

*В. В. Соколік, В. В. Гейко, О. Г. Берченко***НЕЙРОСТЕРОЇДНІ КОРЕЛЯТИ ЕМОЦІЙНОЇ ПОВЕДІНКИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ***В. В. Соколик, В. В. Гейко, А. Г. Берченко***Нейростероидные корреляты эмоционального поведения при алкогольной зависимости***V. V. Sokolik, V. V. Geiko, O. G. Berchenko***Neurosteroid correlates of emotional behavior in alcohol dependence**

Мета дослідження — визначення нейростероїдних корелятів емоційної поведінки тварин за умов алкогольної залежності.

Етологічне тестування дало змогу визначити у загальному пулі тварин шурів з базисним різним типом емоційної поведінки: зооцентричним, доміантним або субмісивним та просліджити їх зміну під впливом тривалої (30 діб) алкоголізації 15 % розчином етанолу.

Встановили, що тестостерон гіпоталамусу, прогестерон гіпокампу і дигідроепіандростерон мигдалини асоціюються з базовою емоційною поведінкою тварин. Хронічна алкоголізація зумовлювала зменшення концентрації статевих стероїдів (тестостерон і естрадіол), дигідроепіандростерону і кортизолу в гіпоталамусі та збільшення в ньому вмісту прогестерону; зменшення рівня всіх досліджуваних нейростероїдів в гіпокампі, тоді як в мигдалині ці показники збільшувались (за винятком дигідроепіандростерону). Показали, що базова емоційна поведінка шурів, які вибирали воду в двохпляшковому тесті, суттєво відрізнялась від шурів, що віддавали перевагу розчину етанолу: передусім це стосувалося тварин з доміантною і субмісивною поведінкою, рівень тестостерону гіпоталамусу у яких істотно збільшувався під впливом алкоголізації, на відміну від зооцентричних шурів. Індивідуальна доза спожитого етанолу у тварин, які вибирали воду в двохпляшковому тесті, була майже удвічі меншою за індивідуальну дозу у шурів, які віддавали перевагу розчину етанолу, що асоціювалось з рівнем кортизолу у гіпокампі та гіпоталамусі головного мозку тварин після 30-добової алкоголізації. Отже, тривале споживання алкоголю зумовило залучення пулу нейрогормонів (прогестерону, дигідроепіандростерону, естрадіолу і кортизолу гіпоталамусу; тестостерону гіпокампу та прогестерону, дигідроепіандростерону і кортизолу мигдалини) до регуляції емоційної поведінки. До того ж певний вплив мали і нейроактивні стероїди периферійного кровообігу, як-от статеві гормони тестостерон і естрадіол, та прогестерон.

Ключові слова: нейростероїди, зоосоціальна поведінка, алкогольна залежність

Цель исследования — определение нейростероидных коррелятов эмоционального поведения животных в условиях алкогольной зависимости.

Этологическое тестирование позволило определить в общем пуле животных крыс с базисным разным типом эмоционального поведения: зооцентрическим, доминантным или субмиссивным и проследить их изменение под влиянием длительной (30 суток) алкоголизации 15 % раствором этанола.

Установили, что тестостерон гипоталамуса, прогестерон гиппокампа и дигидроэпиандростерон миндалины ассоциируются с базовым эмоциональным поведением животных. Хроническая алкоголизация обуславливала уменьшение концентрации половых стероидов (тестостерон и эстрадиол), дигидроэпиандростерона и кортизола в гипоталамусе и увеличение в нем содержания прогестерона; уменьшение уровня всех исследуемых нейростероидов в гиппокампе, тогда как в миндалине эти показатели увеличивались (за исключением дигидроэпиандростерона). Показали, что базовое эмоциональное поведение крыс, выбиравших воду в двухбутылочном тесте, существенно отличалось от крыс, предпочитавших раствор этанола: прежде всего это имело отношение к животным с доминирующим и субмиссивным поведением, уровень тестостерона гипоталамуса у которых существенно возрастал, в отличие от зооцентрических крыс. Индивидуальная доза потребленного этанола у животных, выбиравших воду в двухбутылочном тесте, почти в два раза была меньше индивидуальной дозы у крыс, предпочитавших раствор этанола, что ассоциировалось с уровнем кортизола в гиппокампе и гипоталамусе головного мозга животных после 30-суточной алкоголизации. Следовательно, длительное потребление алкоголя обусловило подключение пула нейрогормонов (прогестерона, дигидроэпиандростерона, эстрадиола и кортизола гипоталамуса; тестостерона гиппокампа и прогестерона, дигидроэпиандростерона и кортизола миндалины) к регуляции эмоционального поведения. К тому же определенное влияние имели и нейроактивные стероиды периферического кровообращения, такие как половые гормоны тестостерон и эстрадиол и прогестерон.

Ключевые слова: нейростероиды, зоосоциальное поведение, алкогольная зависимость

The aim of the study was to determine neurosteroid correlates of emotional behavior of animals under conditions of alcohol dependence.

Ethological testing made it possible to identify rats with basic different types of emotional behavior in the general pool of animals: zoocentric, dominant or submissive and to track their change under the influence of prolonged (30 days) alcoholization with 15 % ethanol solution.

It was found that hypothalamic testosterone, hippocampal progesterone and amygdala dehydroepiandrosterone are associated with the basic emotional behavior of animals. Chronic alcoholism caused a decrease in the concentration of sex steroids (testosterone and estradiol), dehydroepiandrosterone and cortisol in the hypothalamus and an increase in the content of progesterone in it; a decrease in the level of all studied neurosteroids in the hippocampus, while in the amygdala these indicators increased (with the exception of dehydroepiandrosterone). It was shown that the basic emotional behavior of rats that chose water in the two-bottle test was significantly different from that of rats that preferred ethanol solution: first of all, this was related to animals with dominant and submissive behavior, in which the level of testosterone in the hypothalamus increased significantly, in contrast to zoocentric rats. The individual dose of ethanol consumed in animals that chose water in the two-bottle test was almost two times less than the individual dose in rats that preferred ethanol solution, which was associated with cortisol levels in the hippocampus and hypothalamus of the brain of animals after 30 days alcoholization. Consequently, long-term alcohol consumption led to the involvement of a pool of neurohormones (hypothalamic progesterone, dehydroepiandrosterone, estradiol, and cortisol; hippocampal testosterone and amygdala progesterone, dehydroepiandrosterone, and cortisol) to regulate emotional behavior. In addition, neuroactive steroids of the peripheral circulation, such as the sex hormones testosterone and estradiol and progesterone, also had a certain effect.

Keywords: neurosteroids, zoosocial behavior, alcohol dependence

Дослідження ефектів стероїдів пройшло довгий шлях з моменту першого визначення їх спільних рецепторних механізмів з етанолом. Ці загальні рецепторні механізми (наприклад, рецептори ГАМК_A, NMDA та ін.) опосередковують нейротрансмісію у нейронних шляхах, регулюючи збудження та гальмування в багатьох відділах головного мозку [1]. Відомо, що нейроактивні стероїди синтезуються в периферичних органах (яєчка, яєчники, наднирники, легені та печінка), але можуть проникати через гематоенцефалічний бар'єр і метаболізуватися в мозку. Крім того, нейростероїди утворюються в головному мозку *de novo* з холестерину або стероїдних попередників [2]. Вивчення розподілу ензимів, які регулюють біосинтез нейростероїдів в мозку миші, показало, що 5 α -редуктаза типу I (5 α -R_I) і 3 α -гідроксистероїд дегідрогеназа (3 α -HSD) експресуються в основних вихідних глутаматергічних пірамідних, ГАМКергічних ретикулоталамічних, стріатних і Пуркінє нейронах кори, гіпокампу, нюхових цибулин, таламусу та мигдалин. Однак 5 α -R_I і 3 α -HSD не були виявлені в кортикальних і гіпокампальних ГАМКергічних інтернейронах [3]. Стероїдогенез дає змогу модулювати збудливу та гальмівну нейротрансмісію, пов'язану з ендокринною активністю, яка може бути важливим регулятором чутливості до стимулів навколишнього середовища.

З'являється все більше доказів того, що нейростероїди відіграють важливу роль як ендогенні модулятори нейронних функцій і поведінкових процесів, і що зміни концентрації нейростероїдів можуть сприяти патофізіології нейрональних розладів [2]. Зокрема, у гризунів зниження ендогенної концентрації ГАМК мозку швидко знижує її ефективність у викликанні гальмівних постсинаптичних потенціалів, опосередкованих ГАМК-рецепторами. Цей ефект пов'язаний з тривожною поведінкою та підвищеною агресивністю [5]. Показано пригнічуючий вплив дигідроепіандростерону (ДГЕА) на агресивну поведінку кастрованих мишей-самців щодо самок, які лактують, який корелював зі зниженням концентрації сульфату прегненолону в мозку цих тварин [6] що, у свою чергу, може спричиняти підвищення ендогенного ГАМКергічного тону [7].

До середини 90-х років минулого століття було показано, що нейростероїди та фізіологічні стани, які змінюють циркулюючі нейроактивні стероїди, можуть впливати на чутливість до етанолу [8]. Здатність нейроактивних стероїдів модулювати чутливість до етанолу через ГАМК_A-рецептори була розглянута на симпозиумі про взаємодію між стресом і етанолом [9—11]. На додаток до потенційно спільного рецепторного механізму, основна ідея цих публікацій полягала в тому, що етанол збільшує вивільнення нейроактивних стероїдів. Один з механізмів включає стимуляцію вісі гіпоталамус-гіпофіз-наднирники (HPA), яка призводить до вивільнення адренокортикотропного гормону (АКТГ) з гіпофізу в кровообіг. Потім АКТГ може стимулювати експресію протеїну StAR і мітохондріального ензиму CYP11A1 (P450_{scc})

через інший інформаційний шлях, який включає циклічний аденозинмонофосфат (сАМФ). В результаті АКТГ сприяє виробленню прегненолону з холестерину в корі надниркових залоз [12]. Прегненолон може метаболізуватися до всіх інших нейроактивних стероїдів, якщо є стероїдні ензими. Гідроксистероїд дегідрогеназа (ключовий ензим стероїдогенезу) потребує нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (NADPH) або нікотинамідаденіндинуклеотиду (NADH) як кофакторів [13]. Оскільки метаболізм етанолу також потребує цих кофакторів, стероїдогенез може бути змінений додаванням високих доз етанолу, оскільки потрібні кофактори вичерпуються [14]. Кілька досліджень показали, що гостра етанольна інтоксикація збільшує рівень циркулюючих нейроактивних стероїдів [15—16] завдяки активації вивільнення гіпофізом АКТГ у поєднанні з вазопресином та кортикотропін-рилізінг-гормоном [17]. Адреналектомія значною мірою виключає нейростероїди, які індукуються етанолом [18], що вказує на те, що АКТГ стимулює надниркову продукцію нейростероїдів. У щурів активація вісі HPA і синтез протеїну StAR *de novo* відбуваються з порогової дози етанолу 1,5 г/кг маси щура та призводить до збільшення ГАМКергічних нейроактивних стероїдів у плазмі та корі головного мозку [19]. Гостра етанольна інтоксикація також стимулює *de novo* стероїдогенез в головному мозку в основних збудливих нейронах і гліальних клітинах [20]. Хронічне вживання та подальша відмова від етанолу змінювали експресію генів специфічних субодиниць ГАМК_A-рецепторів у культивованих нейронах щурів, і ці зміни були пов'язані зі зміною функції цих рецепторів та їх фармакологічної чутливості до нейростероїдів [21]. Було показано, що споживання етанолу не нормалізує нейростероїди гіпокампу [22] або неокортексу головного мозку [23], які були пригнічені хронічним стресом соціальної ізоляції. Отже, усі наведені вище дослідження створили передумову докладного вивчення ендогенних механізмів взаємодії нейростероїдів і етанолу та їх впливу на зоосоціальну поведінку тварин.

Метою цього дослідження було визначення нейростероїдних корелятів емоційної поведінки тварин за умов алкогольної залежності.

Дослідження *in vivo* було виконане на білих нелінійних щурах-самцях віварію ДУ «ІНПН НАМН України» 8—10 місячного віку вагою 300 ± 10 г.

Експериментальні протоколи були проведені відповідно до Загальних етичних принципів експериментів з тваринами (Київ, 2011), Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовують в експериментах та інших наукових намірах (Strasbourg, 1986), міжнародно визнаних принципів використання та догляду за лабораторними тваринами.

Етологічне тестування характеру зоосоціальних взаємин в ситуації конкурентної взаємодії здійснювали в камері розміром 40 см × 70 см × 50 см протягом 15 хв при мінімізації додаткових подразників, що забезпечували проведенням експериментів

у приміщенні звичного утримання у добовий період помірної емоційної активності (від 12-ї до 14-ї год), на свіжій підстилці за умов звичайних звукових та зорових стимулів. Таким способом тестували випадкові пари тварин, які попередньо (не менше як 5 діб) перебували в індивідуальних клітках з метою зняття ефекту соціальних взаємодій [24, 25]. Враховували прояви «дружелюбного» характеру: прагнення спілкуватися, об'єднуватися, взаємодіяти (зооцентричний тип), а також наявні діаметрально протилежні тенденції — до домінування, майже до маніфестації агресивних дій, або щодо розвитку підлеглої (субмісивної) поведінки.

Пул експериментальних тварин було розподілено до двох груп: контроль ($n = 6$) — інтактні щури та модель алкогольної залежності *A/c* ($n = 10$) — щури з хронічним споживанням алкоголю. Алкоголізація тварин 15 % розчином етанолу тривала 30 діб за умов вільного доступу з 9-ї до 16-ї години. Індивідуальну дозу (ІД) спожитого етанолу (г/кг маси щура) розраховували виходячи з показників об'єму і щільності C_2H_5OH , а також маси тіла (МТ) тварини за формулою $ІД = 0,117 V_{C_2H_5OH} / МТ \cdot 1000$. ІД етанолу для тварин з моделлю *A/c* становила в середньому $0,70 \pm 0,28$ г/кг. Після тривалої алкоголізації щурів розміщували в ізольованих клітках для визначення індивідуального рівня вживання етанолу, а також тестування надання переваги етанолу або воді у двохпляшковому тесті.

Тварин декапітували. Кров збирали і отримували сироватку за допомогою 15 хв центрифугування при 3 тис. об/хв. На холоді виокремлювали гіпоталамус, гіпокамп і мигдалини з головного мозку, які зважували на торсійних вагах та заморожували при $-80^{\circ}C$. Тканини досліджуваних відділів головного мозку гомогенізували з розрахунку 50—100 мг нервової тканини у 0,5 мл 0,1 N HCl та екстрагували стероїдні сполуки 1,5 мл етилацетату при постійному струшуванні протягом 15 хвилин. Зразки знову заморожували при $-80^{\circ}C$ та виокремлювали рідку органічну фазу, яку випаровували у водному термостаті при $56^{\circ}C$ до сухого залишку. Відновлення осаду проводили 200 мкл гарячого бідилянту ($56^{\circ}C$) при 5 хв розмішуванні, струшуванні ($20^{\circ}C$) — 10 хв, охолодженні ($4^{\circ}C$) — 15 хв та заморожуванні при $-80^{\circ}C$.

Аліквоти екстрактів зазначених відділів головного мозку і сироватка крові щурів були використані для визначення методом імуноферментного аналізу (ІФА) вмісту нейростероїдів (тестостерон, естрадіол, прогестерон, ДГЕА і кортизол) відповідно до інструкцій тест-систем (Гранум, Україна) та DHEA ELISA (LDN, Німеччина). Абсорбцію зразків зчитували мікропланшетним аналізатором GBG Stat FAX 2100 (USA) при 450 нм з корекцією довжини хвилі при 630 нм. Дані ІФА (нмоль/л) для окремих відділів головного мозку тварин перераховували на вагу навески (г вологої тканини) — пмоль/г або виражали у відсотках (%) від відповідних показників контролю.

Отримані результати обробляли статистично, середні величини (M) і стандартні відхилення (m)

обчислювали. Статистичний аналіз відмінностей проводили з використанням t -тесту Стюдента, величину $p \leq 0,05$ вважали значущою. За допомогою кореляційного аналізу визначали асоціацію між вмістом нейростероїдів і емоційним станом тварин до і після хронічної алкоголізації за коефіцієнтом кореляції Спірмена (ρ).

Беручи до уваги належність лабораторних щурів до стадних тварин зі слабо вираженою соціальною ієрархією, в роботі досліджували індивідуальний характер зоосоціальних стосунків в ситуації конкурентної взаємодії, що включала з'ясування та встановлення рангових взаємин. Залежно від емоційного статусу і поведінки дослідних тварин було поділено на три підгрупи (зооцентрична поведінка, домінантна (агресивна) поведінка і субмісивна поведінка) та виокремлено провідний нейростероїд відповідного відділу головного мозку щурів, який з цим асоціюється (рис. 1). Кореляційний аналіз теж підтвердив, що саме тестостерон гіпоталамусу ($\rho = 0,54$), прогестерон гіпокампу ($\rho = 0,66$) і ДГЕА мигдалини ($\rho = -0,51$) асоціюються з емоційною поведінкою тварин у трьох підгрупах.

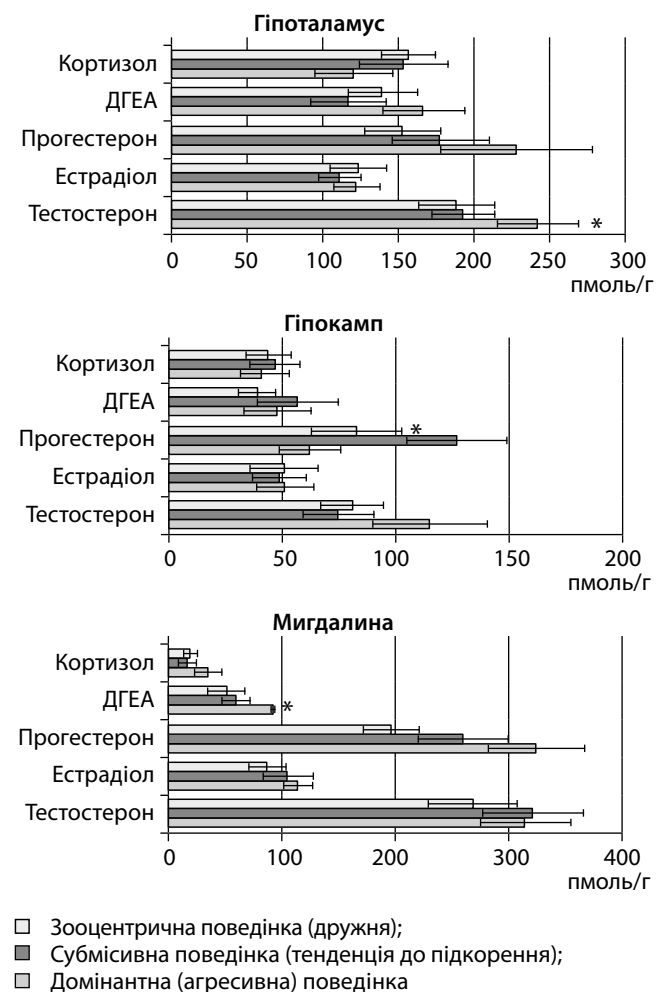


Рис. 1. Нейростероїдний статус дослідних тварин залежно від різновиду емоційної поведінки

* — $p \leq 0,05$ порівняно з обома іншими різновидами емоційної поведінки

Відомо, що агресивна поведінка може виконувати важливі адаптивні функції у соціальних видів тварин. Однак, якщо вона перевищує норму захисної реакції, вона може стати дезадаптивною. Однією з нейрохімічних систем, які найбільш послідовно пов'язані з ескалацією агресії, є ГАМКергічна система в поєднанні з іншими амінами та пептидами. Хоча пряма стимуляція ГАМК-рецепторів загалом пригнічує агресію, низка досліджень показала, що позитивні алостеричні модулятори ГАМК-рецепторів можуть спричиняти посилення агресивної поведінки. Наприклад, алкоголь, бензодіазепіни та ряд нейростероїдів є позитивними модуляторами рецептора ГАМК_A, і всі вони можуть спричиняти підвищений рівень агресивної поведінки. Ці ефекти залежать від дози, і більш високі дози цих сполук зазвичай змінюють емоційний стан від посилення агресивної поведінки до седативних і антиагресивних. Крім того, ці модулятори взаємодіють один з одним і можуть мати адитивний вплив на рецептор ГАМК_A і на поведінку, включно з агресією [26].

В таблиці та на рисунку 2 наведені результати впливу щоденного вживання 15 % розчину етанолу щурами протягом 30 діб на рівень нейростероїдів як у сироватці крові, так і в досліджуваних відділах головного мозку (гіпоталамус, гіпокамп і мигдалини).

Вплив хронічної алкоголізації на сироватковий рівень нейростероїдів у щурів-самців

Показник	Група	
	Контроль (n = 6)	Модель АІс-залежності (n = 10)
Тестостерон	31,40 ± 12,21	27,47 ± 8,40
Естрадіол	0,59 ± 0,13	0,28 ± 0,06 ¹⁾
Прогестерон	0,73 ± 0,06	0,75 ± 0,07
Кортизол	8,69 ± 2,51	10,67 ± 3,66

Примітки: ¹⁾ — $p \leq 0,05$ порівняно з контролем. Показники подані як ($M \pm m$) нмоль/л, де M — середня арифметична, m — стандартна похибка середньої арифметичної

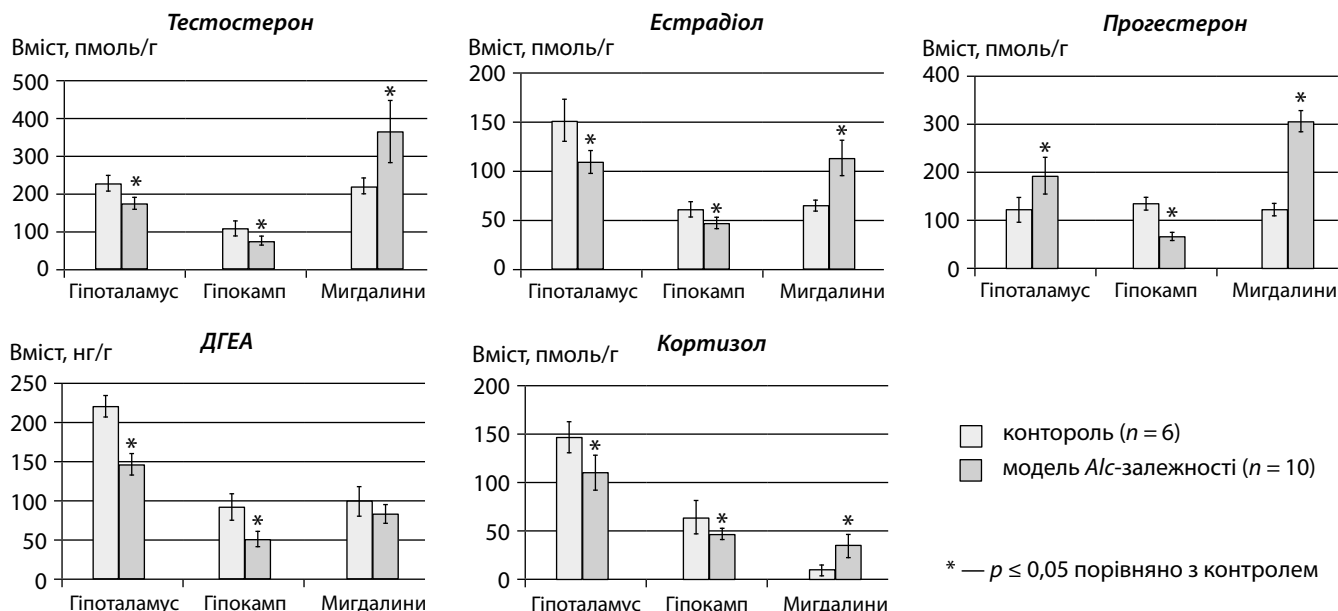


Рис. 2. Ефект тривалої алкоголізації на вміст нейростероїдів у гіпоталамусі, гіпокампі і мигдалинні головного мозку щурів-самців

Встановлено, що периферичні концентрації досліджуваних речовин, за винятком естрадіолу, вміст якого знизився удвічі, не зазнали змін в результаті добровільного місячного споживання щурами алкоголю, чого не можна зауважити щодо їх рівня у головному мозку. Зокрема, у гіпоталамусі виявлено зменшення концентрації статевих стероїдів (тестостерон і естрадіол) та ДГЕА і кортизолу, але збільшення вмісту прогестерону в групі модель АІс-залежності, порівняно з групою контролю. В гіпокампі спостерігалось зменшення рівня всіх досліджуваних нейростероїдів, тоді як в мигдалинні ці показники збільшились (за винятком ДГЕА).

Загальна картина встановлених змін щодо контрольних показників (прийнятих за 100 %) наведена на рисунку 3.

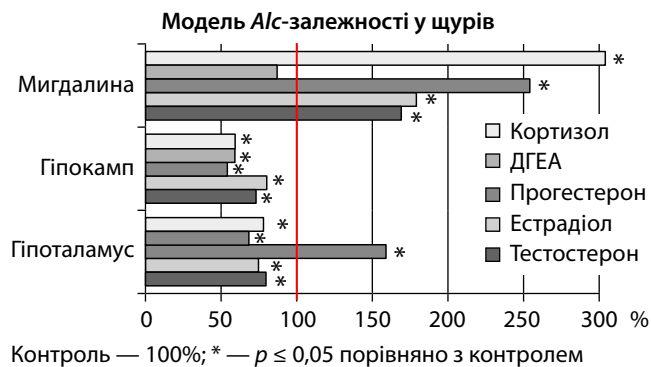
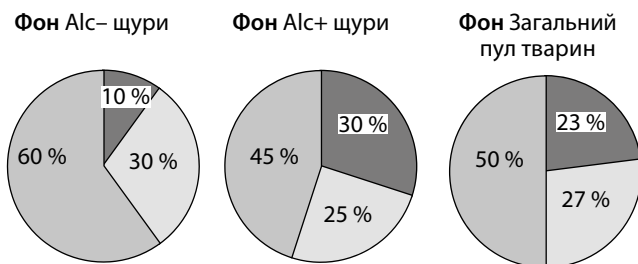


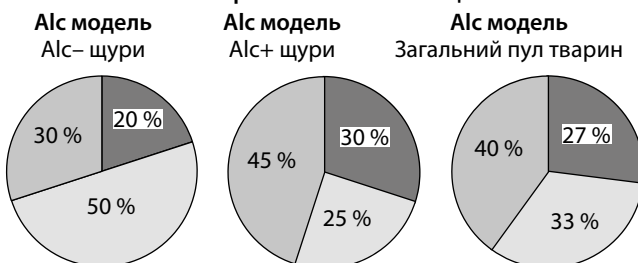
Рис. 3. Динаміка змін у відносних одиницях (% від показників контролю) концентрації нейростероїдів у гіпоталамусі, гіпокампі і мигдалинні головного мозку щурів-самців за хронічної дії етанолу

У цьому дослідженні виявлено, що не всі щури віддають перевагу алкоголю при добровільному виборі між водою і 15 % розчином етанолу. Третина досліджених щурів (*Alc-*) вибирала воду в двохпляшковому тесті. Водночас їх емоційний стан і поведінка суттєво відрізнялися від щурів (*Alc+*), які віддавали перевагу алкоголю (рис. 4), та були асоційовані з вмістом тестостерону у гіпоталамусі цих тварин. Цікаво, що у тварин з зооцентричною поведінкою вибір води або розчину етанолу аж ніяк не впливав на концентрацію тестостерону в гіпоталамусі: *Alc-* (183 ± 24) пмоль/г проти *Alc+* (189 ± 27) пмоль/г. А от у тварин з агресивною або субмісивною поведінкою встановлено істотне переважання рівня тестостерону гіпоталамусу у щурів, які віддавали перевагу алкоголю, порівняно з тими, що вибирали воду: *Alc-* (198 ± 22) пмоль/г проти *Alc+* (252 ± 32) пмоль/г та *Alc-* (172 ± 16) пмоль/г проти *Alc+* (218 ± 21) пмоль/г, відповідно. Більш того, індивідуальна доза спожитого етанолу у *Alc-* тварин майже удвічі була меншою за ІД у *Alc+* щурів, що асоціювалося з рівнем кортизолу у гіпокампі та гіпоталамусі головного мозку тварин. Найцікавіше, що саме на щурів *Alc-* (вибирали H_2O) алкоголізація вплинула радикальніше, порівняно з *Alc+* тваринами (див. рис. 4). А саме — серед них збільшилася удвічі відносна частка тварин, які під впливом хронічної алкоголізації набули домінантної (агресивної) поведінки, та також збільшилася в 1,7 раза відносна частка тварин, які за тих же умов набули субмісивної поведінки. У тварин, які вибирали алкоголь, споживання останнього не спричиняло істотних змін в емоційній поведінці тварин.

Вихідний розподіл тварин за емоційним станом і поведінкою



Розподіл тварин за емоційним станом і поведінкою у % після хронічної алкоголізації



- Зооцентрична поведінка (дружня)
- Домінантна (агресивна) поведінка
- Субмісивна поведінка (тенденція до підкорення)

Рис. 4. Вплив хронічної алкоголізації на емоційний стан і поведінку щурів залежно від їх вибору між водою (*Alc-*) і 15 % етанолом (*Alc+*) та у загальній вибірці тварин

У деяких дослідженнях показано, що вживання алкоголю суттєво посилює агресивну спрямованість приблизно у 30 % самців мишей і щурів, тоді як її рівень у решти 70 % або не змінювався, або зменшувався щодо загального рівня після введення помірної дози алкоголю [27—29]. Ця індивідуальна варіація є порівнянною зі станом людини, бо відмінності в схильності до ескалації агресії, спричиненої алкоголем, можуть виникнути через функціональні та складові відмінності ГАМК_A-рецепторів [30].

Отже, нам вдалося виокремити і охарактеризувати саме цю третину загальної вибірки тварин, у яких підсилювалась агресія під впливом алкоголю: це *Alc-* щури, які вибирали воду в двохпляшковому тесті.

На рисунку 4 також наведено розподіл щурів за емоційним станом до і після алкоголізації у загальній вибірці тварин, а спрямованість таких змін під впливом алкоголю ілюструє рисунок 5.

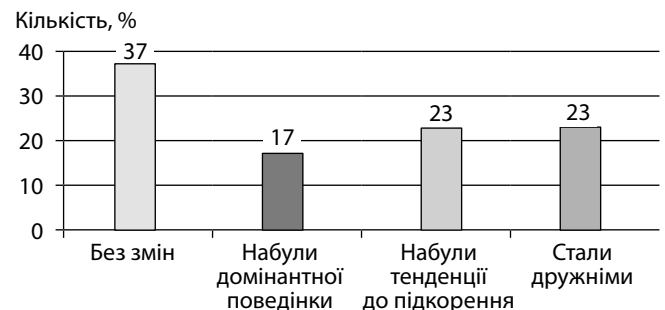


Рис. 5. Вплив хронічної алкоголізації на емоційний стан і поведінку в загальній вибірці тварин

В одному з досліджень теж було показано, що щури, які віддають перевагу алкоголю, мали більший вихідний рівень тестостерону порівняно з щурами, які уникали алкоголю [31], що не узгоджується з ідеєю про те, що тестостерон захищає самців гризунів від вживання алкоголю.

Кілька досліджень перевірили гіпотезу, що тестостерон причинно пов'язаний із вживанням етанолу, і вони дали суперечливі висновки. По-перше, серед кастрованих самців щурів ті, кого лікували тестостероном, швидше набули більшої переваги до етанолу, ніж ті, хто отримували естрадіол, прогестерон або плацебо [33]. З другого боку, кастровані самці щурів продемонстрували більше споживання етанолу (2,2 г/кг маси щура за 2 години) порівняно з інтактними щурами (1,4 г/кг маси щура за 2 години), яке в середньому зменшилося через заміну тестостерону (1,75 г/кг маси щура за 2 години) [33].

В нашому дослідженні встановлено, що сироваткові рівні тестостерону ($r = -0,63$), естрадіолу ($r = 0,49$) і прогестерону ($r = 0,57$) асоціюються з емоційним статусом щурів з хронічною алкоголізацією.

Узагальнюючи отримані результати, ми згенерували схему провідних нейростероїдів відповідних відділів головного мозку, які асоційовані з динамікою емоційної поведінки тварин під впливом хронічного споживання 15 % розчину етанолу (рис. 6).

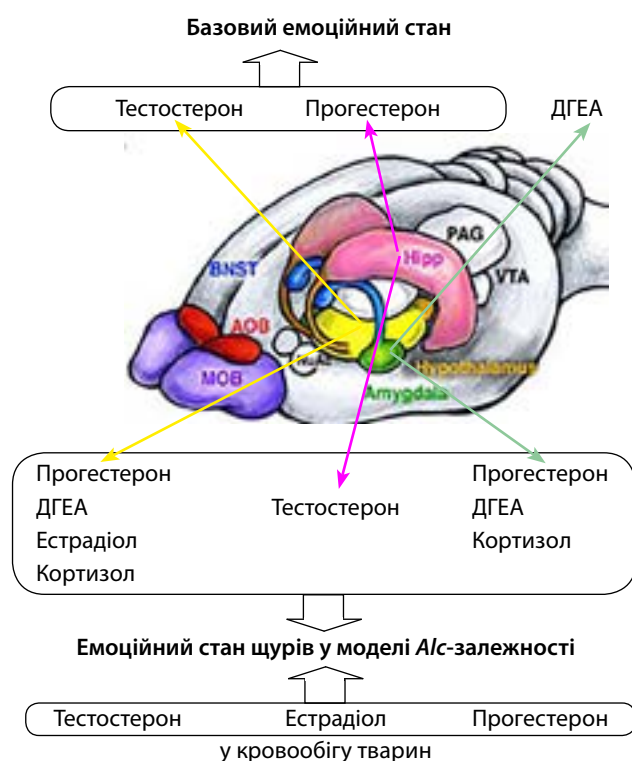


Рис. 6. Схема провідних нейростероїдів відповідних відділів головного мозку, які асоційовані з динамікою емоційної поведінки тварин під впливом хронічного споживання 15 % розчину етанолу

І, якщо емоційний стан інтактних тварин зумовлюють переважно три нейростероїди: тестостерон гіпоталамусу, прогестерон гіпокампі і ДГЕА мигдалини, то тривале споживання алкоголю спричиняє залучення цілого пулу інших гормонів, а саме: прогестерону, ДГЕА, естрадіолу і кортизолу гіпоталамусу; тестостерону гіпокампі та прогестерону, ДГЕА і кортизолу мигдалини. До того ж, свій вплив виявляють нейроактивні стероїди периферійного кровообігу, як-от статеві гормони — тестостерон і естрадіол, та прогестерон.

Отже, визначена асоціація нейростероїдів з емоційною поведінкою у тварин за умов алкогольної залежності є передумовою для дослідження порушень нейростероїдних механізмів регуляції емоційного стану під впливом етанолу та їх корекції.

Список літератури

1. Helms C. M. Neurosteroid influences on sensitivity to ethanol / C. M. Helms, D. J. Rossi, K. A. Grant // *Frontiers in endocrinology*. 2012. 3. 10. DOI: 10.3389/fendo.2012.00010.
2. Baulieu E. E. Neurosteroids: a novel function of the brain // *Psychoneuroendocrinology*. 1998. 23(8). 963—987. DOI: 10.1016/S0306-4530(98)00071-7.
3. Characterization of brain neurons that express enzymes mediating neurosteroid biosynthesis / Agís-Balboa R. C., Pinna G., Zhubi A. [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006. 103(39). 14602—14607. DOI: 10.1073/pnas.0606544103.
4. Neurosteroid biosynthesis regulates sexually dimorphic fear and aggressive behavior in mice / Pinna G., Agís-Balboa R. C., Pibiri F. [et al.] // *Neurochem Res*. 2008. 33(10). 1990—2007. DOI: 10.1007/s11064-008-9718-5.

5. Barbaccia M. L. Neurosteroidogenesis: relevance to neurosteroid actions in brain and modulation by psychotropic drugs // *Crit Rev Neurobiol*. 2004. 16(1-2). 67—74. DOI: 10.1615/critrevneurobiol.v16.i12.70.

6. Neurosteroids in the mouse brain: behavioral and pharmacological effects of a 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor / Young J., Corpécho C., Perché F. [et al.] // *Steroids*. 1996. 61(3). 144—149. DOI: 10.1016/0039-128x(95)00220-k.

7. Akwa Y. Neurostéroïdes: aspects comportementaux et implications physiologiques [Neurosteroids: behavioral aspects and physiological implications] / Y. Akwa, E. E. Baulieu // *J Soc Biol*. 1999. 193(3). 293—298. PMID: 10542960.

8. Grant K. A., Azarov A., Shively C. A., Purdy R. H. Discriminative stimulus effects of ethanol and 3 alpha-hydroxy-5 alpha-pregnan-20-one in relation to menstrual cycle phase in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) // *Psychopharmacology (Berl)*. 1997. 130(1). 59—68. DOI: 10.1007/s002130050211.

9. Stress, ethanol, and neuroactive steroids / Biggio G., Concas A., Follesa P. [et al.] // *Pharmacol Ther*. 2007. 116(1). 140—171. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.04.005.

10. Morrow A. L., Porcu P., Boyd K. N., Grant K. A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation of GABAergic neuroactive steroids influences ethanol sensitivity and drinking behavior // *Dialogues Clin Neurosci*. 2006. 8(4). 463—477. DOI: 10.31887/DCNS.2006.8.4/amorrow.

11. The role of neuroactive steroids in ethanol/stress interactions: proceedings of symposium VII at the Volterra conference on alcohol and stress, May 2008 / Morrow A. L., Biggio G., Serra M. [et al.] // *Alcohol*. 2009. 43(7). 521—530. DOI: 10.1016/j.alcohol.2009.04.002.

12. LaVoie H. A. Transcriptional regulation of steroidogenic genes: STARD1, CYP11A1 and HSD3B / H. A. LaVoie, S. R. King // *Exp Biol Med (Maywood)*. 2009. 234(8). 880—907. DOI: 10.3181/0903-MR-97.

13. Krause J. E. Subcellular location of hypothalamic progesterone metabolizing enzymes and evidence for distinct NADH- and NADPH-linked 3 alpha-hydroxysteroid oxidoreductase activities / J. E. Krause, H. J. Karavolas // *J Steroid Biochem*. 1980. 13(3). 271—280. DOI: 10.1016/0022-4731(80)90005-9.

14. Crabb D. W., Matsumoto M., Chang D., You M. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology // *Proc Nutr Soc*. 2004. 63(1). 49—63. DOI: 10.1079/pns2003327.

15. Neuroactive steroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one modulates electrophysiological and behavioral actions of ethanol / VanDoren M. J., Matthews D. B., Janis G. C. [et al.] // *J Neurosci*. 2000. 20(5). 1982—1989. DOI: https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-05-01982.2000.

16. Differential effects of ethanol on serum GABAergic 3alpha,5alpha/3alpha,5beta neuroactive steroids in mice, rats, cynomolgus monkeys, and humans / Porcu P., O'Buckley T. K., Alward S. E. [et al.] // *Alcohol Clin Exp Res*. 2010. 34(3). 432—442. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2009.01123.x.

17. Lee S., Selvage D., Hansen K., Rivier C. Site of action of acute alcohol administration in stimulating the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis: comparison between the effect of systemic and intracerebroventricular injection of this drug on pituitary and hypothalamic responses // *Endocrinology*. 2004. 145(10). 4470—4479. DOI: 10.1210/en.2004-0110.

18. Failure of gamma-hydroxybutyric acid both to increase neuroactive steroid concentrations in adrenalectomized-orchietomized rats and to induce tolerance to its steroido-

genic effect in intact animals / Porcu P., Sogliano C., Ibba C. [et al.] // *Brain Res.* 2004. 1012(1-2). 160—168. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.03.059.

19. Ethanol induction of steroidogenesis in rat adrenal and brain is dependent upon pituitary ACTH release and de novo adrenal StAR synthesis / Boyd K. N., Kumar S., O'Buckley T. K. [et al.] // *J Neurochem.* 2010. 112(3). 784—796. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06509.x.

20. The sticky issue of neurosteroids and GABA(A) receptors / Chisari M., Eisenman L. N., Covey D. F. [et al.] // *Trends Neurosci.* 2010. 33(7). 299—306. DOI: 10.1016/j.tins.2010.03.005.

21. Neurosteroids, GABAA receptors, and ethanol dependence / Follesa P., Biggio F., Talani G. [et al.] // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2006. 186(3). 267—280. DOI: 10.1007/s00213-005-0126-0.

22. Voluntary ethanol consumption induced by social isolation reverses the increase of $\alpha(4)/\delta$ GABA(A) receptor gene expression and function in the hippocampus of C57BL/6J mice / Sanna E., Talani G., Obili N. [et al.] // *Front Neurosci.* 2011. 5. 15. DOI: 10.3389/fnins.2011.00015.

23. Effects of voluntary ethanol consumption on emotional state and stress responsiveness in socially isolated rats / Pisu M. G., Mostallino M. C., Dore R. [et al.] // *Eur Neuropsychopharmacol.* 2011. 21(5). 414—425. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2010.07.006.

24. Гейко В. В. Моделирование зоосоциальных фобий: влияние наследственной отягощенности и условий постнатального развития / В. В. Гейко, М. С. Гейко // *Психическое здоровье.* 2009. № 5 (36). С. 47—50.

25. Гейко В. В. Некоторые нейроиммуноэндокринные корреляты спонтанной агрессивности у крыс / В. В. Гейко, С. Н. Абашева // *Наркология.* 2006. № 1. С. 53—55.

26. Miczek K. A. Neurosteroids, GABAA receptors, and escalated aggressive behavior / Miczek K. A., Francisco E. M., DeBold J. F. // *Hormones and behavior.* 2003. 44. 242—257. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2003.04.002.

27. Alcohol and "bursts" of aggressive behavior: ethological analysis of individual differences in rats / Miczek K. A., Weerts E. M., Tornatzky W. [et al.] // *Psychopharmacology.* 1992. 107. 551—563. DOI: 10.1007/BF02245270.

28. Miczek K. A., Barros H. M., Sakoda L., Weerts E. M. Alcohol and heightened aggression in individual mice // *Alcohol Clin Exp Res.* 1998. 22. 1698—1705. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1998.tb03968.x.

29. Van Erp A. M. M. Increased aggression after ethanol self-administration in male resident rats / A. M. M. Van Erp, K. A. Miczek // *Psychopharmacology.* 1997. 131(3). 287—295. DOI: 10.1007/s002130050295.

30. Takahashi A. Neurogenetics of aggressive behavior: studies in rodents / A. Takahashi, K. A. Miczek // *Curr Top Behav Neurosci.* 2014. 17. 3—44. DOI: 10.1007/7854_2013_263.

31. Apter S. J. The effect of alcohol on testosterone concentrations in alcohol-preferring and non-preferring rat lines / S. J. Apter, C. J. Eriksson // *Alcohol Clin Exp Res.* 2003. 27(7). 1190—1193. DOI: 10.1097/01.alc.0000075832.83254.81.

32. Lakoza G. N. The role of testosterone in the development of experimental alcoholism / G. N. Lakoza, N. K. Barkov // *Bull Narc.* 1980. 32(2). 41—48. PMID: 6907025.

33. Vetter-O'Hagen C. S. Evidence for suppressant effects of testosterone on sex-typical ethanol intake in male Sprague-Dawley rats / C. S. Vetter-O'Hagen, K. W. Sanders, L. P. Spear // *Behav Brain Res.* 2011. 224(2). 403—407. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.06.020.

References

1. Helms C. M., Rossi D. J., Grant K. A. Neurosteroid influences on sensitivity to ethanol. *Frontiers in endocrinology.* 2012. 3. 10. DOI: 10.3389/fendo.2012.00010.

2. Baulieu E. E. Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology.* 1998. 23(8). 963—987. DOI: 10.1016/s0306-4530(98)00071-7.

3. Agís-Balboa R. C., Pinna G., Zhubi A., Maloku E., Veldic M., Costa E., Guidotti A. Characterization of brain neurons that express enzymes mediating neurosteroid biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006. 103(39). 14602—14607. DOI: 10.1073/pnas.0606544103.

4. Pinna G., Agís-Balboa R. C., Pibiri F., Nelson M., Guidotti A., Costa E. Neurosteroid biosynthesis regulates sexually dimorphic fear and aggressive behavior in mice. *Neurochem Res.* 2008. 33(10). 1990—2007. DOI: 10.1007/s11064-008-9718-5.

5. Barbaccia M. L. Neurosteroidogenesis: relevance to neurosteroid actions in brain and modulation by psychotropic drugs. *Crit Rev Neurobiol.* 2004. 16(1—2). 67—74. DOI: 10.1615/crit-revneurobiol.v16.i2.70.

6. Young J., Corpéchet C., Perché F., Eychenne B., Haug M., Baulieu E. E., Robel P. Neurosteroids in the mouse brain: behavioral and pharmacological effects of a 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor. *Steroids.* 1996. 61(3). 144—149. DOI: 10.1016/0039-128x(95)00220-k.

7. Akwa Y., Baulieu E. E. Neurostéroïdes: aspects comportementaux et implications physiologiques [Neurosteroids: behavioral aspects and physiological implications]. *J Soc Biol.* 1999. 193(3). 293—298. PMID: 10542960.

8. Grant K. A., Azarov A., Shively C. A., Purdy R. H. Discriminative stimulus effects of ethanol and 3 alpha-hydroxy-5 alpha-pregnan-20-one in relation to menstrual cycle phase in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Psychopharmacology (Berl.)*. 1997. 130(1). 59—68. DOI: 10.1007/s002130050211.

9. Biggio G., Concas A., Follesa P., Sanna E., Serra M. Stress, ethanol, and neuroactive steroids. *Pharmacol Ther.* 2007. 116(1). 140—171. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.04.005.

10. Morrow A. L., Porcu P., Boyd K. N., Grant K. A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation of GABAergic neuroactive steroids influences ethanol sensitivity and drinking behavior. *Dialogues Clin Neurosci.* 2006. 8(4). 463—477. DOI: 10.31887/DCNS.2006.8.4.amorrow

11. Morrow A. L., Biggio G., Serra M., Becker H. C., Lopez M. F., Porcu P., Alward S. E., O'Buckley T. K. The role of neuroactive steroids in ethanol/stress interactions: proceedings of symposium VII at the Volterra conference on alcohol and stress, May 2008. *Alcohol.* 2009. 43(7). 521—530. DOI: 10.1016/j.alcohol.2009.04.002.

12. LaVoie H. A., King S. R. Transcriptional regulation of steroidogenic genes: STARD1, CYP11A1 and HSD3B. *Exp Biol Med (Maywood).* 2009. 234(8). 880—907. DOI: 10.3181/0903-MR-97.

13. Krause J. E., Karavolas H. J. Subcellular location of hypothalamic progesterone metabolizing enzymes and evidence for distinct NADH- and NADPH-linked 3 alpha-hydroxysteroid oxidoreductase activities. *J Steroid Biochem.* 1980. 13(3). 271—280. DOI: 10.1016/0022-4731(80)90005-9.

14. Crabb D. W., Matsumoto M., Chang D., You M. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology. *Proc Nutr Soc.* 2004. 63(1). 49—63. DOI: 10.1079/pns2003327.

15. VanDoren M. J., Matthews D. B., Janis G. C., Grobin A. C., Devaud L. L., Morrow A. L. Neuroactive steroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one modulates electrophysiological and

behavioral actions of ethanol. *J Neurosci*. 2000. 20(5). 1982—1989. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-05-01982.2000>.

16. Porcu P., O'Buckley T. K., Alward S. E., Song S. C., Grant K. A., de Wit H. Differential effects of ethanol on serum GABAergic 3 α ,5 α /3 α ,5 β neuroactive steroids in mice, rats, cynomolgus monkeys, and humans. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010. 34(3). 432—442. DOI:10.1111/j.1530-0277.2009.01123.x.

17. Lee S., Selvage D., Hansen K., Rivier C. Site of action of acute alcohol administration in stimulating the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis: comparison between the effect of systemic and intracerebroventricular injection of this drug on pituitary and hypothalamic responses. *Endocrinology*. 2004. 145(10). 4470—4479. DOI: 10.1210/en.2004-0110.

18. Porcu P., Sogliano C., Ibba C., Piredda M., Tocco S., Marra C., Purdy R. H., Biggio G., Concas A. Failure of gamma-hydroxybutyric acid both to increase neuroactive steroid concentrations in adrenalectomized-orchietomized rats and to induce tolerance to its steroidogenic effect in intact animals. *Brain Res*. 2004. 1012(1-2). 160—168. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.03.059.

19. Boyd K. N., Kumar S., O'Buckley T. K., Porcu P., Morrow A. L. Ethanol induction of steroidogenesis in rat adrenal and brain is dependent upon pituitary ACTH release and de novo adrenal StAR synthesis. *J Neurochem*. 2010. 112(3). 784—796. DOI:10.1111/j.1471-4159.2009.06509.x.

20. Chisari M., Eisenman L. N., Covey D. F., Mennerick S., Zorumski C. F. The sticky issue of neurosteroids and GABA(A) receptors. *Trends Neurosci*. 2010. 33(7). 299—306. DOI: 10.1016/j.tins.2010.03.005.

21. Follesa P., Biggio F., Talani G., Murru L., Serra M., Sanna E., Biggio G. Neurosteroids, GABA receptors, and ethanol dependence. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006. 186(3). 267—280. DOI: 10.1007/s00213-005-0126-0.

22. Sanna E., Talani G., Obili N., Mascia M. P., Mostallino M. C., Secci P. P., Pisu M. G., Biggio F., Utzeri C., Olla P., Biggio G., Follesa P. Voluntary ethanol consumption induced by social isolation reverses the increase of $\alpha(4)/\delta$ GABA(A) receptor gene expression and function in the hippocampus of C57BL/6J mice. *Front Neurosci*. 2011. 5. 15. DOI: 10.3389/fnins.2011.00015.

23. Pisu M. G., Mostallino M. C., Dore R., Maciocco E., Secci P. P., Serra M. Effects of voluntary ethanol consumption on emotional state and stress responsiveness in socially isolated rats. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011. 21(5). 414—425. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2010.07.006.

24. Geyko V. V., Geyko M. S. Modelirovanie zoosotsialnykh fobiy: vliyaniye nasledstvennoy otyagoschennosti i usloviy postnatalnogo razvitiya. *Psihicheskoe zdorove*. 2009. No. 5 (36). 47—50.

25. Geyko V. V., Abasheva S. N. Nekotoryye neyroimmunoendokrinnyye korrelyaty spontannoy agressivnosti u kryis. *Narkologiya*. 2006. 1. 53—55.

26. Miczek K. A., Francisco E. M., DeBold J. F. Neurosteroids, GABA receptors, and escalated aggressive behavior. *Hormones and behavior*. 2003. 44. 242—257. DOI:10.1016/j.yhbeh.2003.04.002.

27. Miczek K. A., Weerts E. M., Tornatzky W., DeBold J. F., Vatne T. M. Alcohol and "bursts" of aggressive behavior: ethological analysis of individual differences in rats. *Psychopharmacology*. 1992. 107. 551—563. DOI: 10.1007/BF02245270.

28. Miczek K. A., Barros H. M., Sakoda L., Weerts E. M. Alcohol and heightened aggression in individual mice. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998. 22. 1698—1705. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1998.tb03968.x.

29. Van Erp A. M. M., Miczek K. A. Increased aggression after ethanol self-administration in male resident rats. *Psychopharmacology*. 1997. 131(3). 287—295. DOI: 10.1007/s002130050295.

30. Takahashi A., Miczek K. A. Neurogenetics of aggressive behavior: studies in rodents. *Curr Top Behav Neurosci*. 2014. 17. 3—44. DOI: 10.1007/7854_2013_263.

31. Apter S. J., Eriksson C. J. The effect of alcohol on testosterone concentrations in alcohol-preferring and non-preferring rat lines. *Alcohol Clin Exp Res*. 2003. 27(7). 1190—1193. DOI: 10.1097/01.alc.0000075832.83254.81.

32. Lakoza G. N., Barkov N. K. The role of testosterone in the development of experimental alcoholism. *Bull Narc*. 1980. 32(2). 41—48. Pmid:6907025.

33. Vetter-O'Hagen C. S., Sanders K. W., Spear L. P. Evidence for suppressant effects of testosterone on sex-typical ethanol intake in male Sprague-Dawley rats. *Behav Brain Res*. 2011. 224(2). 403—407. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.06.020.

Надійшла до редакції 14.01.2022

Відомості про авторів:

СОКОЛІК Вікторія Василівна, кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії*, e-mail: v.sokolik67@gmail.com

БЕРЧЕНКО Ольга Григорівна, доктор біологічних наук, професор, завідувачка лабораторії*, e-mail: berchenko.olga@ukr.net

ГЕЙКО Валентина Василівна, кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії*, e-mail: vvgeico@gmail.com

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

Information about the authors:

SOKOLIK Victoria, PhD of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory**, e-mail: v.sokolik67@gmail.com

BERCHENKO Olga, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory**, e-mail: berchenko.olga@ukr.net

HEYKO Valentyna, PhD of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory**, e-mail: vvgeico@gmail.com

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