

СОДЕРЖАНИЕ ОРЕКСИНА А В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС КОРРЕЛИРУЕТ С ПАТТЕРНАМИ ПОВЕДЕНИЯ У СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС

УДК 616-092.9+612.82
doi: 10.17816/RCF16445-48

© П.П. Хохлов, И.Ю. Тиссен, А.А. Лебедев, Е.Р. Бычков, П.Д. Шабанов

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Хохлов П.П., Тиссен И.Ю., Лебедев А.А., и др. Содержание орексина А в структурах головного мозга крыс коррелирует с паттернами поведения у стрессированных крыс. – 2018. – Т. 16. – № 4. – С. 45–48. doi: 10.17816/RCF16445-48

Поступила: 09.10.2018

Одобрена: 10.12.2018

Принята: 21.12.2018

Предметом изучения стало эмоциональное и исследовательское поведение крыс после острого психоэмоционального воздействия. Группу крыс однократно помещали к тигровому питону и после стресса в течение семи дней интраназально вводили орексин А или антагонист рецепторов орексина первого типа SB-408124. Далее регистрировали количественные параметры паттернов поведения в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Затем у крыс исследовали структуры мозга (миндалина, гиппокамп, гипоталамус) на содержание орексина А. Корреляцию оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. В результате выявлена корреляция между содержанием орексина А в миндалине и гипоталамусе, а также числом пересечений секторов (локомоторная активность) в тесте «откры-

тое поле». Содержание орексина в миндалине и гипоталамусе демонстрируют соответственно прямую и обратную связь с локомоторной активностью животного. Выявлена также корреляция между содержанием орексина в гиппокампе и миндалине, а также временем пребывания в темных рукавах в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Содержание орексина А в миндалине и гиппокампе, как оказалось, отражает уровень тревожности. Делается вывод о положительной корреляции эмоциональных паттернов поведения с содержанием орексина в структурах лимбической системы головного мозга.

◆ **Ключевые слова:** содержание орексина; психоэмоциональный стресс; поведение; корреляция; гиппокамп; гипоталамус; миндалина.

OREXIN A CONTENT IN BRAIN STRUCTURES CORRELATES WITH BEHAVIORAL PATTERNS IN STRESSED RATS

© P.P. Khokhlov, I.Yu. Tissen, A.A. Lebedev, E.R. Bychkov, P.D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Khokhlov PP, Tissen IYu, Lebedev AA, et al. Orexin A content in brain structures correlates with behavioral patterns in stressed rats. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(4):45-48. doi: 10.17816/RCF16445-48

Received: 09.10.2018

Revised: 10.12.2018

Accepted: 21.12.2018

The aim of this investigation was to reveal correlations between some behavioral patterns and orexin concentrations in the brain structures in rats after an acute psychoemotional stress. A group of rats was placed into a chamber with a tiger python for 25 minutes and then as a treatment these rats received orexin A or its antagonist SB-408124 administered intranasally for 7 days. Then the quantitative indexes of behavioral patterns in open field and elevated plus maze were registered. The orexin A level was investigated in the brain structures (amygdala, hippocampus, hypothalamus) of such rats by means of high-sensitive ELISA. The correlations were assessed with Spearman's rank correlation test. As a result, a correlation between orexin A content in the amygdala and hypothalamus and a number of ambulations

(line crossings) characterizing motor activity in open field test has been revealed. Therefore, the level of orexin A in the amygdala and hypothalamus demonstrates a direct and reverse link with locomotor activity of rats respectively. Also a correlation between orexin A level in the hippocampus and amygdala and the time of staying in the dark alleys of the elevated plus maze has been revealed. So, the content of orexin A in the hippocampus and amygdala reflects anxiety level of a rat. It is concluded there is a positive correlation between the orexin A content in the limbic structures of the brain and emotional behavior of rats.

◆ **Keywords:** orexin A level; psychoemotional stress; behavior; correlation; hippocampus; hypothalamus; amygdala.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время орексиновую сигнальную систему головного мозга рассматривают в качестве

важнейшей интегративной системы в центральной нервной системе (ЦНС) [2, 5]. Основными функциями орексиновой системы считают регуляцию циркадных ритмов, цикла «сон – бодрствование», пище-

вого поведения, участие в механизмах подкрепления и формирования зависимости [1, 3, 4].

Целью настоящего исследования было установление наличия или отсутствия связи между паттернами поведения животных в различных экспериментальных условиях и содержанием орексина А в лимбических структурах мозга у крыс после психоэмоционального стресса и фармакологической коррекции веществами орексинергической направленности.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали самцов крыс линии Wistar массой 200–220 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Крыс подвергали однократной экспозиции тигровому питону в течение 25 минут. При этом хищник заглатывал одну крысу, остальные испытывали острый (витальный) психоэмоциональный стресс без механических или физических травм. Далее животным двух экспериментальных групп проводили курсовое (в течение 7 дней) интраназальное введение агониста или антагониста орексина (Orexin A или SB-408124, Tocris, Великобритания) из расчета 20 мкг/20 мкл препарата на введение (по 10 мкл в каждую ноздрю). Животным контрольных групп вводили физиологический раствор (20 мкл). Затем регистрировали паттерны поведения животных всех экспериментальных групп в тестах «открытое поле» (ОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). После регистрации паттернов поведения крыс декапитировали и при-

готовляли образцы структур головного мозга для иммунохимического анализа на криогенной мельнице Cryjmill (Retsch, ФРГ). Количественное определение орексина А проводили с помощью высокочувствительного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на ридере Synergy-2 (Biotek, США) с использованием тест-системы Orexin A. Rat, mouse, human (Peninsula labs, США). Результаты подвергали корреляционному анализу с оценкой количественных показателей паттернов поведения и содержания орексина А, используя критерий ранговой корреляции Спирмена. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ GrafPad Prizm v.4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения корреляционной зависимости вычисляли общую корреляцию для всех исследованных групп животных: контрольной группы, животных, испытавших психоэмоциональный стресс, и двух групп со стрессорным воздействием и последующим фармакологическим воздействием. Так была достигнута наиболее возможная рандомизация выборки. Результаты вычислений отражены в табл. 1 и 2. В силу неопределенности распределения количественных показателей паттернов поведения был использован непараметрический критерий ранговой корреляции. Для теста ОП отмечена корреляция для паттерна «число пересечений секторов» (ЧПС), выражающего двигательную активность животного. Отмечена отрицательная корреляция

■ Таблица 1. Корреляции между паттернами поведения в тесте «открытое поле» и содержанием орексина А в структурах головного мозга у крыс

| Показатель в тесте «открытое поле» | Содержание орексина А в структурах мозга (нг/мг белка) | | |
|------------------------------------|--|------------|---------------------------------------|
| | миндалины | гиппокамп | гипоталамус |
| Число пересечений секторов | $r = -0,47$ $p = 0,01$ $n = 28$ | Не значима | $r = 0,49$ $p = 0,007$ $n = 28$ |
| Число замираний — фризинга | Не значима | Не значима | Не значима |
| Число актов груминга | Не значима | Не значима | Не значима |
| Число принюхиваний | Не значима | Не значима | Не значима |
| Число стоек (раз) | Не значима | Не значима | Не значима |

Примечание: r — коэффициент ранговой корреляции Спирмена; p — уровень значимости; n — число животных.

■ Таблица 2. Корреляции между показателями поведения в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и содержанием орексина А в структурах мозга у крыс

| Показатель в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» | Содержание орексина А в структурах мозга (нг/мг белка) | | |
|--|--|---------------------------------------|-------------|
| | миндалины | гиппокамп | гипоталамус |
| Время пребывания в темных рукавах (с) | $r = 0,525$ $p = 0,003$ $n = 28$ | $r = 0,408$ $p = 0,03$ $n = 28$ | Не значима |
| Число переходов между рукавами | Не значима | Не значима | Не значима |
| Число свешиваний | Не значима | Не значима | Не значима |
| Число актов груминга | Не значима | Не значима | Не значима |

Примечание: r — коэффициент ранговой корреляции Спирмена; p — уровень значимости; n — число животных.

(–0,47) между содержанием орексина А в миндалине и положительная (0,49) между ЧПС и концентрацией орексина А в гипоталамусе.

Таким образом, среди количественных параметров паттернов поведения наиболее информативными можно считать число пересеченных секторов в тесте ОП и время пребывания в темных (или светлых) рукавах в тесте ПКЛ. Уровень орексина А в миндалине и гиппокампе отражает состояние тревоги у животного, а в гипоталамусе он напрямую не связан с тревогой. Уровни орексина в миндалине и гипоталамусе при этом демонстрируют соответственно прямую и обратную связь с локомоторной активностью животного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев А.А., Шумилов Е.Г., Смирнов А.А., и др. Участие нейропептида орексина А в механизмах подкрепления, активируемых психостимуляторами // Наркология. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 12–18. [Lebedev AA, Shumilov EG, Smirnov AA, et al. Uchastie neuropeptida oreksina A v mekhanizмах podkrepleniya, aktiviruemykh
2. Tissen И.Ю., Виноградов П.М., Хохлов П.П., и др. Роль орексиновой системы в механизмах условного предпочтения // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т. 13. – № S1. – С. 166–167. [Tissen IY, Vinogradov PM, Khokhlov PP, et al. Rol' oreksinovoy sistemy v mekhanizмах uslovnogo predpochteniya. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2015;13(S1):166-167. (In Russ.)]
3. Шабанов, П.Д., Лебедев А.А., Морозов В.И., Роик Р.О. Подкрепляющие свойства психоактивных веществ модулируются системой пептидов орексина головного мозга // Наркология. – 2016. – Т. 15. – № 4. – С. 27–33. [Shabanov PD, Lebedev AA, Morozov VI, Roik RO. Podkreplayushchie svoystva psikhoaktivnykh veshchestv moduliruyutsya sistemoy peptidov oreksina golovnoгo mozga. *Narkologiya*. 2016;15(4):27-33. (In Russ.)]
4. de Lecea L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. *Prog Brain Res*. 2012;198:15-24. doi: 10.1016/B978-0-444-59489-1.00003-3.
5. Li J, Hu Z, de Lecea L. The hypocretins/orexins: integrators of multiple physiological functions. *Br J Pharmacol*. 2014;171(2):332-350. doi: 10.1111/bph.12415.

♦ Информация об авторах

Платон Платонович Хохлов — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: platonkh@list.ru.

Илья Юрьевич Тиссен — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: iljatis@mail.ru.

♦ Information about the authors

Platon P. Khokhlov — PhD, Senior Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: platonkh@list.ru.

Ilya Yu. Tissen — PhD, Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: iljatis@mail.ru.

♦ Информация об авторах

Андрей Андреевич Лебедев — д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Евгений Рудольфович Бычков — канд. мед. наук, заведующий лабораторией отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

Петр Дмитриевич Шабанов — д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

♦ Information about the authors

Andrei A. Lebedev — Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Leading Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Eugenii R. Bychkov — PhD (Biochemistry), Head of the Laboratory, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.

Petr D. Shabanov — Dr. Med. Sci., Professor, Head, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.