

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫХ:
ВОСПРИЯТИЕ ВНЕШНИХ СТИМУЛОВ,
ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ, ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ**

УДК 616-092.9+59.084+59.088

**СОЦИАЛЬНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ ВЫЗЫВАЕТ АДДИКТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ
И УВЕЛИЧЕНИЕ ВЫБРОСА ДОФАМИНА
В ПРИЛЕЖАЮЩЕМ ЯДРЕ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ЗОНЫ
ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ПОДКРЕПЛЕНИЯ**

© 2024 г. С. С. Пюрвеев^{1, 2}, А. А. Лебедев^{1, *}, В. В. Сизов¹, Е. Р. Бычков^{1, 3},
В. Н. Мухин¹, Н. Д. Надбитова¹, А. В. Дробленков¹, П. Д. Шабанов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»,
Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

Поступила в редакцию 25.04.2024 г.

После доработки 07.06.2024 г.

Принята к публикации 22.07.2024 г.

Исследование роли социальной изоляции в патогенезе аддиктивных расстройств поведения является важной медико-биологической проблемой. Особое значение имеют ограничения социального опыта в онтогенезе. В работе сделана попытка найти связь между социальной изоляцией в онтогенезе и импульсивно-компульсивным поведением как индикатором преморбидного фона для игровой и иных форм поведенческих зависимостей. Исследовали механизмы аддиктивного поведения у крыс, выращенных в изоляции (IS), с помощью анализа внеклеточного высвобождения дофамина в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления. До проведения опытов самцов крыс содержали в индивидуальных клетках с 21-го дня рождения по 90-й день. Для изучения элементов аддиктивного поведения применяли вариант Iowa Gambling Task в 3-лучевом лабиринте и метод выработки компульсивного переедания, используя прерывистое потребление высококалорийной пищи. Для изучения компульсивного поведения применяли тест закапывания шариков на фоне отмены высококалорийной диеты. Производили операции по вживлению электродов в вентральную тегментальную область (VTA) и в прилежащее ядро у крыс, проявляющих элементы аддиктивного поведения в 3-лучевом лабиринте. Далее этих животных обучали реакции самостимуляции VTA. Регистрацию высвобождения дофамина осуществляли телеметрически у свободно передвигающихся крыс в ответ на электрическое раздражение зоны самостимуляции VTA. Для определения изменений уровня дофамина во внеклеточной среде прилежащего ядра использовали метод циклической вольтамперометрии с быстрым сканированием. IS меньше заходили в рукав лабиринта с высокой степенью вероятности, но с низким вознаграждением и больше заходили в рукав с низкой степенью вероятности, но с высоким вознаграждением, что связано с появлением импульсивности в поведении. В модели компульсивного переедания у IS число подходов к кормушке увеличивалось, а на фоне отмены высококалорийной пищи IS были более активны в тесте закапывания шариков. У IS, проявляющих элементы аддиктивного поведения в лабиринте, содержание внеклеточного дофамина в ответ на электрическое раздражение зон самостимуляции VTA не выявило различий по сравнению с контрольной группой крыс с аддиктивным поведением в лабиринте. В то же время у IS, проявляющих элементы аддиктивного поведения в лабиринте, наблюдался более выраженный дофаминовый ответ на комплексный раздражитель: условный сигнал, используемый при обучении в лабиринте, свет + стимуляция VTA. Таким образом, выращивание в IS вызывает повышение высвобождения дофамина в прилежащем ядре в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления, ассоциированную с элементами аддиктивного поведения — импульсивностью и компульсивностью.

Ключевые слова: социальная изоляция, внеклеточный дофамин, аддиктивное поведение, самостимуляция

DOI: 10.31857/S0044467724040083

ВВЕДЕНИЕ

Исследование роли социальной изоляции в патогенезе аддиктивных расстройств поведения является важной медико-биологической проблемой. Особое значение имеют ограничения социального опыта в онтогенезе. В данной работе сделана попытка найти связь между социальной изоляцией в онтогенезе и импульсивно-компульсивным поведением как индикатором преморбидного фона для игровой и иных форм поведенческих зависимостей. В настоящей работе исследовали механизмы аддиктивного поведения у крыс, выращенных в изоляции (IS), с помощью анализа внеклеточного высвобождения дофамина в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления. В то же время в доступной литературе исследований высвобождения дофамина в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления после предварительной ее идентификации у крыс IS показано не было.

Действие стрессоров в раннем возрасте повышает вероятность формирования психических и аффективных расстройств, употребление алкоголя и психоактивных средств (Watt et al., 2017). Показано, что эмоциональные стрессы в раннем онтогенезе коррелируют с распространением алкогольной и наркотической зависимости (Douglas et al., 2010). Выращивание грызунов в условиях социальной изоляции (IS) может служить моделью хронического стресса (Григорьян и др., 2022; Lebedev et al., 2023). У животных IS наблюдается повышенное потребление алкоголя и самовведение кокаина (Butler et al., 2016), тревожное и депрессивно-подобное поведение (Krupina et al., 2020; Павлова и др., 2022), снижение адаптации в среде (Han et al., 2012), повышение потребления пищи (Лебедев и др., 2021). У IS отмечен комплекс поведения с агрессивностью и увеличением активности, но при этом — с повышенной депрессивностью и тревожностью, так называемый «синдром социальной изоляции». Он развивается на основе повышения чувствительности звеньев подкрепляющей системы мозга (Шабанов и др., 2004). Наличие синдрома создает предпосылки для формирования у животных IS аддиктивного поведения, химических и нехимических зависимостей и предполагает возможность изучения у них аддиктивных расстройств поведения (Пюрвеев и др., 2023). Действие алкоголя и прихотропных средств у животных IS было показано ранее, в то же время нехимические зависимости (такие как пищевая, игровая и др.) не получили должной разработки. При исследовании нехимической зависимости объектом изучения является поведенческий паттерн, а не психоактивное вещество. Нехимические зависимости имеют много общего с химическими: механизмы формирования, наличие синдрома отмены, а также общие

психофизиологические и нейробиологические характеристики (Егоров, 2020).

Нехимические зависимости имеют общие характеристики с расстройствами обсессивно-компульсивного спектра и расстройствами импульсивного спектра, где заболевания характеризуются рискованным поведением (Егоров, 2020). Компульсивное (приступообразное) переедание (compulsive overeating, binge eating disorder) — нарушение пищевого поведения, включено в DSM-5, является формой проявления нехимической зависимости и поведенческим расстройством импульсивности и компульсивности. В последние годы начали применять модели компульсивного переедания на животных (Лебедев и др., 2023). Игровое расстройство (gambling) — аддиктивное побуждение, направленное на вознаграждение большей силы, проблемный паттерн повторяющихся игр, включено в DSM-5 в качестве нехимической формы зависимости. Сюда входят офлайн- и онлайн-игры. Игровая зависимость является поведенческим расстройством импульсивности и компульсивности. В последние годы начали применять модели игровой зависимости на животных (Пюрвеев и др., 2023).

С клиническими проявлениями игровой и пищевой зависимостей связывают нарушение нейронных систем мезолимбической системы, префронтальной коры, поясной коры, гиппокампа, миндалины, орбитофронтальной коры, островковой коры и стриатума (Raimo et al., 2021). Очевидным является вклад медиаторных систем мозга — серотониновой, опиоидной, CRH, глутамата, ГАМК при ведущей роли дисфункции дофаминовой системы (Lebedev et al., 2023).

В настоящей работе мы регистрировали физические повышения внеклеточного уровня дофамина у IS в прилежащем ядре (NAc) в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления вентральной тегментальной области (VTA). NAc и VTA, структуры дофаминовой системы мозга, играют важную роль в формировании механизмов подкрепления и регуляции стресса в онтогенезе. Система дофамина продолжает развиваться на протяжении всего периода до полового созревания, а воздействие стрессовых и аверсивных раздражителей может ее нарушить (Мухин и др., 2017). Во время постнатального развития наблюдаются изменения плотности рецепторов дофамина, содержания тирозингидроксилазы, базального дофамина и экспрессии его рецепторов (Doremus-Fitzwater et al., 2016). Хронический стресс в подростковом периоде приводит к потере экспрессии и функции D₃ рецепторов дофамина в гиппокампе (Seo et al., 2015).

У животных IS показаны устойчивые изменения дофаминергической передачи. У крыс IS отмечен низкий уровень внеклеточного дофамина в NAc (Karkhanis et al., 2016), но содержание и обмен

дофамина в мозге у IS были выше (Miura et al., 2002). Высвобождение дофамина, вызванное электрической стимуляцией, у IS также было выше, как и его обратный захват (Yorgason et al., 2016). У крыс IS отмечалось увеличение высвобождения дофамина, вызванное воздействием этанола, кокаина и электрической стимуляции по лапам (Karkhanis et al., 2014). Таким образом, базальный уровень дофамина у IS снижен, а его ответные реакции на стимулы оказываются сильнее, возможно, из-за изменений возбудимости дофаминовых нейронов или механизмов, связанных с высвобождением дофамина.

Целью работы было изучить дофаминовые механизмы аддиктивного поведения на моделях пищевой и игровой зависимости у крыс IS с помощью анализа высвобождения дофамина во внеклеточное пространство NAc в ответ на электрическое раздражение зоны самостимуляции VTA.

МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на 38 половозрелых крысах самцах Вистар массой 250–300 г (рис. 1). Предварительно для их выращивания в изоляции были получены самки 17–18 дней беременности из питомника «Рапполово» (Тосненский район Ленинградской области). Контролировали рождение крысят и помещение их в условия социальной изоляции. В виварии ФБГНУ «ИЭМ» животных содержали в стандартных клетках (40 × 50 × 20 см) при свободном доступе к воде и гранулированному корму. Использовали световой режим с 8.00 до 20.00 и при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Модель социальной изоляции. На следующий день после окончания молочного вскармливания, т.е. на 21-й день после рождения, самцов помещали в индивидуальные клетки (40 × 30 × 25 см³). Крыс содержали при температуре +23°C. К началу опыта возраст животных IS и сгруппированных крыс (GR) был одинаков (90–100 дней). Как было показано в наших исследованиях, социальная изоляция в период с 21 по 100 сутки после рождения вызывает комплекс поведения с агрессивностью и увеличением активности, но при этом – с повышенной депрессивностью и тревожностью, так называемый «синдром социальной изоляции». Он развивается на основе повышения чувствительности звеньев подкрепляющей системы мозга (Шабанов и др., 2004). После каждого опыта IS помещались в свои индивидуальные клетки.

Для исследования импульсивности при игровой зависимости применяли вариант Iowa Gambling Task (Lebedev et al., 2023). Идея теста состоит в возможности изучения предпочтения животным подкрепления разной силы и вероятности. Установка (модифицированный 3-лучевой лабиринт) включала стартовую площадку (33 × 50 × 35 см) и 3 рукава

(по 50 × 15 × 35 см). В конце каждого из рукавов находилась кормушка с автоматическим управлением. Пищевое подкрепление (семена подсолнечника) осуществлялось при достижении кормушки. Когда животное выходило из рукава на стартовую площадку, происходила подача следующего подкрепления. Фиксировали побежки к кормушке и возвращения в стартовую камеру в течение 10 мин. Животных обучали ежедневно 1 раз в течение 21 дня. Животных кормили, ограничивая время питания, 4 ч в сутки, при этом осуществлялся свободный доступ к воде.

Эксперименты по обучению крыс в трехлучевом лабиринте проводили в 2 этапа. На первом этапе применяли тренировочный (упрощенный) режим пищевого подкрепления для образования условной связи (рукав – кормушка). При каждом выборе рукава 1 животное получала одно семя подсолнечника. При каждом выборе рукава 2 подавали 2 семени и при каждом выборе рукава 3 осуществляли подачу 3 семян. Тренировочный режим подачи пищевого подкрепления длился 5 дней. В течение последующих двух дней эксперименты не осуществляли. На 8-й день приступали ко второму этапу обучения и изменяли режим пищевого подкрепления с разной вероятностью и силой подкрепления. При каждом заходе рукава автоматически включался свет 100лк в течение 2 секунд. В рукаве 1 подавали два семени (режим подкрепления FR1-2). При этом каждое достижение кормушки подкреплялось пищей. В рукаве 2 подавали 3 семени в режиме FR2-3 и подкрепляли каждую вторую побежку к кормушке, в рукаве 3 подавали 4 семени в режиме FR3-4 (т.е. только каждая 3-я побежка к кормушке подкреплялась пищей). Таким образом, без вознаграждения оставались 1/2 заходов во 2-й рукав и 2/3 заходов в 3-й рукав лабиринта. В этом режиме крыс обучали 2 недели. На 1-м и 2-м этапах обучения применяли разное по силе и вероятности подкрепление для моделирования ситуации, приближенной к азартным играм к концу обучения (Persons et al., 2017). Крыс, не совершавших заходы в рукава лабиринта, из эксперимента изымали (не более 15%) (Lebedev et al., 2023).

Метод компульсивного переедания высококалорийной пищи (Boggiano et al., 2007). Крысы получали в течение 1 ч доступ к пище с высоким содержанием углеводов раз 3 дня в течение 30 дней. Высококалорийная пища представляла собой пасту, приготовленную путем смешивания шоколадной пасты Nutella (Ferrero, Alba, Турин, Италия), измельченного гранулированного корма для крыс (4RF18; Mucedola; Settimo Milanese) и воды в следующем соотношении вес/вес соотношение: 52% Nutella, 33% пищевых гранул и 15% воды. Калорийность рациона при этом составляла 3.63 ккал/г. Стандартный гранулированный корм

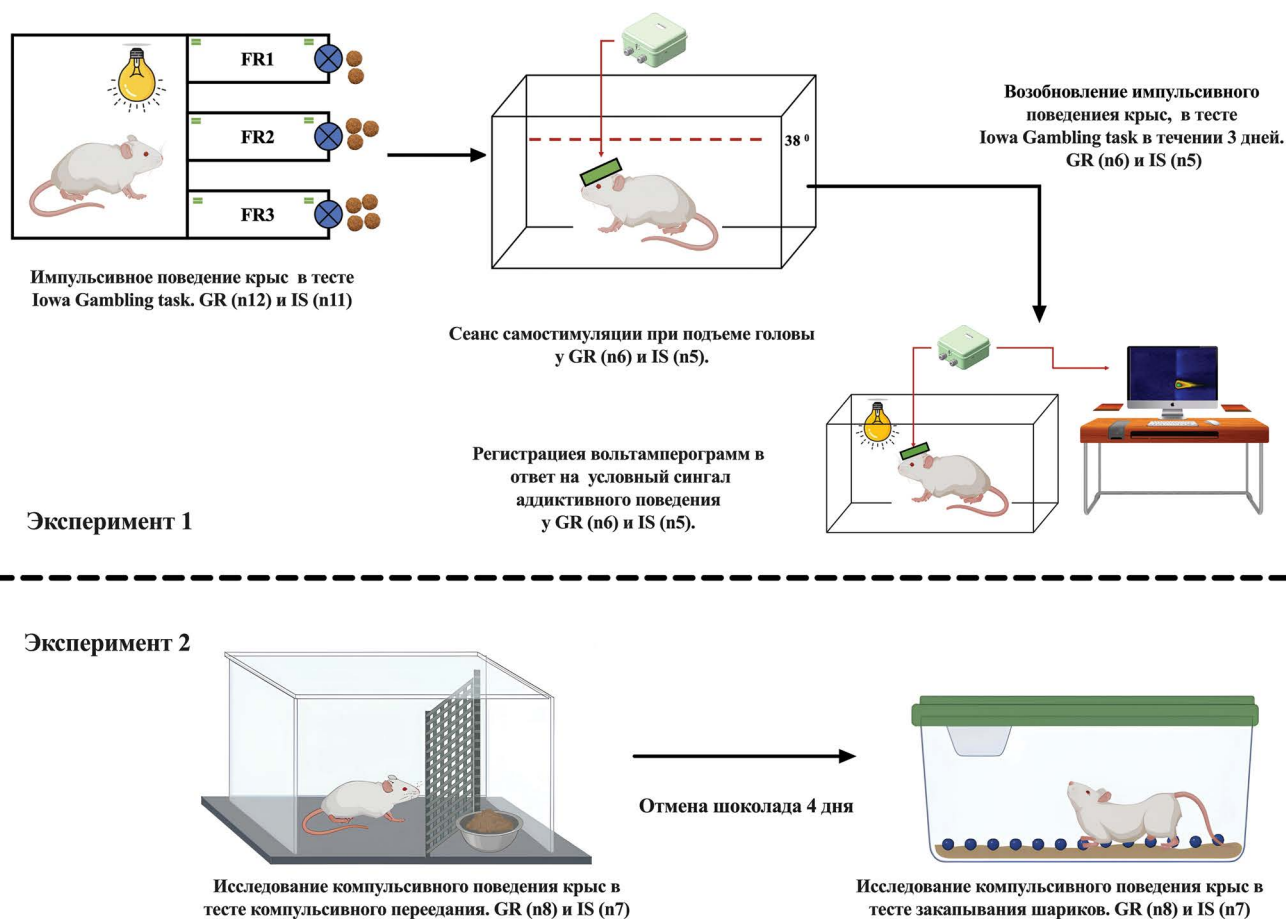


Рис. 1. Общий дизайн эксперимента.
Fig. 1. General experimental design.

для крыс подавался каждый день из расчета суточной нормы питания. Потребление смеси пасты Nutella подавалось в отдельной кормушке.

Высококалорийную пищу помещали в 5 см досягаемости от животных за 15 мин до ее подачи и при полном визуальном контакте. Животное могло видеть пищу и ощущать ее запах. Животных IS содержали и кормили в своих домашних клетках. Животных GR за 2 до эксперимента рассаживали в одиночные клетки с наличием комбикорма и подавали пищевое подкрепление согласно протоколу исследования с помощью видеорегистрации. Регистрировали следующие параметры пищевого поведения: количество съеденной высококалорийной пищи за 1 ч доступа и число подходов кормушке. Вес животных определяли 1 раз в неделю в строго установленный день.

Тест «закапывание шариков». Тест применяется для изучения обсессивно-компульсивных расстройств. Тестирование проводили на фоне отмены высококалорийной диеты: через 4 дня после подачи шоколадной пасты. В клетку (20 × 25 × 18 см)

помещали опилки и равномерно 20 стеклянных шариков диаметром 1 см. Животное в течение 30 мин исследовало клетку с шариками. Определяли число шариков, закрытых опилками более чем на две трети (Dixit et al., 2020)

Операцию по вживлению электродов производили у животных, предпочитавших совершать заходы в рукав трехлучевого лабиринта (GR (n = 8) и IS (n = 7)). Животных, не предпочитавших заходы в рукав трехлучевого лабиринта (не демонстрирующих отчетливые элементы аддиктивного поведения), не оперировали. Крыс наркотизировали золетилом-100, 50 мг/кг (Valdepharm, Франция). В VTA вживляли электрод для стимуляции (стальной биполярный электрод толщиной 0.2 мм с изоляцией). Координаты электрода относительно брегмы: AP = -5.3 мм, L = 0.8 мм, H = 8.2 мм (Paxinos, Watson, 2005). Для регистрации повышений уровня DA в NA сипсилатерально вживляли углеродный электрод в стеклянной изоляции (длина не покрытого изоляцией конца углеволокна 100 мкм и толщина 7 мкм). Электрод для регистрации имплантировали согласно

координатам: AP = +2.0 мм (от брегмы); L = 1.2 мм; H = 7.3 мм от поверхности черепа (Paxinos, Watson, 2005). Вживляли также электрод сравнения диаметром 3 мм из прессованного Ag/AgCl по координатам: AP = +5.5 мм (от брегмы); L = 0. Для крепления электрода на поверхности черепа использовался акрил с УФ-отверждением. Далее в течение 1 недели животных содержали в индивидуальных клетках для восстановления после оперативного вмешательства (Пюрвеев и др., 2022).

Для проведения настоящих исследований нами был разработан аппаратно-программный комплекс регистрации высвобождения дофамина методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии при электрической стимуляции зоны положительного подкрепления. Эксперимент выполнен с помощью телеметрического аппаратно-программного комплекса «Циклон», включающего в себя несколько блоков: блок быстросканирующей циклической вольтамперометрии (FSCV) (потенциостат), электрический раздражитель (стимулятор нервной ткани), световой и звуковой раздражитель, акселерометр для определения положения головы, блок видеорегистрации положения крысы (Сизов и др., 2023).

Эксперименты по изучению реакции самостимуляции проводили на двух группах животных GR (n = 8) и IS (n = 7) в кольцевой камере (внешним диаметром 50 см и внутренним диаметром 26 см). Определяли число подъемов головы на 38° и порог реакции самостимуляции (в мкА) за 10 мин опыта. Реакцию самораздражения проводили в режиме FR1, т.е. каждый подъем головы подкрепляли электрической стимуляцией VTA (длительность прямоугольного импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0.5 с). При определении порога раздражения подавался электрический ток нарастающими порциями длительностью по 5 с шагом по 2 мкА в навязанном режиме до появления отчетливых реакций подъема головы. Далее повышали силу тока на 50% от пороговых значений и затем ее снижали (шаг 2 мкА длительностью стимуляции 5 с) до исчезновения реакций подъема головы (Сизов и др., 2023). При тестировании реакции самостимуляции подбирали оптимальную для самостимуляции силу тока. Животных, которые не обучались реакции самостимуляции в круговой камере, из эксперимента изымали. После проведения экспериментов по определению наличия реакции самостимуляции VTA крыс тестировали в трехлучевом лабиринте в течение трех последовательных дней для возобновления элементов аддиктивного поведения в соответствии с протоколом подачи раздражителей при возобновлении условной реакции предпочтения места (Scherma et al., 2021).

Регистрацию высвобождения DA осуществляли телеметрически у крыс в свободном поведении в ответ на электрическое раздражение зоны самостимуляции VTA. Выброс дофамина оценивали

по изменению его внеклеточного уровня в прилежащем ядре *in vivo* методом циклической вольтамперометрии с быстрым сканированием (FSCV) (Пюрвеев и др., 2022). После определения порога для самостимуляции силу тока повышали на 50% от пороговой и проводили запись кинетики высвобождения дофамина в NAc у контрольных и экспериментальных животных в ответ на электростимуляцию VTA. Эти значения принимали за базовый или контрольный уровень высвобождения дофамина у животных без воздействия внешних факторов. В дальнейшем навязанная электростимуляция зоны самораздражения VTA сопровождалась включением условного сигнала, который применялся при обучении и тестировании в трехлучевом лабиринте (включение света лампы 100 лк в течение 2 сек), и производили запись вольтаграммы. Эти значения принимали за «экспериментальный» уровень высвобождения дофамина у животных с воздействием внешних факторов. Раздражение VTA осуществляли в навязанном режиме одиночной пачкой прямоугольных электрических импульсов (сила тока выше пороговой для самостимуляции на 50%, длительность импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0.5 сек).

Для регистрации повышений уровня дофамина в ответ на стимуляцию VTA использовали потенциал удержания 0.4В и продолжительность сканирования — 9 мс. Сканирующий импульс при этом подавали каждые 100 мс. Величина анодного предела составляла +1.3 В. Для анализа полученных данных применяли веб-приложение Analysis Kid с открытым исходным кодом. Приложение Analysis Kid разработано лабораторией Hashemi Lab, позволяет визуализировать, калибровать, и фильтровать нейрохимические сигналы (Mena et al., 2022).

По завершении экспериментов был произведен морфологический контроль локализации положения электродов. Крыс умерщвляли передозировкой этиламала натрия и перфузировали физиологическим раствором, затем фиксировали в формалине, мозг выделяли и заливали целлоидином, делали фронтальные срезы и окрашивали крезоловым фиолетовым по методу Ниссля (рис. 2). Область локализации электродов верифицировали после завершения эксперимента в гистологических срезах мозга, используя стереотаксический атлас (Paxinos, Watson, 2005). Для морфологической верификации следа электрода для электростимуляции в VTA делали фронтальный разрез на уровне «Bregma –5.3 мм», согласно стереотаксическому атласу. В этой области головного мозга ткань VTA наиболее обширна и представлена дофаминергическим паранигральным ядром. Для верификации следа электрода и регистрации в прилежащем ядре делали фронтальный срез на уровне «Bregma +2.7 мм» согласно атласу. Далее продолжали иссекать срезы на протяжении 0.7–1 мм до той области переднего мозга, в которой

прилежащее ядро занимает наибольшую площадь (рис. 2). В этой части мозга передняя комиссура смещалась к верхней медиальной части ядра, тогда как в его наиболее крупной средней области располагался след электрода для регистрации (рис. 2).

Для статистической обработки полученных данных применяли программу GraphPad Prism 8.1 (GraphPad Software, США). Для оценки соответствия распределений случайных величин гауссовым использовали критерий нормальности Д'Агостино-Пирсона. Анализ данных проводили с помощью методов непараметрической статистики с использованием U-критерия Манн-Уитни для малых выборок. Данные на рисунках представлены в (Q1, Me, Q3). Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В первые дни обучения животных в лабиринте для регистрации элементов игровой зависимости у животных наблюдалась двигательная активность и обнюхивания на стартовой площадке с наличием

заходов в рукава лабиринта. Крыс, предпочитавших получать подкрепление в 1-м рукаве с низким вознаграждением, но наибольшей его вероятностью рассматривали как животных со снижением импульсивности. Появление импульсивности было связано с заходами в 3-й рукав с более высоким подкреплением (4 семени), но с самой низкой вероятностью. При этом животные совершали многочисленные заходы в 3-й рукав лабиринта при очевидном снижении общего числа полученного вознаграждения по сравнению с крысами, предпочитавшими заходы в 1-й и даже во 2-й рукав. Животные GR в 2.3 раза больше заходили в 1-й рукав лабиринта по сравнению с IS ($p < 0.001$ по критерию Манн-Уитни) и получали пищевое подкрепление с высокой степенью вероятности, но с низким вознаграждением. Животные IS по сравнению с GR в 2 раза больше заходили в 3-й рукав лабиринта ($p < 0.001$ по критерию Манн-Уитни) и получали пищевое подкрепление с низкой степенью его вероятности, но с высоким вознаграждением (рис. 3 (a)). При тестировании животных в последние дни обучения выявлено, что отличия у животных IS по сравнению с GR по числу заходов в 3-й рукав лабиринта

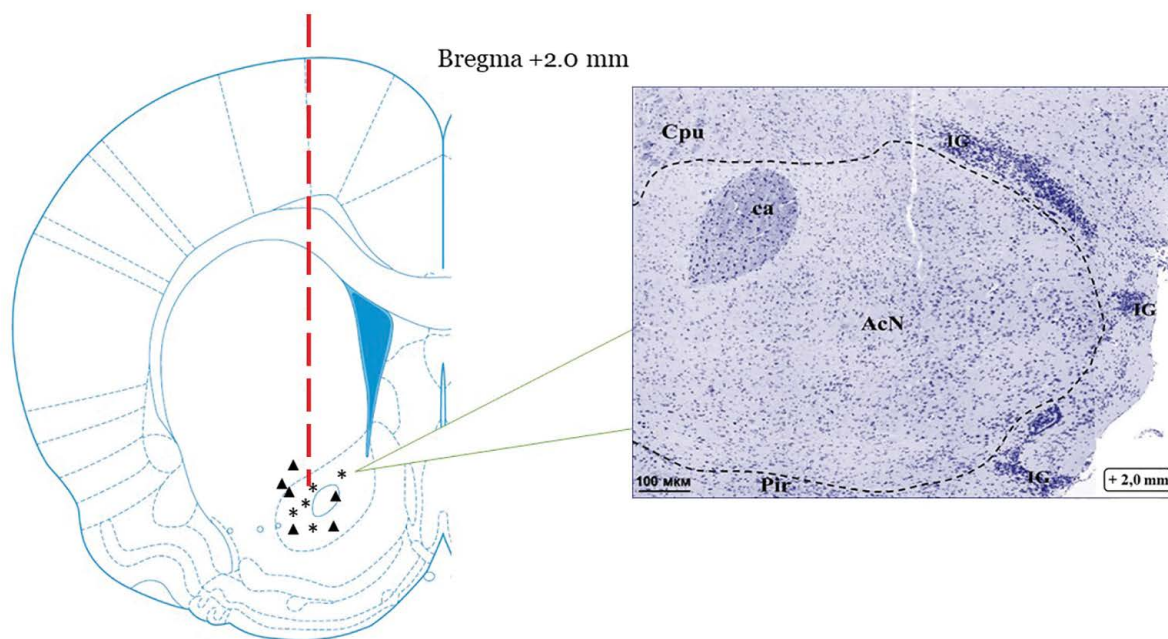


Рис. 2. Морфологический контроль локализации электродов в головном мозге крыс. *Примечание.* Справа — передняя часть AcN (прилежащего ядра) с дефектом мозга из области вживления электрода для регистрации на уровне Bregma +2.0. Обозначения: AcN — прилежащее ядро, ca — передняя спайка мозга (расположена внутри ядра); Cpu — полосатое тело, IC — обонятельные ядра, Pir — грушевидная кора (сопредельные нервные центры). Окраска крезилевым фиолетовым по методу Ниссля. Ок. $\times 10$, об. $\times 10$. Слева — картирование исследованных точек регистрации AcN.

Fig. 2. Morphological control of electrode localization in the rat brain. *Note.* On the right — the anterior part of the AcN (nucleus accumbens) with brain defect from the electrode insertion site for recording at Bregma +2.0 level. Abbreviations: AcN — nucleus accumbens, ca — anterior spike of the brain (located within the nucleus); Cpu — striatum, IC — olfactory nuclei, Pir — piriform cortex (adjacent neural centers). Stained with cresyl violet using the Nissl method. Mag. $\times 10$, obj. $\times 10$. On the left — mapping of the investigated recording points in AcN.

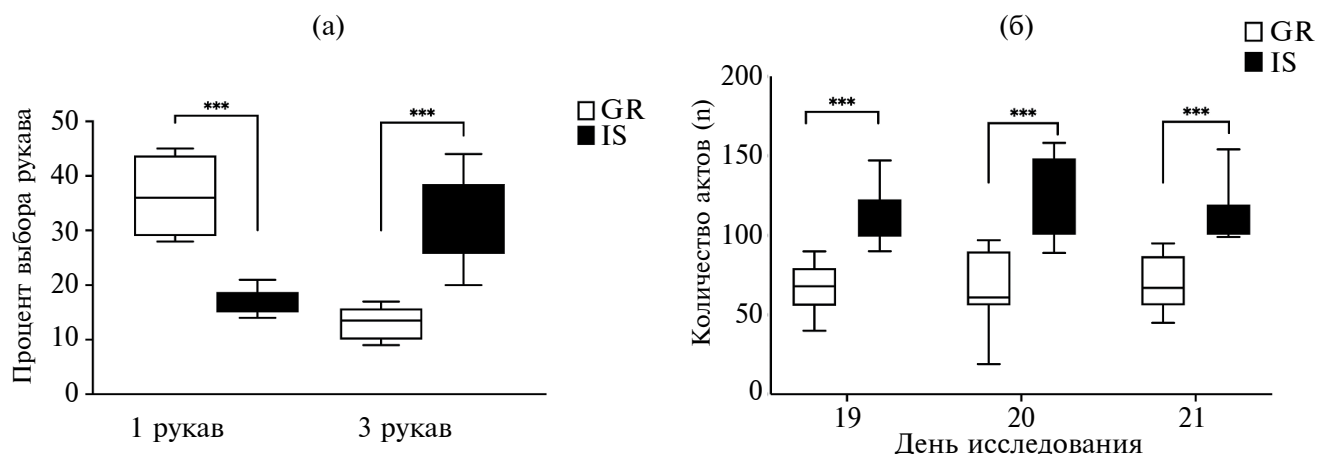


Рис. 3. Импульсивное поведение крыс, выращенных в изоляции, в тесте Iowa Gambling task. (а) – Процент заходов в рукава лабиринта. Показаны заходы в 1-й и 3-й рукава. Данные представлены в виде медианы (25–75-й процентиля). * – $p < 0.001$ различия между GR (n12) и IS (n11) по критерию Манн–Уитни. (б) – Число заходов в 3-й рукав лабиринта Iowa Gambling task. Показаны 19-й, 20-й и 21-й дни тестирования. Данные представлены в виде медианы (25–75-й процентиля). * – $p < 0.001$ различия между GR и IS по критерию Манн–Уитни.

Fig. 3. Impulsive behavior of isolation-reared rats, based on the number of entries into the maze arms in the Iowa Gambling task. (a) – Percentage of entries into the 1st and 3rd arms of the maze. Data are presented as median (25–75 percentiles). * – $p < 0.001$ significant differences between the GR and IS groups Mann–Whitney U-test. (b) – Number of entries into the 3rd arm of the maze on the 19th, 20th and 21st days of testing. Data are presented as median (25–75 percentiles). * – $p < 0.001$ significant differences between the GR (n12) and IS (n12) groups Mann–Whitney U-test.

было стабильно и воспроизводимо ($p < 0.001$ по критерию Манн–Уитни) (рис. 3 (б)).

При изучении влияния социальной изоляции на потребление шоколадной пасты при ее выдаче каждый третий день было показано, что среднее потребление за 10 дней тестирования достоверно не отличается (рис. 4 (а)). В то же время среднее число подходов к чашке с пастой у крыс IS увеличивалось более чем в 4 раза ($p < 0.001$ по критерию Манн–Уитни) по сравнению с животными GR (рис. 4 (б)). При изучении влияния социальной изоляции на потребление стандартного корма было показано, что среднее суточное потребление за 10 дней тестирования у IS увеличивается по сравнению с контрольной группой, выращенной в сообществе ($p < 0.05$ по критерию Манн–Уитни) (рис. 4 (а)). При изучении влияния социальной изоляции на компульсивное поведение на фоне отмены шоколадной диеты было показано, что крысы IS более чем в 2 раза больше закапывают шарики в marble тесте (рис. 4 (в)).

В кольцевой камере проведено тестирование животных на наличие реакции самостимуляции. При обучении подкреплялось инструментальное движение подъема головы. Не обучились реакции самостимуляции 4 крысы (2 GR и 2 IS) и были изъяты из эксперимента. Пороговая сила тока для самостимуляции составляла от 50 до 100 мкА. При значениях силы тока, пороговых для самостимуляции, наблюдали исследовательские реакции обнюхивания.

У крыс в свободном поведении проведено измерение вызванных электростимуляцией повышений внеклеточного уровня дофамина в NAc в ответ на раздражение зоны самостимуляции VTA. Эксперименты по определению изменений уровня дофамина в процессе реализации реакции самостимуляции выявило неотчетливую картину. Интервалы между отдельными движениями головы при самостимуляции сильно варьировали от 0.1 до 10 с. В этих условиях отдельные реакции высвобождения дофамина, по-видимому, накладывались друг на друга и давали неясную картину при регистрации вольтамперограмм. В связи с этим в дальнейших исследованиях по определению изменений уровня дофамина использовали навязанную стимуляцию зоны самораздражения VTA пачкой импульсов с теми же параметрами (рис. 5).

Запись кинетики высвобождения дофамина в NAc у контрольных и экспериментальных животных в ответ на электростимуляцию VTA показал, что базовая величина подъема уровня дофамина, определяемого по показателям электрохимического потенциала, у животных GR и IS без воздействия внешних факторов достоверно не отличалась (рис. 5, 6). В то же время у IS наблюдался более выраженный дофаминовый ответ на комплексный раздражитель: условный сигнал, используемый при обучении и тестировании в трехлучевом лабиринте (свет 100 лк, 2с) + стимуляция VTA ($p < 0.05$) (рис. 5).

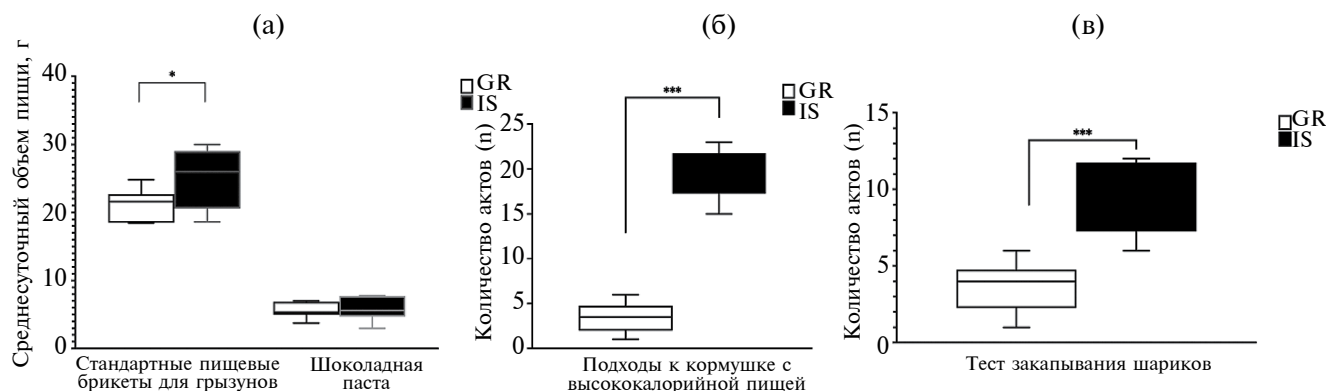


Рис. 4. Компульсивное поведение крыс, выращенных в изоляции, в marble тесте и тесте компульсивного переедания. (а) — Среднее суточное потребление пищи. Слева — потребление стандартного корма в граммах. Справа — потребление шоколадной пасты. Данные представлены в виде медианы (25–75-й процентиля). * — $p < 0.05$ достоверные различия между группами GR (n8) и IS (n7) по критерию Манн–Уитни. (б) — Число подходов к чашке с шоколадной пастой в тесте компульсивного переедания. *** — $p < 0.001$ достоверные различия между группами GR и IS по критерию Манн–Уитни. (в) — Число закопанных шариков в тесте закапывания шариков на фоне отмены шоколадной диеты. Данные представлены в виде медианы (25–75-й процентиля). *** — $p < 0.001$ достоверные различия между группами GR и IS по критерию Манн–Уитни.

Fig. 4. Compulsive behavior of isolation-reared rats in the marble test and the compulsive overeating test. (a) — On the left is the number of approaches to a cup with chocolate paste in the test for compulsive overeating; on the right is the number of buried balls in the marble test against the background of withdrawal from the chocolate diet. Data are presented as median (25–75 percentiles). * — $p < 0.001$ significant differences between the GR (n8) and IS (n7) Mann–Whitney U-test. (б) — Average daily food consumption. On the left is the consumption of standard feed in grams. On the right is the consumption of chocolate spread. Mean $\pm$ S.E.M. * — $p < 0.05$ significant differences between the GR and IS group Mann–Whitney U-test. (v) — number of marbles buried in the marble test after withdrawal from chocolate diet. Data are presented as median (25–75 percentiles). * — $p < 0.001$ significant differences between GR and IS groups Mann–Whitney U-test.

У крыс GR уровень внеклеточного дофамина в прилежащем ядре в ответ на стимуляцию зоны самораздражения VTA, определяемого по показателям электрохимического потенциала, повышался при подаче условного сигнала, применяемого в лабиринте, на 1.25% от 7.12 ± 1.44 нА (100%) до 7.10 ± 1.53 нА (99.65%), однако статистический анализ не показал значимых отличий (рис. 6).

У крыс IS уровень внеклеточного дофамина при подаче условного сигнала, применяемого в лабиринте, достоверно повышался ($p = 0.0377$) на 77.69% от значений 6.51 ± 1.57 нА (100%) до 11.58 ± 1.41 нА (177.69%) (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе сделана попытка проанализировать особенности проявления элементов нехимических форм зависимости, игровой и пищевой, по изменению импульсивности и компульсивности в поведении животных IS. Игровое расстройство и компульсивное переедание, как было отмечено, имеют общие механизмы формирования, наличие синдрома отмены, а также общие психофизиологические и нейробиологические характеристики

(Егоров, 2020). Как было показано в наших исследованиях, социальная изоляция в период с 21 по 100 сутки после рождения вызывает комплекс поведения с агрессивностью и увеличением активности, но при этом — с повышенной депрессивностью и тревожностью, так называемый «синдром социальной изоляции». Он развивается на основе повышения чувствительности звеньев подкрепляющей системы мозга (Шабанов и др., 2004). Наличие описанного выше синдрома социальной изоляции предполагает возможность изучения у грызунов аддиктивных расстройств поведения. Показано, что в условиях ограничения социальных контактов во время пандемии COVID-19 респонденты опросов чаще играли в азартные игры. Группой наибольшего риска оказались подростки и молодые мужчины (Mallet et al., 2021). С целью моделирования ограничения социальных контактов для групп наибольшего риска мы использовали метод выращивания самцов крыс в IS.

В настоящей работе показано, что хронический стресс выращивания в IS вызывает мотивацию крыс получить более высокое по значимости пищевое подкрепление в рукаве 3 лабиринта. При этом вероятность получения подкрепления в рукаве 3 была исходно снижена, т.е. возникала

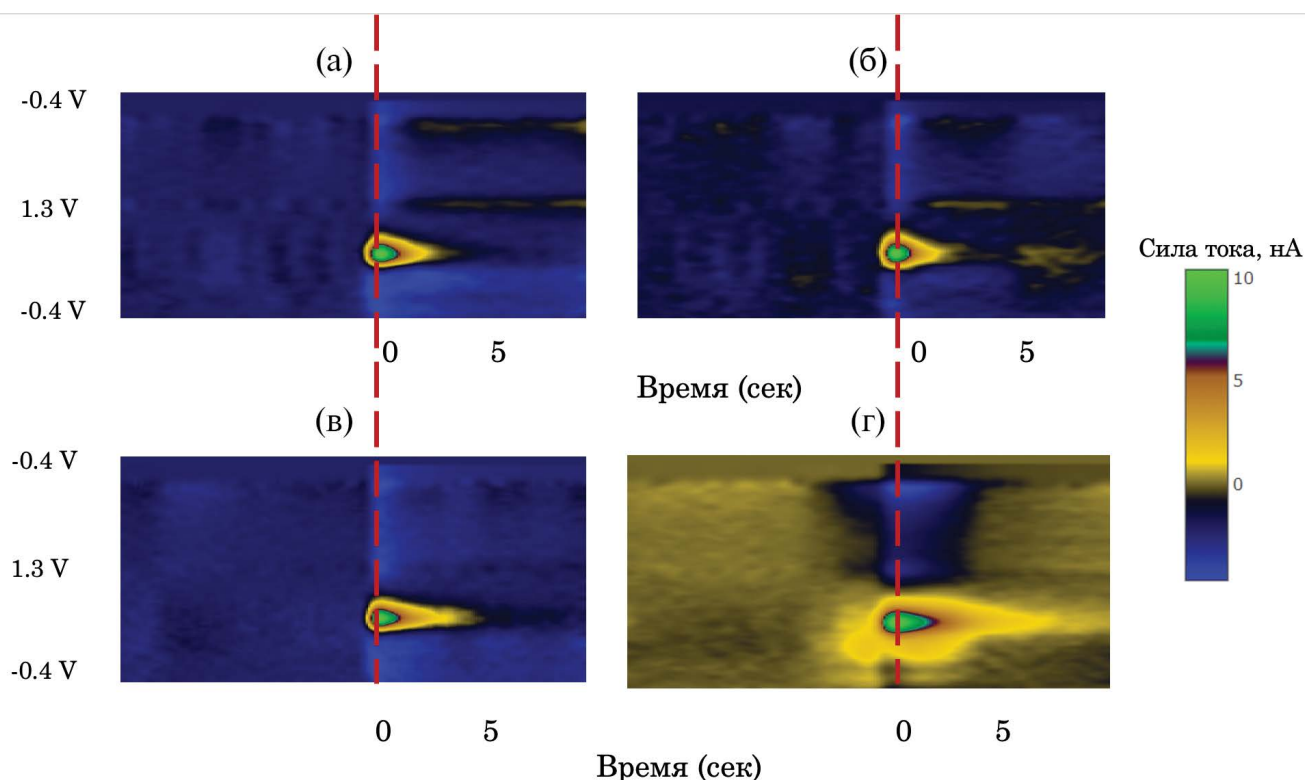


Рис. 5. Вольтамперограмма при стимуляции ВТА. Цветовая шкала отражает величину изменения электрического тока по сравнению с его уровнем в точке 0 по оси времени: (а) – вольтамперограмма контрольных животных GR; (б) – вольтамперограмма животных IS; (в) – вольтамперограмма контрольных животных GR после подачи с условного сигнала, который применяли при обучении в лабиринте; (г) – вольтамперограмма животных IS после подачи условного сигнала, который применяли при обучении в лабиринте, GR (n6) и IS (n5).

Fig. 5. Voltammogram in response to VTA stimulation. The color scale reflects the magnitude of the change in electrical current compared to its level at point 0 on the time axis. a – voltammogram of control GR animals; (б) – voltammogram of IS animals; (в) – voltammogram of control GR animals after presentation of a conditioned signal, which was used during training in the maze; (г) – voltammogram of IS animals after presentation of a conditioned signal, which was used during training in the maze GR (n6) and IS (n5).

определенная степень риска и связанное с ним повышение импульсивного компонента игровой зависимости (Lebedev et al., 2023). Полученные результаты во многом согласуются с данными литературы по изучению механизмов зависимости. Показано, что ранние социальные стрессы вызывают повышение проявлений игровой зависимости у человека, девиантные формы поведения и повышение потребления аддиктивных средств (Yang et al., 2021). У животных IS наблюдаются повышенное потребление алкоголя и самовведение кокаина (Butler et al., 2016), тревожное и депрессивно-подобное поведение (Grigoryan et al., 2022), снижается способность к адаптации в новой среде (Han et al., 2012), повышается потребление пищи (Лебедев и др., 2021). У IS наблюдается синдром социальной изоляции на основе гиперчувствительности подкрепляющей системы мозга (Лебедев, 2021). В то же время при использовании стандартных тестов определения импульсивности

delay discounting (“когнитивной” импульсивности) (Lazzaretti et al., 2016) или в модели 5-CSRT (метода на последовательное реагирование с пятью вариантами ответов), основанной на регистрации ошибочных и межсигнальных реакций при выработке инструментального условного рефлекса (Sanchis Olle et al., 2019) повышения импульсивности крыс IS установлено не было (Груздева и др., 2021; Baarendse et al., 2013). В то же время сроки IS в этих работах были меньше (с 21 по 42 дней), чем в настоящей работе (с 21 по 90 дней). Показано, что материнская депривация в раннем онтогенезе вызывала повышение импульсивности у взрослых крыс в описанных моделях регистрации импульсивности (Gondre-Lewis et al., 2016).

В наших предыдущих исследованиях получены данные о повышении импульсивности в поведении у крыс после действия ранних стрессов материнской депривации и социальной изоляции по повышению числа заходов в 2-й и 3-й рукава

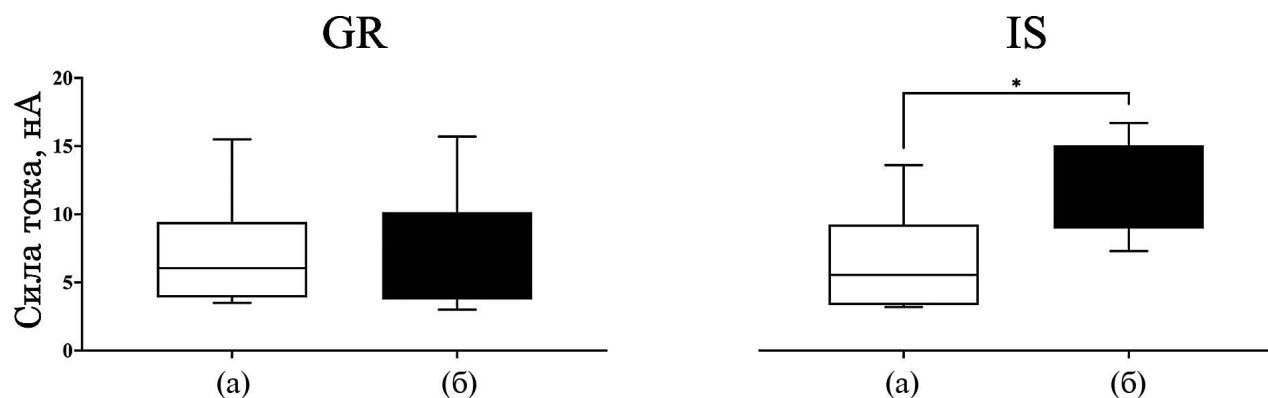


Рис. 6. Кинетика изменения внеклеточного уровня дофамина в прилежащем ядре в ответ на электрическую стимуляцию зоны вентральной области покрышки, при раздражении которой наблюдалась реакция самостимуляции. *Примечание.* Вызванное увеличение амплитуды высвобождения дофамина, нормализованное до среднего пика в NAc при электрической стимуляции VTA у IS (б) и контрольных GR (а) животных. Данные представлены в виде медианы (25–75-й процентиля). * — $p < 0,05$ достоверные различия между группами GR и IS по критерию Манн–Уитни. (а) — кинетика высвобождения дофамина в ответ на стимуляцию VTA без подачи с условного сигнала. (б) — кинетика высвобождения дофамина в ответ на стимуляцию VTA после подачи условного сигнала, который применяли в лабиринте.

Fig. 6. Kinetics of changes in the extracellular level of dopamine in the nucleus accumbens in response to electrical stimulation of the ventral tegmental area, upon stimulation of which a self-stimulation reaction was observed. *Note.* Evoked increases in dopamine release amplitude normalized to the mean peak in the NAc upon electrical stimulation of the VTA in IS (б) and control GR (а) animals. Data are presented as median (25–75 percentiles). Mann–Whitney U-test. (а) — kinetics of dopamine release in response to VTA stimulation without a conditioned signal. (б) — kinetics of dopamine release in response to VTA stimulation after the presentation of a conditioned signal, which was used in the maze.

трехлучевого лабиринта в тесте Iowa Gambling task (Lebedev et al., 2023). Мы подтвердили полученные ранее результаты и дополнительно показали, что хронический стресс выращивания в IS снижает стратегию получить низкое, но высоковероятное пищевое подкрепление в первом рукаве трехлучевого лабиринта, что свидетельствует о повышении импульсивности в поведении и формирования элементов игровой зависимости. Таким образом, социальная изоляция вызывает изменение импульсивности в поведении и может лежать в основе расстройств импульсного контроля у лиц после стрессов в онтогенезе (Yang et al., 2021).

Стремление животного получить высокое подкрепление даже при низкой его прагматической вероятности в условиях трехлучевого лабиринта, по-видимому, больше связано с повышением уровня импульсивности. Показано, что метод Iowa Gambling Task является адекватным методом регистрации степени импульсивности поведения у животных и человека (Potenza, 2006). Он позволяет определять параметры поведения в условиях непредсказуемого выбора вознаграждения с разной степенью вероятности. В нашей лаборатории был использован один из вариантов этого метода, в 3-лучевом лабиринте (Lebedev et al., 2023). В отличие от других исследований в нашем варианте Iowa Gambling Task в третьем рукаве лабиринта не применяется наказание

(в рукаве с высоким вознаграждением). При этом в качестве наказания служит само отсутствие подкрепления, и болевого стимула после пищевого вознаграждения не происходит. Данный вариант метода Iowa Gambling Task в большей степени соответствует не гемблингу (зависимости от азартных игр с непредсказуемой вероятностью выигрыша и неизбежными проигрышами), а скорее геймингу (офлайн- и онлайн-игры).

Следует отметить, что интерпретация импульсивности в 3-лучевом лабиринте Iowa Gambling Task несколько отличается от стандартных (delay discounting и 5-CSRT) методов оценки. Во-первых, это связано со стремлением к большому числу заходов (до 50 за опыт) в 3-й рукав 3-лучевого лабиринта. Для получения высокого подкрепления в 3-м рукаве животное должно сделать 3 захода, что занимает определенное время. Налицо имеется задержка подкрепления. В то же время согласно методу delay discounting правильная когнитивная оценка животным задержки подкрепления определяется как снижение импульсивности. Во-вторых, аналоги ошибочных и межсигнальных реакций, определяемых методом 5-CSRT, наблюдаются и в трехлучевом лабиринте Iowa Gambling Task при оценке отсутствия выхода из рукава. В то же время снижение выходов из рукава приводит и к снижению общего числа заходов в рукава трехлучевого лабиринта — основного критерия степени обучения животного.

Существуют различия в интерпретации импульсивности по методу *delay discounting* и методу 5-CSRT, что дало основания для деления импульсивности на когнитивный и двигательный компоненты (Груздева и др., 2021). По-видимому, в трехлучевом лабиринте *Iowa Gambling Task* мы имеем дело еще с одним компонентом импульсивности — мотивационным, учитывая состояния азарта и риска в поведении на модели игровой зависимости.

При изучении социальной изоляции в модели компульсивного переедания установлено, что число подходов к чашке с шоколадной пастой у крыс IS увеличивалось более чем в 4 раза по сравнению с животными GR, в то время как потребление пасты достоверно не отличалось. При изучении влияния социальной изоляции на потребление стандартного корма показано, что среднее суточное потребление у IS увеличивается по сравнению с контрольной группой GR. Это во многом согласуется с данными литературы. Показано, что IS у крыс вызывает повышение потребления пищи и увеличение массы тела (Лебедев и др., 2021). В нашем предыдущем исследовании показано, что различия по потреблению пищи и веса у крыс IS по сравнению с GR наблюдаются к 6-й неделе после рождения. У IS также наблюдались элементы компульсивного переедания при изучении двигательного пищевого рефлекса, которые проявлялись в увеличении числа полученных пищевых таблеток и побегов к кормушке (Лебедев и др., 2021). В настоящей работе мы использовали другой метод выработки компульсивного переедания, используя прерывистое потребление высококалорийной пищи в течение месяца. Расстройство компульсивного (приступообразного) переедания, формы пищевой зависимости, включает в себя прерывистое, чрезмерное потребление вкусной пищи в короткие периоды времени, и это поведение, в отличие от булимии или нервной анорексии, не сопровождается компенсаторным поведением (Лебедев и др., 2023). Факторы, которые могут влиять на эпизоды компульсивного переедания, включают различные стрессоры (депривация от пищи и периодическое воздействие богатой энергией вкусной пищи). Ранее нами показано, что прерывистое потребление пищи, богатой жирами и сахаром, предсказывает у крыс переедание, что является проявлением компульсивного (приступообразного) переедания (Лебедев и др., 2023). В настоящей работе показано, что животные IS демонстрируют более интенсивные реакции компульсивного переедания по сравнению с GR, которые проявлялись в увеличении подходов к чашке с шоколадной пастой. Отсутствие ожидаемых различий в потреблении пасты у крыс в исследованных группах связано, по-видимому, с потерей времени у IS в отличие от GR на многочисленные подходы к кормушке в течение часового теста и периоды груминга, которые часто

наблюдались у IS между реакциями компульсивного переедания.

Повышение компульсивности в поведении у IS показано также нами в тесте «закапывание шариков» (*marble test*), который используется для моделирования обсессивно-компульсивных расстройств. В наших предыдущих исследованиях показано повышение компульсивного компонента игровой зависимости у IS по увеличению числа закопанных шариков (Лебедев и др., 2022). В настоящей работе тестирование проводили на фоне отмены шоколадной диеты при изучении пищевой зависимости. Было показано, что крысы IS более чем в 2 раза больше закапывают шарики в *marble тесте*, что оценивается как повышение компульсивности и уровня тревожности. Проявление компульсивности при пищевой зависимости и обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) может объединять повышенная компульсивность в поведении (Егоров, 2020). Поэтому компульсивное переедание можно отнести к расстройствам ОКР-ряда. При этом наблюдается внутренняя тревожность, навязчивые мысли и переживания (обсессии), которые часто проявляются в виде компульсивных реакций, направленных на снижение болезненного состояния (Лебедев и др., 2022). После периодов компульсивного переедания, как правило, следуют чувства страдания, отвращения, депрессии и чувство вины за переедание. Интенсивные и постоянные эпизоды компульсивного поведения, направленного на активное потребление высококалорийной пищи, представляют собой типичные явления при компульсивном переедании (Yilmaz et al., 2017). В настоящей работе показано, что на фоне отмены шоколадной диеты у животных IS по сравнению с GR наблюдалось повышение компульсивности и тревожности, что можно рассматривать как модель расстройства поведения после эпизодов приступообразного переедания у человека.

Таким образом, в настоящей работе показано, что IS вызывает увеличение выброса дофамина, нарушение импульсного контроля и компульсивность на моделях пищевой и игровой зависимости. Увеличение выброса дофамина в прилежащем ядре в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления VTA, ассоциированной с аддиктивным поведением у IS, позволили нам исследовать механизм, который, вероятно, способствует выраженным проявлениям импульсивности и компульсивности в поведении. В целом, мы показали повышение реактивности подкрепляющей системы у IS. Предварительное тестирование зоны VTA на наличие реакции самостимуляции позволяет судить о стимуляции подкрепляющей системы мозга мезолимбического дофаминергического нервного пути при регистрации внеклеточного дофамина в NAc. Аналогичные исследования по регистрации внеклеточного дофамина у IS не учитывали

приуроченность зоны стимуляции к подкрепляющей системе мозга. На основе полученных данных о повышении внеклеточного дофамина у IS авторы сделали предположение о том, что хронический стресс выращивания в IS запускает гиперактивность мезолимбической дофаминовой системы и, что возможно, приводит к увеличению вознаграждения (Hall et al., 1998). В настоящих исследованиях мы подтвердили эту гипотезу. Показано, что гиперактивность дофаминовой системы связана с повышенной экспрессией тирозингидроксилазы, изменением экспрессии потенциал-зависимых кальциевых каналов и увеличением синтеза дофамина после длительного хронического стресса IS (Karkhanis et al., 2016).

Известно, что активность дофаминовых нейронов повышается в ответ на условные сигналы, связанные с подкрепляющими и стрессовыми воздействиями (Karkhanis et al., 2016). У крыс IS в наших экспериментах наблюдалось повышение чувствительности дофамина на условный сигнал аддиктивного поведения при моделировании элементов игровой зависимости. Гиперчувствительность системы дофамина на аддиктивные стимулы среды потенциально могут привести к сдвигу величины воспринимаемого вознаграждения и активировать животное в ответ на восприятие большего по значимости подкрепления. Повышение аддиктивного поведения в наших исследованиях наблюдались после выращивания крыс в условиях IS, что согласуется с литературными данными по потреблению алкоголя у животных IS (Karkhanis et al., 2016). В настоящем исследовании мы определяли внеклеточный уровень дофамина в NAc, который, как известно, участвует в механизмах стресс-реактивности, тревожности, депрессии и мотивации, а также процессах, связанных с подкреплением (Sulzer, 2011). Ранее было показано также повышение высвобождения и поглощения дофамина у крыс IS в других стресс-зависимых структурах мозга, в полосатом теле и базолатеральной миндалине (Karkhanis et al., 2015).

Показано, что IS во взрослом возрасте не влияет на показатели высвобождения дофамина (Yorgason et al., 2013). В исследованиях, затрагивающих непродолжительный (21–42 день) период выращивания в IS, не наблюдалось повышения импульсивности в поведении (Baarendse et al., 2013). В ранее проведенных исследованиях мы анализировали более длительный срок выращивания в IS (21–90 дней) и выявили глубокие и устойчивые поведенческие и нейробиологические изменения, связанные с обменом дофамина и реактивностью подкрепляющей системы мозга (Шабанов и др., 2004). В рамках настоящей работы мы также анализировали период выращивания в IS с 21 по 90 день и показали, что IS вызывает аддиктивное поведение, повышая проявления импульсивности

и компульсивности и повышая уровень внеклеточного дофамина в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления, ассоциированную с аддиктивным поведением. По-видимому, в онтогенезе у грызунов существуют особые критические периоды чувствительности структур головного мозга к формированию отдаленных проявлений аддиктивного поведения, которые затрагивают исследованные в работе дни IS (Garcia et al., 2017). Важные биологические стрессоры (хищники, зоосоциальные взаимодействия, стрессы в пубертатном возрасте) могут привести к аналогичным нейрохимическим и поведенческим изменениям в сторону аддиктивного поведения (Matuszewich et al., 2014).

Таким образом, в настоящей работе установлено, что у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, наблюдается повышение элементов аддиктивного поведения: импульсивности и компульсивности. При этом у крыс-изолянтов при подаче условного сигнала, связанного с аддиктивным поведением, отмечалось более выраженное повышение высвобождения дофамина во внеклеточную среду прилежащего ядра в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления по сравнению с животными, выращенными в сообществе.

ВКЛАД АВТОРОВ

С.С. Пюрбеев – проведение операций, тестирование экспериментальных животных; А.А. Лебедев – планирование эксперимента, написание и редактирование статьи; В.В. Сизов – техническое обеспечение, проведение операций и экспериментов; Е.Р. Бычков – статистическая обработка данных, написание и редактирование статьи; В.Н. Мухин – написание и редактирование статьи; Н.Д. Надбитова – тестирование экспериментальных животных; А.В. Дробленков – проведение морфологических исследований; П.Д. Шабанов – написание и редактирование статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «ИЭМ» FGWG-2024-0015 «Нейробиологические механизмы патогенеза социально-значимых заболеваний и посттравматических расстройств. Новые подходы к моделированию патологических процессов и коррекции нарушений».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Общий дизайн исследования, протоколы каждого экспериментального наблюдения, выбор фармакологических субстанций и индивидуальные карты наблюдения за лабораторным животным, метод эвтаназии одобрены локальным этическим комитетом СПбГПМУ (Протокол № 17/05 от 14.10.2022).

УКАЗАНИЕ НА ДОСТУПНОСТЬ
ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ

С первичными данными можно ознакомиться, написав на почту: aalebedev-iem@rambler.ru.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Григорьян Г.А., Павлова И.В., Зайченко М.И. Влияние социальной изоляции на развитие тревожного и депрессивно-подобного поведения в модельных экспериментах на животных. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2021. 71 (6): 760–784.
- Груздева В.А., Шаркова А.В., Зайченко М.И., Григорьян Г.А. Влияние раннего провоспалительного стресса на проявление импульсивного поведения у крыс разного возраста и пола. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2021. Т. 71 (1): 114–125.
- Егоров А.Ю. Нехимические (поведенческие) аддикции: вопросы типологии, диагностики и классификации. Вопросы наркологии. 2020. 4 (187): 7–20.
- Лебедев А.А., Москалев А.Р., Абросимов М.Е., Ветлугин Э.А., Пшеничная А.Г., Лебедев В.А., Евдокимова Н.Р., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Действие антагониста нейропептида у BMS193885 на переживание и эмоциональные реакции, вызванные социальной изоляцией у крыс. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2021. 19 (2): 189–202.
- Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Надбитова Н.Д., Лизунов А.В., Бычков Е.Р., Лукашева В.В., Евдокимова Н.Р., Нетеса М.А., Лебедев В.А., Шабанов П.Д. Снижение компульсивного переживания у крыс, вызванного материнской депривацией в раннем онтогенезе, с применением нового антагониста рецепторов грелина агрелакс. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2023. 21 (3): 255–262.
- Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Сексте Э.А., Бычков Е.Р., Тиссен И.Ю., Шабанов П.Д. Модели материнского пренебрежения и социальной изоляции в онтогенезе проявляют у животных элементы игровой зависимости, повышая экспрессию GHSR1a в структурах мозга. Вопросы наркологии. 2022. 11–12 (213): 44–66.
- Мухин В. Н., Козлов А.П., Абдурасулова И.Н., Павлов К.И., Сизов В.В., Мацулеевич А.В., Клименко В.М. Стрессоры в раннем постнатальном периоде препятствуют развитию предпочтения алкоголя у взрослых самок крыс (потенциальная роль к-опиоидных рецепторов). Медицинский Академический Журнал. 2017. 17(3): 62–67.
- Павлова И.В., Брошевицкая Н.Д., Зайченко М.И., Григорьян Г.А. Влияние социальной изоляции и обогащенной среды на тревожно-депрессивное поведение крыс в норме и после раннего провоспалительного стресса. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2021. 71 (5): 690–709.
- Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Цикунов С.Г., Карпова И.В., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Психическая травма вызывает повышение импульсивности в модели игровой зависимости, изменяя обмен дофамина и серотонина в префронтальной коре. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2023. 21 (4): 329–338.
- Пюрвеев С.С., Сизов В.В., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Мухин В.Н., Дробленков А.В., Шабанов П.Д. Регистрация изменений уровня внеклеточного дофамина в прилежащем ядре методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии при стимуляции зоны вентральной области покрышки, раздражение которой вызывает и реакцию самостимуляции. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2022. 108 (10): 1316–1328.
- Сизов В.В., Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Бычков Е.Р., Мухин В.Н., Дробленков А.В., Шабанов П.Д. Способ обучения крыс электрической самостимуляции в ответ на подъем головы в телеметрической установке, регистрирующей уровень внеклеточного дофамина. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2023. 73 (4): 563–576.
- Шабанов П.Д., Мещеров Ш.К., Лебедев А.А. Синдром социальной изоляции. Санкт-Петербург: Элбис-СПб, 2004. 267 с.
- Baarendse P.J., Counotte D.S., O'Donnell P., Vanderschuren L.J. Early social experience is critical for the development of cognitive control and dopamine modulation of prefrontal cortex function. Neuropsychopharmacology. 2013. 38 (8): 1485–1494.
- Boggiano M. M., Artiga A. I., Pritchett C. E., Chandler-Laney P. C., Smith M. L., Eldridge A. J. High intake of palatable food predicts binge-eating independent of susceptibility to obesity: an animal model of lean vs obese binge-eating and obesity with and without binge-eating. International journal of obesity. 2007. 31 (9): 1357–1367.
- Butler T.R., Karkhanis A.N., Jones S.R., Weiner J.L. Adolescent Social Isolation as a Model of Heightened Vulnerability to Comorbid Alcoholism and Anxiety Disorders. Alcohol.: Clin. Exp. Res. 2016. 40 (6): 1202–14.

- Dixit P.V., Sahu R., Mishra D.K. Marble-burying behavior test as a murine model of compulsive-like behavior. *Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2020. 102: 106676.
- Doremus-Fitzwater T.L., Spear L.P. Reward-centricity and attenuated aversions: An adolescent phenotype emerging from studies in laboratory animals. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016. 70: 121–134.
- Douglas K. R., Chan G., Gelernter J., Arias A. J., Anton R.F., Weiss R. D., Brady K., Poling J., Farrer L., Kranzler H. R. Adverse childhood events as risk factors for substance dependence: partial mediation by mood and anxiety disorders. *Addict Behav.* 2010 35 (1): 7–13.
- Garcia E., Vendite D.A., Calcagnotto M.E., Dalmaiz C. Short post-weaning social isolation induces long-term changes in the dopaminergic system and increases susceptibility to psychostimulants in female rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2017. 61, 21–30.
- Gearhardt A. N., Yokum S., Orr P. T., Stice E., Corbin W.R., Brownell K. D. Neural correlates of food addiction. *J Adolesc Health*. 2017. 61 (2): 140–146.
- Gondré-Lewis M.C., Warnock K.T., Wang H., June H.L. Jr, Bell K.A., Rabe H., Tiruveedhula V.V., Cook J., Lüddens H., Aurelian L., June H.L. Sr. Early life stress is a risk factor for excessive alcohol drinking and impulsivity in adults and is mediated via a CRF/GABA(A) mechanism. *Stress*. 2016. 19 (2): 235–247.
- Green M.R., Barnes B., McCormick C.M. Social instability stress in adolescence increases anxiety and reduces social interactions in adulthood in male Long-Evans rats. *Dev Psychobiol.* 2013. 55 (8): 849–859.
- Grigoryan G.A., Pavlova I.V., Zaichenko M.I. Effects of social isolation on the development of anxiety and depression-like behavior in model experiments in animals. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2022. 52 (5): 722–738.
- Hall F. S., Wilkinson L. S., Humby T., Inglis W., Kendall D.A., Marsden C. A., Robbins T. W. Isolation rearing in rats: pre- and postsynaptic changes in striatal dopaminergic systems. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1998. 59 (4): 859–872.
- Han X., Li N., Xue X., Shao F., Wang W. Early social isolation disrupts latent inhibition and increases dopamine D2 receptor expression in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of adult rats. *Brain Res.* 2012. 1447: 38–43.
- Karkhanis A.N., Alexander N.J., McCool B.A., Weiner J.L., Jones S.R. Chronic social isolation during adolescence augments catecholamine response to acute ethanol in the basolateral amygdala. *Synapse*. 2015. 69 (8): 385–95.
- Karkhanis A.N., Locke J.L., McCool B.A., Weiner J.L., Jones S.R. Social isolation rearing increases nucleus accumbens dopamine and norepinephrine responses to acute ethanol in adulthood. *Alcohol.: Clin. Exp. Res.* 2014. 38: 2770–2779.
- Karkhanis A.N., Rose J.H., Weiner J.L., Jones S.R. Early-Life Social Isolation Stress Increases Kappa Opioid Receptor Responsiveness and Downregulates the Dopamine System. *Neuropsychopharmacology*. 2016. 41 (9): 2263–2274.
- Krupina N.A., Khlebnikova N.N., Narkevich V.B., Naplekova P.L., Kudrin V.S. The levels of monoamines and their metabolites in the brain structures of rats subjected to two- and three-month-long social isolation. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020. 168 (5): 605–609.
- Lazzaretti C., Kincheski G.C., Pandolfo P., Krolow R., Toniazzi A.P., Arcego D.M., Couto-Pereira N. de S., Zeidán-Chuliá F., Galvalisi M., Costa G., Scorza C., Souza T.M., Dalmaiz C. Neonatal handling causes impulsive behavior and decreased pharmacological response to methylphenidate in male adult Wistar rats. *J. Integr. Neurosci.* 2016. 15 (1): 81–95.
- Lebedev A.A., Pyurveev S.S., Sexte E.A., Reichardt B.A., Bychkov E.R., Shabanov P.D. Studying the involvement of ghrelin in the mechanism of gambling addiction in rats after exposure to psychogenic stressors in early ontogenesis. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2023. 59 (4): 1402–1413.
- Mallet J., Dubertret C., Le Strat P. Y. Addictions in the COVID-19 era: Current evidence, future perspectives a comprehensive review. *Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021 106: 110070.
- Matuszewich L., McFadden L.M., Friedman R.D., Frye C.A. Neurochemical and behavioral effects of chronic unpredictable stress. *Behav. Pharmacol.* 2014. 25 (5–6): 557–566.
- Mena S., Visentin M., Witt C. E., Honan L. E., Robins N., Hashemi P. Novel, user-friendly experimental and analysis strategies for fast voltammetry: next generation FSCAV with artificial neural networks. *CS measurement science au*. 2022. 15; 2 (3): 241–250.
- Miura H., Qiao H., Ohta T. Attenuating effects of the isolated rearing condition on increased brain serotonin and dopamine turnover elicited by novelty stress. *Brain Res.* 2002. 926 (1–2): 10–17.
- Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Elsevier Academic Press, San Diego. 2005.
- Persons A.L., Tedford S.E., Napier T.C. Mirtazapine and ketanserin alter preference for gambling-like schedules of reinforcement in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2017. 77: 178–184.
- Potenza M.N. Should addictive disorders include non-substance-related conditions? *Addiction*. 2006. 101 (1): 142–151.
- Raimo S., Cropiano M., Trojano L., Santangelo G. The neural basis of gambling disorder: An activation likelihood estimation meta-analysis. *Author links open overlay panel. Neurosci. Biobehav. Rev.* 2021. 120 (1): 279–302.
- Sanchís-Ollé M., Fuentes S., Úbeda-Contreras J., Lalanza J.F., Ramos-Prats A., Armario A., Nadal R. Controlability affects endocrine response of adolescent male rats to stress as well as impulsivity and behavioral flexibility during adulthood. *Sci Rep.* 2019. 9 (1): 3180.
- Scherma M., Fattore L., Fratta W., Fadda P. Conditioned place preference (CPP) in rats: from conditioning to reinstatement test. In: Spampinato S.M. (eds) *Opioid Receptors. Methods in Molecular Biology*: 2201. Humana. NY. 2021. 566 p.

- Seo J.H., Kuzhikandathil E.V. Dopamine D3 Receptor Mediates Preadolescent Stress-Induced Adult Psychiatric Disorders. *PLoS One*. 2015. 10 (11): e0143908.
- Sulzer D. How addictive drugs disrupt presynaptic dopamine neurotransmission. *Neuron*. 2011. 69 (4): 628–49.
- Watt M.J., Weber M.A., Davies S.R., Forster G.L. Impact of juvenile chronic stress on adult cortico-accumbal function: Implications for cognition and addiction. *Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2017. 79: 136–154.
- Yang B., Cai G., Xiong C., Huang J. Relative deprivation and game addiction in left-behind children: a moderated mediation. *Front. Psychol.* 2021. 12: 639051.
- Yorgason J. T., Calipari E. S., Ferris M. J., Karkhanis A. N., Fordahl S. C., Weiner J. L., Jones S. R. Social isolation rearing increases dopamine uptake and psychostimulant potency in the striatum. *Neuropharmacology*. 2016. 101: 471–479.
- Yorgason J.T., Espana R.A., Konstantopoulos J.K., Weiner J., Jones S.R. Enduring increases in anxiety-like behavior and rapid nucleus accumbens dopamine signaling in socially isolated rats. *Eur. J. Neurosci*. 2013. 37: 1022–1031.

SOCIAL ISOLATION INDUCES ADDICTIVE BEHAVIOR AND INCREASES RELEASE OF DOPAMINE IN THE NUCLEUS ACCUMBENS IN RESPONSE TO STIMULATION OF THE POSITIVE REINFORCING ZONE

S. S. Pyurveev^{a, b}, A. A. Lebedev^{a, #}, V. V. Sizov^a, E. R. Bychkov^{a, c},
V. N. Mukhin^a, N. D. Nadbitova^a, A. V. Droblenkov^a, P. D. Shabanov^a

^a*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia*

^b*St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

^c*St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru*

The study of the role of social isolation in the pathogenesis of addictive behavior disorders is an important medical and biological problem. Of particular importance are the limitations of social experience in ontogenesis. This work makes an attempt to find a connection between social isolation in ontogenesis and impulsive-compulsive behavior, as an indicator of the premorbid background for gaming and other forms of behavioral addictions. The mechanisms of addictive behavior in rats reared in isolation (IS) were investigated by analyzing the extracellular release of dopamine in response to stimulation of the positive reinforcing zone. Before the experiments, male rats were kept in individual cages from the 21st day of birth to the 90th day. To study elements of addictive behavior, a variant of the Iowa Gambling Task in a 3-arm maze and a method of developing compulsive overeating using intermittent consumption of high-calorie foods were used. To study compulsive behavior, a marble test was used against the background of withdrawal from a high-calorie diet. Surgeries were performed to implant electrodes into the ventral tegmental area (VTA) and the *nucleus accumbens* in rats exhibiting elements of addictive behavior in the 3-arm maze. These animals were then trained to respond to VTA self-stimulation. Dopamine release was recorded telemetrically in freely moving rats in response to electrical stimulation of the VTA self-stimulation zone. Fast scan cyclic voltammetry was used to determine changes in dopamine levels in the extracellular environment of the *nucleus accumbens*. IS entered less into the arm with a high degree of probability but with a low reward, and entered more in the arm with a low degree of probability, but with a high reward, which is associated with the appearance of impulsivity in behavior. In the model of compulsive overeating, the number of approaches to the feeder in IS increased, and against the background of withdrawal of high-calorie food, IS were more active in the marble test. In IS exhibiting elements of addictive behavior in the 3-arm maze, the content of extracellular dopamine in response to electrical stimulation of the VTA self-stimulation zones did not reveal any differences compared to the control group of rats with addictive behavior in the maze. At the same time, IS exhibiting elements of addictive behavior in the maze showed a more pronounced dopamine response to a complex stimulus: a conditioned signal used during maze learning light + VTA stimulation. Thus, rearing in the IS causes an increase in dopamine release in the *nucleus accumbens* in response to stimulation of the positive reinforcement area associated with addictive behaviors: impulsivity and compulsivity. A conclusion is drawn about the prospects of studying the extracellular release of dopamine and assesses addictive behavior disorders caused by limited social contacts in ontogenesis.

Keywords: social isolation, extracellular dopamine, addictive behavior, self-stimulation