УДК 615.78: 615.213:577.352.615

Ю. В. СИДОРОВА[1], О. Г. ОБРАЗЦОВА[1], Д. В. ЕВДОКИМОВ[1],
И. И. АБРАМЕЦ[1], А. Н. ТАЛАЛАЕНКО[1]

НЕЙРОХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА КОГНИТИВНЫХ И ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Поступила 21.10.12

Экспериментальный сахарный диабет (ЭСД) вызывали у крыс путем введения аллоксана в дозе 125 мг/кг; заболевание проявлялось в повышении уровня глюкозы в крови в среднем от 5.0 до 18.7 мМ. На четвертой неделе развития ЭСД у крыс наблюдались повышение уровней депрессивности и тревожности и ухудшение процессов формирования и воспроизведения навыков обучения. Изменения поведения происходили на фоне снижения амплитуд НМДА-компонентов популяционных ВПСП (пВПСП) пирамидных нейронов гиппокампа и префронтальной коры, ослабления экспрессии длительной потенциации и параллельного усиления развития длительной депрессии синаптической передачи. Введение инсулина пролонгированного действия в дозе 2 ЕД на животное в течение двух дней обусловливало понижение уровня глюкозы в крови, но не изменяло поведенческих и нейрохимических нарушений, характерных для ЭСД. Воздействие на срезы мозга интактных крыс глюкозой в высокой концентрации (30 мМ) не влияло на релейные и пластические свойства глутаматергических синапсов нейронов гиппокампа и коры. Аппликация 0.1 ЕД/мл инсулина в этих же условиях приводила к увеличению амплитуды НМДА-компонентов ВПСП и облегчала развитие пластических феноменов. Блокатор кальциевых каналов L-типа верапамил (20 мг/кг) не оказывал существенного влияния на релейные и пластические свойства синапсов на нейронах гиппокампа и коры, но несколько ослаблял нарушения поведения и синаптической пластичности в условиях ЭСД. Эти нарушения устранялись при хроническом (две недели) введении антидепрессантов имипрамина и флуоксетина в дозах 20 мг/кг; эффект проявлялся на фоне выраженной гипергликемии и ослабления функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов. Высказано предположение, что дефицит активации инсулиновых рецепторов церебральных нейронов и гипергликемия вызывают повышение уровня кортикостероидов в крови и мозгу; данный сдвиг обусловливает нарушения синаптической пластичности и поведения. Это предположение базируется на способности блокаторов кальциевых каналов и (особенно) антидепрессантов ослаблять поведенческие и нейрохимические нарушения при ЭСД.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет, депрессивность, тревожность, обучение, синаптическая пластичность, НМДА-рецепторы, блокаторы кальциевых каналов, антидепрессанты, глюкокортикоиды.

ВВЕДЕНИЕ

Глюкоза является основным энергетическим субстратом для клеток мозга, где она подвергается окислению до диоксида углерода и воды [1]. При этом нейроны головного мозга не утилизируют глюкозу непосредственно. Глюкоза поглощается астроглией и превращается в астроцитах в молочную кислоту, которая переходит в нейроны и окисляется с образованием макроэргических фосфатов [2, 3]. Хотя поглощение глюкозы астроцитами является инсулиннезависимым процессом, при сахарном диабете наблюдаются изменения функционального состояния церебральных нейронов и нарушения психических функций, сходные с та-

[1]Донецкий национальный медицинский университет МЗ Украины (Украина).
Эл. почта: abrametz@yandex.ru (И. И. Абрамец).

ковыми в условиях действия стрессов и старения мозга [4]. У больных с инсулинзависимым сахарным диабетом выявляются понижение уровня N-ацетиласпартата в лобных долях коры и базальных ганглиях, а также повышение уровней миоинозитола и холина в этих структурах и в височных долях мозга. Снижаются также объемы серого вещества в таламусе, парагиппокампальной и инсулярной коре, и уменьшаются объемы белого вещества в парагиппокампальной, височной и фронтальной областях коры [5].

Выяснение причин эмоциональных и когнитивных нарушений при инсулинзависимой форме сахарного диабета затрудняется тем обстоятельством, что в случае данного заболевания, с одной стороны, снижается уровень активации мембранных инсулиновых рецепторов и подавляются процессы трансдукции, в частности тирозинкиназного фосфорилирования субстратов; с другой стороны, наблюдаемая в условиях сахарного диабета гипергликемия может вызывать гликозилирование белков и липидов. Так, у мышей с экспериментальным сахарным диабетом (ЭСД) угнетается синаптическая передача в симпатических ганглиях, что обусловлено гипергликемией, повышением образования реактивных форм кислорода и окислением консервативных остатков цистеина в структуре альфа 3-субъединиц никотиновых холинорецепторов, т. е. структурных единиц, участвующих в формировании катионных каналов данных рецепторов [6]. В то же время инсулин, усиливая тирозинкиназное и зависимое от фосфатидилинозитол-3-киназы фосфорилирование альфа 1-субъединиц глициновых А-рецепторов, приводил к интенсификации процессов торможения в спинном и продолговатом мозгу [7].

Понижение уровня инсулина в плазме крови и тканях при сахарном диабете вызывает сопряженное нарушение функций ряда эндокринных желез. Так, у мышей со стрептозотоцининдуцированным сахарным диабетом обнаруживается десенситизация центральных бета-адренорецепторов в связи с угнетением функции щитовидной железы и снижением уровня трийодтиронина [8]. Кроме того, в этих же экспериментальных условиях отмечались усиление секреции глюкокортикоидов и морфологические и функциональные изменения в мозгу, сходные с теми, которые происходят при стрессе [9].

В настоящем исследовании мы предприняли попытку выяснить нейрохимическую природу нарушений эмоциональных и когнитивных процессов, наблюдаемых у крыс в случае ЭСД.

МЕТОДИКА

Исследования были выполнены на белых беспородных крысах массой 150–250 г. Животные содержались в клетках по четыре–шесть особей в каждой в условиях цикла светлое/тёмное время 12/12 ч (включение света в 7.00) со свободным доступом к воде и пище. ЭСД вызывали путем одноразового внутрибрюшинного введения крысам аллоксана (125 мг/кг). Критерием развития заболевания являлось увеличение содержания глюкозы в плазме крови до 15–30 мМ. Данный показатель определяли с помощью тест-пластинок и глюкометра фирмы «Azkgauz faktori Inc.» (Япония). Исследования начинали через две недели после введения аллоксана, когда уровень гипергликемии становился стабильным.

Уровень депрессивности животных оценивали в поведенческих исследованиях по общепринятой методике теста вынужденного плавания [10]. Крысу помещали в аквариум высотой 50 см, заполненный водой на 2/3 высоты (температура воды 22–25 °С). Регистрировали длительность периода иммобилизации (с) в течение таких сеансов вынужденного плавания продолжительностью по 5 мин. Уровень тревожности крыс определяли согласно характеристикам их поведения в приподнятом крестообразном лабиринте [11]. Животных помещали на центральную площадку головой к открытому рукаву аппарата. В течение 5 мин регистрировали время пребывания (с) животных в открытых рукавах, количество выходов в такие рукава и количество выглядываний из последних. Способность к обучению и сохранение следов памяти оценивали с помощью регистрации условнорефлекторной реакции активного избегания (УРАИ) [12]. Условным раздражителем служил звук звонка, который включался за 5 с до нанесения безусловного электроболевого раздражения на конечности в клетке с электрифицированным полом (50 Гц, 1 мА). Избегание реализовывалось путём вспрыгивания крысы на стержень, соединённый с выключателем напряжения, которое подавалось на проводники на полу установки. Определяли количество сочетаний условного и безусловного раздражений, необходимых для выработки условного рефлекса со стабильным минимальным латентным периодом.

Электрофизиологические исследования выполняли на срезах дорсального гиппокампа и медиальной префронтальной коры экспериментальных животных; детали методики были изложены ранее [13]. Вкратце, крыс наркотизировали путем внутрибрюшинного введения кетамина в дозе 50 мг/кг. По достижении достаточного уровня наркоза животных декапитировали, головной мозг извлекали из черепа и охлаждали в растворе для препарирования (4–6 °С). Дорсальный гиппокамп изолировали из тканей заднего, а медиальную префронтальную кору – из переднего полюса мозга. Срезы толщиной 400 мкм готовили с помощью вибратома. Из поперечных срезов мозга выделяли участки, соответствующие сечениям гиппокампа и медиальной префронтальной коры; срезы указанных структур помещали в инкубационную камеру, где их суперфузировали раствором Кребса следующего состава (в миллимолях на 1 л): NaCl – 124, KCl – 3, KH_2PO_4 – 1.25, $NaHCO_3$ – 26, $CaCl_2$ – 2, $MgSO_4$ – 1, глюкоза – 10. Раствор Кребса в инкубационной камере насыщали карбогеном, температуру поддерживали на уровне 25 °С, скорость протока равнялась 2 мл/мин. Через 90 мин инкубации исследуемый срез помещали в рабочую камеру объёмом 0.5 мл, где его суперфузировали насыщенным карбогеном раствором Кребса при температуре 28 °С; скорость протока раствора составляла 2 мл/мин. В срезах дорсального гиппокампа удаляли область *CA3* и регистрировали популяционные ВПСП (пВПСП) пирамидных нейронов области *CA1*; эти потенциалы вызывали электрической стимуляцией коллатералей Шаффера в радиальном слое. В срезах медиальной префронтальной коры регистрировали пВПСП пирамидных нейронов V слоя, которые вызывали электрической стимуляцией нейронов II слоя. Стимуляцию синаптических входов производили через биполярные нихромовые электроды прямоугольными толчками тока длительностью 0.1 мс. После того как амплитуда пВПСП стабилизировалась, получали кривую зависимости амплитуды этих компонентов от интенсивности пресинаптической стимуляции.

НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры выделяли фармакологически. Для этого срезы гиппокампа и коры суперфузировали раствором Кребса со сниженной до 0.2 мМ концентрацией Mg^{2+} и добавлением 10 мкМ блокатора АМРА-рецепторов 6,7-динитрохиноксалин-2,3-диона (DNQX), 50 мкМ неконкурентного блокатора $ГАМК_А$-рецепторов пикротоксина и 1 мкМ коагониста НМДА-рецепторов глицина. Кроме того, исследовали две формы пластичности глутаматергических синапсов пирамидных нейронов коры и гиппокампа – длительную потенциацию (ДП) и длительную депрессию (ДД) синаптической передачи. ДП индуцировали с помощью тетанической стимуляции коллатералей Шаффера и нейронов II слоя коры с частотой 100 $с^{-1}$ на протяжении 1 с; интенсивность стимуляции подбирали таким образом, чтобы исходная амплитуда пВПСП составляла примерно треть максимальной. ДД вызывали низкочастотной (3 $с^{-1}$) длительной тетанической стимуляцией синаптических входов (продолжительность 5 мин); интенсивность стимуляции соответствовала субмаксимальной (~0.7–0.8 максимальной). Каждую серию опытов выполняли на шести срезах мозга, взятых от трех-четырех животных.

Числовые результаты обрабатывали с использованием общепринятых методов вариационной статистики; применяли лицензионную программу «Medstat». Для каждой серии определяли средние значения и доверительный интервал при $P = 0.05$. Достоверность межгрупповых различий сравниваемых величин оценивали с помощью критерия t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

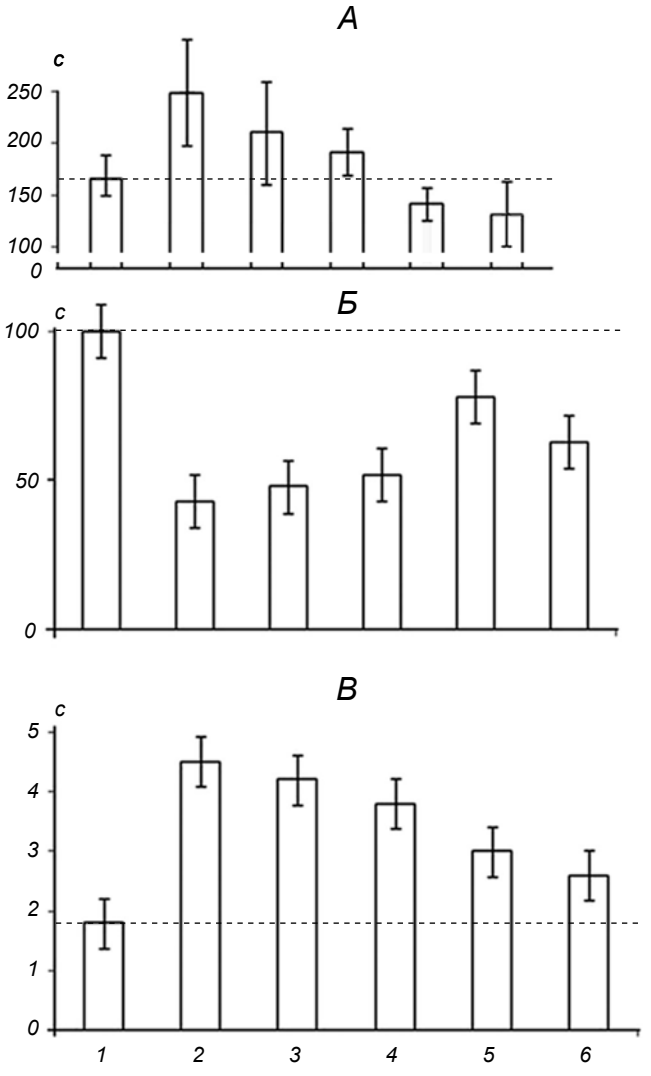
Развитие ЭСД (содержание глюкозы в плазме крови было увеличено до 15–30 мМ, в среднем 18.7 мМ сопровождалось заметными изменениями поведения животных. В этих условиях увеличивалась длительность периода иммобилизации животных в тесте вынужденного плавания (что было проявлением возрастания уровня депрессивности) и уменьшалось время пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта (повышалась тревожность). Латентный период УРАИ увеличивался, что свидетельствовало о нарушении процессов формирования и воспроизведения навыков обучения (рис. 1, *A–B*, *1*, *2*).

В условиях сформировавшегося ЭСД базальный уровень глутаматергической синаптической передачи в дорсальном гиппокампе и медиальной префронтальной коре, судя по амплитудам пВПСП пирамидных нейронов, существенных изменений не претерпевал (рис. 2, *1*, *3*). В данном случае, однако, амплитуды НМДА-компонентов ВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры заметно уменьшались (*2*, *4*). В этих же экспериментальных усло-

виях выявлялись изменения пластических свойств глутаматергических синапсов пирамидных нейронов дорсального гиппокампа и префронтальной коры – происходило угнетение экспрессии ДП, но усиливалось развитие ДД синаптической передачи (рис. 4, *А*, *Б*, *1*, *4*). Таким образом, если учесть, что развитие ЭСД влияет на ряд аспектов поведения животных, упомянутых выше, логично думать, что эти поведенческие нарушения (во всяком случае отчасти) связаны с изменениями пластических свойств глутаматергических синапсов коры и гиппокампа. В свою очередь, последние изменения могут быть обусловлены снижением функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов. Природа нейрохимических и, соответственно, поведенческих нарушений при ЭСД пока не вполне ясна. Очевидно, что основной общей причиной должны быть нарушение углеводного обмена и повышение содержания глюкозы в плазме крови, однако детали и конкретные механизмы происходящих сдвигов пока не установлены. Существенной причиной может быть ослабление процессов трансдукции, запускаемых активацией мембранных инсулиновых рецепторов нейронов мозга в условиях дефицита соответствующего гормона.

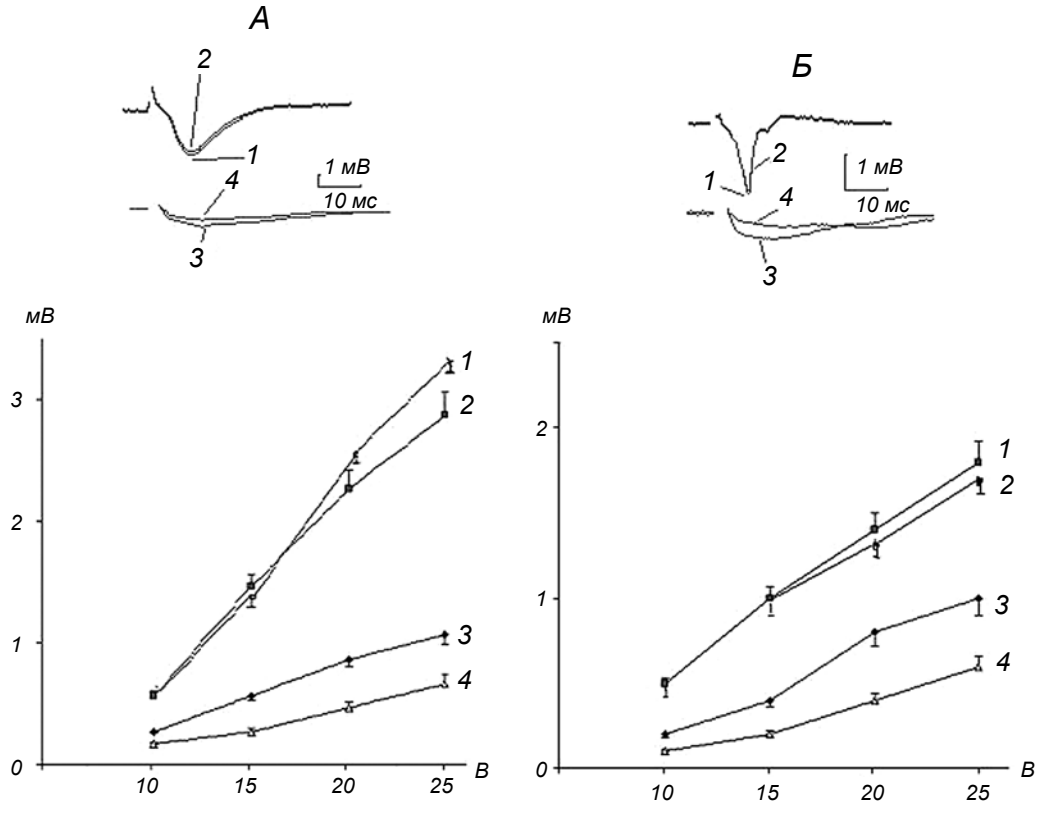
Если воздействие диабетогенных веществ (аллоксан, стрептозотоцин) сопровождать курсовым введением препаратов инсулина, то поступление данного гормона в существенной степени предотвращает развитие поведенческих и нейрохимических изменений, характерных для ЭСД [14]. В то же время результаты исследований, в которых препараты инсулина вводили на фоне уже развившегося сахарного диабета, неоднозначны [15, 16].

Введение крысам с развившимся аллоксановым ЭСД протафана (препарата инсулина длительного действия) в дозе 2 ЕД/сутки в течение двух дней не вызывало существенных изменений времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания и времени пребывания животных в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта; не отмечалось также изменений латентного периода УРАИ (рис. 1, *А–В*, *2*, *3*). Данные поведенческие сдвиги сохранялись, несмотря на существенное снижение уровня глюкозы в плазме крови. В срезах мозга крыс с ЭСД после двухдневного введения препарата инсулина мы не наблюдали значительных изменений глутаматергической синаптической передачи (судя по амплитудам пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры и НМДА-компонентов указанных потенциалов; рис. 3, *4*, *5*). В этих же услови-



Р и с. 1. Изменения поведенческих реакций крыс при экспериментальном сахарном диабете (ЭСД) и влияние тест-веществ на эти сдвиги.
А – длительность периода иммобилизации (с) в тесте форсированного плавания; *Б* – время пребывания крыс (с) в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта; *В* – латентный период (с) условной рефлекторной реакции активного избегания. *1* – исходные показатели у контрольных животных; *2* – показатели на четвертой неделе развития ЭСД; *3–5* – то же после введения крысам тест-агентов: 2 ЕД/сутки протафана в течение двух дней (*3*), 20 мг/кг верапамила (*4*), 20 мг/кг имипрамина (*5*) или флуоксетина (*6*) в течение двух недель.

Р и с. 1. Зміни поведінкових реакцій щурів при експериментальному цукровому діабеті та вплив тест-речовин на ці зрушення.



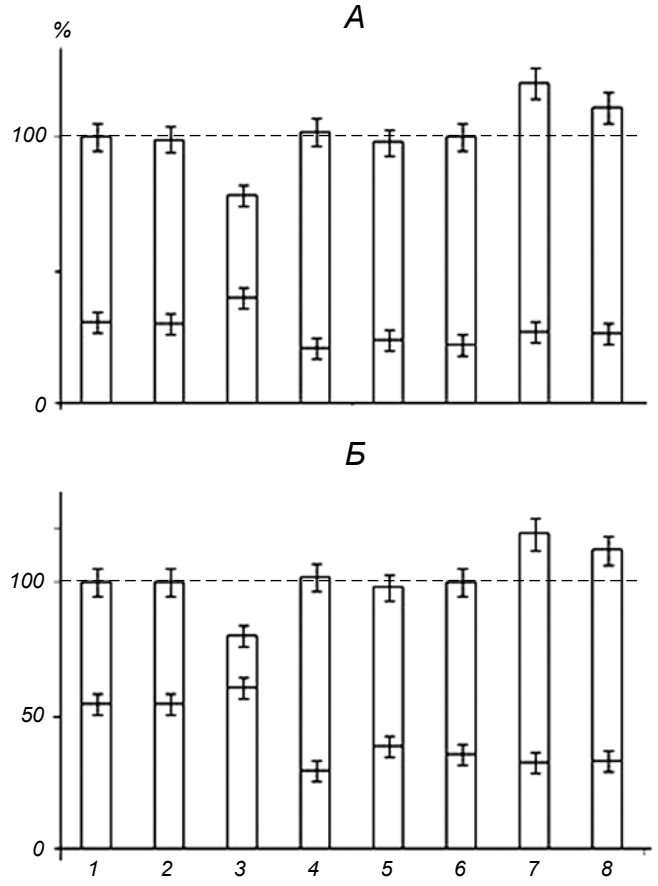
Р и с. 2. Изменения глутаматергической синаптической передачи в пирамидных нейронах области *CA1* гиппокампа (*А*) и V слоя медиальной префронтальной коры (*Б*) при экспериментальном сахарном диабете (ЭСД).
Вверху – осциллограммы максимальных постсинаптических ответов, внизу – кривые зависимости амплитуд популяционных ВПСП пирамидных нейронов и их НМДА-компонентов от интенсивности пресинаптической стимуляции в контроле (*1* и *3*) и на фоне развившегося ЭСД (*2* и *4*). По оси абсцисс – интенсивность пресинаптической стимуляции, В; по оси ординат – амплитуда ответов, мВ.

Р и с. 2. Зміни глутаматергічної синаптичної передачі в пірамідних нейронах ділянки *CA1* гіпокампа (*А*) та V шару медіальної префронтальної кори (*Б*) при експериментальному цукровому діабеті.

ях инсулин не оказывал существенного влияния на экспрессию ДП и ДД в синапсах пирамидных нейронов гиппокампа и коры (рис. 4, *4*, *5*).

В то же время воздействие на срезы мозга интактных крыс инсулина в концентрации 0.1 ЕД/мл в течение 2 ч вызывало снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры, но при этом отмечалось увеличение амплитуд НМДА-компонентов данных потенциалов (рис. 3, *А*, *Б*, *3*). В таких же условиях инсулин усиливал экпрессию как ДП, так и ДД синаптической передачи (рис. 4, *А*, *Б*, *3*). Снижение амплитуд пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры в срезах мозга интактных крыс после воздействия инсулина является одной из форм хемоиндуцируемой ДД синаптической передачи. Нейрохимические механизмы индукции и экспрессии отличаются от таковых ДД синаптической передачи, вызываемой низкочастотной электрической стимуляцией [17].

При воздействии на срезы мозга интактных крыс глюкозы в концентрации 30 мМ в течение 6 ч изменений базальной глутаматергической синаптической передачи и амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры не наблюдалось (рис. 3, *А*, *Б*, *1*, *2*). Повышение концентрации глюкозы в растворе Кребса не оказывало влияния на синаптическую пластичность нейронов дорсального гиппокампа и префронтальной коры, судя по тому, что экспрессия ДП и ДД синаптической передачи в срезах мозга, подвергнутых воздействию глюкозы в повышенной концентрации, не отличалась от таковой в срезах контрольных крыс



Р и с. 3. Изменения нормированных амплитуд (%) популяционных ВПСП (пВПСП) и их НМДА-компонентов пирамидных нейронов гиппокампа (*А*) и коры (*Б*) при разных экспериментальных условиях.
Верхняя и нижняя границы в каждом столбце соответствуют максимальным амплитудам ВПСП и их НМДА-компонентов. *1* – контроль; *2* и *3* – при наличии 30 мМ глюкозы (*2*) и 0.1 ЕД/мл инсулина (*3*) в среде; *4* – в срезах мозга крыс на четвертой неделе развития экспериментального сахарного диабета; *5* – то же после двухдневного введения протафана в дозе 2 ЕД/сутки; *6* – то же после введения 20 мг/кг верамамила; *7* и *8* – то же после двухнедельного введения имипрамина и флуоксетина в дозах 20 мг/кг соответственно. За 100 % приняты амплитуды пВПСП в контроле.

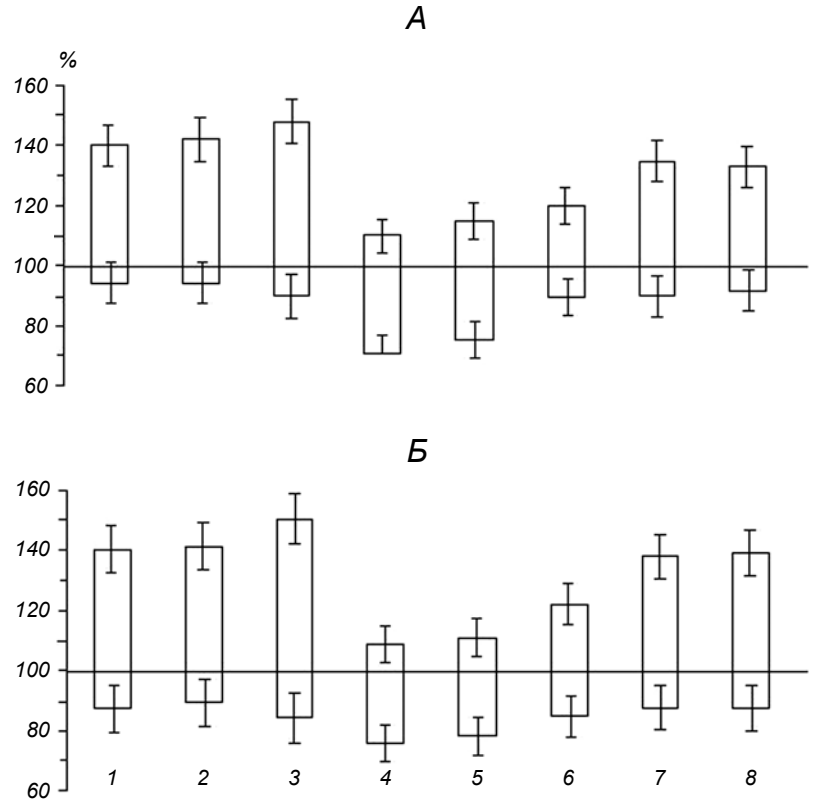
Р и с. 3. Зміни нормованих амплітуд (%) популяційних ЗПСП та їх НМДА-компонентів пірамідних нейронів гіпокампа (*А*) і кори (*Б*) при різних експериментальних умовах.

(рис. 4, *А*, *Б*, *1*, *2*).

Поведенческие нарушения, характерные для сахарного диабета, напоминают изменения, возникающие при старении мозга или при хронических воздействиях стресса. Тогда также происходит нарушение экспрессии ДП синаптической передачи и гиппокампзависимых форм памяти [4, 18, 19]. Было показано, что возрастные нарушения синаптической пластичности и когнитивных процессов ослабляются под воздействием блокаторов потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа [20, 21]. С учетом этого мы исследовали влияние блокатора кальциевых каналов верапамила в дозе 20 мг/кг на поведенческие реакции крыс в условиях сформировавшегося ЭСД. Оказалось, что верапамил несколько сокращал период иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания, увеличивал время пребывания животных в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта и уменьшал латентный период УРАИ (рис. 1, *А–В*, *2*, *4*). В экспериментах же на срезах мозга крыс с ЭСД воздействие верапамила в концентрации 20 мкМ не вызывало существенных изменений амплитуд ни пВПСП, ни НМДА-компонентов таких постсинаптических ответов пирамидных нейронов (рис. 3, *А*, *Б*, *4*, *6*). В то же время верапамил достоверно усиливал экспрессию ДП и ослаблял развитие ДД синаптической передачи в гиппокампе и коре крыс с ЭСД (рис. 4, *А*, *Б*, *4*, *6*).

Наиболее существенные эффекты устранения нарушений поведенческих реакций животных в условиях ЭСД наблюдались при хроническом введении клинически активных антидепрессантов – неселективного ингибитора транслоказ норадреналина и серотонина имипрамина, а также селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина (в дозах 20 мг/кг в течение двух недель). Действительно, хроническое введение имипрамина существенно уменьшало длительность иммобилизации крыс в тесте вынужденного плавания; данный показатель сокращался практически до уровня, характерного для контрольных крыс. Имипрамин также увеличивал время пребывания животных в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта и уменьшал латентный период УРАИ (рис. 1, *А–В*, *2*, *5*). Аналогичные результаты были получены при хроническом введении крысам с ЭСД флуоксетина в дозе 20 мг/кг (*2*, *6*). Таким образом, антидепрессанты в значительной мере устраняют нарушения поведения, возникающие у крыс с ЭСД, и эти эффекты антидепрессантов реализуются на фоне выраженной гипергликемии.

Хроническое введение антидепрессантов вызывало незначительное увеличение интенсивности базальной глутаматергической синаптической передачи: амплитуда пВПСП пирамидных нейронов дорсального гиппокампа и коры возрастала на



Р и с. 4. Интенсивности длительной потенциации (ДП) и длительной депрессии (ДД) синаптической передачи в пирамидных нейронах гиппокампа (*А*) и коры (*Б*) при разных экспериментальных условиях. Каждые направленные вверх и вниз столбцы отражают нормированные изменения амплитуды популяционных ВПСП на 30-й мин после прекращения тетанической стимуляции синаптических входов, т. е. ДП и ДД синаптической передачи соответственно. Экспериментальные условия для столбцов *1–8* те же, что и на рис. 3.

Р и с. 4. Інтенсивності тривалої потенціації та тривалої депресії синаптичної передачі в пірамідних нейронах гіпокампа (*А*) і кори (*Б*) при різних експериментальних умовах.

10–20 % (рис. 3, *А*, *Б*, *7*, *8*). В то же время НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов в данных условиях были меньшими по сравнению с таковыми у контрольных животных (*7*, *8*). Следовательно, хроническое введение антидепрессантов не устраняло нарушений функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов. В то же время подобное введение устраняло нарушения синаптической пластичности, характерные для ЭСД. Так, на фоне действия антидепрессантов наблюдали усиление экспрессии ДП и ослабление ДД синаптической передачи почти до контрольных уровней (рис. 4, *А*, *Б*, *4*, *7*, *8*).

ОБСУЖДЕНИЕ

То, что при сахарном диабете нарушается деятельность мозга и возникают отчетливые когнитивные и эмоциональные расстройства, является общеизвестным фактом. В то же время нейрохимическая природа данных нарушений остается невыясненной. Поскольку в условиях ЭСД у крыс уменьшены НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов (рис. 2; 3), это может являться одной из причин нарушений психических функций. Ряд исследователей отмечали также, что при стрептозотоцининдуцируемом сахарном диабете уменьшается количество НМДА-рецепторов, содержащих в себе NR2B-субъединицу. Интенсивность фосфорилирования NR2A- и NR2B-субъединиц в структуре НМДА-рецепторов, опосредуемого кальцийкальмодулинзависимой протеинкиназой II и тирозинкиназами, снижается [15]. Гипофункция НМДА-рецепторов может быть следствием гипергликемии, но может быть обусловлена и нарушением процессов трансдукции, запускаемых в случае активации инсулиновых рецепторов в нейронах. Воздействие на срезы мозга раствором Кребса с повышенным содержанием глюкозы не вызывало изменений амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов (рис. 3). Показано, однако, что повышение концентрации глюкозы во внеклеточной среде мозга способствует развитию нейропротективного действия в условиях эксайтотоксических и аноксических повреждений мозга [22, 23]. С другой стороны, воздействие инсулина на срезы мозга интактных крыс приводило к увеличению НМДА-

компонентов пВПСП пирамидных нейронов гиппокампа и коры (рис. 3). В связи с этим представляется вероятным, что снижение функциональной активности НМДА-рецепторов, скорее всего, связано с ослаблением степени активации нейронных инсулиновых рецепторов.

НМДА-рецепторы играют ключевую роль в процессах синаптической пластичности (индукции НМДА-зависимых форм ДП и ДД синаптической передачи). В условиях ЭСД у крыс нарушается синаптическая пластичность пирамидных нейронов гиппокампа и коры, что проявляется в угнетении экспрессии ДП при параллельном усилении развития ДД синаптической передачи (рис. 4), причем обе эти формы синаптической пластичности являются НМДА-зависимыми. Однако если бы наблюдаемые нарушения синаптической пластичности были обусловлены снижением функциональной активности НМДА-рецепторов, следовало бы ожидать не селективных эффектов, а угнетения обеих форм синаптической пластичности (как в случае действия блокаторов НМДА-рецепторов). Поскольку при ЭСД угнетается экспрессия только ДП синаптической передачи, это бросает тень сомнения на представления о том, что нарушения синаптической пластичности вызваны снижением функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов.

Угнетение развития ДП и усиление экспрессии ДД синаптической передачи выявляются в гиппокампе животных, подвергнутых стрессогенным воздействиям. Эти эффекты воспроизводились под действием агонистов глюкокортикоидных рецепторов и активатора потенциалзависимых кальциевых каналов, но ослаблялись антагонистами кальция [24–26]. Воздействие на срезы мозга крыс блокатором кальциевых каналов верапамилом не вызывало существенных изменений амплитуд пВПСП пирамидных нейронов и их НМДА-компонентов (рис. 3), но ослабляло нарушения синаптической пластичности, связанные с ЭСД (рис. 4). Более того, введение верапамила крысам с ЭСД обусловливало снижение депрессивности и тревожности и облегчение формирования и воспроизведения навыков УРАИ (рис. 1). Эти данные указывают на то, что в условиях ЭСД у крыс нарушен кальциевый гомеостаз в пирамидных нейронах. Действительно, в специальных исследованиях было установлено, что вызванное деполяризацией мембран повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в нейронах коры мозга крыс выражено у животных с ЭСД в большей степени, причем названный эффект угнетается блокаторами потенциалзависимых кальциевых каналов L-, но не Т-типа [27]. В то же время прямые указания на то, что инсулин как-то регулирует экспрессию потенциалзависимых кальциевых каналов, отсутствуют. С другой стороны, установлено [28], что кортикостероиды через посредство глюкокортикоидных рецепторов повышают кальциевую проводимость мембран нейронов за счет усиления экспрессии кальциевых каналов L-типа.

Имеются данные, свидетельствующие о том, что по мере развития ЭСД у животных уровень кортикостерона в плазме крови и мозгу повышается, причем изменение этого показателя в определенной степени коррелирует с повышением уровня глюкозы в плазме крови. Более того, эмоциональные и когнитивные нарушения, возникающие при ЭСД, в значительной степени ослаблялись, когда животным на протяжении четырех дней вводили блокатор глюкокортикоидных рецепторов мифепристон [9, 29]. Следовательно, можно думать, что связанные с ЭСД нарушения психических процессов и синаптической пластичности обусловлены (во всяком случае в значительной степени) сопутствующим диабету повышением уровня кортикостерона, а не снижением функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов.

Хроническое введение антидепрессантов при ЭСД, с одной стороны, весьма эффективно устраняло нарушения эмоциональных и когнитивных процессов на фоне гипергликемии, причем то же отмечалось в условиях дефицита функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов (рис. 3). С другой стороны, введение животным инсулина на фоне сформировавшегося сахарного диабета, несмотря на снижение содержания глюкозы в плазме крови и включение механизмов трансдукции в случае активации инсулиновых рецепторов нейронов, на нарушения синаптической пластичности и психических процессов при ЭСД не влияло (рис. 1; 3). Данные факты указывают на то, что дефицит инсулина и гипергликемия в случаях ЭСД являются лишь пусковым звеном, запускающим другой (кортикостероидный) механизм индукции нарушений синаптической пластичности, а также эмоциональных и мнестических процессов.

Повышение уровня глюкокортикоидов в крови и мозгу животных сопровождается нарушениями глутаматергической синаптической передачи, синаптической пластичности и поведения животных. Так, изоляция новорожденных крысят от матерей вызывает в последующем у взрослых животных

уменьшение экспрессии NR2B-субъединиц НМДА-рецепторов и ГлуР 1- и 2-субъединиц АМРА-рецепторов в нейронах гиппокампа и коры [30]. Хронические стрессогенные воздействия обусловливают снижение активности транскрипционного фактора CREB, а также угнетают экспрессию нейротрофинов и факторов роста BDNF и VEGF [31 – 33]. В результате этих изменений нарушаются синаптическая пластичность и гиппокампзависимые формы памяти, увеличиваются уровни депрессивности и тревожности животных.

В свою очередь, хроническое введение антидепрессантов обеспечивает позитивную (ап-) регуляцию сигнального пути аденилатциклаза – цАМФ – протеинкиназа А. Это связано с накоплением во внеклеточных пространствах мозга норадреналина и серотонина и активацией позитивно сопряженных с аденилатциклазой β3-адрено- и серотониновых (5НТ 6-) рецепторов [34]. В свою очередь, протеинкиназа А и другие (митогенактивируемые) киназы повышают активность фактора транскрипции CREB в гиппокампе и фронтальной коре [35, 36]. В этих же структурах мозга в условиях хронического введения антидепрессантов усиливается экспрессия основного нейротрофина мозга – BDNF, который повышает выживаемость нейронов, интенсивность синаптогенеза и синаптическую пластичность [37]. Кроме того, на фоне хронического введения антидепрессантов усиливается образование эндотелиального фактора роста VEGF, действие которого в отношении синаптической пластичности подобно действию BDNF [38]. Приведенные факты позволяют думать, что антидепрессанты устраняют наблюдаемые при ЭСД нарушения синаптической пластичности пирамидных нейронов гиппокампа и коры и это лежит в основе позитивного влияния данных агентов на нарушения поведения, отмечаемые в условиях развития ЭСД.

Таким образом, представляется вероятным, что ослабление функции инсулиновых рецепторов нейронов мозга и гипергликемия являются пусковым звеном, обусловливающим рост уровня глюкокортикоидов в плазме крови и мозгу. Именно избыток глюкокортикоидов нарушает пластические свойства глутаматергических синапсов в гиппокампе и коре; это в свою очередь вызывает повышение уровней депрессивности и тревожности и приводит к развитию мнестических нарушений.

Исследования выполнялись в соответствии с требованиями Комиссии по биоэтике Донецкого национального медицинского университета МЗ Украины, соответствующими международным нормам.

Авторы – Ю. В. Сидорова, О. Г. Образцова, И. И. Абрамец, Д. В. Евдокимов и А. Н. Талалаенко – подтверждают, что у них отсутствует конфликт интересов.

Ю. В. Сидорова[1], О. Г. Образцова[1], Д. В. Євдокімов[1], І. І. Абрамець[1], О. М. Талалаєнко[1]

НЕЙРОХІМІЧНА ПРИРОДА КОГНІТИВНИХ І ЕМОЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

[1]Донецький національний медичний університет МОЗ України (Україна).

Р е з ю м е

Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) викликали у щурів за допомогою введення алоксану в дозі 125 мг/кг; захворювання проявлялось у підвищенні рівня глюкози в крові в середньому від 5.0 до 18.7 мМ. На четвертому тижні розвитку ЕЦД у щурів спостерігалися підвищення рівнів депресивності і тривожності та погіршення процесів формування і відтворення навичок навчання. Зміни поведінки відбувалися на тлі зниження амплітуд НМДА-компонентів популяційних ЗПСП (пЗПСП) пірамідних нейронів гіпокампа та префронтальної кори, послаблення експресії тривалої потенціації та паралельного посилення розвитку тривалої депресії синаптичної передачі. Введення інсуліну пролонгованої дії в дозі 2 ОД на тварину протягом двох днів зумовлювало зниження рівня глюкози в крові, але не змінювало поведінкових і нейрохімічних порушень, характерних для ЕЦД. Дія на зрізи мозку інтактних щурів глюкози у високій концентрації (30 мМ) не впливала на релейні та пластичні властивості глутаматергічних синапсів нейронів гіпокампа і кори; аплікація 0.1 ОД/мл інсуліну в цих самих умовах призводила до збільшення амплітуди НМДА-компонентів пЗПСП та полегшувала розвиток пластичних феноменів. Блокатор кальцієвих каналів L-типу верапаміл (20 мг/кг) істотно не впливав на релейні і пластичні властивості синапсів між нейронами гіпокампа і кори, але дещо зменшував порушення поведінки і синаптичної пластичності в умовах ЕЦД. Ці порушення усувалися при хронічному (два тижні) введенні антидепресантів іміпраміну та флуоксетину в дозах 20 мг/кг; ефект проявлявся на тлі вираженої гіперглікемії та послаблення функціональної активності нейронних НМДА-рецепторів. Висловлено припущення, що дефіцит активації інсулінових рецепторів церебральних нейронів та гіперглікемія викликають підвищення рівня кортикостероїдів у крові і мозку; таке зрушення зумовлює порушення синаптичної пластичності і поведінки. Це припущення базується на здатності блокаторів кальцієвих каналів і (особливо) антидепресантів послаблювати поведінкові та нейрохімічні порушення при ЕЦД.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P. J. Magistretti, "Brain metabolism," in: *Fundamental Neuroscience*, M. J. Zigmond, F. E. Bloom, S. C. Landis, et al. (eds.), Academic, San Diego (1999), pp. 389-413.
2. M. Tsacopulos and P. J. Magistretti, "Metabolic coupling between glia and neurons," *J. Neurosci*., **16**, No. 3, 877-885 (1996).
3. A. Bacci, C. Verderio, E. Pravettoni, and M. Matteoli, "The role of glial cells in synaptic function," *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B*, **354**, No. 3, 403-409 (1999).
4. A. Artola, "Diabetes-, stress-, and ageing-related changes in synaptic plasticity in hippocampus and neocortex – the same metaplastic process?" *Eur. J. Pharmacol*., **585**, No. 1, 153-162 (2008).
5. E. A. Northam, D. Renkins, A. Lin, et al., "Central nervous system function in youth with type 1 diabetes 12 years after disease onset," *Diabetes Care*, **32**, No. 3, 445-452 (2009).
6. V. Campanunucci, A. Krishnaswamy, and E. Cooper, "Diabetes depresses synaptic transmission in sympathetic ganglia by inactivating nAchRs through a conserved intracellular cystein residue," *Neuron*, **66**, No. 6, 827-834 (2010).
7. V. A. Caraiscos, R. P. Bonin, J. G. Newell, et al., "Insulin increases the potency of glycine at ionotropic glycine receptors," *Mol. Pharmacol*., **71**, No. 5, 1277-1286 (2008).
8. D. R. Johnson, "Diabetes impaired responsiveness to tricyclics," *Pharmacol. Biochem. Behav*., **31**, No. 4, 807-812 (1988).
9. Y. Revsin, N. V. Rekers, M. C. Louwe, et al., "Glucocorticoid receptor blockade normalizes hippocampal alterations and cognitive impairment in streptozotocin-induced type 1 diabetes mice," *Neuropsychopharmacology*, **34**, No. 3, 747-758 (2009).
10. R. D. Porsolt, A. Bertin, and M. Jalfre, "Behavioral despair" in rats and mice: strain differences and effects of imipramine," *Eur. J. Pharmacol*., **51**, No. 2, 291-294 (1978).
11. S. L. Handley and S. Mithani, "Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration of "fear"-motivated behavior," *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*., **327**, No. 1, 1-5 (1984).
12. J. Knoll, K. Kolemen, and B. Knoll, "A method for the elaboration of a non-extinguishable conditioned reflex in the rat," *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung*., **6**, No. 2, 327-345 (1955).
13. И. И. Абрамец, Д. В. Евдокимов, А. Н. Талалаенко, "Изменения пластических свойств и метапластичности глутаматергических синапсов в коре и гиппокампе крыс при резерпиновой поведенческой депрессии", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **39**, № 3, 214-221 (2007).
14. G. J. Biessels, A. Kamal, G. M. Ramakers, et al., "Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: effect of insulin treatment," *Brain Res*., **800**, No. 1, 125-135 (1998).
15. F. Gardoni, A Kamal, C. Bellone, et al., "Effects of streptozotocin-diabetes on the hippocampal NMDA receptor complex in rats," *J. Neurochem*., **80**, No. 3, 438-447 (2002).
16. K.-J. Lin, D. R. Johnson, and G. G. Freund, "LPS-dependent suppression of social exploration is augmented in type 1 diabetic mice," *Brain, Behav*., *Immunol*., **21**, No. 6, 775-782 (2007).
17. C. C. Huang, C. C. Lee, and K. S. Hsu, "An investigation into signal transduction mechanisms involved in insulin-induced long-term depression in the *CA1* region of the hippocampus," *J. Neurochem*., **89**, No. 1, 217-231 (2004).
18. T. C. Foster, "Involvement of hippocampal synaptic plasticity in age-related memory decline," *Brain Res. Rev*., **30**, No. 2, 236-249 (1999).
19. A. M. Watanabe and T. J. O'Dell, "Age-related changes in theta frequency stimulation-induced long-term potentiation," *Neurobiol. Aging*, **24**, No. 2, 267-272 (2003).
20. C. M. Norris, S. Halpain, and T. C. Foster, "Reversal of age-related alterations in synaptic plasticity by blockade of L-type Ca^{2+} channels," *J. Neurosci*., **18**, No. 11, 3171-3179 (1998).
21. A. Kumar and T. C. Foster, "Enhanced long-term potentiation during aging is masked by processes involving intracellular calcium stores," *J. Neurophysiol*., **91**, No. 3, 2437-2444 (2004).
22. J. W. Phillis, D. Song, and M. H. O'Reagan, "Effects of hyperglycemia on extracellular levels of amino acids and free fatty acids in the ischemic/reperfused rat cerebral cortex," *Brain Res*., **837**, No. 1, 177-183 (1999).
23. G.-F. Tian and A. J. Baker, "Protective effect of high glucose against ischemia-induced synaptic transmission damage in rat hippocampal slices," *J. Neurophysiol*., **88**, No. 1, 236-248 (2002).
24. D. N. Alfarez, O. Weigert, M. Joels, and H. J. Krugers, "Corticosterone and stress reduce synaptic potentiation in mouse hippocampal slices with mild stimulation," *Neuroscience*, **115**, No. 4, 1119-1126 (2002).
25. L. Xu, R. Anwyl, and M. J. Rowan, "Behavioral stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus," *Nature*, **387**, No. 6632, 497-500 (1997).
26. B. R. Christie, J. C. Magee, and D. Johnston, "The role of dendritic action potentials and Ca^{2+} in the induction of homosynaptic long-term depression in hippocampal *CA1* pyramidal neurons," *Learning Memory*, **3**, Nos. 2/3, 160-169 (1996).
27. О. П. Костюк, У. В. Лало, П. Г. Костюк, "Кальцієва сигналізація в кортикальних та таламічних нейронах щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **30**, № 4/5, 357-360 (1998).
28. D. S. Kerr, L. W. Campbell, O. Tibault, and P. W. Landfield, "Hippocampal glucocrticoid receptor activation enhances voltage-dependent Ca^{2+} conductance: relevance to brain aging," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, No. 18, 8527-8531 (1992).
29. M. D. Smyth, J. P. Kesslak, B. J. Cummings, and C. W. Cotman, "Analysis of brain injury following intrahippocampal administration of beta-amyloid in streptozotocin-treated rats," *Neurobiol. Aging*, **15**, No. 2, 153-159 (1994).
30. C. Pickering, L. Gustafsson, A. Cebere, et al., "Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex," *Brain Res*., **1099**, No. 1, 101-108 (2006).
31. M. Focking, I. Holker, and T. Trapp, "Chronic glucocorticoid receptor activation impairs CREB transcriptional activity in clonal neurons," *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **304**, No. 4, 720-723 (2003).
32. T. B. Franklin and T. S. Perrot-Sinal, "Sex and ovarian steroids modulates brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions," *Psychoneuroendocrinology*, **31**, No. 1, 38-48 (2006).
33. L. J. Kasselman, J. Kinter, A. Sideris, et al., "Dexamethasone treatment and ICAM-1 deficiency impair VGEF-induced

angiogenesis in adult brain," *J. Vascul. Res*., **44**, No. 2, 283-291 (2007).
34. И. И. Абрамец, "Нейрофизиологические и нейрохимические аспекты действия антидепрессантов и стабилизаторов настроения", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **40**, № 1, 69-79 (2008).
35. D. Tardito, J. Perez, E. Tiraboshi, et al., "Signaling pathways regulating gene expression, neuroplasticity, and neurotrophic mechanisms in the action of antidepressants: a critical overview," *Pharmacol. Rev*., **58**, No. 2, 115-134 (2006).
36. J. A. Blendy, "The role of CREB in depression and antidepressant treatment," *Biol. Psychiat*., **59**, No. 6, 1144-1150 (2006).
37. R. S. Duman and L. M. Monteggia, "A neurotrophic model for stress-related mood disorders," *Biol. Psychiat*., **59**, No. 6, 1116-1127 (2006).
38. J. L. Warner-Schmidt and R. S. Duman, "VGEF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, No. 5, 4647-4652 (2007).