

ГРЕЛИНОВАЯ СИСТЕМА МОЗГА УЧАСТВУЕТ В КОНТРОЛЕ ЭМОЦИОНАЛЬНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

УДК 616.092.9

DOI: 10.17816/RCF15438-45

© П.Д. Шабанов^{1,2}, П.М. Виноградов¹, А.А. Лебедев^{1,2}, Р.О.Роик^{1,2},
В.И. Морозов¹

¹ФГБН «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

²ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Для цитирования: Шабанов П.Д., Виноградов П.М., Лебедев А.А., и др. Грелиновая система мозга участвует в контроле эмоционально-исследовательского поведения и двигательной активности крыс, выращенных в условиях стресса социальной изоляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 38–45. doi: 10.17816/RCF15438-45

Поступила в редакцию 04.10.2017

Принята к печати 01.12.2017

Ключевые слова:

грелин; антагонист грелина; социальная изоляция; подкрепляющие эффекты; условная реакция предпочтения места; эмоциональное поведение; двигательная активность; крысы.

Резюме

Крысы линии «Вистар» выращивали в условиях социальной изоляции от сородичей с 20-го дня жизни до половозрелости (90–100 дней). У взрослых животных вырабатывали условную реакцию предпочтения места (УРПМ) этанола (0,5 г/кг) и исследовали поведение в «открытом поле», приподнятом крестообразном лабиринте и тесте «чужак – резидент». Интраназальное введение антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 (10 мкг в 20 мкл) крысам, выращенным в условиях социальной изоляции,

блокировало формирование и возобновление УРПМ этанола, что подтверждает участие системы грелина в регуляции положительного подкрепления, активируемого этанолом. Интраназальное введение грелина (20 мкг в 20 мкл) у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, вызывало типичный анксиогенный эффект, повышение исследовательской активности, проявления агрессии и снижение коммуникативного поведения. У крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 оказывал анксиолитическое действие, снижал исследовательскую активность, коммуникативное поведение и проявления агрессии. Сделан вывод об участии грелиновой системы мозга в контроле эмоционально-исследовательского поведения и двигательной активности крыс, выращенных в условиях стресса социальной изоляции.

GHRELIN SYSTEM OF THE BRAIN PARTICIPATES IN CONTROL OF EMOTIONAL, EXPLORATIVE BEHAVIOR AND MOTOR ACTIVITY IN RATS REARING IN CONDITIONS OF SOCIAL ISOLATION STRESS

© P.D. Shabanov^{1,2}, P.M. Vinogradov¹, A.A. Lebedev^{1,2}, R.O. Roik^{1,2}, V.I. Morozov¹

¹Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

²S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Shabanov PD, Vinogradov PM, Lebedev AA, et al. Ghrelin system of the brain participates in control of emotional, explorative behavior and motor activity in rats rearing in conditions of social isolation stress. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(4):38-45. doi: 10.17816/RCF15438-45

Received: 04.10.2017

Accepted: 01.12.2017

◆ **Keywords:** ghrelin; ghrelin antagonist; social isolation; reinforcing effects; conditioned place preference; emotional behavior; motor activity; rats.

◆ **Abstract.** Wistar rats were rearing in conditions of social isolation from others beginning with 20th day of life till adulthood (90-100 days). In adult rats, a conditioned place preference (CPP) of ethanol (0.5 g/kg ip) was trained, and behavior in open field, elevated plus maze and intruder-resident test was examined. Intrana-

sal administration of [D-Lys³]-GHRP-6, a peptide ghrelin antagonist (10 µg in 20 µl), to isolated rats blocked formation and expression (recovery) of CPP of ethanol that supported participation of ghrelin system in regulation of positive reinforcement activated by ethanol. Intranasal administration of ghrelin (20 µg in 20 µl) to rats reared in conditions of social isolation produced a typical anxiogenic effect, elevated exploratory activity, aggression signs and reduction of communicative behavior. In rats reared in conditions of social isolation, [D-Lys³]-

GHRP-6, a ghrelin antagonist, possessed anxiolytic effect, reduced explorative activity, communicative behavior and aggression. It is concluded that ghrelin system

of the brain participates in control of emotional, explorative behavior and motor activity in rats rearing in conditions of social isolation stress.

В исследованиях последних лет показано, что системное внутрижелудочковое и внутривентрикулярное (в вентральную область покрышки) введение грелина вызывает повышение экстраклеточного дофамина (ДА) в прилежащем ядре, а также увеличивает локомоторную активность животных [9, 17]. С другой стороны, введение антагониста рецептора грелина в вентральную область покрышки блокирует способность грелина увеличивать высвобождение дофамина в прилежащем ядре [17]. Кроме того, продемонстрировано, что повышенный уровень грелина связан с активацией поискового поведения при лекарственной зависимости, в частности поиска психостимулятора кокаина у крыс [2, 10]. Ограничение потребления пищи, вызывающее повышение уровня грелина [12, 14], также увеличивает стимулируемую амфетамином или кокаином локомоторную активность, усиливает поведение поиска кокаина и повышает самовведение кокаина и амфетамина у крыс [10]. Внутрижелудочковое и внутривентрикулярное (в вентральную область покрышки) введение грелина повышает потребление алкоголя у мышей [17]. Структурными мишенями действия грелина и компонентов его системы на мозг рассматриваются структуры расширенной миндалины (центральное ядро миндалины, ядро ложа конечной полоски, прилежащее ядро, безымянная субстанция), стресс-зависимая система головного мозга, опосредующая механизмы подкрепления и зависимости [21]. В подтверждение этих фактов можно привести данные, что периферическое и центральное введение грелина активирует кортиколибериновые нейроны и, как следствие, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [9, 15]. Исследователи подчеркивают, что активация этой системы важна, если грелин играет защитную роль против развития депрессивных симптомов при хроническом стрессе [1, 18, 19]. При этом работ, свидетельствующих о регуляции грелином или компонентами его системы (дезацил-грелином, обестатином) эмоционально-исследовательской и двигательной активности при стрессе социальной изоляции, не проводилось, не совсем ясны механизмы и последствия влияния грелина на системы подкрепления и эмоционального поведения при стрессорных воздействиях.

Целью исследования было изучение участия грелина и пептидного антагониста его рецепторов [D-Lys³]-GHRP-6 в механизмах контроля эмоционально-исследовательского поведения и двигательной активности крыс, выращенных в условиях стресса социальной изоляции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выбор животных. В работе были использованы 112 крыс, самцов и самок линии «Вистар», полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). В каждом опыте крыс разделяли на подгруппы ($n = 8-10$ крыс). Животных содержали в условиях вивария в стандартных пластмассовых клетках при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света (8.00–20.00) при температуре 22 ± 2 °С. Все опыты проведены в осенне-зимний период.

Выращивание животных в условиях социальной изоляции. Из питомника «Рапполово» были получены беременные самки на сроке беременности 15–18 дней, которых содержали в отдельных клетках. На 20-й день после рождения, когда крысята становились способны к самообеспечению, среди них отбирали самцов и рассаживали в индивидуальные клетки, в которых животные содержались в течение всего эксперимента. В изоляции крысы находились до 90–100 дней. Именно такой период постнатального развития считается наиболее значимым для влияния различных воздействий внешней среды на формирование адаптивного поведения у крыс [6, 8]. Индивидуальные клетки размером $40 \times 30 \times 25$ см были сконструированы таким образом, чтобы до минимума свести контакт животного с экспериментатором или служителем вивария при уборке клетки. Животных содержали в отдельном теплом помещении при температуре воздуха $+23$ °С со свободным доступом к корму, воде, дополнительно в питание добавляли сухое молоко, свежую морковь и пшеничную кашу. К началу опыта возраст животных-изолянтов и сгруппированных крыс был одинаковым (90–100 дней). После каждого опыта крыс-изолянтов помещали в индивидуальные клетки.

Условная реакция предпочтения места. Для выработки условной реакции предпочтения места (УРПМ) этанола у крыс использовали двухкамерную установку с гладким и решетчатым полами [2]. Во время выработки УРПМ животных последовательно помещали в две камеры, разделенные перегородкой, на 30 минут с интервалом между посадками 1 ч в течение 4 дней. В течение 1 ч между посадками крысы содержались в домашней клетке. Перед посадкой в первую камеру крысы получали внутривентрикулярную инъекцию 0,9 % раствора хлорида натрия (физиологического раствора), перед посадкой во вторую камеру животным внутривентрикулярно вводили этанол в дозе 0,5 г/кг. Контрольной группе во второй камере внутривентрикулярно вводили физиологический раствор. Для исключения влияния

текстуры пола на выработку УРПМ этанола животных экспериментальной группы разделяли на две подгруппы. Крыс 1-й подгруппы первоначально помещали в отсек с решетчатым полом, 2-й подгруппы — с гладким полом. Для оценки выработки УРПМ этанола у крыс на 5-й день эксперимента регистрировали время нахождения в отсеках с различной текстурой пола в течение 15 минут в условиях беспрепятственного перемещения крыс в двухкамерной установке. Полученные данные представляли в процентах по времени пребывания в отсеке, ассоциированном с введением алкоголя, к общему времени исследования. В последующих экспериментах использовали животных, которые проводили более 60 % времени в отсеке, ассоциированном с алкоголем. Данные животные на 6-й день эксперимента получали интраназально антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 10 мкг в 20 мкл интраназально. Контрольные животные интраназально получали эквивалентную дозу физиологического раствора. Затем производили угашение УРПМ в течение 7 дней, которое заключалось в ежедневном тестировании УРПМ без введения каких-либо препаратов. На 7-й день угашения УРПМ не регистрировалась. На 14-й день эксперимента после 7 суток угашения УРПМ производили внутрибрюшинное введение этанола и регистрировали реакцию возобновления УРПМ. Части животных вводили антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 10 мкг интраназально за 5 минут до введения этанола для определения возобновления УРПМ.

Исследование поведения крыс в приподнятом крестообразном лабиринте. Поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте исследовали в установке, которая состояла 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, число выглядываний из закрытых рукавов и число перебежек из рукава в рукав. Продолжительность теста составляла 5 минут.

Исследование поведения крыс в тесте «открытое поле». Свободную двигательную активность животных исследовали в тесте «открытое поле», представляющее собой круглую площадку диаметром 80 см, ограниченную по окружности непрозрачными бортами высотой 30 см. По всей площади «открытого поля» равномерно расположены 16 отверстий (норок) диаметром 3 см каждая, предназначенных для выявления видоспецифического компонента исследовательской активности у грызунов (норковый рефлекс). Освещенность «открытого поля» равнялась 100 лк. Продолжительность одного опыта составляла 3 мин. С помощью этографа регистрировали

«локомоцию» (поступательное движение тела в горизонтальной плоскости), «обнюхивание», «вертикальные стойки», «неподвижность», «движение на месте» (изменение координат головы и корпуса в пределах условной окружности, центром которой являются задние конечности животного, координаты которых существенно не меняются), «заглядывание в норку», «стойка на стенку» (вертикальная стойка на задних лапах с упором передними на стенку вольера).

Исследование агрессии в тесте «чужак – резидент». Внутривидовое поведение изучали у половозрелых крыс-самцов в тесте «чужак – резидент» в соответствии с описанием этологического атласа [3]. Подопытное животное — «резидент» в течение 1 ч находилось в клетке размером 20 × 36 × 20 см, после чего к нему на 5 мин подсаживали второе животное — «чужака», крысу-самца заведомо меньших размеров (массой 170–180 г), что создавало условия для зоосоциального доминирования резидента. Регистрировали число поведенческих проявлений агрессивности и защиты, а также общее число поведенческих актов, описывающих взаимоотношение двух особей крыс.

Фармакологические вещества для анализа. В работе были использованы антагонист грелиновых рецепторов D-Lys³-GHRP-6 (cat. No. 1922, Tocris, England), разведенный в дистиллированной воде 0,5 мг/мл, раствор вводили интраназально в дозе 10 мкг в 20 мкл (по 10 мкл в каждую ноздрю), грелин Ghrelin rat (cat. No. 1465 Tocris, England), разведенный в дистиллированной воде 1 мг/мл, вводили интраназально в дозе 20 мкг (по 10 мкл в каждую ноздрю). В качестве контроля вводили 0,9 % раствор NaCl в эквивалентном объеме 20 мкл.

Статистические методы анализа. Оценку статистической достоверности различий проводили при помощи пакета программ SPSS Sigma Stat 3.0. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Из непараметрических критериев применяли критерий Краскела — Уоллиса для сравнения групп. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для представления данных использовали среднеарифметическое значение и ошибку среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс, выращенных в условиях стресса социальной изоляции, изучали УРПМ этанола, вводимого внутрибрюшинно в дозе 0,5 г/кг. Все животные были разделены на несколько подгрупп: 1) крысы, выращенные в сообществе; 2) крысы, выращенные и содержавшиеся в условиях социальной изоляции с 20-го дня жизни; 3) крысы, выращенные и содержавшиеся в условиях социальной изоляции и получавшие интраназально антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 в дозе 10 мкг в 20 мкл.

■ Таблица 1. Влияние антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 на выработку условной реакции предпочтения места этанола у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции

Группа	Время нахождения в камере УРПМ, ассоциированной с этанолом, с	Процент времени нахождения в камере УРПМ, ассоциированной с этанолом
Крысы, выращенные в сообществе, получавшие этанол 0,5 г/кг в/бр	632,1 ± 41,8	70,2 ± 4,6
Крысы, выращенные в сообществе, получавшие физиологический раствор и/наз без введения этанола	540,7 ± 81,0*	60,1 ± 9,0
Крысы, выращенные в сообществе, получавшие антагонист грелина [D-Lys ³]-GHRP-6 и/наз без введения этанола	542,3 ± 79,4*	60,2 ± 8,8
Контрольные крысы, выращенные в изоляции, получавшие этанол в/бр	530,8 ± 85,9*	58,9 ± 9,5
Крысы, выращенные в изоляции и получавшие антагонист грелина [D-Lys ³]-GHRP-6 и/наз + этанол в/бр	462,4 ± 95,8*	51,3 ± 10,6*

Примечание: и/наз — интраназально, в/бр — внутрибрюшинно; УРПМ — условная реакция предпочтения места; **p* < 0,05 относительно животных, выращенных в сообществе

■ Таблица 2. Влияние антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 на возобновление условной реакции предпочтения места этанола после ее угашения у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции

Группа	Время нахождения в камере УРПМ, ассоциированной с этанолом, с	Процент времени нахождения в камере УРПМ, ассоциированной с этанолом
Крысы, выращенные в сообществе, получавшие этанол в/бр	658,5 ± 36,8	73,1 ± 4,0
Крысы, выращенные в изоляции, получавшие этанол в/бр	535,4 ± 103,1	59,4 ± 11,4
Крысы, выращенные в сообществе и получавшие антагонист грелина [D-Lys ³]-GHRP-6 и/наз + этанол в/бр	419,2 ± 102,8*	46,5 ± 11,4
Крысы, выращенные в изоляции, получавшие антагонист рецепторов грелина [D-Lys ³]-GHRP-6 и/наз без этанола	404,0 ± 127,2*	44,8 ± 14,1*

Примечание: и/наз — интраназально, в/бр — внутрибрюшинно; УРПМ — условная реакция предпочтения места; **p* < 0,05 относительно животных, выращенных в сообществе

После выработки УРПМ этанола на 6-й день эксперимента определяли воспроизведение (экспрессию) реакции после введения антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 (табл. 1). Крысы, выращенные в сообществе, проводили в камере УРПМ в среднем 632,1 ± 41,8 с (70,2 % времени эксперимента). У животных-изолянтов время пребывания в камере, ассоциированной с введением этанола, уменьшалось до 530,8 ± 85,9 (58,9 % времени эксперимента). У крыс-изолянтов, получавших интраназально антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6, время пребывания в камере УРПМ, ассоциированной с введением этанола, снизилось до 462,4 ± 95,8 с (51,3 ± 10,6 % времени эксперимента).

После 7 дней угашения УРПМ этанола у животных, выращенных в условиях социальной изоляции, определяли возобновление УРПМ этанола. Тест возобновления реакции предпочтения места введением этанола у животных, выращенных в сообществе, показал стойкость выработки УРПМ. В камере УРПМ они проводили 658,5 ± 36,8 с (73,1 ± 4,0 % времени эксперимента). Время нахождения животных, выращенных и содержавшихся в условиях социальной изоляции, в камере, ассоциированной с введением этанола, не изменилось и составило 535,4 ± 103,1 с (59,4 ± 11,4 % времени экс-

перимента), демонстрируя сохранение УРПМ. Крысы, выращенные и содержавшиеся в условиях социальной изоляции и получавшие антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 интраназально в дозе 10 мкг в 20 мкл, находились в камере, ассоциированной с введением этанола, 404,0 ± 127,2 с (44,8 ± 14,1 % времени эксперимента), демонстрируя ослабление реакции предпочтения места. Следовательно, крысы-изолянты отличаются от сородичей, выращенных в сообществе, меньшей стойкостью к сохранению УРПМ этанола. Антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 действует на крыс из сообщества и крыс-изолянтов сходным образом, нарушая экспрессию (возобновление) выработанной УРПМ этанола после ее угашения (табл. 2).

В приподнятом крестообразном лабиринте оценивали анксиолитическую активность грелина и антагониста грелина [D-Lys³]-GHRP-6. Фиксировали время нахождения в светлом, темном рукавах, число свешиваний, актов груминга и перебежек из одного рукава в другой. Крысы, выращенные в условиях социальной изоляции и получавшие интраназально физиологический раствор (активный контроль), демонстрировали повышение анксиолитических свойств, что проявлялось существенным увеличением времени пребывания в освещенных отсеках

■ Таблица 3. Влияние интраназально вводимого антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 на поведение крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, в приподнятом крестообразном лабиринте

Показатель	Контрольные крысы, получавшие физиологический раствор и/наз		Крысы, получавшие антагонист грелина [D-Lys ³]-GHRP-6 и/наз	
	выращенные в сообществе	выращенные в изоляции	выращенные в сообществе	выращенные в изоляции
Время нахождения в светлом рукаве, с	51,2 ± 20,9	149,8 ± 43,3*	31,1 ± 13,4 [§]	147,4 ± 38,8*
Время нахождения в темном рукаве, с	248,7 ± 21,7	150,1 ± 41,8	268,8 ± 12,4	152,5 ± 33,9
Число свешиваний	6,8 ± 2,3	9,2 ± 1,3*	4,0 ± 1,5*	10,2 ± 1,3
Число перебежек из рукава в рукав	1,8 ± 0,3	1,2 ± 0,2	2,6 ± 1,2	2,7 ± 0,4
Число актов груминга	1,7 ± 1,7	0,0 ± 0,0	3,0 ± 1,6 [§]	1,8 ± 0,6

Примечание: и/наз — интраназально; **p* < 0,05 относительно крыс, выращенных в сообществе, [§]*p* < 0,05 относительно крыс, выращенных в изоляции

■ Таблица 4. Влияние интраназально вводимого грелина на поведение крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, в приподнятом крестообразном лабиринте

Показатель	Контрольные крысы, получавшие физиологический раствор и/наз		Крысы, получавшие грелин и/наз	
	выращенные в сообществе	выращенные в изоляции	выращенные в сообществе	выращенные в изоляции
Время нахождения в светлом рукаве, с	51,2 ± 20,9	149,8 ± 43,3*	68,5 ± 41,5 [§]	110,71 ± 36,64*
Время нахождения в темном рукаве, с	248,7 ± 21,7	150,1 ± 41,8*	231,5 ± 42,3	189,28 ± 36,64*
Число свешиваний	6,8 ± 2,3	9,2 ± 1,3	1,5 ± 0,4* [§]	7,85 ± 1,01
Число перебежек из рукава в рукав	1,8 ± 0,3	1,2 ± 0,2	2,5 ± 0,6* [§]	3,5 ± 0,6* [§]
Число актов груминга	1,7 ± 1,7	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0*	0,00 ± 0,00*

Примечание: и/наз — интраназально; **p* < 0,05 относительно крыс, выращенных в сообществе, [§]*p* < 0,05 относительно крыс, выращенных в изоляции

лабиринта и, соответственно, уменьшением его в темных рукавах лабиринта. Точнее говоря, это время было одинаково и в светлых, и в темных рукавах лабиринта, что указывает на отсутствие у данных крыс-изолянтов страха освещенных пространств (табл. 3).

Животные, выращенные в сообществе и получавшие интраназально антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6 10 мкг в 20 мкл, мало отличались от сородичей, получавших физиологический раствор; у них лишь один показатель (число свешиваний с платформы) был ниже, чем у контрольных крыс из сообщества. Крысы-изолянты, получавшие интраназально антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6, демонстрировали тип поведения, который также был характерен для крыс-изолянтов, получавших физиологический раствор, то есть они практически не дифференцировали светлые и темные рукава лабиринта. Единственно, у них умеренно возрастал показатель груминга, свидетельствующий о повышении комфортности пребывания в лабиринте.

В противоположность действию антагониста грелина [D-Lys³]-GHRP-6, который не менял поведения крыс-изолянтов, грелин (20 мкг в 20 мкл), вводимый интраназально, уменьшал время пребывания в освещенных рукавах лабиринта и увеличивал число перебежек из рукава в рукав, то есть частично нормализовал поведение крыс-изолянтов в сторону, типичную для крыс из сообщества. Вместе с тем по-

казателей сообщества эти животные не достигали (табл. 4).

В «открытом поле» исследовали свободную двигательную активность. Регистрировали несколько простых двигательных актов: вертикальную и горизонтальную активность, груминг, норковый рефлекс. У крыс-изолянтов умеренно снижалась двигательная активность, но возрастало исследовательское поведение (например, показатель заглядывания в норки увеличивался в 3 раза), эмоциональность не менялась. Антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 (10 мкг в 20 мкл), вводимый интраназально крысам из сообщества, умеренно менял их поведение: восстанавливалась горизонтальная двигательная активность, вертикальный ее компонент резко возрастал, хотя число заглядываний в норки не менялось, снижался показатель груминга, но возрастала эмоциональность (число болюсов дефекации). У крыс-изолянтов антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 также умеренно снижал двигательную активность животных с увеличением исследовательского компонента поведения и снижением показателя груминга до нуля, эмоциональность при этом не менялась. Грелин (20 мкг в 20 мкл), вводимый интраназально, активировал двигательное поведение крыс из сообщества и изолянтов, повышал у них исследовательскую активность, но не менял эмоциональность. В отличие от крыс из сообщества грелин резко растормаживал груминговые реакции у крыс-изолянтов.

■ Таблица 5. Влияние интраназально вводимого антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 на поведение крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, в тесте «чужак – резидент»

Показатель	Контрольные крысы, получавшие физиологический раствор и/наз		Крысы, получавшие антагонист грелина [D-Lys ³]-GHRP-6 и/наз	
	выращенные в сообществе	выращенные в изоляции	выращенные в сообществе	выращенные в изоляции
Груминг	3,7 ± 1,2	2,5 ± 0,8	3,1 ± 1,7	1,4 ± 0,5*
Замирание	7,5 ± 2,1	0,1 ± 0,1*	6,5 ± 0,9	1,5 ± 0,4*
Стойка	12,4 ± 2,5	12,0 ± 1,8	12,3 ± 2,1	7,5 ± 0,8
Коммуникация	14,0 ± 2,6	13,1 ± 1,2	18,1 ± 3,6	11,2 ± 0,7
Агрессия	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,5*	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,2

Примечание: и/наз — интраназально; *p < 0,05 относительно крыс, выращенных в сообществе

В тесте «чужак – резидент» оценивали коммуникативные поведенческие акты, акты агрессии, а также общее число двигательных актов. Социальная изоляция не влияла на коммуникативное поведение крыс, но растормаживала компоненты агрессии и резко снижала число замираний (реакция страха). Антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 (10 мкг в 20 мкл) не менял поведение крыс, выращенных в сообществе, но снижал груминговые реакции, реакции замирания и акты агрессии у крыс-изолянтов (табл. 5).

Грелин (20 мкг в 20 мкл), интраназально вводимый крысам из сообщества, устранял реакцию агрессии, умеренно снижал коммуникационные акты и груминговые реакции. У крыс-изолянтов грелин оказывал сходное с сообществом действие, но восстанавливал груминговые реакции. То есть в обоих случаях действие грелина может рассцениваться как анксиолитическое.

Таким образом, у животных, выращенных в условиях социальной изоляции, антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6 обладал умеренной анксиолитической активностью в приподнятом крестообразном лабиринте, увеличивая число свешиваний с платформы лабиринта. Грелин в данном тесте обладал анксиогенным эффектом, снижая время нахождения изолированных животных в светлом рукаве и число свешиваний. В «открытом поле» антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 снижал эмоционально-исследовательскую активность, грелин ее увеличивал. В тесте «чужак – резидент» животные, выращенные в условиях социальной изоляции, в отличие от животных, выращенных в сообществе, проявляли невысокую агрессию. Антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6 снижал коммуникативную активность, а также незначительно снижал проявление агрессии у животных, выращенных в условиях изоляции. Грелин также снижал коммуникативное поведение и проявление агрессии животных, выращенных в условиях социальной изоляции.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании эмоционального и исследовательского поведения у крыс, выращенных в условиях стресса социальной изоляции, нами показано, что

антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6 в приподнятом крестообразном лабиринте обладал незначительной анксиолитической активностью у животных, выращенных в условиях социальной изоляции: время нахождения в светлом и темном рукавах достоверно не менялось, но число свешиваний увеличивалось. Грелин, напротив, проявлял анксиогенный эффект, снижая время нахождения животных, выращенных в изоляции, в светлом рукаве и снижая число свешиваний. В «открытом поле» антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6 (10 мкг в 20 мкл интраназально) снижал эмоционально-исследовательскую активность, а грелин (20 мкг в 20 мкл), наоборот, ее увеличивал [2, 20]. В тесте «чужак – резидент» антагонист грелина [D-Lys³]-GHRP-6 снижал коммуникативную активность, а также незначительно снижал проявление агрессии у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции. Грелин в этих условиях эксперимента проявил аналогичное действие, снижая коммуникативное поведение и проявления агрессии у животных, выращенных в изоляции.

Ряд исследователей считает, что для полноценного формирования мозга необходимы определенный уровень и качество афферентных поступлений в раннем онтогенезе. Действительно, унилатеральная обонятельная депривация во время постнатального развития вызывает значительные анатомические и нейрохимические изменения в депривированной обонятельной луковице. В частности, это приводит к истощению ДА и повышению чувствительности D₂-рецепторов ДА обонятельной луковицы [5, 7]. Выращивание в изоляции может быть причиной ряда поведенческих эффектов при непосредственном включении центральных ДА-ергических механизмов [4, 6]. Крысы, выращенные в изоляции, демонстрируют набор поведенческих паттернов, которые обычно отмечаются после введения агонистов ДА, таких как амфетамин. Например, у них наблюдается спонтанная гиперактивность и персеверативное (стереотипное) поведение, усиливающиеся при введении амфетамина или апоморфина. Эти данные означают повышение чувствительности к агонистам ДА амфетаминового типа и другим подкрепляющим стимулам у изолированных крыс. В нашей более ранней работе [6] был специально выделен и описан синдром социальной изоляции,

включающий в качестве атрибутивных (базовых) черт двигательную гиперактивность, повышенную тревожность и депрессивность, нарушение процессов внимания, гиперфункцию и быструю истощаемость подкрепляющих систем мозга. В основе этих изменений лежит дисфункция преимущественно ДА-ергических механизмов мозга, ответственных за подкрепление и эмоционально-мотивационные компоненты поведения [8].

Социальная депривация изменяет чувствительность не только ДА-ергической, но и других моноаминергических систем мозга. Так, выращивание приматов в изоляции приводит к снижению уровня норадреналина в цереброспинальной жидкости. У крыс, выращенных в изоляции от сородичей, в структурах лимбической системы обнаружено увеличение количества пресинаптических α_2 -адренорецепторов, что способствует повышению функции этих рецепторов [13]. Установлено также, что у крыс, подвергнутых длительной изоляции, уменьшается концентрация серотонина в гиппокампе и фронтальной коре, но неприлегающем ядре [16].

Исследования продемонстрировали, что при электрическом раздражении структур мезокортиколимбической ДА-ергической системы у крыс, выращенных в изоляции, наблюдается повышение преимущественно негативных эффектов подкрепления [6, 8]. В опытах на мышах было показано, что у особей с генным нокаутом грелиновых рецепторов GHSR последствия социальной изоляции проявляются более выражено (интенсивнее) и быстрее. При этом индукция грелином системы кортиколиберина и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, по-видимому, представляет один из физиологических механизмов, по которому грелин помогает животным адекватно реагировать на стрессовые ситуации [11].

В заключение необходимо отметить, что нейрофармакологический анализ роли нейрхимических систем мозга является весьма актуальным и важным для изучения подкрепляющих механизмов мозга. В то же время онтогенетический аспект изучен недостаточно и требует дальнейших исследований. Вопрос о том, как внешняя среда влияет на формирование эмоциональных механизмов мозга, что и как изменяется в их организации при дефиците биологически важных воздействий, представляется одним из ключевых в понимании основных принципов развития и самоорганизации мозга, что и обусловило направление данной работы, то есть изучение субстрата эмоций у животных с различным индивидуальным опытом.

ВЫВОДЫ

1. Интраназальное введение антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 крысам, выращенным в условиях социальной изоляции, блокирует экспрессию и возобновление условной реакции пред-

почтения места этанола, что подтверждает участие системы грелина в регуляции положительного подкрепления, активируемого этанолом.

2. Интраназальное введение грелина у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, вызывает типичный анксиогенный эффект, повышение исследовательской активности, проявления агрессии и снижение коммуникативного поведения.
3. У крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 проявляет умеренное анксиолитическое действие, снижает исследовательскую активность, коммуникативное поведение и проявления агрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов П.М., Тиссен И.Ю., Хохлов П.П., и др. Содержание АКТГ и КРФ в сыворотке крови крыс после введения антагонистов орексина А при экспериментальной алкоголизации // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2015. – Т. 13. – № 2. – С. 14–19. [Vinogradov PM, Tissen IY, Khokhlov PP, et al. The levels of ACTH and CRF in the rat blood serum after administration of orexin A antagonists in experimental alcoholization. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. 2015;13(2):14-19. (In Russ.)]
2. Виноградов П.М., Тиссен И.Ю., Лебедев А.А., и др. Антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 снижает экспрессию условной реакции предпочтения места этанола у крыс // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2015. – Т. 13. – № 2. – С. 27–33. [Vinogradov PM, Tissen IY, Lebedev AA, et al. Antagonist of ghrelin [D-Lys³]-GHRP-6 reduces the expression of the conditioned place preference of ethanol in rats. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. 2015;13(2):27-33. (In Russ.)]
3. Михеев В.В., Шабанов П.Д. Фармакологическая асимметрия мозга. – СПб.: Элби-СПб, 2006. – 268 с. [Mikheev VV, Shabanov PD. *Pharmacological asymmetry of the brain*. Saint Petersburg: Elbi-SPb Publ. House; 2006. 268 p. (In Russ.)]
4. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Подкрепляющие системы мозга: локализация, нейрхимическая организация, участие в формировании зависимости от психостимуляторов // Психофармакол. и биол. наркол. – 2001. – Т. 1. – № 1. – С. 2–5. [Shabanov PD, Lebedev AA. Reinforcing systems of the brain: localization, neurochemical organization, participation in formation of dependency from psychostimulants. *Psychofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. 2001;1(1):2-5. (In Russ.)]
5. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Ноздрачев А.Д. Критические периоды формирования дофаминергической системы // Докл. Акад. наук. – 2002. – Т. 386. – № 4. – С. 565–570. [Shabanov PD, Lebedev AA, Nozdachev AD. Critical periods of formation for dopaminergic system. *Doklady Akademii Nauk*. 2002;386(4):565-570. (In Russ.)]
6. Шабанов П.Д., Мещеров Ш.К., Лебедев А.А. Синдром социальной изоляции. – СПб.: Элби-СПб, 2004. –

- 208 с. [Shabanov PD, Meshcherov SK, Lebedev AA. *Syndrome of social isolation*. Saint Petersburg: Elbi-SPb Publ. House; 2004. 208 p. (In Russ.)]
7. Шабанов П.Д., Ноздрачев А.Д., Лебедев А.А., Лебедев В.В. Нейрохимическая организация подкрепляющих систем мозга // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86. – № 8. – С. 935–945. [Shabanov PD, Nozdrachev AD, Lebedev AA, Lebedev VA. Neurochemical organization of reinforcing systems of the brain. *Rossiiskii Fiziologicheskii Zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2000;86(8):935-845. (In Russ.)]
 8. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Стрельцов В.Ф. Гормональные механизмы подкрепления. – СПб.: Н-Л, 2008. – 208 с. [Shabanov PD, Lebedev AA, Streltsov VF. *Hormonal systems of reinforcement*. Saint Petersburg: N-L Publ. House; 2008. 208 p. (In Russ.)]
 9. Abizaid A, Liu ZW, Andrews ZB, et al. Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite. *J Clin Invest*. 2006;116(12):3229. doi: 10.1172/JCI29867.
 10. Carroll ME, France CP, Meisch RA. Food-deprivation increases oral and intravenous drug intake in rats. *Science*. 1979;205(4403):319-321. doi: 10.1126/science.36665.
 11. Chuang JC, Sakata I, Kohno D, et al. Ghrelin directly stimulates glucagon secretion from pancreatic alpha-cells. *Mol Endocrinol*. 2011;25:1600-1611. doi: 10.1210/me.2011-1001.
 12. Druce MR, Wren AM, Park AJ, et al. Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. *Int J Obesity (Lond)*. 2005;29:1130-1136. doi: 10.1038/sj.ijo.0803001.
 13. Fulford AJ, Butler S, Heal DJ, et al. Evidence for altered alpha 2-adrenoceptor function following isolation-rearing in the rat. *Psychopharmacology*. 1994;116:183-190.
 14. Gualillo O, Caminos JE, Nogueiras R, et al. Effect of food restriction on ghrelin in normal-cycling female rats and in pregnancy. *Obesity Res*. 2002;10(7):682-687. doi: 10.1038/oby.2002.92.
 15. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*. 1996;273(5277):974-977. doi: 10.1126/science.273.5277.974.
 16. Jaffer EH, De Frias V, Ibarra C. Changes in basal and stimulated release of endogenous serotonin from different nuclei of rats subjected to two models of depression. *Neurosci Lett*. 1993;162(1-2):157-160.
 17. Jerlhag E, Egencioglu E, Dickson SL, et al. Glutamatergic regulation of ghrelin-induced activation of the mesolimbic dopamine system. *Addict Biol*. 2011;16(1):82-91. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00231.x.
 18. Patterson ZR, Ducharme R, Anisman H, Abizaid A. Altered metabolic and neurochemical responses to chronic unpredictable stressors in ghrelin receptor-deficient mice. *Eur J Neurosci*. 2010;32:632-639.
 19. Shabanov PD, Airapetov MI, Sekste EA, et al. Serum unacylated ghrelin concentrations and expression of GHGR mRNA in the rat brain structures after chronic alcoholization and ethanol withdrawal. *Eur Neuropsychopharmacology*. 2014;14(Suppl.2): S653.
 20. Vinogradov PM, et al. Ghrelin antagonist [D-Lys³]-GHRP-6 reduced expression and reinstatement of conditioned place preference of alcohol. *Stress, Brain and Behavior*. 2016;(5):40-41.
 21. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, et al. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol*. 2006;494(3):528-548. doi: 10.1002/cne.20823.

◆ Информация об авторах

Петр Дмитриевич Шабанов — д-р мед. наук, профессор, заведующий, отдел нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; заведующий, кафедра фармакологии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Петр Михайлович Виноградов — аспирант, отдел нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: pscovich@mail.ru.

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

Роман Олегович Роик — канд. мед. наук, науч. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Санкт-Петербург. E-mail: dr.roik@mail.ru.

Виталий Иванович Морозов — канд. мед. наук, науч. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Санкт-Петербург. E-mail: vitmoroz@yandex.ru.

◆ Information about the authors

Petr D. Shabanov — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor, Head, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine; Head, Department of Pharmacology, S.M. Kirov Military Medical Academy. Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Petr M. Vinogradov — Post-graduate student, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: pscovich@mail.ru.

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.

Roman O. Roik — PhD (Biochemistry), Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St Petersburg, Russia. E-mail: dr.roik@mail.ru.

Vitalii I. Morozov — PhD (Biochemistry), Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St Petersburg, Russia. E-mail: vitmoroz@yandex.ru.