

АСИММЕТРИЯ ПОДКРЕПЛЯЮЩИХ СВОЙСТВ ЛАТЕРАЛЬНОГО ГИПОТАЛАМУСА В ТЕСТЕ САМОСТИМУЛЯЦИИ

УДК 616-092.9
DOI: 10.17816/RCF16237-41

© Н.С. Ефимов¹, Ю.Н. Бессолова¹, И.В. Карпова¹, А.А. Лебедев¹, П.Д. Шабанов^{1,2}

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

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

Для цитирования: Ефимов Н.С., Бессолова Ю.Н., Карпова И.В., и др. Асимметрия подкрепляющих свойств латерального гипоталамуса в тесте самостимуляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16. – № 2. – С. 37–41. doi: 10.17816/RCF16237-41

Поступила в редакцию 17.05.2018

Принята к печати 26.06.2018

◆ **Резюме.** В протоколах современных фармакологических исследований реакции самостимуляции у грызунов, стимулирующие электроды или световоды часто вживляют унилатерально. При этом по умолчанию предполагается, что подкрепляющие свойства раздражения левого и правого гипоталамуса идентичны. **Целью** исследования было выяснить, различается ли возможность выработать реакцию самостимуляции при раздражении левого и правого гипоталамуса. **Методика.** Исследование проведено на половозрелых самцах крыс линии Вистар. Электроды вживляли билатерально в латеральный гипоталамус. Крыс, у которых при электрическом раздражении наблюдалась реакция приближения, обучали самостимуляции в камере Скиннера, выбирая в качестве подкрепления стимуляцию гипоталамуса (правого или левого), который с наименьшим порогом давал положительную реакцию. **Результаты.** При левосторонней стимуляции у большинства крыс возникали реакции приближения (81,8 %), при этом самостимуляцию удавалось выработать у 72,7 % от общего числа

животных. На стимуляцию правого гипоталамуса положительно реагировали только 46,2 %, а самостимуляцию удалось выработать только у 30,8 % крыс. Пороги положительных и отрицательных реакций, зарегистрированных при электрическом раздражении обеих сторон гипоталамуса, достоверно различались между собой ($H_{(3, N=31)} = 14,92; p = 0,002$). Но эти различия были связаны не с латерализацией, а со знаком реакции: в целом пороги приближения были выше, чем пороги избегания. **Заключение.** В данной работе описан факт различной вероятности получения реакции приближения и выработки самостимуляции в ответ на электрическое раздражение левой и правой зон латерального гипоталамуса у крыс. При раздражении левого гипоталамуса вероятность получить положительную реакцию и на ее основе выработать самостимуляцию выше, чем при аналогичном воздействии на правый.

◆ **Ключевые слова:** самостимуляция; латеральный гипоталамус; асимметрия головного мозга.

ASYMMETRY OF REINFORCING PROPERTIES OF THE LATERAL HYPOTHALAMUS IN THE SELF-STIMULATION TEST

© N.S. Efimov¹, Y.N. Bessolova¹, I.V. Karpova¹, A.A. Lebedev¹, P.D. Shabanov^{1,2}

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Efimov NS, Bessolova YN, Karpova IV, et al. Asymmetry of reinforcing properties of the lateral hypothalamus in the self-stimulation test. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(2):37-41. doi: 10.17816/RCF16237-41

Received: 17.05.2018

Accepted: 26.06.2018

◆ **Abstract.** In the protocols of modern pharmacological studies of a self-stimulation reaction in rodents, stimulating electrodes are implanted as a rule unilaterally. The reinforcing properties of the left and right hypothalamus were suggested to be identical. **The aim** of the study was to clear up if the possibilities of the left and right hypothalamus to produce self-stimulation are similar or not. **Methods.** The study was carried out on adult male Wistar rats. The electrodes were implanted into the lateral hypothalamus bilaterally. The rats, in which an approach reaction was observed, learned

self-stimulation in the Skinner box with stimulation of the left or right hypothalamus as a reinforcing agent descending thresholds of stimulation up to minimal one. **Results.** Self-stimulation of the left hypothalamus gave an approach reaction in the majority of rats (81.8%), self-stimulation reaction was developed in 72.7% of rats. Only 46.2% rats reacted on stimulation of the right hypothalamus, self-stimulation reaction was developed in 30.8% of rats. The thresholds of positive and negative reactions registered after electrical stimulation of both sides of hypothalamus were significantly

differed ($H_{(3, N=31)} = 14,92; p = 0,002$). And these changes were not connected with lateralization but with sign of reaction: in general the thresholds of approach reaction were higher than thresholds of avoidance. **Conclusion.** In the paper, the fact of different possibility of approach reaction and self-stimulation development as a result of electrical stimulation of the left and right hypothalamus in rats has

been described. After stimulation of the left hypothalamus, a possibility to receive positive reaction and to form self-stimulation on its basis is higher than after stimulation of the right hypothalamus.

◆ **Keywords:** self-stimulation; lateral hypothalamus; brain asymmetry.

ВВЕДЕНИЕ

Модель самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс признана эффективным инструментом для изучения механизмов аддикции и широко используется в экспериментальной психофармакологии [9]. Вместе с тем метод достаточно трудоемок, так как требует предварительной стереотаксической операции и обучения животных в камере Скиннера.

Обычной практикой является билатеральное вживление электродов с последующим тестированием результатов принудительной стимуляции латерального гипоталамуса. При тестировании крысы демонстрируют либо реакцию приближения (животное движется вперед, приноживается, демонстрирует поисковое поведение), либо реакцию избегания (животное пятится назад, проявляет беспокойство, груминг, вокализацию, пытается выпрыгнуть из экспериментальной камеры). Самостимуляцию удается выработать только в том случае, если наблюдается реакция приближения. Поскольку интенсивная электрическая стимуляция способна привести к разрушению ткани мозга, стимулируя по очереди оба гипоталамуса, выбирают тот гипоталамус (левый либо правый), который дает реакцию приближения с наименьшим порогом.

Для выяснения механизмов действия фармакологических препаратов на самостимуляцию в мозг одновременно с электродами часто вживляют микроканюли для внутримозговых инъекций. В этом случае из-за риска повреждения ткани мозга билатеральное вживление электродов может оказаться проблематичным.

Несмотря на то что самостимуляция была описана более 60 лет назад [5, 10, 11], сведения о латерализации этого явления в доступной литературе весьма скудны. При этом имеющиеся данные, как правило, касаются различий параметров стимуляции левого и правого гипоталамуса в тех случаях, когда в эксперименте уже удавалось вызвать ожидаемые поведенческие реакции [1]. Протоколы современных исследований механизмов самостимуляции у грызунов часто предполагают либо исключительно левостороннее, либо только правостороннее раздражение (см., например, [8] и [5, 6]). Однако авторы работ, как правило, не приводят сведений о том, сколько животных пришлось исключить из эксперимента из-за того, что реакция приближения в ответ на раздражение не возникала и самостимуляцию

выработать не удалось. В связи с этим возникает вопрос, зависит ли возможность выработки реакции самостимуляции от лево- или правосторонней локализации электродов.

Целью настоящей работы было выяснить, различается ли возможность выработать реакцию самостимуляции при раздражении зон левого и правого гипоталамуса.

МЕТОДИКА

Исследование проведено на 27 самцах крыс линии Вистар массой 250–300 г. Животных оперировали под нембуталовым наркозом (50 мг/кг) с использованием стереотаксического прибора фирмы Medicor (Венгрия). В зону латерального гипоталамуса билатерально вживляли монополярные нихромовые электроды в стеклянной изоляции по следующим координатам: $AP = 2,5$ мм назад от брегмы, $SD = 2,0$ мм латерально от сагиттального шва, $H = 8,4$ мм от поверхности черепа [2, 3, 7]. Диаметр электрода в изоляции составлял 0,25 мм, длина оголенного кончика — 0,25–0,30 мм, его диаметр — 0,12 мм. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе животного. Все электроды коммутировались на микроразъеме, который фиксировали на черепе самотвердеющей пластмассой. Через 5–7 дней после операции начинали эксперименты, в ходе которых зону латерального гипоталамуса раздражали электрическим током. При этом у 12 крыс стимулировали только левый гипоталамус, у 4 — только правый, а у 9 — поочередно и левый, и правый. Таким образом, всего было изучено 22 последствия стимуляции левого и 13 последствий стимуляции правого гипоталамуса. Для проверки реакции на электрическое раздражение зоны латерального гипоталамуса животное помещали в открытую камеру из светлого непрозрачного пластика, размеры дна которой составляли 40×15 см², а высота 18 см. Для удобства манипуляций с электродами одна из боковых стенок камеры была отклонена таким образом, что площадь открытого «потолка» камеры составляла 40×40 см². К контактам электродов, вживленных в мозг, осторожно подсоединяли провода, идущие от стимулятора, и поочередно проводили электро-стимуляцию зоны правого или левого гипоталамуса. Стимулами служили прямоугольные импульсы электрического тока отрицательной полярности

длительностью 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0,4 с в фиксированном режиме. Силу раздражающего тока постепенно увеличивали до появления изменения поведения крысы и фиксировали порог возникновения и характер поведенческой реакции. Реакция считалась положительной, если крыса начинала проявлять элементы пищевого (облизывание, жевание) или исследовательского (движение вперед, локомоция или подъемы на задние лапы) поведения. Реакция считалась отрицательной, если крыса пятилась назад и демонстрировала проявления дискомфорта (беспокойство, груминг, вокализация) или предпринимала попытки выпрыгнуть из камеры. Если описанных изменений поведения не наблюдалось, но появлялись насильственные стереотипные движения, стимуляцию прекращали и делали вывод об отсутствии специфической поведенческой реакции. Крыс, у которых отмечалась положительная реакция, перемещали в камеру Скиннера. Она представляла собой прямоугольный пластиковый ящик (15 × 50 × 20 см³) с плоским полом и прозрачными вертикальными стенками. По центру узкой стенки камеры на высоте 3 см от пола была расположена педаль 4 × 5 см², при нажатии на которую животное получало возможность самостоятельно стимулировать зону латерального гипоталамуса. В качестве подкрепления выбирали стимуляцию того гипоталамуса, который с наименьшим порогом давал положительную реакцию, используя электрический ток, на 10 % превышающий пороговую величину. Время нахождения животного в камере Скиннера составляло 10 минут. Крыса считалась способной к выработке реакции самостимуляции, если при навязанной

стимуляции латерального гипоталамуса она направлялась к педали, а затем демонстрировала упорное нажатие на педаль с целью самостимуляции вплоть до окончания времени эксперимента.

В опыте регистрировали характер реакции животных на стимуляцию левой и правой зоны латерального гипоталамуса (положительная или отрицательная), порог раздражения, приводящего к этой реакции (мкА), и успешность выработки самостимуляции (удалось/не удалось). Результаты обрабатывали статистически по критерию χ -квадрат и Краскала–Уоллиса с использованием стандартного пакета программ GraphPad Prism 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что при левосторонней стимуляции латерального гипоталамуса, реакции приближения возникали у 81,8 %, при этом самостимуляцию левого гипоталамуса удавалось выработать у 72,7 % животных. У 18,2 % крыс стимуляция левого гипоталамуса вызывала реакцию избегания. Таким образом, число крыс, положительно реагировавших на стимуляцию левого гипоталамуса, было больше, чем реагировавших отрицательно ($p < 0,01$, табл. 1). Доля животных, у которых удалось выработать реакцию самостимуляции, также достоверно превышала число крыс, у которых данный рефлекс выработать не удалось ($p < 0,05$, табл. 2).

Результаты раздражения правого гипоталамуса оказались иными. Так, только у 46,2 % живот-

■ Таблица 1. Реакции крыс на электрическую стимуляцию левого и правого латерального гипоталамуса

Воздействие	Стимуляция левого гипоталамуса			Стимуляция правого гипоталамуса		
	% животных	Границы 95 % доверительного интервала		% животных	Границы 95 % доверительного интервала	
		верхняя	нижняя		верхняя	нижняя
Реакция приближения	81,8* (18)	94,8	59,7	46,2 (6)	74,9	19,2
Реакция избегания	18,2* (4)	40,3	5,2	53,8 (7)	80,8	25,1

Примечание: * $p < 0,01$ — отличия соотношения числа животных, демонстрировавших реакции приближения и избегания, от равновероятного. Соотношения реакций приближения и избегания в ответ на стимуляцию левого (82,4 % : 17,6 %) и правого (46,2 % : 53,8 %) гипоталамуса достоверно различаются по критерию χ -квадрат, $p < 0,05$. В скобках указано число животных, проявляющих данный вид поведения

■ Таблица 2. Возможность выработать реакцию самостимуляции на электрическое раздражение левого и правого латерального гипоталамуса у крыс

Воздействие	Стимуляция левого гипоталамуса			Стимуляция правого гипоталамуса		
	% животных	Границы 95 % доверительного интервала		% животных	Границы 95 % доверительного интервала	
		верхняя	нижняя		верхняя	нижняя
Есть самостимуляция	72,7* (16)	89,3	49,8	30,8 (4)	61,4	9,1
Нет самостимуляции	27,3* (6)	50,2	10,7	69,2 (9)	90,9	38,6

Примечание: * $p < 0,05$ — отличия соотношения числа животных, выработавших и не выработавших реакцию самостимуляции, от равновероятного. Соотношения числа крыс, выработавших и не выработавших реакции самостимуляции левого (72,7 % : 27,3 %) и правого (30,8 % : 69,2 %) гипоталамуса, достоверно различаются по критерию χ -квадрат, $p < 0,05$. В скобках указано число животных, проявляющих данный вид поведения

■ Таблица 3. Пороги реакций крыс на электрическую стимуляцию левого и правого латерального гипоталамуса

Поведенческие реакции	Стимуляция левого гипоталамуса (мкА)	Стимуляция правого гипоталамуса (мкА)
Реакция приближения	285,8 ± 18,6	296,0 ± 93,5
Реакция избегания	90,0 ± 0,0	65,0 ± 7,4 [#]
Самостимуляция	326,7 ± 17,9	244,8 ± 81,6

Примечание: [#] $p < 0,05$ — отличия порогов возникновения положительной реакции от порогов возникновения отрицательных, выявленные по критерию Вилкоксона – Манна – Уитни

ных реакция на стимуляцию правого гипоталамуса была положительной, а у 53,8 % — отрицательной (табл. 1). Возможность получения как положительной, так и отрицательной реакции достоверно не отличалась от равновероятной ($p > 0,05$). При этом самостимуляцию правого гипоталамуса удалось выработать только у 30,7 % от общего числа крыс, подвергавшихся данному воздействию (табл. 2).

При сравнении соотношений числа крыс, демонстрировавших положительную и отрицательную реакции на стимуляцию левого (81,8 % : 18,2 %) и правого (46,2 % : 53,8 %) гипоталамуса, были выявлены достоверные различия ($p < 0,05$). Соотношения числа крыс, выработавших и не выработавших реакции самостимуляции левого (72,7 % : 27,3 %) и правого (30,8 % : 69,2 %) гипоталамуса, также различались ($p < 0,05$).

Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее сведениями о том, что для вызова пищевых мотивационных реакций у кроликов стимуляция левого гипоталамуса более эффективна, чем правого [1]. Однако у крыс, выросших в условиях длительной социальной изоляции, наблюдается противоположный результат: при стимуляции левого гипоталамуса возникало больше реакций избегания, а при стимуляции правого — реакций самостимуляции [1]. Поскольку при изучении других форм поведения показано, что длительная социальная изоляция приводит к смене исходной функциональной асимметрии мозга [4], можно предположить, что фактор социальной изоляции изменяет исходную асимметрию подкрепляющих свойств левого гипоталамуса.

В табл. 3 представлены средние величины порогов реакций приближения и избегания, полученные при стимуляции левого и правого гипоталамуса, а также силы раздражителя, при которой удавалось выработать самостимуляцию. Тест Краскела – Уоллиса (непараметрический аналог ANOVA) показал, что пороги положительных и отрицательных реакций, зарегистрированных при электрическом раздражении обеих сторон гипоталамуса, достоверно различались между собой ($H_{(3, N=31)} = 14,92$; $p = 0,002$). В целом как при стимуляции левого, так и при стимуляции правого гипоталамуса пороги возникновения положительных реакций были выше, чем пороги отрицательных (в 3 и 4,5 раза соответственно). Однако данные различия были достоверны только для правого гипоталамуса ($p < 0,05$). Пороги как положительных, так и отрицательных реакций, возникавших

в ответ на стимуляцию разных сторон гипоталамуса, не различались (табл. 3). Тем не менее в экспериментах на кроликах показано, что пороги реакции на электрическое раздражение левого гипоталамуса оказывались выше, чем правого [1].

Таким образом, по результатам настоящего исследования, для того чтобы с большей вероятностью получить реакцию самостимуляции у крыс, целесообразно раздражать левый, а не правый латеральный гипоталамус.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе описан факт различной вероятности получения реакции приближения и выработки самостимуляции в ответ на электрическое раздражение левой и правой зон латерального гипоталамуса. При раздражении левого гипоталамуса вероятность получить положительную реакцию и на ее основе выработать самостимуляцию выше, чем при аналогичном воздействии на правый.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков И.В., Александров В.И., Павлова И.В. Сопоставление эффективности раздражения правого и левого латерального гипоталамуса при реакции самостимуляции // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2000. – Т. 50. – № 1. – С. 133–136. [Volkov IV, Aleksandrov VI, Pavlova IV. Comparison of the efficiency of the right and left lateral hypothalamic stimulation under the self-stimulation conditions. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2000;50(1):133-136. (In Russ.)]
2. Дробленков А.В. Краткий микроскопический атлас ядерных и корковых центров мезокортиколимбической и некоторых других дофаминергических систем головного мозга крысы / Под ред. Н.Р. Карелиной. – СПб.: СПбГПМА, 2006. [Droblenkov AV. *Kratkiy mikroskopicheskiy atlas yadernykh i korkovykh tsentrov mezokortikolimbicheskoy i nekotorykh drugikh dofaminergicheskikh sistem golovnogo mozga krsy*. Ed by N.R. Karelina. Saint Petersburg: SPbGPMA; 2006. (In Russ.)]
3. Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Сопоставление реакции самостимуляции и условного предпочтения места при введении фенамина у крыс // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1992. – Т. 42. – № 4. – С. 692–698. [Lebedev AA, Shabanov PD. Sopotstavle-

- nie reaktzii samostimulyatsii i uslovnogo predpochteniya mesta pri vvedenii fenamina u krysa. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 1992;42(4):692-698. (In Russ.)]
4. Михеев В.В., Шабанов П.Д. Фармакологическая асимметрия мозга. – СПб.: Элби-СПб, 2007. [Mikheev VV, Shabanov PD. Farmakologicheskaya asimetriya mozga. Saint Petersburg: Elbi-SPb; 2007. (In Russ.)]
 5. Barbano MF, Wang HL, Morales M, Wise RA. Feeding and Reward Are Differentially Induced by Activating GABAergic Lateral Hypothalamic Projections to VTA. *J Neurosci*. 2016;36(10):2975-2985. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3799-15.2016.
 6. Fish EW, Robinson JE, Krouse MC, et al. Intracranial self-stimulation in FAST and SLOW mice: effects of alcohol and cocaine. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012;220(4):719-30. doi: 10.1007/s00213-011-2523-x.
 7. König KP, Klippel AA. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore; 1963.
 8. Lazenka MF, Legakis LP, Negus SS. Opposing effects of dopamine D1- and D2-like agonists on intracranial self-stimulation in male rats. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2016;24(3):193-205. doi: 10.1037/pha0000067.
 9. Negus SS, Miller LL. Intracranial self-stimulation to evaluate abuse potential of drugs. *Pharmacol Rev*. 2014;66(3):869-917. doi: 10.1124/pr.112.007419.
 10. Olds J. A preliminary mapping of electrical reinforcing effects in the rat brain. *J Comp Physiol Psychol*. 1956;49(3):281-285. doi: 10.1037/h0041287.
 11. Ranck JB. Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: A review. *Brain Res*. 1975;98(3):417-440. doi: 10.1016/0006-8993(75)90364-9.

♦ Информация об авторах

Николай Сергеевич Ефимов — аспирант отдела нейрофармакологии им. акад. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

Юлия Николаевна Бессолова — аспирант отдела нейрофармакологии им. акад. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

Инесса Владимировна Карпова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. акад. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: inessa.karpova@gmail.com.

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.

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

♦ Information about the authors

Nikolay S. Efimov — Postgraduate student, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.

Yulia N. Bessolova — Postgraduate student, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.

Inessa V. Karpova — PhD (Physiology), Senior Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: inessa.karpova@gmail.com.

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

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