

УДК 616.154 : 577.175.6]-092.9

© Г. А. Фролова¹, С. Л. Кацель²

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ТАМОКСИФЕНА И АНДРОФАРМА НА САМОК И САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО УРОВНЮ ДЕПРЕССИВНОСТИ

¹ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет»

283050, г. Донецк, ул. Щорса, 46; e-mail: gljukkk@ukr.net

²ГОУ ВПО «Донецкий национальный технический университет»

283050, г. Донецк, ул. Артема, 58

Фролова Г. А., Кацель С. Л. Поведенческие эффекты тамоксифена и андрофарма на самок и самцов белых крыс, отличающихся по уровню депрессивности. – Проведен сравнительный анализ поведения самцов белых крыс при блокировании рецепторов андрогенов (андрофарм 150 мг/кг, 14 дней) и самок при блокировании рецепторов эстрогенов (тамоксифен 10 мг/кг, 14 дней) в тесте «вынужденное плавание» с учетом индивидуальных особенностей животных. Показан антидепрессивный эффект андрофарма на высокодепрессивных в контроле самцов и депрессогенный тамоксифена у самок всех исходных подгрупп депрессивности.

Ключевые слова: эстрогены, андрогены, депрессивность, тест Порсолта.

Введение

Известно, что мужские и женские половые гормоны выступают в качестве модуляторов синаптических процессов в центральной нервной системе [1, 4, 5, 11]. Так, вынужденная или естественная гипоэстрогения / гипоандрогения часто сопровождается комплексом патологических состояний, включая подавленное настроение, тревогу, плаксивость. В некоторых случаях развиваются депрессивные расстройства [1, 8-12]. Однако, в большинстве случаев, научные исследования, направленные на изучение взаимовлияний нервной и гонадной систем, не учитывают индивидуальных особенностей индивида, обуславливающих разную чувствительность к действию как фармакологических агентов, так и ряду других воздействий. В связи с этим представляет собой интерес вопрос об установлении связи между чувствительностью к изменению баланса физиологических эффектов половых стероидов и индивидуально-типологическими особенностями животного организма.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на 80 половозрелых лабораторных крысах (40 самцов и 40 самок), содержащихся в стандартных условиях вивария.

Исходный уровень депрессивности лабораторных животных устанавливали с помощью методики «вынужденного плавания» (тест Порсолта) [13]. В условиях данного теста крысы проходили тестирование дважды: перед введением фармакологических агентов (для установления исходных временных характеристик поведения в данном тесте) и после введения блокаторов половых гормонов. На основании исходного (контрольного) тестирования в группах самок и самцов выделили подгруппы, отличающиеся по уровню депрессивности (УД) согласно выраженности маркерного показателя – суммарного времени неподвижности животных.

Процедура тестирования была следующая: крысы опускались в белый пластиковый цилиндр высотой 60 см и диаметром 50 см, в который была налита вода (температура 27-28°C) таким образом, чтоб животное не имело возможности опираться задними конечностями или хвостом на дно цилиндра и в течение 3 минут (укороченная процедура) регистрировалось поведение животных. Поведенческими показателями служили: количество и время периодов полной неподвижности крыс (полное отсутствие плавательных движений при пассивном удержании животного на воде), пассивного (наличие легких гребковых движения задними конечностями) и активного плавания (интенсивное движение всеми конечностями у животного). Для характеристики временной структуры процесса подсчитывали число периодов неподвижности разной длительности, группируя их по

четырем основным диапазонам: менее 6 секунд, от 6 до 18, от 18 до 36 и более 36 секунд. Учитывалось также количество фекальных болюсов.

Запись и анализ поведения животных в тесте Порсолта осуществлялся с помощью оригинальной программы, разработанной на кафедре искусственного интеллекта и системного анализа ДонНТУ.

Программное решение работает в операционной системе Windows 7 и выше, с установленным NET Framework v.4.5, и предназначено для обработки видеозаписи проведения теста Порсолта. Возможна работа со многими форматами видео, для которых в операционной системе имеются установленные кодеки. Выявление уровня текущей активности испытуемого животного производится путём обработки последовательности кадров видеопотока с помощью различных алгоритмов в два этапа. На первом этапе производится предварительная обработка кадров: конвертация в «grayscale», фильтрация фильтром Гаусса, выделение контуров изображения оператором свёртки с оператором Собеля, преобразование в матричный вид. Размер ядра фильтра Гаусса и оператора Собеля равен 3. На втором этапе полученная матрица обрабатывается с матрицами некоторых предыдущих кадров (одного или нескольких) с применением к ним дифференциальных матричных методов для определения собственно уровня активности как функции от общего количества движения на текущем кадре относительно предыдущих.

«Фармакологическую кастрацию» самцов проводили путем подкожных инъекций андрофарма (ОАО «Фармак», Украина) – блокатора андрогенных рецепторов – в дозе 150 мг/кг в течение 14 дней [7]. «Фармакологическую кастрацию» самок проводили путем подкожных инъекций тамоксифена (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) – блокатора эстрогенных рецепторов – в дозе 10 мг/кг в течение 14 дней [4].

Для проведения эксперимента отбирали самок, находящихся в фазе диэструса, поскольку данная фаза отличается максимальной длительностью и стабильностью гормонального уровня. Стадию полового цикла у самок подопытных животных определяли с помощью исследования влагалищных мазков [6].

Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью общепринятых методов математической статистики. Разделение исследуемых популяции животных на подгруппы с различным уровнем депрессивности проводилось по сигмальному отклонению [2]. Для оценки достоверности различий между результатами контрольных исследований и для оценки достоверности отличий между опытными и контрольными данными использовался U-критерий Манна-Уитни. Математическая обработка материала проводилась с помощью пакета программ STATISTICA 6.0 и MS Excel.

Результаты и их обсуждение

Результаты исходного тестирования показали, что доля крыс со средним уровнем депрессивности составляет у самцов 40% от исходной группы крыс, а у самок – 45%. Высокую депрессивность показала четверть протестированных животных и низкую – 35 и 30% особей из протестированных самцов и самок, соответственно. Профиль поведения животных в исходных (контрольных) условиях представлен в табл. 1.

Как видно из табл. 1, практически все поведенческие показатели самцов и самок соответствующих подгрупп значительно не отличаются. Обращает на себя внимание тот факт, что по уровню эмоциональности, который оценивается по количеству фекальных болюсов, животные с исходно разными уровнями депрессивности не отличаются, однако, имеются половые особенности: у самцов в среднем проявления эмоциональности выше, чем у самок.

Кроме того, следует отметить, что доли каждого из видов плавательного поведения животных в тесте Порсолта (неподвижности, пассивного и активного плавания) практически совпадали у самцов и самок. Исключение составлял процент полной неподвижности в подгруппе с низким УД – у самок он оказался несколько выше (9,6%, $p < 0,05$), чем соответствующие значения низкодепрессивных самцов (5,4%).

Анализ результатов избирательного блокирования рецепторов андрогенов у самцов и эстрогенов у самок показал, что данные виды воздействий оказали существенное влияние на показатели, характеризующие депрессивность лабораторных животных в тесте Порсолта. Причем, в большей степени эти изменения касались антиэстрогенных воздействий тамоксифеном.

Таблица 1

Поведенческий профиль самцов и самок белых крыс с разным уровнем депрессивности в тесте Порсолта (контроль), ($\bar{X} \pm m$)

Поведенческие показатели	Пол	Уровень депрессивности			
		низкий	высокий	средний	
Суммарное время иммобилизации, с	♂	10,1±1,77 ^{#*}	22,5±2,55	44,2±2,87 [#]	
	♀	16,4±1,13 ^{#♦}	26,3±1,29	38,2±2,63 ^{#♦}	
Суммарное время пассивного плавания, с	♂	13,8±1,13	15,4±1,78	18,8±2,73	
	♀	9,9±1,61 [♦]	13,0±1,32	16,6±1,60	
Суммарное время активного плавания, с	♂	157,3±2,54 [*]	139,1±5,37	117,0±4,98 [#]	
	♀	152,4±5,30 [*]	140,8±1,73	125,2±3,37	
Количество периодов неподвижности	♂	5,0±0,22 ^{#*}	7,4±0,46	11,4±1,05 [#]	
	♀	5,4±0,31 [*]	7,4±0,53	10,2±0,55	
Количество периодов неподвижности по диапазонам	t<6	♂	5,0±0,22 [*]	6,9±0,77	10,1±1,23 [#]
		♀	5,4±0,31 [*]	6,4±0,41	9,2±0,44 [#]
	6<t<18	♂	0,0 [*]	0,0±0,00	1,2±0,32 [#]
		♀	0,0 [*]	1,0±0,33 [♦]	1,0±0,00 [#]
	18<t<36	♂	0,0	0,0	0,0
		♀	0,0	0,0	0,0
	t>36	♂	0,0	0,0	0,0
		♀	0,0	0,0	0,0
Количество фекальных болюсов	♂	6,0±0,22	4,6±0,43	5,0±0,27	
	♀	4,3±0,42 [♦]	3,1±0,21 [♦]	3,2±0,29 [♦]	

Примечания:

1. # – различия статистически значимы ($p<0,05$) при сравнении показателей условного контроля (средний уровень депрессивности) с группами высокого и низкого уровней депрессивности;
2. • – различия статистически значимы ($p<0,05$) при сравнении показателей группы с крайними типами выраженности депрессивности;
3. ♦ – различия статистически значимы ($p<0,05$) при сравнении показателей самцов и самок внутри подгрупп депрессивности.

Так, блокирование рецепторов эстрогенов привело к увеличению показателя депрессивности в подгруппах с исходно низким и средним УД на 227,4 ($p<0,01$) и 95,1% ($p<0,01$) соответственно (рис. 1, А). У самцов, напротив, блокирование рецепторов половых гормонов оказало антидепрессивный эффект (рис. 2, А), проявившийся в подгруппе крыс с исходно высоким УД: суммарное время неподвижности у самцов этой подгруппы сократилось на 24,9% ($p<0,05$).

Антидепрессивный эффект блокирования рецепторов андрогенов получил свое подтверждение и при рассмотрении влияния андрофарма на другие временные показатели поведения в тесте Порсолта (рис. 2, Б, В): у всех самцов независимо от исходного уровня депрессивности установлено сокращение общего времени пассивного плавания в среднем на 30-50% ($p<0,05$), у высокодепрессивных в контроле животных возросло время активного плавания на 15,6% ($p<0,05$).

У самок депрессогенный эффект антиэстрогенного воздействия проявился в увеличении пассивного плавания у низкодепрессивных крыс на 75,8% ($p<0,01$) и сокращении суммарного времени активного плавания в среднем на 20% у самок и исходно средним и низким УД (см. рис. 2, Б, В).

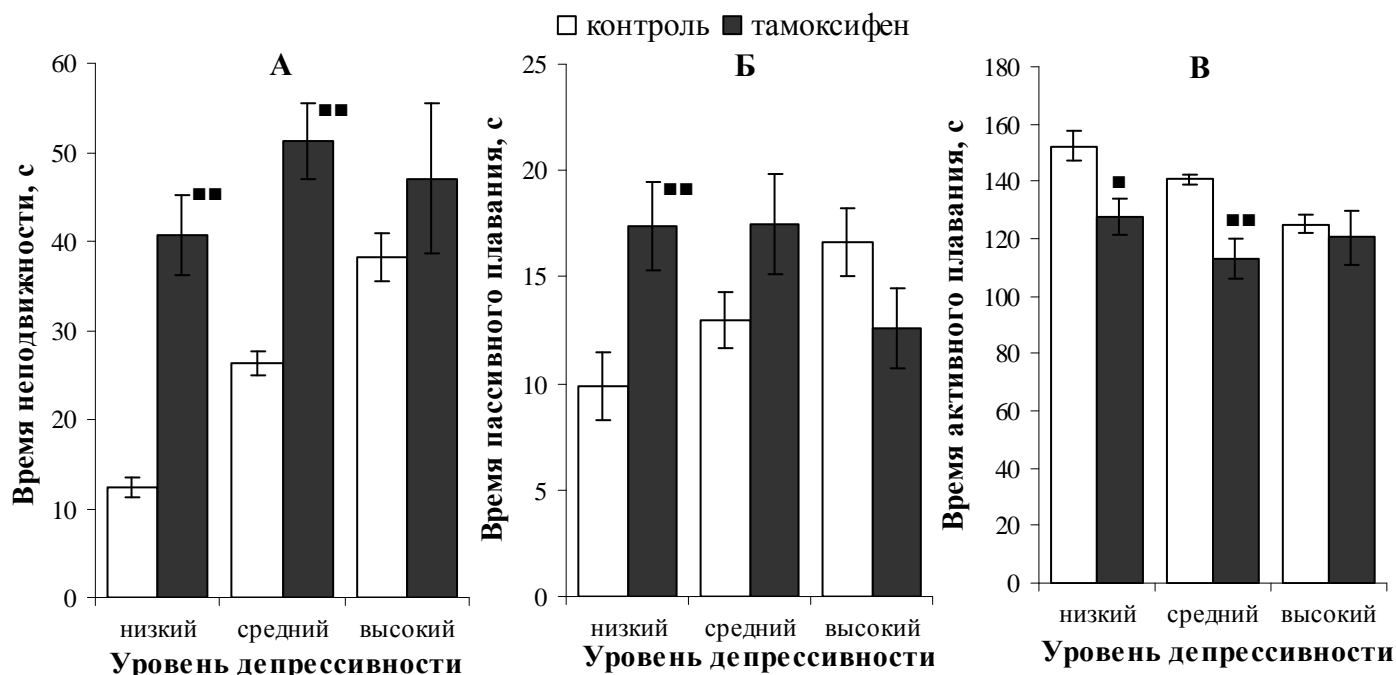


Рис. 1. Характер влияния блокатора рецепторов эстрогенов тамоксифена на временные характеристики поведения самок (n=40) в тесте Порсолта

Примечание. ■, ■■ – различия статистически значимы (p<0,05) и (p<0,01) соответственно при сравнении с показателями контроля

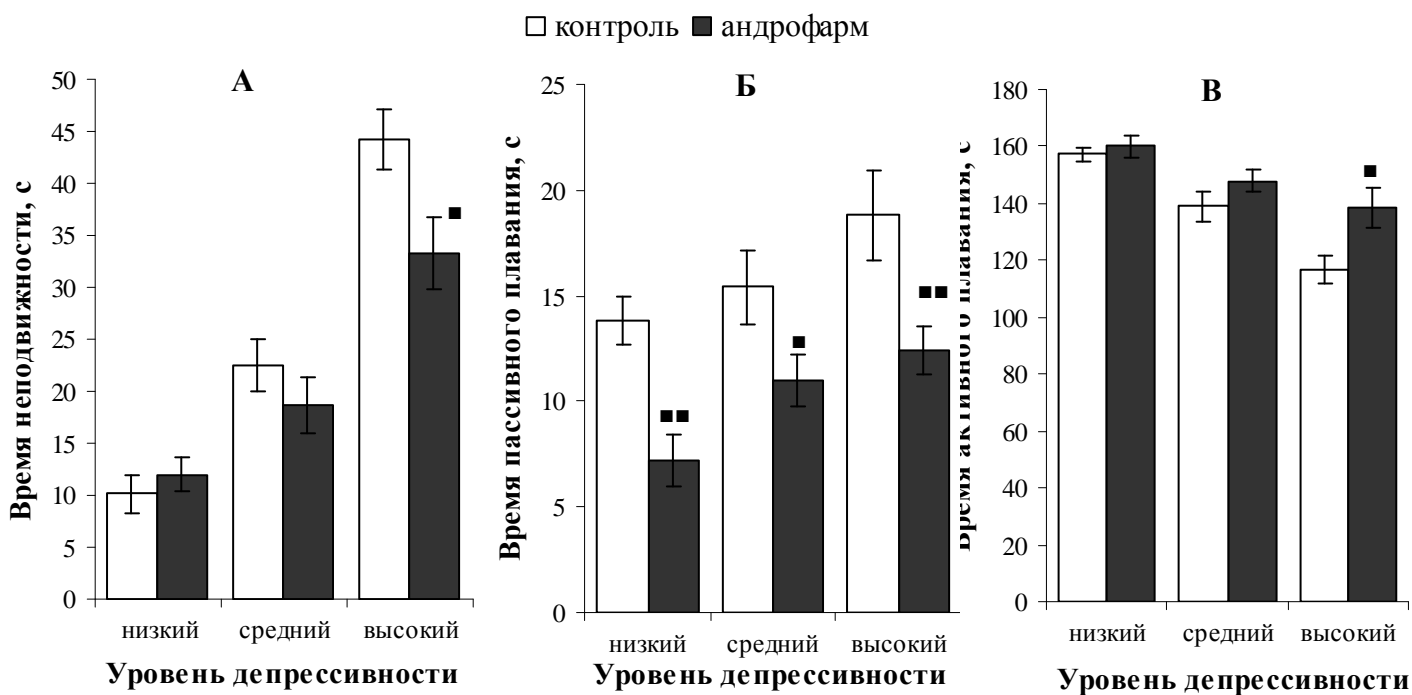


Рис. 2. Характер влияния блокатора рецепторов андрогенов андрофарма на временные характеристики поведения самцов (n=40) в тесте Порсолта

Примечание. ■, ■■ – различия статистически значимы (p<0,05) и (p<0,01) соответственно при сравнении с показателями контроля

Обращает на себя внимание тот факт, что у самок всех исходных подгрупп количество периодов неподвижности значительно возросло относительно исходных значений. Степень увеличения абсолютных значений данного показателя коррелировала с уровнем депрессивности, показанным самками в контроле: у низкодепрессивных крыс частота замираний после блокирования рецепторов эстрогенов возросла в 2,3 раза (p<0,01), у средне- и

высокодепрессивных – в 1,9 ($p < 0,01$) и 1,3 ($p < 0,05$) раза, соответственно (рис. 3, А). Подобный поведенческий ответ на введение тамоксифена самкам подтверждает депрессогенный эффект антиэстрогенного воздействия.

Андрофарм не оказал влияния на частоту актов неподвижности у самцов в тесте Порсолта (рис. 3, Б).

Относительно изменения количества замираний по различным временным диапазонам установлено, что частота актов неподвижности как самцов, так и самок в диапазонах от 6 до 18, от 18 до 36 и длиннее 36 секунд не отличалась от данных контроля (см. табл. 1). Изменения коснулись только частоты коротких замираний (длительностью до 6 секунд). Характер этих изменений совпал с тем, как менялась суммарная частота замираний у животных (см. рис. 3).

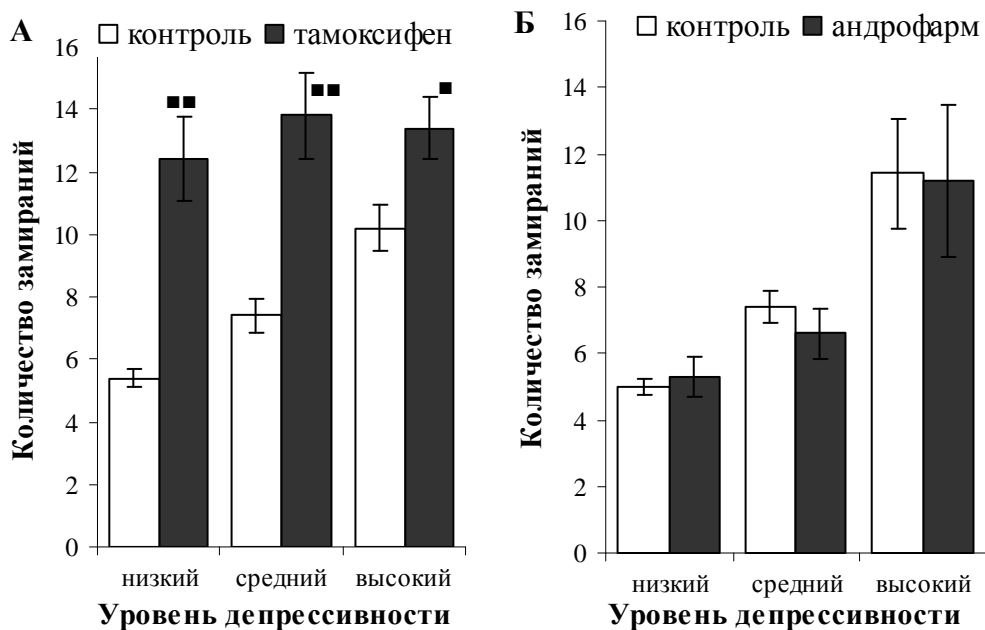


Рис. 3. Характер влияния тамоксифена (А) и андрофарма (Б) на общее количество замираний животных в тесте Порсолта

Примечание. ■, ■■ – различия статистически значимы ($p < 0,05$) и ($p < 0,01$) соответственно при сравнении с показателями контроля

По-видимому, подобные эффекты на показатель депрессивности связаны с контролирующим влиянием эстрогенов и андрогенов на серотонинергическую, адренергическую и дофаминергическую системы мозга. Ряд исследователей указывали, что гипоэстрогения приводит к нарушению психоэмоционального состояния, что имеет свои проявления в повышении частоты возникновения депрессивных расстройств [1, 8, 10].

Относительно эффектов тамоксифена и андрофарма на эмоциональность лабораторных животных, отличающихся по исходному уровню депрессивности в тесте Порсолта, следует отметить тот факт, что у самок не выявлено достоверного влияния блокирования рецепторов эстрогенов на эмоциональность. Ранее другие авторы указывали, что введение тамоксифена интактным самкам приводит к снижению эмоциональности у крыс не зависимо от естественного колебания уровня эстрогенов в крови [3].

У самцов же антиандрогенное воздействие привело к угнетению эмоциональности в подгруппах с исходно низким (в 1,4 раза, $p < 0,05$) и высоким (в 2,5 раз, $p < 0,01$) УД в контроле (рис. 4), что согласуется с данными ряда авторов, указывающих на аналогичные эффекты гонадэктомии [8, 9].

Таким образом, можно заключить, что депрессивный компонент психоэмоционального состояния самок оказался наиболее зависимым от уровня половых гормонов, нежели таковой у самцов, а эмоциональный компонент – более зависим от уровня половых гормонов у самцов.

Перспективы дальнейших исследований в данной области состоят в изучении влияния гормональных систем на индивидуальную чувствительность к избирательному снижению активности нейромедиаторных систем, что может послужить основой для более корректной гормональной терапии различных психоэмоциональных расстройств.

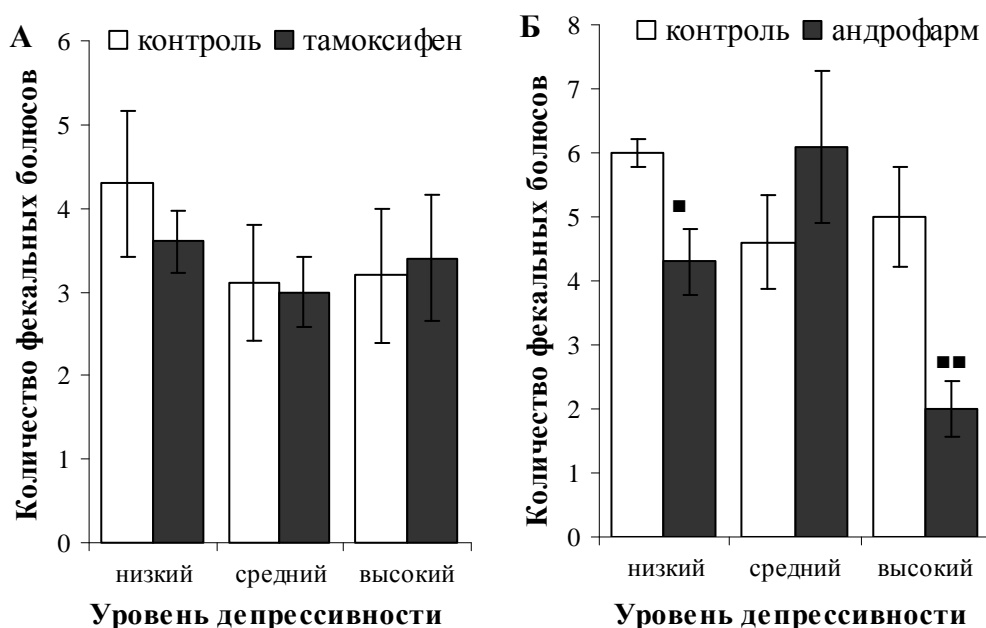


Рис. 4. Характер влияния тамоксифена (А) и андрофарма (Б) на эмоциональность животных в тесте Порсолта

Примечание. ■, ■■ – различия статистически значимы ($p < 0,05$) и ($p < 0,01$) соответственно при сравнении с показателями контроля

Выводы

1. Исследуемые животные при тестировании в контрольных условиях в условиях теста Порсолта разделены на подгруппы по уровню депрессивности. Количество особей со средним уровнем депрессивности среди самок и самцов максимально. Учитывая, что экспериментальные животные с момента рождения содержались в одинаковых условиях и получали одинаковую пищу, проведенные эксперименты позволили сделать вывод, что такой психоэмоциональный показатель как уровень депрессивности является генетически детерминированным.

2. Уровень эмоциональности у животных не зависит от депрессивности.

3. Избирательное блокирование рецепторов андрогенов оказывает влияние только на самцов с исходно высоким уровнем депрессивности, что проявляется в антидепрессивном эффекте.

4. Избирательное блокирование рецепторов эстрогенов у самок оказывает депрессогенный эффект на животных независимо от исходного уровня их показателя депрессивности с тенденцией: чем ниже уровень депрессивности в контроле, тем в большей степени он возрастает после инъекций тамоксифена.

5. Эмоциональность самцов с исходно крайними уровнями депрессивности угнетается под действием андрофарма, в то время как самки не чувствительны по данному компоненту к воздействию тамоксифена.

Список литературы

1. Бабичев В. Н. Влияние эстрогенов на центральную нервную систему / В.Н. Бабичев // Вестник Российской АМН. – 2005. – № 6. – С. 45-53.

2. Изменение приспособительного поведения активных и пассивных крыс вистар в водно-иммерсионной модели депрессии // [В. Г. Шаляпина, Е. А. Вершинина, В. В. Ракицкая и др.] // Журнал ВНД им. И. П. Павлова. – 2006. – Т. 56, № 4. – С. 543-547.
3. Казакова С. Б. Влияние тамоксифена на тревожность у интактных и овариэктомированных самок крыс / С. Б. Казакова, Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – № 5. – С. 28-34.
4. Казакова С. Б. Сравнительный анализ эффектов эстрогенов и тамоксифена на высшие функции мозга / С. Б. Казакова, Н. С. Сапронов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 9. – С. 49-53.
5. Караева Е. Н. Новые аспекты действия эстрогенов / Е. Н. Караева // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – № 4. – С. 71-78.
6. Киршенблат Я. Д. Практикум по эндокринологии / Я. Д. Киршенблат. – М. : Высшая школа, 1969. – С. 55-57.
7. Резников А. Г. Блокаторы рецепторов андрогенов и их применение в биологии и медицине / А. Г. Резников // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1. – С. 4-11.
8. Сапронов Н. С. Взаимодействие нервных и гормональных факторов в реализации высших функций мозга / Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, О. О. Масалова // Медицинский академический журнал. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 12-21.
9. Сапронов Н. С. Влияние пара-хлорфенилаланина на поведение гонадэктомированных крыс-самцов / Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 2. – С. 141-143.
10. Сапронов Н. С. Половые гормоны и поведенческие реакции / Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова, Н.П. Гончаров // Вестник Российской АМН. – 2001. – № 12. – С. 29-34.
11. Федотова Ю. О. Влияние 8-OH-DPAT на депрессивное поведение и обмен моноаминов в гиппокампе овариэктомированных крыс / Ю. О. Федотова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69, № 1. – С. 12-17.
12. Федотова Ю. О. Сочетанное введение NAN-190 С низкой дозой тестостерона пропионата корректирует воспроизведение рефлекса пассивного избегания при дефиците андрогенов у крыс / Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 12. – С. 15-19.
13. Porsolt R. D. Animal models of depression. Utility for transgenic research / R. D. Porsolt // Rev. Neurosci. – 2000. – N 11. – P. 53-59.

Frolova G. A., Katsel S. L. Behaviour effects of tamoxifen and androfarm on female and male of white rats with different level of depressive. – A comparative analysis of the behavior of the male white rats by blocking the androgen receptor (androfarm, 150 mg/kg, 14 days) and females by blocking the estrogen receptors (tamoxifen, 10 mg/kg, 14 days) in the test «forced swimming» with the individual peculiarities of animals. Shown antidepressant effect of androfarm on high-depressiv rats in control males and depressogenic of tamoxifen in females of all source sub-groups of depression.

Key words: estrogen, androgens, depression, test Porsolt.