О. В. Веселовська, А. В. Шляхова, О. Г. Берченко, А. М. Тіткова

НЕЙРОАДАПТАЦІЯ В СИСТЕМІ ЕМОЦІЙНОГО ПІДКРІПЛЕННЯ ПРИ АЛКОГОЛЬНІЙ ЗАЛЕЖНОСТІ

Е. В. Веселовская, А. В. Шляхова, О. Г. Берченко, А. М. Титкова

Нейроадаптация в системе эмоционального подкрепления при алкогольной зависимости

O. V. Veselovska, A. V. Shliakhova, O. G. Berchenko, A. M. Titkova

Neuroadaptation in the system of emotional reinforcement under alcohol dependence

У статті розглянуті сучасні уявлення щодо нейроадаптації у мозковій системі емоційного підкріплення в умовах алкогольної залежності. У експерименті на тваринах досліджені рівень тривожності, функціональний стан системи позитивного емоційного підкріплення, електрогенез структур лімбіко-неокортикальної системи мозку, рівні дофаміну у *n. accumbens* та гіпоталамусі. Особливу увагу надавали транскутантній алотрансплантації ембріональної тканини гіпокампа як біологічному підходу до подолання потягу до алкоголю. Показано, що алотрансплантація пригнічує алкогольну мотивацію через перебудову нейрофізіологічних та нейрохімічних механізмів в системі емоційного підкріплення.

Ключові слова: модель алкогольної залежності, електрична активність мозку, емоційна система мозку, транскутантна алотрансплантація ембріональної тканини, дофамін

В статье рассмотрены современные представления о нейроадаптации в мозговой системе эмоционального подкрепления в условиях зависимости от алкоголя. В эксперименте на животных исследованы уровень тревожности, функциональное состояние системы положительного эмоционального подкрепления, электрогенез структур лимбико-неокортикальной системы мозга, уровни дофамина в *n. accumbens* и гипоталамусе. Особое внимание уделено транскутантной аллотрансплантации эмбриональной ткани гиппокампа в качестве биологического подхода к подавлению влечения к алкоголю. Показано, что аллотрансплантация ослабляет алкогольную мотивацию путем перестройки нейрофизиологических и нейрохимических механизмов в системе позитивного подкрепления.

Ключевые слова: модель алкогольной зависимости, электрическая активность мозга, эмоциональная система мозга, транскутантная аллотрансплантация эмбриональной ткани, дофамин

The article is addressed to the problem of neuroadaptation in the brain system of emotional reinforcement under alcohol dependence. The level of anxiety, the functional state of the positive emotional reinforcement system, the electrogenesis of the structures of the brain limbic-neocortical system, levels of dopamine in *n. accumbens* and hypothalamus were studied in an experiment on animals. Particular attention is paid to the transcutaneous allotransplantation of the embryonic hippocampal tissue as a biological approach to suppressing of craving for alcohol intake. It has been shown that allotransplantation reduces alcohol motivation by restructuring of neurophysiological and neurochemical mechanisms in the system of positive reinforcement.

Keywords: alcohol dependence model, electrical activity of the brain, emotional system of the brain, transcutaneous allotransplantation of embryonic tissue, dopamine

В фундаментальних дослідженнях з вивчення нейробіологічних основ вживання алкоголю показані зміни в емоціогенній лімбіко-неокортикальній системі мозку. Виявлена специфічність та етапність залучення в ці процеси нейронних мереж *n. accumbens*, мигдалеподібного комплексу, гіпокампа, гіпоталамуса, фронтальних відділів кори головного мозку та їх складне поліфункціональне нейромедіаторне, медіаторно-гормональне, нейротрофічне забезпечення [1—3].

Такі функціональні перебудови внутрішньосистемної взаємодії базуються на принципах активації, гальмування, переключення та дублювання механізмів мозку, а дефіцит в системі позитивного емоційного підкріплення та її насичення є тригерами цих процесів. У зв'язку з цим заслуговує на увагу концепція нейроадаптації, суть якої полягає в тому, що дисрегуляція в системі позитивного емоційного підкріплення активує механізми негативних емоційних станів та сприяє вживанню наркотичних речовин [4]. Тому для подолання потягу до вживання алкоголю потрібна підтримка балансу в системі емоційного підкріплення за допомогою внутрішньосистемної реконструкції її морфофункціонального субстрату.

Беручи до уваги позитивний вплив трансплантації ембріональних тканин мозку при функціональних та дегенеративних порушеннях ЦНС та дані про те, що гіпокамп містить нейротрофічні фактори мозку, які сприяють активації процесів нейрогенезу та відновленню функціональних механізмів мозку [5, 6], доцільно

було дослідити вплив транскутантної трансплантації ембріональної тканини гіпокампа на лімбіко-неокортикальні механізми внутрішньосистемної адаптації щурів зі сформованою алкогольною залежністю. Це стало метою нашого експериментального дослідження.

Усі процедури з експериментальними тваринами виконані відповідно до «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» (№ 249 від 01.03.2012), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006).

Щури протягом 12-и діб вживали хліб, змочений 12 % розчином етанолу (0,6 г/кг маси тіла), а потім протягом 23 діб — 25 % розчином етанолу (1,2 г/кг маси тіла). Залежність у щурів визначали за ознакою вподобання алкогольної їжі безалкогольній. Потім щури були поділені на групи: I групу становили щури з алкогольною залежністю, II групу — щури з алкогольною залежністю та транскутанною алотрансплантацією ембріональної тканини гіпокампа (ТТЕГ) 17—18-денної гестації, яку здійснювали після виявлення залежності (21 доба вживання етанолу) в ділянку проєкції краніального червікального ганглію ліворуч [7]. Стереотаксичним способом щурам I та II груп (через 14 діб після ТТЕГ) вводили довгострокові електроди в лобово-тім'яні відділи нової кори (*Cort*), гіпокамп (*Hip*), гіпоталамус (*Hpt*) та *n. accumbens* (*nAcc*) [8]. Електроенцефалограми щурів реєстрували на комп'ютерно-діагностичному комплексі «Нейрон-Спектр+» та аналізували візуально. За допомогою пакету комп'ютерних програм обчислювали абсолютну спектральну потужність ритмів біопотенціалів мозку, для чого використовували 3 епохи

запису по п'ять секунд кожна для 5 частотних діапазонів: δ (від 1 до 3,0 Гц), θ (від 4,0 до 7,0 Гц), α (від 8,0 до 12,0 Гц), $\beta_{\text{нч}}$ (від 13 до 20,0 Гц), $\beta_{\text{вч}}$ (від 21 до 35,0 Гц). Індивідуальний рівень тривожності у щурів визначали за допомогою багатопараметрового методу оцінювання тривожно-фобічних станів (ТФС) за сукупністю поведінкових реакцій у наборі етологічних тестів, що ґрунтуються на створенні емоціогенної ситуації [9]. Частоту реакції самостимуляції (ЧРСС) вентролатерального гіпоталамуса реєстрували за методом Olds [10]. Вміст дофаміну визначали у *Hpt* та *nAcc* із застосуванням на-

борів реагентів для імуноферментного аналізу («Tri Cat», Німеччина). Результати обробляли статистично за допомогою програм Excel та Statistica 10.0. з використанням критерію Стюдента, *T*-критерію Вілкоксона та критерію Манна — Уїтні.

У щурів зі сформованою алкогольною залежністю (І група) вживання чергової дози алкоголю спричиняв активацію гальмівних процесів з ініціацією генералізованої пароксизмальної активності в *Hip*, який мав найбільшу спектральну потужність (рис. 1). Алкоголізація призводила до вірогідних ($p \leq 0,05$) змін

Рис. 1. Динаміка спектральної потужності ритмів ЕЕГ щурів з алкогольною залежністю після вживання алкоголю та у період його відміни (І група)

базового рівня тривожності: знижувала базово високий та підвищувала базово низький рівень ТФС у щурів (рис. 2). Тобто, вплив алкоголю на систему позитивного емоційного підкріплення залежить від базового рівня тривожності.

Рис. 2. Динаміка ТФС у щурів у процесі експерименту

* — $p \leq 0,05$ порівняно з фоном; + — $p \leq 0,05$ порівняно зі щурами з високим рівнем тривожності; 1 доба, 3 доба — відміна вживання алкоголю

Слід відзначити вплив алкоголю на функціональну властивість системи позитивного емоційного підкріплення. Вивчення розподілу і змін вмісту дофаміну показало, що різні ланки дофамінергічної системи головного мозку неоднаково задіяні в підтримці функціонування системи емоційного підкріплення за умов алкогольної залежності у щурів. Вживання чергової дози алкоголю активує мезолімбічну ланку дофамінергічної системи з вірогідним ($p \leq 0,05$) підвищенням рівня дофаміну в *nAcc* (до $35,5 \pm 6,0$ нмоль/г тканини порівняно з $26,4 \pm 2,5$ — у інтактних тварин), та пригнічує — гіпоталамічну (до $13,9 \pm 1,2$ нмоль/г тканини порівняно з $25,2 \pm 4,8$ — у інтактних тварин). Показник ЧРСС після вживання алкоголю мав нестабільний характер і становив $264,0 \pm 44,5$ натискань за 5 хвилин (нат/5 хв).

В динаміці розвитку синдрому відміни вживання алкоголю виявлені нейродинамічні зміни активності в системі емоційного підкріплення. На першу добу відміни вживання алкоголю процеси збудження переважували над процесами гальмування. На спектрограмах відзначалося загальне зниження спектральної потужності ритмів ЕЕГ з рівнем вірогідності ($p \leq 0,05$) для α -ритму у *Hip* та *Hpt* та $\beta_{\text{нч}}$ -ритму у *Hip*, *Hpt* та *Cort*. У електричній активності *Cort* та *Hip* реєструвалося

підсилення електрографічних проявів судомної активності. Привертає до себе увагу уповільнення електрогенезу в *nAcc*, де переважав високоамплітудний δ -ритм, модульований групами швидких хвиль, спектральна потужність δ -ритму підвищувалась (майже у 2,5 раза) проти значень, отриманих у алкогользалежних тварин (див. рис. 1). У цей період рівень тривожності у щурів обох груп мав тенденцію до підвищення (див. рис. 2). Виявлено компенсаторне підвищення активності позитивної емоційної системи мозку. ЧРСС, яку реєстрували протягом години, нерівномірно збільшувалась порівняно з показником після формування алкогольної залежності та вживання чергової дози алкоголю та становила $327,0 \pm 66,4$ нат/5 хв ($p \leq 0,05$). Найбільш висока ЧРСС відзначалась з 31 хв до 60 хв реєстрації. На третю добу відміни вживання алкоголю у *Cort*, *Hip* та *Hpt* переважали процеси гальмування, що виражалося в уповільненні електрогенезу з трансформацією пароксизмальної активності у веретеноподібну. Виявлено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження спектральної потужності ритмів ЕЕГ порівняно з вживанням алкоголю: θ -, α - та β -ритмів у *Cort*, *Hip*, α - та $\beta_{\text{нч}}$ -ритмів у *Hpt*, порівняно з першою добою відміни вживання алкоголю: δ -, θ -, α - та $\beta_{\text{вч}}$ -ритмів у *nAcc* (див. рис. 1). Десинхронізація на ЕЕГ *nAcc* поєднувалася з підвищенням активності нейронів емоційного центру *Hip*, що віддзеркалювалося в відновленні рівня дофаміну в *nAcc* та в *Hpt* (до $30,2 \pm 4,3$ та $18,1 \pm 1,5$ нмоль/г тканини відповідно, $p \leq 0,05$) та в підвищенні ЧРСС до $341,0 \pm 91,1$ нат/5 хв ($p \leq 0,05$). Рівень емоційної напруги, за даними нейроетологічного тесту, на третю добу відміни вживання алкоголю мав тенденцію до зниження (див. рис. 2).

Отже, в динаміці розвитку стану відміни вживання алкоголю відбуваються алоstaticні зміни в мозковій системі емоційного підкріплення, в яких ключову роль

виконують емоційно-мотиваційні центри *nAcc* та *Hpt*. Формування алоstaticу в мозковій системі емоційного підкріплення, тобто стабілізація через переміни [11], було зумовлено перенаправленням параметрів системи емоційного підкріплення, що й відзначалось на першу та третю доби розвитку синдрому відміни.

Застосування ТТЕГ для стимуляції репаративних процесів мозку виявило її пролонгований вплив на систему емоційного підкріплення у щурів з залежністю від алкоголю. На ЕЕГ *Cort*, *Hip*, *Hpt* після вживання алкоголю реєструвались електрофізіологічні показники напруги з домінуванням ритмів θ -діапазону. У *nAcc* на фоні θ -, α -активності спостерігалися поодинокі або групи δ -хвиль. В процесі реєстрації на ЕЕГ у 50 % щурів виникали поодинокі короточасні повільнохвильові локальні та генералізовані пароксизмальні прояви, які ініціював *Hip*. Найбільшу спектральну потужність біопотенціалів ЕЕГ щурів мав *Hip*, а серед ритмів — δ -ритм (рис. 3). На першу добу відміни вживання алкоголю в електричній активності мозку щурів з ТТЕГ превалювали процеси десинхронізації: у *Cort* залишалися короткі відрізки регулярного α -ритму з компонентами груп β -хвиль; у *Hip* на фоні домінування θ -ритму, модульованого гострими хвилями, реєстрували високоамплітудні δ - та α -коливання; у *Hpt* — поліморфна δ -, θ -активність з компонентами α -, β -хвиль; у *nAcc* відбувалося збагачення швидкими ритмами у β -діапазоні, рівнем вірогідності ($p \leq 0,05$) ці зміни підтверджувалися лише для β -ритмів у *Hip* та *nAcc* та для θ -, α -ритмів у *Hpt* (рис. 3). Водночас показник ТФС мав тенденцію до зниження (див. рис. 2). На третю добу відміни вживання алкоголю електрогенез *Cort* та *nAcc* був представлений десинхронізованою активністю з компонентами поодиноких повільних хвиль з вірогідним ($p \leq 0,05$) підвищенням спектральної потужності біопотенціалів θ - та $\beta_{\text{вч}}$ -діапазонів в *nAcc* (див. рис. 3).

Рис. 3. Динаміка спектральної потужності ритмів ЕЕГ щурів з алкогольною залежністю після ТТЕГ на фоні вживання алкоголю та у період його відміни (II група)

* — $p \leq 0,05$ порівняно з алкогольною залежністю; # — $p \leq 0,05$ порівняно з 1-ю добою відміни алкоголю

На ЕЕГ *Hip* та *Hpt* спостерігали заміщення θ -ритму мономорфним α -ритмом. З 20 доби після алотрансплантації спостерігалось підвищення загальної активності щурів. Тварини стали рухливішими та позитивно емоційними, що виражалось у підвищенні горизонтальної, вертикальної та орієнтовно-дослідницької активності, гримінгу і зниженні вегетативних реакцій.

ТТЕТГ мала вплив, що активував синтез дофаміну, рівень якого підвищувався на фоні відміни вживання алкоголю в гіпоталамусі на 76 % та в *nAcc* — на 60 %. Все це вказує на суттєву активацію нейротрансплатом гіпоталамічних та мезокортикальних ланок дофамінергічних механізмів системи позитивного емоційного підкріплення.

Такі алоstaticні перебудови нейрофізіологічних лімбіко-неокортикальних та дофамінергічних гіпоталамічних та мезокортикальних механізмів системи позитивного емоційного підкріплення сприяли пригніченню мотивації до вживання алкоголю у 98 % щурів.

Отже, під час формування залежності від алкоголю та в динаміці розвитку синдрому відміни виявлені алоstaticні зміни регуляторних процесів у мозковій системі емоційного підкріплення. Провідну роль в перебудові алостази мають базовий рівень негативних емоційних реакцій, а саме — тривожності; функціональна активність гіпоталамічних центрів позитивного емоційного підкріплення, дофамінергічне забезпечення *Hpt* та *nAcc* — структур мозку, асоційованих з емоційним та мотиваційним збудженням. Транскутанна алотрансплантація ембріонального гіпокампа, наслідком якої є пригнічення вживання алкоголю, спричиняє внутрішньосистемну перебудову алостази: активує електричну активність мозку та відновлює рівень дофаміну в *nAcc* та *Hpt*.

Список літератури

1. Electrical activity of the cerebral structures and regulatory effects of no, steroid hormones, and BDNF in rats with experimental alcohol addiction / Berchenko O. G., Titkova A. M., Veselovska O. V. [et al.]. In: Proceedings of the VII congress of the ukrainian neuroscience society (Kyiv, June 7—11, 2017) // *Neurophysiology*. 2017. Vol. 49. P. 234—236. DOI: 10.1007/s11062-017-9668-0.
2. Koob G. F. Theoretical frameworks and mechanistic aspects of alcohol. Addiction: alcohol addiction as a reward deficit disorder // *Cur. Top. Behavioral Neuroscience*. 2013. Vol. 13. P. 3—30. DOI: 10.1007/7854_2011_129.
3. Roberto M., Kirson D., Khom S. The role of the central amygdala in alcohol dependence // *Advanced Online Article*. 2020. DOI: 10.1101/cshperspect.a039339.
4. Koob G. F., Bloom F. E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence // *Science*. 1988. Nov. 4. 242 (4879): 715—23. DOI: 10.1126/science.2903550.
5. Sakharnova T. A., Vedunova M. V., Mukhina I. V. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its role in the function

of the central nervous system // *Neurochemical Journal*. 2012. Nov. 6 (4). P. 251—259, DOI: <https://doi.org/10.1134/science.1819712412030129>.

6. Sypek J. The Neuroprotective effect exerted by oligodendroglial progenitors on ischemically impaired hippocampal cells // *Mol. Neurobiol*. 2014. Vol. 49, No. 2. P. 685—701. DOI: 10.1007/s12035-013-8549-9.

7. Воробьева Т. М., Берченко О. Г., Гейко В. В. Техника трансплантации специфической эмбриональной ткани и ее эффективность // *Український вісник психоневрології*. 1995. Т. 3, вип. 2 (6). С. 241—242.

8. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведению. М.: Высшая школа. 1991. 399 с.

9. Многопараметровый метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс / В. И. Родина, Н. А. Крупина, Г. Н. Крыжановский [и др.] // *Журнал высшей нервной деятельности*. 1993. Вып. 5. С. 1006—1016.

10. Olds J., & Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain // *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1954. 47(6). P. 419—427. DOI: <https://doi.org/10.1037/h0058775>.

11. Sterling P., Eyer J. Allostasis: A new paradigm to explain arousal pathology // *Handbook of life stress, cognition and health* / S. Fisher & J. Reason (Eds.), 1988. P. 629—649. UK: John Wiley & Sons, 1988. URL: <https://psycnet.apa.org/record/1988-98352-034>.

Надійшла до редакції 31.04.2020

ВЕСЕЛОВСЬКА Олена Валеріївна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник лабораторії*; e-mail: nbi.inpn@ukr.net

ШЛЯХОВА Анна Володимирівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник лабораторії*

БЕРЧЕНКО Ольга Григорівна, доктор біологічних наук, професор, завідувачка лабораторії*

ТИТКОВА Анна Маратівна, кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії*

* — лабораторії нейрофізіології, імунології та біохімії Державної установи «Інститут неврології, психіатрії та наркології Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

VESELOVSKA Olena, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory*; e-mail: nbi.inpn@ukr.net

SHLIAKHOVA Anna, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher of Laboratory*

BERCHENKO Olga, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory*

TITKOVA Anna, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory*

* — Laboratory of Neurophysiology, Immunology and Biochemistry of State Institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine