

УДК 616-006

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn267161>

Научная статья



Возможные аутоиммунные механизмы регуляции поведения крыс в тесте «открытое поле»*

В.А. Батурин, Э.В. Бейер, М.В. Батурина

Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

Актуальность. В последние годы внимание исследователей привлекают аутоиммунные механизмы регуляции физиологических процессов. В ответ на повреждение или экспрессию белков происходит увеличение уровней аутоантител, которые обеспечивают восстановление нарушенного равновесия. Высокие уровни аутоантител обнаруживаются при многих заболеваниях.

Цель — оценить уровни аутоантител в сыворотке крови у экспериментальных животных с оценкой их поведения в тесте «открытое поле».

Материалы и методы. Из 32 крыс-самцов сформировано две группы: 1-я — не подвергавшаяся и 2-я — подвергавшаяся стрессированию в течение 7 дней путем наложения зажима на кожную складку на 15 мин ежедневно. Через 3 сут после последней стресс-процедуры проводили тестирование в открытом поле. После оценки поведения получали сыворотку крови и определяли уровень аутоантител к дофаминовым рецепторам (DR1 и DR2), NMDA-рецепторам (NR1, NR2A, NR2B).

Результаты. Крысы 2-й группы по сравнению с 1-й реже посещали центральные зоны поля, была ниже вертикальная активность, они реже совершали акты умыкания. Во 2-й группе были выше уровни аутоантител к DR1 и DR2, но ниже к NR2B. Корреляционный анализ выявил, что у крыс 2-й группы уровень аутоантител к DR2 связан с горизонтальной активностью ($r = -0,60$). У крыс 1-й группы установлена связь уровня аутоантител к NR2B и количества пробежек через центральные зоны поля ($r = +0,68$).

Заключение. Учитывая выявленную связь уровня аутоантител с активностью в открытом поле, можно предположить, что степень повышения титров иммуноглобулина G (IgG) в крови к рецепторам DR2 отражает выраженность сдвигов в поведении животных при стрессе. С другой стороны, в связи с появившимися данными о возможности проникновения IgG через гематоэнцефалический барьер, можно предположить и влияние аутоантител на рецепторы дофамина головного мозга с ограничением активности дофаминергической системы.

Ключевые слова: крысы; тест «открытое поле»; аутоантитела; рецепторы дофамина; NMDA-рецепторы.

Как цитировать:

Батурин В.А., Бейер Э.В., Батурина М.В. Возможные аутоиммунные механизмы регуляции поведения крыс в тесте «открытое поле» // Психофармакология и биологическая наркология. 2022. Т. 13. № 3. С. 31–35. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn267161>

* Публикуется по рекомендации оргкомитета II Международной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология», Ставрополь, 6–10 октября 2022 г.

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn267161>

Research Article

Possible autoimmune mechanisms of regulation of rat behavior in the “open field” test

Vladimir A. Baturin, Edward V. Beyer, Maria V. Baturina

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

BACKGROUND: In recent years, researchers have demonstrated interest in the autoimmune mechanisms of regulation of physiological processes. In response to damage or protein expression, the levels of autoantibodies increased to ensure the restoration of the disturbed balance. Levels of autoantibodies are high in many diseases.

AIM: The aim of this study was to assess the levels of autoantibodies in the blood serum of experimental animals and evaluate their behavior in the “open field” test.

MATERIALS AND METHODS: Of 32 male rats, two groups were formed: group 1 was not exposed to stress, whereas group 2 was subjected to stress for 7 days by applying a clamp on the skin fold for 15 min daily. Three days after the last stress procedure, testing was conducted in the “open field.” After assessing the behavior, blood serum was obtained, and the levels of autoantibodies to dopamine receptors (DR1 and DR2) and NMDA receptors (NR1, NR2A, and NR2B) were determined.

RESULTS: Compared with group 1, group 2 visited the central zones of the field less often, had lower vertical activity, and less often performed acts of washing. In group 2, the levels of autoantibodies to DR1 and DR2 were higher, but to NR2B were lower. Correlation analysis revealed that in group 2, the level of autoantibodies to DR2 was associated with horizontal activity ($r = -0.60$). In group 1, a relationship was established between the level of autoantibodies to NR2B and the number of runs through the central zones of the field ($r = +0.68$).

CONCLUSIONS: Taking into account the revealed relationship between the levels of autoantibodies and activity in the open field, the degree of increase in blood IgG titers to DR2 receptors may reflect the severity of changes in the behaviors of animals under stress. Conversely, in connection with the emerging data on the possibility of IgG penetration through the blood–brain barrier, the effect of autoantibodies on brain dopamine receptors with a limited activity of the dopaminergic system may be considered.

Keywords: rats; “open field” test; autoantibodies; dopamine receptors; NMDA receptors.

To cite this article:

Baturin VA, Beyer EV, Baturina MV. Possible autoimmune mechanisms of regulation of rat behavior in the “open field” test. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2022;13(3):31–35. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn267161>

АКТУАЛЬНОСТЬ

В последние годы внимание исследователей привлекают аутоиммунные механизмы регуляции физиологических процессов. В ответ на повреждение или экспрессию белков происходит увеличение уровней аутоантител, которые обеспечивают восстановление нарушенного равновесия. Высокие уровни аутоантител обнаруживаются при многих заболеваниях. Так, при нарушениях мозгового кровообращения выявляют высокие уровни аутоантител к белку S100, основному белку миелина, NMDA-рецепторам [3]. Обнаружено повышение содержания аутоантител, особенно нейроспецифических, у пациентов, перенесших COVID-19 [1]. Показано, что у больных шизофренией увеличено количество аутоантител к дофаминовым и NMDA-рецепторам [4]. Ранее нами было установлено, что длительное введение антипсихотических средств (галоперидол, рисперидон) крысам также может существенно повышать уровни аутоантител к дофаминовым рецепторам, NMDA-рецепторам, дофамину, белку S100 [2]. В связи с этим было выдвинуто предположение о вовлечении аутоиммунных механизмов в реализацию фармакологического действия психотропных препаратов. Соответственно можно было предполагать участие нейроспецифических аутоантител в регуляции поведения. Поэтому представлялось интересным оценить уровни аутоантител в сыворотке крови у экспериментальных животных с оценкой их поведения в тесте «открытое поле».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось в соответствии с положениями Женевской конвенции 1985 г. «Международные принципы биомедицинских исследований с использованием животных» и Хельсинкской декларации 2000 г. о гуманном отношении к животным, а также Приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н «Об утверждении правил лабораторной практики» от 1 апреля 2016 г.

Опыты были выполнены на 32 крысах линии Вистар, самцах, массой тела 270–320 г. Животные содержались

в условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Были сформированы две группы: 1-я не подвергалась стресс-воздействию (20 крыс; животных 2-й группы (12 крыс) подвергали стрессу в течение 7 дней, фиксируя крыс зажимом за кожную складку на 15 мин. Через 3 сут после последней стресс-процедуры проводили тестирование в открытом поле. Оценивали в течение 3 мин число пройденных краевых зон, а также количество переходов через центральный сектор освещенного поля. Регистрировали число вертикальных стоек, а также количество обследованных отверстий в полу арены. Подсчитывали также количество актов умыывания (длительный груминг). В сыворотке крови оценивали концентрацию аутоантител (иммуноглобулин G, IgG) к дофаминовым рецепторам 1-го и 2-го типов и дофамину, а также к NMDA-рецепторам (NR1, NR2A, NR2B) с помощью тест-систем иммуноферментного анализа (ИФА, ООО НПО «Иммунотэкс», Россия). Исследование проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе. Статистический анализ полученных результатов измерений проводился с применением прикладных программ Statistica (StatSoft Inc., США). С помощью критерия Шапиро – Уилка оценивали нормальность распределения. Учитывая, что был выявлен ненормальный характер распределения, для сравнения групп применяли критерий Манна – Уитни. Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$. Проводился также корреляционный анализ по Спирмену.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поведение в открытом поле группы крыс, которых подвергали повторному стрессированию (2-я группа), отличалось низким количеством посещений центрального сектора арены, а также существенным ограничением количества актов умыывания (табл. 1). Вертикальная активность была ниже, эти крысы заметно реже совершали акты груминга (умыывания). Подобные различия позволяют полагать, что стрессированные крысы имеют более высокий уровень тревожности.

Таблица 1. Оценка поведения в открытом поле и уровней аутоантител к рецепторам в сыворотке крови крыс

Table 1. Assessment of open field behavior and levels of autoantibodies to receptors in the blood serum of rats

Показатели поведения в открытом поле	Группа 1 (без стресса)	Группа 2 (стрессированные)	Статистическая значимость различий, p
Пересечение краевых зон	18,0 (15,5–21,5)	14,4 (2–27,5)	$> 0,05$
Пересечение центральной зоны	3,5 (3,0–4,0)	0	0,00002
Исследовательская активность	2,0 (1,0–3,0)	1,5 (1,0–2,0)	$> 0,05$
Число вертикальных стоек	5,0 (4,0–6,5)	3,5 (2,0–6,5)	0,0009
Число актов груминга (умыываний)	3,0 (2,0–4,5)	0,5 (0–2,0)	0,0002

Примечание. Представлены медианы и значения Q25–Q75 %.

Note. Medians and Q25%–Q75% values are presented.

Таблица 2. Показатели уровней аутоантител к рецепторам в сыворотке крови крыс**Table 2.** Levels of autoantibodies to receptors in the blood serum of rats

Уровень аутоантител к рецепторам медиаторов в сыворотке крови	Группа 1 (без стресса)	Группа 2 (стрессированные)	Статистическая значимость различий, <i>p</i>
Дофамин D1	5,4 (4,1–10,9)	17,1 (16,3–32,0)	0,000008
Дофамин D2	4,3 (2,9–6,9)	21,2 (19,0–24,3)	0,000001
Рецепторы NMDA NR1	1,5 (0,9–2,0)	1,8 (1,6–1,9)	> 0,05
Рецепторы NMDA, субъединица NR2A	1,3 (1,0–2,5)	1,5 (1,4–1,8)	> 0,05
Рецепторы NMDA, субъединица NR2B	1,3 (0,8–1,9)	2,2 (2,0–3,8)	0,0003

Примечание. Представлены медианы и значения Q25–75 %.

Note. Medians and Q25%–Q75% values are presented.

Уровень аутоантител к DR1 и DR2, а также к NR2B в сыворотке крови был существенно выше у крыс 2-й группы (табл. 2). При этом содержание аутоантител к субъединицам NMDA-рецепторов (NR1 и NR2A), было сопоставимо в обеих группах.

Корреляционный анализ данных животных 1-й группы обнаружил, что имеется положительная связь между содержанием в крови аутоантител к NR1 и числом пересеченных периферических зон ($r = +0,52$; $p < 0,05$), уровнем аутоантител к NR2B и количеством заходов в центральный сектор поля ($r = +0,68$; $p < 0,05$). У крыс 2-й группы, подвергавшихся воздействию стресса, установлена отрицательная связь между содержанием аутоантител в крови к DR2 и числом пересеченных периферических секторов поля ($r = -0,6$; $p < 0,05$). Следует отметить, что прослеживалась умеренная связь аутоантител к DR2 с количеством вертикальных стоек ($r = -0,43$) и числом обследованных отверстий в полу арены ($r = -0,5$). Впрочем, статистическая значимость корреляции не подтверждалась.

Таким образом, полученные сведения в первую очередь интересны тем, что хроническое стрессирование животных сопровождается повышением уровня аутоантител в крови к дофаминовым рецепторам. При этом выявляется взаимосвязь между содержанием аутоантител к нейрорецепторам и изменениями поведения животных в открытом поле. Вероятно, это повышение аутоантител носит адаптационный характер, как ответ на стресс-индуцированную активацию симпатического отдела вегетативной нервной системы и ее дофаминергических механизмов. Учитывая выявленную связь уровня аутоантител и активности в открытом поле, можно предположить, что степень повышения титров IgG в крови к рецепторам DR2 отражает выраженность сдвигов в поведении животных при стрессе.

С другой стороны, в связи с появившимися данными о возможности проникновения IgG через гематоэнцефалический барьер [5] можно предположить и влияние аутоантител на DR-рецепторы головного мозга с ограничением активности дофаминергической системы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: Э.В. Бейер, М.В. Батурина — написание статьи, анализ данных; В.А. Батурин — редактирование статьи, разработка общей концепции.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: E.V. Beyer, M.A. Baturina — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; V.A. Baturin — paper reconceptualization and general concept discussion.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батурин В.А., Костровская М.В., Грудина Е.В., и др. Определение уровня нейроспецифических аутоантител у больных COVID-19: предварительное сообщение // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2021. Т. 16, № 1. С. 66–67. DOI: 10.14300/mnnc.2021.16017

2. Батурина М.В., Бейер Э.В., Батурин В.А., Попов А.В. Зависимость выраженности галоперидоловой каталепсии от активности дофаминергической и глутаматергической систем мозга крыс при длительном введении нейролептиков // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2020. Т. 15, № 3. С. 307–310. DOI: 10.14300/mnnc.2020.15073

3. Ермаков С.В., Можейко Р.А., Батурин В.А., Белоконов О.С. Уровень аутоантител к белку S-100 — возможный предиктор исходов острого нарушения мозгового кровообращения // Вестник современной клинической медицины. 2018. Т. 11, № 6. С. 11–15. DOI: 10.20969/VSKM.2018.11(6).11-15
4. Baturin V.A., Baturina M.V., Mamtseva G.I., et al. Levels of neurotropic autoantibodies in patients with schizophrenia //

- Medical news of North Caucasus. 2016. Vol. 11, No. 2. P. 176–178. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11030
5. Pollak T.A., Beck K., Irani S.R., et al. Autoantibodies to central nervous system neuronal surface antigens: psychiatric symptoms and psychopharmacological implications // Psychopharmacology. 2016. Vol. 233. P. 1605–1621. DOI: 10.1007/s00213-015-4156-y

REFERENCES

1. Baturin VA, Kostrovskaya MV, Grudina EV, et al. Evaluation of the neurospecific autoantibodies level in patients with COVID-19: preliminary report. *Medical News of North Caucasus*. 2021;16(1):66–67. (In Russ.) DOI: 10.14300/mnnc.2021.16017
2. Baturina MV, Beyer EV, Baturin VA, Popov AV. Dependence of the severity of haloperidol catalepsy on the activity of dopaminergic and glutamatergic systems of the brain of rats with prolonged use of antipsychotics. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(3):307–310. (In Russ.) DOI: 10.14300/mnnc.2020.15073
3. Ermakov SV, Mozheiko RA, Baturin VA, Belokon OS. S-100 protein autoantibody level as a possible outcome predictor in acute stroke.

- The bulletin of contemporary clinical medicine*. 2018;11(6):11–15. (In Russ.) DOI: 10.20969/VSKM.2018.11(6).11-15
4. Baturin VA, Baturina MV, Mamtseva GI, et al. Levels of neurotropic autoantibodies in patients with schizophrenia. *Medical News of North Caucasus*. 2016;11(2):176–178. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11030
5. Pollak TA, Beck K, Irani SR, et al. Autoantibodies to central nervous system neuronal surface antigens: psychiatric symptoms and psychopharmacological implications. *Psychopharmacology*. 2016;233:1605–1621. DOI: 10.1007/s00213-015-4156-y

ОБ АВТОРАХ

Владимир Александрович Батурин, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии Ставропольского государственного медицинского университета, Ставрополь, Россия; eLibrary SPIN: 4015-4401, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6815-0767>. E-mail: prof.baturin@gmail.com

Эдуард Владимирович Бейер, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры фармакологии Ставропольского государственного медицинского университета, Ставрополь, Россия; eLibrary SPIN: 3411-1334, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3248-6212>. E-mail: beyer@mail.ru

***Мария Владимировна Батурина**, канд. мед. наук, доцент кафедры клинической фармакологии Ставропольского государственного медицинского университета, Ставрополь, Россия; адрес: Россия, 355017, Ставрополь, ул. Мира, д. 310; eLibrary SPIN: 9824-4130, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2745-403X>. E-mail: nimdark@mail.ru

AUTHORS INFO

Vladimir A. Baturin, Dr. Sci. (Pharmacology), professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia; eLibrary SPIN: 4015-4401, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6815-0767>. E-mail: prof.baturin@gmail.com

Edward V. Beyer, Dr. Sci. (Pharmacology), professor, Department of Clinical Pharmacology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia; eLibrary SPIN: 3411-1334, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3248-6212>. E-mail: beyer@mail.ru

***Maria V. Baturina**, PhD (Pharmacology), assistant professor, Department of Clinical Pharmacology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia; address: 310, Mira st., Stavropol, 355017, Russia; eLibrary SPIN: 9824-4130; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2745-403X>. E-mail: nimdark@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author