

Ю.О. Федотова, Н.Е. Ордян, Г.О. Фролова, В.І. Соболев

Залучення деяких підтипів 5-HT₂-рецепторів до афективної поведінки самиць щурів

Робота присвячена порівняльному аналізу ролі 5-HT₂-серотонінових рецепторів у механізмах тривожно-депресивноподібної поведінки в умовах природної циклічної зміни вмісту статевих гормонів в організмі дорослих самиць щурів. Досліджували вплив хронічного введення (14 діб) агоніста підтипу серотонінових рецепторів 5-HT_{2B/2C} – m-CPP (0,5 мг/кг, внутрішньоочеревинно) і антагоніста 5-HT_{2A/2C}-підтипу – кетансерину (0,1 мг/кг, внутрішньоочеревинно) самицям у різні фази статевого циклу на емоційні форми їх поведінки. Встановлено, що хронічне введення кетансерину має антидепресивний і анксіолітичний ефекти у фазах еструсу і проеструсу. Введення m-CPP також призводило до антидепресивного ефекту в цих фазах. При цьому була виявлена чітка модуляція тривожної поведінки залежно від фази статевого циклу. Отримані результати вказують на тісну взаємодію оваріальної, гормональної та серотонінергічної системи мозку в механізмах тривожної поведінки і депресії.

Ключові слова: m-CPP, кетансерин, тривожність, депресія, статевий цикл, щури-самиці.

ВСТУП

Серотонін бере участь практично у всіх життєво важливих функціях організму і має найважливіше значення у регуляції багатьох форм поведінки [3, 11]. До теперішнього часу виявлено більше ніж 15 типів і підтипів його рецепторів [6]. Найбільш вивченими є 5-HT₁-і 5-HT₂-серотонінові рецептори [7, 9, 11, 12, 15].

Відповідно до сучасних уявлень, в основі патофізіологічних механізмів афективних розладів провідна роль належить зниженню рівня норадренергічної і серотонінергічної нейротрансмісії в головному мозку, що виражається в низькій концентрації норадреналіну і серотоніну в синаптичній щілині, в зниженні чутливості, зв'язуючої здатності і кількості β-адренорецепторів 5-HT₁- і 5-HT₂-серотонінових рецепторів [16].

З іншого боку, добре відомо, що естрогени мають контролюючий вплив на серотонінергічну систему мозку, а також залучаються до механізмів розвитку біполярних розладів,

тривожності і депресії [4, 21–23]. Показано, що в клімактеричний період, після вагітності, при гіпоестрогенії і в певні періоди менструального циклу у жінок спостерігається підвищена частота виникнення випадків депресії і біполярних розладів [8, 10, 15]. Деякі спостереження вказують на те, що нормально функціонуючий менструальний цикл може впливати або змінювати вираженість симптомів первинних психічних розладів. Відзначається залежне від фази циклу загострення симптомів у психічних хворих (з манією або шизофренією). У них симптоматика підвищується за інтенсивністю перед менструацією і слабшає після неї, зокрема погіршення симптомів депресії у жінок з хронічними депресивними захворюваннями [12, 17]. Враховуючи настільки тісну взаємодію оваріальної гормональної та серотонінергічної нейромедіаторної систем важливо оцінити роль серотонінових рецепторів 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} і 5-HT_{2C} в афективній поведінці самиць щурів в умовах природного коливання вмісту естрогенів у ключові фази статевого циклу.

© Ю.О. Федотова, Н.Е. Ордян, Г.О. Фролова, В.І. Соболев

Метою нашої роботи було вивчення впливу хронічного введення агоніста 5-HT_{2B/2C}-рецепторів – m-CPP і антагоніста 5-HT_{2A/2C}-рецепторів – кетансерину, введених протягом 14 діб, на тривожну і депресивноподібну поведінку самиць щурів протягом статевого циклу.

МЕТОДИКА

Експеримент було виконано на 270 білих безпородних статевозрілих (4–5 міс) щурасамицях масою 190–220 г, які були одержані з розплідника “Раполово”. Всі тварини були приручені до рук експериментатора до початку експериментів. Дослідження проводили в ранкові години (10.00–13.00).

Хімічні препарати були отримані з компанії “Sigma” (Німеччина). Як m-CPP (0,5 мг/кг) та кетансерин (0,1 мг/кг) вводили внутрішньоочеревинно. Хімічні препарати розчиняли у дистильованій воді з додаванням диметилсульфоксиду і вводили в об’ємі 0,1 мл на щура масою 200 г. Введення всіх хімічних препаратів здійснювалося протягом 14 діб до початку поведінкових тестів.

Для визначення фази статевого циклу протягом 8 послідовних діб до початку експерименту у щурів брали вагінальні мазки. Визначення фаз статевого циклу (дієструс, проєструс, еструс) у щурів проводили з використанням характерних морфологічних ознак за мазками.

Для виконання кожної поведінкової методики щурів розділяли окремо на наступні групи по 8-10 особин у кожній: групи 1, 2 та 3 – самиці у фазі дієструсу, еструсу та проєструсу відповідно отримували фізіологічний розчин (контроль); групи 4, 5 та 6 – самиці у фазі дієструсу, еструсу та проєструсу відповідно отримували ін’єкції m-CPP; групи 7, 8 та 9 – самиці у фазі дієструсу, еструсу та проєструсу відповідно отримували ін’єкції кетансерину.

Моделювання депресії у щурів здійснювали в тесті Порсолта [18]. Протягом 15 хв

тварин індивідуально поміщали в пластикові циліндри (висота 35 см, діаметр 24 см), заповнені водою на рівні 10–13 см і постійною температурою 23–25⁰С. У такому разі тварини не могли уникнути замкнутого простору з водою і ставали нерухомими, зберігаючи лише невеликі рухи на поверхні води. У гризунів розвивається депресивний стан, схожий з депресією у людини. Через 24 год тварин знову поміщали в заповнені водою циліндри і визначали час нерухомості протягом 5 хв.

Рівень тривожності у тварин досліджували з використанням загальноприйнятого тесту піднесеного “хрестоподібного” лабіринту (ПХЛ) [2]. Останній складався з двох відкритих і двох закритих рукавів, розташованих хрестоподібно і піднятих над підлогою на 50 см. Ширина рукавів становила 10 см при довжині 45 см, висота стінок у закритих рукавах – 45 см. Зверху всі рукава були відкриті. У місці перпендикулярного їх перетину розташовано майданчик розміром 10×10 см, на який саджали щура. Поведінку тварин реєстрували впродовж 5 хв і оцінювали наступні параметри: час перебування та число заходів у відкриті і закриті рукави.

Всі дослідження проводили згідно з етичними принципами, викладеним в Європейській конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали з використанням двофакторного дисперсійного аналізу ANOVA за допомогою пакета програм SPSS 9.0. Відмінності між значеннями при $P < 0,05$ вважали статистично значущими.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У таблиці представлено результати двофакторного дисперсійного аналізу, який виявив достовірні ефекти препарату і гормонального фактора (фаза статевого циклу), а також взаємодії цих факторів на тривожну поведінку у самиць щурів. Достовірні відмінності між

контрольними та експериментальними групами спостерігалися при аналізі результатів тесту ПХЛ.

Слід відмітити, що в контрольній групі самиць як у фазу еструсу, так і проеструсу рівень тривожності підвищувався в порівнянні з фазою дієструсу ($P < 0,05$). Стимуляція 5-HT_{2B/2C}-підтипу серотонінових рецепторів (введення m-CPP) залежно від вмісту ендogenous естрогенів в організмі модулювала тривожність самиць (див. таблицю). У фазу еструсу на фоні введення m-CPP реєстрували анксиолітичний ефект, а фазу проеструсу – анксиогенний. Водночас блокування 5-HT_{2A/2C}-серотонінових рецепторів (введення кетансерину) спричинювало односпрямовану анксиолітичну дію в умовах як низького, так і високого вмісту ендogenous естрогенів.

Двофакторний дисперсійний аналіз результатів дав змогу встановити достовірні ефекти препарату і гормонального фактора (фаза статевого циклу), а також взаємодії цих факторів у самиць щурів. Статистичний аналіз показав достовірні відмінності між контрольними та дослідними групами.

У фазу еструсу та проеструсу рівень депресивності у контрольних самиць був підвищений в порівнянні з фазою дієструсу ($P < 0,05$; рисунок). Подібним чином введення m-CPP або кетансерину надавало антидепре-

сивного ефекту як у фазу проеструсу, так і в фазу еструсу у самиць. Слід відмітити, що в ключові фази статевого циклу у тварин спостерігається підвищена тривожність і депресивність у порівнянні з фазою спокою (дієструс). Отримані результати узгоджуються з цілою низкою даних літератури про характер тривожно-депресивноподібної поведінки у самиць у різних тестах протягом оваріального циклу [1, 10, 12]. Тим не менш, деякі дослідники не побачили зв'язку між фазами статевого циклу і афективним статусом або були виявлені протилежні зміни в порівнянні з результатами цього дослідження [10]. Розбіжність даних може частково пояснюватися відмінностями у визначенні фаз статевого циклу і типом використовуваних емоційних тестів.

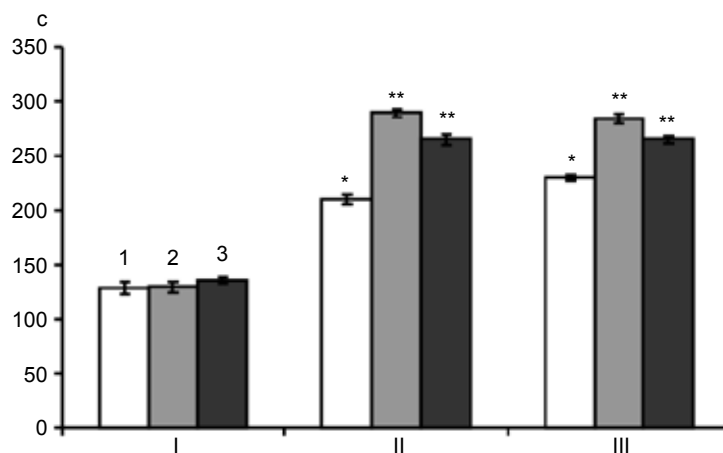
Аналіз отриманих результатів виявив, що стимуляція 5-HT_{2B/2C}-підтипів або блокування 5-HT_{2A/2C}-підтипів серотонінових рецепторів в умовах низького або високого вмісту ендogenous естрогенів різноспрямовано впливає на прояви тривожної поведінки і односпрямовано на депресивноподібну поведінку в ключові фази статевого циклу.

І кетансерин, і m-CPP викликали антидепресивний ефект незалежно від вмісту ендogenous естрогенів в організмі самиць щурів. З іншого боку, на фоні введення m-CPP була

Вплив m-CPP і кетансерину на тривожну поведінку самиць щурів ($M \pm m$, $n = 10$)

Схема досліджу, фаза циклу	Час у "відкритих рукавах", с	Час у "зачинених рукавах", с	Кількість заходів у "відкриті рукави"	Кількість заходів у "зачинені рукави"
Контроль				
Дієструс	86,4 ± 6,2	213,6 ± 2,4	1,8 ± 0,2	2,1 ± 0,4
Проеструс	36,4 ± 3,4*	263,6 ± 8,6*	0,4 ± 0,1*	4,5 ± 0,2*
Еструс	42,6 ± 4,2*	257,4 ± 2,2*	0,3 ± 0,1*	4,0 ± 0,6*
Введення m-CPP				
Дієструс	85,9 ± 2,8	214,1 ± 4,2	1,2 ± 0,2	2,2 ± 0,2
Проеструс	13,8 ± 0,8**	286,2 ± 5,6	0,1 ± 0,02**	3,9 ± 0,8
Еструс	86,8 ± 5,2**	213,2 ± 7,2**	3,6 ± 0,2**	1,6 ± 0,4**
Введення кетансерину				
Дієструс	83,5 ± 4,2	216,5 ± 2,4	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,6
Проеструс	84,0 ± 4,8**	216,0 ± 5,6**	2,8 ± 0,2**	0,6 ± 0,2**
Еструс	92,0 ± 6,2**	208,3 ± 4,6**	2,6 ± 0,2**	0,5 ± 0,2**

* $P < 0,05$ – достовірна відмінність від самиць у фазі дієструса; ** $P < 0,05$ – достовірна відмінність від контрольних самиць у відповідних фазах статевого циклу.



Вплив m-CPP і кетансерину на депресивноподібну поведінку у самиць шурів в різні фази статевого циклу: I – дієструс, II – проєструс, III – єструс; 1 – контроль, 2 – m-CPP, 3 – кетансерин. * $P < 0,05$ – достовірна відмінність від самиць у фазі дієструса; ** $P < 0,05$ – достовірна відмінність від контрольних самиць у відповідних фазах статевого циклу

виявлена чітка модуляція тривожної поведінки залежно від фази статевого циклу: в фазу проєструсу при високому вмісті ендогенних естрогенів проявляється анксиогенний ефект, тоді як в фазу єструсу при низькому вмісті ендогенних естрогенів – анксиолітичний ефект. Водночас в умовах введення кетансерину його позитивний ефект відзначався і на тривожній поведінці незалежно від фази статевого циклу. Це свідчить про неоднакову міру залученості різних підтипів серотонінових рецепторів у механізми тривожно-депресивної поведінки при змінах гормонального фону протягом статевого циклу.

Слід зазначити, що ефекти m-CPP на тривожну поведінку самиць протягом статевого циклу строго детерміновані фазою циклу, тоді як його антидепресивний ефект проявляється незалежно від вмісту ендогенних естрогенів в організмі. Можна говорити про те, що m-CPP в цілому позитивно впливає на вираженість тривожно-депресивноподібної поведінки у самиць, за винятком його анксиогенного ефекту при високому вмісті ендогенних естрогенів в організмі. З іншого боку, позитивні ефекти кетансерину на депресивноподібну і тривожну поведінку проявляються незалежно від гормонального статусу самиць протягом статевого циклу, що вказує на відсутність детермінованості цих ефектів від фази циклу.

Дані літератури свідчать про те, що одноразове введення самицям кетансерину (3,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно) за 30 хв до тестування проявляло анксиолітичний ефект у фазу дієструсу, але анксиогенний – у фазу проєструсу і єструсу, при цьому препарат впливав на тривожну поведінку самців [13]. Варто відмітити, що дослідження, присвячені аналізу залежності між стимуляцією або блокуванням серотонінових рецепторів, і характером емоційного статусу протягом статевого циклу у самиць досить нечисленні, і в більшості випадків виконані на самцях. Часткове незбігання цих даних з нашими результатами, може пояснюватися відмінностями в способах і дозах використовуваних речовин, статтю та видом лабораторних тварин.

Відомо, що підходи спрямованої фармако-терапії антидепресантами і транквілізаторами в умовах адекватного гормонального балансу спрямовані на відновлення медіаторної нейроредачі, збільшення обміну біогенних амінів, а також стимуляції функції 5-HT-рецепторів [16]. При дисбалансі естрогенів, для усунення афективного стану важливо створити умови збалансованості та координованості між функціональною активністю гормональної системи та активністю нейромедіаторних систем. Можна вважати, що виражені антидепресивний і анксиолітичний

ефекти кетансерину в ключові фази статевого циклу пов'язані не тільки з його впливом на гормональний фон, на 5-HT_{2A/2C}-рецептори, а також з адекватною нормалізацією обміну моноамінів у лімбічній системі.

Таким чином, результати цього дослідження свідчать про істотну роль 5-HT_{2A}-, 5-HT_{2B}- і 5-HT_{2C}-підтипів серотонінових рецепторів у афективній поведінці самиць у різні фази статевого циклу. Вони також вказують на необхідність подальшого вивчення ефектів серотонінергічних речовин як засобів для фармакокорекції порушень тривожно-депресивної поведінки протягом статевого циклу.

ВИСНОВКИ

1. 5-HT_{2B/2C}-підтипом серотонінових рецепторів властиві антидепресивний ефект стимуляції в ключові фази статевого циклу самиць щурів, анксиогенний – у фазу проеструсу і анксиолітичний – у фазу еструсу.

2. Ефекти блокування 5-HT_{2A/2C}-підтипів серотонінових рецепторів у ключові фази статевого циклу самиць щурів мають антидепресивний та анксиолітичний ефекти.

Ю.О. Федотова, Н.Е. Ордян, Г.О. Фролова, В.И. Соболев

ВОВЛЕЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОДТИПОВ 5-HT₂-РЕЦЕПТОРОВ В АФФЕКТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ У САМОК КРЫС

Работа посвящена сравнительному анализу роли 5-HT₂-серотонинных рецепторов в механизмах тревожно-депрессивноподобного поведения в условиях естественного циклического изменения содержания половых гормонов в организме взрослых самок крыс. Исследовали влияние хронического введения (14 сут) агониста серотонинных рецепторов 5-HT_{2B/2C}-подтипа – m-CPP (0,5 мг/кг, внутривентриально) и антагониста 5-HT_{2A/2C}-подтипа – кетансерина (0,1 мг/кг, внутривентриально) самкам в различные фазы полового цикла на эмоциональные формы их поведения. Установлено, что хроническое введение кетансерина оказывает антидепрессивный и анксиолитический эффекты у фаз эструса и проэструса. Введение m-CPP также приводило к антидепрессивному эффекту в этих фазах. Была выявлена четкая модуляция тревожного поведения в зависимости от

фазы полового цикла. Полученные результаты указывают на тесное взаимодействие овариальной, гормональной и серотонинергической систем мозга в механизмах тревожного поведения и депрессии.

Ключевые слова: m-CPP, кетансерин, тревожность, депрессия, половой цикл, крысы-самки.

Yu.O. Fedotova, N.E. Ordyan, G.O. Frolova, V.I. Sobolev

INVOLVEMENT OF SOME SUBTYPES OF 5-HT₂-RECEPTORS IN AFFECTIVE BEHAVIOR IN FEMALE RATS

The present work was devoted to the comparative analysis of influence of chronic administration of 5-HT_{2B/2C} receptors agonist – m-CPP (0,5 mg/kg, i.p.) and 5-HT_{2A/2C} receptors antagonist – ketanserin (0,1 mg/kg, i.p.) for 14 days on the anxiety and depressive-like behavior in adult female rats. It was established that chronic ketanserin administration rendered antidepressive and anxiolytic effects in females during estrous and proestrous. M-CPP administration also resulted in antidepressive effect in estrous and proestrous. Also, it was noted definite modulation of anxiety behavior in connection of ovary cycle phases in rats treated with m-CPP: at increased level of estrogens was anxiolytic effect while at reduced level of estrogen – anxiogenic effect. It is suggested the involvement of different subtypes of 5-HT receptors in the mechanisms of anxiety-depressive-like behavior at alterations of hormonal balance during ovary cycle. The data obtained indicate a close interaction between the ovary hormonal and serotonergic systems of the brain in the mechanisms of anxiety and depression. Key words: m-CPP, ketanserin, anxiety, depression, ovary cycle, female rats.

Laboratory of Neuroendocrinology of I.P.Pavlov Institute of Physiology, RAS, Snt-Petersburg, Russia,

Donetsk National University, Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Веселовська О.В., Шляхова А. В. Особливості формування підлеглого типу поведінки щурів при агоністичних зіткненнях // Фізіол. журн. – 2007. – 53, № 2. – С. 41–47.
2. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ. – В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: ИИА Ремедиум, 2000. – С. 126–130.
3. Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных болезней. – СПб: Изд-во ун-та СПб, 2004. – 200 с.
4. Карева Е.Н., Олейникова О.М., Панов В.О., Шимановский Н.Л., Скворцова В.И. Эстрогены и головной мозг // Вестник Рос. АМН. – 2012. – № 2. – С.48–59.

5. Киршенблат Я.Д. Практикум по эндокринологии. – М.: Высшая школа, 1969. – 255 с.
6. Мосолов С.Н. Современный этап развития психофармакотерапии // Невролог. психиатрия. – 2002. – 10. № 12–13. – С. 560–565.
7. Ордян Н.Э., Федотова Ю.О. Влияние агониста и антагониста 5-HT_{1A}-подтипа серотониновых рецепторов на обучение у самок крыс в течение полового цикла // Журн. высш. нервн. деятельности им. И.П. Павлова. – 2010. – № 4. – С.493–499.
8. Сапронов Н.С., Федотова Ю.О. Гормоны гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы и мозг. – СПб: Формиздат, 2009. – 592 с.
9. Федотова Ю.О. Эффекты агонистов 5-HT₁ и 5-HT₂-серотониновых рецепторов на тревожно-депрессивно-подобное поведение самок крыс // Эксперим. и клин. фармакология. – 2011. – № 3. – С.6–9.
10. Amin Z., Epperson C.N. Effect of Estrogen-serotonin interactions on mood and cognition // Behav. Cogn. Neurosci. Rev. – 2005. – 4. – P. 43–58.
11. Bethea C.L., Lu N.Z., Gundlan C., Streicher J.M. Diverse actions of ovarian steroids in the serotonin neural system // Front. Neuroendocrinol. – 2002. – 23. – P. 41–100.
12. Clayton A.H. Symptoms related to the menstrual cycle: diagnosis, prevalence, and treatment // J. Psychiatr. Pract. – 2008. – 14. – P. 13–21.
13. Diaz-Veliz G., Alarcon T., Espinoza C., Dussaubat N., Mora S. Ketanserin and anxiety levels: influence of gender, estrous cycle, ovariectomy and ovarian hormones in female rats // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1997. – 58. – P. 637–642.
14. Lasiuk G.C., Hegadoren K.M. The effects of estradiol on central serotonergic systems and its relationship to mood in women // Biol. Res. Nurs. – 2007. – 9. – P. 147–160.
15. Markou A., Duka T., Prelevic G.M. Estrogens and brain function // Estrogens and brain function. Hormones. – 2005. – 4. – P. 9–17.
16. Olie J. P., Costa E Silva J., Macher J. P. Neuroplasticity: a new approach to the pathophysiology of depression. // London UK: Science Press, 2004. – 75 p.
17. Pigott T.A. Anxiety disorders in women // Psychiatry Clin. North Am. – 2003. – 26. – P. 621–672.
18. Porsolt R.D.G., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment // Eur. J. Pharmacol. – 1978. – 47. – P. 379–391.
19. Rapkin A.J., Winer S.A. The pharmacologic management of premenstrual dysphoric disorder // Expert. Opin. Pharmacol. – 2008. – 9. – P. 429–445.
20. Rubinow D.R., Schmidt P.J. Menstrual cycle-related and perimenopause-related affective disorders // Psychoneuroendocrinology The Scientific Basis of Clinical Practice Eds. / Wolkowitz O., Rothschild A. // Washington-London. – Amer. Psychiatric. Publ. Inc., 2003. – P. 245–280.
21. Rybaczyk L.A., Bashaw M.J., Pathak D.R., Moody S.M., Gilders R.M., Holzschu D.L. An overlooked connection: serotonergic mediation of estrogen-related physiology and pathology // BMC Womens Health. – 2005. – 5. – P. 5–12.
22. Sell S.L., Craft R.M., Seitz P.K., Stutz S.J., Cunningham K.A., Thomas M.L. Estradiol-setraline synergy in ovariectomized rats // Psychoneuroendocrinol. – 2008. – 33. – P. 1051–1060.
23. Touxefis D.J., Myers K.M., Davis M. The effect of gonadal hormones and gender on anxiety and emotional learning // Horm. Behav. – 2006. – 50. – P. 539–549.

*Лабораторія нейроендокринології Ін-ту фізіології ім.
І.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург;
Дон. нац. ун-т
E-mail: gljukkk@ukr.net*

*Матеріал надійшов
до редакції 12.03.2012*