

УДК: 612.82 + 615.256.4 + 615.214

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА И АНТАГОНИСТА D₂-ТИПА ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ОБУЧЕНИЕ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ АНДРОГЕНОВ У КРЫС

Ю. О. Федотова^{а,б}

а — Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Россия, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6, e-mail: julia.fedotova@mail.ru;

б — Университет ИТМО, Россия, 197101, Санкт-Петербург, Кронверский пр., 49.

Настоящая работа посвящена оценке степени вовлеченности D₂-типа рецепторов в условно-рефлекторное обучение у интактных, гонадэктомированных (ГЭ) и ГЭ самцов крыс, получавших тестостерона пропионат. Влияние хронического введения агониста D₂-типа дофаминовых рецепторов — квинпиrolа (0,1 мг/кг, внутривбрюшинно) и антагониста D₂-типа дофаминовых рецепторов — сульпирида (10,0 мг/кг, внутривбрюшинно), а также комбинации этих веществ с низкой дозой тестостерона пропионата (0,5 мг/кг, подкожно) в течение 14 дней на условно-рефлекторное обучение и поведение оценивалось в тестах условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и «открытое поле», соответственно. Параллельно проводили определение уровня тестостерона в сыворотке крови с помощью тест-наборов *in vitro* методом иммуноферментного анализа. Установлено, что квинпиrol в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата полностью восстанавливает воспроизведение УРПИ у ГЭ крыс. При этом на фоне введения квинпиrolа в сочетании с тестостерона пропионатом у ГЭ самцов наблюдалось увеличение исследовательской активности и представленности груминга в тесте «открытое поле». Напротив, сульпирид, введенный изолированно или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата, еще в большей степени нарушал воспроизведение УРПИ у ГЭ крыс. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что хроническое введение квинпиrolа (стимуляция D₂-типа дофаминовых рецепторов) существенно улучшает воспроизведение УРПИ при дефиците андрогенов у самцов крыс. Комбинированное введение квинпиrolа и тестостерона пропионата полностью корректировало пассивное обучение у ГЭ самцов крыс. Гормональный анализ показал, что в условиях введения квинпиrolа одного или в сочетании с тестостероном пропионатом происходила коррекция уровня тестостерона в сыворотке крови у опытных ГЭ крыс по сравнению с контролем. В то же время, хроническое введение сульпирида (блокада D₂-типа дофаминовых рецепторов) выражено нарушало способность ГЭ самцов к формированию рефлекса пассивного избегания, а при его сочетанном введении с тестостерона пропионатом наблюдается блокирование позитивного эффекта гормонального препарата на пассивное обучение.

Ключевые слова: квинпиrol, сульпирид, D₂-тип дофаминовых рецепторов, обучение, поведение, андрогены, гонадэктомия.

Введение

Половые стероиды (андрогены и эстрогены) играют нейромодулирующую роль в механизмах обучения и памяти [4, 7, 8]. Рецепторы к андрогенам характеризуются высокой плотностью в структурах головного мозга, таких как гиппокамп, миндалина, гипоталамус и неокортекс, непосредственно участвующих в механизмах условно-рефлекторных процессов, а также в контроле различных форм эмоционального поведения [6, 11, 13].

Не вызывает сомнения существование тесного взаимодействия и взаимного влияния друг на друга гипофизарно-гонадной гормональной и дофаминергической нейромедиаторной систем. Наряду с этим, дофаминергическая система головного мозга также играет одну из ведущих ролей в механизмах высшей нервной деятельности [1, 5, 6]. Показано, что D₂-тип дофаминовых рецепторов имеют сходную с андрогеновыми рецепторами локализацию в структурах головного мозга [11, 14]. С другой стороны, хорошо известно, что снижение оптимального уровня андрогенов в мужском организме приводит к возникновению значительных изменений в психоэмоциональном и когнитивном статусе [7, 8]. При этом доказано, что уровень андрогенов в организме оказывает существенное влияние на параметры кругооборота дофамина в гиппокампе, гипоталамусе и миндалине, а также на характер экспрессии генов D₂-типа дофаминовых рецепторов в этих же структурах головного мозга [9, 10]. Вместе с тем, данные об эффектах андрогенов на дофаминергическую нейротрансмиссию в центральной нервной системе во многом противоречивы. Исходя из вышеизложенного, особый интерес представляет изучение эффектов взаимодействия между гипофизарно-гонадной и дофаминергической нейромедиаторной системами в механизмах условно-рефлекторной деятельности в условиях измененного уровня андрогенов в организме.

Целью настоящей работы было изучение роли D₂-типа дофаминовых рецепторов в избегательном поведении самцов крыс при дефиците андрогенов.

Материалы и методы

Работа выполнена на 140 белых самцах крыс линии Вистар в возрасте 3–4 месяцев, массой 180–200 г, полученных из питомника «Рапполово». Всех животных содержали в виварии в условиях 24-часового фоторежима, контролируемой температуры ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) и влажности ($65 \pm 10\%$) воздуха при свободном доступе к воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). Все исследования проводили в первой половине дня (10:00 — 13:00) с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными. При осуществлении данной работы выполнены общие требования «Правил лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства Здравоохранения РФ № 708н от 23.08.2010 г. и Европейской конвенции Directive 2010/63/EU of 22 September 2010.

Все фармакологические препараты были получены из компании Сигма (США). В качестве агониста D₂-типа дофаминовых рецепторов использовали квинпирол (0,1 мг/кг, внутрибрюшинно), в качестве антагониста D₂-типа дофаминовых рецепторов — сульпирид (10,0 мг/кг, внутрибрюшинно). Дофаминергические вещества растворяли в физиологическом растворе и вводили в объеме 0,1 мл на крысу массой 200 г. Тестостерона пропионат растворяли в стерильном кунжутном масле и также вводили в объеме 0,1 мл на крысу массой 200 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. Контрольным крысам вводили эквивалентное количество растворителя. Введение фармакологических веществ осуществляли в течение 14 суток до начала поведенческих тестов.

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 — интактные самцы, получавшие квинпирол, 3-я группа — интактные самцы, получавшие сульпирид, 4-я группа — контрольные ГЭ самцы, получавшие физиологический раствор, 5-я группа — ГЭ самцы, получавшие тестостерона пропионат, 6-я группа — ГЭ самцы, получавшие квинпирол, 7-я группа — ГЭ самцы, получавшие сульпирид, 8-я группа — ГЭ самцы, получавшие

квинпирол в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата, 9-я группа — ГЭ самцы, получавшие сульпирид в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата.

Гонадэктомия (удаление семенников) у крыс проводили согласно общепринятой методике [3]. Через 2 недели после операции выполняли все поведенческие тесты. Тестируемые животные были приучены к рукам экспериментатора до начала экспериментов. До начала непосредственного выполнения всех поведенческих тестов, все группы контрольных и экспериментальных крыс (каждая группа животных пребывала в своей домашней клетке) находились в соответствующей экспериментальной комнате со свето- и шумоизоляцией с поведенческими установками в течение 45 минут для устранения влияния стрессогенного фактора. Сохранение следа памяти оценивали по условному рефлексу пассивного избегания (УРПИ) с использованием стандартной методики [2]. Поведение животных оценивали в тесте «открытое поле» в течение 3 минут [13]. «Открытое поле» представляло собой квадратную площадку размером 78 см x 78 см и боковыми стенками высотой 36 см. Пол площадки был разделен на 16 равных квадратов размером 19,5 см x 19,5 см. Площадка равномерно освещалась источником света мощностью 100 Вт. Контроль изменений в поведении животного осуществлялся автоматически с помощью программно-аппаратного комплекса «Биологическая установка «открытое поле» (Государственный Электро-технический университет им. Д. И. Ульянова, Санкт-Петербург). Регистрировали следующие параметры: двигательную горизонтальную активность («перемещение») и двигательную вертикальную активность («вставание»); исследовательскую активность (исследование крысой круглых сквозных отверстий, расположенных на полу); груминговые реакции (вычесывание, вылизывание, умывание и др.); эмоциональные реакции (дефекация и уринация).

После окончания выполнения поведенческих тестов методом декапитации крыс производили взятие крови на иммуноферментный анализ уровня тестостерона в организме контрольных и опытных групп животных. Для иммуноферментного анализа кровь всех животных забирали в сухие стерильные пробирки и центрифугировали при 3000 об/мин. Сыворотку отбирали для дальнейшего исследования на иммуноферментном анализаторе «Униплан» (Пикон, Россия) с помощью тест-набора для определения концентрации тестостерона *in vitro* фирмы DRG (Германия) с предварительной раститровкой и подбором соответствующей аликвоты с использованием проверочных тестов на удвоение и процента внутреннего открытия.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием дисперсионного анализа two-way ANOVA test с последующим Newman-Keuls post-hoc тестом с помощью пакета программ Statistica for Windows 9.0. Различия между значениями при $P < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты исследования

На модели УРПИ было установлено, что гонадэктомия вызывает нарушение процесса воспроизведения УРПИ через 24 часа после предварительного обучения по сравнению с группой контрольных самцов ($p < 0,05$, рис. 1). Хроническое введение низкой дозы тестостерона пропионата ГЭ самцам в некоторой степени улучшало процесс воспроизведения УРПИ по сравнению с контрольными ГЭ самцами ($p < 0,05$, рис. 1).

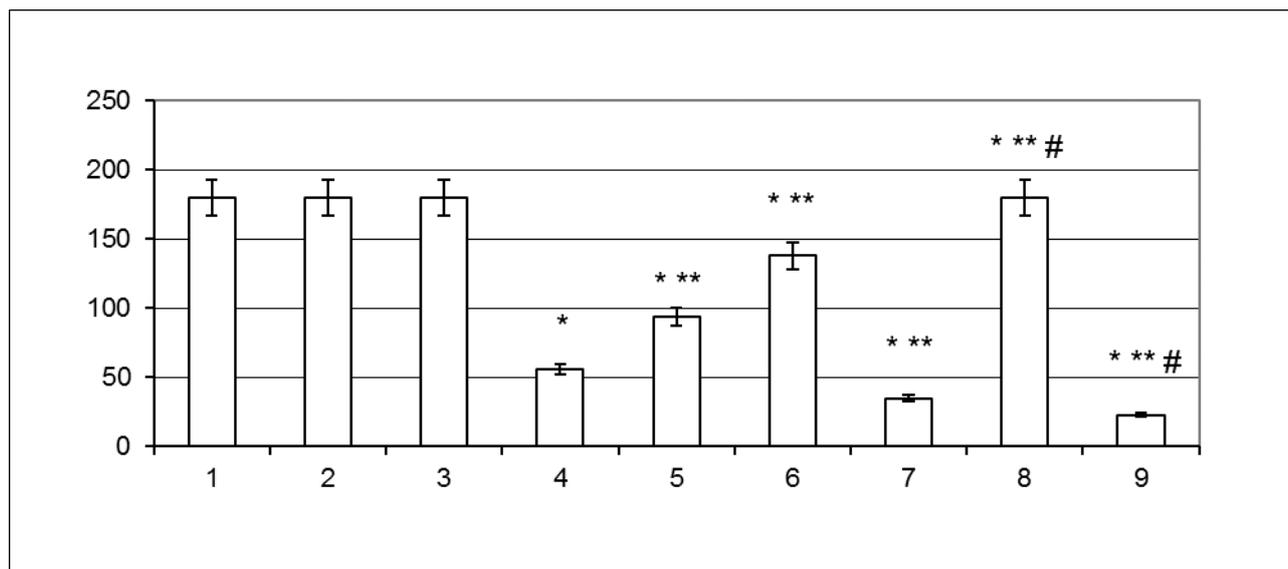


Рис.1. — Влияние квинпирила и сульпирида, введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата, на воспроизведение УРПИ гонадэктомированных самцов крыс. Ось X — группы животных, Ось Y — латентный период, сек. Группы животных: 1-я группа — контрольные интактные самцы, получавшие физиологический раствор (контроль), 2-я группа — интактные самцы, получавшие квинпирил, 3-я группа — интактные самцы, получавшие сульпирид, 4-я группа — контрольные ГЭ самцы, получавшие физиологический раствор, 5-я группа — ГЭ самцы, получавшие тестостерона пропионат, 6-я группа — ГЭ самцы, получавшие квинпирил, 7-я группа — ГЭ самцы, получавшие сульпирид, 8-я группа — ГЭ самцы, получавшие квинпирил в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата, 9-я группа — ГЭ самцы, получавшие сульпирид в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата. Примечание: * — $p < 0,05$, достоверное отличие от контрольных интактных самцов, ** — $p < 0,05$, достоверное отличие от ГЭ самцов, # — $p < 0,05$, достоверное отличие от ГЭ самцов, получавших низкую дозу тестостерона пропионата. Данные представлены в виде $M \pm m$, количество животных в группах — $N=10$.

Хроническое введение агониста и антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов — квинпирила или сульпирида не изменяло показатели воспроизведения УРПИ по сравнению с группой контрольных интактных самцов ($p > 0,05$, рис. 1). Хроническое введение квинпирила у ГЭ самцов значительно улучшало способность животных к воспроизведению УРПИ, что выражалось в достоверном увеличении латентного периода незахождения животного в темную камеру через 24 часа после обучения ($p < 0,05$, рис. 1). При этом на фоне применения квинпирила в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата проявлялось кумулятивное позитивное действие обоих веществ на процесс пассивного обучения, т.е. наблюдалось полное восстановление процесса воспроизведения УРПИ до показателей, регистрируемых в группе контрольных интактных самцов. С другой стороны на фоне введения сульпирида у ГЭ самцов происходило выраженное ухудшение процесса воспроизведения УРПИ по сравнению с ГЭ самцами, получавшими растворитель и контрольными крысами, что выражалось в достоверном снижении латентного периода незахождения животного в темную камеру через 24 часа после обучения ($p < 0,05$, рис. 1). Кроме того, необходимо отметить, что при введении сульпирида в сочетании с низкой дозой тестостерона пропионата происходило блокирование позитивного эффекта гормонального препарата на воспроизведение УРПИ у ГЭ самцов.

В тесте «открытое поле» было выявлено, что хроническое введение сульпирида интактным самцам достоверно снижало горизонтальную двигательную активность,

исследовательскую активность и представленность груминга, а также полностью угнетало эмоциональную реактивность по сравнению с контрольной группой крыс ($p < 0,05$, табл. 1).

Таблица 1

Влияние квинпиrolа и сульпирида, введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата, на поведение гонадэктомированных самцов крыс в тесте «открытое поле»

Группы животных	Двигательная активность		Исследовательская активность	1. Эмоциональность	
	Перемещение	Вставание		Груминг	Дефекация
Интактные самцы (контроль)	62,1 ± 3,6	10,8 ± 1,2	3,0 ± 0,6	2,2 ± 0,2	1,0 ± 0,2
Интактные самцы + квинпиrol	24,3 ± 1,8*	7,8 ± 1,2	2,0 ± 0,5	0,7 ± 0,2*	0
Интактные самцы + сульпирид	34,4 ± 1,2*	9,9 ± 1,4	1,2 ± 0,2*	0,6 ± 0,2*	0
ГЭ самцы	53,4 ± 2,4	12,2 ± 2,0	4,4 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,0 ± 0,2
ГЭ самцы + тестостерона пропионат	70,1 ± 5,6	11,9 ± 2,2	3,2 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2
ГЭ самцы + квинпиrol	55,9 ± 2,6	13,2 ± 1,4	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,2	1,0 ± 0,2
ГЭ самцы + сульпирид	76,8 ± 4,2**	12,6 ± 2,0	6,8 ± 0,2* **	5,3 ± 0,2* **	1,2 ± 0,2
ГЭ самцы + квинпиrol + тестостерона пропионат	59,4 ± 2,8	11,3 ± 2,0	3,7 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,0 ± 0,2
ГЭ самцы + сульпирид + тестостерона пропионат	71,3 ± 3,8**	13,7 ± 1,2	6,1 ± 0,2* ** #	6,6 ± 0,2* ** #	0,8 ± 0,2

Примечание: * — $p < 0,05$, достоверное отличие от контрольных интактных самцов, ** — $p < 0,05$, достоверное отличие от ГЭ самцов, # — $p < 0,05$, достоверное отличие от ГЭ самцов, получавших низкую дозу тестостерона пропионата. Данные представлены в виде $M \pm m$, количество животных в группах – $N=10$.

На фоне введения квинпиrolа у интактных самцов отмечалось сходное уменьшение показателя горизонтальной двигательной активности, как и в случае использования сульпирида, при параллельном выраженном снижении представленности груминга и угнетении эмоционального компонента поведения по сравнению с контрольной группой крыс ($p < 0,05$, табл. 1). Хроническое введение квинпиrolа изолированно или совместно с низкой дозой тестостерона пропионата не меняло общий характер поведения ГЭ самцов по сравнению с контрольными интактными и ГЭ самцами ($p < 0,05$, табл. 1). В условиях введения сульпирида одного или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата отмечалось увеличение представленности груминга и исследовательской активности по сравнению

с контрольными группами интактных и ГЭ крыс, а также с группой ГЭ самцов, получавших только тестостерона пропионат ($p < 0,05$, табл. 1).

Гормональный анализ выявил, что гонадэктомия приводит к снижению уровня тестостерона в сыворотке крови, тогда как экзогенное введение тестостерона пропионата ГЭ крысам в некоторой степени корректирует его содержание по сравнению ГЭ животными, не получавшими гормонального вещества ($p < 0,05$, табл. 2). Хроническое введение агониста или антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов интактным крысам не меняло показатели уровня тестостерона по сравнению с группой контрольных самцов ($p > 0,05$, табл. 2). Изолированное введение квинпиrolа ГЭ самцам достоверно повышало уровень тестостерона в сыворотке крови по сравнению ГЭ крысами, получавшими физиологический раствор ($p < 0,05$, табл. 2). При комбинированном введении квинпиrolа в комбинации тестостерона пропионатом наблюдалось более выраженное повышение уровня тестостерона у ГЭ самцов по сравнению с ГЭ самцами, получавшими тестостерона пропионат или физиологический раствор ($p < 0,05$, табл. 2).

Таблица 2

Влияние квинпиrolа и сульпирида, введенных изолированно или в комбинации с низкой дозой тестостерона пропионата, на уровень тестостерона в сыворотке крови гонадэктомированных самцов крыс

Группы животных	Концентрация тестостерона, нмоль/л
Интактные самцы (контроль)	$4,2 \pm 0,2$
Интактные самцы + квинпиrol	$3,7 \pm 0,5$
Интактные самцы + сульпирид	$4,6 \pm 0,4$
ГЭ самцы	$1,2 \pm 0,3^*$
ГЭ самцы + тестостерона пропионат	$2,9 \pm 0,2^* **$
ГЭ самцы + квинпиrol	$3,8 \pm 0,2^{**}$
ГЭ самцы + сульпирид	$5,1 \pm 0,6^{**} \#$
ГЭ самцы + квинпиrol + тестостерона пропионат	$0,9 \pm 0,2^* **$
ГЭ самцы + сульпирид + тестостерона пропионат	$1,4 \pm 0,5^* ** \#$

Примечание: * — $p < 0,05$, достоверное отличие от контрольных интактных самцов, ** — $p < 0,05$, достоверное отличие от ГЭ самцов, # — $p < 0,05$, достоверное отличие от ГЭ самцов, получавших низкую дозу тестостерона пропионата. Данные представлены в виде $M \pm m$, количество животных в группах – $N=10$.

Напротив, на фоне введения сульпирида одного или в комбинации с гормональным препаратом у ГЭ самцов не было отмечено изменений в содержании тестостерона в сыворотке крови по сравнению с ГЭ самцами, получавшими тестостерона пропионат или физиологический раствор ($p > 0,05$, табл. 2). Такие данные указывают на способность сульпирида препятствовать какому-либо изменению концентрации тестостерона в организме даже в условиях его применения с экзогенно введенным тестостерона пропионатом.

Обсуждение результатов исследования

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что на поведенческие ответы агониста и антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов влияют гормональные сдвиги, происходящие у самцов как после гонадэктомии, так и после экзогенного введения тестостерона пропионата. Этот факт указывает на то, что уровень андрогенов в организме

может модулировать поведенческие ответы в условиях блокады разных типов дофаминовых рецепторов головного мозга. Кроме того, результаты настоящего исследования также позволяют говорить о разнонаправленном характере влияния стимуляции и блокады D₂-типа дофаминовых рецепторов на динамику пассивного обучения на фоне дефицита андрогенов, а также доказывают, что препараты, влияющие на дофаминергическую нейротрансмиссию, могут также модулировать поведенческие процессы у самцов с разным гормональным статусом. Таким образом, можно говорить о взаимном модулирующем влиянии гипофизарно-гонадной и дофаминергической систем друг на друга при дисбалансе андрогенов в организме.

Модель УРПИ показала, что у ГЭ самцов воспроизведение этого рефлекса не происходит, тогда при введении низкой дозы тестостерона пропионата отмечается частичное улучшение формирования УРПИ. При этом, позитивный эффект экзогенного введения тестостерона пропионата на воспроизведение УРПИ не сопровождается изменениями характера поведенческих реакций в тесте «открытое поле». Полученные результаты согласуются с целым рядом данных литературы о снижении способности к выработке условных рефлексов на различных моделях обучения у самцов крыс с низким уровнем андрогенов в организме, а также с тем, что повышение уровня тестостерона в организме у самцов облегчает процесс консолидации и воспроизведение следа из долговременной памяти [14, 15].

Как показывает анализ данных, полученных с использованием фармакологического подхода на модели УРПИ, хроническое введение агониста и антагониста D₂-типа дофаминовых рецепторов интактным самцам не меняло показатели воспроизведения УРПИ. Полученные данные свидетельствуют о том, что активация или блокада центральных D₂-типа дофаминовых рецепторов не влияет на процессы формирования и воспроизведения рефлекса пассивного избегания в условиях естественного и адекватного уровня андрогенов у самцов крыс.

Совершенно иная картина наблюдалась при блокаде D₂-типа дофаминовых рецепторов в условиях дефицита андрогенов или экзогенного введения тестостерона пропионата. Так, хроническое введение антагониста D₂-типа дофаминовых рецепторов — сульпирида еще в большей степени нарушало процесс пассивного избегания у ГЭ самцов. Наряду с этим, при сочетанном применении данного вещества с низкой дозой тестостерона пропионата, отмечалось блокирование позитивного эффекта гормонального препарата на способность ГЭ крыс к выработке и сохранению УРПИ. В противоположность этому, хроническое введение агониста D₂-типа дофаминовых рецепторов — квинпирила существенно улучшало воспроизведение рефлекса пассивного избегания, а при его комбинированном введении с тестостерона пропионатом в низкой дозе регистрировалась полная коррекция процесса воспроизведения УРПИ. По-видимому, можно говорить о суммации позитивных эффектов квинпирила и тестостерона пропионата на воспроизведение следа памяти у ГЭ самцов. Выявленные изменения в поведенческих реакциях в тесте «открытое поле» у ГЭ самцов, получавших квинпирил в комбинации с тестостероном пропионатом, соответствуют наблюдаемому улучшению процесса воспроизведения УРПИ. Данные, полученные в тесте УРПИ у ГЭ самцов при комбинированном введении квинпирила и тестостерона пропионата, позволяют говорить о триггерной роли низкой дозы тестостерона в коррекции процесса воспроизведения УРПИ. Кроме того, сочетанное введение агониста D₂-типа дофаминовых рецепторов и тестостерона пропионата в низкой дозе приводит к полной нормализации нарушенного процесса пассивного обучения, в отличие от их изолированного введения.

Интересно отметить, что в наших предыдущих исследованиях, посвященных изучению эффектов дофаминергических веществ у овариоэктомированных (ОЭ) самок крыс, были выявлены однотипные закономерности в эффектах агониста и антагониста D₂-типа дофаминовых рецепторов на фоне их изолированного или комбинированного введения с низкой дозой 17β-эстрадиола, что не было обнаружено нами в эффектах этих же веществ на

пассивное обучение у ГЭ самцов [4]. Так, квинпирол, как и сульпирид, введенные изолированно или в комбинации с низкой дозой 17β -эстрадиола корректировали процесс воспроизведения УРПИ у ОЭ крыс [4]. Сравнительный анализ эффектов агониста и антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов на модели УРПИ у ОЭ самок и ГЭ самцов позволяет сделать заключение о том, что поведенческие эффекты дофаминотропных веществ четко детерминируются гендерной принадлежностью и уровнем половых гормонов в организме. Таким образом, полученные данные настоящего исследования свидетельствуют о том, что блокада центральных D_2 -типа дофаминовых рецепторов существенно нарушает процесс формирования и сохранения навыка пассивного избегания, тогда как стимуляция D_2 -типа рецепторов, напротив, способствует улучшению процессу пассивного обучения при дисбалансе андрогенов. Данные результаты четко свидетельствуют о том, что центральные D_2 -типа дофаминовые рецепторы играют роль в пассивном избегании и это является гормон-зависимым процессом при колебаниях уровня андрогенов в организме самцов крыс.

В то же время, в наших экспериментальных условиях можно говорить об отсутствии какой-либо корреляции между эффектами агониста и антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов на пассивное избегание и поведенческими изменениями, выявленными в тесте «открытое поле» у интактных и ГЭ самцов. Хроническое введение агониста и антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов интактным самцам не влияло на динамику воспроизведения УРПИ, несмотря на то, что их применение вызывало изменения исследовательского и грумингового компонентов поведения, а также параметров эмоционального статуса крыс в тесте «открытое поле». Хотя хроническое введение квинпирола как одного, так и в комбинации с тестостерона пропионатом и не приводило к достоверным изменениям в структуре поведения ГЭ самцов в тесте «открытое поле», однако было зарегистрировано полное восстановление процесса воспроизведения УРПИ. В то же время, введение сульпирида изолированно или в комбинации с тестостерона пропионатом повышало исследовательский и груминговый компоненты поведения, тем не менее воспроизведения УРПИ у этих групп крыс не наблюдалось. Таким образом, поведенческие эффекты комбинированного или изолированного введения дофаминергических веществ и тестостерона пропионата на воспроизведение УРПИ у ГЭ самцов не могут быть объяснены лишь изменениями поведенческих реакций, которые выявлены в тесте «открытое поле».

Результаты иммуноферментного анализа у ГЭ крыс, на фоне хронического введения агониста или антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов изолированно или в сочетании с тестостерона пропионатом, свидетельствуют о существовании взаимосвязи между изменениями, обнаруженными на модели УРПИ и уровнем тестостерона в организме опытных групп животных. Так, повышение уровня тестостерона в сыворотке крови ГЭ крыс, получавших квинпирол или квинпирол в комбинации с тестостерона пропионатом сопровождалось восстановлением воспроизведения рефлекса пассивного избегания у этих групп животных. С другой стороны, ухудшение процесса формирования и воспроизведения УРПИ у ГЭ крыс, получавших сульпирид или комбинацию сульпирида с тестостерона пропионатом, соответствовало отсутствию изменений в уровне тестостерона в организме, особенно в условиях экзогенно введенного гормонального вещества. Таким образом, можно говорить о том, что характер условно-рефлекторной деятельности у ГЭ крыс на фоне применения агониста или антагониста D_2 -типа дофаминовых рецепторов изолированно или в сочетании с тестостерона пропионатом может быть обусловлен изменениями в уровне тестостерона в организме у опытных групп крыс.

Принято считать, что дофаминергическая система является триггерным звеном в механизмах формирования различных форм избегательного поведения животного [8, 15]. Наряду с этим, не вызывает сомнения, что между половыми гормонами и дофаминергической системой существует тесная взаимосвязь. В свою очередь, дофаминергическая система, как полагают, участвует в реализации негативного обратного действия андрогенов [5, 14]. Однако очень трудно сделать какое-либо однозначное

заклучение о характере взаимодействий между андрогенами и дофаминергической системой головного мозга. Выявлены изменения в биосинтезе дофамина, высвобождении, обратном захвате и метаболизме у ГЭ самцов [10–12]. Установлено, что гонадэктомия у самцов сопровождается выраженным снижением плотности дофаминовых рецепторов типа без изменения их чувствительности, при этом заместительная терапия тестостерона пропионатом увеличивает или даже восстанавливает плотность дофаминовых рецепторов [9, 14]. Противоположно направленные эффекты квинпирила и сульпирида у ГЭ самцов могут быть связаны с тем, что эти вещества воздействуют не только на D₂-дофаминовые рецепторы, но и на D₃-дофаминовые рецепторы, расположенные в структурах головного мозга, участвующих в механизмах аффективного поведения. Показано, что воздействие, например, сульпирида в малых дозах на пресинаптические D₃-дофаминовые рецепторы, их избирательная блокада усиливают выброс дофамина [1, 11]. Кроме того, противоположно направленные эффекты квинпирила и сульпирида на условно-рефлекторную деятельность ГЭ самцов могут быть связаны с измененным обменом дофамина и его метаболитов, количеством и связывающей способности D₂-/D₃-дофаминовых и андрогеновых рецепторов, а также с измененным характером экспрессии генов этих рецепторов в структурах гиппокампа и лимбической системы мозга. Кроме того, нельзя не учитывать важную роль гиппокампального МАРК-сигналинга в регуляции психоэмоциональных реакций у самцов крыс, который, как полагают, лежит в патогенезе многих нервно-психических расстройств при дисбалансе андрогенов [11, 13]. Необходимо отметить, что в доступной нам литературе не было обнаружено сходных исследований и все полученные данные носят приоритетный характер. В связи с этим, выяснение молекулярно-биохимических механизмов эффектов дофаминергических веществ, воздействующих на D₂-тип дофаминовых рецепторов в условиях дефицита андрогенов будет являться предметом наших дальнейших исследований.

Выводы

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о существенной роли D₂-типа дофаминовых рецепторов в условно-рефлекторной деятельности у самцов крыс в условиях дефицита андрогенов. Данное исследование доказывает вовлеченность D₂-типа дофаминовых рецепторов в процессы обучения и памяти при дисбалансе андрогенов в организме. Результаты исследования указывают на необходимость дальнейшего изучения эффектов фармакологических веществ, действующих на D₂-тип дофаминовых рецепторов, в качестве возможных средств для коррекции нарушений высших функций мозга при дефиците андрогенов в организме.

Литература

1. Баришполец В. В., Федотова Ю. О., Сапронов Н. С. Структурно-функциональная организация дофаминергической системы головного мозга // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2009 — Т. 72 — № 3 — С. 44–49.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон — Москва: «Высшая школа», 1991 — 399 с.
3. Киршенблат Я. Д. Практикум по эндокринологии / Я. Д. Киршенблат Москва: Высшая школа, 1969 — 255 с.
4. Сапронов Н. С., Федотова Ю. О. Гормоны гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы и мозг / Н.С. Сапронов, Ю.О. Федотова — СПб.: Формиздат., 2009 — 459 с.
5. Beaulieu J. M., Gainetdinov R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors // Pharmacol. Rev. — 2011. — Vol. 63. — № 1. — P. 182–217.
6. Bhasin S., Basaria S. Diagnosis and treatment of hypogonadism in men // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. — 2011. — Vol. 25 — № 2 — P. 251–270.

7. Gibbs R. B., Johnson D. A. Sex-specific effects of gonadectomy and hormone treatment on acquisition of a 12-arm radial maze task by Sprague Dawley rats // *Endocrinol.* — 2008 — Vol.149 — № 6 — P. 3176–3183.
8. Jay T. M. Dopamine: a potential substrate for synapse plasticity and memory mechanisms // *Progr. Neurobiol.* — 2003 — Vol. 69 — 375–390.
9. McHenry J., Carrier N., Hull E., Kabbaj M. Sex differences in anxiety and depression: role of testosterone // *Front. Neuroendocrinol.* — 2014 — Vol. 35 — P. 42–57.
10. Nasehi M., Piri M., Nouri M., Farzin D., et al. Involvement of dopamine D₁/D₂ receptors on harmaline-induced amnesia in the step-down passive avoidance test // *Eur. J. Pharmacol.* — 2010 — Vol. 634 — P. 77–83.
11. Perez de la Mora M., Gallegos-Cari A., Arizmendi-Garc Y., et al. Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis // *Progr. Neurobiol.* — 2010 — Vol. 90 — P. 198–216.
12. Pike C. J., Nguyen T. V., Ramsden M. Androgen cell signaling pathways involved in neuroprotective actions // *Horm. Behav.* — 2008 — Vol. 53 — № 5 — P. 693–705.
13. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review // *Eur. J. Pharm.* — 2003 — Vol. 463 — № 1 — P. 3–33.
14. Souza de Silva M. A., Mattern C., Topic B., et al. Dopaminergic and serotonergic activity in neostriatum and nucleus accumbens enhanced by intranasal administration of testosterone // *Eur. Neuropsychopharmacol.* — 2009 — Vol. 19 — P. 53–63.
15. Spritzer M. D., Daviau E. D., Coneeny M. K., et al. Effects of testosterone on spatial learning and memory in adult male rats // *Horm. Behav.* — 2011 — Vol. 59 — № 4 — P. 484–496.

INFLUENCE OF AGONIST AND ANTAGONIST FOR D₂-TYPE DOPAMINERGIC RECEPTORS ON AVOIDANCE PERFORMANCE IN RATS WITH DIFFERENT ANDROGENS LEVELS

Fedotova Y.O. ^{a,b}

^a *I.P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034, Makarova Emb., 6, Russia, e-mail: julia.fedotova@mail.ru;*

^b *ITMO University, St. Petersburg, 197101, Kronversky Pr., 49, Russia.*

Abstract. This research work represents a comparative analysis for agonist and antagonist of D₂-types dopaminergic receptors effects on passive avoidance performance in intact, gonadectomized (GDX) and GDX male rats administered by testosterone propionate. The effects for chronic administration of agonist of D₂-type dopaminergic receptors — quinperole (0,1 mg/kg, i.p.) and antagonist of D₂-type dopaminergic receptors — sulpiride (10,0 mg/kg, i.p.), as well as its combination with a low dose of testosterone propionate (0,5 mg/kg, s.c.) were tested during 14 days on behavioral processes in the passive avoidance paradigm and the «open field» test. Simultaneously, we measured testosterone levels in the blood serum using test-system *in vitro* by immune-enzyme assay. Co-administration of quinperole with a low dose of testosterone propionate completely restored impaired passive avoidance performance in GDX males. Moreover, GDX rats were treated with quinperole plus a low dose of testosterone propionate and demonstrated increased exploratory and grooming behavior in the «open field» test. Both sulpiride alone and in combination with low dose of testosterone propionate markedly impaired passive avoidance learning in GDX rats. The results of the present study suggest that chronic administration of quinperole (stimulation of D₂-type dopaminergic receptors) markedly improves passive avoidance performance in GDX rats. Moreover, co-treatment with quinperole and testosterone propionate completely corrects passive avoidance learning in GDX male rats. Hormonal assay showed that

chronic administration of quinperole alone or in a combination with testosterone propionate corrected testosterone levels in the blood serum in GDX rats as compared to the control rats. However, chronic treatment with sulpiride (blockade of D₂-type dopaminergic receptors) significantly impairs capability of GDX rats to formation of passive avoidance performance. Moreover, its combination with testosterone propionate resulted in blockade of positive effect for testosterone propionate on passive avoidance performance.

Keywords: quinperole, sulpiride, D₂-type dopaminergic receptors, avoidance learning, behavior, androgens, gonadectomy.

References

1. Barishpolets V.V., Fedotova Iu.O., Saponov N.S. Structural and functional organization of the cerebral dopaminergic system // *Eksp. Klin. Farmakol.* – 2009 – Vol. 72 – № 3 – P. 44-49.
2. Bures J., Buresova O., Houston J.P. Techniques and basic experiments for study of brain and behavior / J. Bures, O. Buresova, J.P. Houston – Moscow: Higher school, 1991 – 399 pp.
3. Kirshenblat J.D. Workshop on endocrinology / J.D. Kirshenblat – M.: Higher school, 1969 – 255 pp.
4. Saponov N.S., Fedotova Yu.O. Hormones of the hypothalamic-pituitary-ovarian system and the brain / N.S. Saponov, Yu.O. Fedotova – St. Petersburg: Formistin, 2009. – 459 pp.
5. Beaulieu J. M., Gainetdinov R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors // *Pharmacol. Rev.* – 2011. – Vol. 63. – № 1. –P. 182-217.
6. Bhasin S., Basaria S. Diagnosis and treatment of hypogonadism in men // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 25 – № 2 – P. 251-270.
7. Gibbs R. B., Johnson D. A. Sex-specific effects of gonadectomy and hormone treatment on acquisition of a 12-arm radial maze task by Sprague Dawley rats // *Endocrinol.* – 2008 – Vol.149 – № 6 – P. 3176-3183.
8. Jay T. M. Dopamine: a potential substrate for synapse plasticity and memory mechanisms // *Progr. Neurobiol.* – 2003 – Vol. 69 – 375-390.
9. McHenry J., Carrier N., Hull E., Kabbaj M. Sex differences in anxiety and depression: role of testosterone // *Front. Neuroendocrinol.* – 2014 – Vol. 35 – P. 42-57.
10. Nasehi M., Piri M., Nouri M., Farzin D., et al. Involvement of dopamine D₁/D₂ receptors on harmaline-induced amnesia in the step-down passive avoidance test // *Eur. J. Pharmacol.* – 2010 – Vol. 634 – P. 77-83.
11. Perez de la Mora M., Gallegos-Cari A., Arizmendi-Garc Y., et al. Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis // *Progr. Neurobiol.* – 2010 – Vol. 90 – P. 198-216.
12. Pike C. J., Nguyen T. V., Ramsden M. Androgen cell signaling pathways involved in neuroprotective actions // *Horm. Behav.* – 2008 – Vol. 53 – № 5 – P. 693-705.
13. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review // *Eur. J. Pharm.* – 2003 – Vol. 463 – № 1 –P. 3-33.
14. Souza de Silva M. A., Mattern C., Topic B., et al. Dopaminergic and serotonergic activity in neostriatum and nucleus accumbens enhanced by intranasal administration of testosterone // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2009 – Vol. 19 – P. 53-63.
15. Spritzer M. D., Daviau E. D., Coneeny M. K., et al. Effects of testosterone on spatial learning and memory in adult male rats // *Horm. Behav.* – 2011 – Vol. 59 – № 4 – P. 484-496.