

УДК 612.82.821.2

ЗАВИСИМОСТЬ ВЛИЯНИЯ Met-ЭНКЕФАЛИНА НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ ОТ СОСТОЯНИЯ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

КРУГЛИКОВ Р. И., ОРЛОВА Н. В., ГЕЦОВА В. М., МАЦ В. Н.

В экспериментах на крысах исследовали влияние однократного подкожного введения 25 мкг Met-энкефалина (М-Энк) перед сеансом обучения на выработку и сохранение через 7 суток условных рефлексов двустороннего избегания (УРДИ) у интактных животных и животных с измененным с помощью фармакологических или хирургических воздействий содержанием биогенных моноаминов в головном мозгу. Введение М-Энк интактным крысам не изменяло содержания серотонина и норадреналина в целом мозгу и ухудшало выработку и сохранение УРДИ. Как снижение, так и в особенности повышение содержания в мозгу серотонина и катехоламинов приводили к модификации эффектов М-Энк, направленность которых зависела от особенностей выработки УРДИ и в определенной мере носила нормализующий характер.

Эндогенные опиоиды—эндорфины, помимо анальгезирующего действия, оказывают выраженное влияние на процессы обучения и памяти [1—3]. Хотя нейрохимические механизмы этого влияния пока во многом остаются неясными, можно предполагать, что в его реализации существенная роль принадлежит нейромедиаторным системам. Основанием для такого предположения служат эффекты эндорфинов на метаболизм катехоламинов [4], серотонина (5-ОТ) [5] и ацетилхолина [6], а также данные о влиянии эндорфинов на высвобождение нейромедиаторов пресинаптическими нервными окончаниями [7].

В настоящей работе была изучена роль моноаминергических систем головного мозга в механизмах действия пентапептида — М-Энк (Н-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH) на процессы образования и закрепления оборонительных временных связей.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на беспородных крысах-самцах массой 180—200 г, у которых вырабатывали оборонительные УРДИ. Условным раздражителем служил мелькающий свет, безусловным—электрокожное раздражение, которое сочетали со светом (5 с). В 1- и 2-м опытных сеансах, интервал между которыми составлял 7 суток, животным предъявляли по 50 сочетаний света и электрокожных раздражений и регистрировали количество условных реакций избегания. Показателем выработки и сохранения УРДИ служило количество из-

беганий в 1-м опытном сеансе и его прирост ко 2-му. Изменения функционального состояния моноаминергических систем мозга осуществляли с помощью хирургических и фармакологических вмешательств. Снижение содержания серотонина (5-ОТ) в головном мозгу осуществляли путем электролитического разрушения ядер шва (координаты по атласу Фифковой и Маршала AP—7,0; L—0; H—7,8) током 2 мА в течение 20 с или введением ингибитора синтеза 5-ОТ—*p*-хлорфенилаланина (ПХФА). Снижение содержания норадреналина (НА) в головном мозгу достигали с помощью двустороннего разрушения *locus coeruleus* (координаты по атласу Кенига и Клиппель AP—10,4; L—0,9; H—6,8) током силой 1 мА в течение 15 с или введением ингибитора синтеза НА—дисульфирама.

После завершения исследований проводили морфологический контроль локализации степени разрушений соответствующих ядер. Учитывали данные, полученные на животных, у которых оказывались разрушенными два основных ядра серотонинергической системы головного мозга (пп. *parae medialis et dorsalis*), а в случае норадренергической системы отмечалось билатеральное разрушение *locus coeruleus*. Ингибитор синтеза 5-ОТ ПХФА вводили внутривентриально в дозе 100 мг/кг в течение 3 дней, а дисульфирам в дозе 100 мг/кг—за 4 ч до опыта. Повышение содержания 5-ОТ в мозгу достигали путем введения его предшественника—5-гидрокситриптофана (5 ГТ). Избыток катехоламинов в мозгу создавали путем введения L-ДОФА. Эти препараты вводили в дозе 100 мг/кг внутривентриально за 1 и 4 ч соответственно до выработки УРДИ. У животных с разрушенными ядрами шва выработку УРДИ осуществляли через 2 недели, а у животных с разрушенными *locus coeruleus* через 3 недели после операции, к моменту максимального снижения содержания моноаминов в мозгу. Эти воздействия приводили к изменениям содержания моноаминов в мозгу, что было показано ранее [8, 9]. М-Энк вводили подкожно в дозе 25 мкг на животное за 10 мин до выработки УРДИ, что давало возможность исследовать его влияние как на процессы выработки, так и на самые ранние этапы консолидации. Общая схема эксперимента состояла в следующем: вначале предпринимали вмешательства в деятельность моноаминергических систем, затем вводили М-Энк. Статистическую обработку данных проводили по Стьюденту.

Результаты исследований

В начальной серии опытов было исследовано влияние М-Энк на содержание моноаминов в мозгу. Было установлено, что введение М-Энк не вызывало изменений количества моноаминов в передних отделах головного мозга (табл. 1).

В следующих сериях экспериментов исследовали особенности процессов выработки и закрепления УРДИ при введении М-Энк в той же дозе интактным животным и на фоне измененного функционального состояния моноаминергических механизмов.

Вмешательства в деятельность серотонинергических механизмов вызывали определенные изменения выработки и сохранения УРДИ, одновременно модифицируя эффекты М-Энк (табл. 2). Так, введение М-Энк intactным животным приводило к значительному снижению числа УРДИ в 1-м опытном сеансе ($p \text{ I-II} < 0,05$). При этом сохранение УРДИ, которое оценивали по числу избеганий во 2-м опытном сеансе, также ухудшалось. Сами по себе фармакологические вмешательства в деятельность серотонинергических механизмов, приводившие к снижению (группа III) или накоплению (группа V) 5-ОТ в головном мозгу, вызывали в целом нарушения как выработки, так и сохранения этих рефлексов, о чем свидетельствовало снижение числа избеганий в 1- и 2-м опытных сеансах у крыс этих экспериментальных групп по сравнению с контролем. Своеобразные изменения были отмечены у животных с разрушенными ядрами шва (группа IV). Число избеганий у этих животных в исходном опыте почти не отличалось от числа избеганий у контрольных животных, но значительно превосходило эту величину у крыс других подопытных групп. Сохранение УРДИ у животных этой группы (IV) практически не отличалось от контроля.

Таблица 1

Влияние введения Мет-энкефалина на содержание моноаминов в передних отделах головного мозга

Группы животных	5-ОТ (мкг/г сырого веса)	НА (мкг/г сырого веса)
Контроль (n 10)	0,441 $\pm$ 0,079	0,150 $\pm$ 0,023
Введение Мет-энке- фалина (n 10)	0,480 $\pm$ 0,049	0,149 $\pm$ 0,020

При введении М-Энк на фоне измененного функционального состояния серотонинергической системы наблюдаются определенные модификации его эффектов. Фармакологическое снижение количества 5-ОТ в мозгу модифицировало влияние М-Энк на процессы выработки УРДИ, что проявлялось в увеличении числа избеганий у животных группы VI в 1-м опытном сеансе по сравнению с группой II. Этот факт примечателен тем, что изолированное применение ПХФА приводило к резкому снижению числа избеганий в 1-м опытном сеансе (группа III). В противоположность этому оперативное снижение содержания 5-ОТ с помощью разрушения ядер шва не препятствовало «ухудшающему» влиянию М-Энк на процессы выработки УРДИ (группа VII): число избеганий у этих животных под влиянием М-Энк резко снижалось с 20,95 $\pm$ 2,56 (группа IV) до 10,90 $\pm$ 0,84 (группа VII) (табл. 2).

Эффекты М-Энк, имевшие место при снижении содержания 5-ОТ в мозгу, зависели в значительной степени от особенностей выработки условных рефлексов: при исходно низком числе избеганий (группа III) М-Энк улучшал выработку УРДИ (группа VI), при исходно высоком числе избеганий (группа IV) он ее ухудшал (группа VII).

Сохранение УРДИ при введении М-Энк на фоне сниженного количества 5-ОТ в мозгу практически не изменялось. Гораздо более выраженные модификации эффектов М-Энк наблюдали в условиях накопления 5-ОТ: его избыток почти полностью предотвращал отрицательное влияние М-Энк на выработку и сохранение УРДИ (группа VIII) (табл. 2). Об этом свидетельствовало значительное увеличение числа избеганий в 1- и 2-м опытных сеансах у животных группы VIII по сравнению с группами II и V. Следует подчеркнуть тот факт, что введенные порознь М-Энк и 5-ГТ существенно ухудшали выработку УРДИ, а их совместное воздействие способствовало значительному улучшению выработки и сохранения УРДИ. Таким образом, введение М-Энк на фоне избытка 5-ОТ в головном мозгу оказывало «нормализующее» действие на выработку и сохранение временных связей.

Таблица 2

Влияние введения Мет-энкефалина на выработку и сохранение условных рефлексов двустороннего избегания у животных с измененным функциональным состоянием серотонинергической системы

Группы животных	Количество избеганий	
	1-й опытный сеанс	2-й опытный сеанс
I—Контроль (n=34)	17,93±1,97	32,11±2,11
II—25 мкг Мет-энкефалина (n=16)	6,62±2,19*	20,11±4,13*
III—ПХФА 100 мг/кг (n=10), 3-кратно	3,92±0,90*	20,69±3,68*
IV—Разрушение ядер шва (n=18)	20,95±2,56	33,75±3,01
V—5-гидрокситриптофан 100 мг/кг (n=15)	8,60±2,28*	23,67±2,12*
VI—ПХФА+Мет-энкефалин (n=10)	8,00±3,25*	21,11±4,58*
VII—разрушение ядер шва+Мет-энкефалин (n=10)	10,90±0,84*	29,22±0,56
VIII—5-гидрокситриптофан+Мет-энкефалин (n=10)	15,53±4,11	30,67±4,29

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

В другой серии экспериментов исследовали особенности процессов выработки и закрепления УРДИ при введении М-Энк на фоне измененного функционального состояния катехоламинергических механизмов мозга.

Вмешательства в деятельность катехоламинергической системы мозга, приводившие к снижению (группы III и IV) или накоплению (группа V) катехоламинов в мозгу, вызывали как нарушение выработки УРДИ, так и их сохранения (табл. 3). Об этом свидетельствовало уменьшение числа условных реакций избеганий у животных этих групп в 1- и 2-м опытных сеансах по сравнению с контролем. При введении М-Энк на фоне изменения функционального состояния катехоламинер-

гической системы проявлялись определенные модификации эффектов нейропептида. При введении М-Энк животным на фоне фармакологически сниженного количества НА (группа V) наблюдали тенденцию к увеличению числа избеганий в исходном опыте по сравнению с группой животных, получавших только М-Энк (группа II) или только дисульфирам (группа III). Тот же эффект проявлялся при проверке сохранения этих рефлексов. Введение М-Энк животным, у которых уровень содержания НА снижали путем разрушения *locus coeruleus* (группа VII), существенно не сказывалось на выработке и сохранении УРДИ, хотя и наблюдали некоторую тенденцию к улучшению их сохранения. Гораздо более выраженные модификации эффектов М-Энк происходили в условиях накопления катехоламинов в мозгу с помощью L-ДОФА. Введение М-Энк животным с избытком катехоламинов в мозгу (группа VIII) существенно улучшало выработку и сохранение УРДИ; по соответствующим показателям эти животные не отличались от контрольных. Особо следует отметить тот факт, что М-Энк и L-ДОФА, примененные порознь, приводили к существенному ухудшению выработки УРДИ, а примененные совместно значительно улучшали как их выработку, так и сохранение.

Обсуждение результатов

Основной результат проведенных исследований сводится к тому, что эффекты М-Энк в виде нарушений выработки УРДИ у интактных животных модифицировались при изменении функционального состояния моноаминергических систем мозга. Оценивая этот факт, следует учитывать три важных обстоятельства—величину использованной дозы М-Энк (25 мкг); род и особенности вырабатываемых рефлексов; возможное влияние ухудшения их выработки на последующее сохранение. Зависимость эффектов нейропептидов, в том числе эндогенных опиоидов, от дозы носит своеобразный характер: с увеличением дозы эффекты либо исчезали, либо приобретали противоположную направленность [10]. Это касается как выработки, так и закрепления временных связей. Например, введение крысам сразу после выработки УРДИ от 0,3 до 10,0 мкг/кг М-Энк вызывало явления ретроградной амнезии, чего при увеличении его дозы до 20 мкг/кг не наблюдали [10]. М-Энк в дозе 25 мкг оказывал значительно более выраженный эффект на выработку временной связи, чем на ее закрепление [3]. Очевидно, использованная нами доза М-Энк находится в диапазоне доз, нарушающих выработку временных связей, но мало сказывающихся на их фиксации. Эта закономерность относится, по-видимому, лишь к активному избеганию, так как на выработку и закрепление условных рефлексов пассивного избегания М-Энк в дозах 0,1—100,0 мкг/г веса не оказывал действия [11]. Примечательно, что М-Энк не ухудшал, а напротив, улучшал выработку пищевых условных рефлексов [12]. Это означает, что его влияние на выработку условных рефлексов связано с их родом, а следовательно, с мотивацией. Можно, по-видимому, согласиться с Riley и соавт. [13], по-

лагающими, что эндорфины, ослабляя аверсивность безусловных раздражителей, тем самым ухудшают выработку соответствующих условных рефлексов. Учитывая, что М-Энк и другие эндогенные опиоиды в определенном диапазоне доз нарушают главным образом процессы выработки условных рефлексов, мало сказываясь на их сохранении [3, 14], можно думать, что ухудшение сохранения УРДИ, которое наблюдали в наших условиях при введении М-Энк интактным животным, является в основном следствием нарушения процесса собственно выработки условных рефлексов.

Таблица 3

Влияние введения Мет-энкефалина на выработку и сохранение условных рефлексов двустороннего избегания у животных с измененным функциональным состоянием катехоламинергической системы

Группы животных	Количество избеганий	
	1-й опытный сеанс	2-й опытный сеанс
I—Контроль (n=34)	17,93±1,97	32,11±2,11
II—25 мкг Мет-энкефалина (n=16)	6,62±2,19*	20,11±4,13*
III—100 мг/кг дисульфирама (n=10)	4,40±2,47*	17,20±4,55*
IV—Разрушение locus coeruleus (n=21)	8,71±1,82*	20,10±3,70*
V—L-ДОФА (n=14)	8,64±2,23*	25,29±4,31
VI—Дисульфирам + Мет-энкефалин (n=12)	8,08±2,26*	22,45±4,40
VII—Разрушение locus coeruleus + Мет-энкефалин (n=13)	6,63±2,37*	24,13±6,08
VIII—L-ДОФА + Мет-энкефалин (n=12)	15,25±3,27	31,75±3,97

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как было установлено, фармакологическое снижение и повышение содержания моноаминов в мозгу сопровождались ухудшением выработки УРДИ—значительным уменьшением числа избеганий в 1-м опытном сеансе. На этом фоне М-Энк, также вызывавший при изолированном введении ухудшение выработки УРДИ, оказывал более или менее нормализующее действие, которое было слабо выражено при снижении содержания 5-ОТ и НА в мозгу. В отличие от этого введение М-Энк на фоне избытка моноаминов в мозгу полностью нормализовало выработку и закрепление временных связей. Эффекты М-Энк, введенного животным, у которых содержание моноаминов в мозгу изменялось в результате разрушения соответствующих ядер, не носили столь закономерного характера. Частично это объясняется тем, что снижение количества моноаминов в этих условиях сопровождалось, вероятно, побочными эффектами [9, 15], в меньшей мере контролируруемыми эндогенными опиоидами. Тем не менее хирургически вызываемое уменьшение моноаминов не препятствовало ухудшающему влиянию М-Энк на выработку УРДИ, которое при разрушении locus coeruleus было статистически недостоверно и достигало

статистически значимого уровня при разрушениях ядер шва (количество избеганий снижалось с 20,95 до 10,9; $p < 0,05$). Избыток в мозгу моноаминов полностью предотвращал отрицательное влияние М-Энк на выработку и закрепление УРДИ. Можно предположить, что отрицательные эффекты М-Энк обусловлены вызываемым им снижением содержания моноаминов. Однако содержание 5-ОТ и НА в целом мозгу под влиянием 25 мкг М-Энк не изменялось (табл. 1). Следовательно, региональные сдвиги метаболизма моноаминов под влиянием М-Энк не сказывались на их количестве при определениях в целом мозгу. По-видимому, избыток моноаминов может предотвращать те отрицательные последствия, к которым приводят региональные изменения их метаболизма, вызываемые М-Энк.

Обращает внимание на себя тот факт, что направленность влияния М-Энк на выработку УРДИ зависит от особенностей выработки: при исходно высоком числе избеганий М-Энк ухудшал выработку рефлексов; при исходно низком числе избеганий в случае фармакологически вызываемого дефицита или избытка моноаминов в мозгу введение М-Энк, напротив, улучшало выработку УРДИ. Это подтверждает ранее обнаруженные различия в эффектах М-Энк у хорошо и плохо обучающихся животных [3] и, возможно, отражает общую закономерность физиологического действия эндорфинов и нейропептидов в целом: при использовании в адекватных дозах нейропептиды оказывают нормализующее действие на деятельность мозга, поэтому столь перспективно их использование в клинической практике.

Модификации эффектов М-Энк при изменениях функционального состояния моноаминергических систем мозга указывают на участие моноаминов в механизмах действия М-Энк (и эндорфинов вообще). Применительно к катехоламинергической системе мозга это заключение подтверждается данными [16], согласно которым улучшение консолидации временных связей при введении опийного антагониста налоксона предотвращается блокадой дофаминергических и β -адренергических рецепторов. По отношению к серотонинергической системе мозга такого рода прямые данные пока отсутствуют. Однако, исходя из сведений о влиянии М-Энк на метаболизм 5-ОТ [5] и о предотвращении вызываемой 5-ГТ амнезии налоксоном [17] и данных, полученных в настоящей работе, можно сделать заключение о том, что представление об участии серотонинергической системы мозга в механизмах действия М-Энк достаточно обоснованно.

Наряду с этим необходимо учитывать, что вызываемые М-Энк изменения функционального состояния катехоламинергической системы мозга не могут не сказываться на серотонинергических механизмах. Это заключение вытекает как из данных о тесном взаимодействии моноаминергических систем [18], так и из исследований Kovacs и соавт. [19], показавших, что лизин-вазопрессин вовлекает серотонинергическую систему мозга в процесс консолидации не непосредственно, а через норадренергическую систему.

INVOLVEMENT OF BRAIN MONOAMINERGIC SYSTEM IN THE EFFECT OF Met-ENKEPHALIN ON LEARNING AND MEMORY

KRUGLIKOV R. I., ORLOVA N. V., GETZOVA V. M., MAZ V. N.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, USSR Academy of Sciences, Moscow

The effect of Met-enkephalin (M-Enk, 25 μ g) a single subcutaneous injection) on the elaboration and consolidation (after 7 days) of bilateral avoidance conditioned reflexes (BACR) has been studied in rats with altered level of brain catecholamines caused by pharmacological agents or by surgical operations.

In control animals M-Enk didn't affect the content of serotonin and epinephrine in the whole brain and hampers the elaboration and consolidation of BACR. Both the decrease and especially the increase in the brain catecholamines and serotonin content altered the effect of M-Enk in the direction that depends on the peculiarities of BACR elaboration conditions and was to some extent of normalizing character.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин И. П. Ж. эвол. биох. и физиол., 13, 5, 570, 1977.
2. Izquierdo I., Perry M. L., Dias R. D., Souza D. O., Elisabetsky E., Carrasco M. A., Orsingher O. A., Netto A. C.—In: Endogenous peptides and learning and memory processes (eds. Martinez J. L., Jensen Jr. R. A., Messing R. B., Rigter H., McCaugh J. L.). N. Y., Academic Press, p. 269, 1981.
3. Кругликов Р. И., Гольдберг М. Б., Майзелис М. Я., Заблудовский А. Л. Изв. АН СССР, Сер. биол., 5, 778, 1980.
4. Алгери С., Брунелло Н., Кальдерини Ц., Консолациони А.—В кн.: Эндорфины (под ред. Э. Коста, М. Трабукки), М., Мир, с. 200, 1981.
5. Algeri A., Consolazioni A., Calderini G., Achilli G., Puche Canas E., Garattini S. Experientia, 34, 1488, 1978.
6. Ihmadas K., Sawynok M., Sutak L. Nature, 269, 433, 1977.
7. Vizi E. S. Progress in Neurobiology, 12, 181, 1979.
8. Гецова В. М. Ж. высш. нервн. деятельности, 29, 737, 1979.
9. Стайкова Р. М., Орлова Н. В., Гецова В. М. Ж. высш. нервн. деятельности, 29, 762, 1978.
10. Izquierdo I., Dias R. D., Souza D. O., Carrasco M. A., Elisabetsky E., Perry M. L. Behav. Brain Research, 1, 451, 1980.
11. Martinez J. L., Rigter H. Neuroscience Letters, 19, 197, 1980.
12. Kastin H. J., Scollan E. L., King M. G., Schally A. V., Coy D. H. Pharmac. Biochem. Behav., 5, 691, 1976.
13. Riley A. L., Zellner D. A., Duncan H. I. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 4, 69, 1980.
14. Rigter H., Dekker I., Martinez J. L. Regulatory peptides, 2, 317, 1981.
15. Lorens S., Gulberg H., Holl K., Köhler Ch., Srebro B. Brain Res., 108, 97, 1976.
16. Izquierdo I., Graudenz M. Psychopharmacology, 67, 265, 1980.
17. Garzon J., Rubio J., del Rio J. Life Sciences, 29, 17, 1981.
18. Громова Е. А., Семенова Т. П., Векишина Н. Л. ДАН СССР, 227, 766, 1976.
19. Kovacs G. L., Bohus B., Versteeg H. L. Neuroscience, 11, 159, 1979.

Институт высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии АН СССР, Москва

Поступила 20. VII 1982