

УДК: 612.81+615.214.2

Ю.В. Сидорова, Д.В. Евдокимов, И.И. Абрамец

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ПСИХИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ И ВЕРОЯТНЫЕ ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Реферат. Хроническое введение дексаметазона крысам с питьевой водой в суточной дозе 0,5 мг/кг в течение недели оказывало анксиогенное и депрессивное действие, а также нарушало выработку и воспроизведение навыка условнорефлекторной реакции активного избегания. В исследовании на горизонтальных срезах медиальной префронтальной коры крыс, получавших дексаметазон, выявлено снижение амплитуд популяционных возбуждающих постсинаптических потенциалов пирамидных нейронов V слоя, их N-метил-D-аспартат компонентов, угнетение экспрессии длительной потенциации, но облегчение развития длительной депрессии синаптической передачи. Используемые психофармакологические средства лишь частично ослабляли вызываемые дексаметазоном поведенческие и нейрохимические нарушения. Только антагонист Ca_2^+ верапамил в умеренной степени устранял проявления дексаметазоновой нейротоксичности на клеточном и организменном уровнях. Полученные данные позволяют рекомендовать верапамил для ослабления психических проявлений побочного действия малых доз дексаметазона.

Ключевые слова: дексаметазон, тревога, депрессия, навыки обучения, возбуждающие постсинаптические потенциалы, N-метил-D-аспартат рецепторы, AMPA рецепторы, синаптическая пластичность, психофармакологические средства, верапамил.

Введение. В клинической практике сегодня используются исключительно синтетические глюкокортикостероиды (ГК), обладающие мощной противовоспалительной, иммуносупрессивной и антиаллергической активностью при слабых или даже нулевых минералокортикоидных эффектах, в связи с чем они относятся к наиболее часто применяемым препаратам в различных областях медицины [2, 13, 15, 25, 40]. На Европейском симпозиуме по глюкокортикоидной терапии (ГКТ) был принят Консенсус по номенклатуре доз и режимов применения ГК. Согласно обсуждаемому Консенсусу, суточные дозировки ГК 7,5 мг и ниже обозначаются как низкие; суточные дозировки $> 7,5 \text{ мг} \leq 30 \text{ мг}$ — как средние; суточные дозировки $> 30 \text{ мг} \leq 100 \text{ мг}$ — как высокие; суточные дозировки $> 100 \text{ мг}$ — как очень высокие и пульс-терапия $\geq 250 \text{ мг/сутки}$ в/в. Все дозировки ГК даны в преднизолоновом эквиваленте. Наиболее часто используют средние и высокие суточные дозировки.

В литературе достаточно подробно описаны соматические проявления осложнений

ГК терапии — изъязвления слизистых желудочно-кишечного тракта, угнетение системы фибринолиза и усиление тромбообразования, остеопороз, иммунодефицитные состояния, эндокринные нарушения, расстройства водно-солевого обмена и др. [2]. В то же время психическим проявлениям осложнений ГК терапии уделялось более скромное внимание, поскольку, в отличие от соматических осложнений, они не несут непосредственной угрозы жизни пациента. Психические проявления осложнений ГК терапии зачастую отождествляют с нарушениями когнитивных, эмоциональных и мотивационных процессов, вызываемых воздействием на субъект хронического стресса [3, 10, 23].

Действительно, гормоны стресса (гидрокортизон у приматов и человека и кортикостерон у грызунов), активируя ГК и минералокортикоидные рецепторы нейронов переднемозговых структур, вызывают длительные нарушения когнитивных, эмоциональных и мотивационных процессов [30]. Хронический стресс приводит к нарушению центральной регуляции деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, изменению баланса ГК, повреждению нейронов префронтальной коры (ПФК), гиппокампа (ГП) и миндалевидного комплекса [38, 39]. Это, в свою очередь, приводит к нарушениям краткосрочной памяти, поведенческой гибкости, мониторинга новизны, принятию решений [6, 7, 27]. Тем не менее, затруднительно отождествлять нейрохимические процессы, индуцируемые хроническим стрессом, с таковыми при хроническом воздействии на организм ГК, поскольку развитие реакций мозга на воздействие стресса определяется не только ГК, но и гипоталамическим кортикотропин-высвобождающим гормоном (CRF), кортикотропином, вазопрессином [9].

В связи с этим, в настоящем исследовании выявлены поведенческие проявления нарушений когнитивных и эмоциональных процессов при хроническом в течение 7 дней введении крысам синтетического ГК дексаметазона (Дмз) в достаточно большой дозе 0,5 мг/кг/сутки. В исследованиях на переживающих срезах медиальной (м) ПФК проана-

лизируются нейрофизиологические и нейрохимические механизмы развития указанных психических процессов.

Материалы и методы. Исследования выполнены на белых беспородных крысах массой 150–250 г, которые содержались в клетках по 4–6 особей, в условиях 12 часового цикла светлое/тёмное время (включение света в 7⁰⁰) со свободным доступом к воде и пище. Исследования выполнены в соответствии с требованиями комиссии по биоэтике ДонНМУ им. М. Горького.

Дмз (KRKA, Словения) растворяли в питьевой воде в такой концентрации, чтобы с потребляемой водой крысы получали стероид в дозе 0,5 мг/кг за сутки. Точность дозирования Дмз в отдельных сериях исследований колебалась в границах $\sim \pm 10\%$. Находящийся в поилках свежеприготовленный раствор Дмз меняли каждое утро в 7⁰⁰ часов на протяжении 7 дней. На 8-й день крысам в поилках давали питьевую воду без Дмз и в 10⁰⁰–11⁰⁰ часов крыс брали в поведенческие или электрофизиологические исследования.

Вызываемые хроническим введением Дмз поведенческие реакции проявлялись изменениями уровней депрессивности и тревожности крыс, а также нарушениями выработки и воспроизведения навыков обучения. Уровень депрессивности животных определяли по общепринятой методике [35]. Крыс помещали в аквариумы высотой 50 см, заполненные водой на 2/3 высоты; температура воды — 22–25 °С. Регистрировали время иммобилизации крыс, которая проявлялась пассивным плаванием без движений конечностями, причем передние лапы были прижаты к груди, задние вытянуты, в течение сеанса вынужденного плавания продолжительностью 300 с. Уровень тревожности крыс определяли в аппарате приподнятый крестообразный лабиринт [16]. Животных помещали в центральную площадку лицом к открытому рукаву аппарата. В течение 5 мин регистрировали время пребывания животных в открытых рукавах в с и количество выходов в открытые рукава. Способность к обучению и сохранение следов памяти регистрировали с помощью метода условной реакции активного избегания [24]. Условным раздражителем служил звонок, который включался за 5 с до безусловного электроболевого раздражителя лап (50 Гц, 1 мА). Избегание осуществлялось путём вспрыгивания крыс на стержень, соединённый с выключателем напряжения, подаваемого на электрифицированный пол установки. Определяли количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимых для выработки стабильного условного рефлекса с минимальным латентным временем его воспроизведения.

В электрофизиологических исследованиях на переживающих срезах медиальной префронтальной коры (мПФК) изучали изменения релейных и пластических свойств синапсов, образованных афферентами медиодорзального таламуса и дендритами пирамидных нейронов V слоя. Крыс наркотизировали кетаминном внутривенно в дозе 50 мг/кг и подвергали декапитации. После этого вскрывали череп и из него извлекали головной мозг, который тотчас охлаждали раствором для препарования, в котором большая часть ионов натрия была замещена сахарозой, в 20 раз понижена концентрация кальция, но в три раза повышено содержание магния. Температура этого раствора поддерживалась на уровне 4–6 °С. Срезы мПФК выделяли из переднего полюса мозга, который фиксировали с помощью цианакрилового клея и агарового блока на площадке вибратора. Последняя находилась в ванночке, заполненной охлажденным и насыщенным карбогеном (смесь 95 % O₂ и 5 % CO₂) раствором для препарования. С помощью вибратора готовили продольные срезы мозга, содержащие прелимбическую и инфраламбическую области мПФК, толщиной 400–450 мкм. Далее из срезов выделяли мПФК, которую переносили в инкубационную камеру объемом 3 мл. Через эту камеру постоянно протекал раствор Кребса стандартного состава в мМ: NaCl — 124, KCl — 3, KH₂PO₄ — 1,25; NaHCO₃ — 26, CaCl₂ — 2, MgSO₄ — 1, глюкоза — 10 со скоростью 2 мл/мин при температуре 25 °С. Раствор Кребса в инкубационной камере постоянно насыщался карбогеном. Через 60–90 мин пребывания в инкубационной камере срезы мозга переносили для электрофизиологических исследований в рабочую камеру объемом 0,5 мл и фиксировали стимулирующим электродом. В рабочей камере срезы суперфузировали насыщенным карбогеном раствором Кребса со скоростью 2 мл/мин при температуре 28 ± 1 °С. Регистрировали популяционные возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) пирамидных нейронов V/VI слоев мПФК, которые вызывали электрической стимуляцией проходящих во II/III слоях таламических афферентов. Стимуляцию синаптических входов осуществляли с помощью биполярного нихромового электрода прямоугольными импульсами тока длительностью 0,1 мс, частотой 0,033 с⁻¹. После того, как амплитуда пВПСП стабилизировалась строили кривую зависимости амплитуды пВПСП от интенсивности пресинаптической стимуляции.

N-метил-D-аспартат (НМДА) компонент пВПСП пирамидных нейронов V слоя выделяли фармакологически. Для этого срезы мПФК суперфузировали раствором Кребса со сниженной до 0,2 мМ концентрацией Mg²⁺ и добавлением 10 мкМ блокатора AMPA ре-

цепторов — 6,7-динитрохиноксалин-2,3-диона (DNQX), 50 мкМ неконкурентного блокатора ГАМКА рецепторов пикротоксина и 1 мкМ ко-агониста НМДА рецепторов глицина. Помимо этого, исследовали две формы пластичности глутаматергических синапсов пирамидных нейронов V слоя мПФК — длительную потенциацию и длительную депрессию. Длительную потенциацию (ДП) вызывали четырехкратной с интервалом 10 с тетанической стимуляцией таламических афферентов, проходящих во II/III слоях частой 100 с^{-1} длительностью 1 с; интенсивность стимуляции подбиралась таким образом, чтобы амплитуда ПВСП составляла $\sim 1/3$ от максимальной. Длительную депрессию (ДД) вызывали низкочастотной 5 с^{-1} тетанической стимуляцией синаптических входов продолжительностью 10 мин; интенсивность стимуляции подбиралась субмаксимальной ($\sim 0,7\text{--}0,8$ максимальной). Каждая серия опытов выполнена на 6–9 срезах мозга, взятых от 3–4 животных.

Для выяснения нейрофизиологической и нейрохимической природы наблюдаемых поведенческих и нейрональных эффектов использовали следующие вещества-анализаторы: ингибитор обратного захвата норадреналина и серотонина импрамин (EGYS, Венгрия), селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин (Украина), неконкурентный блокатор НМДА рецепторов кетамин (Биолек, Украина), конкурентный блокатор АМРА рецепторов — 6,7-динитрохиноксалин-2,3-дион (RBI, США), неконкурентный блокатор ГАМКА рецепторов пикротоксин (Merk, ФРГ), ко-агонист НМДА рецепторов глицин (Олайнфарма, Литва), блокатор потенциалозависимых Ca_2^+ каналов L-типа верапамил (Orion Pharma Int., Финляндия), позитивный аллостерический модулятор ГАМКА рецепторов диазепам (Gideon Richter, Венгрия).

Результаты исследований обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с помощью лицензионной программы «Medstat». Для каждой серии определяли среднюю и стандартную ошибку средней. Результаты анализировали, используя метод ANOVA для оценки различий между более чем двумя группами. Для сравнения различий между двумя группами использовали t тест Стьюдента. Величина $P < 0,05$ расценивалась как статистически значимая.

Результаты и обсуждение. Введение крысам с питьевой водой Дмз в суточной дозе 0,5 мг/кг в течение 7 дней вызывало повышение уровня тревожности животных. Анксиогенное действие Дмз проявлялось снижением времени пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ (рис. 1) уменьшением количества выходов в открытые рукава аппарата. Действительно, время пребывания крыс в откры-

тых рукавах снижалось до $83,3 \pm 8,3$ с против $136,3 \pm 21,2$ с в контроле ($P = 0,034$). Помимо этого, в условиях хронического введения Дмз снижалось количество переходов из закрытых в открытые рукава ПКЛ до $2,4 \pm 0,2$ против $5,3 \pm 0,5$ в контроле; $P = 0,0001$ (не иллюстрировано). Введение крысам, получавшим Дмз, диазепама в дозе 2 мг/кг внутривентриально за 1 час до тестирования в аппарате ПКЛ вызывало анксиолитический эффект, который проявлялся (рис. 1) увеличением времени пребывания крыс в открытых рукавах ПКЛ до $107,9 \pm 8,0$ с против $83,3 \pm 8,3$ с в условиях хронического введения Дмз. Исследуемые антидепрессанты — флуоксетин и имипрамин, вводимые внутривентриально в дозе 20 мг/кг в течение 14 дней (с 8 по 14-й дни антидепрессанты вводили совместно с Дмз) не оказывали влияния на обусловленный Дмз повышенный уровень тревожности у крыс (рис. 1): время пребывания животных в открытых рукавах равнялось $99,0 \pm 4,5$ с и $96,0 \pm 5,5$ с соответственно против $83,3 \pm 8,3$ с в контроле ($P > 0,05$). Блокатор потенциалозависимых кальциевых каналов (ПЗКК) L-типа верапамил вводимый в дозе 20 мг/кг за 1 час до тестирования подобно диазепаму вызывал

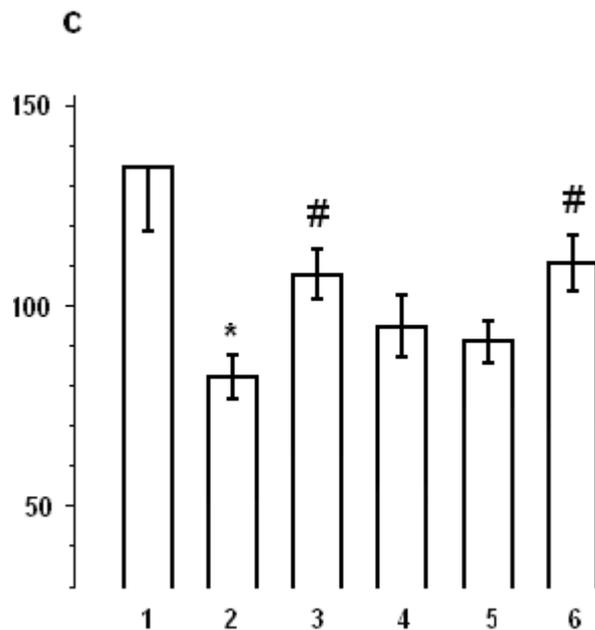


Рис. 1. Увеличение времени пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ в условиях хронического введения Дмз и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Столбец 1 — время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ в контроле, 2 — то же при хроническом введении Дмз; время пребывания крыс в открытых рукавах аппарата ПКЛ при хроническом введении Дмз на фоне действия: 3 — 2 мг/кг диазепама, 4—20 мг/кг имипрамина, 5—20 мг/кг флуоксетина, 6—20 мг/кг верапамила.

Каждый столбец представляет среднюю \pm стандартную ошибку средней; * — $P < 0,05$ по отношению к контролю; # — $P < 0,05$ по отношению к столбцу 2 ($n = 9$).

По вертикальной шкале время в с.

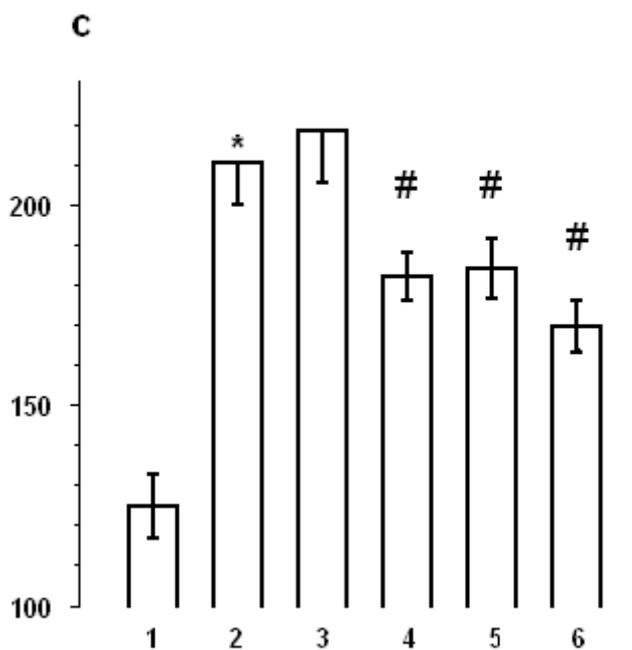


Рис. 2. Увеличение времени иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания в условиях хронического введения Дмз и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Обозначения как на рис. 1.

снижение уровня тревожности у крыс, повышенного Дмз (рис. 1). Действительно, верапамил достоверно ($P = 0,017$) увеличивал время пребывания животных в открытых рукавах ПКЛ до $109,0 \pm 9,1$ с, а количество переходов из закрытых в открытые рукава до $4,3 \pm 0,37$ ($P = 0,005$).

Хроническое воздействие на организм животных высоких доз дексаметазона повышало уровень депрессивности животных. Это проявлялось увеличением времени иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания (рис. 2). Действительно, в этих условиях время иммобилизации возрастало до $211,0 \pm 6,8$ с против $125,0 \pm 6,28$ с в контроле; $P = 0,005$. В отличие от влияния на уровень тревожности диазепам не оказывал влияния на вызванное Дмз повышение уровня депрессивности (рис. 2): время иммобилизации крыс на фоне диазепама $219,0 \pm 6,5$ с против $211,0 \pm 6,8$ с на фоне хронического введения Дмз; $P > 0,05$. Антидепрессанты — флуоксетин и имипрамин достоверно ($P < 0,05$) снижали увеличенное Дмз время иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания до $183,0 \pm 5,7$ с и $185,0 \pm 4,3$ с соответственно против $211,0 \pm 6,8$ с на фоне Дмз (рис. 2). Антидепрессанто-подобную активность проявлял также блокатор ПЗКК верапамил (рис. 2), который снижал время иммобилизации крыс, получавших Дмз, до $170,0 \pm 5,2$ с против $211,0 \pm 6,8$ с; $P = 0,003$.

Хроническое введение крысам Дмз вызывало нарушение не только эмоциональных и мотивационных процессов, но и выработки и воспроизведения навыков обучения. В этих условиях наблюдали увеличение латентного

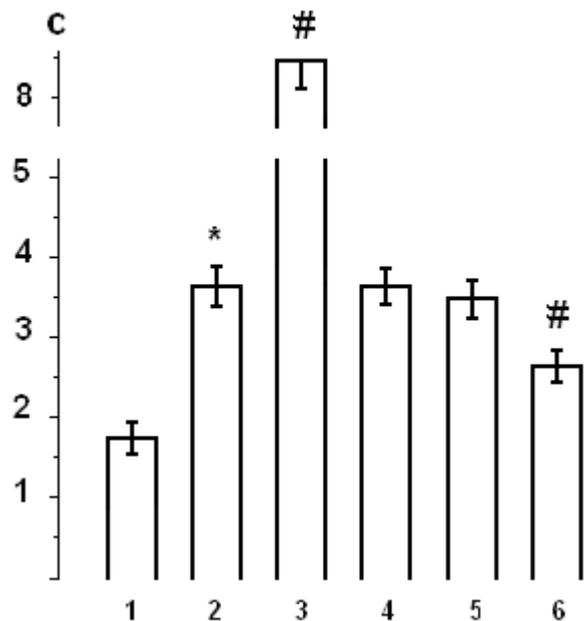


Рис. 3. Увеличение латентного времени воспроизведения навыка УРАИ при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Обозначения как на рис. 1.

периода УРАИ и количества сочетаний условного и безусловного раздражителей для получения стабильной УРАИ (рис.3): так латентный период возрос до $3,6 \pm 0,32$ с против $1,75 \pm 0,20$ с и $7,6 \pm 0,26$ сочетаний против $4,63 \pm 0,25$ в контроле ($P < 0,05$). Диазепам вызывал дальнейшее увеличение латентного периода УРАИ до $8,5 \pm 2,3$ с, хотя уменьшал количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимое для выработки устойчивой УРАИ — $4,5 \pm 0,22$ против $7,6 \pm 0,26$ на фоне только Дмз; $P = 0,0001$. Флуоксетин и имипрамин не влияли на латентный период УРАИ — $3,6 \pm 0,12$ с и $3,7 \pm 0,18$ с соответственно против $3,6 \pm 0,32$ с на фоне Дмз; $P > 0,05$ (рис. 3) и на количество сочетаний условного и безусловного раздражителей, необходимое для получения воспроизводимой УРАИ: $6,9 \pm 0,26$ и $6,7 \pm 0,28$ против $7,6 \pm 0,26$; $P > 0,05$. На фоне хронического введения Дмз верапамил оказывал оптимизирующее влияние на параметры УРАИ (рис. 3), достоверно снижая латентный период до $2,87 \pm 0,15$ с против $3,6 \pm 0,32$ ($P = 0,047$) и количество сочетаний раздражителей до $6,7 \pm 0,21$ против $7,6 \pm 0,26$ ($P = 0,025$).

Хроническое введение Дмз вызывало изменения функционального состояния нейронов лимбических структур мозга, которые участвуют в формировании поведенческих реакций животных. Исследуя лимбическую структуру — мПФК, мы обнаружили изменения релейных и пластических свойств глутаматергических синапсов. Как следует из рис. 4, на фоне хронического введения Дмз имеет место снижение глутаматергической передачи в синапсах, образованных афферентами медиодорсального таламуса и дендритами пи-

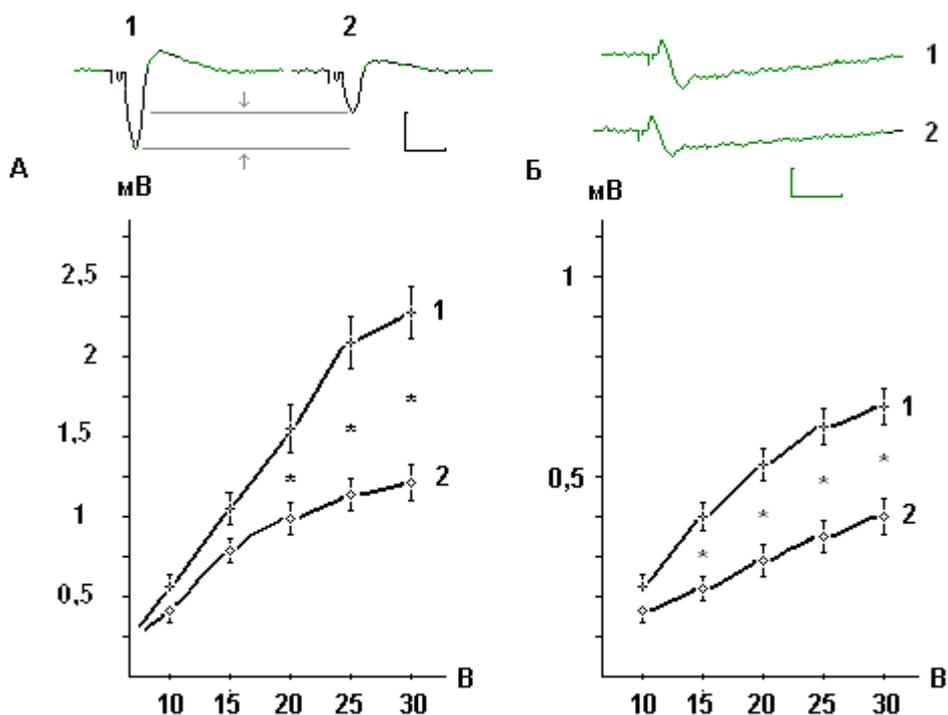


Рис. 4. Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры (А) и их НМДА компонента (Б) в условиях хронического введения Дмз

Сверху образцы максимальных пВПСП пирамидных нейронов (А) и их НМДА компоненты (Б), усредненных по 10 реализациям, в контрольных условиях (1) и на фоне хронического введения Дмз (2) соответственно.

Внизу графики зависимости средних амплитуд пВПСП и их НМДА компонентов (в мВ) от интенсивности пресинаптической стимуляции (в В) в контроле (1) и на фоне хронического введения Дмз (2) соответственно.

Калибровка: 1 мВ (А), 0,5 и В (Б); 10 мс.

рамыдных нейронов, о чем свидетельствует снижение амплитуды пВПСП. Поскольку в пирамидных нейронах мПФК генерация ВПСП обусловлена активацией как АМРА, так и НМДА рецепторов [12], установлено, что снижение амплитуд пВПСП происходит за счет уменьшения и АМРА, и НМДА компонентов фокальных потенциалов (рис. 4). Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов не сопровождалось изменением величин парного облегчения при межимпульсном интер-

валу 50 мс — $1,75 \pm 0,36$ против $1,67 \pm 0,29$ в контроле ($P > 0,05$). Хроническое введение Дмз крысам вызывало также нарушения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов мПФК. Действительно, в эти условия наблюдали угнетение экспрессии ДП синаптической передачи (рис. 5), величина которой составляла $108,3 \pm 5,4$ % против $142,3 \pm 6,9$ % в контроле; $P = 0,004$. С другой стороны, в контрольных условиях вызываемая низкочастотной стимуляцией ДД синаптической передачи проявлялась снижением амплитуд пВПСП до $85,1 \pm 3,2$ % на 30-й мин после прекращения НС синаптических входов (рис. 5). В тоже время, на фоне Дмз наблюдали усиление экспрессии ДД — $72,3 \pm 5,1$ % против $85,1 \pm 3,2$ % в контроле;

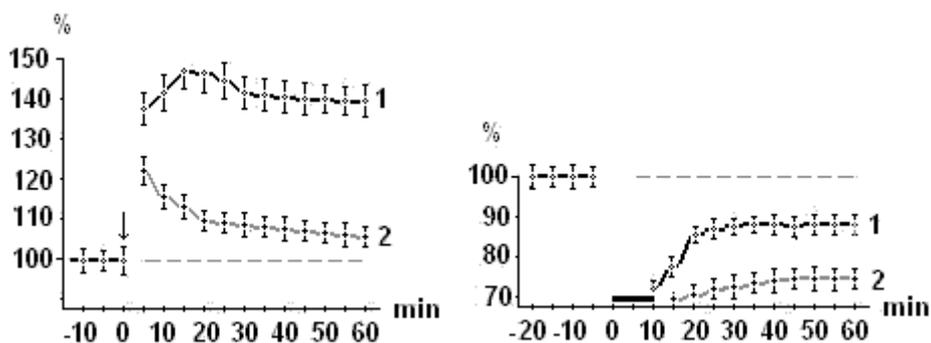


Рис. 5. Динамика развития длительной потенциации (слева) и длительной депрессии (справа) синаптической передачи в пирамидных нейронах V слоя медиальной префронтальной коры в контроле (1) и на фоне хронического введения Дмз (2).

По вертикальной шкале — амплитуда постсинаптических потенциалов в %, по горизонтальной — время в мин.

Стрелкой слева и темным прямоугольником справа обозначено время тетанической стимуляции синаптических входов.

$P = 0,05$. В срезах мПФК, взятых через 1 час после введения диазепама не выявлено влияния на развитие ДП $112,3 \pm 5,4$ % против $108,3 \pm 5,4$ % на фоне только Дмз ($P > 0,05$), но обнаружено выраженное угнетающее влияние анксиолитика на экспрессию ДД (рис. 5). Антидепрессанты флуоксетин и имипрамин облегчали развитие ДП у животных, получавших Дмз: $144,6 \pm 7,2$ % и $150,4 \pm 7,4$ % против $108,3 \pm 5,4$ % на фоне только Дмз ($P < 0,05$). В тоже время, оба антидепрессанта существенно ослабляли вызываемые Дмз изменения экспрессии ДД синаптической передачи (рис. 5). Как и антидепрессанты блокатор ПЗКК верапамил облегчал развитие ДП синаптической передачи (рис. 5) — $127,4 \pm 4,9$ % против $108 \pm 5,4$ % на фоне действия Дмз ($P = 0,03$), но угнетал усиленную экспрессию ДД — $88,3 \pm 4,7$ % против $72,3 \pm 5,1$ % ($P = 0,04$).

Наблюдаемые в условиях хронического введения Дмз повышение уровней тревожности и депрессивности, а также

Таблица. Влияние неселективного и селективных в отношении НМДА рецепторов разной субъединичной композиции блокаторов на амплитуды НМДА компонентов пВПСП пирамидных нейронов.

Условия эксперимента	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП кетамином (30 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП ZnSO ₄ (10 мкМ)	Степень угнетения НМДА-компонента пВПСП галоперидолом (5 мкМ)
Контроль	38,2 ± 4,1 %	35,8 ± 4,0 %	33,6 ± 3,7 %
Хроническое введение Дмз	58,3 ± 3,3 % *	56,2 ± 3,7 % *	50,9 ± 4,1 % *

Примечание: в каждом столбце представлена средняя ± стандартная ошибка средней.

* — величины статистически достоверно отличаются от контроля при $P < 0,05$.

нарушение выработки и воспроизведения навыков УРАИ (рис. 1–3) может быть следствием ослабления глутаматергической синаптической передачи и изменений синаптической пластичности в лимбических структурах мозга (в нашем случае в мПФК). Схематически можно представить, что первичное звено, приводящее к нарушениям эмоциональных и когнитивных процессов — недостаточность возбуждающей глутаматергической синаптической передачи между и внутри лимбических структур. Это, в свою очередь, затрудняет реализацию пластических феноменов в синаптических полях нейронов, на которых базируется приобретение навыков и приспособление к изменяющимся условиям жизни. Действительно, имеются убедительные данные о том, что исполнительные функции зависят от формирования и сохранения длительных нейрональных следов в мПФК [41, 43], а синаптическая пластичность коры является основой этих следов. Длительные изменения частоты разрядов нейронов и синаптической передачи в мПФК определяются при выполнении дискриминационных задач и адаптации поведения [18, 32].

О том, что хроническое введение крысам Дмз вызывает нарушение глутаматергической возбуждающей синаптической передачи в мПФК свидетельствует снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов и их НМДА компонентов (рис. 4). Снижение амплитуд пВПСП имеет постсинаптическую природу, поскольку этот эффект, как отмечалось ранее, не сопровождался изменением величины парного облегчения при межимпульсном интервале 50 мс. Почему Дмз в условиях хронического введения угнетает глутаматергическую передачу? При однократном введении животным или воздействию на срезы мозга ГК, напротив, вызывают облегчение синаптической передачи [1, 45]. Первоначально это связывали с нарушением клиренса глутамата, поскольку было установлено, что ГК снижают функциональную активность нейрональных и глиальных транслоказ глутамата [11]. Хроническое повышение внеклеточной концентрации глутамата должно вы-

зывать гомеостатическую даун-регуляцию ионотропных глутаматных рецепторов [34]. Действительно, как следует из рис. 4, наблюдается практически параллельное снижение амплитуд как пВПСП, так и их составляющих компонентов. Но если даун-регуляция глутаматных рецепторов связана исключительно с угнетением активности глутаматных транспортеров, то в этом случае должно наблюдаться увеличение продолжительности ВПСП [11]. Однако в условиях хронического введения Дмз мы не наблюдали увеличения продолжительности пВПСП и их НМДА компонентов (рис. 4). AMPA и НМДА рецепторы являются гетеродимерами, причем комбинации формирующих эти рецепторы субъединиц зависят от времени развития мозга и их локализации в мозге. Повсеместно в мозге локализованы ГлуР1 субъединица AMPA и NR1 субъединица НМДА рецепторов [33]. Поскольку наблюдается определенный параллелизм в снижении величин ответов нейронов, опосредуемых активацией ионотропных глутаматных рецепторов (рис. 4), можно думать, что Дмз через посредство ядерных ГК рецепторов угнетает экспрессию повсеместно распространенных субъединиц глутаматных рецепторов. Это подтверждается тем, что неселективный блокатор НМДА рецепторов кетамин, как и блокаторы селективные в отношении НМДА рецепторов, содержащих NR2A и NR2B субъединицы, Zn²⁺ и галоперидол [20, 21] соответственно более интенсивно, но в одинаковой степени по сравнению с контролем угнетали НМДА компоненты пВПСП (табл). Кроме того, в исследованиях на префронтальной коре крыс установлено, что хроническая активация ГК рецепторов вызывает усиление разрушения Глу Р1 и NR1 субъединиц глутаматных рецепторов, которое опосредовано протеосомными E3 убиквитин лигазами Nedd4-1 и Fbx2 соответственно [22, 26].

Снижение функциональной активности НМДА рецепторов, на что указывает снижение амплитуд НМДА компонентов пВПСП (рис. 4), может быть причиной нарушения экспрессии ДП и ДД синаптической передачи в пирамидных нейронах мПФК. Если бы собы-

тия развивались только по этому сценарию следовало бы ожидать угнетения экспрессии и ДП, и ДД, поскольку в мПФК обе эти формы синаптической пластичности частично НМДА-зависимы [28]. Однако в условиях хронического введения Дмз мы наблюдали угнетение ДП, но облегчение развития ДД синаптической передачи (рис. 5). Одной из вероятных причин наблюдаемых изменений развития синаптической пластичности может быть изменения метапластичности, а именно смещение кривой метапластичности вправо. В этих условиях должна уменьшаться величина ДП в диапазоне частот 30–100 Гц, но индукция ДД должна усиливаться при частотах > 5 Гц [3]. Однако, наблюдаемое в наших исследованиях усиление развития ДД, вызываемой пресинаптической стимуляцией частотой 5 Гц (рис. 6), противоречит таким представлениям. Установлено также, что снижение функциональной активности НМДА рецепторов пирамидных нейронов мПФК путем их блокады препятствует развитию ДП, но облегчает экспрессию (демаскирует) ДД синаптической передачи [19]. Таким образом, частичная функциональная блокада НМДА рецепторов пирамидных нейронов мПФК может быть причиной нарушения пластических свойств их синапсов.

Хроническое воздействие Дмз на мозг крыс вызывает параллельное возрастание уровней тревожности и депрессивности, что характерно для разных форм депрессии у человека [17]. Представляется, что в основе этих эмоциональных и мотивационных нарушений лежит дисфункция мПФК. Известно, что проекционные нейроны этой зоны коры иннервируют ключевые структуры, регулирующие уровень тревожности и депрессивности (миндалины, вентральный стриатум, прилежащее ядро); при этом мПФК через посредство тормозных интернейронов угнетает активность латеральной миндалины и возбуждает прилежащее ядро [36]. Именно дезингибция латеральной миндалины из-за ослабления влияния мПФК, а также разрастание дендритов ее нейронов и увеличение количества дендритных шипиков и определяют рост уровня тревожности [31]. Следовательно, для реализации анксиолитического эффекта необходимо снизить возбудимость нейронов миндалины. Таким действием об-

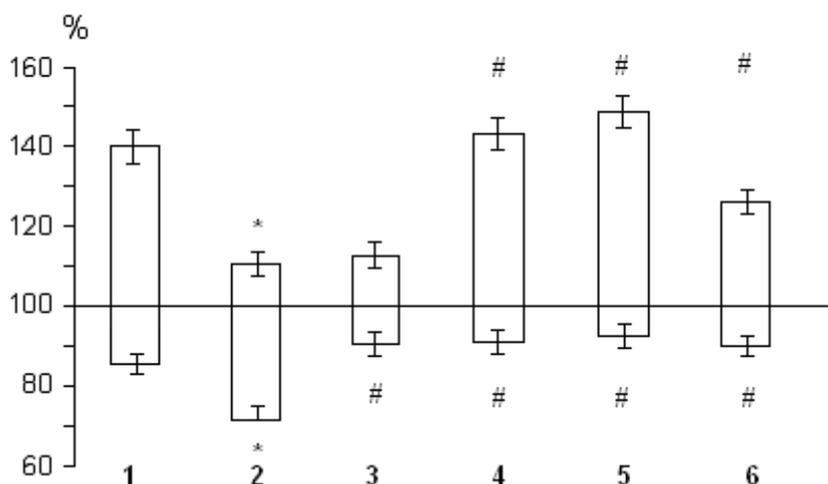


Рис. 6. Угнетение экспрессии длительной потенции и облегчение развития длительной депрессии синаптической передачи в медиальной префронтальной коре при хроническом введении Дмз и влияние на эти эффекты веществ-анализаторов.

Отклонения вверх соответствуют увеличению амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения высокочастотной стимуляции, т. е. ДП, а отклонения вниз соответствуют снижению амплитуд пВПСП на 30-й мин после прекращения низкочастотной стимуляции, т. е. ДД синаптической передачи.

Столбец 1 — величины ДП и ДД синаптической передачи в контроле, 2 — то же при хроническом введении Дмз; величины ДП и ДД синаптической передачи при хроническом введении Дмз на фоне действия: 3 — 2 мг/кг диазепама, 4 — 20 мг/кг имипрамина, 5 — 20 мг/кг флуоксетина, 6 — 20 мг/кг верапамила.

По вертикальной шкале — амплитуда постсинаптических потенциалов в %.

ладают бензодиазепиновые транквилизаторы, которые усиливают ГАМКергическое торможение активности нейронов различных структур мозга и, в первую очередь, латеральной миндалины [14], и это приводит к существенному понижению тревожности у подвергнутых воздействию Дмз крыс, которым вводили диазепам, (рис. 1). Но противотревожное действие диазепама сопровождается существенным возрастанием уровня депрессивности (рис. 2) и мнемоторными нарушениями — ухудшением воспроизведения УРАИ (рис. 3). Поэтому терапевтическая ценность диазепама как средства коррекции психотропных побочных эффектов ГК-ой терапии невелика.

Антидепрессанты — селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин и неизбирательный ингибитор реаптейка как норадреналина, так и серотонина имипрамин — снижали повышенный хроническим введением Дмз уровень депрессивности крыс (рис. 2), но не оказывали влияния на уровень тревожности (рис.1) и мнемоторные нарушения (рис. 3). Если к этому еще добавить то, что клинические эффекты антидепрессантов развиваются достаточно медленно, становится очевидной бесперспективность использования антидепрессантов для лекарственной коррекции побочных эффектов, возникающих при хроническом использовании ГК.

В тоже время, блокатор ПЗКК L-типа верапамил в определенной степени ослабляет вызываемые Дмз повышение уровней тревожности и депрессивности, а также нарушения выработки и воспроизведения навыков обучения (рис. 1–3). В экспериментальных условиях анксиолитическое и антидепрессивное действие верапамила и других блокаторов ПЗКК наблюдали и другие исследователи [4, 29, 37, 44]. Однако нейрофизиологические и нейрохимические механизмы этих эффектов не выяснены. Анксиолитический эффект верапамила вероятно обусловлен восстановлением пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов V слоя мПФК (рис. 6), аксоны которых проецируются в гиппокамп, миндалину и вентральный стриатум [36]. Кроме того, анксиолитический эффект верапамила связан со снижением активности проекционных нейронов латеральной миндалины. Установлено, что совместная активация НМДА рецепторов и высокопороговых ПЗКК приводит к возникновению в дендритах пирамидных нейронов кальциевых спайков, что повышает их возбудимость и нарушает синаптическую пластичность [5]. Верапамил препятствует возникновению дендритных кальциевых спайков.

Природа антидепрессивного эффекта верапамила неясна. Можно думать, что этот эффект связан с частичным восстановлением пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов мПФК (рис. 6). Установлено также, что верапамил усиливает действие клинически активных антидепрессантов и этот эффект вещества связывают с угнетением активности транспортного белка гематоэнцефалического барьера Р-гликопротеина [8]. Это способствует повышению концентрации естественных антидепрессантов, в частности холина, в ПФК и продолговатом мозге [4]. Позитивное влияние верапамила на мнемоторные расстройства (рис. 3) связано с коррекцией наблюдаемых на фоне хронического введения Дмз нарушений синаптической пластичности в мПФК, в первую очередь угнетения экспрессии ДП синаптической передачи (рис. 5). С одной стороны, это связано со снижением функциональной активности НМДА рецепторов в мПФК (рис. 4). С другой стороны, тетаническая стимуляция синаптических входов, необходимая для индукции ДП, вызывает серию ВПСП, которые суммируются, и возникающая при этом деполяризация активизирует высокопороговые ПЗКК [28]. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} способствует развитию медленной следовой гиперполяризации (АНР), которая усиливает блокаду катионных каналов НМДА рецепторов и препятствует развитию ДП [42]. Верапамил ограничивает развитие АНР, повышает функ-

циональную активность НМДА рецепторов и облегчает развитие ДП синаптической передачи (рис.6). Это способствует усилению консолидации и реконсолидации навыков обучения [17].

Таким образом, хроническое воздействие ГК (в данном случае дексаметазона) на нейроны мПФК крыс вызывало нарушения релейных и пластических свойств синапсов пирамидных нейронов V слоя. Это приводило к расстройству деятельности лимбических структур мозга и сопровождалось возрастанием уровней тревожности и депрессивности, а также ослаблением формирования и воспроизведения навыков обучения. Используемые в настоящем исследовании транквилизатор диазепам снижал только уровень тревожности, а антидепрессанты — флуоксетин и имипрамин — уменьшали только депрессивные проявления. Блокатор ПЗКК верапамил в умеренной степени устранял все наблюдаемые в условиях хронического введения Дмз психические расстройства и ослаблял нарушения нейрохимических механизмов, лежащие в основе этих расстройств. Полученные данные позволяют рекомендовать верапамил либо самостоятельно, либо в зависимости от клинических проявлений осложнений ГК терапии с различными группами психофармакологических средств для коррекции психотропных побочных эффектов.

Yu.V. Sidorova, D.V. Evdokimov, I.I. Abramets

NEUROCHRMICAL MECHANISMS OF DISTURBANCES OF THE MENTAL PROCESSES UNDER LONG-TERM ADMINISTRATION OF GLUCOCORTICOIDS AND POSSIBLE ROUTES OF ITS CORRECTION

Abstract. *Chronical administration with drinking-water of dexamethasone at dose 0,5 mg/kg/day⁻¹ throughout 7 days rendered anxiogenic and prodepressive action and inhibited acquirement and retrieval of attainment of active avoidance conditioned reaction. It was revealed at experiments on horizontal slices of the medial prefrontal cortex decreasing of amplitudes of the field EPSPs of pyramidal neurons of cortical V layer and amplitudes of its NMDA components. It was revealed moreover an inhibition of long-term potentiation expression but facilitation of development of long-term depression. The psychopharmacological drugs used in our experiments only partially attenuated behavioral and neurochemical disturbances produced by dexamethasone. Only Ca^{2+} antagonist verapamil removed the manifestation of dexamethasone neurotoxicity at cellular and systemic levels at moderate degree. The obtained data allow to counsel verapamil for attenuation of mental manifestation of side action of dexamethasone massive doses.*

Key words: *dexamethasone, anxiety, depression, attainments of learning, EPSP, NMDA receptors, AMPA receptors, synaptic plasticity, psychopharmacological drugs, verapamil.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамец И. И., Самойлович И. М., Талалаенко А. Н. Изменения свойств глутаматергических синапсов медиальной префронтальной коры и прилежащего ядра при поведенческой депрессии у крыс// Нейрофизиология.- 2007.- т. 39, No 3.- С. 214 – 221.
2. Дядык Ф. И., Багрий А. Э., Яровая Н. Ф. Глюкокортикоидная терапия в клинической практике// Новости медицины и фармации.- 2009.- No 297.- С. 19 – 24.

3. Artola A. Diabetes-, stress-, and age-related changes in synaptic plasticity in hippocampus and neocortex – the same metaplastic process?// *Eur. J. Pharmacol.*– 2008.– vol. 585, No. 1.– P. 153 – 162.
4. Bidzinski A., Jankowska E., Pucilowski O. Antidepressant-like action of nifedipine, verapamil and hemicholinium-3 injected into the anterior hypothalamus in the rat forced swim test// *Pharmacol. Biochem. Behav.*– 1990.– vol. 36, No 4.– P. 795 – 798.
5. Calton J. L., Kang M.-H., Wilson A. W., Moore S. D. NMDA-receptor-dependent synaptic activation of voltage-dependent calcium channels in basolateral amygdala// *J. Neurophysiol.*– 2000.– vol. 83, No 2.– P. 685 – 692.
6. Cerqueira J. J., Pêgo J. M., Taipa R. et al. Morphological correlates of corticosteroid induced changes in prefrontal cortex-dependent behaviors// *J Neurosci.*– 2005.– vol. 25, No .– P. 7792 – 7800.
7. Cerqueira J. J., Mailliet F., Almeida O. F. et al. The prefrontal cortex as a key target of the maladaptive response to stress // *J. Neurosci.*– 2007.– vol. 27, No 10.– P. 2781–2787.
8. Clarke G., O'Mahony S. M., Cryan J. F., Dinan T. G. Verapamil in treatment resistant depression: a role for the P-glycoprotein transporter?// *Neuropharmacol.*– 2009.– vol. 24, No 3.– P. 217 – 223.
9. de Kloet E. R., M. Joëls M., F. Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease// *Nat. Rev. Neurosci.*– 2005.– vol. 6, No 4.– P. 463–475.
10. de Quarian D. J., Roozendaal B., McGaugh J. L. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory// *Nature.*– 1998.– vol. 394, No 6695.– P. 787 – 790.
11. Donbolt N. C. Glutamate uptake// *Progr. Neurobiol.*– 2001.– vol. 65, No 1.– P. 1 – 105.
12. Goldman-Rakic P. M. Cellular basis of working memory// *Neuron.*– 1995.– vol. 14, No 2.– P. 477 – 485.
13. Gomes J. A., Stevens R. D., Levin J. J. et al. Glucocorticoid therapy in neurologic critical care// *Crit. Care Med.*– 2005.– vol. 33, No 6.– P. 1214 – 1224.
14. Haefely W. The GABA-benzodiazepine interaction: fifteen years later// *Neurochem. Res.*– 1990.– vol. 15, No 2.– P. 169–174.
15. Hafezi-Moghadam A., Simoncini T., Yang Z. et al. Acute cardiovascular protective effect of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase// *Nat. Med.*– 2002.– vol. 8, No 5.– P. 473 – 479.
16. Handley S. L., Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration of “fear”-motivated behaviour// *Naunyn-Smiedebergs Arch. Pharmacol.*– 1984.– vol. 327, No. 1.– P. 1 – 5.
17. Hartley C.A., Phelps E.A. Changing fear: the neurocircuitry of emotion regulation// *Neuropsychopharmacol.*– 2010.– vol. 35, No 1.– P. 136 – 146.
18. Herry C., Garcia R. Prefrontal cortex long-term potentiation, but not long-term depression, is associated with the maintenance of extinction of learned fear in mice// *J. Neurosci.*– 2002.– vol. 22, No 2.– P. 577–583.
19. Hirsh J. C., Crepel F. Blockade of NMDA receptors unmasks a long-term depression in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro// *Exp. Brain Res.*– 1991.– vol. 85, No 3.– P. 621 – 624.
20. Ilyin, V. I., Wittermore, E. R., Guastella, J. et al. (1996) Subtype selective inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors by haloperidol// *Mol. Pharmacol.*– 1996.– vol. 50, No 6.– P. 1541 – 1550.
21. Izumi I., Auberson Y. P., Zorumski C. F. (2006) “Zinc modulates bidirectional hippocampal plasticity by effects on the NMDA receptors// *J. Neurosci.*– 2006.– vol. 26, No 27.– P. 7181 – 7188.
22. Kato A., N. Rouach N., R.A. Nicoll R. A., D.S. Bredt D. S. Activity-dependent NMDA receptor degradation mediated by retrotranslocation and ubiquitination// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*– 2005.– vol. 102, No 6.– P. 5600–5605.
23. Keenan P. A., Jacobson M. W., Soleymani R. M. et al. The effect on memory of chronic prednisone treatment in patient with systemic disease// *Neurology.*– 1996.– vol. 47, No 6.– P. 1396 – 1402.
24. Knoll J., Kolemen K., Knoll B. A method for the elaboration of a non-extinguishable conditioned reflex in the rat”, *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*– vol. 6, No. 2.– P. 327 – 345.
25. Leung D. Y., Hanifin J. M., Charlesworth E. N. et al. Disease management of atopic dermatitis: a practice parameter// *Ann. Allergy Asthma Immunol.*– 1997.– vol. 79, No 3.– P. 197 – 211.
26. Lin a., Hou Q., Jarzylo L. et al. Nedd4-mediated AMPA receptor ubiquitination regulates receptor turnover and trafficking// *J. Neurochem.*– 2011.– vol. 119, No 1.– P. 27–39.
27. Liston M., Miller M., Goldwater D. S. et al. Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting// *J. Neurosci.*– 2006.– vol. 26, No 27.– P. 7870–7874.
28. Malenka R. C., Bear M. F. LTP and LTD: an embarrassment of riches// *Neuron.*– 2004.– vol. 44, No 1.– P. 5 – 21.
29. Matsumoto Y., Ohba Y., Ikeda N., Itoh M. Antidepressive action of Ca²⁺ channel antagonists on behavioral despair in forced swimming test in rats// *Papers Kyushu Wom. Univer.*– 2001.– vol. 37, No 4.– P. 27 – 34.
30. McEwen B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain// *Physiol. Rev.*– 2007.– vol. 87, No 4.– P. 873–904.
31. Mitra R., Jadhav S., McEwen B. S. et al. Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*– 2005.– vol. 102, No 10.– P. 9371–9376.
32. Mulder A. B., Nordquist R. E., Örgüt O., Pennartz C. M. A. Learning-related changes in response patterns of prefrontal neurons during instrumental conditioning// *Behav. Brain Res.*– 2003.– vol. 146, No 1.– P. 77–88.
33. Nakanishi S., Masu M. (1994) Molecular diversity and functions of glutamate receptors// *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*– 1994.– vol. 23, No 3.– P. 319–348.
34. Peng L., Li B., Du T. et al. Does conventional anti-bipolar and antidepressant drug therapy reduce NMDA-mediated neuronal excitation by downregulating astrocytic GluK2 function?// *Pharmacol. Biochem. Behav.*– 2012.– vol. 100, No 4.– P. 712–725.
35. Porsolt R. D., A. Bertin A., and M. Jalfre M. “Behavioural despair” in rats and mice: strain differences and effects of imipramine// *Eur. J. Pharmacol.*– 1978.– vol. 51, No. 2.– P. 291 – 294.
36. Price J. L., Drevets W. C. Neurocircuitry of mood disorders// *Neuropsychopharmacol.*– 2010.– vol. 35, No 1.– P. 192 – 216.
37. Pucilowski, O., 1992. Psychopharmacological properties of calcium channel inhibitors// *Psychopharmacology.*– 1992.– vol. 109, No 1.– P. 12–29.
38. Radley J. J., Sisti H. M., Hao J. et al. Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex // *Neuroscience.*– 2004.– vol. 125, No 1.– P. 1–6.
39. Radley J. J., Rocher A. B., Miller M. et al. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex // *Cereb. Cortex.*– 2006.– vol. 16, No 3.– P. 313–320.
40. Rhen T., Cidlowski J. A. Antiinflammatory action of glucocorticoids – new mechanisms for old drugs// *N. Engl. J. Med.*– 2005.– vol. 353, No 16.– P. 1711 – 1723.
41. Runyan J. D., Moore A. N., Dash P. K. A role for prefrontal cortex in memory storage for trace fear conditioning// *J. Neurosci.*– 2004.– vol. 24, No 5.– P. 1288–1295.
42. Sah P., Bekkers J. M. Apical dendritic location of slow afterhyperpolarization current in hippocampal pyramidal neurons: implication for the integration of long-term potentiation// *J. Neurosci.*– 1996.– vol. 16, No 15.– P. 4537–4542.
43. Simons J. S., Squires H. J. Prefrontal and medial temporal lobe interactions in long-term memory// *Nat. Rev. Neurosci.*– 2003.– vol. 4, No 6.– P. 637–648.
44. Umukoro S., Ashorobi R. B., Esseien E. E. 2006. Anticonvulsant and anxiolytic effects of calcium channel blockers in mice// *J. Med. Sci.*– 2006.– vol. 6, No 5.– P. 1021–1024.
45. Yuen E. Y., Liu W., Karatsoreos I. N. et al. Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*– 2009.– vol. 106, No 15.– P. 14075–14079.