

Уровень тревожности и содержание нейрометаболитов в гиппокампе и амигдале крыс после завершения хронического предаторного стресса

О.Б. Шевелев¹, В.Э. Цейликман², Н.В. Хоцкин¹, А.С. Хоцкина¹, Г.В. Концевая¹, М.С. Лапшин², М.П. Мошкин¹, М.В. Комелькова², И.В. Фекличева², О.Б. Цейликман², Е.Б. Манухина^{2, 3, 4}, Г.Ф. Дауни⁴, Е.Л. Завьялов¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

³ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

⁴ Центр медицинских наук Университета Северного Техаса, Форт-Уэрт, Техас, США

✉ e-mail: shevelev.oleg.nsk@gmail.com

В этом исследовании для изучения соотношения между уровнем тревожности с изменениями нейрометаболического профиля в гиппокампе и амигдале воспроизводилась экспериментальная модель предаторного стресса, в которой крысы линии Sprague-Dawley в течение 10 минут подвергались экспозиции кошачьей мочи на протяжении 10 дней ежедневно. В момент предъявления стимула велась съемка поведенческих реакций. Регистрировались реакции испуга, агрессивности, избегания стимула и груминга. Через 14 дней после завершения последнего стрессорного воздействия в тесте «крестообразный лабиринт» определялся общий уровень тревожности. С помощью метода прижизненной ЯМР-спектроскопии определяли содержание нейрометаболитов в гиппокампе и амигдале. По особенностям поведенческих реакций на стрессор животные были ретроспективно разделены на два фенотипа. Первый фенотип использовал пассивную поведенческую стратегию, а второй – активную. У животных первого фенотипа показатели тревожного поведения сохранялись на контрольном уровне, в то время как у животных второго фенотипа наблюдалось снижение этого показателя. В гиппокампе у животных второго фенотипа отмечалось повышенное содержание лактата по сравнению с животными первого фенотипа, тогда как уровень N-ацетиласпартата имел самые низкие значения, отличные от таковых у животных двух других групп. В амигдале у животных второго фенотипа было снижено содержание таурина по сравнению с животными первого фенотипа и контрольной группы. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о связи постстрессорных изменений тревожности с особенностями поведенческих реакций, выявленных в момент непосредственного действия стрессора. Среди нейрометаболитов гиппокампа и амигдалы определены наиболее информативные для характеристики анксиолитического действия предаторного стресса.

Ключевые слова: предаторный стресс; нейрометаболиты; амигдала; гиппокамп; индекс тревожности.

Для цитирования: Шевелев О.Б., Цейликман В.Э., Хоцкин Н.В., Хоцкина А.С., Концевая Г.В., Лапшин М.С., Мошкин М.П., Комелькова М.В., Фекличева И.В., Цейликман О.Б., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Завьялов Е.Л. Уровень тревожности и содержание нейрометаболитов в гиппокампе и амигдале крыс после завершения хронического предаторного стресса. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(5):582-587. DOI 10.18699/VJ19.528

Anxiety and neurometabolite levels in the hippocampus and amygdala after prolonged exposure to predator-scent stress

О.Б. Shevelev¹, V.E. Tseilikman², N.V. Khotskin¹, A.S. Khotskina¹, G.V. Kontsevaya¹, M.S. Lapshin², M.P. Moshkin¹, M.V. Komelkova², I.V. Feklicheva², O.B. Tseilikman², E.B. Manukhina^{2, 3, 4}, H.F. Downey⁴, E.L. Zavjalov¹

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

⁴ Department of Physiology and Anatomy, University of North Texas Health Science Center, Fort Worth, Texas, USA

✉ e-mail: shevelev.oleg.nsk@gmail.com

Here, to study the relationship between anxiety levels with changes in the neurometabolic profile in the hippocampus and amygdala, an experimental predator stress model was reproduced in which Sprague-Dawley rats were exposed to cat urine for 10 minutes on a daily basis for 10 days. At the time of presentation of the stimulus, an online survey of behavioral reactions was conducted. Fear, aggressiveness, avoidance of stimulus and grooming were recorded. Fourteen days after the completion of the last stress exposure, the total level of anxiety was determined in the test of the "cross maze". Using the method of *in vivo* NMR spectroscopy, the content of neurometabolites was determined in the hippocampus and in the amygdala. According to the peculiarities of behavioral reactions to a stressor, animals were retrospectively divided into two phenotypes. The first phenotype used a passive behavioral strategy, and the second phenotype was active. In animals of the first phenotype, the indicators of anxiety behavior remained at the control level. In animals of the second phenotype, a decrease in anxiety was observed. Animals of the second phenotype showed elevated levels of lactate in the hippocampus compared to animals of the first phenotype, and the lowest

N-acetylaspartate levels significantly differed from those in the control and the first phenotype animals. In the amygdala, in animals of the second phenotype, the content of taurine is sharply reduced in comparison with those in the control and the animals of the first phenotype. Thus, the results obtained indicate a relationship of post-stress changes in anxiety, with the peculiarities of the behavioral reactions presented at the moment of the immediate action of the stressor. Among the hippocampal and amygdala neurometabolites, the most informative for the characterization of the anxiolytic action of the predator stress are identified.

Key words: predator scent stress; neurometabolites; amygdala; hippocampus; anxiety index.

For citation: Shevelev O.B., Tseilikman V.E., Khotskin N.V., Khotskina A.S., Kontsevaya G.V., Lapshin M.S., Moshkin M.P., Komelkova M.V., Feklicheva I.V., Tseilikman O.B., Manukhina E.B., Downey H.F., Zavjalov E.L. Anxiety and neurometabolite levels in the hippocampus and amygdala after prolonged exposure to predator-scent stress. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(5):582-587. DOI 10.18699/VJ19.528 (in Russian)

Введение

Различные варианты предаторного стресса, такие как визуальный контакт с хищником и восприятие его ароматов через обонятельную систему, рассматриваются в качестве экспериментальных моделей военного стресса и синдрома посттравматических стрессорных расстройств (ПТСР) (Cohen et al., 2008). Принципиально важно, что развитие ПТСР избирательно и что среди лиц, испытывших тяжелый психологический стресс, высока доля устойчивых к ПТСР (Pitman et al., 2012). Более того, в последнее время выделяют немногочисленную, но, тем не менее, весьма интересную с нейробиологических позиций группу лиц, у которых после психологической травмы развивался феномен посттравматического роста (Wong et al., 2018). Однако до сих пор мало изучены биологические основы устойчивости к ПТСР и еще меньше известно о природе «посттравматического роста».

Важным этапом в изучении ПТСР остается необходимость создания адекватной экспериментальной модели. Основное требование ко всем моделям ПТСР заключается в их релевантности диагностическим критериям (Cohen, Zohar, 2004). Согласно пятому изданию диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам (American Psychiatric Association, 2013), диагноз ПТСР может быть поставлен при условии идентификации стрессора как пускового сигнала, спровоцировавшего это психическое заболевание. В силу того, что ПТСР является отдаленным последствием действия стрессора, до сих пор не уделяется должного внимания значению поведенческих реакций непосредственно в момент переживания психологического стресса, при формировании восприимчивости и устойчивости к ПТСР.

Несмотря на продолжительную историю изучения роли поведенческих адаптационных стратегий в формировании ответной реакции организма на стрессорный фактор, для ПТСР подобное направление исследований, к сожалению, оказалось не характерным. В нейробиологии выделяют две адаптационные стратегии. Стратегию, направленную на активное преодоление стрессорной ситуации, называют стратегией «стимул–реакция», или S-R стратегией (Schwabe et al., 2008; De Kloet, 2012). Соответственно адаптационную стратегию, направленную на привыкание к действию стрессора, называют пространственной (spatial), или S стратегией (Schwabe et al., 2008). Очевидно, что S-R стратегия необходима в тех ситуациях, когда организм имеет возможности преодолеть действие стрессора путем реализации реакции «борьба–бегство», а S стратегия полезна в условиях невозможности прекращения действия

стрессора. Реализация S-R стратегии связана с активацией оси гиппокамп–стриатум, а передача сигналов от гиппокампа к амигдале приводит к реализации S стратегии (Schwabe et al., 2008).

Большинство исследований метаболизма в этих ключевых лимбических структурах в условиях хронического стресса проведены *in vitro*. Протонная ЯМР-спектроскопия позволяет дать прижизненную оценку метаболического профиля гиппокампа и амигдалы. Эта информация особенно полезна тем, что получена в цельном мозге в условиях сохранности нейросетей и коннектомов. В настоящее время имеется очень мало данных ЯМР-спектроскопии в условиях хронического стресса. Ранее было показано (Nemanth Kumar et al., 2012), что в условиях хронического стресса в гиппокампе повышается доля одних метаболитов (миоинозитол, таурин) и снижается доля других (N-ацетиласпартат, глутамат и глутамин, ГАМК). В этих исследованиях изучались изменения непосредственно после завершения стрессорного воздействия. К сожалению, отсутствуют исследования отсроченных эффектов хронического стресса на показатели ЯМР-спектроскопии гиппокампа и миндалины.

В данном исследовании мы изучали особенности непосредственной реакции на стрессорный стимул со стороны животных, подвергнутых предаторному стрессу. При этом нас прежде всего интересовало, насколько возможно разделить по уровню тревожности на отдельные поведенческие фенотипы животных с различными поведенческими стратегиями в ответ на непосредственное действие стрессора. Кроме того, мы сопоставили поведенческие фенотипы по уровню тревожности с изменениями нейрометаболического профиля в гиппокампе и в амигдале. Интерес к этим лимбическим структурам вызван их ключевой ролью в нейробиологии ПТСР в целом и в развитии тревожной симптоматики ПТСР в частности.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Работа проведена в весенний период с использованием оборудования ЦКП SPF-виварий ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005, RFMEFI62114X0010). Исследование выполнено на 26 самцах крыс линии Sprague-Dawley, которые на начало исследования имели возраст 8–9 недель. Животных содержали по двое в индивидуально вентилируемых клетках OptiRAT (Animal Care, США) при свободном доступе к воде и гранулированному корму для лабораторных грызунов (Ssniff, Германия), искусственном фотопериоде 14C:10T, температуре 24±2 °C и влажности 40–50 %.

В качестве подстилочного материала использовали сухие обеспыленные опилки. Корм и подстилку перед применением автоклавировали. Для поения животных использовали воду, полученную на установке Millipore, после обогащения минеральной добавкой «Северянка» (ООО «Эко-проект», Санкт-Петербург). Все эксперименты на животных были выполнены с соблюдением принципов гуманности, проведены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 № 755) и директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЭС).

Общий протокол. Исследуемые животных были разделены на две группы: контрольные животные ($n = 7$) и экспериментальные крысы ($n = 19$), которые подвергались предаторному стрессу для моделирования ПТСР. Для создания предаторного стресса применяли модификацию модели Cohen, Zohar (2004), представленную ранее (Цейликман и др., 2017). Экспериментальная модель ПТСР воспроизводилась ежедневной экспозицией крысам мочевого меток взрослого домашнего кота на древесных наполнителях для кошачьего туалета хвойных пород. 20 г наполнителя с мочевыми метками насыпали в чашки Петри, накрывали нейлоновой тканью, чтобы наполнитель не рассыпался, и помещали в домашние клетки с крысами на 15 мин в течение 10 дней. Животным из контрольной группы предъявляли наполнитель, как и для экспериментальных животных, только без мочевого меток. На протяжении последующих 10 дней животные не подвергались никаким дополнительным воздействиям, и только на 23-й день исследовали проявления эмоциональной реакции тревоги крыс в «приподнятом крестообразном лабиринте». Через 3 сут оценивали содержание нейрометаболитов в гиппокампе и амигдале крыс. На 28-й день проводили эвтаназию животных.

Определение поведенческой активности животных. Непосредственно в момент действия предаторного стресса фиксировали количество поведенческих актов в ответ на стимул. При этом учитывали реакции страха, когда животное замирало во время контакта с запахом кошки, груминга, исследовательских реакций, т. е. обнюхивания упакованного в чашку Петри наполнителя с кошачьей мочой. Учитывали также реакции избегания стимула, проявлявшиеся в закапывании чашки Петри с наполнителем вглубь подстилки. Кроме того, учитывали реакции бесстрашия, когда крысы запрыгивали на чашку с наполнителем, а также проявления агрессии, когда крысы пытались разорвать нейлоновую ткань, покрывавшую чашку Петри.

Для выявления эмоциональной реакции тревоги крыс тестировали в «приподнятом крестообразном лабиринте», представлявшем собой центральную площадку размером 10×10 см, от которой крестообразно расходятся под прямым углом четыре рукава размерами 50×10 см, два из которых, расположенные напротив друг друга, не имели стенок (открытые рукава), а другие имели стенки высотой 50 см (закрытые рукава). Лабиринт устанавливали на высоте 1 м от пола. Индивидуальное поведение каждой крысы изучали в течение 10 мин. В качестве интегрального показателя, характеризующего наличие

тревожных расстройств, использовали индекс тревожности (ИТ), который вычисляли по следующей формуле (Cohen et al., 2008):

$$\text{ИТ} = 1 - \left[\frac{\text{время в открытых рукавах}}{\sum \text{время в лабиринте}} + \frac{\text{количество заходов в открытые рукава}}{\sum \text{общее количество заходов}} \right] / 2.$$

Магнитно-резонансная спектроскопия гиппокампа и амигалды. Изучение нейрометаболитов проводили на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Biospec 117/16 USR, Bruker, Германия). При помощи ^1H радиочастотных катушек оценивали уровни метаболитов гиппокампа и амигалды крыс. За 5 мин до исследования крыс обездвигивали газовым наркозом (Isofluran, Baxter Healthcare Corp., США) с помощью наркозного аппарата (The Univentor 400 Anaesthesia Unit, Univentor, Мальта). Температуру тела животных поддерживали применяя водный контур в томографическом столике-кроватьке, имевшем температуру поверхности 30°C . Под нижнюю часть туловища помещали пневматический датчик дыхания (SA Instruments, Stony Brook, США), что позволяло контролировать глубину наркоза.

^1H МРС. Протонные спектры головного мозга крысы получены с использованием передающей объемной (T11232V3) и приемной поверхностной (T11425V3) ^1H радиочастотных катушек. Для правильного позиционирования спектроскопических вокселей, размер которых составлял $3.0 \times 1.5 \times 3.0$ мм для амигалды и $1.5 \times 3.0 \times 3.0$ мм для гиппокампа, методом TurboRARE (rapid with relaxation enhancement) с параметрами импульсной последовательности $\text{TE} = 11$ мс, $\text{TR} = 2.5$ с были сняты T2-взвешенные изображения головного мозга крысы высокого разрешения (толщина среза 0.5 мм, поле обзора 2.5×2.5 см, размер матрицы 256×256 точек) в трех проекциях. Воксели позиционировались вручную в соответствии со структурными T2-взвешенными МРТ изображениями. Все протонные спектры получены пространственно-локализованной одновоксельной спектроскопией методом STEAM (stimulated echo acquisition mode spectroscopy) с параметрами импульсной последовательности $\text{TE} = 3$ мс, $\text{TR} = 5$ с и количеством накоплений 120. Перед каждым спектроскопическим измерением проводили настройку однородности магнитного поля в пределах выбранного вокселя методикой FastMap (Gruetter, 1993). Подавление сигнала воды в спектрах осуществлялось с помощью импульса переменной мощности и оптимизированной задержки релаксационной последовательности (VAPOR) (Tkáč et al., 1999).

Обработка ^1H спектров. Для обработки экспериментальных спектров ^1H МРС и определения количественного состава метаболитов использовали оригинальную, разработанную в нашей лаборатории специализированную компьютерную программу, основанную, как и программный пакет LC Model (Provencher, 1993), на предположении о том, что спектр смеси известных соединений представляет собой линейную комбинацию спектров анализируемых компонентов. Подробное описание работы программы представлено в статье (Moshkin et al., 2014). Оценивали процентное содержание исследуемых метаболитов по от-

ношению к их общему количеству. Всего было исследовано 12 метаболитов (N-ацетиласпартат, гамма-аминомасляная кислота, аланин, аспартат, суммарные холиновые соединения, сумма креатин+фосфокреатин, сумма глутамин+глутамат, миоинозитол, таурин, глицин, лактат и фосфорилэтанолламин), исходя из текущих технических возможностей. Такой набор нейрометаболитов позволяет дать интегральную оценку нейрональной активности (Hemanth Kumar et al., 2012; Гулевич и др., 2015; Shevelev et al., 2018), поскольку отражает баланс между тормозными (ГАМК) и возбуждающими нейромедиаторами (глутамат+глутамин), содержит маркер жизнеспособности нейронов (N-ацетиласпартат), ключевые аминокислоты (аланин, аспартат), модераторы нейротрансмиссии (таурин), фосфатного метаболизма (креатин+фосфокреатин), отражает синтез мембран и пролиферацию клеток (холин, миоинозитол, фосфорилэтанолламин).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Достоверность различий между фенотипами животных оценивали с помощью post-hoc теста (LSD Fisher). Значения исследованных параметров представлены как среднее ± ошибка (M ± SEM).

Результаты

По характеру поведенческого реагирования на хроническое действие предаторного стресса животные разделились на два фенотипа. Первый фенотип ($n = 13$) характеризовался наличием пассивной оборонительной реакции с доминированием реакций страха и груминга. Для второго фенотипа были характерны активные поведенческие реакции в виде исследовательской деятельности, агрессивности в отношении к стимулу и отсутствия страха. На 13-й день после завершения предаторного стресса (табл. 1) были отмечены статистически значимые различия по времени нахождения животного в центре крестообразного лабиринта ($F_{2,24} = 5.89, p = 0.008$). Post-hoc анализ показал статистически значимые различия между контролем и вторым фенотипом ($p = 0.003$), а также между животными первого и второго фенотипов ($p = 0.011$).

У животных второго фенотипа время нахождения в центре лабиринта было выше, чем у контрольных животных и представителей первого фенотипа. Кроме того, отмечены статистически значимые различия по времени

нахождения животных в открытых рукавах ($F_{2,24} = 22.32, p < 0.001$). При этом животные второго фенотипа характеризовались большим временем нахождения в открытых рукавах, чем контрольные животные ($p < 0.001$) и животные первого фенотипа ($p < 0.001$). Помимо этого, наблюдались статистически значимые изменения количества заходов в открытые рукава ($F_{2,24} = 11.56, p = 0.003$). Животные второго фенотипа чаще заходили в открытые рукава, чем контрольные ($p < 0.001$) и крысы первого фенотипа ($p < 0.001$).

При исследовании уровня метаболитов в гиппокампе крыс из разных групп (табл. 2) были найдены значимые различия по содержанию N-ацетиласпартата ($F_{2,24} = 3.74, p = 0.041$) и лактата ($F_{2,24} = 4.42, p = 0.023$). Оказалось, что у животных первого фенотипа содержание N-ацетиласпартата выше, чем у животных второго фенотипа ($p = 0.014$), но при этом отсутствовали статистически значимые отличия от крыс из контрольной группы. Содержание лактата у животных второго фенотипа, напротив, было выше, чем у животных первого фенотипа ($p < 0.01$). Однако при этом ни один из поведенческих фенотипов не отличался статистически значимо от контрольного уровня.

Анализ содержания нейрометаболитов в амигдале исследуемых животных (см. табл. 2) показал статистически значимые различия только по содержанию таурина ($F_{2,24} = 3.51, p = 0.049$). При этом у животных второго фенотипа содержание таурина было самым низким и достоверно отличалось от значений этого показателя у животных из контрольной группы ($p = 0.022$) и крыс первого фенотипа ($p = 0.031$).

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют прежде всего о наличии связи между использованной в момент воздействия поведенческой стратегией и уровнем тревожности, зарегистрированным спустя значительный промежуток времени после пережитого стресса. Важно отметить, что в этом эксперименте у контрольных животных уровень тревожности был исходно высоким. Согласно данным других исследователей (Cohen, Zohar, 2004; Кондашевская и др., 2017), использовавшим этот показатель, средняя величина индекса тревожности обычно варьировала от 0.5 до 0.75, хотя в выборках встречались крысы с показателем тревожности более 0.8. В нашей экспериментальной по-

Таблица 1. Показатели тревожности в тесте «крестообразный лабиринт» у крыс с различным поведенческим ответом на стрессор

Показатель тревожности	Контроль ($n = 7$)	Первый фенотип ($n = 13$)	Второй фенотип ($n = 6$)
Центральная площадка, % времени теста	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.19 ± 0.01*#
Закрытые рукава, % времени теста	0.86 ± 0.03	0.83 ± 0.03	0.62 ± 0.03*#
Открытые рукава, % времени теста	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.19 ± 0.03*#
Исследование закрытого пространства, мин	0.92 ± 0.06	0.94 ± 0.04	0.98 ± 0.01
Исследование открытого пространства, мин	0.35 ± 0.06	0.37 ± 0.03	0.70 ± 0.06*#
Заходы в открытые рукава, шт.	0.63 ± 0.50	0.69 ± 0.21	4.43 ± 1.19*#
Индекс тревоги	0.92 ± 0.01	0.91 ± 0.01	0.88 ± 0.01*#

Примечание. Здесь и в табл. 2: значения представлены как среднее ± ошибка среднего (M ± SEM); * $p < 0.05$ – отличия по сравнению с контролем; # $p < 0.05$ – отличия между первым и вторым фенотипами.

Таблица 2. Содержание нейрометаболитов в гиппокампе и амигдале у крыс с различным поведенческим ответом на стрессор

Нейрометаболит	Гиппокамп			Амигдала		
	Контроль (n = 7)	Первый фенотип (n = 13)	Второй фенотип (n = 6)	Контроль (n = 7)	Первый фенотип (n = 13)	Второй фенотип (n = 6)
N-ацетиласпартат	17.85 ± 0.67	18.22 ± 0.68	15.35 ± 0.53*#	9.62 ± 0.83	9.98 ± 1.13	9.97 ± 3.02
ГАМК	4.99 ± 0.68	5.98 ± 0.96	6.09 ± 1.17	2.29 ± 1.09	1.68 ± 0.51	0.92 ± 0.66
Аланин	4.74 ± 1.44	3.53 ± 0.77	5.35 ± 1.85	0.49 ± 0.26	2.28 ± 0.77	1.89 ± 1.04
Аспартат	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.03	0.08 ± 0.01	1.78 ± 0.93	1.89 ± 0.89	2.67 ± 1.47
Холиновые соединения	1.78 ± 0.42	1.93 ± 0.26	1.15 ± 0.26	1.32 ± 0.48	1.45 ± 0.49	0.83 ± 0.49
Креатин + фосфокреатин	11.96 ± 1.19	12.36 ± 0.84	9.58 ± 0.84	11.63 ± 0.90	10.81 ± 0.83	7.98 ± 1.81
Глутамат + глутамин	15.07 ± 1.66	16.90 ± 1.47	13.43 ± 1.83	21.27 ± 2.39	19.81 ± 1.43	15.37 ± 4.70
Миоинозитол	5.46 ± 1.64	3.83 ± 1.09	3.48 ± 1.13	11.14 ± 3.41	13.74 ± 2.44	14.11 ± 4.24
Таурин	4.92 ± 0.55	5.45 ± 0.48	4.52 ± 0.42	3.44 ± 0.52	2.96 ± 0.84	0.19 ± 0.13*#
Глицин	19.10 ± 3.63	21.31 ± 2.40	20.85 ± 1.48	12.86 ± 4.15	8.30 ± 3.57	9.84 ± 5.77
Лактат	4.44 ± 1.01	1.90 ± 0.83	6.26 ± 1.53#	1.08 ± 1.00	5.32 ± 3.35	2.35 ± 2.06
Фосфорилэтанолламин	9.59 ± 3.12	8.63 ± 2.14	13.30 ± 1.74	23.09 ± 3.39	22.00 ± 2.80	33.18 ± 7.17

становке у контрольных крыс исходный уровень тревожности был настолько высоким, что его не смог усугубить даже ежедневный predatorный стресс.

Оказалось, что крысы второго фенотипа, которые демонстрировали в ответ на экспозицию predatorного стресса активную стратегию S-R, характеризовались снижением уровня тревожности в сравнении с контролем. Однако крысы первого фенотипа, проявлявшие пассивную поведенческую реакцию – S стратегия, сохраняли повышенную тревожность и после завершения predatorного стресса. То есть анксиолитическое действие predatorного стресса наблюдалось только у крыс, использующих S-R стратегию. Таким образом, эксперимент демонстрирует роль исходного состояния животных в формировании отдаленных последствий хронического predatorного стресса.

В настоящее время имеются единичные данные по изменению уровней метаболитов головного мозга на фоне хронического стресса на моделях животных. Обнаруженные различия в поведенческих стратегиях крыс на predatorный стресс нашли отражение в уровне нейрометаболитов отдельных структур головного мозга. Полученные нами результаты изучения отдельных метаболитов гиппокампа свидетельствуют о более низком уровне N-ацетиласпартата – метаболита, характеризующего жизнеспособность нейронов в целом (Moffett et al., 2007; Shevelev et al., 2018), у крыс второго фенотипа, реализующих активную поведенческую реакцию (S-R), по сравнению как с крысами первого фенотипа, которые демонстрировали пассивную поведенческую реакцию (S) в ответ на predatorный стресс, так и с контрольными животными. Этот результат соотносится с данными работы (Hemanth Kumar et al., 2012) на модели хронического стресса у крыс, где наблюдалось снижение N-ацетиласпартата в гиппокампе. Подобное снижение уровня этого метаболита на фоне стресса наблюдалось также в гиппокампе макак (Sor-

lan et al., 2010). Помимо этого было обнаружено, что при хроническом стрессе в гиппокампе крыс повышается уровень таурина (Hemanth Kumar et al., 2012). В нашем исследовании выявлена тенденция к повышению уровня таурина у животных первого фенотипа по сравнению с контрольной группой, но различия не достоверны.

Интересной особенностью крыс, реализующих S-R стратегию, является повышенный уровень лактата по сравнению с другой экспериментальной группой. Между тем в момент непосредственного действия стрессорного фактора признаки агрессивности были отмечены только у активных S-R крыс. Противоположные данные получены для серых крыс, селективированных по агрессивно-оборонительной реакции на человека. Оказалось, что ручные животные имели более высокий уровень этого метаболита в гиппокампе по сравнению с агрессивными животными (Гулевич и др., 2015).

Среди исследованных нейрометаболитов амигдалы только таурин оказался весьма чувствительным к действию predatorного стресса. Его содержание снижается у активных крыс второго фенотипа по сравнению с таковым у животных первого фенотипа и контрольной группы. В связи с этим уместно обратить внимание на способность таурина модулировать нейросинаптическую передачу (McCool, Chappell, 2007). Низкий уровень этого нейромедиатора может косвенно свидетельствовать о снижении активности амигдалы второго фенотипа. Возможно, такое снижение является одним из звеньев в механизме анксиолитического действия данной модели predatorного стресса.

Заключение

Основной научной новизной работы является обнаружение анксиолитического действия predatorного стресса у крыс, демонстрирующих в момент переживания стрессорного воздействия S-R стратегию. В настоящем пилотном

исследовании нам удалось выявить информативные нейрометаболиты у крыс, проявлявших различные поведенческие стратегии в условиях стресса. Если допустить некоторую аналогию между экспериментальным снижением тревожности и феноменом посттравматического роста у человека, то предложенный нами экспериментальный протокол в дальнейшем можно использовать для разработки и валидации модели, характеризующей данное малоизученное последствие переживания психологической травмы.

Список литературы / References

- Гулевич Р.Г., Акулов А.Е., Шихевич С.Г., Кожемякина Р.В., Плюснина И.З. Магнитно-резонансная спектроскопия нейрометаболитов в гиппокампе у агрессивных и ручных крыс. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(4):432-438. DOI 10.18699/VJ15.057.
[Gulevich R.G., Akulov A.E., Shikhevich S.G., Kozhemyakina R.V., Plyusnina I.Z. Proton magnetic resonance spectroscopy of neurometabolites in the hippocampi of aggressive and tame male rats. Russ. J. Genet.: Appl. Res. 2016;6(4):430-436. DOI 10.1134/S2079059716040079.]
- Кондашевская М.В., Цейликман В.Э., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Комелькова М.В., Лапшин М.С., Самойлов Е.А., Попков П.Н., Алилуев А.В., Васильева М.В., Курганов А.С., Мальцева Н.В., Цейликман О.Б. Нарушение морфофункционального состояния надпочечников при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве у крыс: корреляция с поведенческими маркерами. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2017;103(7):808-818.
[Kondashevskaya M.V., Tseilikman V.E., Manukhina E.B., Downey H.F., Komelkova M.V., Lapshin M.S., Samoylov E.A., Popkov P.N., Aliluev A.V., Vasileva M.V., Kurganov A.S., Maltseva N.V., Tseilikman O.B. Disorder in the morphology and function of adrenal glands in experimental post-traumatic stress disorder in rats: correlation with behavioral markers. Rossiyskiy Fiziologicheskii Zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Physiological Journal. 2017;103(7):808-818. (in Russian)]
- Цейликман В.Э., Шевелев О.Б., Хоцкин Н.В., Доценко А.С., Концевая Г.В., Лапшин М.С., Мошкин М.П., Комелькова М.В., Фелкличева И.В., Цейликман О.Б., Дремencov И.В., Завьялов Е.Л. Магнитно-резонансная спектроскопия нейрометаболитов гиппокампа и стриатума при синдроме посттравматических стрессорных расстройств. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(7):783-787. DOI 10.18699/VJ17.293.
[Tseilikman V.E., Shevelev O.B., Khotskin N.V., Dotsenko A.S., Kontsevaya G.V., Lapshin M.S., Moshkin M.P., Komelkova M.V., Feklicheva I.V., Tseilikman O.B., Dremencov E., Zavjalov E.L. Magnetic resonance spectroscopy of hippocampal and striatal neurometabolites in experimental PTSD rat modeling. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(7):783-787. DOI 10.18699/VJ17.293. (in Russian)]
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). Arlington, V.A.: Amer. Psychiatric Publ., 2013.
- Cohen H., Matar M.A., Buskila D., Kaplan Z., Zohar J. Early poststressor intervention with high-dose corticosterone attenuates posttraumatic stress response in an animal model of posttraumatic stress disorder. Biol. Psychiatry. 2008;64:708-717. DOI 10.1016/j.biopsych.2008.05.025.
- Cohen H., Zohar J. An animal model of posttraumatic stress disorder: the use of cut-off behavioral criteria. Ann. NY Acad. Sci. 2004;1032:167-178. DOI 10.1196/annals.1314.014.
- Coplan J.D., Mathew S.J., Abdallah C.G., Mao X., Kral J.G., Smith E.L., Rosenblum L.A., Perera T.D., Dwork A.J., Hof P.R., Gorman J.M., Shungu D.C. Early-life stress and neurometabolites of the hippocampus. Brain Res. 2010;1358:191-199. DOI 10.1016/j.brainres.2010.08.021.
- De Kloet E.R. From receptor balance to rational glucocorticoid therapy. Endocrinology. 2014;155(8):2754-2769. DOI 10.1210/en.2014-1048.
- Gruetter R. Automatic, localized *in vivo* adjustment of all first- and second-order shim coils. Magn. Reson. Med. 1993;29:804-811.
- Hemanth Kumar B.S., Mishra S.K., Rana P., Singh S., Khushu S. Neurodegenerative evidences during early onset of depression in CMS rats as detected by proton magnetic resonance spectroscopy at 7T. Behav. Brain Res. 2012;232(1):53-59. DOI 10.1016/j.bbr.2012.03.011.
- McCool B.A., Chappell A. Strychnine and taurine modulation of amygdala-associated anxiety-like behavior is 'state' dependent. Behav. Brain Res. 2007;178(1):70-81. DOI 10.1016/j.bbr.2006.12.002.
- Moffett J.R., Ross B., Arun P., Madhavarao C.N., Nambodiri A. N-Acetylaspartate in the CNS: from neurodiagnostics to neurobiology. Prog. Neurobiol. 2007;81:89-131. DOI 10.1016/j.pneurobio.2006.12.003.
- Moshkin M.P., Akulov A.E., Petrovski D.V., Saik O.V., Petrovsky E.D., Savelov A.A., Koptyug I.V. Proton magnetic resonance spectroscopy of brain metabolic shifts induced by acute administration of 2-deoxy-D-glucose and lipopolisaccharides. NMR Biomed. 2014;27(4):399-405. DOI 10.1002/nbm.3074.
- Pitman R., Rasmussen A., Koenen K., Shin L., Orr S., Gilbertson M., Milad M., Liberzon I. Biological studies of post-traumatic stress disorder. Nat. Rev. Neurosci. 2012;13:769-787. DOI 10.1038/nrn3339.
- Provencher S.W. Estimation of metabolite concentrations from localized *in vivo* proton NMR spectra. Magn. Reson. Med. 1993;30(6):672-679.
- Schwabe L., Dalm S., Schachinger H., Oitzl M.S. Chronic stress modulates the use of spatial and stimulus-response learning strategies in mice and man. Neurobiol. Learn. Mem. 2008;90(3):495-503. DOI 10.1016/j.nlm.2008.07.015.
- Shevelev O.B., Seryapina A.A., Zavjalov E.L., Gerlinskaya L.A., Goryachkovskaya T.N., Slynko N.M., Kuibida L.V., Peltek S.E., Markel A.L., Moshkin M.P. Hypotensive and neurometabolic effects of intragastric Reishi (*Ganoderma lucidum*) administration in hypertensive ISIAH rat strain. Phytomedicine. 2018;41:1-6. DOI 10.1016/j.phymed.2018.01.013.
- Tkáč I., Starčuk Z., Choi I.-Y., Gruetter R. *In vivo* ¹H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. Magn. Reson. Med. 1999;41:649-656.
- Wong A., Lee H.S., Lee H.P., Choi Y.K., Lee J.H. Posttraumatic stress disorder symptoms and posttraumatic growth following indirect trauma from the Sewol ferry disaster, 2014. Psychiatry Investig. 2018;15(6):613-619. DOI 10.30773/pi.2017.12.03.

ORCID ID

O.B. Shevelev orcid.org/0000-0003-3200-958X
E.L. Zavjalov orcid.org/0000-0002-9412-3874

Благодарности. Работа с животными и поведенческое тестирование выполнены в рамках бюджетного проекта № 0324-2019-0041. Томографические данные получены на средства бюджетного проекта № 0259-2019-0004. Исследование проведено с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 04.03.2019. После доработки 08.05.2019. Принята к публикации 12.05.2019.