

© Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов, 2017
УДК 612.826
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12120>
ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ ЭПИФИЗЭКТОМИИ И МЕЛАТОНИНА НА ОБУЧЕНИЕ КРЫС В МОДИФИЦИРОВАННОМ ВОДНОМ ЛАБИРИНТЕ

Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

EFFECT OF PINEALECTOMY AND MELATONIN ON RAT LEARNING IN THE MODIFIED WATER MAZE

Arushanian E. B., Ovanesov K. B.

Stavropol State Medical University, Russia

Удаление эпифиза затрудняет обучение крыс реакции избегания в модифицированном водном лабиринте Морриса. Животные совершают чаще ошибки и затрачивают больше времени на поиск спасательной площадки. Эпифизарный гормон мелатонин (0,1 мг/кг) при хроническом введении облегчал приобретение избегающего навыка. Предполагается, что мелатонин может выступать в роли естественного ноотропного агента, улучшающего познавательную деятельность мозга.

Ключевые слова: эпифиз, мелатонин, обучение, водный лабиринт

The removal of the epiphysis makes it difficult to train the avoidance response in rats in Morris' modified water maze. Animals make more mistakes and spend more time searching for a rescue site. Epiphyseal hormone melatonin (0.1 mg / kg) with chronic administration facilitated the acquisition of an avoidance skill. It is assumed that melatonin can act as a natural nootropic agent that improves the cognitive activity of the brain.

Key words: pineal gland, melatonin, learning, water maze

Прогрессирующая частота нарушений познавательной деятельности мозга делает чрезвычайно актуальным использование ноотропных средств для борьбы с когнитивными расстройствами. Несмотря на то что семейство современных ноотропов достаточно обширно, поиск новых веществ с подобными свойствами, в частности путём искусственного их создания, не прекращается. Между тем организм человека и животных располагает естественными механизмами, в задачу которых входит защита мозга от различных форм внешней и внутренней агрессии. К числу подобных механизмов принадлежит и деятельность мозговой железы эпифиза [1]. Проведённый нами анализ [2] позволил заключить, что основной гормон железы – мелатонин – по биохимическим данным обладает выраженными нейропротективными свойствами и может претендовать на роль такого рода естественного ноотропа. Однако поведенческие доказательства в пользу этого отсутствуют.

В практике экспериментальной психофармакологии при поиске и создании новых ноотропных препаратов широко применяются различные методы для оценки памяти и способности животных к обучению [5, 6]. При этом одной из наиболее адекватных признают методику обучения крыс или мышей навигационному навыку в водном лабиринте, когда отсутствуют пищевая мотивация либо страх перед болевым наказанием [13, 14, 16]. Учитывая изложенное, в настоящей работе исследовано влияние удаления эпифиза и эффектов мелатонина на поведение крыс в водном лабиринте.

Материал и методы. Выполнено две серии экспериментов на 25 белых беспородных крысах-самцах

массой 110–210 г. Первая была посвящена изучению эффектов эпифизэктомии, вторая – действия мелатонина. Животных содержали при естественном световом режиме при свободном доступе к воде и пище при строгом соблюдении международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Опыты проводили в одно и то же время суток (с 18 до 20 часов).

Использована методика водного лабиринта Морриса в модификации С. М. Лунина и соавт. [7]. Смысл поведенческой задачи сводился к тому, чтобы помещённая в воду крыса достигла спасательной площадки, скрытой от глаз, преодолев несколько препятствий со сложной траекторией движения. Плавающим бассейном служил металлический резервуар (100x80x80 см), наполовину заполненный тёплой (21–23 °С) водой (её в процессе обучения подбеливали молоком) и разделённый на три отсека перегородками с тремя отверстиями в каждой. Они были прикрыты дверками, но лишь одна из них открывалась свободно. Животное, помещённое в стартовый отсек, должно было, поднырнув, отыскать погружённую в воду «правильную» дверку, попасть в промежуточный отсек и, только преодолев его через нужное отверстие, оказаться в финишной части лабиринта, где и находилась на небольшой глубине спасательная площадка. При таком подходе минимизировался, хоть и не исключался полностью, вклад зрительной информации при воспроизведении пространственного навыка.

Обучение животных, которое складывалось из нескольких этапов, проводили в течение недели по три тренировочных сессии ежедневно. В первые два дня их помещали в прозрачную воду, а открытые «пра-

вильные» дверки располагались выше её уровня. Крысы быстро обучались, легко справляясь с задачей отыскать спасательную площадку. На 3-й день уровень воды поднимали выше дверных проёмов и прикрывали сами дверки, что приводило к заметному росту числа ошибок. На 6-й день «ложные» дверки фиксировали, а на 7-й уже подбеливали воду. В процессе обучения учитывали число ошибок (попытки открыть имитационную дверку, прохождение мимо «правильной», движение по неверной траектории) и общее время пребывания в лабиринте. Обученными считались крысы, которые совершали не более трёх ошибочных действий за три последовательных тестирования в течение одной минуты. Как свидетельствовали полученные данные, использованная модификация водного лабиринта представляла для крыс более сложную поведенческую задачу, чем сам традиционный метод Морриса, позволяя более адекватно судить о памяти животных и их способности к пространственному обучению.

В первой серии опытов 15 животных были разделены на три равные группы. Основную группу составили крысы, у которых под наркозом хирургическим методом, разработанным в нашей лаборатории [8], удаляли эпифиз. Во вторую входили ложноперирированные особи, подвергавшиеся аналогичной операции с трепанацией черепа, но без повреждения железы. Те и другие брались в эксперимент спустя 10–12 дней после вмешательства. Ещё одну контрольную группу составляли интактные крысы. Во второй серии опытов действие мелатонина изучали на 5 крысах, которым на протяжении всего периода обучения ежедневно за 30 мин до тестирования внутрибрюшинно вводили гормон (0,1 мг/кг); контролем для них служило такое же количество животных, получавших по той же схеме и в том же объёме физиологический раствор.

Полученные результаты обработаны статистически посредством пакета компьютерных программ с использованием критерия Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение. Эффекты эпифизэктомии. Обучение в лабиринте интактных и ложноперирированных животных происходило однотипно. Независимо от сложности поведенческой задачи, по мере повторного тестирования заметно снижалось количество совершаемых ошибок, причём особенно резко в первые опытные дни, при сохранённом зрительном контроле. Усложнение экспериментальной ситуации на 6-й и 7-й дни вновь приводило к росту числа ошибочных действий при первоначальном погружении крыс в воду, что, однако, существенно не затрудняло их последующее обучение. Сходная закономерность отмечалась и в отношении другого регистрируемого параметра поведения – длительности поиска спасательной площадки. Затрачиваемое на это время в большинстве случаев, хоть и не всегда, прямо коррелировало с числом совершаемых ошибок. По мере становления избегательного навыка не только снижалась величина обоих показателей, но и траектория движения во всех отсеках лабиринта принимала более рациональный вид.

Коль скоро по динамике обучения интактные и ложноперирированные крысы заметно не различались между собой, а последние служат более корректным контролем для экспериментов с эпифизэктомией, в дальнейшем сравнение результатов опытной группы производили именно с этими данными. Удаление же эпифиза в целом неблагоприятно влияло на формирование избегательного ответа.

Несмотря на то что при начальном тестировании в первый опытный день эпифизэктомизированные жи-

вотные успешнее ложноперирированных справлялись с поведенческой задачей, в последующем они совершали гораздо больше ошибочных действий. Это наблюдалось как в случае повторного помещения в воду, так и на разных этапах обучения. При суммировании результатов за все дни экспериментов такое различие принимало статистически значимый вид. Кроме того, следует отметить, что усложнение экспериментальной ситуации для эпифизэктомизированных крыс служило более тяжёлым испытанием, чем для контрольных особей. Сходная тенденция показана и в отношении времени пребывания в лабиринте: после удаления эпифиза при повторном тестировании животные затрачивали его достоверно больше. Ещё одним свидетельством дефектов в обучении служила определённая хаотичность их действий, использование нерациональной траектории движения с целью достижения спасательной площадки.

Действие мелатонина. Во второй серии опытов контрольные крысы, регулярно получавшие инъекции физиологического раствора, в отличие от интактных и ложноперирированных животных предыдущей серии обладали несколько иной динамикой обучения в лабиринте. Они легко приобретали избегательный навык в первые экспериментальные дни, сталкиваясь с лёгкой поведенческой задачей. Однако при её усложнении совершали гораздо чаще ошибки и затрачивали больше времени на формирование адекватного ответа при повторном тестировании (рис.). Нельзя не обратить также внимание на чрезмерную дезорганизацию плавательных движений в первых двух отсеках бассейна. Указанные поведенческие особенности следует, по-видимому, объяснить стрессующим характером самой инъекционной процедуры.

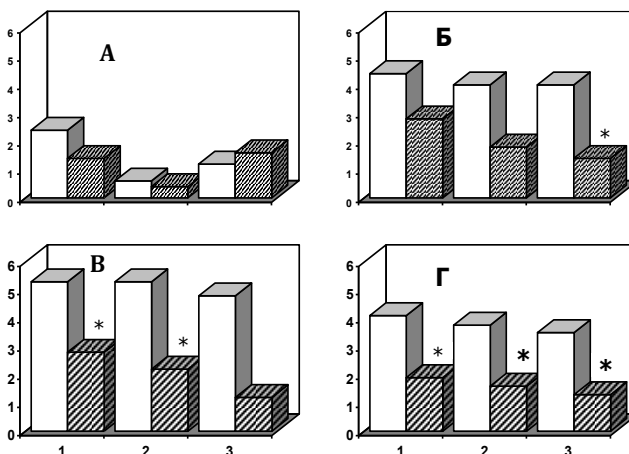


Рис. Влияние мелатонина на число ошибок при формировании избегательного навыка у крыс в водном лабиринте на разных этапах обучения: А, Б, В – результаты в 1, 3 и 6-й опытные дни соответственно; Г – суммарные данные за весь период обучения; 1, 2, 3 – результаты трех последовательных тестирований; светлые столбики – данные контрольной серии опытов (введение физиологического раствора), заштрихованные – эффект мелатонина. * – статистически достоверные сдвиги (P < 0,05)

На таком фоне демонстративно выглядело оптимизирующее действие мелатонина. При хроническом введении гормон восстанавливал обычную динамику обучения в случае повторного помещения животных в воду в один и тот же опытный день и облегчал становление избегательного навыка, несмотря на последующее усложнение поведенческой задачи. Это выразилось как в статистически достоверном снижении

числа совершаемых ошибок (рис.), так и в уменьшении времени, необходимо для выработки защитной реакции. Менялась и плавательная тактика, рисунок траектории которой принимал рациональный вид при минимуме хаотичных действий.

Согласно полученным данным, удаление эпифиза у крыс затрудняет обучение пространственному избегательному навыку в водном лабиринте, тогда как хроническое введение низкой дозы мелатонина приводит к обратному результату. Иными словами, есть основания предполагать наличие у эпифизарного гормона ноотропной активности, направленной на улучшение памяти и обучения животных. Ранее в наших исследованиях и в работах других авторов у мелатонина были показаны отчётливые психотропные свойства в виде противотревожного и антидепрессивного эффектов [10, 15]. Представленные сведения дополняют и расширяют спектр его психотропных возможностей.

Влияние гормона на высшую нервную деятельность, память и обучение, в частности, может реализоваться за счёт прямого вмешательства в работу ряда мозговых структур. В организации этих процессов заинтересованы, как известно, неокортекс, подкорковые лимбические образования, базальные ганглии. Их функцию гормон, очевидно, способен менять через идентифицированные здесь специфические мелатониновые рецепторы [18].

В основе психотропных, в том числе ноотропных, свойств мелатонина могут лежать различные клеточные механизмы. Прежде всего, мелатонин в состоянии влиять на синаптическое проведение, модулируя активность серотонин-, дофамин-, ГАМК-ергических синапсов. Кроме того, гормон непосредственно вмешивается в нейрональные внутриклеточные процессы, среди прочего выступая в роли «ловушки» свободных радикалов, ограничивает различные формы нейроинтоксикации [2, 11, 12].

Вместе с тем, учитывая характер использованной поведенческой модели, для объяснения установленных фактов следует принимать в расчёт и другие обстоятельства. В частности, одной из причин улучшения мелатонином обучения пространственному навыку животных может служить его влияние на функцию нигро-стриатных механизмов. Известно, что связи чёрной субстанции среднего мозга с полосатым телом вносят существенный вклад в организацию сложных форм поведения в пространстве [9]. Между тем гормон не только модулирует нигро-стриатную дофаминергическую передачу, но и защищает нигральные нейроны от химического повреждения [3, 17]. Хотя модифицированный водный лабиринт предназначен для максимального снижения роли зрения при решении животными поведенческой задачи, полностью исключить данный фактор, видимо, нельзя. У мелатонина же в одной из наших предыдущих работ показана способность улучшать зрительное восприятие за счёт повышения светочувствительности сетчатки глаза [4].

Заключение. Таким образом, в модифицированном водном лабиринте эпифизэктомированные крысы по сравнению с ложнооперированными обучаются гораздо хуже. Это проявляется в том, что животные чаще совершают ошибки и затрачивают больше времени при поиске спасательной площадки. Хроническое введение животным низкой дозы мелатонина на протяжении всего периода обучения в лабиринте заметно облегчает этот процесс. Эти крысы быстрее, чем контрольные, приобретают пространственный избегательный навык и реже допускают ошибочные действия. Представленные сведения позволяют предполагать наличие у эпифизарного гормона мнестических свойств. Если данный факт получит подтверждение в исследованиях на людях, можно будет предположить, что ухудшение памяти и обучения у пожилых может отчасти определяться хорошо известной возрастной инволюцией железы.

Литература

1. Арушанян, Э. Б. Участие эпифиза в антистрессовой защите мозга / Э. Б. Арушанян // Успехи физиол. наук. – 1996. – Т. 27, № 3. – С. 31–50.
2. Арушанян, Э. Б. Лекарственное улучшение познавательной деятельности мозга / Э. Б. Арушанян. – Ставрополь, 2004. – 400 с.
3. Арушанян, Э. Б. Роль эпифиза в патогенезе депрессии / Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов // Журн. высш. нервн. деят. – 1991. – Т. 41, № 4. – С. 822–827.
4. Арушанян, Э. Б. Мелатонин снижает порог светочувствительности сетчатки глаза человека / Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов // Экспер. и клин. фармакол. – 1999. – Т. 62, № 2. – С. 58–61.
5. Буреш, Я. Методы и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Берешова, Д. П. Хьюстон. – М., 1991. – 397 с.
6. Воронина, Т. А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Т. А. Воронина, Р. У. Островская // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – 153 с.
7. Лунин, С. М. Модифицированный водный лабиринт для исследования пространственной памяти крыс / С. М. Лунин, В. В. Нестеров, И. В. Нестерова, Н. В. Бобикова // Журн. высш. нервн. деят. – 2001. – Т. 51, № 6. – С. 762–766.
8. Ованесов, К. Б. Модификация оперативного подхода при удалении эпифиза у крыс / К. Б. Ованесов // Актуальные проблемы хирургии. – Ставрополь, 1987. – С. 173–175.
9. Отеллин, В. А. Нигрострионигральная система / В. А. Отеллин, Э. Б. Арушанян. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.
10. Arushanian, E. B. Antidepressive and anxiolytic properties of melatonin: behavioral and biochemical evidences / E. B. Arushanian, A. E. Arushanian, E. M. Cernyshova [et al.] // VII Europ. Pineal Soc. Colloquium. – Barcelona, 1996. – P. 71.
11. Benitez-King, G. Calmodulin and protein kinase C are two Ca-binding proteins that mediate of melatonin intracellular signals / G. Benitez-King, F. Anton-Tay // VII Europ. Pineal Soc. Colloquium. – Barcelona, 1996. – P. 15.
12. Cardinali, D. P. Molecular mechanisms of neuroendocrine integration in the central nervous system / D. P. Cardinali // Psychoneuroendocrinol. – 1983. – Vol. 8. – P. 3–11.
13. Collinson, N. Enhanced learning and memory and altered GABAergic synaptic transmission in mice lacking the alpha 5 subunit of the GABA receptor / N. Collinson, F. M. Kuenzi, W. Jarolimek [et al.] // J. Neurosci. – 2002. – Vol. 22. – P. 5572–5579.
14. Francis-Turner, L. Nerve growth factor and nootropic drug cerebrolysin can reduce spatial memory impairment elicited by fimbria-fornix transection / L. Francis-Turner, V. Valouskova // Neurosci. Lett. – 1996. – Vol. 202. – P. 193–198.
15. Golombek, D. A. Melatonin as an anxiolytic in rats: time dependence and interaction with the central GABAergic system / D. A. Golombek, M. Martini, D. P. Cardinali // Eur. J. Pharmacol. – 1993. – Vol. 237. – P. 231–237.
16. Gozes, I. Activity-dependent neurotrophic factor: intranasal administration of pentomolar-acting peptides improve performance in a water maze / I. Gozes, E. Giladi, A. Pinhasov [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 2000. – Vol. 293. – P. 1091–1098.
17. Jin, B. K. Melatonin protects nigral dopaminergic neurons from 1-methyl-4-phenylpyridinium neurotoxicity in rats / B. K. Jin, D. J. Shin, M. J. Jeong [et al.] // Neurosci. Lett. – 1998. – Vol. 245. – P. 61–69.
18. Stankov, B. Melatonin binding sites in the central nervous system / B. Stankov, F. Fraschini, R. J. Reiter // Brain Res. Rev. – 1991. – Vol. 16. – P. 245–257.

References

1. Arushanian E. B. *Uspechi fiziologicheskikh nauk. – Successes of Physiological Sci.* 1996;27(3):31-50.
2. Arushanian E. B. Lekarstvennoe ulutnenie poznavatelnoy deyatelnosti mozga. Stavropol: «Stavropol State Med. Univ. Publ.», 2004.
3. Arushanian E. B. *J. Vish. Nervn. Deyat. – I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity.* 1991;41(4):822-827.
4. Arushanian E. B., Ovanesov K. B. *Experimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. – Exp. Clin. Pharmacol.* 1999;62(2):58-61.
5. Buresh Y., Bereshova O., Houston P. D. Techniques and basic experiments for study of brain and behavior. M., 1991.
6. Voronina T. A., Octrovskaya R. U. Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu nootropnoy aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv. M., 2000.
7. Lunin S. M., Nesterov V. V., Nesterova I. V., Bobikova N. V. *J. Vish. Nervn. Deyat. – I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity.* 2001;51(6):762-766.
8. Ovanesov K. B. Modifikatsiya operativnogo podkhoda pri udalenii epifiza u krysa. Actual problems of surgery. Stavropol, 1987:173-175.
9. Otellin V. A., Arushanian E. B. Nigrostrionigralnaya sistema. M.; 1989.
10. Arushanian E. B., Arushanian A. E., Cernyshova E. M. Antidepressive and anxiolytic properties of melatonin: behavioral and biochemical evidences. VII Europ. Pineal Soc. Colloquium. Barcelona; 1996: 71.
11. Benitez-King G., Anton-Tay F. Calmodulin and protein kinase C are two Ca-binding proteins that mediate of melatonin intracellular signals. VII Europ. Pineal Soc. Colloquium. Barcelona; 1996:15.
12. Cardinali D. P. *Psychoneuroendocrinol.* 1983;8:3-11.
13. Collinson N., Kuenzi F. M., Jarolimek W. *J. Neurosci.* 2002;22:5572-5579.
14. Francis-Turner L., Valouskova V. *Neurosci. Lett.* 1996;202:193-198.
15. Golombek D. A., Martini M., Cardinali D. P. *Eur. J. Pharmacol.* 1993;237:231-237.
16. Gozes I., Giladi E., Pinhasov A. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 2000;293:1091-1098.
17. Jin B. K., Shin D. J., Jeong M. J. *Neurosci. Lett.* 1998;245:61-69.
18. Stankov B., Frascini F., Reiter R. J. *Brain Res. Rev.* 1991;16:245-257.

Сведения об авторах:

Арушанян Эдуард Бениаминович, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии; тел.: (8652)353429; e-mail: pharmacology@stgma.ru

Ованесов Карэн Борисович, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии; тел.: (8652)354881; e-mail: ovanesov2007@mail.ru

© Коллектив авторов, 2017

УДК 616.12-008.331.1-08

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12121>

ISSN – 2073-8137

РЕНАЛЬНАЯ ДЕНЕРВАЦИЯ – НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ПОИСКАХ ОПТИМИЗАЦИИ ГИПОТЕНЗИВНОГО ЭФФЕКТА

Д. И. Башта³, А. Б. Романов¹, В. Н. Колесников³, Э. Х. Байчоров²,
Л. И. Виленский³, В. И. Трухачев⁴, А. Ю. Криворучко⁴, С. П. Данников⁴

¹ Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е. Н. Мешалкина, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

³ Краевой клинический кардиологический диспансер, Ставрополь, Россия

⁴ Ставропольский государственный аграрный университет, Россия

RENAL DENERVATION – NEW APPROACHES IN THE SEARCH FOR OPTIMIZATION OF HYPOTENSIVE EFFECT

Bashta D. I.³, Romanov A. B.¹, Kolesnikov V. N.³, Baichorov E. H.²,
Vilenskii L. I.³, Trukhachev V. I.⁴, Krivoruchko A. Yu.⁴, Dannikov S. P.⁴

¹ Novosibirsk State Research Institute of Circulation Pathology named after E. N. Meshalkin, Russia

² Stavropol State Medical University, Russia

³ Stavropol Regional Clinical Cardiological Dispensary, Russia

⁴ Stavropol State Agrarian University, Russia

Представлены первые результаты пилотного исследования на животных с целью изучения эффективности и безопасности метода лапароскопической ренальной денервации при резистентной форме артериальной гипертензии. Ренальная денервация выполнялась лапароскопическим доступом, прерывались как параартериальные нервные волокна в жировой клетчатке, так и располагающиеся в адвентициальном слое почечной артерии.

Ключевые слова: резистентная артериальная гипертензия, ренальная денервация, исследование на животных