

**ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО ПЛАВАТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ
И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНОГО
ПИРАЗОЛО[С]ПИРИДИНА ГИЖ-72 И ДИАЗЕПАМА
У МЫШЕЙ BALB/C И C57BL/6**

© 2021 г. Н. В. Кудряшов^{1,2,*}, П. Л. Наплёкова¹, А. В. Волкова¹, К. А. Касабов¹,
В. Б. Наркевич¹, В. С. Кудрин¹, Т. С. Калинина¹, Т. А. Воронина¹

¹НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет),
Москва, Россия

*E-mail: kunvi@mail.ru

Поступила в редакцию 20.02.2021 г.

После доработки 23.03.2021 г.

Принята к публикации 28.04.2021 г.

Изучено влияние острого плавательного стресса (ОПС) на поведенческие и нейрохимические эффекты производного пиразоло[С]пиридина ГИЖ-72 (20 мг/кг, в/б) и диазепам (1 мг/кг, в/б). Установлено, что через 1 ч после ОПС происходило усиление тревожных реакций в тесте “открытое поле” у мышей линии BALB/c и в тесте “закапывание шариков” у мышей линии C57BL/6. Через 24 ч наблюдалось ослабление тревожных реакций мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “открытое поле” и C57BL/6 в тесте “закапывание шариков”. Через 1 ч после ОПС происходило повышение уровня серотонина и снижение норадrenalина в гипоталамусе мышей BALB/c и C57BL/6, а в префронтальной коре – повышение норадrenalина, 3,4-диоксифенилуксусной кислоты и соотношения 3,4-диоксифенилуксусная кислота/дофамин у мышей линии BALB/c. Эти изменения коррелировали с усилением тревожных реакций, а их ослабление под действием ГИЖ-72, диазепам или через 24 ч после ОПС совпадало с ослаблением тревожных реакций мышей. Диазепам и ГИЖ-72 ослабляли тревожные реакции мышей BALB/c и C57BL/6 в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” при отсутствии стресса. Через 1 ч после ОПС эффекты ГИЖ-72 сохранялись в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” у мышей BALB/c и C57BL/6, в то время как эффекты диазепам сохранились у C57BL/6 и усиливались у BALB/c в тесте “открытое поле”. Через 24 ч эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” усиливались у мышей BALB/c, но ослаблялись и сопровождалась тенденцией к седативному эффекту у C57BL/6. Эффекты диазепам в “открытом поле” усиливались только у C57BL/6 и отсутствовали у BALB/c. Эффекты ГИЖ-72 и диазепам в тесте “закапывание шариков” через 24 ч после ОПС сохранялись у BALB/c, но не C57BL/6.

Ключевые слова: стресс, BALB/c, C57BL/6, диазепам, ГИЖ-72, анксиолитические средства, моноамины

DOI: 10.31857/S0869813921080082

Различные виды острых стрессовых воздействий, таких как хэндлинг, электрошок, принудительное плавание, воздействие углекислого газа и других, могут приводить к уменьшению плотности и аффинности ГАМК_A-рецепторов [1, 2]. Эти из-

менения обусловлены десенситизацией последних [3, 4], снижением синтеза и эксоцитоза ГАМК [2], нарушением биосинтеза эндогенных нейроактивных стероидов [5]. В ряде экспериментальных работ было обнаружено, что процедура “принудительное плавание” изменяет противосудорожный и анксиолитический эффекты бензодиазепинов, повышает судорожный порог у грызунов при применении антагонистов ГАМК_A-рецепторов [6–8]. Известно, что процедура “принудительное плавание” приводит к повышению уровней прогестерона и прегнановых нейроактивных стероидов (аллопрегнанолон и аллотетрагидродезоксикортикостерона) в тканях головного мозга и плазме крыс в течение часа после стрессовой экспозиции [5, 9, 10]. Кроме того, острый плавательный стресс (ОПС) продолжительностью не более 10 мин приводит к увеличению плотности митохондриального транслокационного белка 18 кДа (TSPO) через 24 ч после данной процедуры, который, как полагают, играет важную роль в регуляции биосинтеза эндогенных нейроактивных стероидов [11].

Известно, что фенотип эмоционально-стрессовой реакции играет важную роль в реализации анксиолитического эффекта производных бензодиазепина. В частности, у мышей линии C57BL/6, характеризующейся активной реакцией на стресс, бензодиазепины в малых дозах оказывают седативный эффект. В то же время у мышей линии BALB/c, характеризующейся фризинг-реакцией на стресс, наблюдают активирующее действие бензодиазепинов. При увеличении дозы седативный эффект развивается вне зависимости от линии мышей [12, 13].

В настоящее время накоплено большое количество данных о том, что различные виды острого стресса сопровождаются изменениями в моноаминергических системах головного мозга грызунов [14–16]. В то же время поведенческие и нейрохимические эффекты анксиолитических средств различной химической структуры в условиях ОПС остаются слабо изученными, что делает актуальным изучение свойств этих средств в условиях данной модели на мышцах с различными фенотипами эмоциональной реакции на стресс.

ГИЖ-72 (4,6-диметил-2-(4-хлорфенил)-2,3-дигидро-1H-пиразоло[4,3-С]пиридин-3-он, хлоралгидрат) – синтезированное в ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова производное пиразоло[С]пиридина, обладающее анксиолитическим и антидепрессивным эффектами, а также низкой токсичностью. Анксиолитический эффект ГИЖ-72 не только сохраняется, но и усиливается в условиях непредсказуемого хронического умеренного стресса и зависит от функциональной активности 5 α -редуктазы – одного из ключевых ферментов биосинтеза эндогенных нейростероидов [17].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния ОПС на поведенческие и нейрохимические эффекты производного пиразоло[С]пиридина ГИЖ-72 и диазепама у мышей с различными фенотипами эмоциональной реакции на стресс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Опыты были проведены на 189 самцах мышей инбредной линии BALB/c и 189 самцах инбредной линии C57BL/6 массой 20–25 г (Питомник “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественной суточной смене освещенности день/ночь, свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проводились в соответствии с Директивой Совета Европейского сообщества 2010/63/ЕЕС и решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств”.

Вещества

В настоящей работе были использованы: 4,6-диметил-2-(4-хлорфенил)-2,3-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-С]пиридин-3-она хлоралгидрат (ГИЖ-72, 20 мг/кг) (ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова), диазепам (1 мг/кг; Sigma Aldrich). В качестве контроля использовали эквивалентный объем (0.1 мл на 10 г массы тела животного) 0.9%-ного раствора натрия хлорида с добавлением Tween-80 (Sigma Aldrich). Все вещества вводили в/б за 30 мин до поведенческих процедур.

Схема эксперимента

Мыши инбредных линий BALB/c и C57BL/6 были разделены на две большие группы каждая: животные первой были подвергнуты процедуре “принудительное плавание”, второй – не были подвержены стрессовому воздействию. Животные каждой из этих групп были разделены на 6 подгрупп (по 8–9 животных в каждой), которым через 30 мин (3 группы) или 23.5 ч (3 группы) после “принудительного плавания” вводили следующие вещества: (1) 0.9%-ный изотонический раствор NaCl (контроль); (2) ГИЖ-72; (3) диазепам. Через 30 мин после введения веществ оценивали ориентировочно-исследовательскую активность и компульсивно-подобное поведение в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” соответственно. После окончания поведенческих тестов мышей декапитировали, выделяли структуры головного мозга и проводили оценку содержания моноаминов и их метаболитов.

Процедура “принудительное плавание”

Для моделирования острого стресса мышей на 10 мин помещали в пластиковые цилиндры (высотой 30 см, диаметром 10 см), которые на 20 см заполняли водой при температуре 22°C, затем бережно высушивали и возвращали в боксы [18].

Тест “открытое поле”

Для оценки тревожных реакций использовали установку “открытое поле” квадратной формы со сторонами 40 см и стенками высотой 22 см. Площадка установки была разделена на 25 одинаковых квадратов, в 9 центральных располагались 16 отверстий диаметром 2 см. Освещенность площадки составляла 300 лк, перед помещением на площадку мыши находились в темноте в течение 30 мин – в помещении с освещением 5 лк. В ходе теста регистрировали следующие параметры: периферическую горизонтальную двигательную активность у стенок установки, центральную горизонтальную двигательную активность, вертикальную активность и число обследованных отверстий в полу установки в течение 2 мин. При суммировании перечисленных параметров определяли *коэффициент ориентировочно-исследовательской реакции* ($K_{OИР}$), по сумме горизонтальной периферической и центральной двигательной активности определяли *общую двигательную активность*, *индекс тревожности* определяли по соотношению центральной активности к сумме центральной и периферической активности, умноженному на 100%. Увеличение индекса тревожности являлось коррелятом ослабления тревожных реакций [19].

Тест “закапывание шариков”

В качестве экспериментальной установки использовали индивидуальные поликарбонатные боксы для грызунов (31.5 × 23 × 15.7 см), которые на 5 см заполняли плотно утрамбованными опилками. Предварительно животных помещали в индивидуальные боксы с подстилкой на 30 мин с целью ознакомления. После предварительной посадки опилки вновь утрамбовывали и помещали на них 9 стеклянных

шариков диаметром 1.5 см. Мышей помещали в индивидуальные боксы с шариками на 30 мин, по истечению которых подсчитывали количество зарытых шариков (зарытыми считались шарики, погруженные в подстилку на 2/3 объема). В экспериментальной комнате поддерживали минимальный уровень шума и освещение в 100 лк [20].

Определение содержания моноаминов и их метаболитов в ткани мозга

Мышей декапитировали и извлекали на холоде (4°C) следующие структуры мозга: префронтальную кору, гиппокамп, полосатое тело и гипоталамус. Образцы ткани мозга хранились в жидком азоте в течение 2–3 недель до анализа. Структуры мозга гомогенизировали в 0.1 моль/л растворе HClO_4 с добавлением в качестве внутреннего стандарта 0.5 нмоль/л дигидроксibenзиламина и центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин при температуре 4°C (центрифуга Eppendorf, Германия). Надосадочную жидкость отбирали и определяли в ней содержание моноаминов и их метаболитов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией. Норадреналин (НА), дофамин (ДА) и его метаболиты – 3,4-диоксифенилуксусную кислоту (ДОФУК), гомованилиновую кислоту (ГВК) и 3-метокситирамин (3-МТ), серотонин (5-НТ) и его метаболит 5-оксииндолуксусную кислоту (5-ОИУК) разделяли на обращенно-фазной колонке (C18, 4 мкм, 150 × 4.6 мм, Phenomenex, Германия). Подвижная фаза содержала 0.1 моль/л цитратно-фосфатного буфера (pH 2.9), 1.85 ммоль/л 1-октансульфоновой кислоты, 0.27 ммоль/л этилендиаминтетраацетата натрия и 8% ацетонитрила. Скорость элюции подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин при давлении 200 атм. Измерение проводили с помощью электрохимического детектора (BAS LC-4B, США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl [21].

Статистический анализ

Обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., США). Проверка результатов на нормальность распределения осуществляли по критерию Шапиро–Уилка, после чего данные были представлены в виде средних значений по группе с указанием стандартной ошибки среднего. Отличия между группами определяли по методу трехфакторного дисперсионного анализа с последующим *post-hoc* анализом по критерию Ньюмана–Кейлса. В качестве факторов были выделены: стресс, линия мышей и вводимые вещества. Данные, представленные в процентах, обрабатывали в соответствии с критерием Фишера. Результаты считали значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тест “открытое поле”

Было установлено, что при отсутствии стресса двигательная и исследовательская активности были выше у мышей линии C57BL/6 по сравнению с мышами линии BALB/c (рис. 1), что согласуется с ранее полученными данными о межлинейных различиях в тесте “открытое поле” [13]. Введение ГИЖ-72 (20 мг/кг, в/б) приводило к увеличению индекса тревожности в 1.5 раза у мышей BALB/c ($p < 0.05$) и 1.3 раза у животных C57BL/6 по сравнению с контролем, что соответствует анксиолитическому эффекту и согласуется с ранее полученными результатами [17]. Диазепам (1 мг/кг, в/б) у мышей линии BALB/c увеличивал периферическую горизонтальную активность в 1.7 раза ($p < 0.01$), центральную – в 3.3 раза ($p < 0.05$), индекс тревожности – в 1.8 раза ($p < 0.05$) по сравнению с контролем, что также

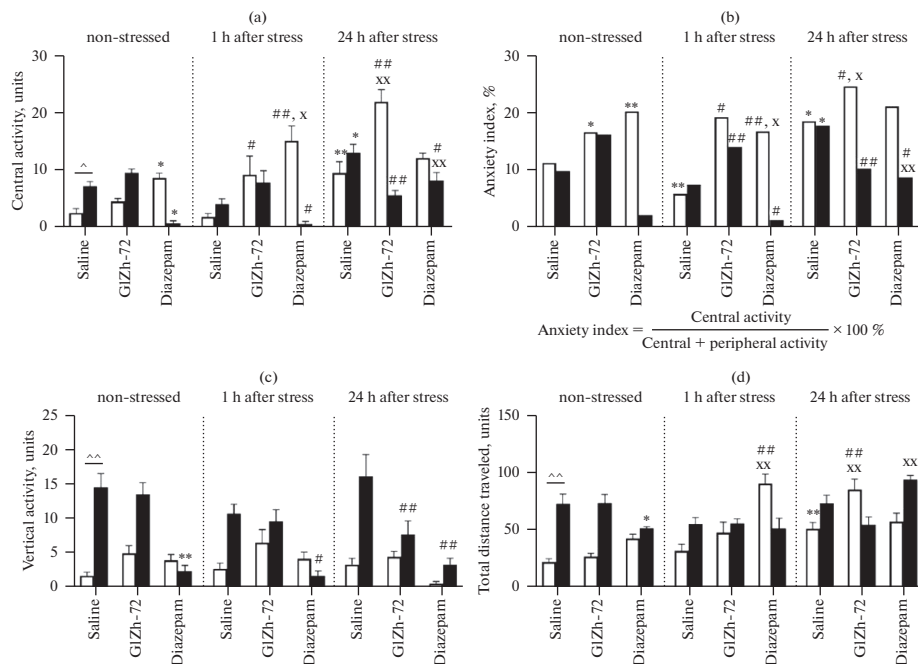


Рис. 1. Влияние острого плавательного стресса (ОПС) на эффекты ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) в тесте “открытое поле” у мышей BALB/c и C57BL/6.

(a) – центральная активность; (b) – индекс тревожности; (c) – вертикальная активность; (d) – общая двигательная активность. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; ^, ^^ – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с тем же веществом без стресса.

соответствует анксиолитическому эффекту. Однако у мышей линии C57BL/6 введение диазепама приводило к уменьшению активности в центральной части установки в 9 раз ($p < 0.05$), индекса тревожности в 6.6 раза ($p < 0.01$), вертикальной активности в 1.6 раза ($p < 0.01$), K_{OIP} в 1.7 раза ($p < 0.01$) и тенденции к уменьшению периферической активности, что в совокупности с уменьшением общей двигательной активности в 1.4 раза ($p < 0.05$) свидетельствует о седативном эффекте диазепама и согласуется с особенностью эффектов бензодиазепинов у мышей линии C57BL/6 [13, 22].

Через 1 ч после ОПС у мышей линии BALB/c регистрировали уменьшение индекса тревожности в 1.9 раза ($p < 0.01$) и тенденцию к уменьшению центральной активности по сравнению с контролем, что соответствует повышению уровня тревожности. У мышей линии C57BL/6 не было выявлено значимых изменений в аналогичных условиях, но была отмечена тенденция к уменьшению периферической, центральной и общей двигательной активности, а также индекса тревожности. ГИЖ-72 через 1 ч после ОПС повышал активность в центральной части установки в 4.8 раза ($p < 0.05$), а индекс тревожности в 3.3 раза ($p < 0.01$) у мышей BALB/c по сравнению с группой животных, подвергнутых стрессу. У мышей C57BL/6 введение ГИЖ-72 в тех же условиях приводило к увеличению индекса тревожности в

1.9 раза ($p < 0.01$). Диазепам не только сохранял, но и усиливал анксиолитический эффект у мышей BALB/c через 1 ч после ОПС. В частности, увеличение периферической активности было выше в 2.2 раза ($p < 0.01$), центральной в 1.7 раза ($p < 0.05$), $K_{OИР}$ и общей двигательной активности в 2.8 раза ($p < 0.01$) по сравнению с введением диазепама без предварительной процедуры острого стресса. У мышей C57BL/6 эффекты диазепама не зависели от ОПС.

Через 24 ч после ОПС поведенческий паттерн мышей BALB/c и C57BL/6 отличался. Так, у BALB/c регистрировали усиление: периферической активности в 2.1 раза ($p < 0.05$), центральной в 3.7 раза ($p < 0.01$), индекса тревожности в 1.6 раза ($p < 0.05$), общей двигательной активности в 2.3 раза ($p < 0.05$), $K_{OИР}$ в 2.1 раза ($p < 0.05$) по сравнению с контролем. В то же время у C57BL/6 отмечали увеличение центральной активности и индекса тревожности в 1.8 раза ($p < 0.05$). У BALB/c введение ГИЖ-72 через 24 ч после ОПС приводило к увеличению всех видов активности кроме вертикальной: периферической в 1.6 раза ($p < 0.01$), центральной в 2.3 ($p < 0.01$), индекса тревожности в 1.3 ($p < 0.05$), общей двигательной в 1.7 ($p < 0.01$), $K_{OИР}$ в 1.7 раза ($p < 0.05$). В противоположность этому введение ГИЖ-72 мышам C57BL/6 через 24 ч после ОПС, приводило к уменьшению центральной активности в 1.7 раза ($p < 0.01$), индекса тревожности в 1.7 ($p < 0.05$), вертикальной активности в 2.1 ($p < 0.01$), $K_{OИР}$ в 1.4 раза ($p < 0.05$) и тенденции к уменьшению общей двигательной активности по сравнению со стрессированным контролем. Эффекты диазепама, вводимого через 24 ч после стресса, характеризовались только тенденцией к увеличению центральной активности и индекса тревожности у BALB/c и увеличением периферической активности в 1.4 раза ($p < 0.05$), уменьшением центральной активности в 1.6 ($p < 0.05$), индекса тревожности в 2 ($p < 0.05$), вертикальной в 4.7 раза ($p < 0.01$) у C57BL/6.

Таким образом, эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” через 24 ч после ОПС по своему паттерну напоминали эффекты диазепама при отсутствии стрессовых воздействий у мышей BALB/c и C57BL/6.

Тест “закапывание шариков”

Мыши контрольной группы C57BL/6 закапывали в 1.2 раз меньше шариков по сравнению с BALB/c ($p < 0.05$) (рис. 2). ГИЖ-72 ослаблял компульсивно-подобное поведение мышей BALB/c и C57BL/6 в 1.9 ($p < 0.01$) и 1.6 ($p < 0.01$) раз соответственно. Аналогичным образом действовал и диазепам, уменьшая количество зарытых шариков в 2.1 и 1.5 раза ($p < 0.01$) у мышей BALB/c и C57BL/6 соответственно.

Через 1 ч после ОПС было отмечено усиление компульсивно-подобного поведения мышей C57BL/6 в 1.3 раза ($p < 0.05$) по сравнению с животными контрольной группы. ГИЖ-72 и диазепам, вводимые через 1 ч после ОПС, сохраняли свои эффекты у мышей BALB/c и C57BL/6.

Через 24 ч после ОПС регистрировали ослабление компульсивно-подобного поведения у мышей C57BL/6, но не BALB/c, в 2.9 раза ($p < 0.01$) по сравнению с контролем. Эффекты ГИЖ-72 и диазепама, вводимых через 24 ч после стресса, сохранились у мышей BALB/c. В то же время эффект диазепама усиливался у мышей C57BL/6 в 3 раза ($p < 0.01$) по сравнению с аналогичным эффектом при отсутствии стресса.

Таким образом, компульсивно-подобное поведение мышей линии C57BL/6, но не BALB/c, зависело от времени, прошедшего после ОПС. Анти-компульсивные эффекты диазепама и ГИЖ-72 сохранялись через 1 ч после ОПС у мышей обеих линий, а через 24 ч – только у мышей линии BALB/c.

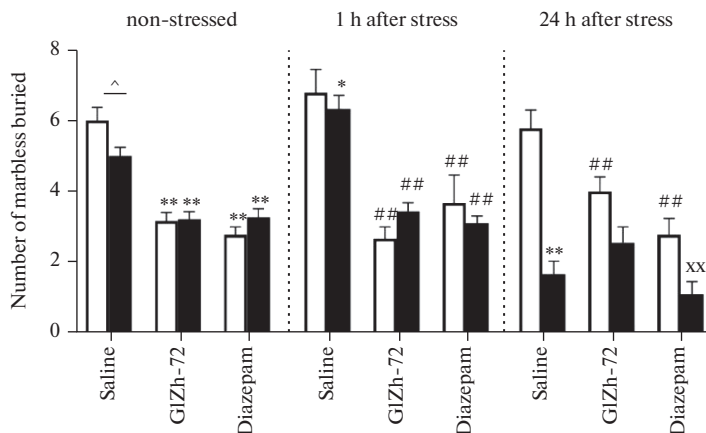


Рис. 2. Влияние острого плавательного стресса на эффекты ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) в тесте “закапывание шариков” у мышей BALB/c и C57BL/6. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6.

*, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; ^, ^^ – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с тем же веществом без стресса.

Нейрохимические изменения

Наиболее значимые изменения в содержании моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре, полосатом теле, гипоталамусе и гиппокампе представлены на рис. 3–8.

При отсутствии стресса у мышей линии C57BL/6 наблюдались различия в содержании моноаминов по сравнению с мышами BALB/c. В префронтальной коре уровни НА и ГВК у мышей C57BL/6 превосходили таковые у мышей BALB/c в 1.8 ($p < 0.01$) и 1.7 ($p < 0.01$) раз соответственно (рис. 3 и 7). В гиппокампе мышей C57BL/6 наблюдались более высокие концентрации НА (в 1.3 раза, $p < 0.01$), 5-ОИУК (в 2.2 раза, $p < 0.05$), 5-НТ (в 2.1 раза, $p < 0.01$), (рис. 5) и соотношения ГВК/ДА в 5.8 раз ($p < 0.01$). В полосатом теле мышей C57BL/6 отмечены более высокие уровни НА (в 2.1 раза, $p < 0.01$), ДОФУК (в 1.9 раз, $p < 0.01$) и соотношения ДОФУК/ДА (в 2.7 раз, $p < 0.01$) (рис. 4), содержание 5-НТ, напротив, было меньше (в 1.9 раз, $p < 0.01$), чем у мышей BALB/c. В гипоталамусе обнаружен более низкий уровень ДОФУК (в 1.4 раза, $p < 0.01$) у мышей C57BL/6, чем у линии BALB/c.

Влияние ГИЖ-72 и диазепама на содержание и оборот моноаминов в отсутствие стресса было более выражено у мышей линии C57BL/6. Так, в гиппокампе диазепам приводил к увеличению 5-ОИУК (в 1.5 раза, $p < 0.01$), а ГИЖ-72 к увеличению 5-НТ (в 1.5 раза, $p < 0.05$). В полосатом теле наблюдалось снижение ДОФУК под действием ГИЖ-72 (в 1.3 раза, $p < 0.05$) и диазепама (в 1.4 раза, $p < 0.01$); снижение соотношения ДОФУК/ДА после введения ГИЖ-72 в 2 раза ($p < 0.01$) и диазепам – в 1.6 раз ($p < 0.01$). У мышей BALB/c ГИЖ-72 увеличивал ДА (в 2.9 раз, $p < 0.01$) и соотношение 5-ОИУК/5-НТ (в 3.1 раз, $p < 0.01$) в гиппокампе.

Через 1 ч после ОПС наблюдались значимые изменения в содержании моноаминов во всех структурах мозга обеих линий мышей по сравнению с контролем, не подвергавшимся стрессу. В префронтальной коре мышей BALB/c наблюдалось увеличение НА (в 2.1 раза, $p < 0.05$) (рис. 3), ДОФУК (в 3.4 раза, $p < 0.01$) и соотно-

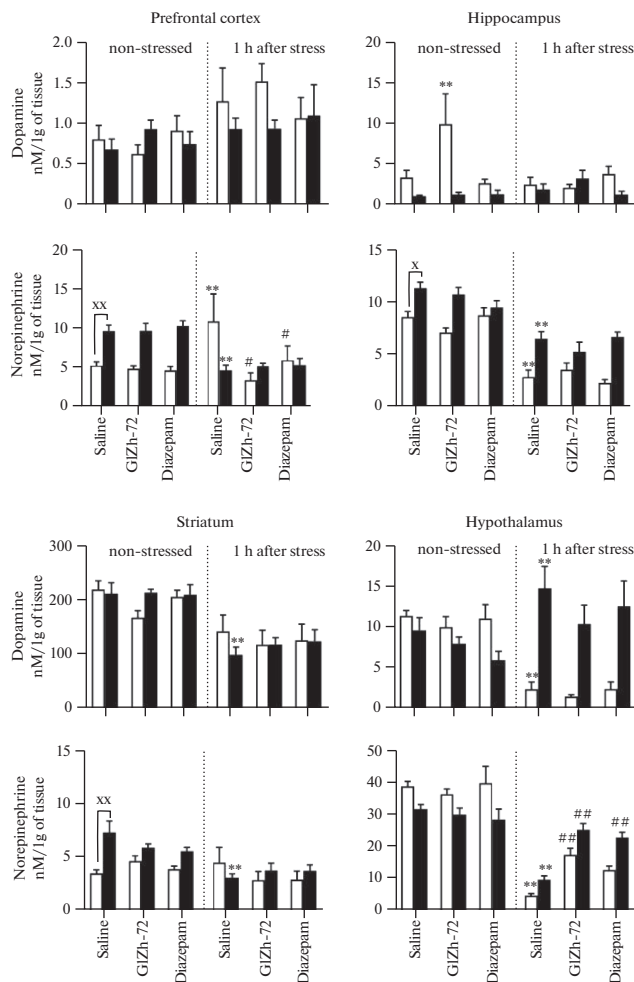


Рис. 3. Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ДА и НА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 1 ч после острого плавательного стресса. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

шения ДОФУК/ДА (в 2.6 раз, $p < 0.05$) (рис. 4), в то время как у мышей C57BL/6 обнаружено снижение НА (в 2.1 раза, $p < 0.05$), ГВК (в 5.5 раз, $p < 0.01$) и соотношения ГВК/ДА (в 10.4 раз, $p < 0.01$). В гиппокампе мышей BALB/c выявлено снижение НА (в 3 раза, $p < 0.01$), увеличение ДОФУК (в 2.9 раз, $p < 0.01$) и 3-МТ (в 8.9 раз, $p < 0.01$). У мышей C57BL/6 в гиппокампе наблюдалось снижение НА (в 1.7 раз, $p < 0.01$), 5-ОИУК (в 4.3 раза, $p < 0.01$), 5-НТ (в 3.5 раз, $p < 0.01$) и соотношения ГВК/ДА (в 2.6 раз, $p < 0.01$). В полосатом теле мышей BALB/c обнаружено снижение 5-НТ (в 3.6 раз, $p < 0.01$) и 5-ОИУК (в 2.6 раз, $p < 0.01$) (рис. 5). У мышей C57BL/6 в данной структуре было выявлено снижение НА (в 2.3 раза, $p < 0.01$), ДОФУК (в 4.7 раз, $p < 0.01$), ДА (в 2.1 раз, $p < 0.01$), соотношения ДОФУК/ДА (в 2 раза, $p < 0.01$). В гипоталамусе

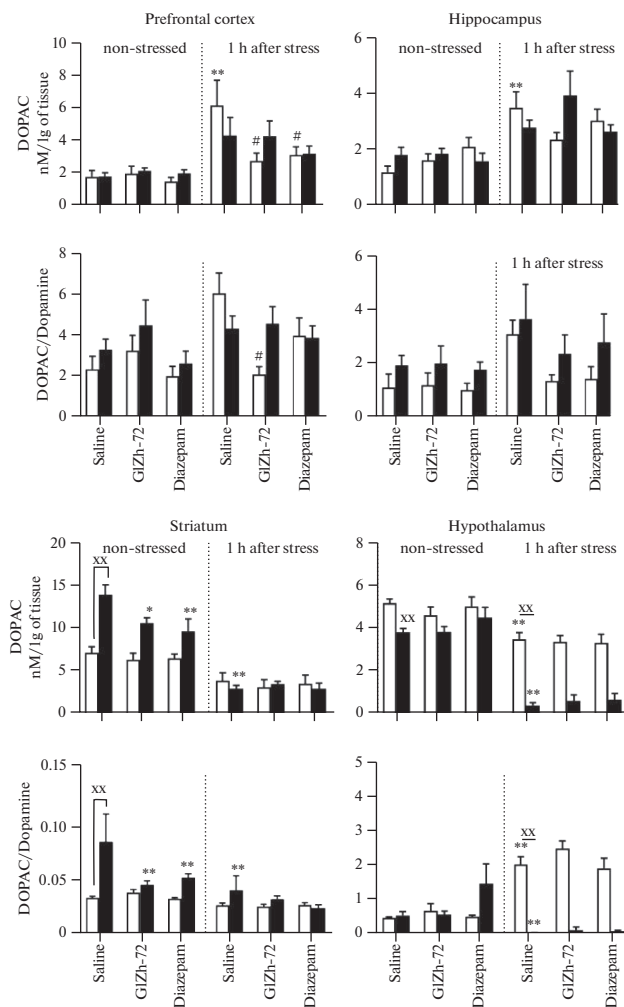


Рис. 4. Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 1 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

мышей BALB/c регистрировали снижение НА (в 8 раз, $p < 0.01$), ДОФУК (в 1.5 раз, $p < 0.01$), ДА (в 4.7 раз, $p < 0.01$), увеличение 3-МТ (в 3.1 раз, $p < 0.01$), 5-НТ (в 2.1 раз, $p < 0.01$) и соотношения ДОФУК/ДА (в 4 раза, $p < 0.01$). У мышей C57BL/6 в гипоталамусе было обнаружено снижение НА (в 3.2 раза, $p < 0.01$), ДОФУК (в 10.1 раз, $p < 0.01$), соотношения ДОФУК/ДА (в 26.5 раз, $p < 0.05$), также выявлено увеличение ДА (в 1.5 раз, $p < 0.01$), 3-МТ (в 3.3 раза, $p < 0.01$) и 5-НТ (в 3.8 раз, $p < 0.01$).

Влияние ГИЖ-72 и диазепама через 1 ч после ОПС на содержание и оборот моноаминов было наиболее выражено в префронтальной коре и гипоталамусе по

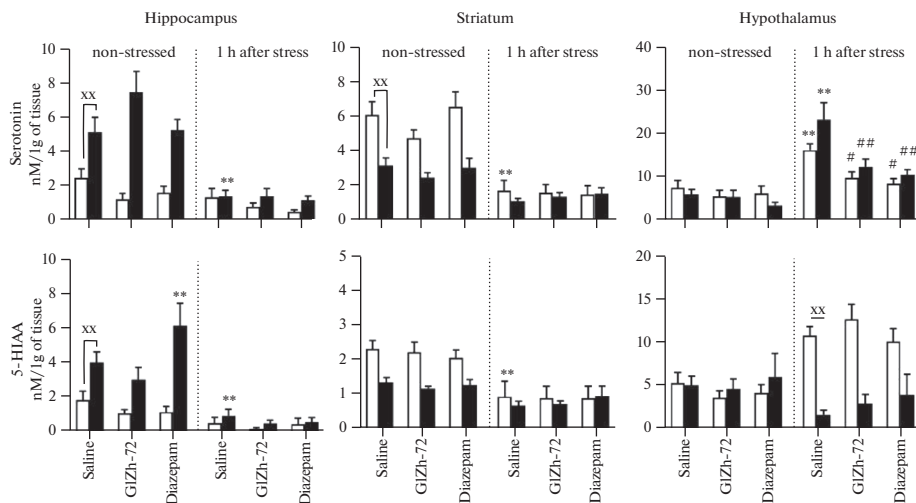


Рис. 5. Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание 5-НТ и 5-ОИУК в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 1 ч после острого плавательного стресса. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

сравнению с контрольными группами, подвергнутыми стрессу. Так, в префронтальной коре мышей BALB/c после введения ГИЖ-72 было обнаружено снижение НА (в 3.2 раза, $p < 0.01$), ДОФУК (в 2.2 раза, $p < 0.01$) и соотношения ДОФУК/ДА (в 2.9 раз, $p < 0.05$). Диазепам также уменьшал НА (в 1.8 раз, $p < 0.05$), ДОФУК (в 2.2 раза, $p < 0.01$) и 3-МТ (в 1.8 раз, $p < 0.05$). В гипоталамусе мышей BALB/c ГИЖ-72 повышал НА (в 3.6 раз, $p < 0.01$) и уменьшал 5-НТ (в 1.6 раз, $p < 0.05$), диазепам уменьшал 5-НТ (в 1.9 раз, $p < 0.05$). У мышей C57BL/6 в гипоталамусе оба препарата повышали НА (ГИЖ-72 – в 2.6 раз, диазепам – в 2.4 раза, $p < 0.01$) (рис. 6), и снижали 5-НТ (ГИЖ-72 – в 1.9 раз, диазепам – в 2.2 раза, $p < 0.01$).

Через 24 ч после ОПС наблюдались значимые изменения в содержании моноаминов во всех структурах мозга обеих линий мышей по сравнению с контролем, не подвергавшимся стрессу. У мышей BALB/c во фронтальной коре наблюдалось снижение ДОФУК (в 9.1 раз, $p < 0.01$), ГВК (в 5.7 раз, $p < 0.01$) и соотношения ДОФУК/ДА (в 5.8 раз, $p < 0.05$) (рис. 7). У мышей линии C57BL/6 также выявлено снижение ДОФУК (в 4 раза, $p < 0.05$), ГВК (в 9 раз, $p < 0.01$), соотношений ДОФУК/ДА и ГВК/ДА (в 4.4 и 5.2 раза соответственно, $p < 0.05$), а также увеличение 5-ОИУК (в 5.6 раз, $p < 0.05$) (рис. 8). В гиппокампе изменения были наиболее выражены у мышей линии C57BL/6: снижение НА (в 2.9 раз, $p < 0.01$), ДОФУК (в 5.7 раз, $p < 0.01$), 5-ОИУК (в 10.1 раз, $p < 0.01$), 5-НТ (в 13 раз, $p < 0.01$) и увеличение 3-МТ (в 14.1 раз, $p < 0.01$). У мышей BALB/c наблюдалось только снижение НА (в 2.9 раз, $p < 0.01$) в гиппокампе. В полосатом теле мышей BALB/c регистрировали снижение НА (в 2.5 раза, $p < 0.05$), ДА (в 1.7 раз, $p < 0.01$), увеличение 5-ОИУК (в 1.7 раз, $p < 0.01$) и соотношения ДОФУК/ДА (в 2 раза, $p < 0.01$). У мышей C57BL/6 в полосатом теле обнаружено снижение НА (в 4 раза, $p < 0.01$), ДОФУК (в 1.8 раз, $p < 0.01$) и ГВК (в 2 раза, $p < 0.01$). В гипоталамусе у обеих линий наблюдались похожие изменения: снижение НА (BALB/c – в 1.7 раз, C57BL/6 – в 1.5 раз, $p < 0.05$),

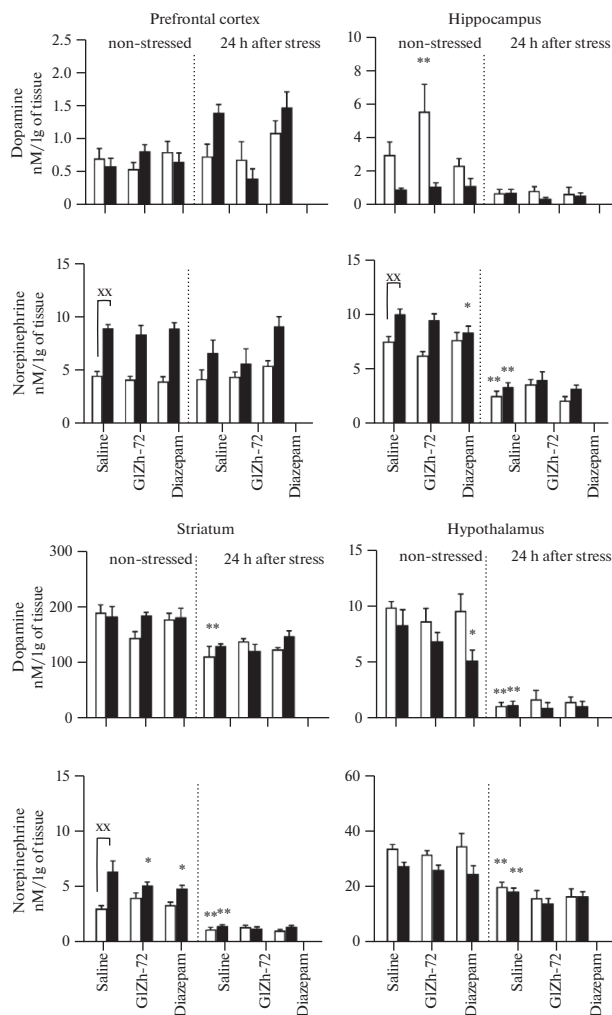


Рис. 6. Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ДА и НА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 24 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

ДОФУК (BALB/c – в 3.7 раз, C57BL/6 – в 3.5 раз, $p < 0.01$) и ДА (BALB/c – в 8.7 раз, C57BL/6 – в 6.4 раза, $p < 0.01$).

Влияние ГИЖ-72 и диазепама через 24 ч после ОПС на содержание и оборот моноаминов было наиболее выражено в префронтальной коре и гипоталамусе по сравнению с контрольными группами, подвергнутыми стрессу. ГИЖ-72 снижал уровень ДА до контрольных значений в префронтальной коре у мышей C57BL/6 (в 3.2 раза, $p < 0.05$) и повышал ГВК в гипоталамусе у мышей BALB/c (в 2.9 раз, $p < 0.05$). Диазепам повышал 5-НТ у обеих линий (BALB/c – в 4.1 раз, C57BL/6 – в 1.9 раз, $p < 0.01$) и 5-ОИУК у мышей BALB/c (в 3.4 раза, $p < 0.01$) в префронтальной коре.

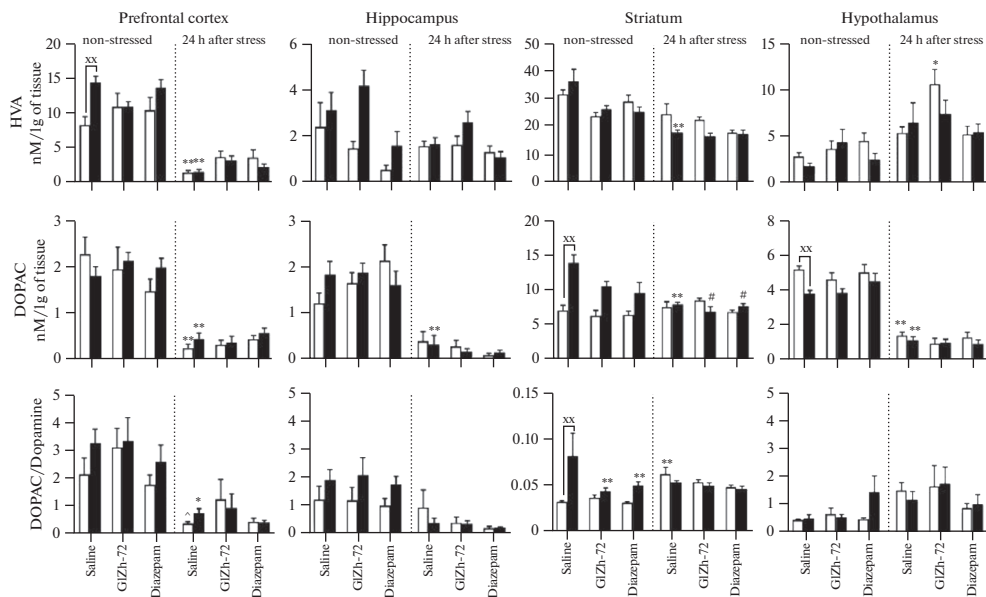


Рис. 7. Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание ГВК, ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 24 ч после острого плавательного стресса.

Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

Таким образом, наиболее значимыми нейрохимическими эффектами ОПС были: (1) повышение уровня 5-НТ и снижение НА в гипоталамусе мышей обеих линий; (2) повышение уровней НА, ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в префронтальной коре мышей линии BALB/c. Перечисленные эффекты ослаблялись после введения изучаемых веществ или через 24 ч после ОПС. Уменьшение соотношения ДОФУК/ДА с одновременной тенденцией к уменьшению уровней 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле мышей C57BL/6, в отличие от предыдущих эффектов, сохранялись через 24 ч после ОПС.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В тесте “открытое поле” через 1 ч после ОПС наблюдали повышение тревожности у мышей BALB/c и тенденцию к подобным изменениям у C57BL/6, через 24 ч – противоположный эффект, который выражался в увеличении всех регистрируемых параметров, кроме вертикальной активности, у мышей BALB/c и избирательным увеличением центральной активности у C57BL/6. Этот эффект можно охарактеризовать как “парадоксальный анксиолитический”, поскольку наряду с увеличением K_{OIP} и общей двигательной активности мышей BALB/c наблюдали повышение индекса тревожности (процентного соотношения горизонтальной активности в центральной части установки и суммарной горизонтальной активности) у мышей обеих линий, что расценивают как коррелят анксиолитического эффекта [19]. Подобная динамика поведенческих реакций может быть обусловлена адаптивными

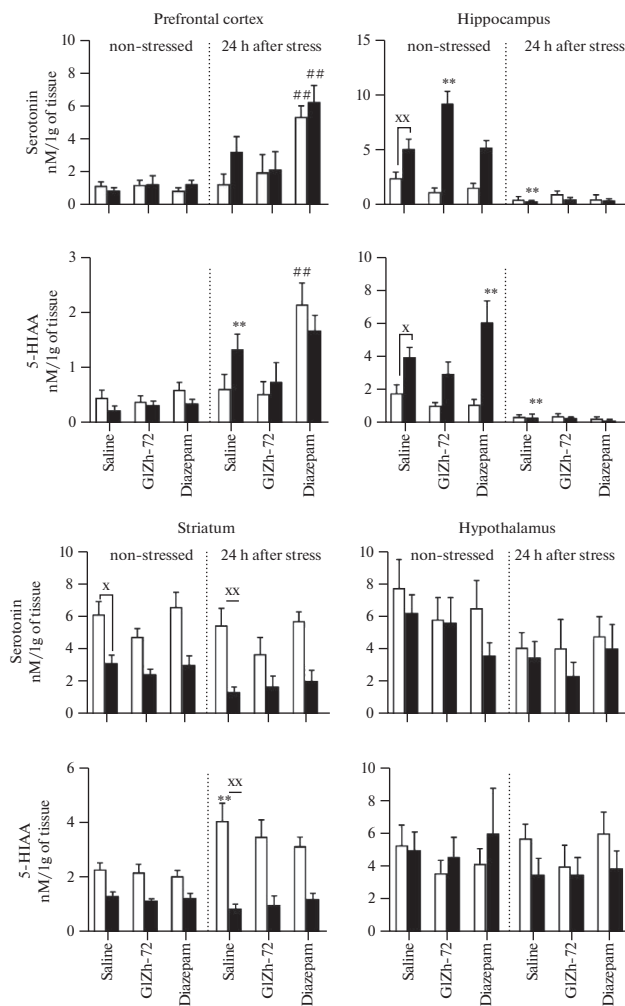


Рис. 8. Влияние ГИЖ-72 (20 мг/кг) и диазепама (1 мг/кг) на содержание 5-НТ и 5-ОИУК в различных структурах головного мозга мышей BALB/c и C57BL/6 через 24 ч после острого плавательного стресса. Белый цвет – мыши линии BALB/c; черный цвет – мыши линии C57BL/6. *, ** – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии без стресса; #, ## – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с контролем соответствующей линии после стресса; x, xx – $p < 0.05$, $p < 0.01$ – по сравнению с BALB/c в аналогичных условиях.

изменениями в системе эндогенных нейроактивных стероидов. Известно, что ОПС приводит к изменению плотности митохондриального TSPO, играющего важную роль в биосинтезе эндогенных ГАМК_A-модулирующих нейроактивных стероидов [11]. В частности, через 30–60 мин после ОПС плотность TSPO в головном мозге грызунов уменьшается, а через 24 ч – увеличивается в 2 раза [23]. Кроме того, введение РК1195, избирательного блокатора TSPO, приводит к уменьшению ОИР мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “открытое поле” [19], что согласуется с эффектами, наблюдаемыми через 1 ч после ОПС. С другой стороны, в тесте “закапывание шариков” аналогичная динамика была выявлена только у C57BL/6. Однако

эти эффекты могут быть обусловлены иными механизмами, поскольку РК11195 не оказывает значимого влияния на поведение мышей в данном тесте [17].

Эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” зависели от времени, прошедшего после стрессовой экспозиции, диазепам демонстрировал подобную зависимость в тесте “закапывание шариков”. По-видимому, анксиолитический эффект ГИЖ-72 опосредован активностью в отношении биосинтеза ГАМК_A-модулирующих нейроактивных стероидов, что косвенно подтверждается двумя фактами. Во-первых, ранее было показано, что анксиолитический эффект ГИЖ-72 дозозависимо устраняется финастеридом [17], это может свидетельствовать о способности ГИЖ-72 модулировать активность 5 α -редуктазы – одного из ключевых ферментов биосинтеза аллопрегнанолонна – позитивного аллостерического модулятора ГАМК_A-рецепторов. Во-вторых, эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” через 24 ч после ОПС по своему поведенческому паттерну сходны с эффектами диазепама при отсутствии стрессового воздействия. Такие результаты можно было бы объяснить усилением биосинтеза ГАМК_A-модулирующих нейроактивных стероидов под действием ГИЖ-72 на фоне увеличения плотности TSPO, которую наблюдают в эти временные рамки [23]. Аллопрегнанолон и диазепам способны замещать прегнаполон на оперантной модели лекарственной дифференцировки у крыс [24], что подтверждает схожесть эффектов этих веществ.

При изучении нейрохимических эффектов ОПС, а также влияния ГИЖ-72 и диазепама на вызванные стрессом изменения было установлено, что наибольшее их количество затрагивало DA- и NA-системы всех изучаемых структур головного мозга мышей. В то же время значимые стресс-индуцированные изменения в 5-HT-системе наблюдали, главным образом, в гипоталамусе и гиппокампе.

Повышение уровня ДОФУК через 1 ч после ОПС и увеличение оборота ДОФУК/ДА в префронтальной коре может быть следствием активации дофаминергических нейронов кортикостероном. Глюкокортикоидные рецепторы в избытке экспрессируются на дофаминергических нейронах вентральной области покрышки, формирующих восходящие мезокортикальные проекции, а их стимуляция необходима для поведенческой адаптации в условиях стресса – переключения между активной и пассивной стратегией поведения в тесте “принудительное плавание” [25]. В частности, было установлено, что стимуляция D₁-рецепторов возбуждающих нейронов медиальной префронтальной коры на фоне острого стресса приводит к нейропластическим изменениям, которые опосредуют снижение чувствительности к повторным стрессовым воздействиям [26, 27]. По-видимому, уменьшение повышенного на фоне стресса уровня ДОФУК в префронтальной коре после введения диазепама и ГИЖ-72 – следствие угнетающего влияния изучаемых веществ на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [28]. Через 24 ч после стресса уровни ДОФУК, ГVK и обороты ДОФУК/ДА и ГVK/ДА в префронтальной коре были снижены, что может свидетельствовать об уменьшении активности дофаминергической системы после устранения стрессового фактора [29], это совпадало во времени с ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”.

Уровень ДОФУК у контрольной группы мышей C57BL/6 при отсутствии стресса в гипоталамусе был ниже, чем у BALB/c, что, по-видимому, обусловлено особенностью DA-системы мышей C57BL/6 – более высокими уровнями тирозингидроксилазы [30]. Уменьшение уровня DA в гипоталамусе мышей BALB/c через 1 ч после ОПС согласуется с подобными изменениями у BALB/c при предъявлении хищника – повышением оборота ДОФУК/ДА [31]. Повышение концентрации DA в гипоталамусе мышей C57BL/6 также согласуется с подобными изменениями после электрошока, психологического стресса и условно-рефлекторного страха [15].

В целом, изменения концентрации ДА и его оборота в гипоталамусе после острого стресса, по-видимому, являются следствием изменения секреции АКТГ, тиреотропного гормона, пролактина и соматотропного гормона [32].

Увеличение соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе мышей обеих линий через 1 ч после ОПС согласуется с результатами, полученными на модели иммобилизационного стресса – увеличением уровня ДОФУК [33, 34]. Подобные изменения характеризуют увеличение внутриклеточного метаболизма ДА и увеличение активности ДА-ергической системы. В свою очередь, это может указывать на регуляторную роль ДА в процессах нейропластичности: известно, что ДА стимулирует пролиферацию нейрональных клеток-предшественников и способствует выживаемости вновь образованных клеток гиппокампа [35]. Это предположение может быть подкреплено несколькими фактами. Во-первых, острый стресс способен оказывать стимулирующее влияние на процессы нейрогенеза в гиппокампе грызунов [36]. Во-вторых, хронический стресс приводит к уменьшению соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе грызунов [37], что сопровождается угнетением гиппокампального нейрогенеза [38, 39], в то время как антидепрессанты, известные своей способностью увеличивать количество митозов в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа [40, 41], восстанавливают соотношение ДОФУК/ДА до контрольных значений в условиях хронического стресса [42]. Во-вторых, подобные изменения также наблюдают после воздействия нейротоксинов, в частности, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП). Так, однократное введение МФТП приводило к увеличению соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе мышей C57BL/6 [43], а через несколько недель после МФТП-индуцированного повреждения регистрировали увеличение бромдезоксисуридин-положительных клеток в черной субстанции и гиппокампе мышей [44, 45].

В полосатом теле было обнаружено более высокое содержание ДОФУК и оборота ДОФУК/ДА у контрольной группы мышей C57BL/6 по сравнению с BALB/c, что может быть связано не только с ферментом тирозингидроксилаза, но и межлинейными различиями в уровнях стероидных гормонов. В частности, у C57BL/6 отмечают более высокие уровни андростендиола в плазме крови и тканях мозга [46], который участвует в синтезе тестостерона [47]. Известно, что хроническое, но не однократное введение тестостерона крысам приводит к увеличению уровней ДОФУК и ГВК, а также оборотов ДА по этим метаболитам [48], что согласуется с полученными результатами.

ОПС приводил к уменьшению оборота ДОФУК/ДА в полосатом теле у C57BL/6 через 1 ч после стрессовой экспозиции, в то время как у BALB/c была отмечена лишь тенденция к подобным изменениям. Согласно данным литературы, после теста “принудительное плавание” происходит увеличение уровня ДА в полосатом теле мышей BALB/c [14]. Расхождение полученных результатов с данными литературы можно объяснить различными временными интервалами между ОПС и декапитацией мышей. В представленном исследовании выделение изучаемых структур головного мозга проводили через 1 ч после ОПС, а в работе Miura и соавт. [14] через 40 мин после этой процедуры. По-видимому, уменьшение оборота ДОФУК/ДА в полосатом теле отражает истощение ДА в нигростриарной системе из-за интенсивной двигательной активности во время процедуры “принудительное плавание”, что подтверждается тенденцией к уменьшению общей двигательной активности мышей C57BL/6 в тесте “открытое поле” через 1 ч после ОПС. Через 24 ч данный показатель восстанавливался до контрольных значений у C57BL/6 и повышался у BALB/c, что совпадало с увеличением общей двигательной активности мышей BALB/c в тесте “открытое поле”.

С другой стороны, изменения активности ДА-ергической системы полосатого тела может отражать активность кортико-стриато-таламо-кортикальных нейронных

сетей, дисфункция которых может лежать в основе патогенеза обсессивно-компульсивного расстройства [49, 50]. Установлено, что повышение оборотов ДОФУК/ДА, 3-МТ/ДА и ГВК/ДА в полосатом теле мышей с мутацией в дофаминовом транспортере (ДАТ) сопровождалось увеличением двигательной активности и уменьшением компульсивно-подобного поведения в тесте “закапывание шариков” по сравнению с интактными животными [51]. Таким образом, более высокий уровень ДОФУК и оборота ДОФУК/ДА в полосатом теле C57BL/6 может отчасти обуславливать межлинейные различия в тесте “закапывание шариков”.

Диазепам и ГИЖ-72 снижали уровни ДОФУК и оборот ДОФУК/ДА в полосатом теле C57BL/6 при отсутствии стресса, а через 24 ч после стресса данный эффект не только сохранялся, но и усиливался, совпадая по вектору действия с эффектами самого стресса и ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”, что, по-видимому, может быть одним из нейрохимических маркеров анксиолитического эффекта изучаемых веществ.

Другим важным нейрохимическим показателем компульсивно-подобного поведения мышей в тесте “закапывание шариков” может являться уровень и оборот 5-НТ в полосатом теле. В работе Saadat и соавт. [52] было показано, что резкое повышение уровня 5-НТ, равно как и длительное снижение с одновременным уменьшением концентрации ДА, в полосатом теле мышей приводит к подавлению компульсивно-подобного поведения в тесте “закапывание шариков”. В нашей работе ОПС приводил к изменению компульсивно-подобного поведения только у мышей C57BL/6: через 1 ч после стрессовой экспозиции регистрировали повышение количества закопанных шариков, а через 24 ч – уменьшение. Это можно объяснить специфическими нейрохимическими изменениями в ДА- и 5-НТ-ергических системах полосатого тела. В частности, у мышей C57BL/6 отмечали снижение ДОФУК, ДА, оборота ДОФУК/ДА, а также уровней 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле, в то время как у BALB/c регистрировали только снижение 5-НТ и 5-ОИУК через 1 ч после ОПС. Через 24 ч после ОПС тенденция к подобным изменениям сохранялась только у мышей C57BL/6, что может объяснять уменьшение компульсивно-подобного поведения и потенцирование эффекта диазепама.

Как правило, ОПС [53] и электрошок [16] приводят к повышению уровня 5-НТ в гиппокампе мышей, однако в нашей работе был получен противоположный результат – снижение уровней 5-НТ и 5-ОИУК. Как и при рассмотрении других нейрохимических изменений, в данном случае важно учитывать временной интервал от ОПС до извлечения изучаемых структур. Fujino и соавт. [53] было показано, что уровень 5-НТ в гиппокампе мышей резко повышается во время процедуры “принудительное плавание”, после чего постепенно возвращается к базальным значениям. Полученные в представленной работе результаты могут быть обусловлены истощением запасов нейромедиатора, о чем свидетельствует одновременное уменьшение концентрации 5-НТ и его основного метаболита – 5-ОИУК. Эти изменения сохранялись через 24 ч после ОПС.

Увеличение уровня 5-НТ в гипоталамусе через 1 ч после ОПС может свидетельствовать об активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В частности, 5-НТ может активировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему через стимуляцию 5-НТ_{2C}-рецепторов паравентрикулярного ядра гипоталамуса [54]. Подобные нейрохимические изменения у мышей наблюдают как после ОПС [14], так и при электрошоке [16]. ГИЖ-72 и диазепам уменьшали концентрацию 5-НТ в гипоталамусе до базальных значений, что, по-видимому, связано с угнетающим действием изучаемых веществ на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [28]. Повышение уровня 5-НТ в гипоталамусе не наблюдалось через 24 ч после ОПС, что сопровождалось ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”.

В случае с НА-ергической системой наблюдались определенные сходства с вектором изменений, происходящих в ДА-ергической: (1) увеличение уровня НА в префронтальной коре через 1 ч после ОПС только у VALB/c, которое полностью устранялось ГИЖ-72 и диазепамом – аналогичные тенденции были отмечены и в случае уровня ДОФУК; (2) уменьшение концентрации НА в полосатом теле через 1 ч после ОПС только у C57BL/6 и усиление этой тенденции через 24 ч после острого стресса – аналогично уровню ДОФУК.

Известно, что взаимодействие НА- и ДА-ергической систем в префронтальной коре имеет свои характерные особенности. Так, в этой структуре головного мозга плотность ДАТ низкая, поэтому функцию обратного захвата ДА выполняет норадреналиновые транспортеры (НАТ), а сродство ДА к НАТ превышает таковое к ДАТ [55–57]. Кроме того, ДА- и НА-ергическая системы префронтальной коры объединяют общие внутриклеточные сигнальные пути, сопряженные с дофаминовыми и адренорецепторами, а также совместное высвобождение ДА и НА в ответ на различные стимулы [58]. Несмотря на то, что кортикальные области имеют более плотные НА-ергические проекции из голубого пятна, чем полосатое тело, это может компенсироваться высокой плотностью адренорецепторов в последнем [59]. Связь между ДА- и НА-ергической системами полосатого тела прослеживается в локализации адренорецепторов на ДА-терминалях [60, 61], а также цАМФ-зависимыми внутриклеточными путями, сопряженными одновременно с ДА- и адренорецепторами [62]. Большое совпадение в экспрессии ДА- и адренорецепторов, а также сопряженных с ними внутриклеточных сигнальных путей, могут опосредовать сходные физиологические функции этих систем в префронтальной коре и полосатом теле. Снижение уровня НА в гиппокампе мышей (за счет усиления метаболизма НА) также наблюдают при предъявлении хищника [63] и после иммобилизационного стресса [64]. По-видимому, уменьшение данного параметра отражает динамику изменения концентрации и функцию гиппокампального НА во время острого стресса. Непосредственно во время острого стресса регистрируют увеличение НА в гиппокампе с одновременным повышением внеклеточной концентрации глюкозы [65, 66]. НА модулирует метаболизм глюкозы за счет стимуляции β - и α_2 -адренорецепторов [67, 68]: усиливает гликогенолиз астроцитов, нейрональный гликолиз и повышает плотность транспортеров глюкозы на поверхности нейронов и астроцитов [66]. Как полагают, это необходимо для обеспечения энергетических потребностей формирования памяти, связанной со стрессом [66]. Важно отметить, что этот эффект является быстрым и реализуется, главным образом, во время фаз приобретения и консолидации памяти [66], что, по-видимому, и объясняет уменьшение его концентрации в гиппокампе, когда нейрохимические измерения проводили после, а не непосредственно во время стрессовой экспозиции.

В нашей работе, как и в других, посвященных изучению нейрохимических эффектов различных видов острого стресса, таких как электрошок [16, 69], иммобилизация [64] и ОПС [14], регистрировали снижение концентрации НА в гипоталамусе через 1 ч после ОПС, в то время как ГИЖ-72 и диазепам оказывали противоположное влияние. По-видимому, это объясняется увеличением высвобождения НА в гипоталамусе во время острого стресса [70] с последующим усилением метаболизма, что, по-видимому, и опосредует его конечное уменьшение. НА, в свою очередь, в условиях острого стресса стимулирует секрецию кортикотропин-рилизинг-гормона, который опосредует эндокринные эффекты стресса [70]. ГИЖ-72 и диазепам препятствовали снижению НА в гипоталамусе, что, по-видимому, отражает снижение вызванного стрессом высвобождения НА и его метаболизма и является одним из нейрохимических маркеров анксиолитического эффекта [71].

Таким образом, можно выделить четыре важных нейрохимических изменения, наблюдаемых через 1 ч после ОПС, которые коррелировали с усилением тревож-

ных реакций, а их изменение после введения изучаемых веществ или через 24 ч после стресса совпадало с анксиолитическим эффектом. Два эффекта были общими для мышей BALB/c и C57BL/6 – это (1) повышение уровня 5-НТ и (2) снижение НА в гипоталамусе. Два других – были характерны только для мышей BALB/c: (3) повышение уровня НА, (4) ДОФУК и увеличение оборота ДОФУК/ДА в префронтальной коре. Еще один эффект был характерен только для мышей C57BL/6 – снижение оборота ДОФУК/ДА с одновременной тенденцией к уменьшению уровня 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле. Данный эффект, в отличие от предыдущих, сохранялся через 24 ч после ОПС. По-видимому, он является нейрохимическим маркером ослабления компульсивно-подобного поведения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Особенности поведенческих и нейрохимических эффектов ОПС зависели от времени, прошедшего с момента стрессовой экспозиции. Через 1 ч после ОПС отмечали усиление тревожных реакций мышей BALB/c и тенденцию к подобным изменениям у C57BL/6 в тесте “открытое поле”. В противоположность этому усиление компульсивно-подобного поведения в тесте “закапывание шариков” через 1 ч после ОПС наблюдали только у мышей C57BL/6. Через 24 ч после ОПС отмечали ослабление тревожных реакций мышей обеих линий в тесте “открытое поле” и у C57BL/6 в тесте “закапывание шариков”. Изменения в содержании и обороте моноаминов через 1 ч после ОПС включали: повышение уровня 5-НТ и снижение НА в гипоталамусе у мышей обеих линий и повышение уровня НА, ДОФУК, соотношения ДОФУК/ДА в префронтальной коре у BALB/c. Эти изменения коррелировали с тревожными реакциями, а их ослабление под действием ГИЖ-72, диазепам или через 24 ч после стресса совпадало с ослаблением тревожных реакций мышей в тесте “открытое поле”. В то же время снижение ДОФУК и оборота ДОФУК/ДА с тенденцией к уменьшению уровней 5-НТ и 5-ОИУК в полосатом теле мышей C57BL/6, которые сохранялись через 24 ч после стресса, могут быть нейрохимическим коррелятом ослабления компульсивно-подобного поведения.

Диазепам и ГИЖ-72 ослабляли тревожные реакции мышей линий BALB/c и C57BL/6, при этом у мышей C57BL/6 в тесте “открытое поле” диазепам вызывал выраженный седативный эффект. Перечисленные эффекты изучаемых соединений сопровождалась одним общим нейрохимическим эффектом – снижением ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в полосатом теле мышей C57BL/6. Этот нейрохимический эффект не только сохранялся, но и усиливался через 24 ч после ОПС. Через 1 ч после ОПС эффекты ГИЖ-72 сохранялись в тестах “открытое поле” и “закапывание шариков” у мышей BALB/c и C57BL/6, в то время как эффекты диазепам усиливались у мышей BALB/c и сохранялись у C57BL/6 в тесте “открытое поле”. Через 24 ч после стресса эффекты ГИЖ-72 в тесте “открытое поле” сохранялись у мышей BALB/c, но ослаблялись и сопровождалась тенденцией к седативному эффекту у C57BL/6. Эффекты диазепам в “открытом поле”, напротив, усиливались только у C57BL/6 и отсутствовали у BALB/c. Эффекты ГИЖ-72 и диазепам в тесте “закапывание шариков” через 24 ч после стресса сохранялись у BALB/c, но не C57BL/6.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” по теме № 0521-2019-0007.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Н.В.К., Т.С.К., Т.А.В., проведение поведенческих экспериментов – Н.В.К., А.В.В., нейрохимическое исследование – Н.В.К., П.Л.Н., В.Б.Н., В.С.К., К.А.К., обработка результатов – Н.В.К., П.Л.Н., написание и редактирование рукописи – Н.В.К., П.Л.Н., В.Б.Н., Т.А.В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Biggio G, Concas A, Serra M, Salis M, Corda MG, Nurchi V, Crisponi C, Gessa GL* (1984) Stress and beta-carbolines decrease the density of low affinity GABA binding sites; an effect reversed by diazepam. *Brain Res* 305: 13–18.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)91114-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)91114-4)
2. *File SE* (1993) The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. *Behav Brain Res* 58: 199–202.
[https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90103-w](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90103-w)
3. *McDonald BJ, Amato A, Connolly CN, Benke D, Moss SJ, Smart TG* (1998) Adjacent phosphorylation sites on GABAA receptor beta subunits determine regulation by cAMP-dependent protein kinase. *Nat Neurosci* 1: 23–28.
<https://doi.org/10.1038/223>
4. *Nusser Z* (1999) A new approach to estimate the number, density and variability of receptors at central synapses. *Eur J Neurosci* 11: 745–752.
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00535.x>
5. *Purdy RH, Morrow AL, Moore PH, Jr., Paul SM* (1991) Stress-induced elevations of gamma-aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 4553–4557.
<https://doi.org/10.1073/pnas.88.10.4553>
6. *Park CH, Hitri A, Lukacs LG, Deutsch SI* (1993) Swim stress selectively alters the specific binding of a benzodiazepine antagonist in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 45: 299–304.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90242-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90242-1)
7. *Deutsch SI, Rosse RB, Huntzinger JA, Novitzki MR, Mastropaolo J* (1990) Profound stress-induced alterations in flurazepam's antiseizure efficacy can be attenuated. *Brain Res* 520: 272–276.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91715-s](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91715-s)
8. *Briiones-Aranda A, Rocha L, Picazo O* (2005) Alterations in GABAergic function following forced swimming stress. *Pharmacol Biochem Behav* 80: 463–470.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.01.002>
9. *Vallee M, Rivera JD, Koob GF, Purdy RH, Fitzgerald RL* (2000) Quantification of neurosteroids in rat plasma and brain following swim stress and allopregnanolone administration using negative chemical ionization gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Biochem* 287: 153–166.
<https://doi.org/10.1006/abio.2000.4841>
10. *Reddy DS, Rogawski MA* (2002) Stress-induced deoxycorticosterone-derived neurosteroids modulate GABA(A) receptor function and seizure susceptibility. *J Neurosci* 22: 3795–3805.
<https://doi.org/20026274>
11. *Batarseh A, Papadopoulos V* (2010) Regulation of translocator protein 18 kDa (TSPO) expression in health and disease states. *Mol Cell Endocrinol* 327: 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.06.013>
12. *Середенин СБ* (2003) Фармакологическая регуляция эмоционально-стрессовых реакций. *Вестник Рос акад мед наук* 35–37. [*Seredenin SB* (2003) Pharmacological regulation of emotional stress reactions. *Vestn Ross Akad Med Nauk* 35–37 (In Russ)].
13. *Seredenin SB, Nadorova AV, Kolik LG, Yarkova MA* (2013) Effects of phenazepam on the behavior of C57BL/6 and BALB/c mice in the open field test after naloxone pretreatment. *Bull Exp Biol Med* 155: 346–349.
<https://doi.org/10.1007/s10517-013-2150-0>
14. *Miura H, Naoi M, Nakahara D, Ohta T, Nagatsu T* (1993) Changes in monoamine levels in mouse brain elicited by forced-swimming stress, and the protective effect of a new monoamine oxidase inhibitor, RS-8359. *J Neural Transm Gen Sect* 94: 175–187.
<https://doi.org/10.1007/BF01277023>
15. *Sasaki K, Suzuki K, Ueno M, Takako K, Yoshizaki F* (1998) Increase in monoamine levels caused by emotional stress in mice brain regions is attenuated by Saiko-ka-ryukotsu-borei-to. *Methods*

- Find Exp Clin Pharmacol 20: 27–30.
<https://doi.org/10.1358/mf.1998.20.1.485628>
16. *Shanks N, Zalcan S, Zacharko RM, Anisman H* (1991) Alterations of central norepinephrine, dopamine and serotonin in several strains of mice following acute stressor exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 38: 69–75.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90591-o](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90591-o)
 17. *Кудряшов НВ, Калинина ТС, Касабов КА, Шимширт АА, Волкова АВ, Жмуренко ЛА, Воронина ТА* (2018) Роль метаболизма нейростероидов в антикомпульсивном эффекте производного пиразоло[с]пиридина – ГИЖ-72. *Экспер и клин фармакол* 81: 7–11. [*Kudryashov NV, Kalinina TS, Kasabov KA, Shimshirt AA, Volkova AV, Zhmurenko LA, Voronina TA* (2018) The role of neurosteroids metabolism in anticompulsive effect of pyrazole[c]pyridine derivative GIZH-72. *Ekspert i Klin Farmakol* 81: 7–11(In Russ)].
 18. *Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M* (1977) Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 229: 327–336.
 19. *Калинина ТС, Шимширт АА, Кудряшов НВ, Воронина ТА, Середенин СБ* (2014) Нейростероидогенез и ориентировочно-исследовательское поведение грызунов. *Экспер и клин фармакол* 77: 3–7. [*Kalinina TS, Shimshirt AA, Kudryashov NV, Voronina TA, Seredenin SB* (2014) Neurosteroidogenesis and exploratory responses in rodents. *Ekspert i Klin Farmakol* 77: 3–7(In Russ)].
<https://doi.org/10.30906/0869-2092-2014-77-2-3-7>
 20. *Witkin JM* (2008) Animal models of obsessive-compulsive disorder. *Curr Protoc Neurosci Chapter 9:Unit 9 30*.
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0930s45>
 21. *Anderzhanova EA, Bachli H, Buneeva OA, Narkevich VB, Medvedev AE, Thoeringer CK, Wotjak CT, Kudrin VS* (2013) Strain differences in profiles of dopaminergic neurotransmission in the prefrontal cortex of the BALB/C vs. C57Bl/6 mice: consequences of stress and afobazole. *Eur J Pharmacol* 708: 95–104.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.03.015>
 22. *Garrett KM, Niekrasz I, Haque D, Parker KM, Seale TW* (1998) Genotypic differences between C57Bl/6 and A inbred mice in anxiolytic and sedative actions of diazepam. *Behav Genet* 28: 125–136.
<https://doi.org/10.1023/a:1021424108213>
 23. *Avital A, Richter-Levin G, Leschiner S, Spanier I, Veenman L, Weizman A, Gavish M* (2001) Acute and repeated swim stress effects on peripheral benzodiazepine receptors in the rat hippocampus, adrenal, and kidney. *Neuropsychopharmacology* 25: 669–678.
[https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00286-X](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00286-X)
 24. *Vanover KE* (1997) Discriminative stimulus effects of the endogenous neuroactive steroid pregnanolone. *Eur J Pharmacol* 327: 97–101.
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(97\)89647-1](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(97)89647-1)
 25. *de Kloet ER, Molendijk ML* (2016) Coping with the Forced Swim Stressor: Towards Understanding an Adaptive Mechanism. *Neural Plast* 2016: 6503162.
<https://doi.org/10.1155/2016/6503162>
 26. *Shinohara R, Taniguchi M, Ehrlich AT, Yokogawa K, Deguchi Y, Cherasse Y, Lazarus M, Urade Y, Ogasawa A, Kitaoka S, Sawa A, Narumiya S, Furuyashiki T* (2018) Dopamine D1 receptor subtype mediates acute stress-induced dendritic growth in excitatory neurons of the medial prefrontal cortex and contributes to suppression of stress susceptibility in mice. *Mol Psychiatry* 23: 1717–1730.
<https://doi.org/10.1038/mp.2017.177>
 27. *Anderson EM, Gomez D, Caccamise A, McPhail D, Hearing M* (2019) Chronic unpredictable stress promotes cell-specific plasticity in prefrontal cortex D1 and D2 pyramidal neurons. *Neurobiol Stress* 10: 100152.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100152>
 28. *Mikkelsen JD, Soderman A, Kiss A, Mirza N* (2005) Effects of benzodiazepines receptor agonists on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Eur J Pharmacol* 519: 223–230.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.06.049>
 29. *Belujon P, Grace AA* (2015) Regulation of dopamine system responsivity and its adaptive and pathological response to stress. *Proc Biol Sci* 282
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2516>
 30. *Ginovart N, Marcel D, Bezjn L, Gagne C, Pujol JF, Weissmann D* (1996) Tyrosine hydroxylase expression within Balb/C and C57black/6 mouse locus coeruleus. II. Quantitative study of the enzyme level. *Brain Res* 719: 45–55.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00075-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00075-3)
 31. *Belzung C, El Hage W, Moindrot N, Griebel G* (2001) Behavioral and neurochemical changes following predatory stress in mice. *Neuropharmacology* 41: 400–408.
[https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(01\)00072-7](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(01)00072-7)
 32. *Konstandi M, Johnson E, Lang MA, Malamas M, Marselos M* (2000) Noradrenaline, dopamine, serotonin: different effects of psychological stress on brain biogenic amines in mice and rats.

- Pharmacol Res 41: 341–346.
<https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0597>
33. *Nadaoka I, Yasue M, Sami M, Kitagawa Y* (2012) Oral administration of *Cimicifuga racemosa* extract affects immobilization stress-induced changes in murine cerebral monoamine metabolism. *Biomed Res* 33: 133–137.
<https://doi.org/10.2220/biomedres.33.133>
 34. *Rowland NE, Dunn AJ* (1995) Effect of dexfenfluramine on metabolic and neurochemical measures in restraint-stressed ob/ob mice. *Physiol Behav* 58: 749–754.
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)00105-r](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)00105-r)
 35. *Takamura N, Nakaigawa S, Masuda T, Boku S, Kato A, Song N, An Y, Kitaichi Y, Inoue T, Koyama T, Kusumi I* (2014) The effect of dopamine on adult hippocampal neurogenesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 50: 116–124.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.12.011>
 36. *Kirby ED, Muroy SE, Sun WG, Covarrubias D, Leong MJ, Barchas LA, Kaufer D* (2013) Acute stress enhances adult rat hippocampal neurogenesis and activation of newborn neurons via secreted astrocytic FGF2. *Elife* 2:e00362.
<https://doi.org/10.7554/eLife.00362>
 37. *Gemmel M, Rayen I, Lotus T, van Donkelaar E, Steinbusch HW, De Lacalle S, Kokras N, Dalla C, Pawluski JL* (2016) Developmental fluoxetine and prenatal stress effects on serotonin, dopamine, and synaptophysin density in the PFC and hippocampus of offspring at weaning. *Dev Psychobiol* 58: 315–327.
<https://doi.org/10.1002/dev.21372>
 38. *de Andrade JS, Cespedes IC, Abrao RO, Dos Santos TB, Diniz L, Britto LR, Spadari-Bratfisch RC, Ortolani D, Melo-Thomas L, da Silva RC, Viana MB* (2013) Chronic unpredictable mild stress alters an anxiety-related defensive response, Fos immunoreactivity and hippocampal adult neurogenesis. *Behav Brain Res* 250: 81–90.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.04.031>
 39. *Mineur YS, Belzung C, Crusio WE* (2007) Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice. *Neuroscience* 150: 251–259.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.09.045>
 40. *Alenina N, Klempin F* (2015) The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res* 277: 49–57.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.038>
 41. *Anacker C, Zunszain PA, Cattaneo A, Carvalho LA, Garabedian MJ, Thuret S, Price J, Pariante CM* (2011) Antidepressants increase human hippocampal neurogenesis by activating the glucocorticoid receptor. *Mol Psychiatry* 16: 738–750.
<https://doi.org/10.1038/mp.2011.26>
 42. *Kudryashov NV, Kalinina TS, Shimshirt AA, Volkova AV, Narkevich VB, Naplekova PL, Kasabov KA, Kudrin VS, Voronina TA, Fisenko VP* (2020) The Behavioral and Neurochemical Aspects of the Interaction between Antidepressants and Unpredictable Chronic Mild Stress. *Acta Naturae* 12: 63–72.
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.10942>
 43. *Kapitza IG, Kalinina TS, Nerobkova LN, Voronina TA, Klodt PM, Narkevich VB, Kudrin VS* (2008) Relationship between the severity of hypokinesia induced by neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and neurochemical changes in brain structures of C57Bl/6 mice. *Bull Exp Biol Med* 146: 52–55.
<https://doi.org/10.1007/s10517-008-0204-5>
 44. *Zhao M, Momma S, Delfani K, Carlen M, Cassidy RM, Johansson CB, Brismar H, Shupliakov O, Finsen J, Janson AM* (2003) Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 7925–7930.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1131955100>
 45. *Shan X, Chi L, Bishop M, Luo C, Lien L, Zhang Z, Liu R* (2006) Enhanced de novo neurogenesis and dopaminergic neurogenesis in the substantia nigra of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease-like mice. *Stem Cells* 24: 1280–1287.
<https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0487>
 46. *Tagawa N, Sugimoto Y, Yamada J, Kobayashi Y* (2006) Strain differences of neurosteroid levels in mouse brain. *Steroids* 71: 776–784.
<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.05.008>
 47. *Miller WL, Auchus RJ* (2019) The “backdoor pathway” of androgen synthesis in human male sexual development. *PLoS Biol* 17: e3000198.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000198>
 48. *Sanchez MG, Bourque M, Morissette M, Di Paolo T* (2010) Steroids-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci Ther* 16:e43-71.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00163.x>
 49. *Schneier FR, Martinez D, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Simpson HB, Liebowitz MR, Laruelle M* (2008) Striatal dopamine D(2) receptor availability in OCD with and without comorbid social

- anxiety disorder: preliminary findings. *Depress Anxiety* 25: 1–7.
<https://doi.org/10.1002/da.20268>
50. Zhang H, Wang B, Li K, Wang X, Li X, Zhu J, Zhao Q, Yang Y, Lv L, Zhang M, Zhang H (2019) Altered Functional Connectivity Between the Cerebellum and the Cortico-Striato-Thalamo-Cortical Circuit in Obsessive-Compulsive Disorder. *Front Psychiatry* 10: 522.
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00522>
 51. DiCarlo GE, Aguilar JJ, Matthies HJ, Harrison FE, Bundschuh KE, West A, Hashemi P, Herborg F, Rickhag M, Chen H, Gether U, Wallace MT, Galli A (2019) Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors. *J Clin Invest* 129: 3407–3419.
<https://doi.org/10.1172/JCI127411>
 52. Saadat KS, Elliott JM, Colado MI, Green AR (2006) The acute and long-term neurotoxic effects of MDMA on marble burying behaviour in mice. *J Psychopharmacol* 20: 264–271.
<https://doi.org/10.1177/0269881106058022>
 53. Fujino K, Yoshitake T, Inoue O, Ibi N, Kehr J, Ishida J, Nohta H, Yamaguchi M (2002) Increased serotonin release in mice frontal cortex and hippocampus induced by acute physiological stressors. *Neurosci Lett* 320: 91–95.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(02\)00029-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)00029-0)
 54. Heisler LK, Pronchuk N, Nonogaki K, Zhou L, Raber J, Tung L, Yeo GS, O'Rahilly S, Colmers WF, Elmquist JK, Tecott LH (2007) Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. *J Neurosci* 27: 6956–6964.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2584-06.2007>
 55. Sesack SR, Hawrylak VA, Matus C, Guido MA, Levey AI (1998) Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. *J Neurosci* 18: 2697–2708.
 56. Giros B, Wang YM, Suter S, McLeskey SB, Piffl C, Caron MG (1994) Delineation of discrete domains for substrate, cocaine, and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine-norepinephrine transporters. *J Biol Chem* 269: 15985–15988.
 57. Gu H, Wall SC, Rudnick G (1994) Stable expression of biogenic amine transporters reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion dependence. *J Biol Chem* 269: 7124–7130.
 58. Xing B, Li YC, Gao WJ (2016) Norepinephrine versus dopamine and their interaction in modulating synaptic function in the prefrontal cortex. *Brain Res* 1641: 217–233.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.01.005>
 59. Ranjbar-Slamloo Y, Fazlali Z (2019) Dopamine and Noradrenaline in the Brain; Overlapping or Dissociate Functions? *Front Mol Neurosci* 12: 334.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00334>
 60. Paschalis A, Churchill L, Marina N, Kasymov V, Gourine A, Ackland G (2009) beta1-Adrenoceptor distribution in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neurosci Lett* 458: 84–88.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.04.023>
 61. Hara M, Fukui R, Hieda E, Kuroiwa M, Bateup HS, Kano T, Greengard P, Nishi A (2010) Role of adrenoceptors in the regulation of dopamine/DARPP-32 signaling in neostriatal neurons. *J Neurochem* 113: 1046–1059.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06668.x>
 62. Nomura S, Bouhadana M, Morel C, Faure P, Cauli B, Lambolez B, Hepp R (2014) Noradrenalin and dopamine receptors both control cAMP-PKA signaling throughout the cerebral cortex. *Front Cell Neurosci* 8: 247.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00247>
 63. Hayley S, Borowski T, Merali Z, Anisman H (2001) Central monoamine activity in genetically distinct strains of mice following a psychogenic stressor: effects of predator exposure. *Brain Res* 892: 293–300.
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)03262-5](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)03262-5)
 64. Кондаурова ЕМ, Антонов ЮВ, Баженова ЕЮ, Базовкина ДВ, Науменко ВС (2020) Эффекты острого стресса у мышей, различающихся чувствительностью 5-HT1A-рецепторов к хронической активации с помощью 8-OH-DPAT. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 106(9): 1069–1084. [Kondaurova EM, Antonov YV, Bazhenova EY, Bazovkina DV, Naumenko VS (2020) Acute Stress Effects on Mice Differing by Sensivity of 5-HT1A-Receptor to Chronic Activation with 8-OH-DPAT. *Russ J Physiol* 106(9): 1069–1084 (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0869813920090010>
 65. Tajima T, Endo H, Suzuki Y, Ikari H, Gotoh M, Iguchi A (1996) Immobilization stress-induced increase of hippocampal acetylcholine and of plasma epinephrine, norepinephrine and glucose in rats. *Brain Res* 720: 155–158.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00046-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00046-7)
 66. Osborne DM, Pearson-Leary J, McNay EC (2015) The neuroenergetics of stress hormones in the hippocampus and implications for memory. *Front Neurosci* 9: 164.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00164>

67. *Subbarao KV, Hertz L* (1990) Effect of adrenergic agonists on glycogenolysis in primary cultures of astrocytes. *Brain Res* 536: 220–226.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90028-a](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90028-a)
68. *Gibbs ME, Hutchinson DS, Summers RJ* (2008) Role of beta-adrenoceptors in memory consolidation: beta3-adrenoceptors act on glucose uptake and beta2-adrenoceptors on glycogenolysis. *Neuropsychopharmacology* 33: 2384–2397.
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301629>
69. *Irwin J, Ahluwalia P, Anisman H* (1986) Sensitization of norepinephrine activity following acute and chronic footshock. *Brain Res* 379: 98–103.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90260-x](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90260-x)
70. *Pacak K, Palkovits M, Kopin IJ, Goldstein DS* (1995) Stress-induced norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and pituitary-adrenocortical and sympathoadrenal activity: in vivo microdialysis studies. *Front Neuroendocrinol* 16: 89–150.
<https://doi.org/10.1006/frne.1995.1004>
71. *Tanaka M, Yoshida M, Emoto H, Ishii H* (2000) Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. *Eur J Pharmacol* 405: 397–406.
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00569-0](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00569-0)

The Influence of Acute Swimming Stress on the Behavioral and Neurochemical Effects of Pyrazole[C]pyridine Derivative GIZh-72 and Diazepam in BALB/c and C57BL/6 Mice

N. V. Kudryashov^{a, b, *}, P. L. Naplekova^a, A. V. Volkova^a, K. A. Kasabov^a, V. B. Narkevich^a, V. S. Kudrin^a, T. S. Kalinina^a, and T. A. Voronina^a

^a*Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia*

^b*Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia*

**e-mail: kunvi@mail.ru*

We have studied the impact of acute swimming stress on the behavioral and neurochemical effects of the pyrazole[c]pyridine derivative GIZh-72 (20 mg/kg, i.p.) and diazepam (1 mg/kg, i.p.). It was shown that anxiety-like behavior in open field test in BALB/c mice and marble burying test in C57BL/6 mice increased 1 hour after acute swimming stress. Decreasing of anxiety-like behavior in marble burying test was occurred in C57BL/6 mice and in open field test in both BALB/c and C57BL/6 mice 24 hours after acute stress. An increase of serotonin and a decrease of norepinephrine levels were registered in the hypothalamus in BALB/c and C57BL/6 mice, while an increase of norepinephrine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid levels and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid/dopamine ratio were occurred in the prefrontal cortex in BALB/c. These changes correlated with increasing of anxiety-like behavior, but reversal of these neurochemical changes after treatment with GIZh-72 or diazepam or 24 hours after the stress was coincident with attenuation of anxiety-like behavior. Treatment with GIZh-72 or diazepam without the stress led to a decrease of anxiety-like behavior in open field test and marble burying test in BALB/c and C57BL/6 mice. The effects of GIZh-72 in open field test and marble burying test persisted, while the effects of diazepam in open field test persisted in C57BL/6 and increased in BALB/c mice 1 hour after the stress. Anxiolytic-like effect of GIZh-72 in open field test increased in BALB/c mice, but attenuated in C57BL/6 mice that accompanied the tendency to sedative effect 24 hours after the stress. Diazepam effects in open field test increased in C57BL/6, but absence in BALB/c mice 24 hours after the stress. The effects of GIZh-72 and diazepam in marble burying test persisted in C57BL/6, but not BALB/c mice 24 hours after the stress.

Keywords: stress, BALB/c, C57BL/6, diazepam, GIZh-72, anxiolytic drugs, monoamines