

УДК 577.175.62:612.822:1:577.175.828

ВЛИЯНИЕ АНДРОГЕНОВ НА СЕРТОНИНОВЫЕ  
РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА КРЫС

МАСЛОВА Г. Б., АВГУСТИНОВИЧ Д. Ф., ПОПОВА Н. К.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Изучено влияние пола, односторонней и двухсторонней кастрации на С1 и С2 серотониновые рецепторное связывание (определявшееся по связыванию [3H]серотонина и [3H]спиперона) и концентрацию серотонина в мозгу крыс. Обнаружены половые различия в содержании серотонина во фронтальной коре и по С1 рецепторному связыванию в гипоталамусе и гиппокампе: у самцов наблюдался сниженный уровень серотонина и более высокое С1 рецепторное связывание. Двухсторонняя кастрация самцов крыс приводила к повышению С1 и С2 рецепторного связывания во фронтальной коре через десять дней после операции, не изменяя уровня серотонина и его метаболита. Односторонняя кастрация вызывает значительное повышение С1 рецепторного связывания в гипоталамусе через 24 ч и снижение через 72 ч. В гиппокампе С1 рецепторное связывание было сниженным как через 24, так и через 72 ч. Наряду с этим гемикастрация не повлияла на уровень серотонина и С1 и С2 рецепторное связывание во фронтальной коре. Таким образом, изменение баланса андрогенов влияет на серотониновые рецепторы первого и второго типов. Предполагено, что на С1 рецепторы гипоталамуса андрогены оказывают ингибирующее действие, что может отражать участие этого типа рецепторов гипоталамуса в регуляции уровня тестостерона по механизму обратной связи.

Несмотря на успехи, достигнутые за последние годы в изучении серотониновых рецепторов [1, 2], проблема их эндогенной регуляции остается одной из наименее разработанных. В особенности это относится к роли половых гормонов. В то же время хорошо известно, что существуют тесные взаимодействия между серотониновой системой мозга и гипоталамо-гипофизарно-половой системой. Имеются данные, свидетельствующие об участии серотонина головного мозга в регуляции гипоталамо-гипофизарно-семенникового комплекса механизмом обратной связи [3]. Можно предположить, что серотониновая передача, в свою очередь, контролируется половыми гормонами, по крайней мере, в некоторых структурах мозга. Однако сравнительно немногочисленные данные о влиянии нарушенного гормонального баланса на уровень серотонина в мозгу очень противоречивы [3]. В то же время, на самках крыс обнаружено, что эстрогены способны изменять рецепторное связывание меченого серотонина в некоторых областях мозга [4, 5]. Влияние андрогенов на серотониновую рецепцию пока не изучено, поэтому в данной работе мы попытались оценить эффекты

андрогенов на серотониновые рецепторы различных областей мозга крыс и выяснить: 1) имеются ли половые различия в С1 и С2 рецепторном связывании; 2) влияет ли на серотониновые рецепторы в мозгу двухсторонняя кастрация и колебания концентрации андрогенов после односторонней кастрации животных, применяемой в качестве модели для изучения механизмов обратной связи в гипоталамо-гипофизарно-семенниковой системе [6].

### Материалы и методы

В опыте были использованы самцы и самки крыс линий *Wistar* и *Sprague-Dawley* массой 180—200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, корм и воду они получали без ограничений.

При изучении половых различий в опытах были использованы самки, находящиеся в стадии диэструса, что определялось по влагалищным мазкам.

В серии экспериментов с двухсторонней кастрацией животные были разделены на 3 группы: 1—ложнооперированные; 2—кастрированные, которым в течение 10 дней вводили подкожно тестостерон пропионат (500 мкг в день); 3—кастрированные с введением такого же объема (0,2 мл) растворителя (оливковое масло). Животных декапитировали на 11-й день после операции.

Для исследования участия серотониновых рецепторов мозга в механизмах регуляции секреции гормонов по принципу обратной связи использовали модель односторонней кастрации животных, при которой вслед за двукратным снижением (через 24 ч) происходит компенсаторное увеличение концентрации тестостерона в плазме крови, через 72 ч превышающее исходный уровень [6]. Гемикастрированных животных декапитировали через 24 или 74 ч; контролем служили соответствующие группы ложнооперированных животных.

Для определения С1 и С2 рецепторного связывания животных декапитировали, быстро на льду выделяли фронтальную кору, гиппокамп и гипоталамус, которые хранили в жидком азоте до опыта. Радиолигандным методом [7] с некоторыми модификациями [8] было определено связывание [ $^3\text{H}$ ] серотонина (18 Кг/ммоль, „Amersham“, Англия) и [ $^3\text{H}$ ] синепрона (17 Кг/ммоль, „Amersham“, Англия) в присутствии и в отсутствие избытка соответствующих немеченых вытеснителей—буфотенина („Serva“, ФРГ) или кетансерина („Janssen Pharmaceutica“, Бельгия)\*.

Концентрацию серотонина и его метаболитов в структурах мозга определяли флуорометрически [9]. Концентрацию белка в пробе—по методу Lowry [10]. При статистической обработке результатов использовали метод Иогансена-Ламри [11] для оценки параметров рецепторного связывания и *t*-критерий Стьюдента для сравнения выборочных средних.

\* Авторы благодарны фирме за предоставленный кетансерин.

## Результаты и обсуждение

Половые различия по С1 рецепторному связыванию в мозгу были обнаружены у обеих изученных линий крыс — *Wistar* и *Sprague-Dawley*. В гипоталамусе самцов крыс линии *Sprague-Dawley* наблюдались более высокие, чем у самок значения С1 рецепторного связывания, измеренного при фиксированной концентрации метки ( $94,1 \pm 6,2$  фмоль/мг белка у самцов и  $72,3 \pm 7,9$  фмоль/мг белка у самок,  $p < 0,05$ ). Такие же различия были обнаружены и в гипоталамусе крыс линии *Wistar* (табл. 1). При оценке параметров рецепторного связывания наблюдалась тенденция к более высокому значению  $K_d$  у самок, значения  $B_{max}$  у животных разного пола не различались. Таким образом, остается неясным, отличаются ли С1 рецепторы в гипоталамусе самок крыс более низким сродством, чем у самцов, или меньшим количеством. Другие исследователи [4] также обнаружили более высокое связывание [ $^3H$ ] серотонина у самцов в области мозга, включающей гипоталамус, преоптическую область и перегородку, хотя половые различия наблюдались только в том случае, если самки были в стадии эструса.

Сравнение С1 рецепторного связывания в гиппокампе крыс линии *Wistar* разного пола показало, что при одинаковой  $K_d$  максимальное число мест рецепторного связывания достоверно выше у самцов, однако связывание, определяемое при фиксированной концентрации метки, практически не различалось (табл. 1).

Таблица 1

Половые различия по С1 рецепторному связыванию в мозгу крыс линии *Wistar*.

| Исследуемые показатели       | Фронтальная кора |                  | Гипоталамус      |                   | Гиппокамп        |                    |
|------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------|
|                              | Самцы            | Самки            | Самцы            | Самки             | Самцы            | Самки              |
| $B$ (фмоль/мг белка), $n=10$ | $207,3 \pm 19,2$ | $173,4 \pm 18,1$ | $164,1 \pm 5,9$  | $137,6^* \pm 8,4$ | $316,0 \pm 15,8$ | $281,8 \pm 21,9$   |
| $B_{max}$ (фмоль/мг белка)   | $64,8 \pm 29$    | $583,5 \pm 40$   | $320,5 \pm 14,9$ | $347,5 \pm 85,9$  | $641,8 \pm 0,7$  | $450,7^* \pm 30,0$ |
| $K_d$ ( $10^{-9}$ М)         | $13,8 \pm 1,3$   | $15,2 \pm 1,8$   | $7,8 \pm 0,8$    | $18,7 \pm 7,5$    | $11,0 \pm 1,6$   | $12,3 \pm 1,5$     |

Примечание. Здесь и в табл. 2, 4 \* $p < 0,05$ .

Во фронтальной коре не было обнаружено половых различий по С1 рецепторам ни у крыс линии *Sprague-Dawley* ( $164,1 \pm 11,7$  фмоль/мг белка—у самцов;  $180,9 \pm 7,0$  фмоль/мг белка—у самок), ни у крыс линии *Wistar* (табл. 1). С2 рецепторное связывание, измеренное во фронтальной коре крыс обеих линий, тоже не различалось у животных разного пола (рис. 1).

При определении концентрации серотонина и его основного метаболита во фронтальной коре у самок выявлено более высокое содержание серотонина, чем у самцов (табл. 2). В среднем мозгу, гипо-

таламусе и гиппокампе половых различий по уровню серотонина и его метаболита обнаружено не было (данные по уровню 5-оксиндилилуксусной кислоты не приведены).

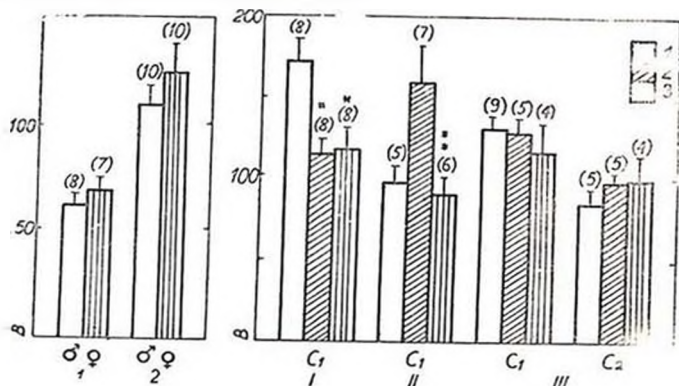


Рис. 1. Половые различия по C2 рецепторному связыванию во фронтальной коре мозга крыс линий Sprague-Dawley (1) и Wistar (2). Здесь и на рис. 2 указано число животных. По оси ординат—коэффициент связывания (B, фмоль/мг белка).

Рис. 2. C1 и C2 рецепторное связывание в мозгу крыс линии Sprague-Dawley после односторонней кастрации. I—гиппокамп, II—гипоталамус, III—фронтальная кора. 1—контроль (ложнооперированные животные). 2—через 24 ч после кастрации, 3—через 72 ч после кастрации. \* $p < 0.05$  по сравнению с контролем, \*\* $p < 0.05$  по сравнению с группой 2.

Таким образом, половые различия в серотониновом рецепторном связывании и в уровне серотонина наблюдаются не в одних и тех же областях мозга. Животные разного пола различались по концентрации серотонина во фронтальной коре, а по C1 рецепторам—в гипоталамусе и гиппокампе.

Таблица 2

Половые различия в концентрации серотонина (мкг/г) в мозгу крыс линии Wistar.

| Животные | Фронтальная кора            | Средний м. зг             | Гипоталамус               | Гиппокамп                 |
|----------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Самки    | $0,67 \pm 0,02^*$<br>$n=10$ | $0,65 \pm 0,07$<br>$n=10$ | $0,98 \pm 0,07$<br>$n=10$ | $0,48 \pm 0,03$<br>$n=9$  |
| Самцы    | $0,8 \pm 0,01$<br>$n=8$     | $1,0 \pm 0,07$<br>$n=10$  | $0,99 \pm 0,15$<br>$n=10$ | $0,43 \pm 0,03$<br>$n=10$ |

Если тестостерон влияет на активность серотониновой системы мозга крыс, то можно было ожидать, что удаление семенников отразится на метаболизме серотонина или на его рецепторном связывании в мозгу. Однако, после двухсторонней кастрации уровни серотонина и 5-оксиндилилуксусной кислоты, измеренные в среднем мозгу и коре крыс линии Wistar, существенно не отличались от контроля (табл. 3). В то же время, через десять дней после кастрации у крыс

обеих линий увеличилось С1 рецепторное связывание во фронтальной коре мозга (табл. 4). В гипоталамусе изменений рецепторного связывания не обнаружено. С2 рецепторное связывание во фронтальной коре достоверно увеличилось у крыс линии Sprague-Dawley (табл. 4). Возможно, именно изменения серотониновых рецепторов, обнаруженные во фронтальной коре мозга, и отвечают за наблюдаемые после кастрации животных изменения в тех формах поведения (половое, агрессивное поведение), в регуляции которых принимает участие серотониновая система мозга [12, 13].

Таблица 3

Концентрация серотонина и оксинидолиуксусной кислоты (мкг/г) в мозгу крыс линии Wistar после двухсторонней кастрации

| Определяемые вещества | Кора                   |                         | Средний мозг           |                         |
|-----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
|                       | контроль               | кастрация               | контроль               | кастрация               |
| Серотонин             | $0,66 \pm 0,05$<br>(6) | $0,69 \pm 0,05$<br>(5)  | $0,89 \pm 0,05$<br>(7) | $1,12 \pm 0,09$<br>(10) |
| 5-ОИУК                | $0,50 \pm 0,03$<br>(8) | $0,42 \pm 0,04$<br>(10) | $1,33 \pm 0,13$<br>(5) | $1,41 \pm 0,07$<br>(10) |
| 5 ОИУК серотонин      | $0,73 \pm 0,05$<br>(1) | $0,68 \pm 0,12$<br>(1)  | $1,38 \pm 0,09$<br>(1) | $1,42 \pm 0,08$<br>(10) |

Введение тестостерона кастрированным крысам линии Wistar лишь незначительно снизило С1 и С2 рецепторное связывание во фронтальной коре, возросшее после кастрации (табл. 4). По-видимому, экзогенный тестостерон не обеспечивал адекватного уровня гормона

Таблица 4

Влияние двухсторонней кастрации на С1 и С2 рецепторное связывание (фмоль/мг белка) во фронтальной коре самцов крыс двух линий.

|                         | С1                        | С2                       |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <i>Sprague-Dawley</i>   |                           |                          |
| контроль                | $44,3 \pm 6,1$<br>(9)     | $69,8 \pm 4,9$<br>(9)    |
| кастрация               | $73,5 \pm 5,7^*$<br>(6)   | $99,3 \pm 7,1^*$<br>(5)  |
| <i>Wistar</i>           |                           |                          |
| контроль                | $102,9 \pm 10,2$<br>(7)   | $107,1 \pm 5,6$<br>(10)  |
| кастрация               | $131,9 \pm 7,7^*$<br>(10) | $114,5 \pm 10,2$<br>(10) |
| кастрация + тестостерон | $126,2 \pm 15,5$<br>(10)  | $104,7 \pm 5,4$<br>(10)  |

в крови. Кроме того, возможно, что введение даже больших доз одного тестостерона не может компенсировать весь спектр нейрхимических изменений, развивающихся после полного удаления половых желез.

Эффективной моделью для изучения влияний снижения и повышения уровня андрогенов в крови является односторонняя кастрация крыс, при которой через 24 ч происходит резкое падение уровня тестостерона в крови до минимальной концентрации, а затем повышение до исходного уровня (через 72 ч) и даже превышение его за счет компенсаторного усиления работы второго семенника [6].

На модели односторонней кастрации самцов крыс линии *Sprague-Dawley* было исследовано рецепторное связывание [ $^3\text{H}$ ] серотонина в трех отделах мозга: фронтальной коре, гипоталамусе и гиппокампе.

Четкие изменения, противоположные изменениям концентрации тестостерона, проявляя C1 рецепторы гипоталамуса (рис. 2). В моменты времени, соответствующие минимальному (24 ч) и максимальному (72 ч) уровню гормона [6], значения C1 рецепторного связывания различались почти в два раза. Тестостерон, по-видимому, оказывает ингибирующее действие на C1 рецепторы гипоталамуса, что может быть одним из элементов ранее показанного [3] участия серотонина в механизмах обратной связи.

В гиппокампе C1 рецепторное связывание, измеренное через сутки после операции, было значительно меньше контрольного и оставалось на том же уровне через трое суток. Во фронтальной коре мозга ни через сутки, ни через трое суток после односторонней кастрации C1 и C2 рецепторное связывание не отличалось от контроля (рис. 2). Не изменялся и уровень серотонина.

Разный характер изменений серотониновых рецепторов после двух- и односторонней кастрации животных, по-видимому, свидетельствует о различии путей, через которые реализуются влияния андрогенов на рецепторы серотонина, находящиеся в разных областях мозга, а неодинаковая реакция C1 рецепторов гипоталамуса и гиппокампа на снижение концентрации андрогенов дает основание заключить, что в норме, возможно, андрогены могут оказывать как ингибирующее, так и стимулирующее действие на активность рецепторного звена серотониновой системы мозга.

Таким образом, показано существование гормональной регуляции андрогенами серотониновых рецепторов. Как известно, большая часть эффектов половых гормонов осуществляется через влияние на экспрессию генов и белковый синтез [14]. Поскольку серотониновые рецепторы—это мембранные белки, вероятно, андрогены могут регулировать их синтез или деградацию, хотя нельзя исключить и возможность конформационных изменений серотониновых рецепторов под влиянием андрогенов.

Гормональная регуляция проявляется в гипоталамусе в виде обнаруженных половых различий в C1 рецепторах и быстро возникающих изменениях C1 рецепторного связывания при резких колебаниях уровня тестостерона в крови, вызванных односторонней кастрацией. Учитывая, что гипоталамус характеризуется высокой концентрацией чувствительных к андрогенам рецепторов [15], и, в то же время, в нем локализуются серотонинергические структуры, ре-

гулирующие выделение люлиберина [3], можно предположить, что обнаруженное нами влияние андрогенов на C1 рецепторное связывание в этой структуре отражает участие этого типа серотониновых рецепторов в механизмах обратной связи системы гипоталамус-гипофиз-половые железы. Однако более высокое C1 рецепторное связывание в гипоталамусе самцов по сравнению с самками не согласуется с предполагаемым угнетающим эффектом тестостерона, но, учитывая имеющиеся в литературе данные о значительном ингибирующем действии эстрогена на C1 рецепторы гипоталамуса, обнаруженные на самках крыс [4, 5], можно предположить, что половые различия по C1 рецепторам обусловлены еще более выраженным угнетающим влиянием женских половых гормонов на серотониновые рецепторы гипоталамуса.

Таким образом, большинство обнаруженных изменений касалось C1 рецепторов: это изменения в гипоталамусе, увеличение связывания во фронтальной коре после двухсторонней кастрации и снижение связывания в гиппокампе после односторонней кастрации.

В меньшей степени колебания уровня андрогенов в крови влияли на C2 рецепторы. Существенное повышение C2 рецепторного связывания во фронтальной коре было обнаружено лишь у одной из изученных линий крыс после двухсторонней кастрации. По-видимому, C1 рецепторы коры более чувствительны к действию андрогенов, чем C2 рецепторы.

## THE EFFECT OF ANDROGENS ON SEROTONIN RECEPTORS OF THE RAT BRAIN

MASLOVA G. B., AVGUSTINOVICH D. F., POPOVA N. K.

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the USSR  
Academy of Sciences, Novosibirsk

The effect of sex, castration and hemicastration on serotonin level and serotonin receptors of the rat brain was assayed by radioligand binding using [ $^3$ H] serotonin and [ $^3$ H] spiperone. We detected sexual dimorphism in terms of serotonin level in the frontal cortex and of 5-HT<sub>1</sub> binding in hypothalamus and hippocampus: in males the serotonin concentration was lower and the level of 5-HT<sub>1</sub> binding higher than in female rats. Castration of males resulted in a significant increase in 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1</sub> binding in the frontal cortex. 5-HT<sub>1</sub> binding in hypothalamus significantly increased 23 h after hemicastration and then decreased 72 h post-operation. 5-HT<sub>1</sub> binding in hippocampus was decreased either 24 h or 72 h after hemicastration. At the same time, serotonin level and 5-HT binding in the frontal cortex after hemicastration remained unchanged.

Thus, disturbances of androgen level affect 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> serotonin receptors. Our results suggest that androgens have the inhibitory effect on hypothalamic 5-HT<sub>1</sub> receptors, which can be involved in feedback regulation of testosterone.

# ЛИТЕРАТУРА

1. *Hartig P. R.* TIPS Reviews, v. 10, p. 63—69, 1989.
2. *Peroutka S. J.* Ann. Rev. Neurosci., v. 11, p. 45—60, 1988.
3. *Науменко Е. В., Осадчук А. В., Серова Л. И., Шишкина Г. Т.* Генетико-физиологические механизмы регуляции функций семенников. Новосибирск, Наука, 1983.
4. *Biegon A., Bercovitz H., Ssmuel D.* Brain Res., v. 187, p. 221—225, 1980.
5. *Biegon A., McEwen B. S.* J. Neuroscience, v. 2, № 2, p. 199—205, 1982.
6. *Шишкина Г. Т., Науменко Е. В.* Изв. СО АН СССР, серия биол. наук, вып. 1, № 5, с. 131—133, 1977.
7. *Peroutka S. J., Snyder S. H.* Mol. Pharmacol., v. 16, p. 687—699, 1979.
8. *Пак Д. Ф., Маслова Г. Б., Куликов А. В., Бормотов В. В.* Вopr. пед. химии, № 4, с. 17—21, 1988.
9. *Atack C.* Acta Physiologica Scandinavica, Suppl., v. 451, p. 2—99, 1977.
10. *Lowry O. H., Rosenbrought M. J., Parr A., Fandall R. J.* J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—275, 1951.
11. *Корниш-Бовден Э.* Основы ферментативной кинетики, М., с. 232—266, 1979.
12. *Попова Н. К., Науменко Е. В., Колпаков В. Г.* Серотонин и поведение, 1978.
13. *Sodersten P., Larsson K., Ahlenius S., Engel J.* Pharm. Bloch. Behav., v. 5, p. 319—327, 1975.
14. *Мейнхоринг У.* Механизмы действия андрогенов, М.: Мир, 1979.
15. *Sar M., Stumpf W. E.* Endocrinology, v. 92, № 1, p. 251—256, 1973.

Поступила 10. VII. 1990