(2), 46 – 62 (2007).
9. A. R. Aitken, I. Tork, *J. Comp. Neurol.*, **274**(1), 32 – 47 (1988).
10. A. Markou, T. Duka, G. M. Prelevic, *Hormones*, **4**(1), 1 – 9 (2005).
11. K. Miyagawa, M. Tsuji, K. Fujimori, et al., *Neurosci. res.*, **70**(1), 111 – 117 (2011).
12. N. E. Ordyan, S. G. Pivina, *Neurosci. behav. physiol.*, **34**(6), 569 – 574 (2004).
13. R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre, *Eur. J. Pharmacol.*, **51**(3), 291 – 294 (1978).

Поступила 18.09.13

EFFECTS OF 8-OH-DPAT AND m-CPP ON DEPRESSION-LIKE BEHAVIOR IN PRENATALLY STRESSED OVARIECTOMIZED RATS TREATED WITH LOW DOSE OF 17 β -ESTRADIOL

Yu. O. Fedotova, S. G. Pivina, V. K. Kulova, and N. E. Ordyan

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

The present work was aimed at a comparative estimation of the effect of stimulation of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2B/2C} receptors on depression-like behavior in adult ovariectomized (estrogen-deficient) female offspring from prenatally stressed (PS) mothers. PS ovariectomized female rats were treated for 14 days of with the vehicle, a low dose of 17 β -estradiol (5.0 μ g/rat, s.c.), 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT (0.05 mg/kg), 5-HT_{2B/2C} receptor agonist m-CPP (0.5 mg/kg), 8-OH-DPAT plus 17 β -estradiol, or m-CPP plus 17 β -estradiol. Then, the behavior of PS ovariectomized female rats was studied in the forced swimming (Porsolt) test and the open-field test. It was established that 8-OH-DPAT administered alone or in a combination with a low dose of 17 β -estradiol produced an antidepressant-like effect in the forced swimming test as compared to the untreated control PS ovariectomized offspring. Application of these drugs in PS ovariectomized offspring led to decreased frequency of rearing, exploratory behavior, and grooming in the open field test. The m-CPP treatment also resulted in an antidepressant-like effect in PS ovariectomized offspring in the forced swimming test. However, co-administration of m-CPP with a low dose of 17 β -estradiol to PS ovariectomized offspring increased the level of depression, thus producing pro-depressant effect in the forced swimming test.

Key words: 8-OH-DPAT; m-CPP; 17 β -estradiol; depression; ovariectomy; prenatal stress; female rats