

УДК 616.831-008.447:615.015.6:612.821.8:599.323.4

T.M. Вороб'єва, A.B. Шляхова, E.B. Веселовська

ГУ «Інститут неврології, психіатрії і наркології НАМН України», г. Харків

ВЛИЯНИЕ КАННАБИНОИДНОЙ ЗАВИСИМОСТИ НА ЭМОЦИОНАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ МОЗГА КРЫС

Проведено исследование влияния каннабиноидов на формирование агрессивного и подчинительного типов поведения и электрогенез лимбико-неокортикальных структур и медиальной обонятельной области мозга крыс. Выявлены нарушение пространственно-временного стереотипа поведения, смена агрессивного типа поведения на пассивный на фоне обогащения электрогенеза исследуемых структур мозга крыс генерализованными пароксизмами сложной структуры с инициацией развития в гиппокампе.

Ключевые слова: каннабиноидная зависимость, электроэнцефалограмма, поведение.

Известно, что каннабиноиды, содержащиеся в конопле, обладают психоактивными свойствами и вызывают состояние опьянения или эйфорию. Большинство людей, курящих марихуану, курят ее лишь эпизодически, от случая к случаю, но лишь часть из тех, кто курит марихуану ежедневно или почти ежедневно, попадают в зависимость от нее [1]. Эти люди испытывают симптомы отмены и имеют жалобы на беспокойство, нарушения сна, тошноту, снижение аппетита и потливость. Длительное употребление марихуаны вызывает стойкие нарушения структуры и функций головного мозга, приводя к потере памяти, когнитивным нарушениям, расстройствам личности и развитию агрессивности [2]. Наркозависимость рассматривают как физиологический процесс, изменяющий функционирование мозговой системы позитивного подкрепления. Прием веществ, вызывающих активацию в системе подкрепления, нарушает гомеостаз организма, что приводит к метаболическому стрессу и перестройке всех функциональных систем организма, формированию новой функциональной системы поведения, нового «рефлекса цели», который направлен на поиск и потребление наркотика [3]. Целью данной работы было исследование механизмов инициации и формирования агрессивного и подчинительного поведения крыс при моделировании каннабиноидной зависимости и участия эмоциогенной системы мозга и медиальной обонятельной области в этих процессах.

Материал и методы. Исследования проведены в хроническом эксперименте на 14 половозрелых крысах-самцах массой 210–250 г. Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей». Модель каннабиноидной зависимости у крыс создавали в специальной установке (лабиринте) в течение 60 дней путем ежедневной 20-минутной принудительной ингаляции тлеющим каннабисом в одной из боковых камер лабиринта и вели наблюдение за поведением, двигательными и ориентировочно-исследовательскими реакциями, проявлениями пищевой и питьевой мотиваций. Наличие каннабиноидной зависимости подтверждало тестированием, которое проводили еженедельно начиная со 2-й недели окуривания. Вначале животных помещали в центр лабиринта и в течение 10 мин регистрировали количество побежек в камеру для окуривания, после чего в камеру дозированно подавали ингалянт и продолжали наблюдение за животными. Увеличение количества побежек в камеру для окуривания свидетельствовало о сформированной каннабиноидной зависимости. Для количественной оценки поведенческой активности крыс с каннабиноидной зависимостью были использованы модель сенсорного контакта и тест «перегородка» [4]. Для этого животных попарно размещали в клетки, разделенные на два равных отсека прозрачной перегородкой с отверстиями, ко-

© Т.М. Вороб'єва, А.В. Шляхова, Е.В. Веселовська, 2014

торая позволяла им видеть, слышать и воспринимать запахи друг друга, но предупреждала физический контакт. Тестирования проводили ежедневно с новым партнером во второй половине суток (с 14-го до 17-го часа). В течение 5 мин регистрировали показатели поведения крыс возле перегородки: латентный период первого подхода и число подходов к перегородке. Для инициации «зоосоциального конфликта» перегородку убирали и в течение 10 мин фиксировали успех или поражение каждой крысы в агрессивном столкновении. Для оценки поведения крыс в условиях клетки без перегородки использовали следующие показатели: латентный период перехода на территорию партнера, латентный период первой атаки, число и общее время атак. Вычисляли показатель интенсивности агрессии, как процентное соотношение общей продолжительности атак и времени от начала первой атаки до окончания тестирования. На основании данного показателя, с учетом поведения во время тестирования, крыс разделяли на агрессивный (агрессоры) и подчинительный (жертвы) типы. Затем животным стереотаксическим методом вживляли электроды в структуры лимбической системы мозга (дорсальный гиппокамп, ГППК), латеральный гипоталамус (ГПТ), миндалевидный комплекс (МК) [5] и медиальную обонятельную область (МОО) [6]. Корковые нихромовые электроды имплантировали эпидурально в лобно-теменную область, индифферентный – в кость лобной пазухи. На 4-й – 5-й день после операции регистрировали электрическую активность мозга крыс в состоянии лишения и при окуривании. ЭЭГ анализировали визуально. Результаты исследования обрабатывали статистически с использованием критерия Вилкоксона и критерия Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение. Первой реакцией всех животных на принудительное окуривание тлеющим каннабисом было избегание ситуации. После первого сеанса окуривания животные были вялыми, малоподвижными и только спустя 10 мин в клетке для содержания начинали передвигаться, умываться, отряхиваться, принимать пищу. В последующие дни, при помещении в камеру для окуривания, крысы были беспокойны, у них отмечались активная реакция избегания ситуации с усилением физиологических отправ-

лений и вегетативных реакций симпатической направленности, повышение судорожной готовности. На 9-й день во время окуривания у двух крыс отмечались нарушение координации движений, горбовидные позы. Постепенно увеличивалось количество крыс, которые подходили к отверстию и приносились к ингалянту, у них наблюдалась саливация, усиливались двигательные нарушения, судорожные реакции (отряхивание, навязанный груминг). После ингаляции тлеющим каннабисом в клетке для содержания крысы были беспокойны, пугливы, передвигались прыжками, у многих животных отмечалась жажда. В конце эксперимента в первые минуты окуривания животные также прятались в дальний угол от отверстия для подачи ингалянта, застывали, у отдельных крыс наблюдались судорожные реакции, при этом заторможенность крыс не была такой глубокой и длительной, как в первые дни ингаляции, затем, на протяжении сеанса окуривания, крысы подходили к отверстию с дымом и задерживались возле него.

Через две недели принудительного окуривания было проведено первое тестирование поведения животных на каннабиноидную зависимость в состоянии лишения и при подаче ингалянта. В состоянии лишения крысы демонстрировали выраженное ориентированно-исследовательское поведение, но в камеру для окуривания заходила лишь одна крыса (будущая жертва). В первые минуты подачи ингалянта животные избегали дыма тлеющего каннабиса, перемещаясь в дальнюю камеру, у них отмечались судорожные отряхивания и груминг, заторможенность, но отдельные крысы (один будущий агрессор и три будущие жертвы) все же заходили в камеру, заполненную дымом, и на несколько секунд задерживались в ней. После кратковременного пребывания в данной камере у крыс наблюдалось изменение двигательного стереотипа, возникала жажда. По мере формирования каннабиноидной зависимости в свободном поведении в лабиринте животные характеризовались агрессивной направленностью зоосоциальных отношений; как у агрессоров, так и у жертв увеличивалось количество побежек в камеру для окуривания. На 6-й – 7-й неделе тестирования у крыс наблюдалось достоверное увеличение количества побежек и дли-

тельности пребывания в камере для окуривания до подачи ингалянта и резкое повышение данного показателя у крыс-агрессоров во время ингаляции тлеющим каннабисом, что может свидетельствовать о формировании зависимости с более активным влечением к каннабису у агрессоров (рис. 1, а, б).

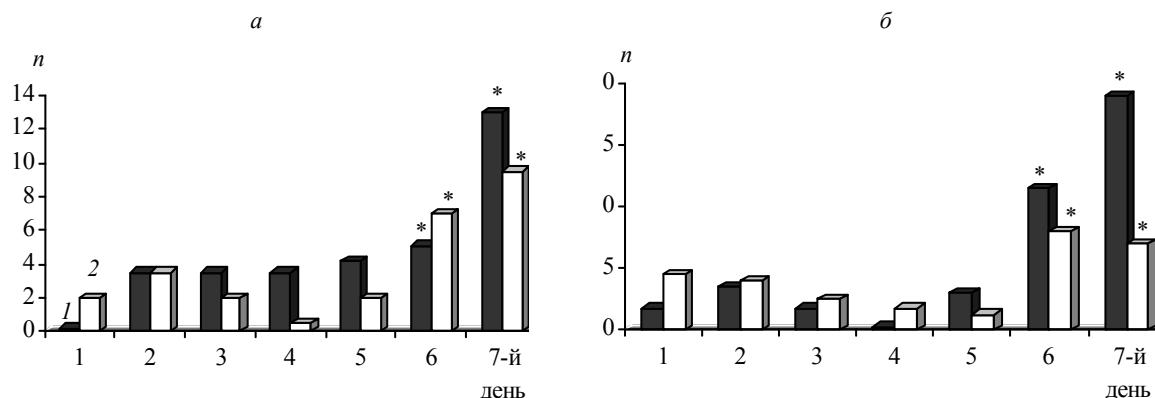


Рис. 1. Количество побежек в камеру для окуривания крыс с агрессивным (1) и подчинительным (2) типом поведения при тестировании на каннабиноидную зависимость до окуривания (а) и во время окуривания (б).

* $p<0,05$ по сравнению с 1-й неделей наблюдений

После формирования каннабиноидной зависимости исследовали поведение крыс при моделировании сенсорного контакта. На основании показателя интенсивности агрессии животные были разделены на агрессоров (43 % от общей группы животных) и крыс с подчинительным типом поведения (рис. 2), что совпадает с соотношением типов поведения в группе интактных животных [7].

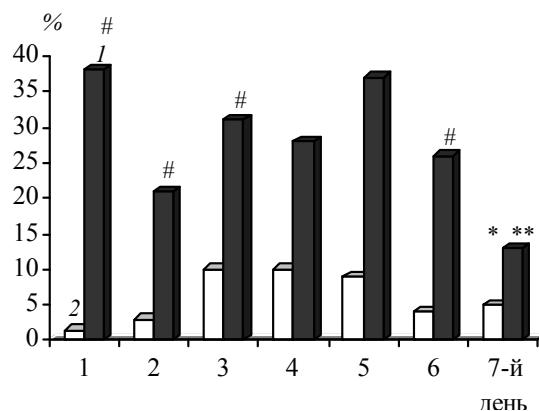
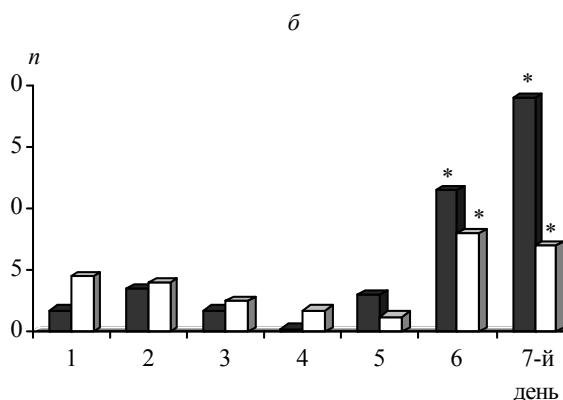


Рис. 2. Показатель интенсивности агрессии у крыс с агрессивным (1) и подчинительным (2) типом поведения. $p<0,05$: * в сравнении с 1-м днем наблюдений,

** в сравнении с предыдущим тестированием,

в сравнении с группой животных подчинительного типа

До агрессивных столкновений у крыс-агрессоров латентный период первого подхода к перегородке был несколько длиннее, чем у крыс с подчинительным типом поведения. После первого агрессивного столкновения латентный период первого подхода к перегородке у всех крыс значительно вырос, и на



3-й день эксперимента данный показатель оставался достоверно высоким. На 4-й день тестирования у крыс-агрессоров латентный период первого подхода к перегородке достоверно снизился в сравнении с предыдущим днем исследования и достоверно не изменялся до конца исследования. На 5-й – 7-й день наблюдений после поражений в агрессивных столкновениях крысы были заторможены, неактивны и долго не решались подойти к перегородке, о чем свидетельствует достоверное повышение латентного периода первого подхода к перегородке. Количество подходов к перегородке в 1-й день исследований у агрессоров и жертв было примерно одинаковым (рис. 3). Интересно отметить тот факт, что после первого агрессивного столкновения у крыс-агрессоров количество подходов к перегородке снизилось почти в два раза, а у жертв возросло, однако эти изменения не были достоверны. На 3-й день эксперимента у агрессоров количество подходов к перегородке повысились и сохранялись на высоком уровне до конца исследований. У жертв на 3-й – 7-й день количество подходов к перегородке снижалось. Достоверное отличие латентного периода перехода и количество подходов к перегородке между крысами-агрессорами и жертвами отмечали на 5-й день тестирования.

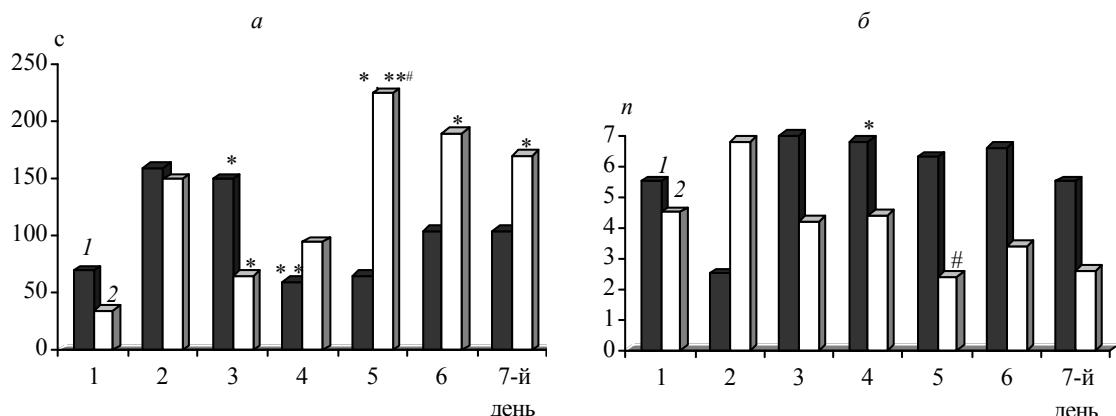


Рис. 3. Динамика изменений латентного периода первого подхода к перегородке (*a*) и количества подходов к перегородке (*b*) у крыс с агрессивным (1) и подчинительным (2) типом поведения в тесте «перегородка»:

1 – до агрессивных столкновений, 2–7 – после агрессивных столкновений; $p < 0,05$:

* в сравнении с исходными данными; ** в сравнении с предыдущим тестированием,

в сравнении с группой животных агрессивного типа

ния. После того как перегородку между двумя отсеками убирали, крысы-агрессоры сразу переходили на территорию партнера, тогда как жертвы долго оставались в нерешительности и лишь на 3-й минуте отваживались на этот шаг. На 3-й день у крыс подчинительного типа достоверно уменьшался латентный период перехода на территорию партнера в сравнении с исходным фоном, а у агрессоров минимальные значения данного показателя наблюдались на 6-й день тестирования. Следует отметить, что латентный период перехода на территорию партнера у крыс-агрессоров на протяжении всего исследования оставался на порядок ниже, чем у жертв (рис. 4). Латентный период первой атаки у агрессоров в день первого агрессивного столкновения был значительно короче, чем у жертв (рис. 5, а, б). У крыс-агрессоров отмечалась тенденция к повышению латентного периода первой атаки во все последующие дни эксперимента, кроме 6-го. У крыс подчинительного типа данный показатель достоверно изменялся в сравнении с предыдущим днем исследований: на 3-й день снижался, а на 4-й день повышался, на 5-й – 7-й – значения сохранялись на исходном уровне. Количество и общая продолжительность атак у крыс-агрессоров после первого агрессивного столкновения несколько снижались, что привело к снижению интенсивности агрессии в два раза, на 3-й – 5-й день отмечался волнообразный рост данных показателей с последующим достоверным сниже-

нием на 7-й день (рис. 2, 5). У жертв после первого агрессивного столкновения количество и общая продолжительность атак повышались, а на 4-й день отмечалось достоверное снижение исследуемых показателей по сравнению с предыдущим днем, при этом интенсивность агрессии на 3-й – 4-й день достигала максимума, а к концу эксперимента постепенно снижалась, что было также характерно и для агрессоров (рис. 3, 5).

Анализ ЭЭГ, зарегистрированных в состоянии лишения после 60 дней окуривания крыс тлеющим каннабисом, показал, что электrogenез исследуемых структур мозга был представлен смешанной медленноволновой актив-

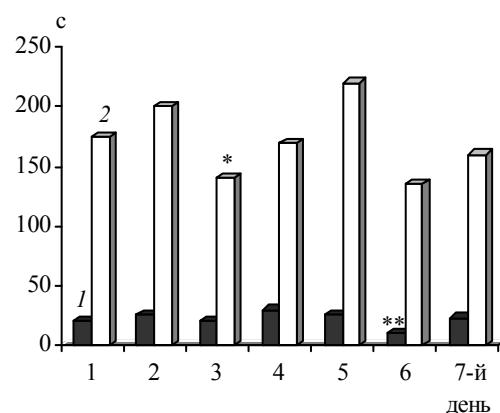


Рис. 4. Латентный период перехода на территорию партнера крыс с агрессивным (1) и подчинительным (2) типом поведения:

1 – до агрессивных столкновений,

2–7 – после агрессивных столкновений

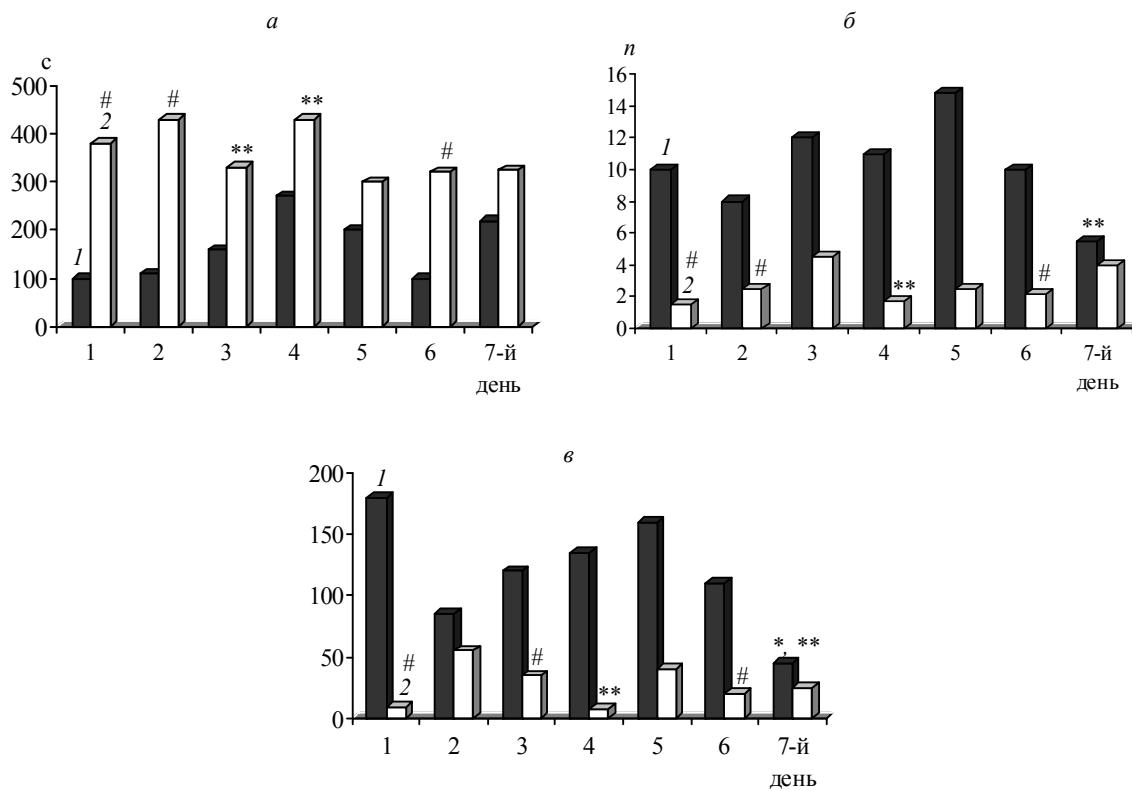


Рис. 5. Динамика агресивного поведения крыс с агресивным (1) и подчинительным (2) типом поведения при агресивных столкновениях:
 а – латентный период атак; б – количество атак; в – общее время атак; 1 – до агресивных столкновений, 2–7 – после агресивных столкновений; $p < 0,05$: * в сравнении с исходными данными;
 ** в сравнении с предыдущим тестированием, # в сравнении с группой животных агресивного типа

ностью с включением остроконечных волн и пиков, на ЭЭГ у 20 % крыс-агрессоров отмечались генерализованные пароксизмы сложной структуры с инициацией развития в гиппокампе (рис. 6, а). Как у агрессоров, так и у жертв в первую секунду ингаляирования тлеющим каннабисом на ЭЭГ отмечался сдвиг электрогенеза в сторону десинхронизации во всех структурах с подавлением элементов судорожной и пароксизмальной активности (рис. 6, б). По мере подачи ингалянта отмечали перестройку ритмов в сторону синхронизации в неокортексе и лимбических структурах мозга, напоминающую о развитии медленного поверхностного и глубокого сна, хотя животные в это время сидели с открытыми глазами и не спали. Через 10 мин подачи ингалянта у крыс-агрессоров наблюдалось увеличение представленности высокоамплитудных острых волн, пиков преимущественно в ГППК, ГПТ и МК, в МОО увеличивалась выраженность высокочастотной активности амплитудой 50–60 мкВ (рис. 6, в). У крыс с

подчинительным типом поведения также регистрировали усиление элементов судорожной активности и развитие синхронных пароксизмов в МК и МОО. По мере регистрации эпохи генерализованной пароксизмальной активности у крыс-агрессоров увеличивались до 20 с, а также появлялись локальные пароксизмы на ЭЭГ всех крыс в ГПТ, МК и МОО. В некоторых случаях пароксизмальная активность первоначально развивалась синхронно в ГППК и неокортексе, с постепенным вовлечением в процесс ГПТ, МК и МОО. У отдельных животных отмечались синхронные пароксизмы в МК и МОО. Через 25 мин подачи ингалянта на ЭЭГ эмоциогенных структур мозга крыс, особенно агресивного типа поведения, отмечались участки высокоамплитудной судорожной медленноволновой активности, соответствующей поверхностному сну и коротким эпизодам глубокого сна, которые перемежались длительными отрезками десинхронизации в неокортексе, МОО и регулярного ритма в ГППК, характерными для

парадоксального сна (рис. 6, г). Следует отметить, что данная электрическая активность мозга также сопровождалась пассивным бодрствованием (животные сидели неподвижно с открытыми глазами). Развитие парадоксального сна при дефиците медленноволнового поверхностного и глубокого сна и позволяет высказать предположение в пользу галлюциногенного действия каннабиса. Продолжение регистрации ЭЭГ показало, что через 30 мин после ингаляции исчезала генерализованная пароксизмальная активность, снижалась представленность высокоамплитудных волн, пиков.

Таким образом, результаты исследований показали, что формирование каннабиноидной зависимости у крыс происходит длительно, с элементами избегания ситуации, с усилением физиологических отправлений, вегетативных реакций симпатической направленности и агрессивного поведения. У крыс с подчинительным типом поведения зависимость формируется быстрее, о чем свидетельствует значительный рост количества побежек в камеру для окуривания при тестировании в ла-

биринте в первые дни эксперимента как до (ситуативная память, активный поиск), так и во время подачи ингалянта. У агрессоров зависимость формируется более длительно, проходит период резистентности (на 4-й день полное избегание ингалянта), однако имеет более злокачественный характер, о чем свидетельствует резкий рост количества побежек в камеру для окуривания в конце эксперимента, а также более длительное пребывание в ней. Исследование поведения крыс со сформированной каннабиноидной зависимостью в teste «перегородка» свидетельствует о том, что изначально высокий показатель интенсивности агрессии у крыс-агressоров к концу эксперимента достоверно снижался. У крыс-агressоров отмечалось замедление времени реакции (длительные латентные периоды подхода к перегородке, достоверное снижение количества и общего времени атак), которое указывает на снижение функциональной подвижности нервных процессов, изменение чувствительности сенсорных систем к восприятию специфических сенсорных сигналов, инициирующих агрессивное поведение, а также

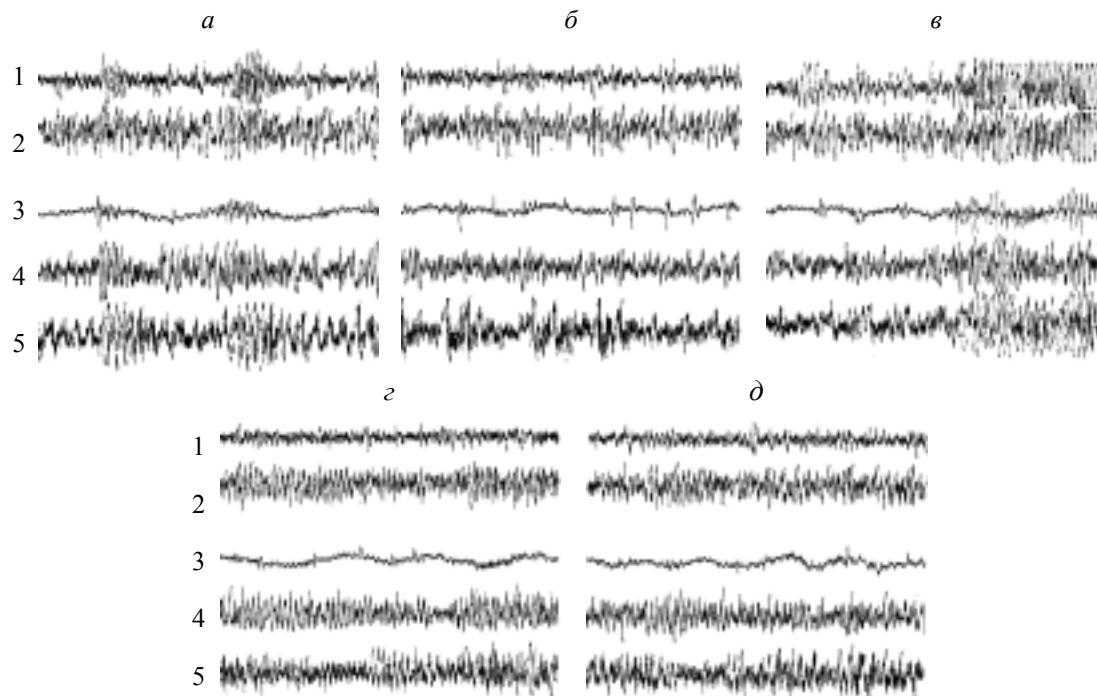


Рис. 6. Динамика электрической активности мозга крысы № 6 с агрессивным типом поведения со сформированной каннабиноидной зависимостью в состоянии лишения (а) и в процессе ингаляирования тлеющим каннабисом (б, в, г, д):
1 – неокортекс, 2 – гиппокамп, 3 – гипоталамус, 4 – миндалевидный комплекс,
5 – медиальная обонятельная область

увеличение времени нарастания специфического возбуждения [8]. Следует отметить, что поведение крыс-агрессоров с каннабиноидной зависимостью в тесте «перегородка» было подобно поведению интактных жертв как следствие повышенной тревожности в сочетании с нарушением пространственно-временного стереотипа этологических реакций [9]. Во время ингаляции тлеющим каннабисом на ЭЭГ крыс, особенно агрессивного типа поведения, отмечалось усиление пароксизмальной и судорожной активности с нарастанием процессов синхронизации и развитием активности, напоминающей по своей структуре парадоксальный сон, что позволяет утверждать о галлюцинопогенном действии каннабиса.

Выводы

1. Формирование каннабиноидной зависимости у всех животных происходит длительно, но у крыс подчинительного типа быстрее, чем у крыс-агрессоров.

2. При исследовании в teste «перегородка» у крыс-агрессоров выявлены нарушение пространственно-временного стереотипа поведения, смена агрессивного типа поведения на пассивный.

3. После формирования каннабиноидной зависимости электрогенез лимбико-неокортикальных структур мозга крыс обогащался остроконечными волнами и пиками с появлением генерализованных пароксизмов сложной структуры с инициацией развития в гиппокампе.

4. Во время ингаляции тлеющим каннабисом на ЭЭГ крыс, особенно агрессивного типа поведения, отмечалось усиление пароксизмальной и судорожной активности с нарастанием процессов синхронизации, с включением эпох ЭЭГ-активности, тождественной проявлениям парадоксального сна, что позволяет предположить галлюцинопогенное воздействие каннабиса.

Литература

1. Чурюканов М.В. Функциональная организация и терапевтический потенциал эндогенной каннабиноидной системы / М.В. Чурюканов, В.В. Чурюканов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 2. – С. 70–78.
2. Giuffrida A. The endocannabinoid system: a physiological perspective on its role in psychomotor control / A. Giuffrida, D. Piomelli // Chem. Phys. Lipids. – 2000. – Vol. 108. – P. 151–158.
3. Воробьев Т.М. Нейробиология вторично приобретенных мотиваций / Т.М. Воробьева // Междунар. мед. журнал. – 2002. – № 1. – С. 211–217.
4. Кудрявцева Н.Н. Сравнительная характеристика параметров агрессивной реакции мышей двух генотипов / Н.Н. Кудрявцева // ЖВНД. – 1988. – № 5. – С. 889–895.
5. Буреш Я. Электрографические методы исследования / Я. Буреш, М. Петрань, И. Захар. – М. : Изд-во иностр. лит-ры, 1962. – 466 с.
6. Воробьев Т.М. Электрографические корреляты эмоциональных механизмов формирования влечения к летучим органическим соединениям у крыс / Т.М. Воробьев, О.Г. Берченко, З.М. Бобрицкая // Укр. вісник. психоневрології. – 2002. – Т. 10, вип. 1(30). – С. 248.
7. Шляхова А.В. Лімбіко-гіпоталамічні механізми агресивної поведінки (експериментальне дослідження) / А.В. Шляхова, О.В. Веселовська // Матер. наук.-практ. конф. «Експериментальна та клінічна ендокринологія», Харків, 9–10 лютого 2006 р. – Харків, 2006. – С. 107–108.
8. Менинг О. Поведение животных / О. Менинг. – М. : Мир, 1982. – 360 с.
9. Веселовська О.В. Особливості формування підлеглого типу поведінки щурів при агоністичних зіткненнях / О.В. Веселовська, А.В. Шляхова // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т. 53. – № 2. – С. 41–47.

T.M. Воробьова, A.V. Шляхова, O.V. Веселовська

ВПЛИВ КАНАБІНОЇДНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ НА ЕМОЦІЙНУ ПОВЕДІНКУ ТА ЕЛЕКТРОГЕНЕЗ МОЗКУ ЩУРІВ

Досліджено вплив канабіноїдів на формування агресивного і підлеглого типів поведінки та електрогенез лімбіко-неокортикальних структур і медіальної нюхової ділянки мозку щурів. Виявлено

порушення просторово-часового стереотипу поведінки, зміна агресивного типу поведінки на пасивний на тлі збагачення електрогенезу структур мозку шурів, що досліджувалися, генералізованими пароксизмами складної структури з ініціацією розвитку в гіпокампі.

Ключові слова: канабіноїдна залежність, електроенцефалограма, поведінка.

T.M. Vorobjova, A.V. Shlyahova, O.V. Veselovskaya

INFLUENCE OF CANNABINOID DEPENDENCE IN EMOTIONAL BEHAVIOR AND ELECTROGENESIS OF RATS BRAIN

The effects of cannabinoids in the formation of aggressive and subordinating behaviors and electrogenesis in limbic-neocortical structures and medial olfactory area of the rat brain have been studied. A violation of the space-time pattern, a change of aggressive type of behavior to the passive type on the background of an electrogenesis enrichment of the investigated structures of rat brain by complex structure generalized paroxysms with the initiation of development in the hippocampus have been revealed.

Key words: cannabinoid dependence, EEG, behavior.

Поступила 03.06.14