

Участие моноаминергических систем мозга в компенсаторных механизмах воздействия экспериментального стресса у крыс различных генетических линий, различающихся по чувствительности к действию морфина

КАЛЮЖНЫЙ А.Л.

к.б.н., н.с. кафедры высшей нервной деятельности
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

ЛИТВИНОВА С.В.

к.б.н., в.н.с. кафедры высшей нервной деятельности
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

ШУЛЬГОВСКИЙ В.В.

д.б.н., профессор, зав. кафедрой высшей нервной деятельности
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Изучены генетически детерминированные индивидуальные особенности устойчивости организма к эмоциональному стрессу. Показана корреляция между содержанием биогенных аминов мозга и устойчивостью к стресс-воздействию на модели «сбоя» УРАИ. Обнаружено, что морфин-резистентные крысы линии WAG обладали меньшей стрессоустойчивостью по сравнению с морфин-чувствительными крысами Wistar и Fischer-344. Предполагается, что увеличение содержания серотонина в ряде структур мозга является адаптивной, но недостаточной реакцией на стресс-воздействие в данной модели. При этом, крысы линии WAG были более подвержены стрессу вследствие меньшего влияния эндогенных опиоидов на серотонинергическую систему.

Введение

Изучение проблемы взаимодействия опиатов и опиоидных пептидов с нейромедиаторными системами мозга давно привлекает значительное внимание исследователей как в области фундаментальной науки, так и в клинической практике. Было установлено, что рецепторы опиатов расположены как в пре-, так и в постсинаптических образованиях [16]. Исходя из того, что терминали энкефалинергических нейронов контактируют как с пре-, так и с постсинаптическими структурами других нейронов, предполагается, что опиаты и опиоидные пептиды могут быть модуляторами синаптической передачи [2]. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что анальгетическое действие опиатов сопровождается изменениями в функционировании различных медиаторных систем. Отмечено, что морфин увеличивает скорость оборота норадреналина (НА) в варолиевом мосту [28] и тормозит его высвобождение, действуя на рецепторы опиатов, расположенные на адренергических нейронах мозжечка [33]. Острое введение морфина уменьшало уровень внеклеточного НА, но не изменяло уровень дофамина (ДА) в префронтальной коре, однако содержание обоих медиаторов уменьшалось в париетальной коре [22]. Имеются данные [47] об участии D2-рецепторов в механизмах опиатной зависимости, при этом не было выявлено изменений концентрации ДА в стриатуме. Также предполагается, что зависимость от морфина коррелирует с суперчувствительностью 5HT₁-рецепторов серотонина и 2-адренорецепторов [37]. Имеются данные о том, что адренергические средства влияют на синдром отмены и течение образования зависимости от опиатов у животных и человека. Однако эти данные не носят вполне определенный характер. Так, результаты применения α -адренолитика пропранолола при лечении зависимости от опиатов противоречивы. У наркоманов пропранолол предотвращал развитие эйфории, вызываемой героином, и ослаб-

лял проявления синдрома отмены [24]. По другим данным, пропранолол не облегчал и не усиливал состояние абстиненции при зависимости от опиатов и не купировал вызываемую героином эйфорию [36].

Многочисленные данные, публикуемые в литературе, указывают на существование связи между опиатами, в том числе и между эндогенными опиоидами энкефалинами и эндорфинами, и дофаминергическими структурами мозга. Интерес к ДА как одному из возможных посредников анальгетического действия опиатов основывается на том, что локализация участков связывания опиатов в структурах мозга в значительной мере совпадает с преимущественным распределением дофаминчувствительных нейронов, т.е. дофаминергических терминалей [34]. В этих же структурах отмечают высокую концентрацию энкефалинов [26]. Установлена корреляция между изменением скорости оборота ДА, НА и серотонина, с одной стороны, и выраженностью анальгезии, с другой [17]. Предполагается, что D2-рецепторы ДА являются необходимым звеном для модуляции локомоторной активности, стимулированной энкефалином [25], а D1- и D2-рецепторы задействованы в механизмах усиления морфинстимулированной локомоторной активности при стрессе [20, 21]. Доказательством важной модулирующей роли серотонинергических систем мозга в формировании морфиновой анальгезии служит то, что ингибирование обратного захвата серотонина с помощью хлоримипрамина усиливало действие морфина и аналога энкефалина [30]. В то же время, на модели депрессии было показано, что опиоидергическая система принимает меньшее участие в механизмах действия трициклических антидепрессантов, чем дофаминергическая. [18]. Другой мощный селективный ингибитор обратного захвата 5-ОТ — флуоксетин — усиливал анальгетическое действие морфина, но не влиял на действие метадона и петидина [40].

Считается, что генетическая и индивидуальная детерминация устойчивости к эмоциональному стрессу связана

с особенностью центральной нейрохимической и молекулярной организации отрицательных эмоциональных состояний, проявляющейся в специфическом распределении биогенных аминов в разных структурах мозга у устойчивых и предрасположенных к стрессу животных [14]. С этим связана возможная различность эффектов действия некоторых фармакологических веществ, воздействующих на биогенные амины. Из данных литературы известно, что стрессоустойчивые животные обладают большим содержанием НА в отдельных участках мозга и меньшим содержанием серотонина. Так, показано, что более устойчивые к стресс-воздействию крысы Wistar имели большее содержание НА в голубом пятне и меньшее — в сенсомоторной коре по сравнению с крысами August. Содержание серотонина у крыс Wistar в этих же структурах было меньше, чем у крыс линии August [4, 5]. При этом, как показал анализ активности нейрохимических систем мозга, при остром стрессе включается серотониновый механизм. Если стресс продолжается долго, то активация серотонинергической системы мозга исчезает вследствие угнетения серотонинергической активности норадренергическим механизмом.

В стрессовые реакции могут быть вовлечены и другие системы мозга, в частности опиоидергическая. Было показано, что эндогенная опиоидная система более активно задействована в механизмах электрошокового стресса, чем при иммобилизационном стрессе или при погружении в воду [42]. Как показали проведенные опыты, у крыс линии Wistar отмечена зависимость между устойчивостью к формированию зависимости к морфину и двигательной активностью в тесте «открытого поля». Так как стимулирующее воздействие морфина на двигательную активность опосредовано через систему моноаминов [15, 39], было сделано предположение, что именно имеющимися различиями в уровне ферментов обмена катехоламинов объясняется разная чувствительность линейных животных к морфину в этом тесте. У крыс линии Fisher-344 отмечены большая продолжительность катаlepsии при введении больших доз морфина и более сильный анальгетический эффект морфина [10]. Таким образом, как показывают вышеприведенные данные, различия в вегетативных, биохимических и других показателях имеют принципиальное значение для характеристики устойчивости организма к эмоциональному стрессу. Однако, несмотря на большое количество работ, до сих пор нет четких комплексных данных о связи механизмов взаимодействия моноаминергических и опиоидергической систем в эмоциональном стрессе с индивидуальными особенностями организма [9, 27].

В связи с приведенными выше данными в задачу работы входило выявление корреляции между особенностями функционально-обратимого нарушения высшей нервной деятельности у крыс различных генетических линий, отличающихся по устойчивости к стресс-воздействию и содержанию биогенных аминов в различных областях мозга, а также содержанию эндогенных опиоидов, наименьшее содержание которых выявлено в структурах мозга морфинрезистентных крыс линии WAG [43], наибольшее — у крыс линии Fischer-344, которые наиболее чувствительны к действию морфина [13].

Материал и методы исследования

Эксперименты были выполнены на 90 крысах-самцах, массой 180—220 г, расположенных вне опыта в просторных клетках при естественном освещении и комнатной

температуре со свободным доступом к воде и пище. Из них 30 — крысы линии Wistar, 30 — крысы линии WAG и 30 — линии Fischer-344.

Экспериментальная установка

Выработка УРАИ проводилась на установке размером 50 × 30 × 35 мм, позволяющей автоматически подавать и прекращать стимуляцию электрическим током через определенный интервал времени. Пол камеры выполнен из металлической решетки с параллельными прутьями диаметром 2 мм при расстоянии 15 мм между ними.

Выработка УРАИ

Опыты по выработке УРАИ проводились с интервалом в 1 день по стандартной методике [2]. Регистрировались следующие показатели: количество реакций избегания (УРАИ), количество реакций избавления, число межсигнальных реакций за 1 опыт и латентных периодов реакций. После достижения 80% выполнения УРАИ животное считали обученным и проводили 5-кратный «сбой» на крысах всех линий.

Проведение «сбоя» УРАИ

«Сбой» реакции избегания (функционально-обратимое нарушение высшей нервной деятельности) заключался во внезапной для животного смене условий эксперимента, приводящей к нарушению причинно-следственных отношений в экспериментальной и вызывающей стресс у животных среде и проводился по методике, разработанной А.Н. Иноземцевым [8]. Экспериментальная модель «сбоя» является наиболее адекватной и перспективной по сравнению с другими хорошо известными моделями стресса и стрессирующими воздействиями для изучения механизмов психоэмоциональных нарушений и разработки способов коррекции, поскольку в ней нарушения когнитивных функций носят обратимый характер и позволяют анализировать механизмы направленной коррекции с точки зрения взаимодействия основных функциональных систем мозга (в частности, нейромедиаторных и эндогенной опиоидной).

Биохимическое определение содержания моноаминов мозга крыс

Данная часть работы проводилась в лаборатории нейрохимической фармакологии (заведующий — чл.-корр. РАМН К.С. Раевский) НИИ фармакологии РАМН.

Содержание моноаминов — НА, серотонина и его метаболита, ДА и его метаболитов — исследовалось в структурах фронтальной коры, гиппокампа и стриатума, которые выделяли на холоду.

Исследование содержания серотонина (5ОТ) и его метаболита 5-ОИУК, НА и ДА в коре, гиппокампе и стриатуме, а также метаболитов ДА — 3-4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и 3-метокси-4-фенилуксусной кислоты (гомованилиновая кислота — ГВК) — в стриатуме крыс проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) после извлечения мозга при декапитации у одних групп животных данных линий до «сбоя» УРАИ, а у других групп животных тех же линий сразу после «сбоя» УРАИ. Применяли хроматографию в обращенных фазах с ионопарным реагентом октилсульфатом натрия (ОСН). Использовали колонку Biophase RP-18 марки ODS 5 мкм 4,6—250,0 мм, защищенную предколонкой RP-18 ODS 10 мкм 4,6—30,0 мм [12].

Рис. 1. Влияние «сбоя» на прочность УРАИ. * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

Статистическая обработка данных

При компьютерной статистической обработке результатов использовали t -критерий Стьюдента, критерий Манна—Уитни и Вилкоксона и теста Дункан (ANOVA-2).

Результаты исследования

Как показывают проведенные нами исследования, «сбой» приводил к нарушению воспроизведения выработанной УРАИ. Так, после «сбоя» УРАИ (рис. 1) у крыс линии Wistar процент прочности УРАИ уменьшился в 1,47 раза ($p < 0,001$) с $90 \pm 2\%$ до $61 \pm 3\%$, у крыс линии WAG — в 1,72 раза ($p < 0,001$) с $88 \pm 1,8$ до $51 \pm 4\%$ и у крыс линии Fischer-344 — в 1,27 раза ($p < 0,001$) с $80 \pm 3,8$ до $63 \pm 1\%$.

Рис. 2. Межсигнальные реакции до и после «сбоя» УРАИ. * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

Полученные данные указывают также на уменьшение количества МСР (рис. 2). В частности, после проведения «сбоя» УРАИ у крыс линии Wistar их число уменьшилось в 2 раза с $4 \pm 0,6$ до $2 \pm 0,1$ ($p < 0,01$), у крыс линии WAG — в 3,25 раза с 11 ± 3 до $3,4 \pm 0,5$ ($p < 0,05$), а у крыс линии Fischer-344 отмечалась тенденция к уменьшению.

После проведения «сбоя» УРАИ у крыс линии Wistar возросла концентрация 5ОТ в коре в 1,77 раз ($P < 0,001$), гиппокампе — в 2,62 раза ($p < 0,001$) и стриатуме — в 1,84 раза ($p < 0,001$) (табл. 2). Содержание метаболита 5ОТ — 5ОИУК в коре уменьшилось в 1,95 раза ($p < 0,05$), но не имело достоверных изменений в гиппокампе и стриатуме.

Концентрация НА уменьшилась в стриатуме в 1,57 раза ($p < 0,05$), но не имела достоверных отличий от аналогичного показателя у животных до проведения «сбоя» УРАИ.

Таблица 1

Влияние «сбоя» УРАИ на содержание биогенных аминов в структурах мозга крыс линии WAG (нг/мг ткани)

	До «сбоя»	После «сбоя»
	5-ОТ	5-ОТ
Кора	$0,51 \pm 0,03$	$1,52 \pm 0,02^{***}$
Гиппокамп	$0,32 \pm 0,07$	$1,87 \pm 0,35^{***}$
Стриатум	$0,36 \pm 0,04$	$0,43 \pm 0,02$
	5-ОИУК	5-ОИУК
Кора	$0,29 \pm 0,07$	$0,19 \pm 0,05$
Гиппокамп	$0,41 \pm 0,04$	$0,61 \pm 0,08^*$
Стриатум	$0,52 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,03^{***}$
	НА	НА
Кора	$0,57 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,04^*$
Гиппокамп	$0,53 \pm 0,07$	$0,47 \pm 0,02$
Стриатум	$0,51 \pm 0,08$	$0,26 \pm 0,02^{**}$
	ДА	ДА
Стриатум	$11,7 \pm 0,6$	$9,6 \pm 0,4^{**}$
	ДОФУК	ДОФУК
Стриатум	$0,83 \pm 0,08$	$1,19 \pm 0,13^*$
	ГВК	ГВК
Стриатум	$0,84 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,03$
Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$		

Таблица 2

Влияние «сбоя» УРАИ на содержание биогенных аминов в структурах мозга крыс линии Wistar (нг/мг ткани)

	До «сбоя»	После «сбоя»
	5-ОТ	5-ОТ
Кора	1,12±0,08	1,99±0,16***
Гиппокамп	0,74±0,06	1,94±0,31***
Стриатум	0,39±0,08	0,72±0,07***
	5-ОИУК	5-ОИУК
Кора	0,43±0,09	0,22±0,03*
Гиппокамп	0,54±0,08	0,64±0,12
Стриатум	0,31±0,08	0,40±0,05
	НА	НА
Кора	0,46±0,09	0,66±0,12
Гиппокамп	0,48±0,1	0,51±0,02
Стриатум	0,44±0,04	0,28±0,05*
	ДА	ДА
Стриатум	11,5±1,06	9,9±0,86
	ДОФУК	ДОФУК
Стриатум	0,83±0,08	0,96±0,04
	ГВК	ГВК
Стриатум	0,71±0,05	0,94±0,06**
Примечание. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001		

Также не было отмечено достоверной разницы содержания ДА и его метаболита — ДОФУК в стриатуме. Однако наблюдалось некоторое ускорение обмена ДА, так как уровень ГВК у крыс с проведенным «сбоем» УРАИ вырос в 1,32 раза ($p<0,01$) по сравнению с контрольными животными.

У крыс линии WAG (табл. 1) не обнаружено достоверных отличий от контрольных животных по содержанию 5ОТ в стриатуме и его метаболита 5ОИУК в коре. Однако наблюдался возросший уровень 5ОТ в коре в 2,98 раза ($p<0,001$) и гиппокампе в 5,84 раза ($p<0,001$), а концентрация 5ОИУК уменьшилась в стриатуме в 2,36 раза ($p<0,001$) и увеличилась в гиппокампе в 1,48 раза ($p<0,05$), что говорит о замедлении скорости утилизации серотонина в стриатуме и коре.

Содержание НА увеличилось в коре в 1,21 раза ($p<0,05$) и уменьшилось в стриатуме в 1,96 раза ($p<0,01$); в 1,22 раза ($p<0,01$) уменьшился уровень ДА в стриатуме и возрос уровень ДОФУК в той же структуре в 1,43 раза ($p<0,05$). Уровень ГВК не имел достоверно значимых отличий.

У крыс линии Fischer-344 (табл. 3) не отмечено достоверных различий между контрольными и опытными животными в содержании 5ОИУК в гиппокампе, НА в коре и гиппокампе и концентрации ДА в стриатуме. В то же время, уровень 5ОТ достоверно увеличился в коре в 2,12 раза ($P < 0,001$), гиппокампе — в 5,22 раза ($P < 0,001$) и стриатуме — в 1,45 раза ($P < 0,05$). Содержание его метаболита — 5ОИУК достоверно уменьшалось в коре (в 1,65 раза ($p<0,001$)) и стриатуме в 1,54 раза ($p<0,01$).

Концентрация НА в стриатуме также уменьшилась в 1,94 раза ($p < 0,05$), а содержание метаболитов ДА —

ДОФУК и ГВК — в той же структуре выросло в 1,31 ($p < 0,05$) и 1,67 раза ($p < 0,001$) соответственно.

При сравнении межлинейных отличий крыс с проведенным «сбоем» УРАИ обнаружены следующие особенности распределения изучаемых моноаминов и их метаболитов (табл. 4): не отмечено достоверных различий в содержании 5ОТ в гиппокампе, 5ОИУК и НА в коре и гиппокампе, ДА и ГВК в стриатуме. Вместе с тем, уровень 5ОТ в коре крыс линии WAG был достоверно в 1,16 раза меньше, чем у крыс линии Fischer-344 ($p<0,001$) и в 1,3 раза меньше ($p<0,05$) чем у крыс линии Wistar. Содержание 5ОТ в стриатуме также было наименьшим у крыс линии WAG в 1,48 ($p<0,001$) и 1,67 ($p<0,001$) раза, чем у крыс линий Fischer-344 и Wistar, соответственно.

Концентрация метаболита 5ОТ — 5ОИУК в стриатуме в 1,59 ($p<0,05$) и 1,8 раза ($p<0,01$) была меньше, чем у крыс линий Fischer-344 и Wistar, соответственно.

В той же структуре уровень НА крыс линии Fischer-344 в 1,53 ($p<0,001$) и 1,64 раза ($p<0,05$) был достоверно меньше, чем у крыс линий WAG и Wistar, соответственно.

Уровень ДОФУК крыс линии WAG не имел достоверных отличий от аналогичного показателя крыс линии Wistar, но превосходил в 1,43 раза ($p<0,05$) показатель крыс линии Fischer-344.

Обсуждение результатов

Как следует из графиков (рис. 1, 2) после «сбоя» у крыс линии Wistar было отмечено падение УРАИ с 90 до 61%. Также были отмечены и коррелирующие с этим изменения распределения моноаминов мозга. Представляет определенный интерес сравнение полученных нами данных на модели «сбоя» УРАИ с изменениями моноаминов в других

Таблица 3

Влияние "сбоя" УРАИ на содержание биогенных аминов в структурах мозга крыс линии Fischer-344 (нг/мг ткани)

	До "сбоя"	После "сбоя"
	5-ОТ	5-ОТ
Кора	0,83±0,11	1,76±0,08***
Гиппокамп	0,31±0,06	1,62±0,28***
Стриатум	0,44±0,08	0,64±0,05***
	5-ОИУК	5-ОИУК
Кора	0,48±0,01	0,29±0,03***
Гиппокамп	0,31±0,06	0,61±0,19
Стриатум	0,54±0,04	0,35±0,05**
	НА	НА
Кора	0,87±0,09	0,63±0,03
Гиппокамп	0,58±0,03	0,48±0,04
Стриатум	0,33±0,07	0,17±0,01*
	ДА	ДА
Стриатум	11,7±0,4	10,2±0,16
	ДОФУК	ДОФУК
Стриатум	0,63±0,04	0,83±0,08*
	ГВК	ГВК
Стриатум	0,55±0,07	0,92±0,06***

Примечание. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Таблица 4

Содержание биогенных аминов в структурах мозга крыс с проведенным "сбоем" УРАИ

	WAG	FISHER	WISTAR
	5-ОТ	5-ОТ	5-ОТ
Кора	1,52±0,02	1,76±0,08###	1,99±0,16^^
Гиппокамп	1,87±0,35	1,62±0,28	1,94±0,31
Стриатум	0,43±0,02	0,64±0,05###	0,72±0,07^^^
	5-ОИУК	5-ОИУК	5-ОИУК
Кора	0,19±0,05	0,29±0,03	0,22±0,03
Гиппокамп	0,61±0,08	0,61±0,19	0,64±0,12
Стриатум	0,22±0,03	0,35±0,05#	0,40±0,05^^
	НА	НА	НА
Кора	0,69±0,04	0,63±0,03	0,66±0,12
Гиппокамп	0,47±0,02	0,48±0,04	0,51±0,02
Стриатум	0,26±0,02###	0,17±0,01	0,28±0,05**
	ДА	ДА	ДА
Стриатум	9,6±0,4	10,2±0,16	9,9±0,86
	ДОФУК	ДОФУК	ДОФУК
Стриатум	1,19±0,13##	0,83±0,08	0,96±0,04
	ГВК	ГВК	ГВК
Стриатум	0,92±0,03	0,92±0,06	0,94±0,06

Примечание. * — достоверная разница между крысами линий Wistar и Fischer-344; ^ — достоверная разница между крысами линий Wistar и WAG; # — достоверная разница между крысами линий WAG и Fisher-344; * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001; ^ — p<0,05; ^^ — p<0,01; ^^ — p<0,001; # — p<0,05; ## — p<0,01; ### — p<0,001

моделях стресса. В частности, в настоящих опытах после эмоционального стресса, вызванного «сбоем» УРАИ у крыс линии Wistar, наблюдалось достоверное увеличение серотонина в префронтальной коре, гиппокампе и стриатуме, тогда как при иммобилизационном стрессе не отмечалось достоверных изменений серотонина в сенсомоторной коре, а также в голубом пятне и ретикулярной формации. В настоящих опытах наблюдалось снижение 5-ОИУК в коре без изменений его уровня в стриатуме, а при иммобилизации не отмечалось изменений его содержания в коре, ретикулярной формации и голубом пятне [4, 5].

Также в наших опытах не было выявлено повышения или падения уровня НА в коре, но наблюдалось достоверное его снижение в стриатуме, что совпадает с данными [31], показавшими уменьшение содержания НА в гиппокампе, гипоталамусе и среднем мозге и ДА в стриатуме у мышей при иммерсионном стрессе, тогда как при иммобилизации наблюдалось увеличение его уровня в сенсомоторной коре и голубом пятне, т.е. при «сбое» и иммобилизации наблюдалось больше различий в изменениях содержания биогенных аминов в исследуемых структурах мозга, что подтверждает мнение о специфичности нейрoхимических механизмов стресса в зависимости от типа стрессорного раздражителя [1].

Как следует из табл. 1, в наших экспериментах у крыс линии WAG в результате «сбоя» условной реакции активного избегания наблюдалось достоверное увеличение серотонина в коре и гиппокампе, но не отмечалось изменений в стриатуме; содержание 5-ОИУК достоверно уменьшалось в коре и полосатом теле и увеличивалось в гиппокампе. Это может свидетельствовать о накоплении серотонина в стриатуме и об увеличении его метаболизма в гиппокампе. Содержание НА достоверно увеличивалось также в коре, но уменьшалось в полосатом теле и не изменялось в гиппокампе. Примечательно, что после «сбоя» при уменьшении уровня ДА в стриатуме наблюдалось достоверное увеличение ДОФУК, что указывает на активацию метаболизма ДА, т.е. у крыс линии WAG наблюдалось преимущественное увеличение содержания серотонина в коре и гиппокампе и увеличения метаболитов ДА в стриатуме, тогда как содержание НА изменялось разнонаправленно в коре и в стриатуме.

У крыс линии Fischer-344 (рис. 1, 2) применение пятикратного «сбоя» также вызывало поведенческие реакции стресса (голосовые реакции, прыжки, дефекация и т.п.), что сопровождалось достоверным снижением прочности УРАИ с $80 \pm 5\%$ до $63 \pm 6\%$ и увеличением межсигнальных реакций с 10 ± 4 до 16 ± 6 , в то время как показатели латентного периода УРАИ достоверно не изменялись. В ответ на последние перед «сбоем» 5 предъявлений условного сигнала правильная избегательная реакция наблюдалась в $87 \pm 3\%$ случаев, а на первые после «сбоя» 5 предъявлений условного сигнала правильная избегательная реакция наблюдалась лишь в $40 \pm 4\%$ случаев. Таким образом, «сбой» у крыс линии Fischer-344, так же как и у крыс линии WAG, вызывал стрессовое состояние с резкими нарушениями условнорефлекторной деятельности.

В заключение вышесказанного можно отметить, что стресс, вызванный «сбоем» УРАИ, приводил к однозначным изменениям содержания серотонина и его метаболита в исследуемых структурах мозга всех трех линий крыс, тогда как содержание НА зависело от линии животных и исследуемой структуры. Наблюдаемые изменения имеют больше отличий от тех, что наблюдаются у крыс при им-

мобилизационном стрессе, и более схожи, но не однозначны, с изменениями данных моноаминов у крыс при стрессах, вызванных электрокожным раздражением, что свидетельствует в пользу отличий психогенного стресса «сбоя» УРАИ, который рассматривается как сочетание реакции рассогласования и действия ноцицептивного стимула, от простого действия ноцицептивного стимула при стрессе, вызванном только электрокожным раздражением лап животного. В то же время известно, что в основе нейрoхимических механизмов эмоционального стресса лежат избирательная реорганизация нейрoхимических свойств и пластическая перестройка катехоламинового метаболизма нейронов эмоциогенных зон мозга, в результате чего формируется новая нейромедиаторная интеграция, определяющая существование отрицательного эмоционального состояния и запускающая весь комплекс соматовегетативных проявлений эмоциональных реакций и эмоционального стресса [14].

Как показали полученные нами данные, при «сбое» УРАИ изменения уровня моноаминов мозга затрагивают преимущественно взаимодействие серотонин- и норадренергической систем. При этом отмечается резкое повышение уровня серотонина, что может быть адаптивной реакцией на стресс-воздействие, и падение уровня НА. Дофаминергическая система, видимо, менее задействована в механизмах стресса, так, в наших исследованиях было отмечено только ускорение метаболизма ДА без значимых изменений уровня самого ДА. Тем не менее, эти изменения могут отражать изменения двигательной активности и в некоторой степени быть связаны с МСР.

Однако наряду с исследуемыми в данной работе системами нейромедиаторов необходимо учитывать влияние и опиоидергической системы, которая активируется при эмоционально-болевым стрессе [45, 46]. Можно предполагать, что при электроболевым стрессе большую роль в «нормализации» соотношений моноаминов играет опиоидергическая система, по крайней мере, у крыс линии Wistar и Fischer-344, так как крысы линии WAG имели меньшее увеличение серотонина. Кроме того, у крыс линии WAG обнаружена меньшая аффинность серотониновых рецепторов в структурах мозга [13]. Как известно [23], серотонинмиметические вещества, прямо или косвенно активирующие С1-рецепторы (а они имеют высокий аффинитет к ^3H -серотонину) или блокаторы С2-рецепторов оказывают положительное влияние на дефицит поведения в ситуации острого стресса. Это согласуется и с данными [37], показавшими корреляцию зависимости от морфина с суперчувствительностью 5HT1A-рецепторов и 2-адренорецепторов. Таким образом, увеличение содержания серотонина в наших опытах может быть адаптивной реакцией, направленной на уменьшение последствий стресс-воздействия. Следует отметить, что увеличение синтеза и содержания серотонина в структурах головного мозга животных при стрессовых реакциях отмечалось многими авторами [4, 19, 41]. В то же время проявления стрессовых реакций при «сбое» УРАИ, несмотря на увеличение содержания серотонина у крыс обеих линий, указывает на недостаточность его стресспротекторного действия при данной модели стресса — модели «сбоя» УРАИ.

Также в наших опытах наблюдалось уменьшение содержания НА. Как известно [14], снижение уровня НА (по крайней мере, в гипоталамусе) является наиболее характерным признаком эмоционального стресса. Усиленный расход медиатора может вызывать активацию синтеза НА,

который, однако, не всегда может полностью компенсировать его уменьшение. Другим механизмом, направленным на компенсацию дефицита НА, может быть снижение нейронального захвата. Падение же МСР после «сбоя» УРАИ может быть связано с замедлением выброса ДА. Поскольку в ряде работ показано, что взаимодействие энкефалинов с дофаминергической системой осуществляется через ГАМК-Кергические нейроны [6, 29], то такое замедление может быть результатом взаимодействия опиоидергической, ДА-ергической и ГАМКергической систем.

Следует отметить, что после «сбоя» не наблюдалось достоверных изменений уровня содержания ДА в стриатуме, за исключением крыс линии WAG, хотя при этом имело место увеличение ДОФУК у крыс линии WAG и только ДОФУК и ГВК у крыс линии Fischer, что указывает на некоторое усиление метаболизма ДА без изменения его содержания. Это совпадает с данными других авторов, показавших отсутствие изменений содержания ДА в стриатуме, а также в перегородке и миндалине крыс при стрессе, вызванном перемежающимся электрораздражением лап животного [44].

Как следует из табл. 4, сравнивая содержание исследуемых веществ в структурах мозга всех трех исследуемых линий после «сбоя» УРАИ, можно видеть отсутствие достоверных различий в содержании 5-ОИУК и НА в коре, 5-ОУК и НА в гиппокампе и ДА в стриатуме. В то же время содержание серотонина у крыс линии WAG было меньше, чем у крыс Wistar и Fischer-344, а 5-кратный «сбой» приводил у них к большему падению правильных выполнений УРАИ (в 1,72 раза) по сравнению с Wistar (1,46 раза) и Fischer-344 (1,26 раза). Это соотношение может быть связано с недостатком серотонина, так как его содержание, как уже указывалось выше, важно для адаптации к стресс-воздействию и, в свою очередь, с меньшим содержанием эндогенных опиоидов.

У крыс линии Fischer-344 по сравнению с Wistar и WAG также наблюдалось меньшее содержание НА, что связывается с недостаточным количеством ДА-гидроксилазы, так как содержание ДА не отличалось от двух других линий.

Выводы

1. Выявлена зависимость между генетически детерминированными индивидуальными особенностями, устойчивостью к стресс-воздействию и содержанием биогенных аминов мозга.
2. Функционально-обратимое нарушение высшей нервной деятельности («сбой») приводит к значительному падению процента УРАИ и количества МСР.
3. При «сбое» УРАИ главную роль играет взаимодействие серотонинергической, норадренергической и опиоидергической системы. При этом повышение уровня серотонина является адаптивной, но недостаточной реакцией для уменьшения последствий стресс-воздействия.
4. Морфин-резистентные крысы линии WAG менее устойчивы к действию стресса, чем морфинчувствительные крысы Wistar и Fischer-344.
5. Представленная в работе экспериментальная модель функционально-обратимого нарушения поведения дает представление о взаимодействии функциональных систем мозга, в частности нейромедиаторной и опиоидергической в компенсаторных механизмах при психоэмоциональном стрессе. Увеличение уровня серотонина у животных с наибольшим содержанием эндогенных опиоидов

ведет к восстановлению поведения, нарушенного стресс-воздействием. При малом содержании опиоидов указанные нарушения плохо восстанавливаются. Таким образом, можно сделать вывод, что комплексная патогенетически обоснованная терапия в клинике наркологии наиболее перспективна с учетом необходимости воздействия как на эндогенную опиоидную систему (поскольку уровень, в частности лей-энкефалина, резко снижен у данного контингента больных в постабстинентном периоде [11] и является мотивационнообразующим фактором возобновления наркотизации), так и на серотонинергическую нейромедиаторную систему с целью нормализации психоэмоциональных нарушений, сопутствующих данному виду заболеваний.

Список литературы

1. Айрапетянц М.Г. Психоэмоциональный стресс и нейрогуморальные реакции // Психоэмоциональный стресс. — НИИНФ. — 1992. — С. 103–111.
2. Ашмарин И.П. Нейромедиаторы и нейромодуляторы. Эволюция соединений и эволюция гипотез // Ж. эволюц. биохим. и физиол. — 1979. — Т. 15, №3. — С. 278–282.
3. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. — М., 1991.
4. Горбунова А.В. Биогенные амины ядер мозга крыс Август и Вистар при повторяющемся стрессе // Журн. ВНД. — 1998. — Т. 48, №6. — С. 1051–1057.
5. Горбунова А.В., Иваницкая В.В., Петрова Н.В., Белова Т.И. Гематоэнцефалический барьер при эмоциональном стрессе // Психоэмоциональный стресс. — М.: НИИНФ, 1992. — С. 27–36.
6. Илюченко Р.Ю., Дубровина Н.И., Подгорная Е.К. Механизмы генетической регуляции памяти // Вестник РАМН. — 1998. — №9. — С. 24–29.
7. Иноземцев А.Н., Литвинова С.В., Калужный Л.В. Сравнительная характеристика стрессоустойчивости крыс линии Вистар и беспородных к «сбою» реакции избегания // Журн. ВНД. — 1992. — Т. 42, №4. — С. 803–805.
8. Иноземцев А.Н., Прагина Л.Л. Обратимое нарушение реакции избегания как методическое средство для изучения действия психотропных препаратов на высшую нервную деятельность // Ж. высш. нервн. деят. — 1989. — Т. 34, №4. — С. 764–766.
9. Калужный А.Л. Особенности формирования реакции избегания и избегания на ноцицептивный раздражитель у крыс линий Wistar и WAG // 2-я Конференция Российского общества по изучению боли. — СПб, 1995. — С. 218–220.
10. Константинопольский М.А., Тюрина И.В., Суркова Л.А. Медико-биологические проблемы алкоголизма. — М., 1988. — С. 56–60.
11. Литвинова С.В., Надеждин А.В., Шульговский В.В. и др. Применение малых доз налоксона в комплексной терапии постабстинентного героинового синдрома: энкефалиназные механизмы // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2001. — №11. — С. 535–537.
12. Мирошниченко И.И., Кудрин В.С., Раевский К.С. Влияние карбидина, сульпирида и галоперидола на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс // Ж. фармакол. токсикол. — 1988. — Т. 51, №2. — С. 26–29.
13. Тюрина И.В., Русаков Д.Ю., Судаков С.К. Генетические особенности альфа2-адренергической и S2-серотонинергической систем головного мозга в реализации болевого рефлекса отдергивания хвоста и подавлении его морфином у крыс // Ж. эксп. и клин. фармакол. — 1995. — Т. 58, №2. — С. 22–24.
14. Юматов Е.А. Нейромедиаторная интеграция эмоционального возбуждения и механизмы устойчивости к стрессу // Вестник РАМН. — 1995. — №11. — С. 9–16.
15. Airio J., Ahtee L. Role of cerebral dopamine and noradrenaline in the morphine-induced locomotor sensitisation in mice // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1997. — Oct. — Vol. 58, №2. — P.379–386.
16. Atweh S.F., Kuhar M.J. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. II. The brain stem // Brain Res. — 1977. — Vol. 129. — P. 1–12.

17. Bensemama D., Gascon A.L. Relationship between analgesia and turnover of brain biogenic amines // Can. J. Physiol and Pharmacol. — 1978. — Vol. 56. — P. 721–730.
18. Besson A., Privat A.M., Eshalier A., Fialip J. Dopaminergic and opioidergic mediations of tricyclic antidepressants in the learned helplessness paradigm. // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1999. — Nov. — Vol. 64, №3. — P. 541–548.
19. Clement H.W., Kirsch M., Hasse C., Opper C., Gerns D., Wesemann W. Effect of repeated immobilization on serotonin metabolism in different rat brain areas and on serum corticosterone // J. Neural. Transm. — 1998. — Vol. 105, №10–12. — P. 1155–1170.
20. Del Rosario C.N., Pacchioni A.M., Canela L.M. Influence of acute or repeated restraint stress on morphine-induced locomotion: involvement of dopamine, opioid and glutamate receptors // Behav. Brain Res. — 2002. — Aug 21. — Vol. 134, №1–2. — P. 229–238.
21. Del Rosario Capriles N., Canela L.M. Motivation effect mu and kappa-opioid agonists following acute and chronic restraint stress: involvement of dopamine D1 and D2 receptors // Behav. Brain Res. — 2002. — May. — Vol. 14–132, №2. — P. 159–169.
22. Devoto P., Flore G., Pira L., Diana M., Gessa G.L. Co-release of noradrenaline and dopamine in the prefrontal cortex after acute morphine and during morphine withdrawal // Psychopharmacology (Berl.). — 2002. — Mar. — Vol. 160, №2. — P. 220–224.
23. Gouret C.J., Porsolt R., Wettstein J.G., Puech A., Soulard C., Pascaud X., Junien J.L. Biochemical and pharmacological evaluation of the novel antidepressant and serotonin uptake inhibitor 2-[3,4-Dichlorobenzyl]-2-dimethylamino-1-propanol hydrochloride // Arzneimittelforschung. — 1990. — Jun. — Vol. 40, №6. — P. 633–640.
24. Grosz H.I. Effect of propranolol on active users of heroin // Lancet. — 1973. — Vol. 2. — P. 612.
25. Hayward M.D., Low M.J. Naloxone's suppression of spontaneous and food-conditioned locomotor activity is diminished in mice lacking either the dopamine D2 receptor or enkephalin // Brain Res. Mol. Brain Res. — 2005. — Oct 31. — Vol. 140, №1–2. — P. 91–98.
26. Hughes J. Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine // Brain Res. — 1975. — Vol. 88. — P. 295–308.
27. Kaluzhnyi A., Litvinova S., Inozemtsev A., Shulgovsky V. Monoamine changes in brain structures during stress in rats of different strains // Forum of European Neuroscience — 1998. — Berlin.
28. Kempf E., Gill M., Lack G., Mandel P. Effect of acute morphine administration on the catecholamine metabolism of three strains of mice // Psychopharmacol. Commun. — 1976. — Vol. 2. — P. 241–250.
29. Lloyd K.G., Morselli P.L. Psychopharmacology of GABA-ergic drugs // Psychopharmacology: The third generation of progress / Ed. H.Y. Meltzer. — N.Y.: Raven press, 1987. — P. 183–195.
30. Lee R.L., Sewell R.D.E., Spencer P.S.J. Antinociceptive activity of D-Ala²-D-Leu⁵-enkephalin [BW 180C] in the rat after modification to central 5-hydroxytryptamine function // Neuropharmacology. — 1979. — Vol. 18. — P. 711–717.
31. Mori A., Hiramatsu M., Kabuto H., Marescau B. Effects of emotional stress on el-mouse convulsion, and its biochemical background // Эмоции и поведение: системный подход. — М., 1984. — С. 217–216.
32. Marwaha J., Frank G.B. Candidate mechanisms for inhibition of neurotransmitter release by narcotic analgesics and endorphins // Drug and Alcohol Dependence. — 1980. — Vol. 5. — P. 69–80.
33. Montel H., Starke K., Taube H.D. Influence of morphine and naloxone on the release of noradrenaline from rat cerebellar cortex slices // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. — 1975. — Vol. 288. — P. 427–433.
34. Pert C.B., Snyder S.H. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue // Science. — 1973. — Vol. 179, №4075. — P. 1011–1014.
35. Pollard H., Liorens-Cortes C., Scheartz J.C. Enkephalin receptors on dopaminergic neurons in rat striatum // Nature. — 1977. — Vol. 268. — P. 745–747.
36. Resnick R.B., Kostenbaum R.S., Schwartz L.K., Smith A. An evaluation of propranolol in opiate dependence // Probl. Drug. Depend. — Washington: D.C., 1975. — P. 518–532.
37. Sastre-Coll A., Esteban S., Garcia-Sevilla J.A. Supersensitivity of 5HT_{1A} autoreceptors and alpha 2-adrenoceptors regulating monoamine synthesis in the brain of morphine-dependent rats // Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. — 2002. — Mar. — Vol. 365, №3. — P. 210–219.
38. Segal M. Morphine and enkephalin interactions with putative neurotransmitters in rat hippocampus // Neuropharmacology. — 1977. — Vol. 16. — P. 587–592.
39. Sills T.L., Fletcher P.J. Fluoxetine attenuates morphine-induced locomotion and blocks morphine-sensitization // Eur. J. Pharmacol. — 1997. — Oct 22. — Vol. 337, №2–3. — P. 161–164.
40. Sugrue M.F., McIndewar I. Effect of blockade of 5-hydroxytryptamine re-uptake on drug-induced antinociception in the rat // J. Pharm. and Pharmacol. — 1976. — Vol. 28. — P. 447–448.
41. Summers C.H., Larson E.T., Summers T.R., Renner K.J., Greenberg N. Regional and temporal separation of serotonergic activity mediating social stress // Neuroscience. — 1998. — Nov. — Vol. 87, №2. — P. 489–496.
42. Takahashi M., Izumi R., Kaneto H. The role of the catecholaminergic mechanism in foot shock [FS] stress — and immobilized — water immersion [IW] stress—induced analgesia in mice // Japan J. Pharmacol. — 1984. — Vol. 35. — P. 175–179.
43. Takeshigi C. Synaptic transmission in acupuncture analgesia / Ed. Takeshigi C. Showa University, 1992. — 334 p.
44. Thierry A., Blanc G., Glowinski J., Tassin J. Brain dopaminergic systems in stress // Molecular basis of neural function. — 1986. — P. 68.
45. Van den Berg C.L., Lamberts R.R., Wolterink G., Wiegant V.M., Van Ree J.M. Emotional and footshock stimuli induce differential long-lasting behavioural effects in rats; involvement of opioids // Brain Res. — 1998. — Jul 13. — Vol. 799, №1. — P. 6–15.
46. Vivian J.A., Miczek K.A. Effects of mu and delta opioid agonists and antagonists on affective vocal and reflexive pain responses during social stress in rats // Psychopharmacology (Berl.). — 1998. — Oct. — Vol. 139, №4. — P. 364–375.
47. Wang G.J., Volkow N.D., Fowler J.S. et al. Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal // Neuropsychopharmacology. — 1997. — Feb. — Vol. 16, №2. — P. 174–182.

THE ROLE OF MONOAMINERGIC BRAIN SYSTEMS IN STRESS MECHANISMS IN RAT STRAINS WITH DIFFERENT SENSITIVITY TO MORPHINE

**KALIUSHNIY A.L.
LITVINOVA S.V.
SHULGOVSKIY V.V.**

Genetic-determined individual properties of resistance to emotional stress were studied. The correlation between biogenic amines concentration in different brain structures and resistance to stress was showed in model of «sboi» — functional-reversed disturbance of higher nervous activity. It was found, that morphine-resistant WAG rats showed less resistance to stress to comparing with morphine-sensitive rats Wistar and Fischer-344 strains. WAG rats were more liability to stress due to less affects endogenous opioids to serotonergic system. It was supposed, that augmenter 5-HT concentration in brain structures is adaptive but insufficiency reply to stress in «sboi» model.