

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-6-16-20

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ УЧАСТИЯ ПЕПТИДНОЙ СИСТЕМЫ ГРЕЛИНА В ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЯХ ИГРОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ У КРЫС

А. А. Лебедев, П. П. Хохлов, Н. Д. Якушина, К. Е. Грамота,
И. Ю. Тиссен, Е. Р. Бычков, М. И. Айрапетов, П. Д. Шабанов¹

Целью исследования было изучение влияния активации и блокады рецепторов грелина на проявление импульсивного компонента игровой зависимости и содержания эндогенного дезацил-грелина (ДАГ) в лимбических структурах головного мозга у крыс. Рабочей гипотезой было допущение, что грелин участвует в формировании аддиктивных форм поведения и злоупотребления веществами на фоне стрессорных факторов или сигналов внешней среды. Крыс в течение 3 недель обучали побежкам в 3-лучевом лабиринте. В рукаве 1 каждая побежка подкреплялась 1 семенем подсолнечника, в рукаве 2 — каждая вторая побежка подкреплялась 2 семенами, в рукаве 3 — каждая третья побежка в рукаве 3 подкреплялась 3 семенами. В качестве фармакологических веществ использовали грелин и его антагонист [D-Lys³]-GHRP-6, которые вводили интраназально в дозе 10 мкг в 20 мкл. После 7-дневного введения пептидных препаратов крыс декапитировали и выделяли структуры мозга (миндалины, гиппокамп и гипоталамус). С помощью высокочувствительного иммуноферментного анализа оценивали содержание ДАГ. В поведенческих опытах показано, что введение грелина повышает число побегов в рукав с низкой вероятностью, но большей величиной подкрепления, в то время как [D-Lys³]-GHRP-6 увеличивает число побегов в рукав с высокой (100 %) вероятностью, но меньшей величиной подкрепления. Концентрация ДАГ в структурах мозга контрольных крыс варьировала: в миндалине она была в 1,5 раза, а в гипоталамусе — в 3 раза выше, чем в гиппокампе. После курса введения грелина содержание ДАГ повышалось в гиппокампе в 1,5 раза и снижалось в гипоталамусе в 2 раза. D-Lys³-GHRP-6 значительно (в 3 раза) снижал содержание ДАГ только в гипоталамусе. Сделан вывод о том, что система пептидов грелина участвует в игровом поведении, влияя в основном на импульсивный компонент игровой зависимости.

Ключевые слова: грелин; дезацил-грелин; игровая зависимость; гипоталамус; миндалина; гиппокамп.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование игровой зависимости не получило должной разработки в нейрофармакологии в силу отсутствия конкретных знаний о ее нейрохимических механизмах. Из-за этого в настоящее время не существует и какого-либо стандартизированного лечения клинических вариантов игровой зависимости, хотя в последние годы в этой области был достигнут определенный успех с помощью фармакологических средств транквилизирующей направленности и психотерапии [8].

Экспериментальные исследования игровой зависимости в настоящее время сконцентрированы, в основном, на использовании теста IOWA и его модификаций [14], имитирующей сложность выбора, с которой мы сталкиваемся в жизни. Основа теста состоит в непредсказуемости последствий выбора, необходимости оценки выгоды и убытков с целью максимизировать прибыль в долгосрочной перспективе. В последнее время были предложены разные варианты теста IOWA на животных [14]. В нашей лаборатории также был разработан вари-

ант модели теста IOWA в трехлучевом лабиринте, учитывающий вероятность и величину пищевого подкрепления [2].

Исследование нейрохимических механизмов игровой зависимости (в основном при использовании теста IOWA) выявило участие серотонина, дофамина и эндогенных опиоидов в данных механизмах [8]. Гормоны стресса и изменения в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы также связаны с нарушениями управления импульсивного поведения. Как правило, после азартных игр в крови игроков наблюдали высокий уровень кортизола и адреналина, а также повышенные частоты сердечного ритма [13]. Результаты подтверждают, что азартные игры вызывают активацию стресс-системы и импульсивного поведения.

В формировании игровой зависимости участвует ряд нейропептидов, включая кортиколиберин (CRF), орексин, грелин, окситоцин [3, 5, 8]. Особое внимание привлекает пептидный гормон грелин, открытый в конце XX века [11]. Он вырабатывается в слизистой оболочке желудка и дугообразном ядре гипоталамуса, состоит из 28 аминокислот и включает 3 изоформы: ацилированный грелин, неацилированный (дезацил-грелин) и обес-

¹ ФГБНУ “Институт экспериментальной медицины”, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12.

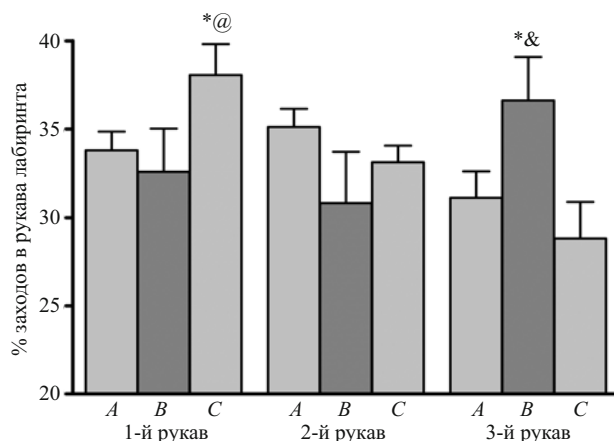


Рис. 1. Влияние интраназального введения грелина и антагониста рецептора грелина [D-Lys³]-GHRP-6 на количество заходов в рукава 3-лучевого лабиринта ($M \pm m$):

A — контрольная группа, интраназальное введение 0,9 % раствора NaCl, 20 мкл; B — интраназальное введение грелина 10 мкг в 20 мкл, 7 дней; C — интраназальное введение антагониста рецептора грелина [D-Lys³]-GHRP-6 10 мкг в 20 мкл, 7 дней.

* $p \leq 0,05$ в сравнении с физиологическим раствором;

& $p \leq 0,05$ в сравнении с антагонистом рецептора грелина [D-Lys³]-GHRP-6;

@ $p \leq 0,05$ в сравнении с заходом в 3 рукав в соответствующей группе.

татин. Рецептор грелина GHSR1A связывают с проявлениями разной биологической активности, например, с возрастанием количества принимаемой пищи, стимуляцией высвобождения гормона роста, метаболизмом липидов и гомеостазом глюкозы, регуляцией секреции и моторики желудочно-кишечного тракта [15]. Грелин участвуют также и в формировании аддиктивных форм поведения, в первую очередь, связанного с системой положительного подкрепления, в том числе злоупотребления веществами с аддиктивным потенциалом на фоне стрессорных факторов или сигналов внешней среды [10].

Целью исследования было изучение влияния активации и блокады рецепторов грелина на проявление импульсивного компонента игровой зависимости и содержания дезацил-грелина в лимбических структурах головного мозга у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы 56 крыс-самцов линии Вистар, полученных из питомника лабораторных животных “Рапполово” (Ленинградская область). Животных содержали в условиях вивария в стандартных клетках при свободном доступе к воде и корму в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре (22 ± 2) °C.

Тест вероятности и величины подкрепления. Установка состояла из 2 частей — стартовой камеры размером $35 \times 50 \times 35$ см и 3 рукавов — $50 \times 15 \times 35$ см. В конце каждого рукава лабиринта располагалась автоматическая кормушка. Перед тем как запустить крысу в лабиринт, в каждый рукав подавали пищевое подкрепление (очищенное семя подсолнечника). Следующая по-

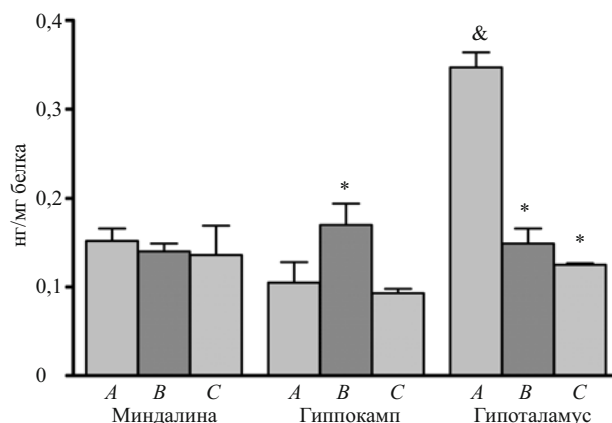


Рис. 2. Влияние введения грелина и [D-Lys³]-GHRP-6 на содержание ДАГ (нг/мг) в структурах лимбической системы мозга крыс ($M \pm m$):

A — контрольная группа, интраназальное введение 0,9 % раствора NaCl, 20 мкл; B — интраназальное введение грелина 10 мкг в 20 мкл, 7-дневный курс; C — интраназальное введение антагониста рецептора грелина [D-Lys³]-GHRP-6 10 мкг в 20 мкл, 7 дней. Приведенные концентрации рассчитаны на 1 мг общего белка в образце.

* $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой в соответствующей структуре мозга.

& $p < 0,05$ в сравнении с гиппокампом контрольной группы.

дача подкрепления происходила, когда крыса покидала рукав и возвращалась в стартовую камеру. Животное каждый день помещали на стартовую площадку и тестировали побегки в течение 10 мин без подачи каких-либо световых или звуковых сигналов. Крыс содержали в стандартных пластмассовых клетках в условиях специального пищевого режима — кормили ежедневно после завершения всех опытов брикетированным кормом для грызунов, ограничивая время доступа к пище 4 ч, при свободном доступе к воде. Соответственно, перед каждым тестированием выдерживали пищевую депривацию в течение 20 ч. Обучение крыс проводили в течение 3 недель. При подготовке животных к основному эксперименту использовали тренировочный режим подачи подкрепления. В начале тренировочного периода при каждом выборе 1-го рукава крыса получала 1 семя подсолнечника. При каждом выборе 2-го рукава — 2 семени и при каждом выборе 3-го рукава — 3 семени [2]. Этот период обучения длился 5 дней. Следующие 2 дня животных не тестировали и в 1-й день животных не ограничивали в доступе к пище, а на 2-й день выдерживали 20-часовую пищевую депривацию при свободном доступе к воде. На следующем этапе обучения устанавливали подачу подкрепления, принятую в основном эксперименте, при этом изменялся режим подкрепления. В кормушке 1 подавали 1 семя подсолнечника в режиме FR1 – 1 (т.е. каждая побегка в рукаве 1 лабиринта подкреплялась пищей), в кормушке 2 – 2 семени в режиме FR2 – 2 (т.е. каждая вторая побегка в рукаве 2 подкреплялась пищей), в кормушке 3 – 3 семени в режиме FR3 – 3 (т.е. каждая третья побегка в рукаве 3 подкреплялась пищей). Соответственно, половина заходов во второй рукав и 2/3 заходов в 3 рукав оставались без поощрения. В таком режиме крыс тестировали 2 недели,

после чего переходили к фармакологической части эксперимента. Тестирование препаратов проводили 1 раз в 3 дня. В процессе подготовки из эксперимента исключали животных, не совершавших заходы в рукава лабиринта. Таких крыс было не более 15 %. В конце обучающего этапа, в целом, крысы одинаково предпочитали все 3 рукава лабиринта [2].

Препараты вводили интраназально за 20 мин до исследования. Разовая доза каждого препарата составляла 10 мкг в 20 мкл (10 мкл в каждую ноздрю) в концентрации 0,5 мг/мл. В качестве агониста рецептора грелина использовали Ghrelin (Tocris, Великобритания), а в качестве антагониста — D-Lys³-GHRP-6 (Tocris, Великобритания). Контрольные животные получали 20 мкл 0,9 % раствора NaCl.

В параллельных исследованиях фармакологические вещества вводили в течение 7 дней интраназально. Через 2 ч после последнего введения животных декапитировали, выделяли исследуемые структуры головного мозга (миндалину, гиппокамп и гипоталамус) и замораживали в жидком азоте для последующего биохимического исследования. Замороженные образцы подвергали гомогенизации при температуре жидкого азота с помощью криогенной мельницы “Cryomill” (Retsch, Германия). Гомогенизацию проводили в течение 3 мин после охлаждения до нужной температуры. Полученные гомогенаты суспендировали в стандартном забуференном физиологическом растворе (pH 7,4) с добавлением 0, 5% твин-20. Аликвоты полученной суспензии замораживали до дальнейшего исследования. Размороженные аликвоты суспензий образцов структур головного мозга исследовали на содержание дезацетил-грелина (ДАГ) с помощью высокочувствительного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Были использованы системы “Unacylated ghrelin (mouse, rat), Express enzyme immunoassay kit” (SPI-BIO, Франция) с пределом чувствительности 1 пг/мл. Концентрацию белка в образцах определяли согласно традиционному методу Bredford.

Для статистической обработки полученных данных применяли пакеты “Stastistica, v.6” и “Origin, v.7.5”. Нормальность распределений оценивали при помощи критерия Колмогорова — Смирнова, значимость различий между группами — при помощи t-критерия Стьюдента, либо U-критерия Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После 3 недель обучения животные, как правило, не проявляли ориентировочно-исследовательского поведения в стартовом отсеке лабиринта, при этом наблюдали целенаправленные побежки в рукава лабиринта, до 50 побежек к кормушкам за 10-минутный опыт. Исследования стабилизации навыка в лабиринте на 3-й неделе обучения показали, что после интраназального введения 0,9 % NaCl процент числа заходов в рукава оставался на одном уровне в течение 4 последовательных дней, то есть навык достижения пищи стабилизировался на одном уровне. Среднее число заходов в первый рукав лабиринта составляло $(33,3 \pm 1,9)$, во второй рукав —

$(33,5 \pm 2,4)$, в третий рукав — $(33,2 \pm 2,4)$. Таким образом, мы адаптировали IOWA тест с вероятностным подкреплением при различной значимости (силе) подкрепления для оценки элементов игровой зависимости у крыс.

Далее животные получали интраназально 0,9 % раствор NaCl в объеме 20 мкл, либо грелин в дозе 10 мкг в 20 мкл, либо антагонист рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 в дозе 10 мкг в 20 мкл. При введении 0,9 % раствора NaCl число побежек в первый рукав лабиринта составляло $(33,79 \pm 1,06)$, количество побежек в третий рукав — $(31,09 \pm 1,50)$. При введении грелина число побежек в первый рукав насчитывало $(32,57 \pm 2,45)$, а число побежек в третий рукав — $(36,62 \pm 2,46)$. Введение антагониста рецепторов грелина [D-Lys³]-GHRP-6 продемонстрировало, что число побежек в первый рукав увеличивалось до $(38,06 \pm 1,76)$, в то время как число побежек в третий рукав уменьшалось до $(28,83 \pm 2,03)$, $p < 0,05$ (рис. 1).

С помощью высокочувствительного ИФА было выявлено содержание ДАГ во всех исследованных структурах головного мозга. У животных контрольной группы содержание ДАГ достоверно различалось в разных структурах головного мозга (рис. 2): минимальное значение отмечено для гиппокампа, а концентрация ДАГ в миндалине оказалась в 1,5, а в гипоталамусе — в 3 раза выше, чем в гиппокампе ($p < 0,05$). Содержание ДАГ после курса интраназального введения грелина повышалось в гиппокампе в 1,5 раза ($p < 0,05$) и снижалось в гипоталамусе в 2 раза ($p < 0,05$). Содержание ДАГ после курса интраназального введения антагониста рецепторов грелина D-Lys³-GHRP-6 в группе активного контроля при этом достоверно снижалось в гипоталамусе в 3 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, интраназальное введение грелина увеличивало число заходов в 3-й рукав лабиринта по сравнению с введением физиологического раствора, что свидетельствует о более рисковом (маловероятном) поведении в ситуации выбора. При этом внутри группы введение грелина увеличивало заходы в 3-й рукав лабиринта, снижая при этом количество заходов в 1-й рукав. Введение антагониста грелина [D-Lys³]-GHRP-6, напротив, увеличивало заходы в 1-й рукав лабиринта по сравнению с введением физиологического раствора, что свидетельствует о менее рисковом поведении в ситуации выбора. При этом введение антагониста грелина [D-Lys³]-GHRP-6 увеличивало количество заходов в 1-й рукав лабиринта, снижая при этом количество заходов во 2-й и 3-й рукава внутри группы животных. Соответственно, введение грелина повышало число побежек в рукав с низкой вероятностью, но большей величиной подкрепления, в то время как введение [D-Lys³]-GHRP-6 увеличивало число побежек в рукав с высокой (100 %) вероятностью, но меньшей величиной подкрепления.

В настоящих исследованиях с помощью высокочувствительного твердофазного ИФА был выявлен ДАГ во всех исследованных структурах мозга: миндалине, гиппокампе и гипоталамусе. Обращает на себя внимание

большие различия в содержании ДАГ в разных структурах мозга в физиологических условиях (контрольная группа). В данной группе животных содержание ДАГ в образцах гипоталамуса оказалось достоверно выше в сравнении с концентрациями ДАГ в других структурах. Относительно высокие концентрации ДАГ в образцах гипоталамуса может указывать на наличие грелин-содержащих нейронов в ядрах гипоталамуса. Действительно, в специальной работе, исследовавшей этот факт с помощью иммуногистохимических методик, было показано наличие грелин-положительных нейронов в ядрах латерального гипоталамуса [12].

Курсы введения грелина и антагониста грелина [D-Lys³]-GHRP-6 однонаправленно снижали концентрацию ДАГ в гипоталамусе. В то же время грелин активировал поведение азарта и риска в лабиринте, а [D-Lys³]-GHRP-6, наоборот, снижал этот эффект. При этом содержание ДАГ в миндалине не изменялось. Можно допустить, что специфика активации поведения азарта и риска может каким-то образом коррелировать с повышением содержания ДАГ в гиппокампе после введения грелина.

Ранее было показано, что появление исследовательского и рискованного поведения в IOWA тесте у мышей C57bl/6J связано с высоким уровнем дофамина, серотонина и норадреналина в гиппокампе. При этом в гиппокампе происходит активация рецепторов глутамата [9]. Активация основных медиаторных систем головного мозга в гиппокампе, по-видимому, происходит в результате взаимодействия разных сигнальных систем. Показано, что грелин стимулирует фосфорилирование NR1 субъединицы NMDA рецепторов за счет механизмов, зависящих от протеинкиназы А [9]. В настоящей работе интраназальное курсовое введение грелина увеличивало уровень ДАГ в гиппокампе, что возможно, приводит к активации глутаматергических процессов в данной структуре мозга. На поведенческом уровне это проявлялось подкреплением большей силы, но с меньшей вероятностью. Также показано, что крысы после удаления гиппокампа начинают ориентироваться только на высоко вероятные события, например, только на получение пищи в “пищевой” обстановке. После разрушения гиппокампа поведение перестает осложняться влиянием мало вероятных событий, каким явилось болевое раздражение в “пищевой” ситуации [4]. Разрушение гиппокампа у крыс не снижает их способности к выработке новых условных рефлексов, но затрудняет исключение посторонних сигналов из общего потока информации, причем гиппокамп-эктомированные крысы не уступают контрольным, а превосходят их в различении подкрепляемых и неподкрепляемых сигналов. Таким образом, гиппокамп участвует в реакциях на сигналы маловероятных событий путем регулирования диапазона извлекаемых из памяти энграмм и процесса сравнения с личными стимулами [4]. Грелин, по-видимому, запускает активацию гиппокампа на сигналы маловероятных событий.

В работе продемонстрировано, что введение грелина повышает число побегов в рукав с низкой вероятно-

стью, но большей величиной подкрепления (тройное подкрепление), в то время как введение [D-Lys³]-GHRP-6 увеличивает число побегов в рукав с высокой (100 %) вероятностью, но меньшей величиной подкрепления (одинарное подкрепление). Из этого следует, что в условнорефлекторном пищевом поведении значимы не только вероятностные характеристики, которые исследователи химических видов зависимости выделяют как основные и определяющие [1, 6], но и мотивационные параметры (сила подкрепления). В нашем случае, вероятность в 33 % (1/3) при тройном количестве подкрепляющего агента (вознаграждения) при введении грелина достоверно повышалась, что может рассматриваться как элемент игровой зависимости или азарта. Более того, антагонист рецепторов грелина снижал этот показатель в сравнении с группой крыс, получавших грелин, хотя в сравнении с контрольной группой была отмечена только тенденция к снижению. Напротив, при высокой (100 %) вероятности подкрепления грелин не менял числа заходов в подкрепляемый рукав, а его антагонист достоверно повышал этот показатель, что еще раз подчеркивает значение самого грелина как исключительно орексигенного фактора. Это подкрепляется сравнением результатов между режимами FR1 – 1 и FR3 – 3 в группе крыс, получавших антагонист грелина, когда в режиме FR1 – 1 регистрировали на 25 % больше правильных ответов, чем в режиме FR3 – 3, то есть для крыс важным является как само подкрепление, так и его вероятность. Следовательно, для воспроизведения элементов игрового поведения на модели с пищевым подкреплением важны не только вероятностные характеристики, но и сила подкрепляющего агента. Однонаправленные сдвиги содержания ДАГ в гипоталамусе после введения грелина и [D-Lys³]-GHRP-6 не дают ответа на вопрос о характере влияния на силу подкрепления. В то же время ее определяют именно нейроны гипоталамуса. Они быстро вовлекаются в условнорефлекторный ответ: активность нейронов латерального гипоталамуса изменялась через 150 – 200 мс после подачи пищи. Пачкообразная активность нейронов гипоталамуса, возникающая у голодных животных, усиливается при поступлении пищи и исчезает по мере наполнения желудка. Вместе с тем в гипоталамусе имеются нейроны, которые, будучи активированы голодом, тормозятся сразу же с началом еды [4]. В этой связи было показано, что влияние грелина на пищевое поведение определяется существованием 2 функциональных контуров его активности в головном мозге [12]. Первый из них, названный “энергетическим”, действует на уровне гипоталамуса и определяет силу наличной потребности, а второй — “гедонический”, реализует активность экстрагипоталамической системы грелина на лимбико-диенцефальном уровне регуляции (гиппокамп, миндалина). В нашем случае определение силы пищевого подкрепления связано с активностью первого, энергетического контура влияния грелина, а оценка вероятности подкрепления — с активностью второго контура, гедонического. Это согласуется с гипотезой о существовании 2 функциональных систем регуляции активности мозга при фор-

мировании аддиктивного поведения, системы желания “wanting” и системы эмоционального предпочтения “licking” [7]. Эмоциональное предпочтение относится к состоянию, тогда как желание больше связано с мотивацией и принятием решения. В системе желаний и эмоционального предпочтения могут участвовать различные нейромедиаторы [7]. По-видимому, вопрос об оценке силы подкрепления при изучении элементов игровой зависимости в лабиринте может быть решен при изучении энергетического контура и влиянии грелина на нейромедиаторные и нейромодуляторные системы гипоталамуса, в частности, систему орексина, нейропептида Y, меланоцитстимулирующего гормона (меланокортинов), меланинконцентрирующего гормона и других нейропептидов.

ВЫВОДЫ

1. В поведенческих опытах грелин (10 мкг в 20 мкл интраназально) повышает число побегов в рукав с низкой вероятностью, но большей величиной подкрепления, в то время как его антагонист [D-Lys³]-GHRP-6 увеличивает число побегов в рукав с высокой (100 %) вероятностью, но меньшей величиной подкрепления.

2. Концентрация ДАГ, основного компонента пептидной системы грелина, в структурах мозга контрольных крыс варьировала: в миндалине она была в 1,5 раза, а в гипоталамусе — в 3 раза выше, чем в гиппокампе.

3. Грелин при курсовом введении (5 дней) повышал содержание ДАГ в гиппокампе в 1,5 раза и снижал его содержание в гипоталамусе в 2 раза. Антагонист грелина D-Lys³-GHRP-6 значимо (в 3 раза) снижал содержание ДАГ только в гипоталамусе.

4. Полученные данные доказывают участие системы пептидов грелина в игровом поведении в модифицированном IOWA-тесте, влияя в основном на импульсивный компонент игровой зависимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. И. Айрапетов, Э. А. Сексте, С. О. Ереско и др., *Биомед. химия*, **64**(5), 451 – 454 (2018).
2. А. А. Лебедев, Н. Д. Якушина, К. Е. Грамота и др., *Наркология*, **17**(5), 31 – 35 (2018).
3. И. В. Карпова, Е. Р. Бычков, В. В. Марышева и др., *Бюл. экперим. биол. и мед.*, **163**(6), 678 – 681 (2017).
4. П. В. Симонов, *Ж. выш. нервн. деят.*, **47**(2), 320 – 328 (1997).
5. П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, Н. Д. Якушина и др., *Наркология*, **16**(1), 32 – 38 (2017).
6. П. Д. Шабанов, В. И. Морозов, А. А. Лебедев, *Вопр. наркол.*, **7**, 22 – 31 (2017).
7. К. С. Berridge, *Front. Psychol.*, **9**(1647), 56 – 63 (2018).
8. J. E. Grant, V. L. Odlaug, *Compr. Psychiatry*, **75**(5), 1 – 5 (2017).
9. B. De Laat, A. Weerasekera, G. Leurquin-Sterk, et al., *J. Nucl. Med.*, **59**(6), 952 – 959 (2018).
10. J. L. Gomez, C. L. Cunningham, D. A. Finn, *Neuropharmacol.*, **97**(10), 182 – 193 (2015).
11. M. Kojima, H. Hosoda, Y. Date, et al., *Nature*, **402**(6762), 656 – 660 (1999).
12. J. M. Ku, Z. B. Andrews, T. Barsby, et al., *Brain Struct Funct.*, **221**(9), 4615 – 4629 (2016).
13. K. Wallin-Miller, G. Li, D. Kelishani, R. I. Wood, *Neurosci.*, **132**(3), 152 – 160 (2018).
14. J. R. Yates, *Exp. Clin. Psychopharmacol.*, **26**(6), 525 – 540 (2018).
15. Y. Yin, *Int. J. Mol. Sci.*, **15**(3), 4837 – 4855 (2014).

Поступила 14.05.2019

PHARMACOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF PARTICIPATION OF THE GHRELIN PEPTIDE SYSTEM IN BEHAVIORAL MANIFESTATIONS OF GAMBLING IN RATS

A. A. Lebedev, P. P. Khokhlov, N. D. Yakushina, K. E. Gramota, I. Yu. Tissen, E. R. Bychkov, M. I. Airapetov, and P. D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, ul. Akad. Pavlova 12, St. Petersburg, 197376 Russia

We have studied the influence of the activation and blockade of ghrelin receptors on the impulsive component of gambling and on the content of endogenous desacyl-ghrelin (DAG) in limbic structures of the rat brain. The working hypothesis was that ghrelin is involving in the formation of addictive behavior and substance abuse against the background of stress factors or environmental signals. Wistar rats were learned to receive the food reinforcement in three-arm radial maze for 3 weeks. In the first alley, every entrance was reinforced with 1 seed, in the second alley – with 2 seeds, and in the third alley with 3 seeds. Ghrelin and its antagonist [D-Lys³]-GHRP-6 (both 10 µg in 20 µL intranasally) were used as pharmacological agents. After 7-day administration of peptides, the rats were decapitated, and the brain structures (amygdala, hippocampus and hypothalamus) were isolated to determine DAG by means of high-sensitivity immunosorbent assay. Intranasal administration of ghrelin (10 µg in 20 µL) was shown by behavioral investigation to increase the number of entrances into the maze arms with lower probability but greater reinforcement, while the administration of ghrelin receptor antagonist [D-Lys³]-GHRP-6 (10 µg in 20 µL) increased the number of entrances in the arms with high (100%) probability but lower reinforcement. The DAG varied in the brain structures: in the amygdala, it was 1.5-fold, and in the hypothalamus 3-fold higher than in the hippocampus. Ghrelin (7 days) elevated the DAG content in the hippocampus 1.5 times and decreased it in the hypothalamus by half. D-Lys³-GHRP-6 decreased the DAG level only in the hypothalamus (3 times). Therefore, the peptide system of ghrelin participates in gambling behavior by acting preferably on the impulsive component of pathological gambling.

Keywords: ghrelin; desacyl-ghrelin; gambling; hypothalamus; amygdala; hippocampus.