

На правах рукописи

ТАНАЕВА Ксения Кирилловна

**Экспериментальное моделирование нарушений материнского поведения и
поиск путей их коррекции**

03.03.01 – физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2013

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова (заведующий кафедрой – доктор биологических наук, профессор А.А. Каменский).

Научный руководитель

доктор биологических наук, профессор
кафедры физиологии человека и животных
биологического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова
Дубынин Вячеслав Альбертович

Официальные оппоненты

доктор биологических наук, главный
научный сотрудник ФГБУ «НИИ общей
патологии и патофизиологии» РАМН
Крупина Наталья Александровна

доктор биологических наук, ведущий
научный сотрудник кафедры высшей
нервной деятельности биологического
факультета МГУ имени М.В.Ломоносова
Иноземцев Анатолий Николаевич

Ведущая организация

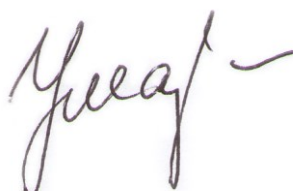
ФГБУ «НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова» РАМН

Защита состоится 30 сентября 2013 года в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д501.001.93 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, д.1, корп. 12, МГУ, Биологический факультет, ауд. М-1.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В.Ломоносова.

Автореферат разослан 29 августа 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Б.А. Умарова

Актуальность проблемы. Несмотря на огромную биологическую и социальную значимость материнского поведения, его физиологические основы изучаются существенно меньше, чем механизмы тревожности, депрессивности, способности к обучению. Между тем, информация о характеристиках материнских (родительских) реакций важна как для понимания общей структуры поведения человека и животных, так и для решения ряда прикладных задач, прежде всего, поиска путей коррекции послеродовой депрессии (PPD) и других нарушений детско-родительского взаимодействия. Таким образом, необходимость дальнейшего исследования проявлений материнской мотивации, причин ее нарушений, а также разработка направленных методов фармакологической коррекции не вызывает сомнений.

Самым распространенным способом изучения материнского поведения грызунов является постоянное или периодическое наблюдение в условиях домашней клетки (Rosenblatt, 1967; Bosch et al., 2008; Afonso et al., 2009). Регистрируемый при этом комплекс родительских реакций обычно разделяют на активные (строительство гнезда, переносы и вылизывания детенышей) и пассивные (нахождение в тесном контакте с новорожденными, кормление) проявления (Lonstein et al., 2002). Другой вариант тестирования подразумевает помещение самки с детенышами в новую обстановку; при этом часто присутствуют элементы обучения, что позволяет выяснить подкрепляющую ценность потомства для матери (Lee et al., 2000; Lavi-Avnon et al., 2008; Wansaw et al., 2008). В нашей лаборатории используется оригинальный метод экспресс-оценки материнского поведения крыс на арене «открытого поля» в условиях конкуренции родительской, исследовательской и оборонительной мотиваций (Ивлева с соавт., 2003).

На нейрохимическом уровне нарушения материнского поведения в значительной мере связаны с изменениями активности дофаминергической и опиоидной систем мозга. Так, введение антагонистов D1- и D2-рецепторов непосредственно после родов нарушает проявления родительской заботы (Byrnes et al., 2002). Показано негативное влияние низких, не воздействующих на двигательную активность, доз галоперидола (Добрякова с соавт., 2006) и β -казо-морфина-7 (Дубынин с соавт., 2005). В то же время, существующие концепции дофаминергической и опиоидной регуляции материнской мотивации оставляют широкий простор для более глубокого изучения.

Перспективным подходом для исследования особенностей родительского поведения является использование генетических линий экспериментальных животных. У крыс WAG/Rij, одной из наиболее изученных моделей абсансной эпилепсии, отмечен рост депрессивно-подобных поведенческих проявлений и снижение потребления сахарозы (Саркисова с соавт., 2002). Кроме того, эти животные характеризуются более низкой плотностью D1-рецепторов в *nucleus accumbens* (Birioukova et al., 2005). Следовательно, есть все основания предполагать снижение уровня родительской мотивации у самок WAG/Rij.

Относительно новой моделью общего нарушения социального взаимодействия животных является пренатальное воздействие вальпроевой кислоты (Vambini-Junior et al., 2011). Показано замедление развития детенышей

и снижение уровня их социальной активности, что позволяет рассматривать данную ситуацию в качестве экспериментальной модели аутизма (Малышев с соавт., 2013). Однако особенности поведения таких животных во взрослом состоянии (в том числе материнские реакции) остаются неизученными.

Работ, описывающих способы негормональной активации родительских реакций, сравнительно немного. Показано, что опиоидный антагонист налоксон способен повышать степень материнской заботы при внутрибрюшинном и интраназальном введении (Burnes et al., 2000; Добрякова с соавт., 2011). Также есть информация о том, что развитию родительских реакций способствуют внутри-мозговые инъекции АВП – аргинин-вазопрессина (Bosch et al., 2008).

Цель и задачи исследования. Основной целью представленного диссертационного исследования является разработка и анализ различных по механизмам и проявлениям моделей нарушений материнской мотивации у крыс. Для этого на предварительном этапе проведено детальное описание и интерпретация показателей материнского поведения в «открытом поле». Кроме того, продолжен поиск пептидных и непептидных соединений, потенциально активирующих родительские реакции. В работе поставлены следующие конкретные задачи:

- изучить динамику и взаимосвязь параметров материнского поведения в ходе повторного тестирования в «открытом поле» при красном и ярком свете;
- оценить специфику нарушений материнских реакций при введении низких доз селективных антагонистов D1- и D2-рецепторов SCH 23390 и клебоприда (фармакологическая модель PPD);
- описать особенности проявлений материнской мотивации у крыс линии WAG/Rij (генетическая модель PPD);
- выяснить выраженность и направленность отставленных изменений родительских реакций потомства после введения беременным самкам высокой дозы вальпроевой кислоты (модель пренатальной патологии);
- оценить способность опиоидного антагониста налоксона регулировать родительские реакции нерожавших самок и корректировать отклонения материнской мотивации, вызванные введением D1- и D2-антагонистов;
- определить влияние на уровень материнской мотивации препаратов разной природы: бромкриптин, L-ДОФА, АВП и его синтетического аналога, N-концевого фрагмента ноцицептина и его аналога.

Научная новизна. В представленном диссертационном исследовании впервые выявлена специфическая роль D1- и D2-регуляции материнских реакций у крыс; продолжено исследование особенностей поведения животных линии WAG/Rij; впервые зарегистрировано отставленное снижение родительской мотивации после пренатального воздействия вальпроевой кислоты; начаты работы по поиску препаратов для направленной фармакологической коррекции указанных нарушений (в том числе веществ пептидной природы).

Теоретическая и практическая значимость работы. Выполненные нами эксперименты позволяют предложить несколько новых нейробиологических моделей нарушения родительских реакций, имеющих высокую степень соответствия клиническим состояниям (прежде всего, послеродовой депрессии – PPD). Полученные данные важны также с точки зрения анализа вклада различных нейромедиаторных систем (дофаминергической и пептидергических) в регуляцию поведения человека и животных. Важное значение имеет проведенный нами подробный статистический (факторный корреляционный) анализ параметров материнских реакций крыс и их связи с показателями оборонительного и исследовательского поведения. В ряду фармакологических агентов, способных модулировать материнскую мотивацию, следует отметить эффекты опиоидного антагониста налоксона, усиливающего родительские реакции в относительно низких дозах при интраназальном введении. Представляется перспективным расширение клинического применения налоксона и сходных с ним препаратов на сферу PPD – отклонения, затрагивающего от 5 до 25% женщин в послеродовом периоде, которое отрицательно сказывается не только на здоровье матери, но и на состоянии потомства.

Положения, выносимые на защиту.

- тестирование в «открытом поле» является адекватным и информативным экспресс-методом для определения уровня материнской мотивации и ее взаимодействия с оборонительной и исследовательской активностью;
- изменения поведения самок WAG/Rij и последствия пренатального введения вальпроевой кислоты наиболее полно соответствуют комплексу признаков послеродовой депрессии; введение D1- и D2-антагонистов вызывает селективные нарушения отдельных проявлений материнской мотивации;
- в ряду исследованных препаратов опиоидный антагонист налоксон является наиболее перспективным с точки зрения направленной коррекции отклонений родительского поведения в клинике (с учетом эффективности его неинвазивного интраназального введения).

Апробация работы. Апробация результатов представленного диссертационного исследования успешно прошла на Всероссийской конференции «Механизмы нервных и нейроэндокринных регуляций» (Москва, 2008); Международных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2009» и «Ломоносов-2010» (Москва); 7-м Форуме Европейского общества по нейронаукам (FENS) (Амстердам, 2010); XXI Съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010); 5-й Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Москва, 2010); XIV Школке-конференции молодых ученых по физиологии ВНД и нейрофизиологии (Москва, 2010); 11-м Региональном Соповещании Европейского общества по нейрофармакологии (ECNP) (Санкт-Петербург, 2011); 6-м Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (Уфа, 2013); а также на ряде заседаний кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования, их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 254 страницах текста, содержит 60 рисунков и 45 таблиц. Список литературы включает 170 источников, из них 15 отечественных.

Материалы и методы исследования.

Работы по изучению материнского поведения проводилась на половозрелых самках белых крыс весом 250-350 г. Общее число использованных нелинейных животных – 235 особей, самок линии WAG/Rij – 21; самок линии Wistar – 22. В каждой серии наблюдения за материнским поведением осуществлялись с 4 дня после родов и продолжались 3-6 дней в зависимости от конкретной задачи. Оценка материнских реакций производилась с использованием арены «открытого поля» диаметром 100 см, окруженной стенкой высотой 42 см. Над ареной на высоте 80 см находились обычная лампа накаливания (100 Вт, при включении освещенность в установке составляла 12-15 Люкс) и красная лампа (15 Вт, 3-5 Люкс).

На первом этапе тестирования самку помещали на край арены и при красном свете в течение двух минут регистрировали стандартные показатели двигательной и исследовательской активности: пробег, количество стоек, отходов от стенки арены, выходов в центр и умываний. Затем самку отсаживали на одну минуту в отдельную клетку, после чего она повторно помещалась в «открытое поле». При этом в центре арены находилась чашка Петри с тремя детенышами (красное освещение). В течение двух минут оценивали параметры материнского поведения: латентный период (ЛП) первого подхода к чашке, общее число таких подходов, число переносов и ЛП переноса каждого детеныша из чашки. После этого самку отсаживали еще на одну минуту, и затем в третий раз помещали в «открытое поле», в центре которого находилась чашка Петри с тремя детенышами, но при ярком освещении. Регистрировали те же поведенческие показатели, что и в предыдущей экспериментальной ситуации.

В первой части работы мы провели **подробный статистический анализ параметров материнского поведения** при использовании описанной выше экспресс-методики. Массив данных (n=74) составили результаты тестирования контрольных групп крыс за период с 2009 по 2012 год; использовались данные, полученные с 4 по 6 дни после родов. Анализ проводили с помощью программы STATISTICA 8.0. Для сравнения результатов, полученных разные дни наблюдений, а также при красном и ярком освещении, использовали ANOVA-методы и t-тест для зависимых выборок. Для оценки взаимосвязи разных параметров поведения рассчитывали парные корреляции по Пирсону, а также проводили факторный корреляционный анализ в каждый из трех дней опыта. В качестве показателя существенного воздействия фактора на переменную было принято значение факторной нагрузки более 0,5. Для выделения факторов использовали метод главных компонент и вращение «Варимакс нормализованное».

Экспериментальные модели послеродовой депрессии.

Для фармакологического моделирования нарушений материнского поведения использовали острое и хроническое введение D1-антагониста *SCH 23390* в дозах 0,01 мг/кг, 0,025 мг/кг и 0,05 мг/кг и *клебоприда* в дозе 0,2 мг/кг. В сериях с острым введением вещества инъецировали на 5 и 7 дни после родов за 20 минут до тестирования материнского поведения. На 4, 6, 8 и 9 дни после родов самкам вводился эквивалентный объем растворителя. Показано, что длительность действия используемых доз препарата не превышает суток. Это позволяет использовать одних и тех же животных в качестве как «контроля», так и «опыта», поочередно вводя им растворитель и тестируемое вещество. При хронической схеме эксперимента антагонисты вводили с 1 по 6 дни после родов. С 7 по 9 дни животным вводили физраствор, а крысы контрольных групп получали инъекции физраствора с 1 по 9 дни после родов. Тестирование материнского поведения осуществляли с 4 по 9 дни после родов, при этом в дни тестирования инъекции проводили после опыта с целью избежать эффектов острого введения препаратов.

Как уже было сказано, в литературе однократное либо повторное пренатальное воздействие *вальпроевой кислоты* описано как модель нарушения зоосоциального взаимодействия. В нашей работе самкам крыс однократно внутрибрюшинно вводили вальпроат натрия в дозе 600 мг/кг на 13 день беременности. Родившихся детенышей выращивали до взрослого возраста, а затем самок ссаживали с контрольными самцами и использовали для тестирования материнского поведения. Применяли описанную выше методику экспресс-оценки родительских реакций в «открытом поле»; в качестве группы сравнения рассматривался объединенный массив контрольных данных из первого раздела исследования.

В части работы, посвященной сравнительному анализу материнского поведения крыс линий *WAG/Rij u Wistar* (последние рассматривались в качестве контроля), эксперименты были реализованы на базе ИВНД и нейрофизиологии РАН. Наблюдение за материнским поведением осуществлялось с 4 по 6 дни после родов с использованием «открытого поля». Параллельно с этим проводилась выработка условной реакции предпочтения места. Установка состояла из прямоугольной камеры, разделенной на три отсека – центральный и два боковых, отличающихся по окраске стенок и материалу пола. На 2 и 3 дни после родов самок помещали в центральный отсек со снятыми перегородками (крысы могли беспрепятственно перемещаться по камере). В течение 15 минут в ситуации свободного выбора регистрировали время, проведенное самкой в каждом отсеке камеры. С 4 по 7 дни после родов проводили выработку условной реакции на место. На 4 и 6 день самок помещали в непредпочитаемый отсек вместе с тремя детенышами на 1 час (переходы между отсеками при этом были закрыты). На 5 и 7 день самки находились в предпочитаемом отсеке без детенышей, также в течение 1 часа. На 8 день после родов проводили проверку предпочтения. Для этого самок опять помещали в ситуацию свободного выбора на 15 минут и регистрировали время, проведенное в каждом отсеке. Фиксировали смену предпочтения отсека в результате ассоциирования с

детенышами либо отсутствие такой смены. Тестирование материнского поведения в «открытом поле» на 4-6 дни проводили не менее чем через час после окончания описанных процедур. Никакого фармакологического воздействия на самок не оказывалось.

Поиск препаратов, активирующих материнскую мотивацию.

Ранее в нашей лаборатории было показано активирующее влияние опиоидного антагониста наллоксона на родительские реакции; наиболее выражены эффекты дозы 1 мг/кг при интраназальном введении. В представленном исследовании эффекты налоксона тестировали у нерожавших самок. В течение 7 дней им ежедневно предъявляли трех донорских детенышей в возрасте 3-8 дней в течение 1 часа. После этого в течение 6 дней проводили регистрацию родительских реакций в «открытом поле». При этом первые три дня эксперимента все животные получали инъекции физраствора за 20 минут до тестирования, далее контрольной группе продолжали вводить растворитель, а остальные самки случайным образом были разделены на три группы, получавшие налоксон в дозах 1, 5 и 10 мг/кг. Налоксон в дозе 1 мг/кг использовали также для совместного введения с антагонистами рецепторов дофамина. За 30 минут до тестирования самки получали налоксон интраназально, за 20 минут – SCH 23390 (0,025 мг/кг) или клебоприд (0,2 мг/кг) внутривентрикулярно. В «контрольные» дни животным вводили физраствор сперва интраназально, затем внутривентрикулярно.

Кроме того, проводили эксперименты с острым введением агониста D2-рецепторов бромокриптина в дозах 1 мг/кг и 2,5 мг/кг за 20 минут до тестирования, а также с хроническим введением L-ДОФА в составе наночастиц в дозе 20 мг/кг.

Первая группа регуляторных пептидов, для которой мы предположили возможность позитивного влияния на материнскую мотивацию, – аргинин-вазопрессин (АВП) и аналог его фрагмента АВП[6-9] (синтезирован в Институте биохимии НАН Беларуси под руководством профессора В.П. Голубовича). В сериях с острым введением самки получали АВП интраназально в дозе 1 мкг/кг и 10 мкг/кг на 5 и 7 дни после родов за 20 минут до тестирования. Выбор дозы был основан на предыдущих исследованиях, проведенных в нашей лаборатории (Воскресенская с соавт., 2008). Для серии с хроническим введением (препарат вводился с 1 по 6 дни после родов) использовалась доза 10 мкг/кг. Оригинальный аналог фрагмента АВП[6-9] Ac-D-Met-Pro-Arg-Gly вводили в дозе 10 мкг/кг как остро за 20 минут до тестирования, так и хронически.

Нейропептид ноцицептин (орфанин FQ), как известно, в ряде случаев является функциональным антагонистом эндорфинов. Основываясь на данных, доказывающих важную роль опиоидной системы мозга в формировании родительских реакций, мы исследовали эффекты N-концевого фрагмента ноцицептина (Phe-Gly-Gly-Phe-амид) и его аналога гептапептида Phe-Gly-Gly-Phe-Val-Gly-Pro. Первое из соединений было синтезировано на Химическом факультете СПбГУ в группе В.Н. Калихевича; использовалась доза 5 мг/кг; структура гептапептида предложена академиком РАН Н.Ф. Мясоедовым (синтез

реализован в ИМГ РАН; доза 1 мг/кг). Анализировались последствия только острого введения за 30 минут до тестирования.

Результаты исследования.

Изучение параметров материнского поведения самок контрольных групп.

Самки объединенной контрольной группы ($n=74$) либо не подвергались никакому воздействию либо получали инъекции физиологического раствора. Для анализа использовали результаты за 4-6 дни после родов.

В первые две минуты тестирования (без детенышей) регистрировали двигательную и исследовательскую активность самок. Показано, что пробег крыс в первый день наблюдений составил около 700 см, а затем сокращался примерно на треть; $F(2,146)=10,9$, $p<0,01$. Количество стоек при первой регистрации равнялось $5,2\pm 0,5$ и снижалось на 49%; $F(2,146)=12,9$, $p<0,01$. Эти изменения отражают стандартное для повторного тестирования в одной и той же обстановке привыкание животных к условиям эксперимента. В то же время количество отходов от стенки арены и выходов в ее центр увеличивалось от 4 к 6 дню после родов на 42% и 88%, соответственно ($p<0,05-0,01$), что, очевидно, связано с выработкой условной реакции на место расположения новорожденных (в чашке Петри в центре арены).

Родительские реакции самок, в отличие от двигательной активности, усиливались по дням тестирования. Крысы быстрее подходили к детенышам, и ЛП первого подхода достоверно снижался как при красном свете (на 70% от исходного значения 55,3 сек; $F(2,146)=34,8$, $p<0,01$), так и при ярком свете (на 69% от уровня 45,8 сек; $F(2,146)=34,1$, $p<0,01$). Характерно, что при ярком освещении значение параметра было достоверно ниже в 1 и 2 дни тестирования ($p<0,05$). Аналогичные изменения наблюдались для количества подходов к новорожденным (оно последовательно возросло на 71% и 76%; $p<0,01$), а также для параметров переносов крысят по арене (ЛП первого переноса снизился в среднем на 28%; число переносов выросло на 57%; $p<0,05-0,01$). Для ЛП первого переноса и числа переносов зарегистрирована еще более высокая зависимость от уровня освещенности ($p<0,01$; ANOVA-метод). Таким образом, при повторных ежедневных тестированиях происходила активация материнского поведения, а дополнительное стрессогенное воздействие в виде яркого освещения арены приводило (по принципу доминанты) к усилению проявлений родительской заботы.

Для более детальной оценки реакций самок крыс в каждый из дней эксперимента был проведен факторный корреляционный анализ (см. Приложение 1).

На 4 день после родов анализ выявил 4 фактора, объясняющих 76,0% общей дисперсии массива данных выборки. Фактор 1 (Ф1) характеризовался высокой нагрузкой на параметры поведения самок при ярком освещении установки – количество и ЛП подходов к детенышам и их переносов. Фактор 2 (Ф2) влиял на переносы крысят при красном свете. Фактор 3 (Ф3) объединил количество отходов от стенки арены и выходов в ее центр при тестировании без

детенышей, а также ЛП и количество подходов к новорожденным при красном свете. Следовательно, в 1-й день тестирования подходы к крысятам управлялись скорее уровнем двигательной и исследовательской активности, чем материнской мотивацией. Фактор 4 (Ф4) был связан с локомоцией и эмоциональностью: влиял на число стоек, пробег и груминг.

На 5 день после родов количество и структура выделенных факторов изменились. Мы определили 5 факторов, объясняющих 84,2% общей дисперсии. Ф1 объединил количество и латентные периоды переносов крысят при красном свете (так же, как и в предыдущий день) с ЛП переноса последнего детеныша из чашки Петри при ярком свете. Ф2 все так же контролировал большую часть параметров поведения при ярком свете – ЛП и число подходов к детенышам, а также количество переносов. Ф3 оказался связан с двигательной активностью и управлял параметрами поведения без детенышей. Характеристики подходов к крысятам при красном свете и ЛП первого подхода при ярком свете были включены в Фактор 4. Ф5 воздействовал только на интенсивность груминга.

Таким образом, на второй день тестирования подходы к новорожденным уже не определяются тем же фактором, что и локомоция. Сохраняется отдельный фактор для большей части параметров поведения при ярком свете (Ф2). Однако ЛП первого подхода при ярком освещении уже в значительной мере управляется тем же фактором (Ф4) и, видимо, теми же нейрональными механизмами, что и подходы при красном свете.

На 6 день после родов анализ выявил 4 фактора, которые отвечали за 80,1% общей дисперсии выборки. При этом факторы, оказывавшие воздействия на подходы к крысятам и их переносы, окончательно разделились. Теперь Ф1 включал в себя все характеристики переносов детенышей (количество и латентные периоды) как при красном, так и при ярком свете. С Ф3 были связаны ЛП и количество подходов к детенышам в обеих экспериментальных ситуациях. Фактор 2 определял локомоцию, как и в предыдущий день. Ф4 управлял грумингом.

Таким образом, факторный корреляционный анализ поведения самок статистически разделил пассивные (подходы к детенышам) и активные (переносы) проявления родительской заботы в условиях нашего эксперимента, а также показал, что материнское поведение избавляется от влияния оборонительной и исследовательской мотиваций к третьему дню тестирования (см. также Приложение 1).

Экспериментальные модели послеродовой депрессии.

Влияние введения SCH 23390 на материнское поведение самок крыс.

Ранее проведенные эксперименты выявили негативное воздействие неселек-тивного антагониста рецепторов дофамина галоперидола на материнские реакции крыс. В представленном исследовании мы попытались проанализировать специфическую роль D1- и D2-рецепторов в этой регуляции. SCH 23390 является избирательным D1-антагонистом, и на первом этапе были проведены опыты с острым (однократным) внутрибрюшинным введением.

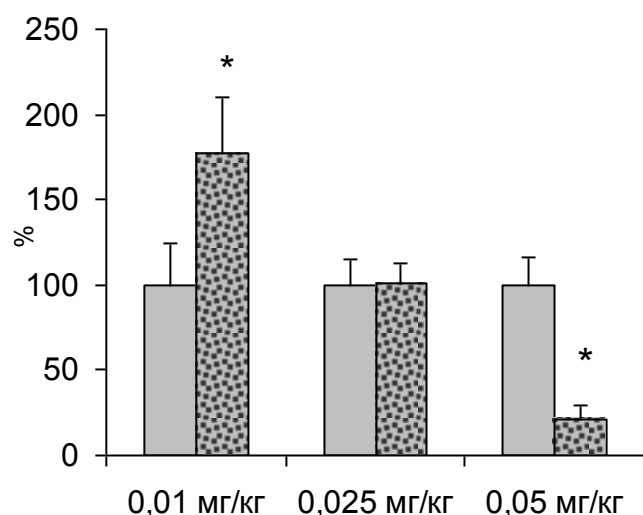


Рис. 1. Изменение количества стоек при тестировании без детенышей в опытах с острым введением SCH 23390 в дни с введением препарата (заштрихованные столбцы) по сравнению с днями с введением физиологического раствора (контроль, серые столбцы).

Данные представлены в % от уровня контроля. * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольным значением.

В дозе 0,05 мг/кг ($n=9$) инъекции привели к существенному подавлению двигательной активности самок (рис. 1) – количество стоек уменьшилось на 78% ($p < 0,001$), а пробег – на 75% ($p < 0,001$). Число отходов от стенки арены при введении антагониста составило 25% от контрольного значения ($p < 0,01$), количество выходов в центр – 13% ($p < 0,005$). При инъекции препарата в дозе 0,025 мг/кг ($n=13$) никаких изменений в двигательной активности крыс не отмечено, а в дни с введением SCH 23390 в дозе 0,01 мг/кг ($n=12$) наблюдался ее необычный рост: на 24% увеличился пробег ($p < 0,01$), на 77% – количество стоек ($p < 0,02$).

Родительские реакции самок под влиянием D1-антагониста в дозе 0,05 мг/кг были существенно ослаблены как при красном, так и при ярком освещении (на рис. 2 показано снижение количества подходов). В дни с введением препарата был выявлен также достоверный среднего роста латентного периода первого подхода к детенышам (в 5 раз при красном свете, $p=0,02$; в 8 раз – при ярком, $p < 0,001$) по сравнению с контрольным уровнем. В условиях яркой освещенности самки меньше переносили крысят (количество переносов снизилось на 86%, $p < 0,01$), а ЛП переноса первого детеныша и всех трех детенышей из чашки Петри были достоверно выше в дни, когда вводился препарат. Однако поскольку в данной серии экспериментов было зафиксировано также существенное влияние SCH 23390 на двигательную активность животных, выделить его воздействие именно на материнскую мотивацию было сложно.

В дозе 0,01 мг/кг D1-антагонист в целом сохранил негативное влияние на параметры родительской заботы. При красном свете оказался повышен на 278% латентный период первого подхода к детенышам ($p=0,03$), а количество подходов уменьшилось на 18% ($p=0,03$). При ярком освещении наблюдалась тенденция к росту ЛП первого подхода (на 192%, $p=0,07$), а также достоверно увеличились латентные периоды переносов первого и последнего детенышей из чашки Петри (на 78% и 37%, соответственно, $p < 0,05$ в обоих случаях).

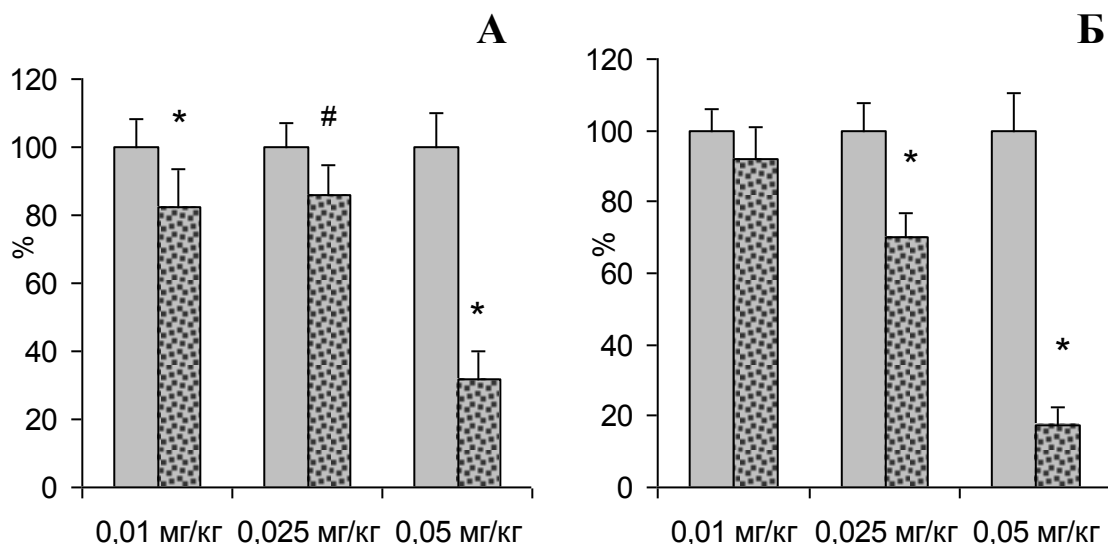


Рис. 2. Изменение количества подходов к детенышам в опытах с острым введением SCH 23390 в дни с инъекцией препарата (заштрихованные столбцы) по сравнению с днями с использованием физраствора (контроль, серые столбцы). Данные представлены в % от уровня контроля. А – результаты тестирования при красном освещении, Б – при ярком свете. * и # – $p < 0,05$ и $p < 0,10$ при сравнении с контрольными значениями.

В промежуточной дозе 0,025 мг/кг антагонист значительно не повлиял на взаимодействие самок с новорожденными при красном свете ($p = 0,06$). При ярком освещении арены количество подходов к чашке Петри уменьшилось на 30% в дни с введением препарата ($p < 0,01$), а количество переносов детенышей – на 23% ($p < 0,05$). При этом ЛП первого подхода и переноса третьего детеныша остались на прежнем уровне, а первый перенос самки совершали на 31% позже ($p = 0,06$).

Учитывая весь комплекс полученных данных и, прежде всего, отсутствие влияния на двигательную и исследовательскую активность самок при сохранении воздействия на родительские реакции, для опытов с хроническим введением выбрали дозу SCH 23390 0,025 мг/кг. Препарат вводили внутривентрикулярно с 1 по 6 дни после родов ($n = 8$ как в подопытной, так и в контрольной группах).

В серии с хроническим введением D1-антагониста двигательная активность самок осталась неизменной, как и при острых инъекциях. Характеристики подходов к новорожденным в опытной группе оказались снижены, причем только при ярком освещении установки (рис. 3). Так, латентный период первого подхода к детенышам в результате повторного введения SCH 23390 на 4-5 дни после родов был повышен в 4 раза ($p < 0,05$), а их количество снижено на 28% ($p = 0,09$). Количество и ЛП переносов детенышей заметно от контроля не отличалось.

Интересно, что введение SCH 23390 сократило различия в поведении крыс при разных уровнях освещенности арены, и на 8-9 дни после родов ЛП переносов первого и третьего детеныша у самок опытной группы при ярком

свете оказались ниже, чем при красном ($p < 0,05$). В целом при хроническом введении SCH 23390 в дозе 0,025 мг/кг происходит ослабление «пассивных» материнских реакций самок в первые два дня тестирования в более стрессогенных условиях. В дальнейшем, при адаптации животных к обстановке эксперимента и развитию обучения, параметры поведения крыс приближаются к уровню контроля.

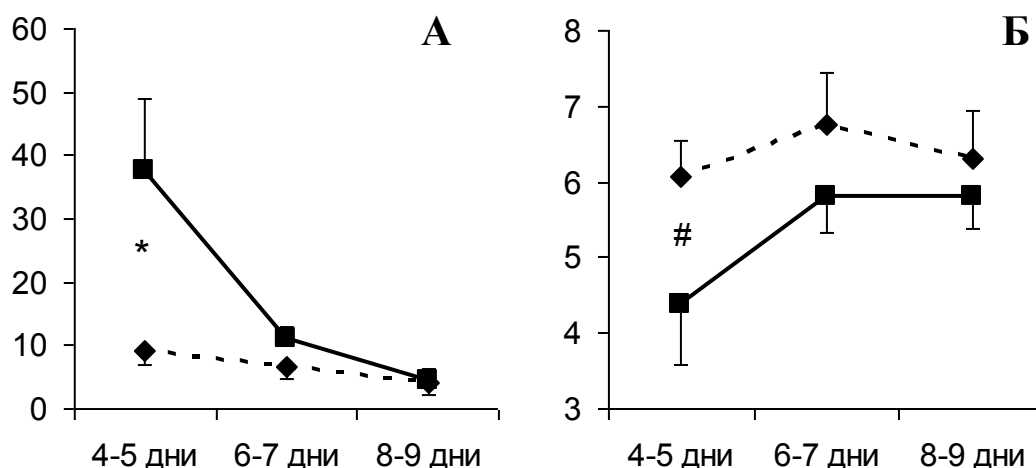


Рис. 3. Изменение латентного периода первого подхода к новорожденным (А, сек) и количества подходов (Б) при ярком освещении установки. Пунктирной линией обозначены параметры поведения самок контрольной группы, сплошной – самок, получавших хронические инъекции SCH 23390 в дозе 0,025 мг/кг. Остальные обозначения – как на рис. 3.

Влияние введения клебоприда на материнское поведение самок.

Эксперименты с острым введением D2-антагониста клебоприда были проведены ранее (Добрякова, 2009), и на их основании для серии с хроническим воздействием мы использовали дозу препарата 0,2 мг/кг ($n=9$ в контрольной группе; $n=8$ – в подопытной группе).

Межгрупповых различий двигательной активности самок не зарегистрировано. При красном освещении в присутствии детенышей (рис. 4) влияние клебоприда было выявлено только для среднего количества переносов новорожденных по арене за 4-5 дни после родов (значение показателя в группе с введением препарата было на 88% ниже, чем в контроле, $p < 0,05$).

В условиях яркой освещенности арены различия групп были выражены более отчетливо: подопытные самки значительно меньше подходили к детенышам (на 52%, $p < 0,02$) и переносили их (на 74%, $p < 0,02$) на 4-5 дни после родов. Далее по ходу эксперимента значения показателей материнского поведения в группе с введением клебоприда приближались к контрольному уровню.

Таким образом, в результате эксперимента с хроническим введением D2-антагониста клебоприда кормящим самкам было выявлено его негативное действие на проявления материнского поведения в первые два дня тестирования; далее отличия от контроля становились незначимы. Исчезновение эффекта препарата может быть как результатом обучения (активации родительских реакций при повторном тестировании), которое

компенсирует исходно сниженный уровень материнской мотивации в подопытной группе, так и следствием прекращения инъекций клебоприда (на 8-9 дни после родов).

По сравнению с эффектами D1-антагониста SCH 23390, проявившимися только относительно параметров пассивного материнского поведения (подходы к новорожденным), клебоприд оказал более общее воздействие, нарушив, прежде всего, переносы – активные проявления родительской заботы.

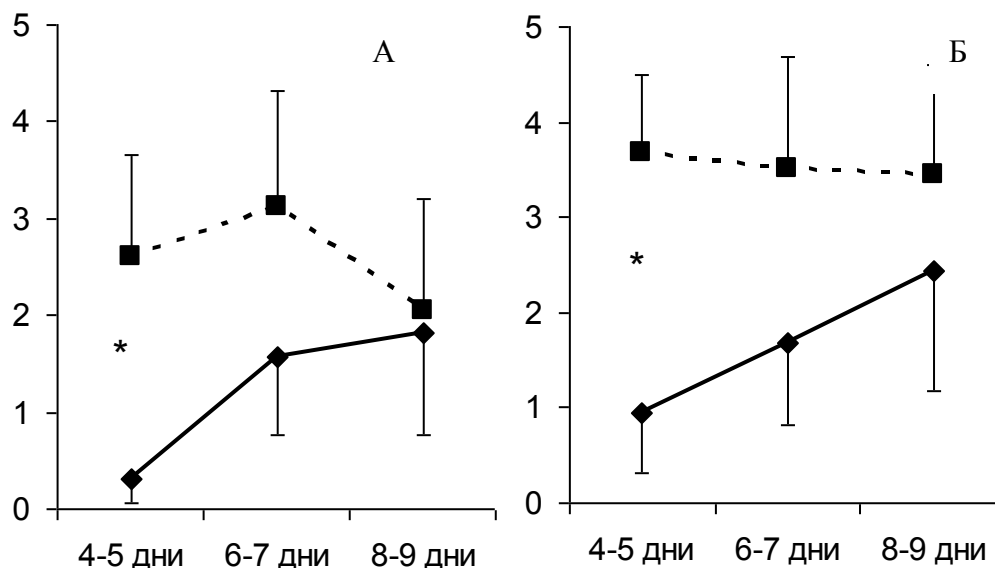


Рис. 4. Изменение количества переносов крысят при красном (А) и ярком (Б) освещении арены в серии с хроническим введением клебоприда. Пунктирной линией обозначены параметры поведения самок контрольной группы, сплошной линией – самок, получавших клебоприд в дозе 0,2 мг/кг. Остальные обозначения – как на рис. 3.

В наших предшествующих исследованиях с использованием неселективного антагониста рецепторов дофамина галоперидола (Добрякова с соавт., 2011) было показано преимущественное воздействие нейролептика на параметры подходов к крысятам; активные компоненты оказались менее чувствительны к влиянию препарата. С учетом представленной выше информации по SCH 23390 и клебоприду можно говорить о разном вкладе D1- и D2-рецепторов дофамина в управление материнским поведением.

Влияние однократного пренатального введения вальпроата натрия на материнское поведение крыс.

Следующая модель нарушения материнских реакций основана на предположении, что однократное пренатальное введение вальпроевой кислоты (600 мг/кг на 13 день беременности) может иметь негативные последствия не только в отношении развития детенышей и их взаимодействия друг с другом и с матерью, но также для поведения самок по отношению к собственному потомству. В опыте было использовано 11 самок из нескольких выводков, подвергшихся пренатальному воздействию вальпроата натрия; в качестве группы сравнения использовали объединенную контрольную группу из первого

раздела работы. Показано, что хотя межгрупповых различий в двигательной и исследовательской активности кормящих самок выявлено не было, родительские реакции в результате пренатального введения препарата были существенно ослаблены.

При красном освещении установки ЛП первого подхода к детенышам в группе самок, подвергшихся воздействию вальпроата, не отличался от контрольного значения. Количество таких подходов при этом было достоверно снижено на 4-й день после родов (на 61%, $p < 0,05$), а динамика параметра не отличалась от контрольной. В случае количества переносов значение показателя практически не изменялось по дням эксперимента, то есть не происходило характерного усиления активной составляющей материнского поведения (рис. 5). На 5 и 6 дни после родов количество переносов крысят в подопытной группе было достоверно ниже, чем в контрольной ($p = 0,03$ и $p = 0,02$, соответственно). Латентные периоды переносов также не снижались по ходу эксперимента, в связи с чем соответствующие параметры достоверно отличались от контрольного уровня на 5 и 6 дни.

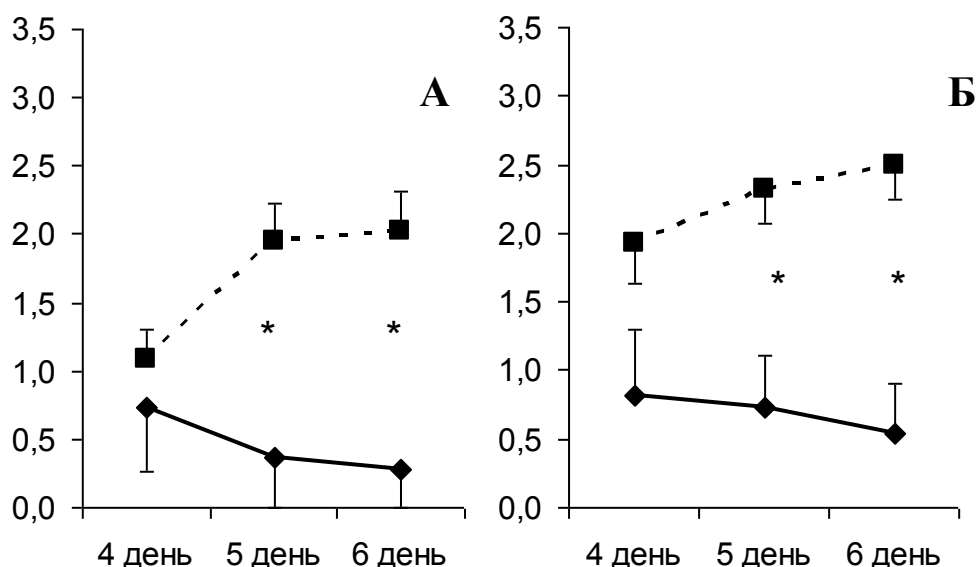


Рис. 5. Изменение количества переносов крысят по арене при красном (А) и ярком (Б) освещении установки в серии с однократным пренатальным введением вальпроевой кислоты. Пунктирной линией обозначены параметры поведения самок контрольной группы, сплошной линией – самок, подвергшихся воздействию препарата.
* – $p < 0,05$ при сравнении с контрольным значением.

При ярком освещении установки характеристики подходов к новорожденным в группе самок, получивших вальпроат в пренатальном периоде, не отличались от контрольных. Вместе с тем, переносы крысят были нарушены, так же, как и при красном свете. При этом отличие от величины показателя в контроле на 4 день после родов носило характер тенденции ($p = 0,15$), а затем стало достоверным ($p = 0,02$ на 5 день и $p < 0,01$ на 6 день после родов). Латентные периоды переносов крысят в подопытной группе изменялись по дням эксперимента незначительно, и на 5 и 6 дни после родов ЛП переносов первого и последнего детеныша были достоверно выше, чем в контроле.

Таким образом, однократное пренатальное воздействие вальпроата натрия

не затронуло характеристики двигательной и исследовательской активности взрослых самок, но существенно повлияло на их материнское поведение. При красном освещении наблюдалось достоверное ослабление как «активных», так и «пассивных» проявлений материнской мотивации; при включении яркого света оказались затронуты только характеристики переносов крысят.

Материнское поведение самок крыс линии WAG/Rij.

Следующий раздел нашей работы посвящен исследованию материнского поведения крыс линии WAG/Rij, характеризующихся склонностью к депрессии и абсанс-эпилепсии. Реакцию самок на детенышей тестировали с использованием стандартной экспресс-методики, а также выясняли уровень подкрепляющей ценности новорожденных для матери с помощью теста предпочтения места (СРР).

Тест предпочтения места показал, что в группе Wistar время пребывания в отсеке, ассоциированном с детенышами, было увеличено почти у 90% самок, а смена предпочтения произошла у 13 крыс из 22. В группе WAG/Rij время в детском отсеке повысилось у 29% самок, и только 3 крысы из 21 стали предпочитать другой отсек после ассоциирования с новорожденными (во всех случаях $p < 0,01$).

При повторном тестировании на арене открытого поля были выявлены некоторые различия в двигательной активности самок крыс линий WAG/Rij и Wistar. В группе WAG/Rij на 3 день наблюдений (6 день после родов) было достоверно повышено количество пройденных сегментов арены, отходов от ее стенок и выходов в центр. Мы предполагаем, что изменение параметров двигательной активности связано с несколько более ярко проявляющейся тревожностью крыс линии WAG/Rij, хотя данный вопрос остается дискуссионным (Саркисова с соавт., 2005).

При тестировании в присутствии детенышей достоверные межгрупповые различия отмечены только при красном освещении и только в первый день наблюдений. Впоследствии происходила адаптация животных линии WAG/Rij к условиям эксперимента и приближение параметров их родительских реакций к контрольному уровню. На 4 день после родов к самок WAG/Rij в сравнении с самками Wistar был при красном свете на 106% увеличен ЛП первого подхода к детенышам и в 2 раза снижено количество подходов ($p < 0,05$). Отклонения показателей активного материнского поведения (переносы крысят) наблюдались как для количества, так и для латентных периодов реакций, но носили только характер тенденции ($p < 0,10$). Характерно, что дополнительный стресс в виде яркого освещения установки нивелировал межгрупповые различия в данной серии экспериментов.

Основываясь на литературных (Sarkisova, van Luijtelaaar, 2011) и наших данных, самок линии WAG/Rij можно уверенно рассматривать в качестве модели комплексного депрессивно-подобного нарушения поведения. В этом они оказываются близки к животным, подвергшимся пренатальному воздействию вальпроата (см. предыдущий раздел работы; Muchasiuk et al., 2012). Проведенный анализ изменений материнского поведения позволяет

утверждать, что в обоих случаях мы имеем дело с хорошо соответствующими клиническим данным моделями послеродовой депрессии (Postpartum Depression – PPD).

Эксперименты с хроническим введением антагонистов рецепторов дофамина можно рассматривать в качестве ситуаций, имитирующих более частные нарушения родительских реакций (в том числе – относительно селективное подавление их активных и пассивных составляющих). По нашему мнению, полученные результаты имеют большое значение для уточнения вклада различных факторов (генетических, нейромедиаторных, пренатальных) в генез нарушений материнского и, шире, зоосоциального поведения млекопитающих (в том числе человека).

Поиск путей коррекции нарушений материнского поведения.

Ранее в экспериментах с морфином и β -казоморфином-7 было показано угнетающее воздействие агонистов классических опиоидных рецепторов (прежде всего, μ -типа) на материнское поведение. С другой стороны, обнаружено, что опиоидный антагонист налоксон в сравнительно небольших дозах приводит к активации материнских реакций у кормящих самок. Данное направление исследований было продолжено нами в экспериментах на сенситизированных к детенышам нерожавших молодых крысах.

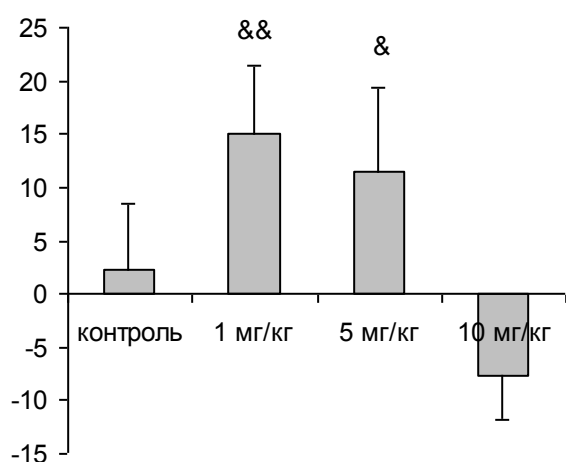


Рис. 6. Изменение на 4-5 дни тестирования по сравнению с 1-2 днями времени (сек), проведенного сенситизированными самками в контакте с новорожденными при красном свете после введения налоксона в разных дозах. && и & – $p < 0,01$ и $p < 0,05$ при сравнении с дозой 10 мг/кг.

В ходе опытов сначала в течение недели самке каждый день на 1 час предъявляли детенышей, а затем в течение шести дней проводили тестирование родительских реакций (налоксон вводили с 4 по 6 из этих дней; в группах было по 8-9 животных).

Главным отличием поведения нерожавших самок от реакций рожавших крыс стало отсутствие у них активного материнского поведения (переносов детенышей по арене). При этом информативным оказался один из «пассивных» параметров, у рожавших крыс выраженный слабо – длительное нахождение в тесном контакте с детенышами. Факторный анализ по

Крускал-Уоллесу выявил значимость фактора «доза» с $p < 0,05$. Время контакта было увеличено под влиянием налоксона 1 и 5 мг/кг (отличия от контроля при красном и ярком свете с $p < 0,10$) и несколько снижено на фоне высокой дозы препарата ($p < 0,20$). В результате различия изменений времени контакта после введения доз 1 и 10 мг/кг наблюдались с $p < 0,01$; доз 5 и 10 мг/кг – с $p < 0,05$ (рис. 6). При объединении групп, получивших 1 и 5 мг/кг препарата, сравнение с

контролем позволило обнаружить достоверный рост времени контакта с $p=0,03$ при красном свете (по точному критерию Фишера). Малые дозы налоксона увеличили также количество выходов в центр арены ($p<0,05$), как результат выработки реакции на место расположения новорожденных.

На следующем этапе было интересно выяснить, проявится ли активирующее материнскую мотивацию влияние налоксона на фоне искусственно созданных нарушений родительских реакций. Соответствующие серии экспериментов включали совместное острое введение (1) налоксона в дозе 1 мг/кг интраназально; (2) антагониста D1- либо D2-рецепторов в эффективной дозе внутривенно (SCH 23390, 0,025 мг/кг, $n=9$; клебоприд, 0,2 мг/кг, $n=10$).

Совместное применение SCH 23390 и налоксона в дозах, по отдельности вызывающих разнонаправленные изменения материнского поведения, привело к компенсации ранее описанных эффектов D1-антагониста при ярком свете: нами не зафиксировано достоверного снижения количества подходов к новорожденным и их переносов. Вместе с тем, общая направленность изменений (некоторое снижение выраженности родительских реакций с $p=0,20-0,40$) была ближе к серии с введением SCH 23390. Общая динамика значений регистрируемых параметров была более плавной, чем в объединенной контрольной группе – не наблюдалось достоверной активации родительских реакций на 5 и 6 дни эксперимента. Таким образом, хотя мы и наблюдали частичное подавление эффектов D1-антагониста на фоне налоксона, в целом материнское поведение самок, получивших совместную инъекцию препаратов, было менее активным, чем в контрольной группе.

В серии с совместным введением налоксона и клебоприда не произошло каких-либо изменений характера поведения животных по сравнению с экспериментами с инъекцией только D2-антагониста: латентный период первого подхода к новорожденным был достоверно повышен в дни с введением препаратов, а количество подходов – снижено. Следовательно, налоксон не смог в данном случае повлиять на эффекты блокатора D2-рецепторов.

Один из возможных способов коррекции нарушений материнского поведения может состоять в использовании препаратов, активирующих дофаминергическую передачу. Для проверки этой гипотезы мы использовали бромокриптин – агонист D2- и D3-рецепторов. Количество препарата подбирали, основываясь на предварительном тестировании двигательной активности и тревожности животных; для оценки влияния на материнские реакции бромокриптин вводился в дозах 1 и 2,5 мг/кг. В обеих сериях экспериментов ($n=7$ и $n=8$) не было выявлено никаких значимых изменений поведения самок как в присутствии крысят, так и без них. Возможно, при дальнейшем снижении дозировки эффект еще проявится, однако это не очевидно, поскольку, наряду с активацией D2- и D3-рецепторов, бромокриптин (как и дофамин) тормозит выделение пролактина – ключевого гормона, усиливающего материнскую мотивацию.

Другим известнейшим стимулятором деятельности дофаминергической системы является L-ДОФА. Мы использовали этот препарат, связанный с нано-

структурным носителем, для хронического введения ($n=7$ в контрольной группе; $n=6$ в группе, получавшей L-ДОФА, доза 20 мг/кг). Начиная с первого дня тестирования, наблюдалось достоверное ослабление активности самок в центре арены, а также интенсивности пассивного и активного материнского поведения. После отмены препарата межгрупповые различия исчезли. Следовательно, в данном случае «дофаминовое» ингибирование выделения пролактина явно преобладало над последствиями активации дофаминергических синапсов.

Следующий препарат, по литературным данным обладающий способностью активировать родительские реакции, – это аргинин-вазопрессин (Bosch 2008). На первом этапе мы проводили опыты с его острым интраназальным введением в дозе 1 мкг/кг ($n=8$) и 10 мкг/кг ($n=10$). В обоих случаях не произошло какого-либо изменения двигательной активности животных. АВП в дозе 1 мкг/кг не повлиял также на параметры материнского поведения, а при увеличении дозы до 10 мкг/кг наблюдалась тенденция к росту количества подходов к детенышам (на 25%, $p=0,09$) и их переносов (на 36%, $p=0,15$) при красном свете. При ярком освещении установки также имела место близкая к достоверной активация подходов к новорожденным.

В серии с хроническим интраназальным введением АВП использовался в дозе 10 мкг/кг с 1 по 6 дни после родов ($n=9$ в контроле, $n=7$ в группе, получавшей пептид). Однако, хотя на фоне введения препарата наблюдалось повышение количества отходов от стенки арены и выходов в центр, межгрупповых различий в интенсивности взаимодействия самок с крысятами не было выявлено, и тенденции, присутствовавшие в экспериментах с острым введением, не подтвердились.

Аналог фрагмента АВП[6-9] сохраняет многие поведенческие эффекты целого пептида (Воскресенская с соавт., 2008). Мы использовали фрагмент в дозе 10 мкг/кг для экспериментов с острым ($n=11$) и хроническим ($n=9$ в контроле и $n=8$ в группе с аналогом) интраназальным введением. В первой серии опытов слабые позитивные изменения материнского поведения самок с $p=0,11-0,12$ наблюдались для пассивных реакций (подходов к крысятам) при ярком освещении. На фоне хронического введения аналог при красном свете вызвал рост ЛП первого подхода к детенышам и снижение количества подходов (негативное влияние).

Таким образом, оба исследованных пептида не проявили выраженного положительного воздействия на параметры материнского поведения при остром введении; при хроническом введении, в отличие от непептидных препаратов, усиления их эффектов не произошло.

Последняя группа исследованных нами веществ – фрагментов ноцицептина, продолжает линию изучения опиоидергической регуляции материнской мотивации. Как известно, ноцицептин воздействует на рецепторы ORL-1, часто конкурируя с эффектами классических опиоидных лигандов. Мы анализировали активность тетрапептида – N-концевого фрагмента ноцицептина FGGF-амида (5 мг/кг, $n=8$) и его модифицированного аналога FGGF-VGP (1 мг/кг, $n=9$). Препараты в использованных дозах при внутрибрюшном

введении не привели к изменению реакций кормящих самок.

В целом в ряду исследованных препаратов явную способность корректировать нарушения материнского поведения проявил только налоксон. Именно он представляется нам наиболее перспективным с точки зрения клинического применения (особенно с учетом сохранения его активности при неинвазивном интраназальном введении). Было бы интересно изучить его эффекты (в том числе – при хроническом применении) на фоне генетической и пренатальной моделей послеродовой депрессии. В случаях пептидных препаратов требуются дальнейшие исследования с расширением диапазона доз и способов их введения, а также с привлечением новых групп соединений.

Заключение.

Материнская депрессия (PPD) – это сравнительно слабо изученное заболевание, приводящее к долгосрочным и порой необратимым нарушениям здоровья женщины, а также физического и психоэмоционального развития потомства. Современная лекарственная терапия послеродовой депрессии направлена, в первую очередь, на модуляцию активности дофаминергической и серотонинергической систем мозга при помощи антидепрессантов. Чаще всего используются препараты, для которых нет клинических данных об отрицательном воздействии на развитие ребенка при продолжении грудного вскармливания (категория В по классификации FDA – Food and Drug Administration, США), например, бупропион (Fishnell, 2010). Препаратов, для которых было бы достоверно показано отсутствие негативного влияния на потомство (категория А), пока нет. Вместе с тем очевидно, что такая специфическая патология, как послеродовая депрессия, требует поиска специальных методов медикаментозной коррекции, учитывающих особенности физиологического состояния лактирующих пациенток. Для разработки подобных препаратов необходимо создание разнообразных по генезу животных моделей PPD.

Используемый нами метод экспресс-оценки родительских реакций позволяет сравнительно быстро выявлять эффекты различных воздействий не только на родительские реакции самок, но и на их поведение в отсутствие детенышей. В целях дальнейшей валидации данной методики в качестве основы для изучения экспериментальных моделей послеродовой депрессии мы провели детальный статистический анализ регистрируемых поведенческих показателей за три последовательных дня эксперимента. В литературе исследования материнского поведения крыс, подразумевающие повторные тестирования, встречаются редко. В нашей работе показано, что подобные результаты могут способствовать созданию более полной картины поведения животных, включающей взаимодействие материнской мотивации с исследовательскими и оборонительными (затаивание) реакциями, а также элементы обучения (в качестве подкрепляющего фактора выступают при этом детеныши; происходит формирование реакции на место их нахождения).

Разработка способов моделирования нарушений материнского поведения

включает принципиально различающиеся способы изменения состояния животных. Так, самки линии WAG/Rij (генетическая модель PPD) продемонстрировали снижение уровня активных родительских реакций по сравнению с крысами Wistar. Ослабление характеристик родительской заботы у них наблюдалось только при красном освещении установки. Важно, что у самок той же линии, выращенных в университете г. Наймеген (Нидерланды), зарегистрированы сходные, хотя и несколько более выраженные, отклонения родительской заботы (Dobryakova et al., 2011). Следующим способом моделирования PPD стало пренатальное воздействие вальпроата натрия. Ранее показанное негативное влияние его большой дозы на характеристики зоосоциального взаимодействия детенышей (Малышев с соавт., 2013), как оказалось, распространяется на параметры родительских реакций взрослых животных. В наших экспериментах были нарушены как активные, так и пассивные компоненты материнского поведения без какого-либо влияния на двигательную активность. Поскольку для двух описанных экспериментальных парадигм помимо прочих отклонений подтверждено наличие общих депрессивно-подобных проявлений, их можно с уверенностью рекомендовать в качестве адекватных моделей послеродовой депрессии.

Продолжая более ранние работы по исследованию нейробиологических основ материнской мотивации, в частности, вклада дофаминергической системы мозга, мы провели серии опытов с использованием селективных антагонистов D1- и D2-рецепторов SCH 23390 и клебоприда, соответственно. Ранее было обнаружено, что широко применяемый в клинике нейролептик галоперидол в низких дозах подавляет родительские реакции (Добрякова, 2009). В нашей работе показано, что D1-подсистема преимущественно управляет пассивными параметрами материнского поведения; блокада D2-рецепторов негативно сказывается также и на активных проявлениях. Сходные результаты внутримозгового введения SCH 23390 описаны в целом ряде работ с использованием других методов оценки материнского поведения (Braun et al., 1997; Numan et al., 2005; Parada et al., 2008). В работе Burnes с соавторами (2002) продемонстрировано, что оба типа рецепторов играют важную роль в поддержании материнской мотивации, однако только блокада D2-рецепторов (при использовании клебоприда в дозе 1 мг/кг) приводила к полному и всестороннему нарушению родительской заботы.

Рассматривая соединения, потенциально способные корректировать симптомы послеродовой депрессии, мы отказались от классических антидепрессантных лекарств. И поскольку важнейшим проявлением PPD является нарушение взаимодействия матери с новорожденными, основное внимание уделили способности препаратов активировать материнскую мотивацию.

Опиоидный антагонист налоксон в низких дозах проявлял способность активировать родительские реакции кормящих самок (Добрякова с соавт., 2005). Мы использовали его для интраназального введения нерожавшим сенситизированным крысам. Важно что в данной экспериментальной ситуации исключается гормональное влияние родов и лактации на мозговые

мотивационные центры, а родительские реакции запускаются только благодаря периодической сенсорной стимуляции со стороны донорских детенышей. В литературе описано достаточно быстрое формирование полного комплекса родительских реакций по отношению к донорским детенышам при введении эстрадиола и прогестерона нерожавшим самкам крыс (Bridges et al., 1990), в нашем же опыте проявились только пассивные компоненты материнского поведения. Эффект налоксона подтвердился у сенситизированных самок, хотя в большинстве случаев лишь на уровне тенденции. В модели экспериментально созданных нарушений родительских реакций с введением антагонистов рецепторов дофамина наблюдалось частичное снижение негативного воздействия SCH 23390 после предварительного введения налоксона. Мы считаем целесообразным дальнейшее исследование влияний антагонистов опиоидных рецепторов (прежде всего, μ - и δ -типов) на различных моделях послеродовой депрессии.

В целом можно заключить, что в представленной работе проведено разностороннее исследование специфики и взаимосвязи параметров материнского поведения крыс при повторном тестировании, статистически доказана эффективность оригинального метода его оценки. Нами разработаны и проанализированы различные по генезу и проявлениям экспериментальные модели общих (генерализованных) и частных (селективных) нарушений родительской заботы, что является актуальным для дальнейшего исследования феномена послеродовой депрессии и поиска путей его коррекции. Раздел работы, посвященный способам фармакологической (негормональной) активации родительского поведения, открывает совершенно новые перспективы для специфического устранения нарушений взаимодействия матери и новорожденного.

Выводы.

1. В течение трех последовательных дней тестирования происходит постепенное снижение двигательной и исследовательской активности самок крыс; при этом материнское поведение как при красном, так и при ярком освещении становится все более выраженным.

2. Комплекс регистрируемых реакций животных подчиняется влиянию факторов, разделяющих, прежде всего, параметры исследовательского и материнского поведения и, позже, формирующих совокупности пассивных (подходы) и активных (переносы) родительских реакций.

3. Хроническое введение малой (не подавляющей двигательную активность) дозы D2-антагониста клебоприда вызывает снижение количества подходов к детенышам и их переносов; D1-антагонист SCH 23390 негативно воздействует преимущественно на пассивные проявления родительской заботы.

4. Самки крыс линии WAG/Rij демонстрируют (в сравнении с крысами Wistar) пониженную материнскую мотивацию в тесте предпочтения места и уменьшение интенсивности родительских реакций (преимущественно при красном свете).

5. Однократное пренатальное введение высокой дозы вальпроевой кислоты на 13 день беременности приводит к существенному ослаблению как пассивных, так и активных проявлений материнского поведения потомства.

6. Опиоидный антагонист налоксон при повторном введении в низкой дозе усиливает пассивные родительские реакции у нерожавших самок; в случае кормящих крыс налоксон частично компенсирует негативные эффекты SCH 23390 (но не клебоприда).

7. Наиболее перспективными с точки зрения поиска путей фармакологической коррекции послеродовой депрессии представляются генетическая модель нарушений материнского поведения (крысы линии WAG/Rij) и модель нейротоксического пренатального воздействия (введение вальпроевой кислоты).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, рекомендованных ВАК РФ

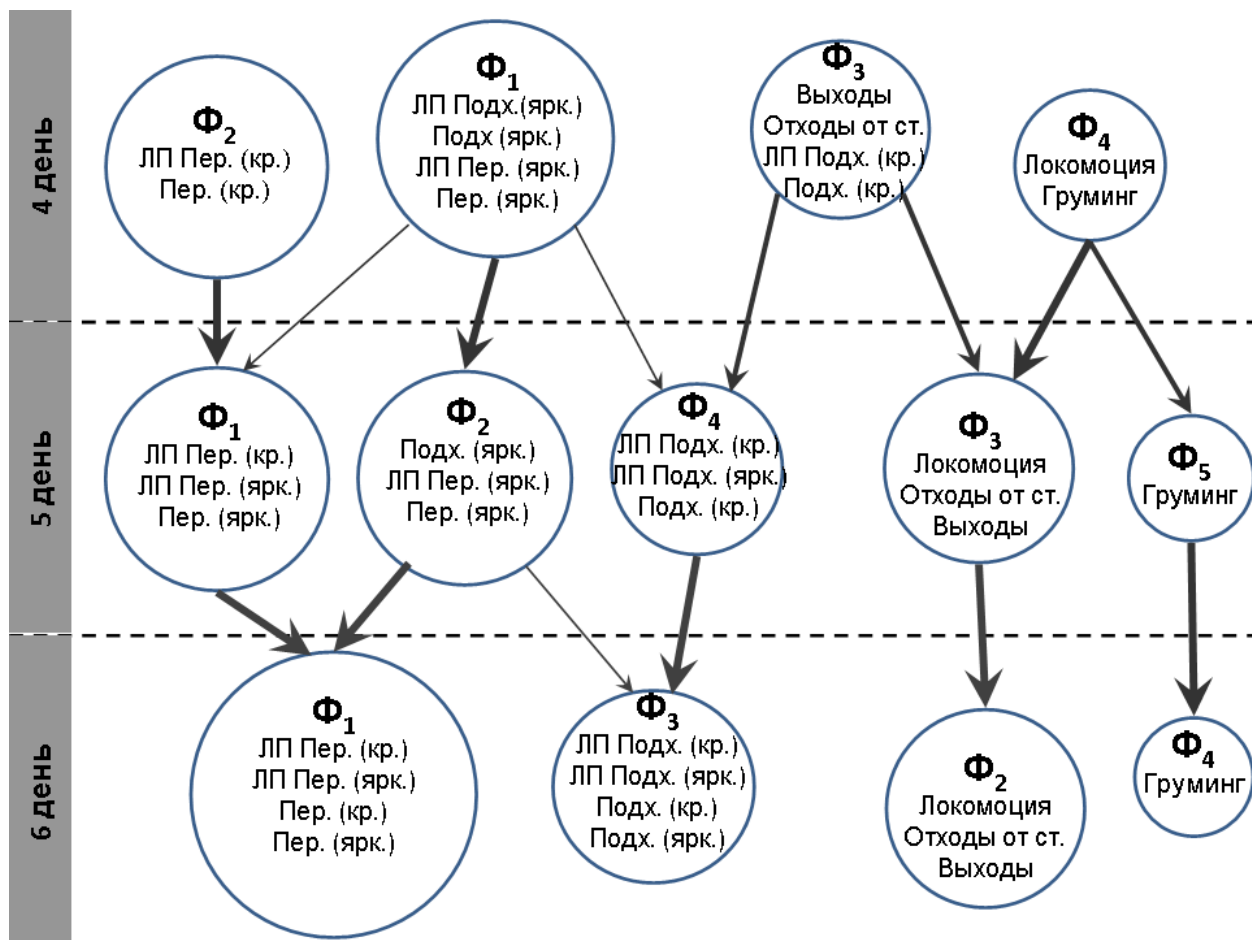
1. **Танаева К.К.**, Добрякова Ю.В., Дубынин В.А., Каменский А.А. Селективный антагонист D1-рецепторов SCH23390 подавляет материнские реакции крыс при остром и повторном введении в послеродовой период // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2012, 75(8), с. 3-6.
2. **Танаева К.К.**, Добрякова Ю.В., Дубынин В.А., Каменский А.А. Влияние однократного и повторного введения селективного D2-антагониста клебоприда на материнское поведение белых крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2012, 153(2), с. 146-150.
3. Добрякова Ю.В., **Танаева К.К.**, Дубынин В.А., Каменский А.А. Роль дофаминовой и опиоидной систем в регуляции материнского поведения // Успехи физиологических наук, 2011, 42(1), с. 3-17.

Публикации в других изданиях

4. **Танаева К.К.**, Dubynin V.A.. A novel method of the maternal behavior assessment in rats // 45th European Brain and Behaviour Society Meeting, Munich, 2013.
5. **Танаева К.К.**, Дубынин В.А.. Влияние аргинин-вазопрессина и его синтетического аналога АВП 6-9 на материнское поведение крыс // Материалы 6-го Российского симпозиума «Белки и пептиды», Уфа, 2013, с. 240.
6. **Танаева К.К.**, Dobryakova Yu.V., Dubynin V.A., Kamensky A.A. Influence of naloxone administration on the maternal behavior in sensitized rat dams // 11th ECNP Regional Meeting, St. Petersburg, 2011, p. S118 (In: European Neuropsychopharmacology, 2011, 21, Suppl. 2).
7. **Танаева К.К.** Влияние неспецифического опиоидного антагониста налоксона на выраженность материнских реакций у нерожавших самок белых крыс // Материалы Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2010», Москва, 2010, с. 287.
8. **Танаева К.К.**, Dobryakova Y.V., Dubynin V.A. Subchronic postpartum administration of D2-antagonist clebopride alters maternal motivation in lactating rats and behavior in the offsprings // 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, 2010, p. 171.1.
9. Dobryakova Y., **Танаева К.**, Dubynin V., Sarkisova K. Pup-induced conditioned place preference and maternal behavior in a genetic model of absence epilepsy with comorbid depression // 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, 2010, p. 088.19.
10. **Танаева К.К.**, Добрякова Ю.В., Саркисова К.Ю., Дубынин В.А. Исследование реакции «предпочтения места» и материнского поведения у крыс линии WAG/Rij и Wistar // Материалы XXI Съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова, Москва-Калуга, 2010, с. 593-594.
11. Добрякова Ю.В., **Танаева К.К.**, Дубынин В.А. Материнское поведение крыс линий WAG/Rij и Wistar до и после применения галоперидола // Материалы 5-й Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам», Москва, 2010, с. 38.

12. Sarkisova K., Dobryakova Y., **Tanaeva K.**, Dubynin V. Depression-like behavior, pup-induced conditioned place in female WAG/Rij rats, a genetic model of absence epilepsy // Материалы конференции с международным участием «Формирование разряда спайк-волна: генетические и эпигенетические факторы», Москва, 2010, с. 26-27.
13. **Танаева К.К.**, Добрякова Ю.В. Обусловленное сенситизацией материнское поведение нерожавших самок крыс и влияние на него налоксона // Материалы XIV Школы-конференции молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, 2010, с. 59.
14. **Танаева К.К.**, Добрякова Ю.В. Исследование постродовых изменений поведения самок белых крыс на модели гормональной имитации беременности (введение прогестерона и эстрадиола) // Материалы Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2009», Москва, 2009, с. 279-280.
15. **Танаева К.К.**, Добрякова Ю.В., Дубынин В.А., Каменский А.А.. Влияние избира-тельных антагонистов D1 и D2-рецепторов на материнское поведение белых крыс // Материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения академика Т.М. Турпаева «Механизмы нервных и нейроэндокринных регуляций», Москва, 2008, с. 109-110.

Приложение 1



На схеме представлены изменения факторной структуры поведения самок за три последовательных дня тестирования. Диаметр окружностей отражает дисперсию, объясняемую соответствующим фактором, толщина стрелок – количество параметров, переходящих из одного фактора в другой. Подробные пояснения см. в тексте на стр. 9.