

## ПОВТОРНЫЙ ОПЫТ АГРЕССИИ И ПОСЛЕДСТВИЯ ДЕПРИВАЦИИ У САМЦОВ МЫШЕЙ

### ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ СМАГИН

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения; акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: smagin@bionet.nsc.ru

### НАТАЛЬЯ ПЕТРОВНА БОНДАРЬ

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения, канд. биол. наук; акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: nbondar@bionet.nsc.ru

### НАТАЛИЯ НИКОЛАЕВНА КУДРЯВЦЕВА

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения, зав. сектором, д-р биол. наук; акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: n.n.kudryavtseva@gmail.com

### Резюме

**Обоснование:** Было показано, что повторный опыт агрессии в ежедневных агонистических взаимодействиях приводит к развитию патологии поведения у самцов мышей, которая сопровождается повышенной агрессивностью, выраженной тревогой, появлением в поведении стереотипий, нарушением социального распознавания и др. Целью работы было исследование поведения самцов мышей линии C57BL/6J с длительным опытом агрессии (20 дней) с акцентом на изучение последствий депривационного периода (14 дней), в течение которого они были лишены возможности участвовать в агонистических взаимодействиях.

**Методы:** В работе была использована модель сенсорного контакта, позволяющая формировать агрессивный тип поведения у самцов мышей под влиянием повторного опыта агрессии. Для исследования состояния самцов до и после периода депривации были использованы тесты, позволяющие оценить уровень тревожности, исследовательскую и двигательную активность, уровень агрессивности и др. («крестообразный приподнятый лабиринт», «открытое поле», «перегородка», «агонистические взаимодействия»).

**Результаты:** Было показано, что у 67 % самцов уровень демонстрируемой агрессии стал существенно выше после периода депривации, однако у 33 % самцов произошло снижение ее проявления. Эти две группы животных исходно отличались друг от друга по уровню агрессии, измеренному до периода депривации. Достоверно более агрессивными были те животные, у которых впоследствии произошло снижение демонстрации агрессии. Группы самцов не отличались по большинству психоэмоциональных характеристик, оцениваемых в поведенческих тестах: «приподнятый крестообразный лабиринт», «открытое поле» и «перегородка».

**Заключение:** Повторный опыт агрессии и социальных побед оказывает влияние на дальнейшее поведение самцов мышей, приводя к усилению агрессии у большинства самцов после депривации. Обсуждается вовлечение опиоидэргических систем мозга в постдепривационные процессы.

Получена: 29 сентября 2010 г.; Принята: 02 ноября 2010 г.

Цитирование этой статьи: Психофармакол биол наркол. 2010; 10 (1–2): 2636–2648

Корреспонденцию следует отправлять Наталии Николаевне Кудрявцевой n.n.kudryavtseva@gmail.com

### Ключевые слова

повторный опыт агрессии; депривация; модель сенсорного контакта; мыши линии C57BL/6J

## ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что повторяющаяся агрессия у людей может быть следствием развития многих психических болезней, таких как маниакально-депрессивный психоз, эпилепсия, посттравматический синдром, аутизм, болезнь Альцгеймера, шизофрения, дефицит внимания и т. д. [1]. Однако помимо клинических и криминальных случаев проявления агрессивного поведения, в человеческом обществе часто формируются социальные условия, которые требуют проявления выраженной агрессии в течение длительного времени, например, при участии в военных действиях, в профессиональном спорте (хоккей, бокс и т. д.), в службах социальной безопасности и т. д.

Известно, что у людей, длительно участвовавших в военных конфликтах, развивается так называемый поствоенный синдром (повышенная агрессивность, неврозы, немотивированная злобность, нарушения сна и т. д.), они способны на неадекватные действия [2, 3, 4]. Что скрывается за этим? Физиология, генетика или психология индивида? Что происходит и происходит ли нечто особенное в организме людей с таким родом деятельности, при котором проявление агрессии является необходимой составляющей социального поведения? Некоторые ответы на эти вопросы дают исследования с применением модели сенсорного контакта, позволяющей формировать агрессивный тип поведения у самцов мышей под влиянием повторного опыта агрессии в ежедневных агонистических взаимодействиях.

Ранее нами было показано, что длительный опыт агрессии, сопровождаемый победами, приводит к развитию патологии поведения [5], которая сопровождается повышенными нервностью, раздражительностью и импульсивностью, выраженной тревогой, появлением в свободном поведении стереотипий и гиперкинетических реакций. У агрессивных самцов развивается гиперактивность, гиперчувствительность, изменяется реакция на боль. Они теряют способность к социальному распознаванию: не отличают самца от самки, нападают на самцов, демонстрирующих полное подчинение, или ювенильных особей [6, 7]. Нарушается индивидуальное и социальное поведение [7]. Некоторые самцы демонстрируют патологическую агрессию, враждебность по отношению к партнеру в любой ситуации. Во всех случаях социальных взаимодействий преобладает агрессивная мотивация.

*Целью данной работы* было проведение исследования психоэмоционального состояния самцов мышей с повторным опытом агрессии после периода

депривации, в течение которого они были лишены возможности участвовать в агонистических взаимодействиях.

Первые исследования показали, что такие животные демонстрируют существенно более высокий уровень агрессии после, чем до депривации [8]. Предполагалось, что исследование позволит понять механизмы этого феномена и найти пути его коррекции.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животных разводили и содержали в стандартных условиях вивария Института цитологии и генетики СО РАН при световом режиме 12 : 12 час. (свет : темнота). Стандартный гранулированный корм и воду они получали *ad libitum*. После отсаживания от матерей в возрасте 1 мес. мышей содержали в группах по 8–10 особей в клетках 36 × 23 × 12 см до периода половой зрелости. Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57BL/6J в возрасте 2,5–3 мес. и массой тела 27–32 г.

Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/ЕЕС)).

### *Формирование агрессивного типа поведения у самцов мышей*

Для формирования агрессивного типа поведения у самцов мышей использовали *модель сенсорного контакта* [9]. Животных попарно помещали в экспериментальные клетки, разделенные пополам прозрачной перегородкой с отверстиями, позволявшей мышам видеть, слышать, воспринимать запахи друг друга (сенсорный контакт), но предотвращавшей физическое взаимодействие. Ежедневно во второй половине дня (15.00–17.00 часов) убрали перегородку, что приводило к межсамцовым конфронтациям. При проведении первых 2–3 дней тестов выявляли победителей («агрессоров»), и особей, терпящих поражения («жертвы») при взаимодействии с одним и тем же партнером. В дальнейшем ежедневно после теста побежденного самца пересаживали в новую клетку к незнакомому агрессивному партнеру, сидящему за перегородкой. Взаимодействие самцов прекращали, если интенсивные атаки со стороны нападающей особи во время агрессивных столкновений длились более 3 минут, вновь устанавливая между ними перегородку.

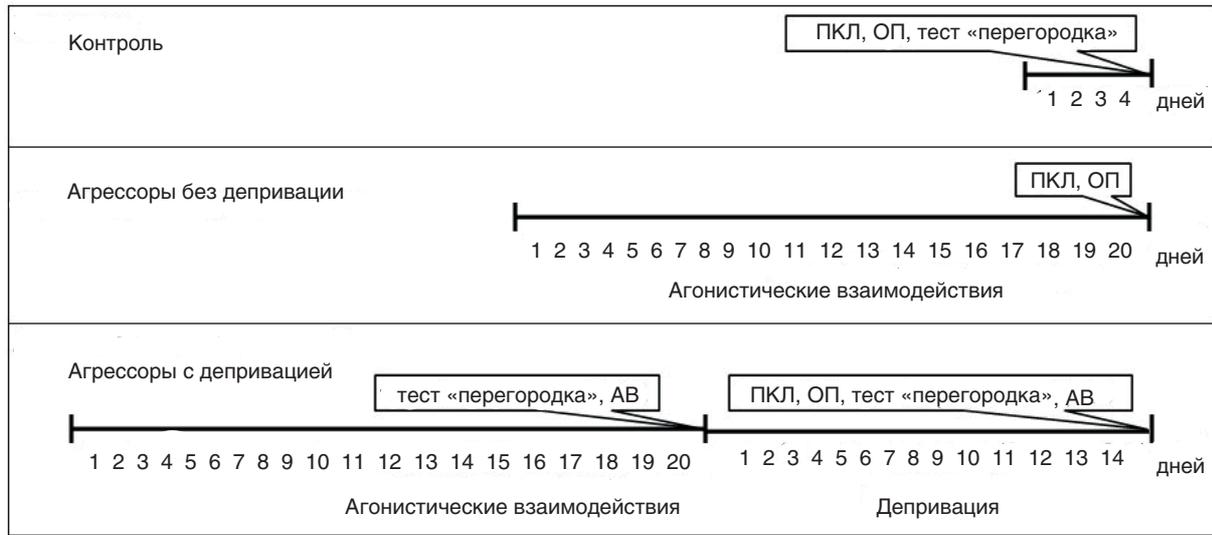


Рис. 1

Протокол эксперимента

Тесты: «ПКЛ» — приподнятый крестообразный лабиринт, «ОП» — открытое поле, «АВ» — агонистические взаимодействия. Экспериментальные группы исследовались в поведенческих тестах в указанной на рисунке последовательности. Детальное разъяснение дано в тексте.

Fig. 1

Protocol of the experiment

«ПКЛ» — plus maze test, «ОП» — open field test, «АВ» — agonistic interactions test. Experimental groups were exposed to behavioral tests in the sequence specified in figure. Detailed explanations are given in the text.

В других ситуациях тест продолжался 10 минут. В результате, после 20-ти дней агонистических взаимодействий у самцов с повторным опытом агрессии, сопровождаемым победами, развивается патология агрессивного поведения [5]. Одновременно методика позволяет получать самцов с повторным опытом социальных поражений.

В эксперименте исследовали три группы животных (рис. 1):

1) Контроль — самцы, помещенные на 5 дней в условия индивидуального содержания и не имевшие последовательного опыта агонистических взаимодействий. Эта группа животных была использована при выявлении эффектов повторного опыта агрессии на психоэмоциональные характеристики самцов мышей, оцениваемые поведенческими тестами. Подтверждено, что это самый оптимальный контроль в наших экспериментальных условиях [9, 10];

2) Самцы с повторным опытом агрессии, сопровождаемой победами в 20-и ежедневных агонистических взаимодействиях;

3) Самцы, которые после 20 дней агрессивного опыта оставались в экспериментальных клетках с побежденным партнером через перегородку и не участвовали в агонистических взаимодействиях в течение двух недель (период депривации) — перегородка не убиралась. Партнер при этом в течение всего времени не менялся.

Поведенческие тесты

Тест «агонистические взаимодействия»

За 10 минут теста у агрессивных самцов (далее «агрессоров») регистрировали следующие формы поведения:

- 1) Атаки, укусы и преследование партнера;
- 2) Агрессивный груминг: покусывание морды, спины и загривка побежденного животного; жертва в этот момент проявляет позы полного подчинения и замирает под агрессором;
- 3) Разбрасывание чужой подстилки: ворошение, разбрасывание и разрывание подстилки, гнезда и туалетного места побежденного самца на его территории;
- 4) Аутогруминг: действия, исходно направленные на поддержание чистоты своего тела (умывание, почесывание);
- 5) Обнюхивание партнера: назо-назальный контакт, обнюхивание тела, хвоста и аногенитальной области;
- 6) Угрозы: удары хвостом по подстилке;
- 7) Вращения: быстрый резкий поворот на 180 градусов в прыжке.

Для каждой формы поведения фиксировали следующие показатели: латентное время первого действия (для 1–3); общее время действия (для 1–5); число действий (для 1–7); среднее время одного

действия (для 1–5). Сумма общего времени атак, агрессивного груминга и разбрасывания чужой подстилки была использована как показатель враждебного поведения, то есть поведения в той или иной мере наносящего вред партнеру.

#### **Тест «перегородка» [11]**

Этот тест позволяет количественно оценить поведенческую активность возле прозрачной перфорированной перегородки, разделяющей на две половины общую клетку. В данном тесте в течение 5 минут регистрировали число подходов и обращений к перегородке и длительность нахождения самцов возле нее в реакции на партнера в соседнем отсеке.

#### **Тест «открытое поле»**

Поведение животных в течение 5 минут наблюдали в открытом поле, размером 80 × 80 см. Поле было ярко освещено. Животных помещали в центр поля и фиксировали латентное время первой побежки с центрального квадрата, общее пройденное расстояние, число и время аутогруминга и вставаний на задние лапы, время, проведенное в центре и на периферии, количество дефекаций. После каждого животного поверхность открытого поля промывали в нескольких водах и высушивали.

#### **Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (далее ПКЛ) [12]**

Этот тест был использован для оценки уровня тревожности у самцов мышей. Лабиринт приподнят над полом на 50 см и состоит из двух открытых и двух закрытых (огороженных с трех сторон) рукавов. Тестирование проводили в течение 5 минут в слабо освещенной комнате. Животное помещали в центр лабиринта носом в закрытый рукав и регистрировали число выходов и время нахождения в открытых рукавах, центре и закрытых рукавах лабиринта (данные представлены в виде абсолютных значений); общее число входов/выходов в открытые и закрытые рукава и центр; число переходов из одного закрытого рукава в другой; число заглядываний под лабиринт и выглядываний из закрытого рукава; число и продолжительность демонстраций аутогруминга и вставаний на задние лапы; число дефекаций. После каждого животного лабиринт мыли в нескольких водах и высушивали.

Общим правилом поведенческих исследований является использование периода активации перед тестированием поведения во всех тестах, для чего животных приносили в комнату для тестирования,

заменяли обычную крышку клетки на прозрачное оргстекло, и оставляли их на 5 минут для привыкания к новым условиям освещения и активации.

Во время всех тестов осуществлялась видеозапись поведения животных с последующей обработкой видеоматериалов в программах EthoVision 3.1 («открытое поле») и Observer XT («перегородка», «агонистические взаимодействия» и ПКЛ) (Noldus, The Netherlands).

Поведение мышей всех экспериментальных групп исследовали в режиме один тест в день (рис. 1) в последовательности: ПКЛ, «открытое поле» и «перегородка». Для того, чтобы избежать повторного исследования в тестах ПКЛ и «открытое поле», была подготовлена группа самцов с повторным опытом агрессии, которая не проходила период депривации. Показатели поведения в этой группе сравнивали с показателями поведения у контроля и с показателями поведения у агрессивных самцов после депривации.

Самцов, прошедших период депривации, вначале исследовали в тестах ПКЛ и «открытое поле», затем в тестах «перегородка» и «агонистические взаимодействия» (рис. 1). Поведение в последних двух тестах у этой группы самцов исследовали дважды — до депривации и после депривации.

В качестве основного показателя, оценивающего агрессивность самцов, был выбран показатель суммарного времени атак за время 10-минутного теста. Анализировали изменение уровня агрессивности у самцов мышей после депривации по сравнению с поведением этих же самцов до депривации. Критерием для отбора в группы самцов, у которых уровень агрессии повышался после периода депривации, были различия в 10–15 с по общему времени атак, демонстрируемым ими до депривации. В пограничных случаях также привлекался показатель числа атак.

После того, как была отобрана группа самцов, у которых уровень агрессии становился выше уровня агрессии до депривации, оказалось, что оставшаяся часть самцов, у которых уровень агрессии становился ниже после депривации, исходно, до депривации имела существенно более высокий уровень агрессии, чем у предыдущей группы.

Данные по другим поведенческим тестам были сгруппированы в соответствии с разделением на группы самцов, у которых уровень агрессии был повышен или снижен после депривации. Влияние эффекта депривации на поведение в тестах ПКЛ и «открытое поле» изучали при сравнении показателей группы самцов без депривации и с контролем (рис. 1).

**Статистическая обработка**

Проверка нормальности распределения количественных признаков была проведена с использованием критерия Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk’s W-test).

Поскольку большинство исследованных показателей не удовлетворяло гипотезе о нормальном распределении, были использованы методы непараметрической статистики: однофакторный дисперсионный анализ Краскала–Уоллиса (Kruskal–Wallis, ANOVA) с фактором «группа»; критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney, U-test) для сравнения независимых выборок и критерий Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test) для сравнения зависимых выборок.

Анализ данных производился с помощью программы Statistica 8.0, (StatSoft). Различия между экспериментальными группами считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ , на уровне тенденции — при  $p < 0,1$ . Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. В экспериментальных группах было по 14–18 животных.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Тест «агонистические взаимодействия» (рис. 2, 3, табл.) В результате подробного анализа данных в общей выборке животных с повторным опытом агрессии были выделены две группы самцов: самцы, у которых уровень агрессии повысился («повысившие») или снизился («снизившие») после депривации. Конкретные данные для каждой особи приведены на рисунке 2.

В среднем повышение суммарного времени атак после периода депривации за время теста было  $41,1 \pm 9,9$  с по сравнению со временем атак до периода депривации. Снижение находилось в пределах  $40,7 \pm 11,9$  с.

Большинство самцов (67 %, 10 из 15) после депривации стали более агрессивными, чем до депривации: у них повысились показатели числа ( $p < 0,01$ ) и времени атак ( $p < 0,01$ ), времени враждебного поведения ( $p < 0,05$ ) и числа угроз ( $p < 0,05$ ). Причем латентное время атак и враждебного поведения (рис. 3) стало существенно короче ( $p < 0,01$  для обоих показателей). У остальных животных (33 %, 5 из 15) после периода депривации общее время атак снизилось ( $p < 0,05$ ). В этой группе самцов были обнаружены также изменения агрессивности на уровне тенденции: стало длиннее латентное время атак ( $p < 0,1$ ), снизилось число атак ( $p < 0,1$ ) и время враждебного поведения ( $p < 0,1$ ).

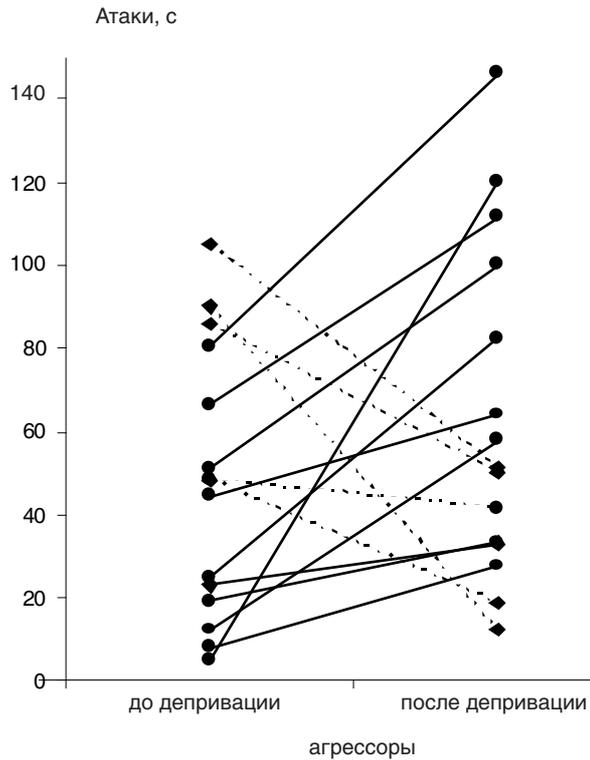


Рис. 2

Общее время атак у агрессивных самцов до и после периода депривации

Сплошные линии — самцы, у которых время атак после депривации повышалось; пунктирные — самцы, у которых время атак после депривации снижалось.

Fig. 2

Total attacking time before and after no-fight period (fighting deprivation)

Solid lines — aggressive males with increased aggression levels after fighting deprivation; dotted lines — aggressive males with decreased aggression levels after fighting deprivation.

Общим для обеих групп самцов, у которых уровень агрессии после депривации снижался или повышался, было снижение латентного времени разбрасывания чужой подстилки партнера ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ , соответственно) и повышение числа ( $p < 0,05$  и  $p < 0,05$ , соответственно) и времени обнюхиваний ( $p < 0,05$ , для самцов, у которых произошло снижение уровня агрессии). По остальным показателям поведения в тесте «агонистические взаимодействия» эти группы животных между собой не различались ( $p > 0,05$ ) (табл.).

Сравнение поведения самцов, уровень агрессии у которых после периода депривации снизился или повысился, выявило различия между этими груп-

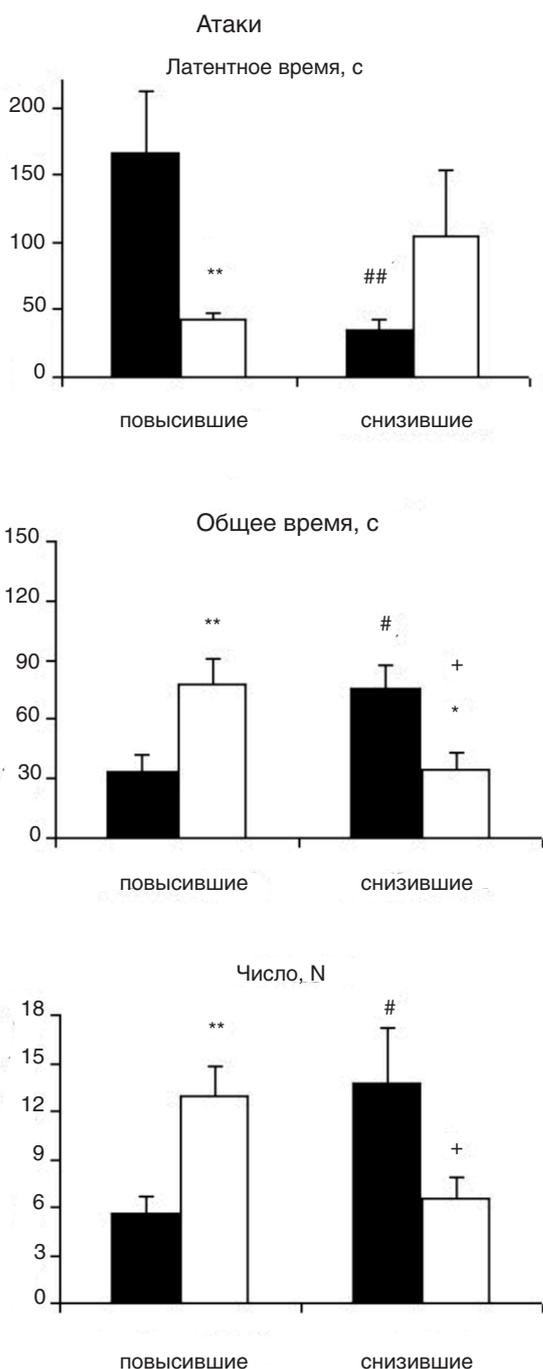


Рис. 3

Агрессивное поведение самцов в тесте «агонистические взаимодействия»

Черные столбики — агрессивные самцы до периода депривации, белые — те же животные после периода депривации; «повысившие» — самцы, у которых агрессивность после депривации была повышена (N = 10), «снизившие» — самцы, у которых агрессивность после депривации снижалась (N = 5). \* — p < 0,05, \*\* — p < 0,01 по сравнению с агрессивными самцами до периода депривации в соответствующей группе, критерий Вилкоксона; # — p < 0,05, ## — p < 0,01 по сравнению с группой самцов до периода депривации, у которых впоследствии повысилась агрессивность; + — p < 0,05 по сравнению с группой самцов, у которых агрессивность после периода депривации была повышенной, U — критерий.

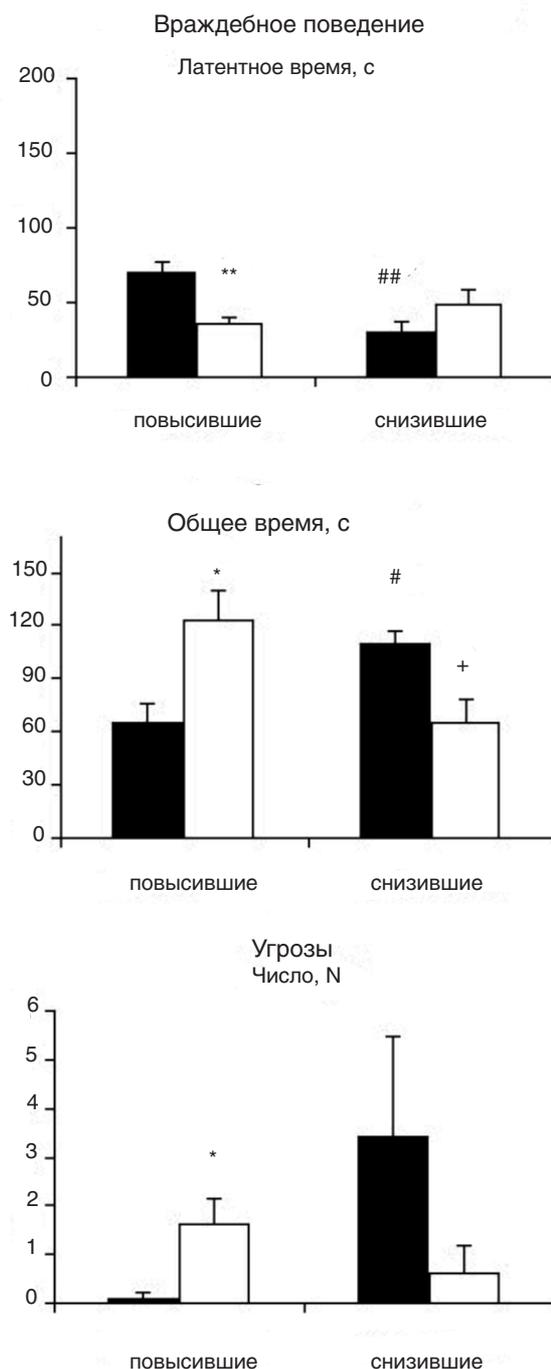


Fig. 3

Aggressive behavior of male mice in the agonistic interactions test

Black columns — aggressive males before fighting deprivation, white columns — the same animals after no-fight period; «повысившие» — males with increased level of aggression after fighting deprivation (N = 10), «снизившие» — males with decreased level of aggression after fighting deprivation (N = 5). \* — p < 0,05, \*\* — p < 0,01 vs aggressive males before no-fight period in the respective group, Wilcoxon matched pairs test; # — p < 0,05, ## — p < 0,01 vs aggressive males at which aggression has increased before deprivation period; + — p < 0,05 vs aggressive males at which aggression has increased after deprivation period, U-test.

Таблица

Поведение агрессивных самцов в тесте «агонистические взаимодействия»

Behavior of the aggressive male mice in the agonistic interactions test

2642

Формы поведения	Самцы, у которых повысилась агрессия		Самцы, у которых снизилась агрессия	
	до депривации	после депривации	до депривации	после депривации
<b>Разбрасывание подстилки</b>				
Латентное время, с	103,9 ± 15,9	45,1 ± 6,7 **	77,4 ± 14,0	65,0 ± 10,1 *
Число	13,5 ± 1,6	18,0 ± 2,0	13,0 ± 1,4	14,4 ± 1,4
Время, с	22,8 ± 2,3	33,1 ± 5,0	29,1 ± 7,0	29,7 ± 7,7
Среднее время, с	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,1	2,1 ± 0,3	2,0 ± 0,4
<b>Вращения</b>				
Число	3,9 ± 1,0	3,6 ± 1,0	3,4 ± 1,2	4,2 ± 2,3
<b>Обнюхивания</b>				
Число	5,7 ± 1,2	9,9 ± 2,2 *	6,8 ± 2,7	14,6 ± 5,6 *
Время, с	16,3 ± 4,9	23,0 ± 7,0	18,6 ± 14,0	35,5 ± 16,9 *
Среднее время, с	2,6 ± 0,5	1,9 ± 0,3	1,6 ± 0,7	2,1 ± 0,2
<b>Аутогруминг</b>				
Число	18,9 ± 4,3	20,7 ± 5,3	16,0 ± 1,7	19,8 ± 4,3
Время, с	9,9 ± 3,7	20,1 ± 4,4	21,8 ± 2,3	25,9 ± 6,9
Среднее время, с	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2

Примечание: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с агрессивными самцами до периода депривации в соответствующей группе, критерий Вилкоксона.

Notes: \* —  $p < 0.05$ , \*\* —  $p < 0.01$  vs males before fighting deprivation in the respective group, Wilcoxon matched pairs test.

пами как до, так и после периода депривации по следующим показателям: до депривации у самцов, уровень агрессии у которых впоследствии снизился, было выше число атак ( $p < 0,05$ ), общее время атак ( $p < 0,05$ ) и враждебного поведения ( $p < 0,05$ ) и короче латентное время атак ( $p < 0,01$ ) и враждебного поведения ( $p < 0,01$ ) по сравнению с самцами, у которых впоследствии произошло повышение уровня агрессии.

После периода депривации у этих самцов были ниже: число ( $p < 0,05$ ) и время атак ( $p = 0,05$ ), а также время враждебного поведения ( $p = 0,05$ ) и на уровне тенденции длиннее латентное время атак ( $p < 0,1$ ) по сравнению с животными, агрессивность которых усиливалась.

По таким показателям поведения, как вращения, аутогруминг, разбрасывание чужой подстилки и угрозы, рассматриваемые группы животных между собой не отличались.

### Тест «перегородка»

Группы самцов, различавшиеся по направленности изменения уровня агрессии после депривации, не отличались между собой по числу подходов и суммарному времени пребывания возле перегородки как до, так и после периода депривации, что позволило объединить данные по группам. Было показано, что после депривации у самцов снизилось число подходов к перегородке ( $p < 0,05$ ). При этом обе группы агрессивных самцов по этому показателю не отличались от контроля. Общее время пребывания возле перегородки у агрессивных самцов до и после депривации не отличалось между собой и от контроля.

### Тест ПКЛ

Исследуемые группы агрессивных самцов не отличались между собой в тесте ПКЛ ни по одному из исследованных показателей, что позволило объе-

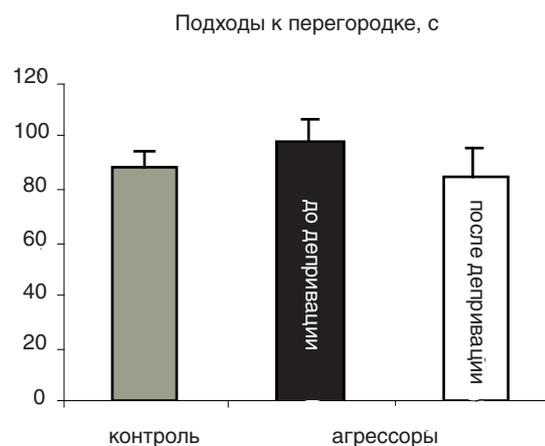
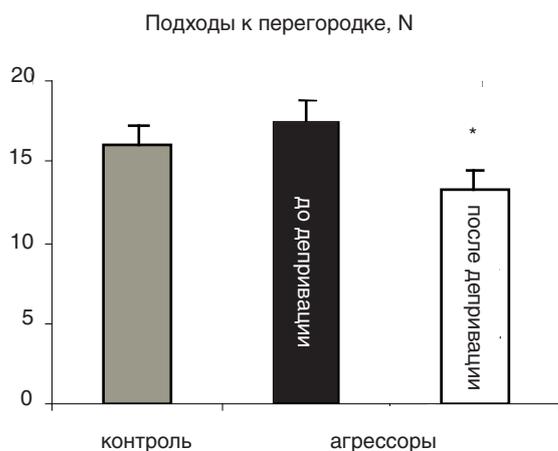


Рис. 4

Поведение агрессивных самцов в тесте «перегородка»

Серые столбики — контроль (N = 14), черные столбики — агрессивные самцы (агрессоры) до периода депривации (N = 15), белые — агрессоры после периода депривации (N = 15). \* —  $p < 0,05$  по сравнению с агрессивными самцами до периода депривации, критерий Вилкоксона.

Fig. 4

Behavior of the aggressive male mice in the partition test

Gray columns — the controls (N = 14), black columns — aggressive mice before deprivation period (N = 15), white columns — the same aggressive mice after fighting deprivation (N = 15). \* —  $p < 0,05$  — vs aggressive mice before deprivation, Wilcoxon matched pairs test.

динить данные по этим группам самцов, повысивших или снизивших уровень агрессии. Влияние эффекта депривации на поведение изучали при сравнении с показателями группы самцов без депривации и с контролем. С помощью дисперсионного анализа Краскала—Уоллиса было обнаружено влияние фактора «группа» (контроль, самцы без депривации и самцы после депривации) на следующие показатели теста: число заходов в центр ( $H(2, 44) = 9,1, p < 0,05$ ) и закрытые рукава ( $H(2, 44) = 9,4, p < 0,01$ ), общее число входов/выходов ( $H(2, 44) = 8,9, p < 0,05$ ) и число переходов ( $H(2, 44) = 12, p < 0,01$ ).

Последующее сравнение с применением критерия Манна—Уитни показало, что по сравнению с контролем у агрессивных самцов без депривации и у самцов после депривации были: ниже абсолютные значения числа выходов в центр ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно) и выше среднее время пребывания в центре ( $p < 0,001$  и  $p < 0,01$ , соответственно); ниже число входов в закрытые рукава ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно) и выше среднее время пребывания в них ( $p < 0,05$  для агрессивных самцов после периода депривации), меньше общее число входов/выходов ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно), число переходов ( $p < 0,01$  и  $p < 0,001$ , соответственно), число

( $p < 0,05$  для агрессивных самцов после периода депривации) и время ( $p < 0,05$  и  $p < 0,05$ , соответственно) вставаний на задние лапы. Остальные показатели теста не отличались ( $p > 0,05$ ).

Тест «открытое поле»

У исследуемых групп самцов с разной направленностью изменения уровня агрессивности, не было выявлено различий в тесте «открытое поле» как до, так и после депривации ни по одному из исследованных показателей.

Использование дисперсионного анализ Краскала—Уоллиса позволило выявить влияние фактора «группа» (контроль, агрессивные самцы без депривации и самцы после депривации) на следующие показатели: общее время вставаний на задние лапы ( $H(2, 47) = 8,6, p < 0,05$ ), число ( $H(2, 47) = 6,8, p < 0,05$ ) и время ( $H(2, 47) = 22, p < 0,001$ ) аутогруминга.

Последующее сравнение с использованием критерия Манна—Уитни показало, что контроль, самцы без депривации и самцы после депривации не отличались ни по одному показателю теста друг от друга, за исключением снижения времени аутогруминга у «агрессоров» без депривации по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) (данные не приводятся).

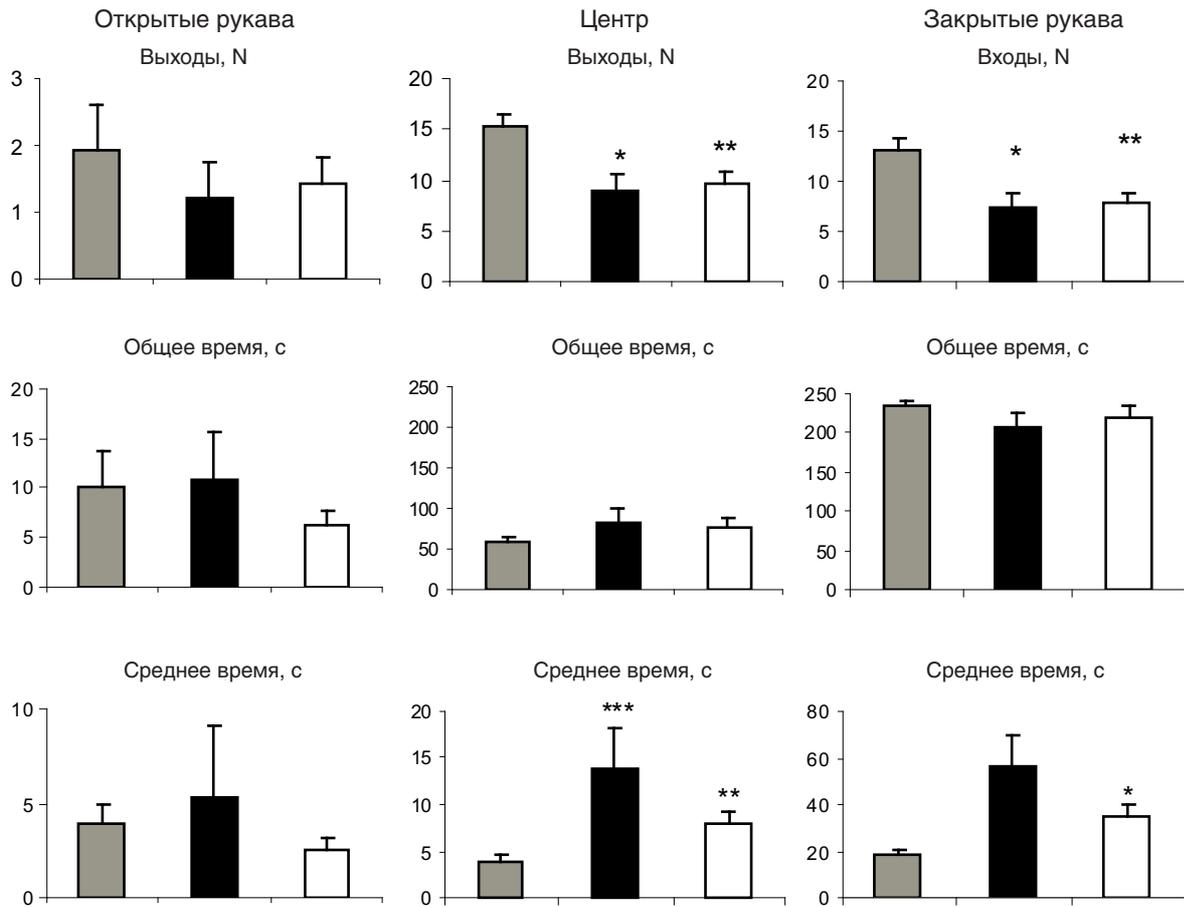


Рис. 5

Поведение агрессивных самцов в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Серые столбики — контроль (N = 12), черные — агрессивные самцы без депривации (N = 18), белые — агрессивные самцы после периода депривации (N = 14). \* — p < 0,05, \*\* — p < 0,01, \*\*\* — p < 0,001 по сравнению с контролем, U- критерий.

Fig. 5

Behavior of the aggressive male mice in the plus maze test

Gray columns — the controls (N = 12), black columns — undeprived aggressive males (N = 18), white columns — deprived aggressive males (N = 14). \* — p < 0,05, \*\* — p < 0,01, \*\*\* — p < 0,001 vs the controls, U-test.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие достаточно большой выборки самцов с повторным опытом агрессии позволило выявить новый поведенческий феномен. С одной стороны, было показано, что у 67 % «агрессоров» уровень агрессии после периода депривации, в течение которого самцы были лишены возможности вступать в агонистические взаимодействия, становился выше, что подтверждало данные, полученные ранее в первых экспериментах [8]. Однако у 33 % самцов уровень агрессии после депривации снижался.

Подробный анализ агрессивного поведения этих двух групп самцов до и после депривации выявил, на первый взгляд, парадоксальный результат. Уровень агрессии после периода депривации снизился у тех самцов, которые были более агрессивны до депривации. Латентное время атак и враждебного поведения у таких самцов было короче, а число и общее время атак, а также общее время враждебного поведения были выше, чем у тех самцов, у которых впоследствии уровень агрессии после депривации повышался. Надо отметить, что об ослаблении уровня агрессии после депривации, кроме снижения общего времени атак, свидетельствовали и другие пока-

затели: увеличение продолжительности латентного времени атак, снижение числа атак и общего времени враждебного поведения, изменения в которых были на уровне тенденции.

Общим для обеих групп агрессивных самцов после депривации было снижение показателя времени разрывания и разбрасывания чужой подстилки, а также повышение числа или времени обнюхивания партнера, что, по-видимому, свидетельствует о снижении агрессивной мотивации, поскольку «агрессоры» снижали время проявления непрямой агрессии (нанесение вреда «имуществу» партнера) и проявляли коммуникативное поведение (обнюхивание).

В качестве основного показателя, характеризующего изменение агрессивности самцов, нами был использован показатель общего времени атак за время теста. Ранее предполагалось [13], что этот показатель отражает наследственно обусловленные особенности формирования агрессивного возбуждения в провоцирующей ситуации и является устойчивой характеристикой генотипа мыши. Если агрессия у особи возникала, то сценарий ее развития был одним и тем же: длительность общего времени атак была одной и той же независимо от ситуации, вызвавшей ее проявление. В то же время показатель латентного времени первой атаки, характеризующий порог возникновения агрессии, варьировал в зависимости от контекста ситуации. Наши исследования показали, что эти положения не работают у самцов мышей с повторным опытом агрессии, и общее время атак может меняться под влиянием повторного опыта агрессии и зависеть от контекста ситуации.

Факт усиления агрессивности у самцов мышей с повторным опытом агрессии после периода депривации, в течение которого самцы не имели возможности вступать в агонистические взаимодействия, удивителен сам по себе. В литературе уже длительное время существует представление о том, что агрессия нападения является врожденной формой поведения [14, 15] и запускается в ответ на провоцирующие видоспецифические стимулы. При отсутствии провоцирующей ситуации агрессивное поведение, как таковое, в природе не возникает. Более того, демонстрация оппонентами поз полного подчинения также снижает проявление агрессии у нападающего самца. Однако у наших «агрессоров» после депривации этого не произошло. Одной из причин, возможно, является тот факт, что агрессивные самцы живут через перегородку с другим самцом, и это приводит к кумуляции видоспецифических феромональных сигналов, запускающих агрессивное поведение. Однако это представление,

казалось бы, опровергается фактом совсем другой реакции у исходно более агрессивных самцов, у которых агрессивность после депривации снижается.

Целью этого исследования было постараться ответить на вопрос: могут ли эти изменения в постдепривационном поведении самцов, отличающихся исходно по выраженности агрессивности, быть следствием изменения психоэмоциональных характеристик особей, которые могли возникнуть в период депривации? Однако исследование поведения самцов в тестах, оценивающих коммуникативность, тревожность, исследовательскую активность и др., не выявило статистически значимых различий между группами агрессивных самцов, у которых произошли разнонаправленные изменения уровня агрессивности после депривации по многим показателям тестов. Так, по показателям теста «перегородка» эти группы самцов не отличались между собой. В целом, у агрессивных самцов было выявлено снижение числа подходов к перегородке после периода депривации по отношению к этому показателю до депривации. Это, возможно, произошло вследствие того, что после депривации (во время которой перегородка не убиралась) перегородка перестала быть условным стимулом приближающихся атак, который вырабатывается у этих самцов в течение двадцати дней агонистических взаимодействий. Именно поэтому поведенческая активность возле перегородки в реакции на партнера в соседнем отсеке клетки, которая отражает уровень агрессивной мотивации у самцов мышей [11], перестала быть таковой.

Сравнение между собой самцов, у которых уровень агрессии повысился или снизился после депривации, также не выявило каких-либо различий по всем показателям в тесте «открытое поле». Самцы с повторным опытом агрессии без депривации не отличались от контроля по большинству показателей теста, за исключением времени демонстрации аутогруминга, которое у агрессивных самцов было меньше. Однако после периода депривации и это различие между контролем и «агрессорами» также исчезло. Аналогично, в тесте ПКЛ, который используется для изучения тревожности у животных, не было обнаружено различий по всем показателям теста между агрессивными самцами, уровень агрессии у которых впоследствии повысился или снизился. Однако по некоторым показателям самцы без депривации и самцы после депривации отличались от контроля: у них были снижены абсолютные значения числа выходов в центр, входов в закрытые рукава, было снижено общее число вхо-

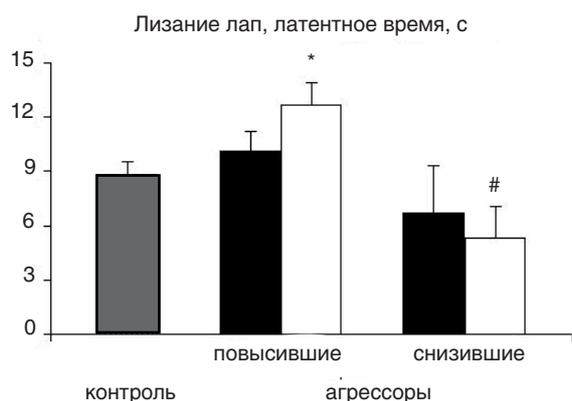


Рис. 6

**Латентное время первого лизания лап у агрессивных самцов в тесте «горячая площадка»**

Серые столбики — контроль (N = 13), черные столбики — агрессивные самцы до периода депривации, белые — после периода депривации; «повысившие» — самцы, у которых повысилась агрессивность после депривации (N = 13), «снизившие» — самцы, у которых снизилась агрессивность после депривации (N = 3). \* — p < 0,05 по сравнению с контролем; # — p < 0,05 по сравнению с самцами, у которых после депривации агрессивность повысилась, U-критерий.

Fig. 6

**Licking paw latency period in the hot plate test in the aggressive male mice**

Gray columns — the controls (N = 13), black columns — aggressive mice before fighting deprivation; white columns — aggressive mice after deprivation; «повысившие» — males with increased level of aggression after fighting deprivation period (N = 13), «снизившие» — males which decreased aggression after deprivation period (N = 3). \* — p < 0,05 vs the controls; # — p < 0,05 vs aggressive males at which aggression has increased after deprivation period, U-test.

дов/выходов в рукава лабиринта, число переходов из одного закрытого рукава в другой, число и общее время вставаний на задние лапы и было повышен показатель среднего времени пребывания в центре и в закрытых рукавах.

Можно было бы предположить, что у агрессивных самцов происходит снижение двигательной активности, однако данные теста «открытое поле» не позволяют это сделать. Можно думать, что те показатели теста ПКЛ, которые отражают не только локомоторную активность, но и уровень тревожности (число и общее время вставаний на задние лапы, общее число входов-выходов) [16] и которые изменились у агрессивных самцов после депривации, свидетельствуют об увеличении у них тревожности, что совпадает с нашими ранними данными [17]. Делается вывод, что повторный опыт агрессии сопровождается повышением уровня тревожности, который не снижается после прекращения агонистических взаимодействий, по крайней мере, в течение 2-х недель. Это свидетельствует об устойчивости возникших изменений в психоэмоциональном состоянии самцов.

Таким образом, различия между самцами, демонстрирующим повышенный или сниженный уровень агрессии после периода депривации по сравнению с додепривационным периодом, скорее всего, не обусловлены различиями в уровне тревожности или двигательной активности, а также эмоциональности или коммуникативности, оцениваемыми поведенческими тестами. Ожидания, связанные с тем, что эти исследования позволят ответить на вопрос о том, чем все же обусловлены эти различия в постдепривационном изменении уровня агрессии самцов с исходно разным уровнем агрессивности до депривации, себя не оправдали: психоэмоциональное состояние, оцениваемое этими тестами у этих самцов существенно не различалось.

Ранее постдепривационное усиление агрессии у самцов мышей было объяснено вовлечением опиоидергических систем мозга в механизмы формирования агрессивного типа поведения под влиянием повторного опыта агрессии и побед [8]. В рамках этой гипотезы предполагалось, что повторный опыт побед происходит на фоне активации систем положительного подкрепления и вознаграждения, в которых опиоидергические системы играют первичную роль [18, 19].

Как было показано в наших экспериментах, под влиянием повторного опыта агрессии может развиваться толерантность или сенситизация опиоидных рецепторов к действию опиоидных препаратов, — агонистов или антагонистов мю- и каппа-опиоидных рецепторов в зависимости от длительности опыта агрессии [20, 21, 22]. Эти данные позволяли предположить, что у самцов с исходно разным уровнем агрессивности опиоидергические системы могут находиться в разном состоянии и под влиянием повторного опыта агрессии они также могут изменяться по-разному.

Для того чтобы проверить эту гипотезу мы провели предварительные эксперименты, оценивающие болевую чувствительность, в регуляции которой опиоидергические системы принимают непосредственное участие [18]. Было показано (рис. 6), что агрессивные самцы, у которых впоследствии произошло усиление агрессии, имели после депривации более высокие значения латентного времени первого лизания лап на горячей площадке по сравнению с контролем и по сравнению с этим же показателем у самцов, у которых произошло снижение уровня агрессии после депривации.

Эти данные могут свидетельствовать о том, что в первом случае у самцов после депривации развивается толерантность к болевому стимулу — снижение болевой чувствительности, что подтвержда-

ет развитие толерантности опиоидергических систем, установленное нами ранее по отношению к агонистам опиоидных рецепторов [20, 21]. В то же время у самцов с пониженным впоследствии уровнем агрессии, снижение латентного времени лизания лап может свидетельствовать о развитии сенситизации к болевому стимулу.

Несмотря на то, что исследования болевой чувствительности у самцов мышей, отреагировавших по-разному изменением уровня агрессии после депривации, подтвердили корректность нашего отбора животных в группы по признаку постдепривационного увеличения/снижения уровня агрессии, тем не менее необходимо отметить, что этот принцип, судя по рисунку 2, может не работать у некоторых высоко агрессивных индивидов, у которых после депривации также произошло усиление агрессии. Аналогично, этот тезис может не работать и в отношении самцов мышей с невысоким уровнем агрессии, у которых период депривации не привел к ее существенному увеличению. Очевидно, что для того, чтобы избежать случайных флуктуаций индивидуального поведения в процессе длительного тестирования животных, необходимо тщательное отслеживание истории агрессивного поведения каждого самца в течение всего периода конфронтационных взаимодействий.

Можно также утверждать, что не во всех случаях внешнее проявление того или иного уровня агрессии отражает скрытые механизмы, лежащие в основе изменений, возникающих под влиянием повторного опыта агрессии и побед. Очевидно, что необходимы дополнительные исследования опиоидергических механизмов регуляции повторного опыта агрессии, с одной стороны, и изучение последствий повторного опыта агрессии на последующее поведение и состояние нейрохимических систем мозга индивида, с другой. Получение этих знаний является актуальной фундаментальной задачей, решение которой позволит понять и предложить пути снижения и предотвращения развития патологической агрессии у отдельного индивида, а значит, и в обществе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Было показано, что у самцов мышей с повторным опытом агрессии и побед в двадцати ежедневных конфронтациях изменяется уровень агрессивности после периода депривации, в течение которого они были лишены возможности участвовать в агонистических взаимодействиях. Установлено, что у 67 % самцов

произошло усиление агрессивности после периода депривации, однако у 33 % самцов наблюдалось снижение ее проявления. Также эти две группы самцов исходно отличались друг от друга по уровню агрессии, измеренному до периода депривации.

Более агрессивными были те животные, у которых впоследствии произошло снижение уровня агрессии. Однако психоэмоциональное состояние у этих групп самцов, оцениваемое тестами: «приподнятый крестообразный лабиринт», «открытое поле» и «пергородка», существенно не различалось.

Предполагается, что различия по уровню агрессивности между этими группами самцов могут быть обусловлены разным состоянием опиоидергических систем мозга, вовлеченных в последствия повторного опыта агрессии и побед.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-00083-а).

Авторы выражают глубокую признательность И.В. Белозерцевой и В.Е. Дьяконовой за продуктивную критику и обсуждение материала в процессе подготовки статьи к публикации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV-TR. 4th ed., text revision. / American Psychiatric Association. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000. xxxvii, 943 p.
2. Gray G.C., Kaiser K.S., Hawksworth A.W., Hall F.W., Barrett-Connor E. Increased postwar symptoms and psychological morbidity among U.S. Navy Gulf War veterans. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60: 758–766.
3. Heyman R.E., Neidig P.H. A comparison of spousal aggression prevalence rates in U.S. Army and civilian representative samples. *J Consult Clin Psychol.* 1999; 67: 239–242.
4. Teten A.L., Sherman M.D., Han X. Violence between therapy-seeking veterans and their partners: prevalence and characteristics of nonviolent, mutually violent, and one-sided violent couples. *J Interpers Violence.* 2009; 24: 111–127.
5. Kudryavtseva N.N. Psychopathology of repeated aggression: a neurobiological aspect. In: Morgan J.P., (ed.). *Perspectives on the Psychology of Aggression.* NOVA Science Publishers, Inc. 2006.
6. Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н. Нарушение социального распознавания у самцов мышей с повторным опытом агрессии. *Ж высш нервн деят им. И.П. Павлова.* 2005; 55: 378–384.
7. Кудрявцева Н.Н., Бакштановская И.В., Августиневич Д.Ф. Влияние повторного опыта агрессии в ежедневных конфронтациях на индивидуальное и социальное поведение самцов мышей. *Ж высш нервн деят им. И.П. Павлова.* 1997; 47: 86–97.
8. Kudryavtseva N.N. Lorenz Was Right! Or Does Aggressive Energy Accumulate? *Russian Journal of Genetics.* 2004; 40: 656–662.

9. Kudryavtseva N.N. The sensory contact model for the study of aggressive and submissive behaviors in male mice. *Aggressive Behavior*. 1991; 17: 285–291.

10. Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Бондарь Н.П. Выбор «контроля» в экспериментальных исследованиях социальных взаимодействий у мышей. *Росс физиол ж им. И.М. Сеченова*. 2005; 91: 1454–1468.

11. Kudryavtseva N.N. Experience of defeats decreases the behavioral reactivity to conspecific in partition test. *Behavioural Processes*. 1994; 32: 297–304.

12. Lister R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987; 92: 180–185.

13. Кудрявцева Н.Н. Особенности агрессивного поведения мышей, одерживающих победы в межсамцовых взаимодействиях. *Ж высш нервн деят*. 1986; 36: 1077–1082.

14. Лоренц К. Агрессия (так называемое «зло»). СПб.: Амфора, 2001.

15. Scott J.P. *Aggression*. Chicago: Univ. of Chicago press, 1958.

16. Rodgers R.J., Cole J.C. Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors. *Physiol Behav*. 1993; 53: 383–388.

17. Kudryavtseva N.N., Bondar N.P., Avgustinovich D.F. Association between experience of aggression and anxiety in male mice. *Behav Brain Res*. 2002; 133: 83–93.

18. Le Merrer J., Becker J.A., Befort K., Kieffer B.L. Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev*. 2009; 89: 1379–1412.

19. Van Ree J.M., Niesink R.J., Van Wolfswinkel L., Ramsey N.F., Kornet M.M., Van Furth W.R., Vanderschuren L.J., Gerrits M.A., Van den Berg C.L. Endogenous opioids and reward. *Eur J Pharmacol*. 2000; 405: 89–101.

20. Kudryavtseva N.N., Gerrits M.A., Avgustinovich D.F., Tenditnik M.V., Van Ree J.M. Modulation of anxiety-related behaviors by mu- and kappa-opioid receptor agonists depends on the social status of mice. *Peptides*. 2004; 25: 1355–1363.

21. Кудрявцева Н.Н., Долгов В.В., Бондарь Н.П., Августинович Д.Ф. Влияние селективного агониста  $\mu$ -опиоидных рецепторов DAGO на враждебное и тревожное поведение самцов мышей с разным опытом агрессии. *Ж высш нервн деят им. И.П. Павлова*. 2003; 53: 81–87.

22. Липина Т.В., Августинович Д.Ф., Корякина Л.А., Алексеенко О.В., Кудрявцева Н.Н. Различия в эффектах налтрексона на коммуникативное и агрессивное поведение у особей с различным опытом социальных побед. *Эксперим и клин фармакол*. 1998; 61: 13–18.

**Smagin DA, Bondar NP, Kudryavtseva N.N. [Repeated Aggression and Implications of Deprivation in Male Mice]. *Psychopharmacol Biol Narcol*. 2010; 10(1–2): 2636–2648. Epub 06 November 2010. Russian**

Institute of Cytology and Genetics SD RAS, Neurogenetics of Social Behavior Sector; 10 Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia, Tel.: +7 383-363-49-65

CITATION: *PSYCHOPHARMACOL BIOL NARCOL*. 2010; 10(1–2): 2636–2648. Epub 2010 Nov 06. RUSSIAN

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Male mice with a long positive fighting history develop behavioral psychopathology, which includes abnormal aggression, pronounced anxiety, hyperactivity, stereotypic reactions, disturbances in social recognition etc.

**METHODS.** Behavior of C57BL/6J male mice with 20 days experience of aggression was investigated before and after no-fight period (14 days) in elevated plus maze, open field, partition and agonistic interactions tests.

**RESULTS.** It was shown that level of aggression was increased in 67 % of males and was decreased in 33 % of males after fighting deprivation. These two groups of animals differed initially in aggression levels before no-fight period: higher aggression level was in the males that decreased afterwards manifestation of aggression. However these males had no differences in many psychoemotional characteristics evaluated in elevated plus maze, open field and partition tests.

**CONCLUSION.** Positive fighting experience affects subsequent agonistic behavior increasing aggressiveness in most part of male mice after fighting deprivation. It is supposed that brain opioidergic systems are involved in the effects of repeated aggression and deprivation effects.

**KEY WORDS:** Repeated aggression; Deprivation; Sensory contact model; C57BL/6J mice

Correspondence to: Natalia N. Kudryavtseva  
Institute of Cytology and Genetics SD RAS  
10, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia  
e-mail: n.n.kudryavtseva@gmail.com

Epub 2010 Nov 06. In Russian © PPBN  
<http://www.psychopharmacology.ru/index.php/PPBN/article/view/1048>  
<http://www.eLibrary.ru>