

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ КОРТИКОЛИБЕРИНА АСТРЕССИНА НА АГРЕССИЮ И ТРЕВОЖНО-ФОБИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ У САМЦОВ КРЫС, ВЫРАЩЕННЫХ В СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

УДК 616-092.9+612.82
DOI: 10.17816/RCF15338-47

© А.А. Лебедев, А.Г. Пшеничная, Н.Д. Якушина, Е.Р. Бычков, П.Д. Шабанов

ФГБН «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Лебедев А.А., Пшеничная А.Г., Якушина Н.Д., и др. Влияние антагониста рецепторов кортиколиберина астрессина на агрессию и тревожно-фобические состояния у самцов крыс, выращенных в социальной изоляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 3. – С. 38–47. doi: 10.17816/RCF15338-47

Поступила в редакцию 09.08.2017

Принята к печати 17.09.2017

Ключевые слова:

астрессин; социальная изоляция; CRF; агрессия; тревожность; крысы; тревожно-фобические состояния.

Резюме

Цель. Исследовали внутривидовое поведение и эмоционально-исследовательскую активность после введения неселективного антагониста рецепторов кортиколиберина астрессина у самцов крыс, выращенных в условиях социальной изоляции с 21-й по 93-й день. **Результаты.** В тесте «чужак – резидент» у крыс, выращенных в изоляции, наблюдали повышенный уровень агрессии и коммуникативности по сравнению с животными, выращенными в сообществе. После интраназального введения астрессина (20 мкг в 20 мкл) у крыс, выращенных в изоляции, наблюдали увеличение уровня агрессии и снижение коммуникативности по сравнению с интактными животными, выращенными в изоляции. В тесте «открытое

поле» у крыс, выращенных в изоляции, наблюдался более высокий уровень двигательной активности по сравнению с контрольными животными. Оценка тревожно-фобического состояния, а также исследование поведения в приподнятом крестообразном лабиринте выявили более высокие уровни тревожности и страха у крыс, выращенных в изоляции. После введения астрессина у животных, выращенных в изоляции, достоверно снижались уровни тревожности и страха. **Заключение.** В результате проведенной работы было установлено, что антагонист рецепторов CRF астрессин растворяет агрессию, снимая тревожно-фобические состояния у самцов крыс, выращенных в социальной изоляции. Результаты доказывают необходимость учета кортиколибериновых механизмов в формировании синдрома социальной изоляции и возможности использования антагонистов рецепторов кортиколиберина для управления центральными механизмами стресса и зависимости в онтогенезе.

EFFECT OF ASTRESSIN, A CORTICOLIBERIN ANTAGONIST, ON AGGRESSION AND ANXIETY-FOBIC STATES IN MALE RATS REARED IN SOCIAL ISOLATION

© A.A. Lebedev, A.G. Pshenichnaya, N.D. Yakushina, E.R. Bychkov, P.D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Lebedev AA, Pshenichnaya AG, Yakushina ND, et al. Effect of astressin, a corticoliberin antagonist, on aggression and anxiety-fobic states in male rats reared in social isolation. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(3):38-47. doi: 10.17816/RCF15338-47

Received: 09.08.2017

Accepted: 17.09.2017

◆ **Keywords:** astressin, social isolation, CRF, aggression, anxiety, rats, anxiety-fobic states.

◆ **Abstract. Aim.** Intraspecific behavior, emotional and explorative activity were investigated after intranasal administration of astressin, a non-selective antagonist of CRF receptors, in the male rats reared in social isolation from 21 to 93 days. **Results.** In the “resident-intruder” test there was an increased level of aggression and communi-

cations in isolated rats compared to grouped animals. After intranasal administration of astressin (20 µg in 20 µl), rats grown in isolation demonstrated an increase in aggression and decreased in communicability compared to intact animals reared in isolation. In the “open field” test a level of motor activity was increased in rats grown in isolation compared to grouped animals. The anxiety-phobic state, as well as behavior in an elevated plus maze, revealed enhance of anxiety and fear in rats reared in isolation. Af-

ter astressin administration to isolated animals the levels of anxiety and fear significantly decreased. **Conclusion.** The results of the work revealed that the antagonist of the CRF receptor astressin disinhibited aggression, removing anxious and phobic state in male rats reared in social isolation.

Социальная изоляция в онтогенезе может изменять психоэмоциональный статус у животных и вызывать нарушения в нейромедиаторных системах мозга, в становлении нейроэндокринных взаимодействий, что ведет в дальнейшем к стойкой модификации нейроэндокринных, иммунных и висцеральных реакций взрослого организма [11]. Влияние социальных факторов на физиологические функции ранее в большей степени изучали на взрослых животных [13]. Однако последствия воздействий в раннем онтогенезе могут отличаться от эффектов на взрослых животных, поскольку влияние этих воздействий может затронуть критические периоды в развитии форм поведения и не ограничиваться временем действия стрессоров [12].

В результате социальной изоляции в онтогенезе у грызунов развивается так называемый «синдром социальной изоляции», который выражается в повышении реактивности подкрепляющих систем мозга, гиперактивности и повышенной агрессивности в сочетании с высоким уровнем депрессивности [14]. Социальная изоляция детенышей от матери и сверстников приводит также к таким поведенческим изменениям, как уменьшение престимульного стартл-рефлекса вздрагивания в ответ на звуковой сигнал [32], к увеличению уровня тревожности [27], агрессивности [20] и двигательной активности [15], нарушению процессов обучения и памяти [24]. Кроме того, социальная изоляция меняет суточный ритм таких гормонов, как пролактин, гормон роста, лептин и кортикостерон [23].

Кортиколиберин (КРГ, или CRF) является пептидом, состоящим из 41 аминокислотного остатка, и синтезируется в паравентрикулярном ядре гипоталамуса [28]. Под воздействием стрессорных стимулов CRF транспортируется из паравентрикулярного ядра гипоталамуса в срединное возвышение. Оттуда он высвобождается в систему поральной циркуляции и стимулирует высвобождение дериватов проопиомеланокортина (таких как АКТГ и β -эндорфин) из передней доли гипофиза. Известно, что CRF играет роль кортикотропин-рилизинг-фактора, или гормона. В головном мозге рецепторы к CRF (R1 и R2) локализованы во всех областях, хотя и с разной плотностью [26]. Рецепторы CRFR1 расположены преимущественно в неокортексе, особенно в префронтальной и энторинальной коре, в структурах обонятельного мозга, миндалевидном комплексе, гиппокампе, мозжечке и сенсорных релейных ядрах. В то же время CRFR2 практически отсутствуют в коре и концентрируются преимущественно в субфорникальных структурах, а именно

tion. The results prove the necessity of taking into account CRF mechanisms in the formation of the social isolation syndrome and the possibility of using CRF receptor antagonists to control the central mechanisms of stress and dependence in ontogenesis.

в вентромедиальном ядре гипоталамуса, латеральном септуме, ядрах конечной полоски и некоторых ядрах миндалины. Функциональное значение рецепторов CRFR1 связывают с управлением секреции АКТГ и контролем тревожности, в то время как CRFR2 участвуют в регуляции пищевого и сексуального поведения, а также деятельности сердечно-сосудистой и репродуктивной систем [17]. Наибольшее скопление рецепторов CRF зарегистрировано в гипоталамусе и миндалевидном комплексе [17]. Вместе с тем в механизмах тревожности при хроническом стрессе социальной изоляции участие рецепторов кортиколиберина исследовано недостаточно.

Задачей настоящей работы было изучение действия неселективного антагониста рецепторов CRF астрессина при интраназальном введении на исследовательское и эмоциональное поведение у крыс, содержащихся в условиях хронической социальной изоляции в течение 5 недель после отъема от матери. Социальные воздействия применяли с 21-го по 93-й день жизни. Выбранный интервал включал в себя ювенильный, препубертатный, пубертатный и ранний постпубертатный периоды онтогенеза крысы, которые в сумме предлагается условно называть подростковым периодом. Именно такой период постнатального развития считается наиболее значимым для влияния различных воздействий внешней среды на формирование адаптивного поведения у крыс [2, 12, 13].

МЕТОДИКА

Выращивание животных в условиях частичной сенсорной и полной внутривидовой изоляции. В работе были использованы 79 половозрелых крыс-самцов линии «Вистар», выращенных в условиях вивария (в сообществе или в одиночных клетках). Предварительно беременных крыс массой 220–240 г получали из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света (8.00–20.00) при температуре 22 ± 2 °С. Пометы крысят отсаживали от матерей на 21-й день жизни. Самцов случайным образом делили на две экспериментальные группы. Крыс одной группы ($n = 37$) рассаживали в индивидуальные пластмассовые клетки размером $40 \times 30 \times 25$ см (социальная изоляция). Крыс второй, контрольной группы ($n = 42$) содержали по 6–8 особей в клетке ($53 \times 32 \times 19$ см). С 93-го дня жизни крыс

последовательно (с перерывами 24–48 ч) тестировали в ряде поведенческих методик, предварительно за 10 минут до тестирования интраназально вводили неселективный антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин (Sigma, США) 20 мкг в 20 мкл (по 10 мкл в каждую ноздрю). В качестве контроля использовали введение 20 мкл 0,9 % раствора NaCl (физиологического раствора). После каждого опыта крысы, выращенные в изоляции, помещались в свои индивидуальные клетки.

Исследование поведения. Поведение исследовали с помощью тестов «чужак–резидент», «приподнятый крестообразный лабиринт», «открытое поле», также оценивали тревожно-фобическое состояние крыс [3]. Далее, выявляли различия в поведении между контрольными и экспериментальными животными, сравнивали поведенческие изменения у крыс после введения астрессина.

Тест «чужак–резидент». Для анализа особенностей внутривидового поведения животных использовали тест «чужак–резидент». Крыса-резидент помещалась в обычную жилую клетку с опилками на полу размером 20 × 25 × 17 см, где находилась в одиночестве в течение одного часа, после чего к ней подсаживали взрослую крысу-чужака того же пола, но заведомо меньшего размера. В течение 5 минут регистрировали полную этограмму поведения резидента. Регистрацию производили путем последовательной записи каждого поведенческого акта или позы животного. Внутривидовая общительность включала в себя следование за партнером, обнюхивание партнера, обнюхивание его генитальной области, груминг тела партнера, наползание или подползание под него. Агрессия включала в себя угрозу в виде вертикальных или боковых стоек, атаку, укус, полную агрессивную позу. Защитное поведение — избегание партнера (убегание), защитная стойка (при угрозе или атаке чужака), поза подчинения «на спине». Индивидуальное, то есть не связанное с партнером поведение, включало в себя локомоцию, обнюхивание, движение на месте, аутогруминг, аутостойки (вертикальные стойки), фризинг, покой.

Приподнятый крестообразный лабиринт. Приподнятый крестообразный лабиринт состоял из двух открытых рукавов размером 50 × 10 см и двух закрытых рукавов размером 50 × 10 см с открытым верхом, расположенных перпендикулярно относительно друг друга. Высота над полом — 1 м. Животное помещали в центр лабиринта. Путем нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, фиксировали время пребывания в закрытых и открытых рукавах, время свешивания в открытых рукавах и выглядывания из закрытых рукавов. Продолжительность теста составляла 5 минут.

Тревожно-фобическое состояние (ТФС). У крыс исследовали ТФС с помощью многопараметрового метода оценки, в основу которого положена ранжированная шкала, в состав которой входят

параметры, характеризующие видоспецифические реакции животного на серию этологически адекватных тест-стимулов, провоцирующих проявление состояний тревожности и страха [3]. Сумма баллов отдельно по каждому тесту суммировалась, затем проводилось сравнение между группами животных. Приведем более подробно шкалу для оценки в баллах ТФС у крыс.

1. Латентный период t (с) спуска с высоты:

- 0 — $0 \leq t \leq 30$;
- 1 — $30 \leq t \leq 60$;
- 2 — $60 \leq t \leq 180$;
- 3 — не спускается за 180 с.

2. Латентный период t (с) прохождения через отверстие:

- 0 — $0 \leq t \leq 30$;
- 1 — $30 \leq t \leq 60$;
- 2 — $60 \leq t \leq 180$;
- 3 — не проходит за 180 с.

3. Латентный период t (с) выхода из домика:

- 0 — $0 \leq t \leq 15$;
- 1 — $15 \leq t \leq 30$;
- 2 — $30 \leq t \leq 180$;
- 3 — не выходит за 180 с.

4. Латентный период t (с) выхода из центра «открытого поля»:

- 0 — $0 \leq t \leq 15$;
- 1 — $15 \leq t \leq 30$;
- 2 — $30 \leq t \leq 60$;
- 3 — не выходит за 60 с.

5. Пячение-1 (в обстановке «открытого поля» спонтанно или при резкой смене освещенности):

- 0 — отсутствует;
- 1 — 0–0,5 квадрата;
- 2 — 0,5–2 квадрата;
- 3 — более 2 квадратов.

6. Пячение-2 (на действие руки экспериментатора):

- 0 — отсутствует при поглаживании и приближении руки;
- 1 — возникает при поглаживании;
- 2 — возникает при приближении руки;
- 3 — сохраняется после приближения действия раздражителя.

7. Затаивание:

- 0 — отсутствует при поглаживании и приближении руки;
- 1 — возникает при поглаживании;
- 2 — возникает при приближении руки;
- 3 — сохраняется после приближения действия раздражителя.

8. Вокализация:

0 — отсутствует при поглаживании и приближении руки;

1 — возникает при поглаживании;

2 — возникает при приближении руки;

3 — сохраняется после приближения действия раздражителя.

9. Прижатие ушей:

0 — отсутствует при поглаживании и приближении руки;

1 — возникает при поглаживании;

2 — возникает при приближении руки;

3 — сохраняется после приближения действия раздражителя.

Если при обследовании у животного наблюдались спонтанные реакции в тестах 7, 8 и 9, то за проявление каждой из них к оценке добавляли дополнительно 3 балла; если в тестах 2 и 3 наблюдали незаконченное действие, то за его проявление к оценке добавляли дополнительно 0,5 балла.

«Открытое поле» представляло собой округлую площадку диаметром 80 см, ограниченную непрозрачными бортами высотой 30 см. По всей площади «открытого поля» равномерно располагались 16 отверстий («норок») диаметром 3 см каждое. Животное помещали в центр поля и в течение трех минут регистрировали последовательность всех поведенческих актов, демонстрируемых животным, путем нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером. Идентификацию отдельных поведенческих единиц (актов, состояний), выделяемых для регистрации этограмм в «открытом поле», проводили на основании классификации индивидуального поведения, в котором различают акты, ориентированные: а) на окружающие предметы (локомоция с принюхиванием, подъемы на задние лапы — свободные и пристеночные, заглядывание в отверстия); б) поведение, ориентированное к собственному телу — груминг; в) индивидуальное поведение, не ориентированное на физическое

окружение, — статичные формы поведения, когда животное сидит, лежит, либо динамичные — в виде целенаправленных прыжков или неориентированных пробежек. Данная классификация была принята за основу в проведенных нами исследованиях. Целостное поведение в «открытом поле» включало в себя следующие дискретные акты: локомоцию, обнюхивание, движение на месте, вертикальную стойку, стойку с упором на стенку, груминг, заглядывание в норку, фризинг, покой.

Статистическая обработка полученных материалов. Для статистической обработки полученных количественных данных применяли пакеты программ GraphPad Prizm v. 5 и SPSS SigmaStat 3.0. Для оценки соответствия распределений случайных величин гауссовым применяли критерий нормальности Колмогорова–Смирнова. Для сравнения контрольных и экспериментальных групп использовали непараметрический критерий Вилкоксона для парных сравнений и метод однофакторного дисперсионного анализа с последующими множественными межгрупповыми сравнениями по критерию Ньюмана–Кейлса. Данные представлены в виде «среднее арифметическое \pm среднеквадратичное отклонение».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В «открытом поле» у крыс, выращенных в изоляции, после введения физиологического раствора отмечен более высокий уровень как горизонтальной (число пересеченных квадратов), так и вертикальной двигательной активности (стойки на задних лапах) по сравнению с контрольными животными, выращенными в сообществе ($p \leq 0,05$). При этом достоверно увеличивалось число паттернов, связанных с проявлением тревожности, в частности «движение на месте» и «фризинг» ($p \leq 0,05$). В то же время более чем в 3 раза снижались показатели комфортности в поведении, число паттернов «сидит» и «груминг» (табл. 1).

■ Таблица 1. Действие астрессина на поведение (число актов) в «открытом поле» у крыс, выращенных в изоляции

Паттерны	Сообщество + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + астрессин
Локомоция	12,0 \pm 4,1	12,6 \pm 4,1	12,6 \pm 7,2
Обнюхивание	42,4 \pm 7,2	44,1 \pm 7,7	44,7 \pm 14,5
Движение на месте	26,0 \pm 3,4	30,9 \pm 6,1*	29,4 \pm 6,1
Груминг	3,1 \pm 1,4	0,6 \pm 0,5**	1,9 \pm 1,5#
Стойки с упором	3,9 \pm 1,9	2,4 \pm 2,1	3,6 \pm 3,2
Вертикальные стойки	1,3 \pm 1,2	4,7 \pm 2,9*	1,3 \pm 1,0#
Исследование норок	7,4 \pm 3,3	7,6 \pm 3,2	9,7 \pm 6,0
Фризинг	0,9 \pm 0,6	1,6 \pm 0,7*	1,0 \pm 0,8
Сидение	1,9 \pm 1,5	0,6 \pm 0,5*	0,9 \pm 0,8
Количество актов	98,8 \pm 18,5	105,0 \pm 18,1	105,0 \pm 31,5
Количество пересеченных квадратов	24,9 \pm 6,4	36,3 \pm 11,9*	26,9 \pm 10,5
Количество болюсов	5,5 \pm 1,5	5,0 \pm 1,9	1,1 \pm 0,6##

Примечание: * по отношению к группе сообщества; # по отношению к группе крыс-изолянтов, получавших 0,9 % раствор NaCl; *, # $p \leq 0,05$; **, ## $p \leq 0,01$

■ Таблица 2. Действие астрессина на тревожно-фобические состояния (баллы) у крыс, выращенных в изоляции

Тесты	Сообщество + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + астрессин
Тест 1 (спуск с платформы)	1,13 ± 1,07	1,43 ± 1,12	1,00 ± 0,85
Тест 2 (проход через отверстие)	0,44 ± 0,42	0,64 ± 0,63	0,64 ± 0,62
Тест 3 (выход из «домика»)	2,81 ± 0,48	3,36 ± 0,18*	3,07 ± 0,39
Тест 4 (выход из центра «открытого поля»)	0,25 ± 0,22	0,14 ± 0,13	0,29 ± 0,26
Тест 5 (пячение в «открытом поле»)	0,38 ± 0,35	0*	0,14 ± 0,13
Тест 6 (пячение на действие руки)	0,13 ± 0,12	0,71 ± 0,55*	0,43 ± 0,39
Тест 7 (затаивание)	0,13 ± 0,12	0,71 ± 0,55*	0,14 ± 0,13#
Тест 8 (вокализация)	0,50 ± 0,37	1,14 ± 0,51*	0,85 ± 0,27
Тест 9 (прижатие ушей)	0	0,57 ± 0,56*	0#
Сумма баллов	5,75 ± 1,16	8,71 ± 1,48**	6,57 ± 1,69#

Примечание: * по отношению к группе сообщества; # по отношению к группе крыс-изолянтов, получавших 0,9 % раствор NaCl; *, # $p \leq 0,05$; **, ## $p \leq 0,01$

■ Таблица 3. Действие астрессина на поведение в приподнятом крестообразном лабиринте (число актов) у крыс, выращенных в изоляции

Показатель	Сообщество + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + астрессин
Центр	16,9 ± 10,4	131,6 ± 77,6**	40,6 ± 49,6#
Открытый рукав	29,7 ± 21,9	18,8 ± 18,5	22,8 ± 21,9
Свешивание	5,8 ± 4,9	6,2 ± 5,6	7,5 ± 6,7
Открытый рукав + свешивание	35,4 ± 33,5	24,9 ± 24,8	30,4 ± 29,5
Закрытый рукав	164,5 ± 65,8	106,6 ± 91,9	178,1 ± 107,1
Выглядывание	52,6 ± 31,5	36,9 ± 29,3	50,9 ± 47,2
Закрытый рукав + выглядывание	217,1 ± 68,3	143,5 ± 87,6	228,9 ± 78,5#
Сумма актов	22,4 ± 5,9	13,7 ± 7,3**	12,9 ± 12,1
Болюсы	2,5 ± 0,8	0,2 ± 0,1	0

Примечание: * по отношению к группе сообщества; # по отношению к группе крыс-изолянтов, получавших 0,9 % раствор NaCl; *, # $p \leq 0,05$; **, ## $p \leq 0,01$

После введения астрессина у животных, выращенных в изоляции, в тесте «открытое поле» отмечено снижение вертикальной двигательной активности (стойки на задних лапах) по сравнению с животными-изолянтами с введением физиологического раствора ($p \leq 0,05$) до уровня животных, выращенных в сообществе. При этом в 4 раза снижались показатели, связанные с проявлением негативной эмоциональности, в частности число болюсов дефекаций ($p \leq 0,01$). Вместе с тем повышались показатели комфортности в поведении — число паттернов «груминг» ($p \leq 0,05$).

Оценка ТФС выявила по сумме 9 тестов (в 6 тестах из 9 отмечали достоверные различия по группам крыс) более высокий уровень тревожности и страха у крыс, выращенных в изоляции, чем у животных, выращенных в сообществе (табл. 2). Интраназальное введение астрессина достоверно снижало уровень тревожности и страха в данной системе оценки ТФС у крыс, выращенных в изоляции, по сравнению с таковыми с введением физиологического раствора ($p \leq 0,05$). Особенно значимыми оказались тесты 7 (затаивание: 0 — отсутствует при поглаживании

и приближении руки; 1 — возникает при поглаживании; 2 — возникает при приближении руки; 3 — сохраняется после приближения действия раздражителя) и 9 (прижатие ушей: 0 — отсутствует при поглаживании и приближении руки; 1 — возникает при поглаживании; 2 — возникает при приближении руки; 3 — сохраняется после приближения действия раздражителя).

Исследование поведения в приподнятом крестообразном лабиринте выявило более высокий уровень тревожности у крыс, выращенных в изоляции (табл. 3). Данный вывод основывается на 9-кратном увеличении времени пребывания крыс, выращенных в изоляции, в центре лабиринта, непосредственно у выхода из закрытых рукавов, по сравнению с животными, выращенными в сообществе ($p \leq 0,01$). При этом время, проведенное в открытых рукавах, лишь имеет тенденцию к снижению. После интраназального введения астрессина у животных, выращенных в изоляции, снижалась тревожность и увеличивался уровень исследовательского поведения по сравнению с животными, выращенными в изоляции с введением физиологического раствора.

■ Таблица 4. Действие астрессина на поведение в тесте «чужак – резидент» (число актов) у крыс, выращенных в изоляции

Показатель	Интактные + 0,9 % раствор NaCl	Интактные + астрессин	Изолянты + 0,9 % раствор NaCl	Изолянты + астрессин
Агрессия	2,1 ± 1,8	2,2 ± 1,1	7,5 ± 3,7*	8,9 ± 5,7#
Коммуникация	34,7 ± 7,9	32,5 ± 10,2	52,1 ± 4,9**	32,0 ± 9,2##
Защита	3,6 ± 1,6	2,0 ± 1,0	3,0 ± 2,4	2,0 ± 1,9
Индивидуальное поведение	43,1 ± 4,8	35,8 ± 9,6	51,1 ± 2,8**	48,0 ± 4,2
Сумма актов	83,6 ± 9,1	72,7 ± 16,9	113,8 ± 5,9**	90,7 ± 13,7##

Примечание: * различия между группой «интактные» и группой «изолянты + 0,9 % раствор NaCl»; # различия между группой «изолянты + 0,9 % раствор NaCl» и группой «изолянты + астрессин»; *, # $p \leq 0,05$; **, ## $p \leq 0,01$

В частности, более чем в 3 раза снизилось время, проведенное в центре лабиринта ($p \leq 0,05$), и достоверно увеличилось число выглядываний из закрытого рукава лабиринта ($p \leq 0,05$).

При исследовании внутривидового взаимодействия в тесте «чужак – резидент» наблюдали изменение соотношения доли агрессивного, защитного, коммуникативного и индивидуального поведения в общей структуре активности животного после выращивания в условиях социальной изоляции и введения астрессина (табл. 4). Крысы, выращенные в изоляции, демонстрировали повышенный уровень агрессии и коммуникативности по сравнению с животными, выращенными в сообществе. После введения астрессина у крыс, выращенных в изоляции, наблюдали увеличение уровня агрессии и снижение коммуникативности по сравнению с интактными животными, выращенными в изоляции.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Функциональная пластичность механизма отрицательных эмоций, лежащего в основе стресс-зависимых форм поведения, является фундаментальным свойством центральной нервной системы, обеспечивающим индивидуальную адаптацию [2, 12]. Для формирования структурно-функциональных взаимоотношений центральных систем обеспечения эмоционального поведения необходимы определенный уровень и качество афферентных поступлений в процессе развития мозга в онтогенезе [9, 13]. Как показано в настоящей работе, у крыс, выращенных в изоляции, наблюдается более высокий уровень двигательной активности при исследовании поведения в тесте «открытое поле». Оценка ТФС, а также исследование поведения в приподнятом крестообразном лабиринте выявили более высокий уровень тревожности и страха у крыс, выращенных в изоляции, по сравнению с животными, выращенными в сообществе. В то же время при исследовании внутривидового поведения в тесте «чужак – резидент» у крыс, выращенных в изоляции, наблюдали повышенный уровень агрессии и коммуникативности по сравнению с животными, выращенными в сообществе. Это согласуется с данными литературы. В систематических исследованиях

ряда лабораторий на грызунах, хищных, приматах установлено, что полная внутривидовая изоляция, а также формы частичной внутривидовой изоляции существенно нарушают эмоциональные реакции животных, проявляя повышенную тревожность и выявляя высокий уровень агрессивности [11, 14, 27]. В то же время исследований фобических состояний у крыс, выращенных в изоляции, в доступной литературе обнаружено не было. Социальная изоляция детенышей от матери и сверстников приводит также к повышению двигательной активности [15, 31].

Система кортиколиберина, как было показано в ряде исследований, высокореактивна в ответ на хронические социальные стрессы, такие как социальная изоляция. Животные, подверженные данному типу психосоциального стресса, демонстрируют целый ряд стресс-зависимых, связанных с повышением тревожности, форм поведения, сопровождающихся изменениями компонентов системы кортиколиберина [2, 12, 14].

Как показано в настоящей работе, после однократного интраназального введения астрессина у животных, выращенных в изоляции, значительно снижался уровень тревожности и страха. При этом после введения астрессина у крыс, выращенных в изоляции, наблюдали увеличение уровня агрессии и снижение коммуникативности по сравнению с интактными животными, выращенными в изоляции. Настоящее исследование действия астрессина, неселективного антагониста рецепторов CRF у животных, выращенных в изоляции, с точки зрения анализа тревожности в целом соответствует данным литературы. В частности, исследования нашей лаборатории ранее продемонстрировали снижение уровня тревожности и страха у крыс, выращенных в изоляции, после интраназального введения астрессина [1]. Других данных о действии астрессина на эмоциональное и исследовательское поведение у животных, выращенных в изоляции, в доступной литературе не имеется. В работах показана роль других антагонистов CRF-рецепторов в контроле уровня тревожности у животных, выращенных в изоляции [30]. Периферическое и центральное введение CRF1 антагонистов снижало у этих животных уровень тревожности [18]. Центральное введение и внутривидовое введение в дорзальное ядро шва CRF2 антагонистов снижали тревож-

ность у животных, выращенных в изоляции [16]. В частности, на 62-й день постнатального периода крысам вводили антагонист CRF1 анталармин или антагонист CRF2 антисаваугин-30 в дорзальное ядро шва и тестировали в приподнятом крестообразном лабиринте. При этом блокада R2 рецепторов CRF в дорзальном ядре шва снижала исходно высокий уровень тревожности крыс, выращенных в изоляции, в приподнятом крестообразном лабиринте [16]. У крыс, выращенных в изоляции, наблюдали повышение чувствительности R2 рецепторов CRF в дорзальном ядре шва и снижение выброса серотонина в ответ на введение CRF в прилежащее ядро [21]. У крыс, которых каждый день в ювенильном периоде развития отсаживали в одиночные клетки, также повышались концентрации мРНК CRF в паравентрикулярном ядре гипоталамуса и в центральном ядре миндалины [22]. Что касается самого астрессина, было показано, что этот пептид, подобно другим антагонистам рецепторов CRF, таким как D-PheCRF и alpha-helicalCRF, снижает уровень тревожности после проведения теста «интродер – резидент» (социальный стресс). Эти эффекты вызывал как астрессин, так и другие антагонисты рецепторов CRF и после внутривентрикулярного введения непосредственно самого CRF [29].

Полученные в настоящей работе данные о повышении уровня агрессии и снижении коммуникативности у крыс, выращенных в изоляции, после введения астрессина, казалось бы, не укладываются в общую концепцию действия антагонистов CRF. В то же время снижение тревожности и страха после введения астрессина может вызывать (особенно у самцов) активацию территориального поведения и доминирования. В частности, показано повышение потребления высококалорийной пищи у подчиненных макак-резусов после введения астрессина [25].

В наших исследованиях высокий уровень агрессии, тревожности и страха демонстрировали животные, выращенные в изоляции. Как было отмечено, в результате социальной изоляции в онтогенезе у грызунов развивается так называемый «синдром социальной изоляции», который выражается в повышении гиперактивности и реактивности подкрепляющих систем мозга, что лежит в основе аддиктивного поведения и формирования (алкогольной, наркотической и др.) зависимости и патологического влечения к аддиктивным средствам. При этом наблюдаются эффекты активации системы отрицательных эмоций, повышенной агрессивности в сочетании с высоким уровнем депрессивности [12, 14]. Активация системы отрицательного подкрепления непосредственно связана с состоянием организма, которое наблюдается при абстинентном синдроме. Мозговым субстратом синдрома отмены («темная сторона» наркомании по Дж. Кообу, 2008) служат элементы системы расширенной миндалины и стресс-зависимые системы головного мозга,

включая системы с участием CRF и норадреналина. Изменения, сопровождающиеся снижением функции награды при синдроме отмены, в дальнейшем сохраняются в форме состояния облегчения, или успокоения [19], которое способствует формированию высокого уровня мотивационного возбуждения для повторного употребления наркотиков. В качестве морфологического субстрата негативных эффектов в отношении награды, то есть системы «антинаграды», можно представить систему структур расширенной миндалины [5, 6, 10]. Расширенная миндалина состоит из ядра ложа конечной полоски, центрального ядра миндалины, медиальной зоны прилежащего ядра (раковина прилежащего ядра) и безымянной субстанции. У каждой из этих областей есть как общие черты, так и индивидуальные цитоархитектонические особенности [4, 7, 8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе показано, что в тесте «чужак – резидент» у крыс, выращенных в изоляции, наблюдается повышенный уровень агрессии и коммуникативности по сравнению с животными, выращенными в сообществе. В тесте «открытое поле» у крыс, выращенных в изоляции, отмечается более высокий уровень двигательной активности по сравнению с контрольными животными. Оценка ТФС, а также исследование поведения в приподнятом крестообразном лабиринте выявили более высокие уровни тревожности и страха у крыс, выращенных в изоляции. После интраназального введения астрессина (20 мкг в 20 мкл) у животных, выращенных в изоляции, достоверно снижались уровни тревожности и страха, но повышался уровень агрессии. В работе впервые показан проагрессивный эффект неселективного антагониста рецепторов CRF астрессина после стресса социальной изоляции. Результаты доказывают необходимость учета кортиколибериновых механизмов в формировании синдрома социальной изоляции и возможности использования антагонистов рецепторов CRF для управления центральными механизмами стресса и зависимости в онтогенезе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев А.А., Пшеничная А.Г., Бычков Е.Р., и др. Антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14. – № 4. – С. 24–31. [Lebedev AA, Pshenichnaya AG, Bychkov ER, et al. Antagonist receptors of corticotropin releasing hormone releasing factor (CRF) alleviates anxiety and phobic states in rats housed in social isolation. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug*

- Therapy*. 2016;14(4):24-31. (In Russ.). doi: 10.17816/RCF14424-31.
2. Маслова Л.Н., Булыгина В.В., Амстиславская Т.Г. Длительная социальная изоляция и социальная нестабильность в подростковом возрасте у крыс: непосредственные и отдаленные физиологические и поведенческие эффекты // Журнал высшей нервной деятельности. – 2009. – Т. 59. – № 5. – С. 598–609. [Maslova LN, Bulygina VV, Amstislavskaya TG. Chronic social isolation and social instability in pubertate period in rats: direct and delayed physiological and behavioral effects. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatelnosti*. 2009;59(5):598-609. (In Russ.)]
 3. Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н., и др. Многопараметровый метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс // Журнал высшей нервной деятельности. – 1993. – Т. 43. – № 5. – С. 1006–1010. [Rodina VI, Krupina NA, Kryzhanovskii GN, et al. Multiparameter method of complex assessment of anxiety and fobial states in rats. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatelnosti*. 1993;43(5):1006-1010. (In Russ.)]
 4. Шабанов П.Д. Наркология. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 856 с. [Shabanov PD. *Narcology*. 2nd ed. Moscow: Geotar-Media; 2012. 856 p. (In Russ.)]
 5. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Структурно-функциональная организация системы расширенной миндалины и ее роль в подкреплении // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2007. – Т. 5. – № 1. – С. 2–16. [Shabanov PD, Lebedev AA. Structural and functional organization of the extended amygdala system and its role in reinforcement. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2007;5(1):2-16. (In Russ.)]
 6. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Угнетение самостимуляции латерального гипоталамуса опиатами и опиоидами, вводимыми в центральное ядро миндалины у крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 2. – С. 180–188. [Shabanov PD, Lebedev AA. Inhibition of self-stimulation of the lateral hypothalamus by opiates and opioids administered into the central amygdalar nucleus in rats. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2011;97(2):180-188. (In Russ.)]
 7. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Участие ГАМК- и дофаминергических механизмов ядра ложа конечной полоски в подкрепляющих эффектах психотропных средств, реализуемых через латеральный гипоталамус // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 8. – С. 804–813. [Shabanov PD, Lebedev AA. Participation of GABA- and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of stria terminalis in reinforcing effects of psychotropic drugs realized via the lateral hypothalamus. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2011;97(8):804-813. (In Russ.)]
 8. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Воеводин Е.Е., Стрельцов В.Ф. Блокада рецепторов кортиколиберина в миндалине астрессинном устраняет подкрепляющие эффекты фенамина, морфина и лей-энкефалина на самостимуляцию мозга // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69. – № 3. – С. 14–18. [Shabanov PD, Lebedev AA, Voevodin EE, Streltsov VF. Blockade of corticoliberine receptors by asressine in the amygdala abolishes reinforcing effects of amphetamine, morphine and leu-enkephaline on the brain self-stimulation. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2006;69(3):14-18. (In Russ.)]
 9. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Ноздрачев А.Д. Экстрагипоталамические рецепторы кортиколиберина регулируют подкрепляющие эффекты самостимуляции // Доклады Академии наук. – 2006. – Т. 406. – № 3. – С. 411–415. [Shabanov PD, Lebedev AA, Nozdrachev AD. Extrahypothalamic receptors of corticoliberin regulates reinforcing effects of self-stimulation. *Doklady Akademii nauk*. 2006;406(3):411-415. (In Russ.)]
 10. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Павленко В.П. Влияние пептидов, вводимых в центральное ядро миндалины, на самостимуляцию латерального гипоталамуса у крыс при хронической алкоголизации // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69. – № 5. – С. 44–49. [Shabanov PD, Lebedev AA, Pavlenko VP. Effect of peptides administered in the central amygdalar nucleus on self-stimulation of the lateral hypothalamus in chronic alcoholization. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2006;69(5):44-49. (In Russ.)]
 11. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Русановский В.В., Стрельцов В.Ф. Поведенческие эффекты кортиколиберина и его аналогов, вводимых в желудочки мозга крыс // Медицинский академический журнал. – 2005. – Т. 5. – № 3. – С. 59–67. [Shabanov PD, Lebedev AA, Rusanovskii VV. Behavioral effects of corticoliberin and its analogues administered into brain ventriculi. *Meditinskii akademicheskii zhurnal*. 2005;5(3):59-67. (In Russ.)]
 12. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Стрельцов В.Ф. Гормональные механизмы подкрепления. – СПб.: Элби-СПб, 2008. – 278 с. [Shabanov PD, Lebedev AA, Strel'tsov VF. *Hormonal mechanisms of reinforcement*. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2008. 278 p. (In Russ.)]
 13. Шабанов П.Д., Мещеров Ш.К., Лебедев А.А. Синдром социальной изоляции. – СПб.: Элби-СПб, 2004. – 208 с. [Shabanov PD, Meshcheroov SK, Lebedev AA. *Syndrome of social isolation*. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2004. 208 p. (In Russ.)]
 14. Шабанов П.Д., Русановский В.В., Лебедев А.А. Зоосоциальное поведение млекопитающих. – СПб., 2006. – 202 с. [Shabanov PD, Rusanovskii VV, Lebedev AA. *Zoosocial behavior of mammals*. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2006. 202 p. (In Russ.)]
 15. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Ноздрачев А.Д. Синдром социальной изоляции у крыс // Доклады Академии наук. – 2004. – Т. 395. – № 1. – С. 135–138. [Shabanov PD, Lebedev AA, Nozdrachev AD. Syndrome of social isolation. *Doklady Akademii nauk*. 2004;395(1):135-138. (In Russ.)]
 16. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Якушина Н.Д., и др. Влияние фенамина на поведенческие компоненты обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения в тесте закапывания шариков у крыс // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной тера-

- лии. – 2016. – Т. 14. – № 3. – С. 46–52. [Shabanov PD, Lebedev AA, Yakushina ND, et al. Effect of amphetamine on behavioral components of obsessive-compulsive and addictive playing behavior in a marble test. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2016;14(3):46-52. (In Russ.)]. doi: 10.17816/RCF14346-52.
17. Amiri S, Haj-Mirzaian A, Rahimi-Balaei M, et al. Cooccurrence of anxiety and depressive-like behaviors following adolescent social isolation in male mice; possible role of nitroergic system. *Physiol Behav*. 2015;145:38-44. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.03.032.
 18. Bledsoe AC, Oliver KM, Scholl JL, Forster GL. Anxiety states induced by post-weaning social isolation are mediated by CRF receptors in the dorsal raphe nucleus. *Brain Res Bull*. 2011;85:33-44. doi: 10.1016/j.brainresbull.2011.03.003.
 19. Bruijnzeel AW, Gold MS. The role of corticotropin-releasing factor-like peptides in cannabis, nicotine, and alcohol dependence. *Brain Res Rev*. 2005;49(3):505-28. doi: 10.1016/j.brainresrev.2005.01.007.
 20. Djouma E, Card K, Lodge DJ, Lawrence AJ. The CRF1 receptor antagonist, antalarmin, reverses isolation-induced up-regulation of dopamine D2 receptors in the amygdala and nucleus accumbens of fawn-hooded rats. *Eur J Neurosci*. 2006;23(12):3319-27. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04864.x.
 21. Koob GF. Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, anti-reward and emotional memory. *Pharmacopsychiatry*. 2009;42(10):32-41. doi: 10.1055/s-0029-1216356.
 22. Krupina NA, Khlebnikova NN, Orlova IN. Early social isolation increases aggression and impairs a short-term habituation in acoustic startle reflex in rats. *Patol Fiziol Eksp Ter*. 2015;59(4):4-15.
 23. Lukkes J, Vuong S, Scholl J, et al. Corticotropin-releasing factor receptor antagonism within the dorsal raphe nucleus reduces social anxiety-like behavior after early-life social isolation. *J Neurosci*. 2009;29(32):9955-9960. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0854-09.2009.
 24. McCormick CM, Merrick A, Secen J, Helmreich DL. Social instability in adolescence alters the central and peripheral hypothalamic-pituitary-adrenal responses to a repeated homotypic stressor in male and female rats. *J Neuroendocrinol*. 2007;19(2):116-126. doi: 10.1111/j.1365-2826.2006.01515.x.
 25. Michopoulos V, Loucks T, Berga SL, et al. Increased ghrelin sensitivity and calorie consumption in subordinate monkeys is affected by short-term stressor administration. *Endocrine*. 2010 October;38(2):227-234. doi: 10.1007/s12020-010-9378-5.
 26. Perelló M, Chacon F, Cardinali DP, Esquifino AI. Effect of social isolation on 24-h pattern of stress hormones and leptin in rats. *Life Sci*. 2006;78(16):1857-1862. doi: 10.1016/j.lfs.2005.08.029.
 27. Robbins TW. Neurobehavioural sequelae of social deprivation in rodents revisited: Modelling social adversity for developmental neuropsychiatric disorders. *J Psychopharmacol*. 2016;30(11):1082-1089. doi: 10.1177/0269881116664450.
 28. Rybnikova EA, Pelto-Huikko M, Rakitskaya VV, Shalyapina VG. Localization of corticotropin receptors in the rat brain. *Neurosci Behav Physiol*. 2003;33(4):399-404. doi: 10.1023/A:1022807926406.
 29. Sargin D, Oliver DK, Lambe EK. Chronic social isolation reduces 5-HT neuronal activity via upregulated SK3 calcium-activated potassium channels. *Elife*. 2016;22:214-16. doi: 10.7554/eLife.21416.
 30. Spiess J, Villarreal J, Vale W. Isolation and sequence analysis of a somatostatin-like polypeptide from ovine hypothalamus. *Biochemistry*. 1981;20(7):1982-1988. doi: 10.1021/bi00510a038.
 31. Spina MG, Basso AM, Zorrilla EP, et al. Behavioral effects of central administration of the novel CRF antagonist astressin in rats. *Neuropsychopharmacology*. 2000;3:230-9. doi: 10.1016/S0893-133X(99)00108-6.
 32. Takahashi LK. Role of CRF1 and CRF2 receptors in fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001;25:627-636. doi: 10.1016/S0149-7634(01)00046-X.
 33. Tissen IY, Vinogradov PM, Khokhlov PP, et al. Orexin receptor type 1 (OX1R) are involved in the formation and reinstatement of conditioned place preference. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015;25 (Suppl2):269-270. doi: 10.1016/S0924-977X(15)30313-8.
 34. Uys M, Shahid M, Sallinen J, et al. The $\alpha 2C$ -adrenoceptor antagonist, ORM-10921, has antipsychotic-like effects in socially isolated reared rats and bolsters the response to haloperidol. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016;71:108-116. doi: 10.1016/j.pnpbp.2016.07.002.

◆ 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.

Анна Геннадиевна Пшеничная — научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

◆ Information about the authors

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

Anna G. Pshenichnaya — Researcher, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru

◆ Информация об авторах

Наталья Дмитриевна Якушина — аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru

Евгений Рудольфович Бычков — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник 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

Natalia D. Yakushina — Post-graduate Student, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru

Eugenii R. Bychkov — PhD (Biochemistry), Leading Researcher, S.V. Anichkov Dept. 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 Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.