

## ФЛУМАЗЕНИЛ ВОССТАНАВЛИВАЕТ АМНЕЗИРОВАННЫЙ СЛЕД ПАМЯТИ У МЫШЕЙ С ДЕПРЕССИВНОПОДОБНЫМ СОСТОЯНИЕМ

Н. И. Дубровина, Д. В. Зиновьева<sup>1</sup>

На мышах линии C57BL/6J с субмиссивным стереотипом, с реакцией “поведенческого отчаяния” и мышах линии ASC/Icg с высокой предрасположенностью к каталепсии (модели депрессивноподобного состояния) исследовано влияние антагониста бензодиазепиновых рецепторов флумазенила на восстановление условной реакции пассивного избегания, выработанной при амнестическом воздействии от задержки животного в темном отсеке. Установлено, что флумазенил (10 мг/кг) реактивировал воспроизведение амнезирванного следа памяти у мышей с субмиссивным стереотипом и реакцией “поведенческого отчаяния” и не был эффективен у мышей ASC.

**Ключевые слова:** условная реакция пассивного избегания, амнезия от задержки, депрессивноподобное состояние, флумазенил

### ВВЕДЕНИЕ

Флумазенил — антагонист бензодиазепиновых (БД) рецепторов, в клинической практике используется преимущественно для уменьшения эффектов передозировки анксиолитиков БД ряда [9]. В экспериментальных исследованиях данные о влиянии флумазенила на поведение противоречивы [5 – 7], отмечалась зависимость проявлений его специфических влияний от функционального состояния особей [11]. Например, на модели депрессивноподобного состояния мышей флумазенил существенно сокращал длительность замирания в тесте tail suspension [8].

Активация БД рецепторов вызывала амнезию, интерферируя с обучением и формированием следа памяти. Введение флумазенила предотвращало как нежелательное действие бензодиазепинов, так и развитие амнезии [10, 12]. Вместе с тем нет исследований реактивирующего влияния флумазенила на амнезию животных с депрессивноподобным состоянием.

Цель настоящей работы — оценка возможности восстановления амнезирванного следа памяти мышей на экспериментальных моделях депрессивноподобных состояний.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 28 мышах самцах массой 20 – 25 г. Животных содержали в условиях свободного доступа к стандартному корму и воде. Опыты проводили с соблюдением принципов гуманности в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755) и одобренных комитетом по биомедицинской этике ГУ НИИ физиологии СО РАМН.

Использовали три модели депрессивноподобного состояния: (а) сформированный в парадигме сенсор-

ного контакта субмиссивный (подчиненный) стереотип поведения на мышах линии C57BL/6J; закрепление опыта поражений осуществлялось при ежедневных агонистических столкновениях по 10 мин в течение 20 дней; (б) реакция “поведенческого отчаяния” (мыши линии C57BL/6J) являлась результатом принудительного плавания в водном бассейне (3 дня по 3 мин, температура воды 20 – 22 °С); (в) генетическая модель депрессии на мышах линии ASC/Icg (ASC), селекционированной в Институте цитологии и генетики на высокую предрасположенность к реакции замирания [1, 3].

Влияние на память исследовали в тесте однократного обучения условной реакции пассивного избегания (УРПИ) в камере с темным и освещенным отсеками. Мышь высаживали в светлый отсек, при переходе в темный она получала удар током силой 0,5 мА и длительностью 2 с через электродный пол. Амнестическое воздействие заключалось в принудительной задержке животного на 5 мин в темном отсеке установки в день обучения непосредственно после электрокожного раздражения. Воспроизведение УРПИ проверяли последующим тестированием без наказания в течение 13 дней с эпохой наблюдения 180 с. Регистрировали латентный период (ЛП) перехода в темный отсек.

Флумазенил (“Sigma”, США) растворяли в дистиллированной воде с добавлением 1 – 2 капель твин-80 и вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг за 30 мин до тестирования на 8-е сутки.

Результаты обработаны статистически с помощью двухфакторного (1-й фактор — группа, 2-й фактор — дни тестирования) дисперсионного анализа (ANOVA/MANOVA, Statistica, 5) с последующими множественными сравнениями с применением критерия LSD.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлена динамика изменений ЛП перехода в процессе длительного тестирования вос-

<sup>1</sup> ГУ НИИ физиологии СО РАМН, Новосибирск, 630117, ул. Тимакова, 4.

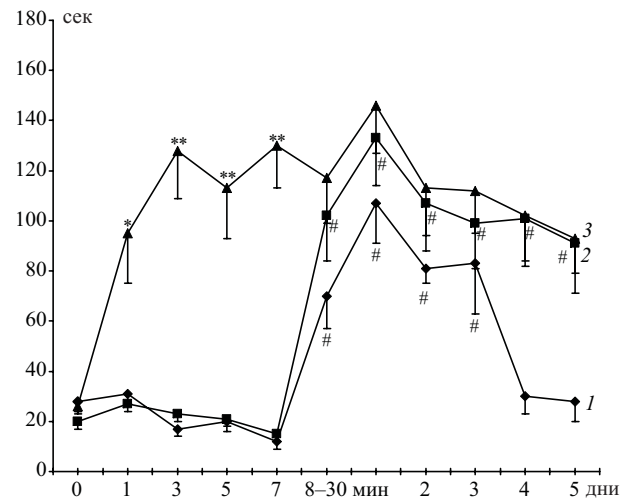
произведения УРПИ после однократного обучения с амнестическим воздействием у мышей с депрессивно-подобным состоянием. Анализ этих данных показал значимость факторов группы ( $F_{2,25} = 19,97$ ;  $p < 0,0001$ ), времени ( $F_{10,250} = 14,63$ ;  $p < 0,0001$ ) и их взаимодействия ( $F_{20,250} = 3,81$ ;  $p < 0,0001$ ). Отчетливо видны различия в развитии амнезии у мышей на разных моделях депрессивноподобного состояния. Задержка в темном “опасном” отсеке установки в день обучения сопровождалась блокадой воспроизведения УРПИ у мышей с субмиссивным стереотипом и реакцией “поведенческого отчаяния”. О полной амнезии этих мышей свидетельствовало отсутствие достоверной разницы в ЛП перехода между днем обучения (0 день) и тестирования на 1 – 8-е сутки ( $p > 0,05$ ). У мышей ASC выявлена устойчивость к действию амнестического фактора, сохранившаяся весь период тестирования с 1 по 13-е сутки. Множественные межгрупповые сравнения ЛП перехода по дням тестирования показали значимое превышение этого показателя ( $p < 0,01$  и  $p < 0,0001$ ) у мышей ASC по сравнению с мышами 1 и 2 групп.

Поскольку одним из механизмов развития амнезии при задержке в “опасном” отсеке рассматривается форсированное угасание реакции страха [4], можно предположить, что у мышей ASC такого угасания не произошло и обусловлено это гиперчувствительностью этих особей к неприятным стимулам. Подтверждением служат выявленные высокие показатели амплитуды акустической реакции вздрагивания [1].

Флумазенил, введенный на 8-е сутки после выработки УРПИ с амнестическим воздействием, статистически значимо ( $p < 0,01$ ) повышал ЛП перехода мышей с субмиссивным стереотипом и реакцией “поведенческого отчаяния”, оставляя без изменений уровень воспроизведения мышей ASC (рисунок). Корректирующий эффект восстановления амнезированного следа памяти флумазенилом у мышей с реакцией “поведенческого отчаяния” сохранялся 5 дней, а у субмиссивных — 3 дня.

В основе различной степени сохранения протекторного действия флумазенила могут лежать индивидуальные особенности эмоционального реагирования на аверсивную обстановку экспериментальной камеры после фармакологического “напоминания” у мышей на этих моделях депрессивноподобного состояния. Не исключено, что стабильность восстановления флумазенилом сформированных при выработке УРПИ ассоциативных связей обстановочных стимулов с “опасностью” темного отсека у мышей с реакцией “поведенческого отчаяния” обусловлена повышенной тревожностью при оценке значимости контекстуальных стимулов. Подтверждением такому предположению служат ранее полученные данные о задержке угашения памяти о страхе [2].

Неэффективность флумазенила у мышей ASC связана, скорее всего, с выявленной у них устойчивостью



Влияние флумазенила на воспроизведение УРПИ мышами с депрессивноподобным состоянием через 7 дней после обучения с амнестическим воздействием.

1 — субмиссивные мыши, 2 — мыши с реакцией “поведенческого отчаяния”, 3 — мыши линии ASC/Icg. По оси ординат — латентный период перехода, с; по оси абсцисс — время тестирования, дни. \* и \*\* — отличия достоверны относительно 1 и 2 групп при:  $p < 0,01$  и  $p < 0,0001$  соответственно, # — относительно 7-х суток тестирования при  $p < 0,01$ .

к действию амнестического фактора задержки и особенностью проявлений специфических влияний флумазенила от ситуаций и исходного функционального состояния особей [8, 11, 12].

## ВЫВОДЫ

1. У мышей с субмиссивным стереотипом и реакцией “поведенческого отчаяния”, в отличие от мышей ASC, задержка в темном отсеке сразу после болевого наказания в день обучения блокирует воспроизведение условной реакции пассивного избегания.

2. Антагонист бензодиазепиновых рецепторов флумазенил (10 мг/кг) восстанавливает воспроизведение амнезированного следа памяти у мышей с субмиссивным стереотипом и реакцией “поведенческого отчаяния”; не эффективен у мышей ASC.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Д. В. Базовкина, А. В. Куликов, Е. М. Кондаурова, Н. К. Попова, *Генетика*, **41**(9), 1222 – 1228 (2005).
2. Н. И. Дубровина, Р. А. Томиленко, *Рос. физиол. ж.*, **92**(9), 1092 – 1099 (2006).
3. Н. И. Дубровина, Д. Р. Зиновьев, Д. В. Зиновьева, А. В. Куликов, *Рос. физиол. ж.*, **94**(6), 609 – 616 (2008).
4. Н. И. Дубровина, Л. В. Лоскутова, *Дофаминергические механизмы памяти и внимания*, Изд-во СО РАМН, Новосибирск (2003).
5. Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **58**(3), 7 – 9 (2006).
6. C. Belzung, *Behav. Pharmacol.*, **12**(6 – 7), 451 – 460 (2001).
7. D. J. Knapp, D. H. Overstreet, R. A. Angel, et al., *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **31**(11), 1872 – 1882 (2007).
8. S. Miyata, S. Hirano, and J. Kamei, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **82**(4), 615 – 620 (2005).

9. K. T. Olkkola and J. Ahonen, *Handb. Exp. Pharmacol.*, **182**, 335 – 360 (2008).
10. M. M. Savic, D. I. Obradovic, N. D. Ugresic, et al., *Behav. Brain Res.*, **158**(2), 293 – 300 (2005).
11. L. Uhlířová, M. Sustková-Fiserová, and M. Krsiak, *Psychopharmacology (Berl.)*, **171**(3), 259 – 269 (2004).
12. P. Venault, D. Beracochea, M. Valteau, et al., *Behav. Brain Res.*, **173**(2), 282 – 287 (2006).

Поступила 16.02.09

## FLUMAZENIL RESTORES AMNESIC TRACE OF MEMORY IN MICE WITH DEPRESSION-LIKE STATE

N. I. Dubrovina\* and D. V. Zinov'eva

Institute of Physiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Timakova 4, Novosibirsk, 630117, Russia

\*e-mail: dubrov@physiol.ru

Experiments on C57BL/6J mice of submissive stereotype and behavioral despair response and ASC/Icg mice with high predisposition to catalepsy, which served as depression-like state models, were used to study the influence of benzodiazepine receptor antagonist flumazenil on the restoration of a passive avoidance reaction learned under conditions of the amnesic effect of animal detention in a dark compartment. It is established, that flumazenil (10 mg/kg) reactivated retrieval of the amnesic memory trace in mice of submissive stereotype with the behavioral despair response, while being ineffective in ASC mice.

**Key words:** Passive avoidance reaction, detention amnesia, depression-like state, flumazenil.