

ШАБАНОВ Петр Дмитриевич

**ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ
ПРИ РАБОТЕ С
НЕЙРОПЕПТИДАМИ**

**ФГБНУ «Институт экспериментальной
медицины», Санкт-Петербург, Россия**

**...слова обманчивы.
Превращаясь в термины,
они приобретают новый смысл»**

**Л.Н. Гумилев
«Древняя Русь и великая степь», М.: АСТ, 2012. С.71**





Джордж Унгар (1936-2005)



Дэвид де Вид (1925-2004)



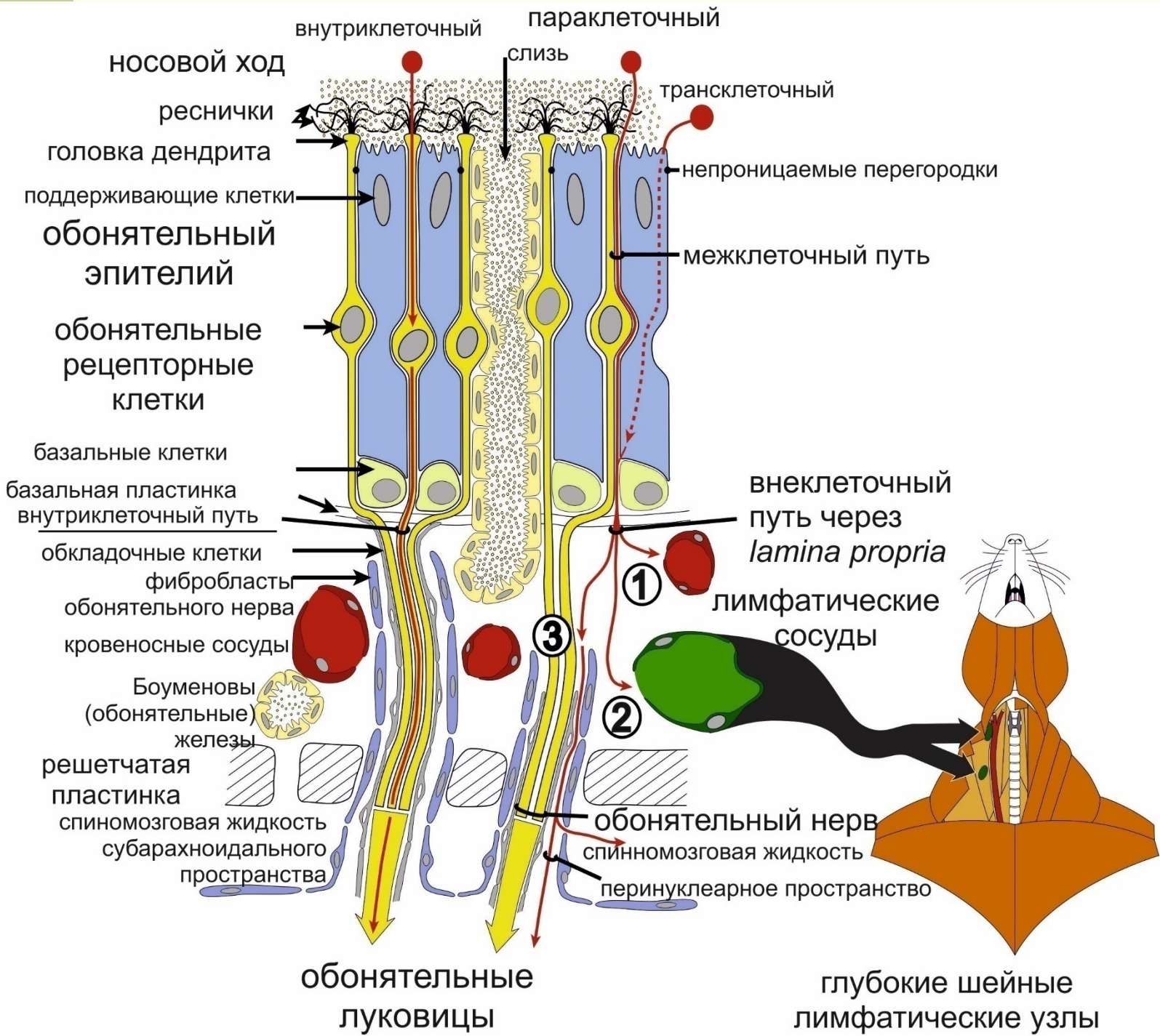
И.П. Ашмарин (1925-2007)

Пептиды, включенные в работу

- DSIP (delta sleep inducing peptide) и аналоги;
- Вазопрессин и аналоги, окситоцин;
- Пептиды из церебролизина и кортексина;
- Кортаген, олеил-кортаген;
- Ноопепт, дилепт;
- Гормоны гипофиза: СТГ, АКТГ, ТТГ, ФСГ, ЛГ;
- Кортиколиберин (CRF), меланостатин, алапид, меланокортины, нейропептид Y; глюкагоноподобный пептид;
- Субстанция P и аналоги ([D-Lys3]-GHRP-6 и другие);
- Грелины: ацелированный, дезацилгрелин, обестатин;
- Орексины A и B;
- Кисспептины и аналоги;
- Генноинженерные пептиды Анторекс, Агрелакс.

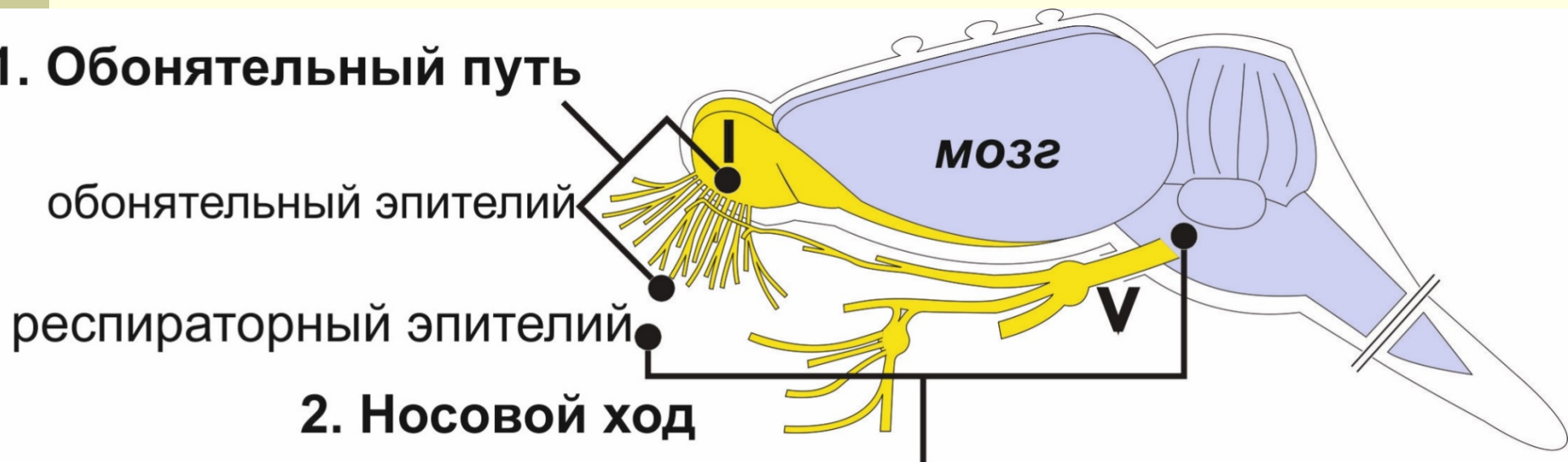
Проблемы при работе с пептидами

- Выбор или уточнение направленности действия:
 - по прецеденту,
 - по аналогии,
 - по сходству с другими НП;
- Выбор главного направления работы с НП;
- Выяснение проницаемости через ГЭБ;
- Уточнение работающих доз;
- Уточнение путей введения, характеристика их эффективности;
- Выбор препаратов сравнения;
- Фармакокинетика НП.



Интраназальный способ введения пептидных препаратов

1. Обонятельный путь



обонятельный эпителий

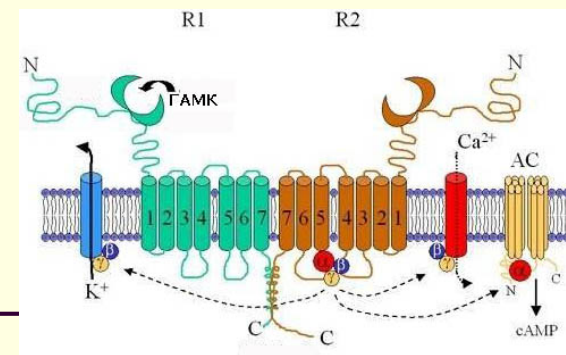
респираторный эпителий

2. Носовой ход

3. Путь тройничного нерва

по Lochhead J. et al., 2012

Мишени действия пептидов

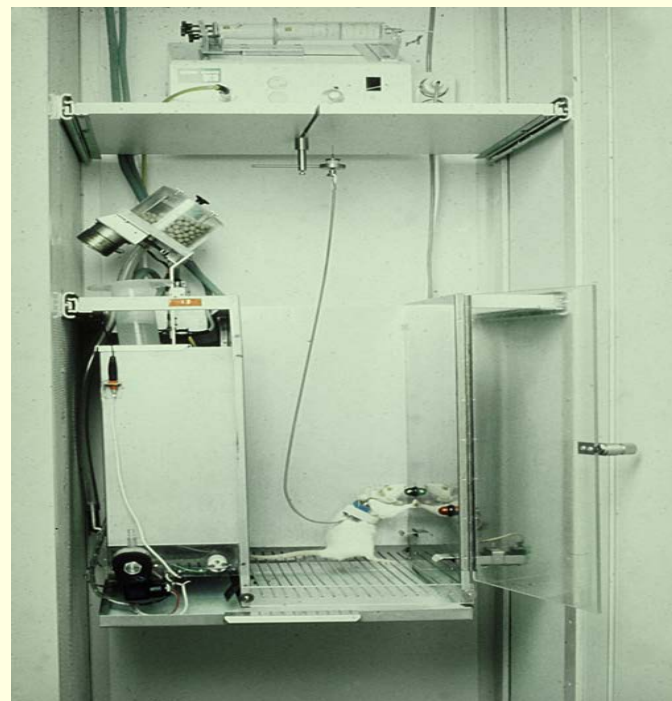
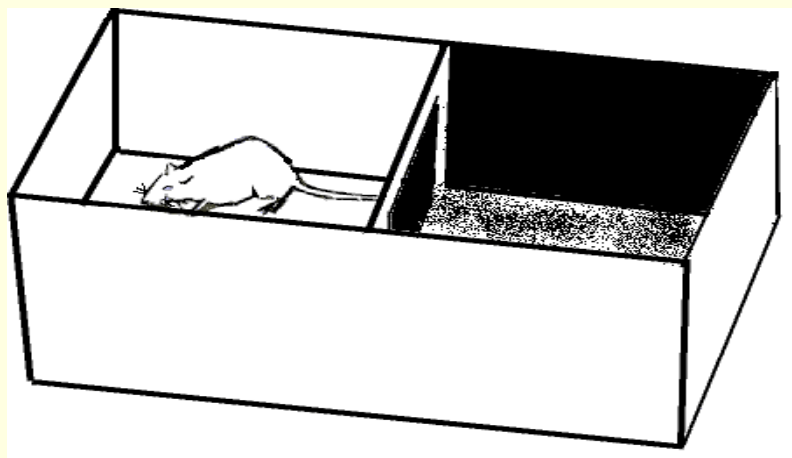
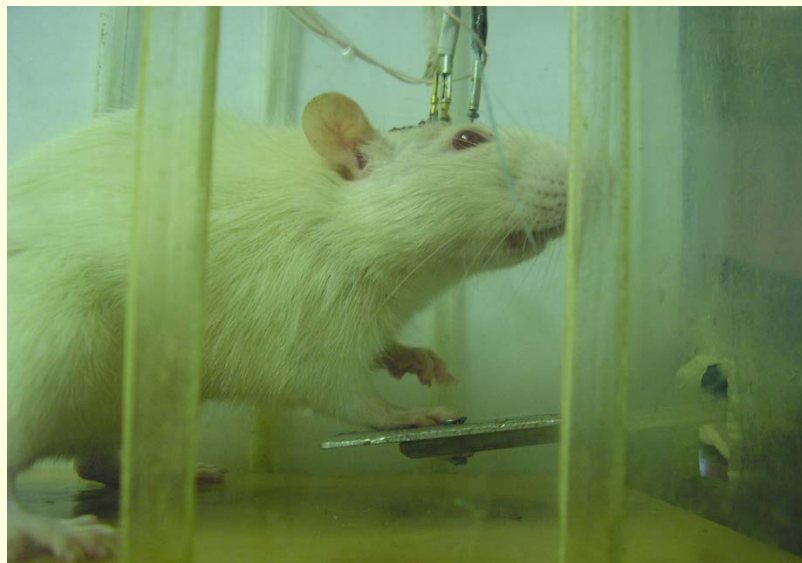


- Длинные пептиды, например, инсулиноподобные, действуют посредством механизма интернализации;
- Короткие пептиды, естественные (тиреолиберин, вазопрессин, окситоцин) или искусственные (ноопепт, дилепт) проникают через ГЭБ и могут связываться со специфическими рецепторами в головном мозге (концепция gut/brain пептидов);
- Опиоидные пептиды (энкефалины) взаимодействуют со специфическими пресинаптическими MOR, KOR, DOR рецепторами, локализованными на моноаминергических терминалях;
- Грелин и орексин взаимодействуют со специфическими (GHR1, OXR1) и неспецифическими (CRFR1, NPY) рецепторами;
- Некоторые пептиды способны формировать димерные или тетрамерные рецепторные комплексы, изменяющие конечный эффект.

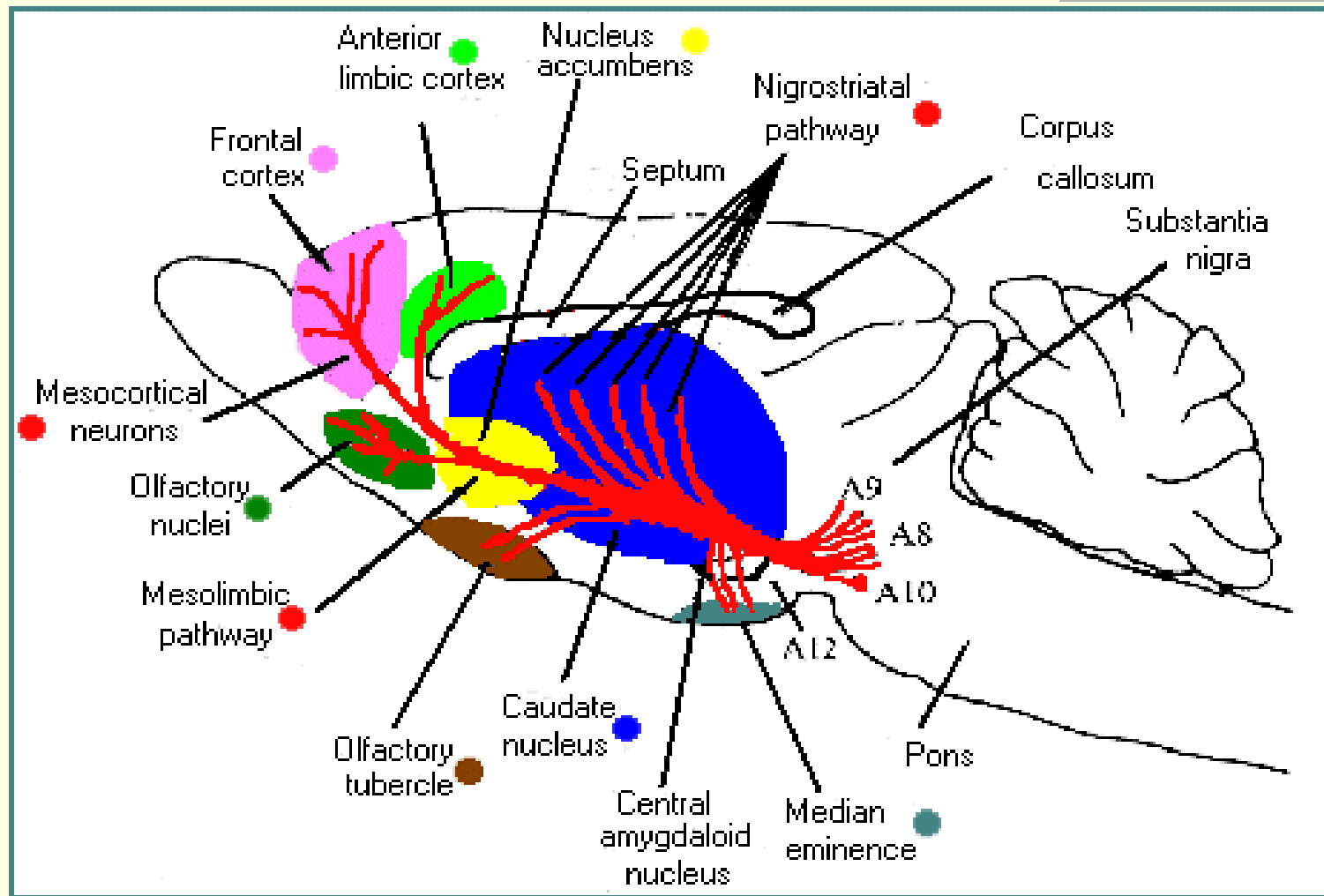
Подкрепление и зависимость: основные понятия

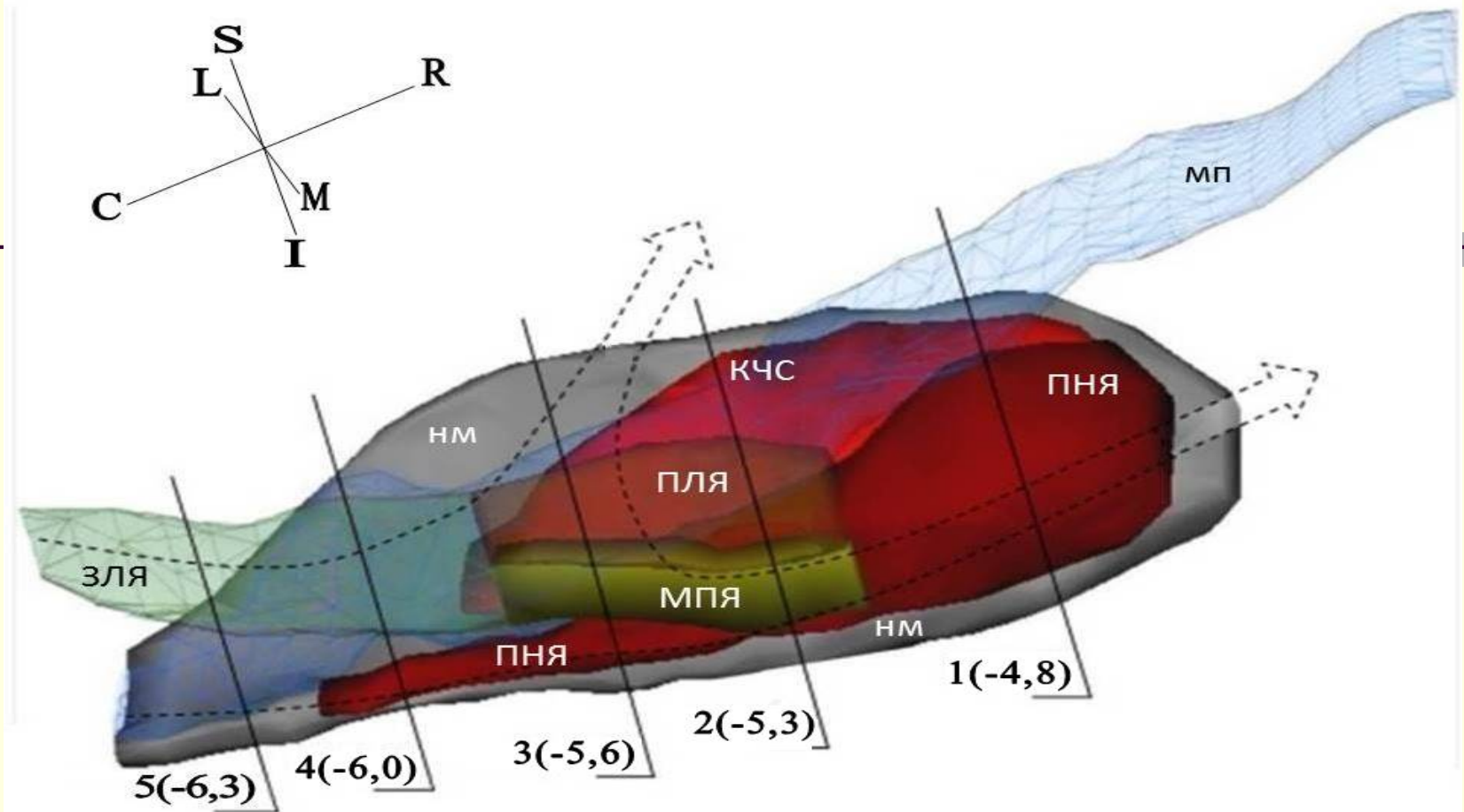
- Подкрепление – это феномен, описывающий, как и посредством каких механизмов индифферентный раздражитель становится значимым стимулом.
- Какие нейрохимические механизмы, в том числе гормональные и пептидные, лежат в основе подкрепления?
- Каков вклад подкрепления в развитие зависимости?
- Как управлять этими механизмами с помощью фармакологических средств?

Поведенческие тесты для изучения подкрепления



Дофаминергическая мезокортиколимбическая и nigростриатная системы головного мозга крысы





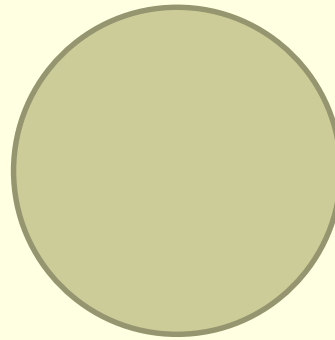
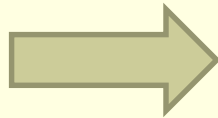
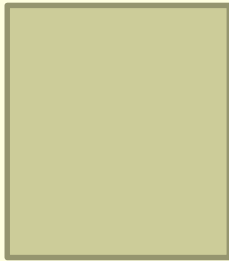
Дофаминергические ядра вентро-медиальной покрывки среднего мозга: ПНЯ – паранигральное ядро, ПЛЯ – переднее линейное ядро, ЗЛЯ – заднее линейное ядро, МПЯ – межпучковое ядро. **Дофаминергические ядра вентро-латеральной покрывки:** КЧС – компактная часть черной субстанции, СЧС – сетчатая часть черной субстанции. **Белое вещество:** нм – ножка мозга, мп – медиальная петля. **Направления осей:** С-Р – каудо-ростральное, М-Л – медио-латеральное, S-I – верхне-нижнее. Пунктиром обозначен ствол медиального пучка переднего мозга (вентральный: к цингулярной коре и прилежащему ядру, дорсальный: к полосатому телу).

Преимущество действия стресс-зависимых пептидов на систему подкрепления

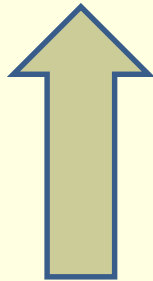
Система расширенной миндалины

Мезокортиколимбическая система

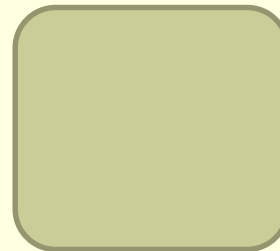
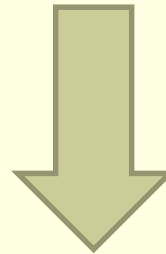
Внешняя среда



Традиционная мишень действия моноаминов, опиоидов и многих других пептидов



Действие на исполнительную систему

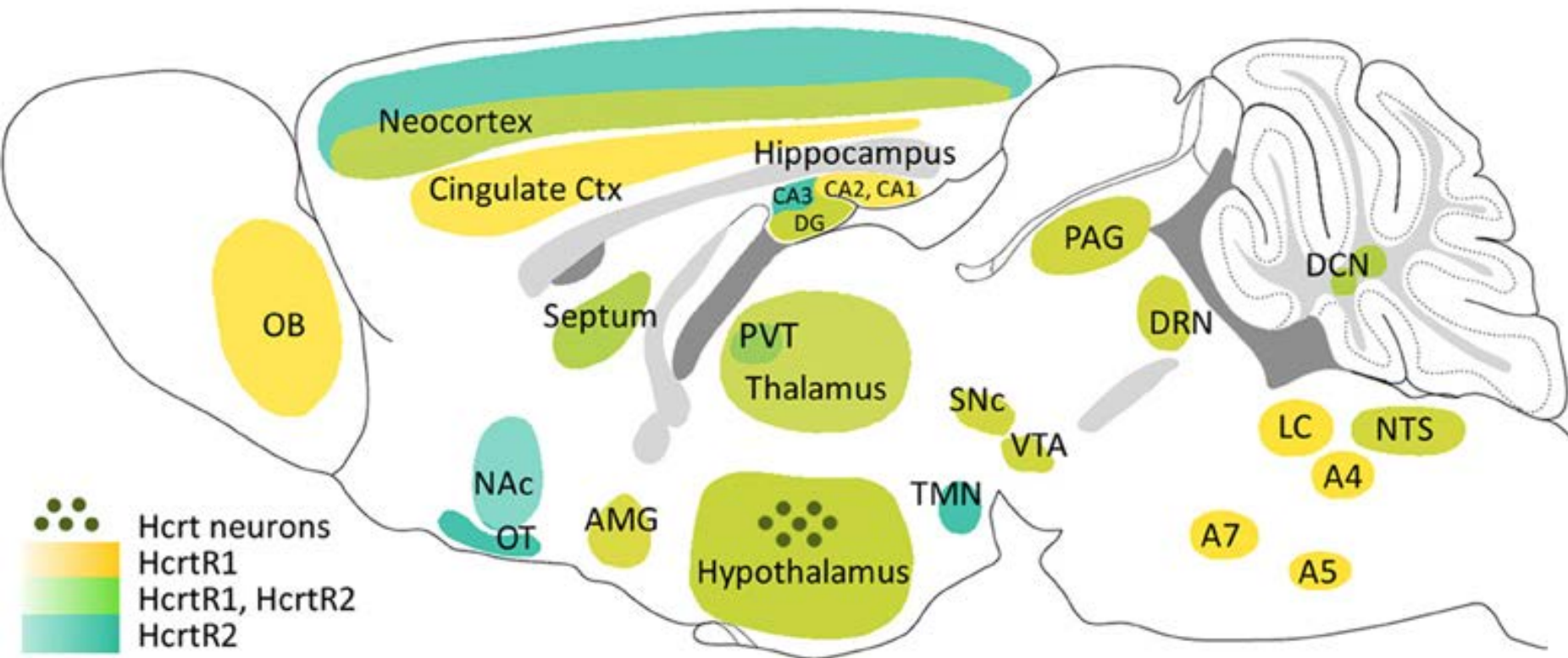


Двигательный акт

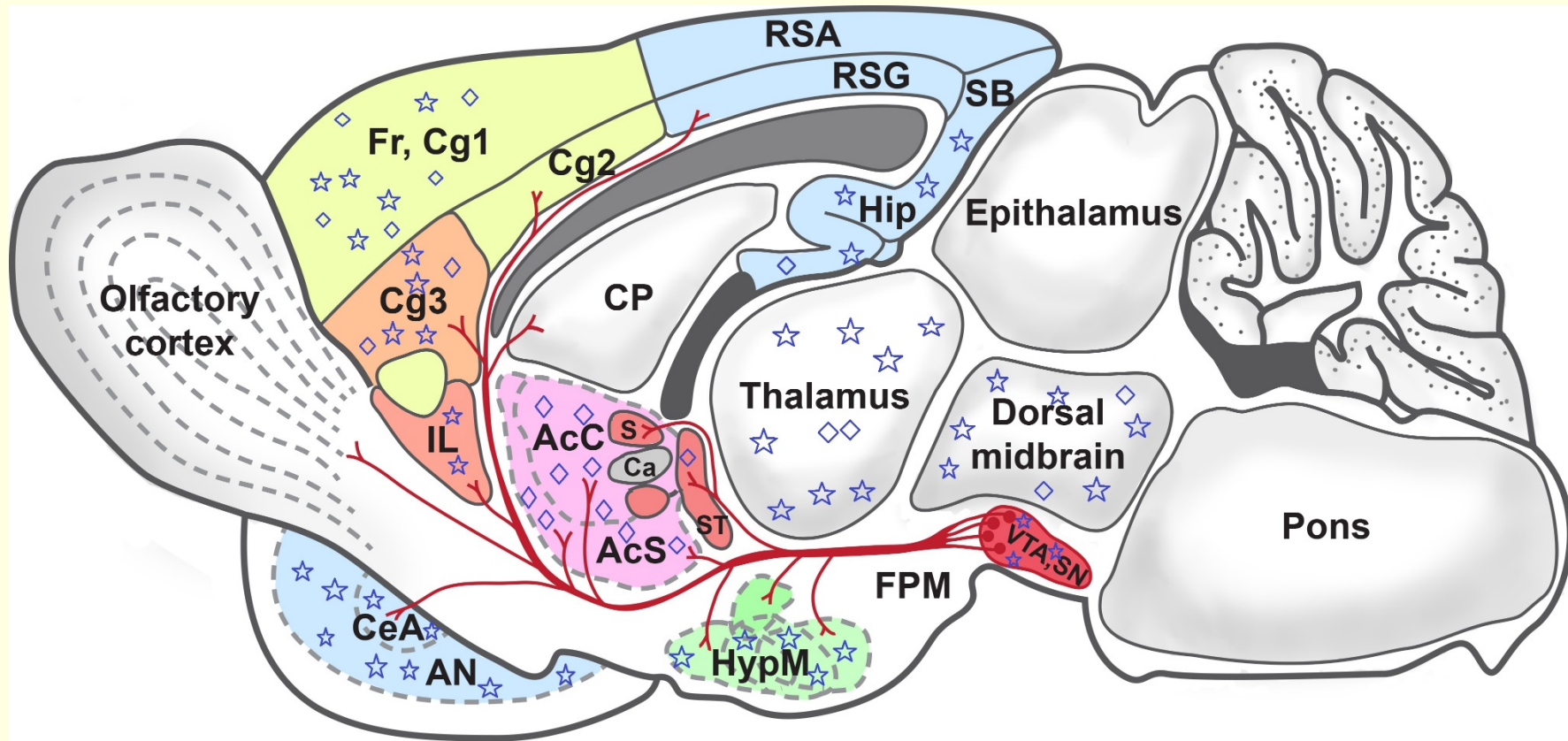
Исследуемые пептиды (CRF, грелин, орексин) начинают осуществлять регуляцию еще до включения специфических нейрхимических систем мозга

Исследование системы орексина в головном мозге и крови крыс

Распределение орексина в головном мозге крысы

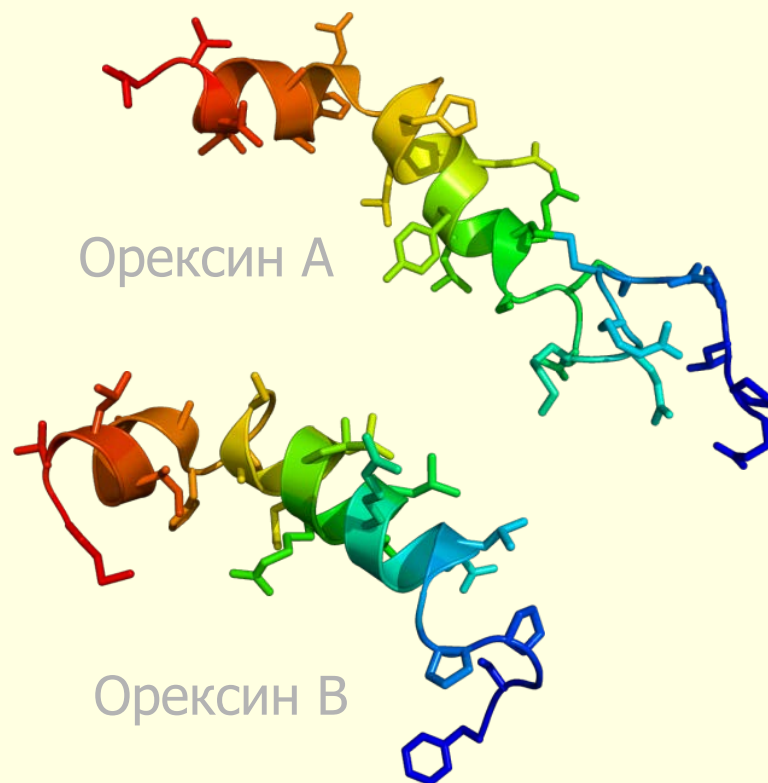


Колокализация дофаминергических терминалей и орексиновых OхR1 (звездочки) и OхR2 (ромбы) рецепторов в эмоциогенных структурах мозга

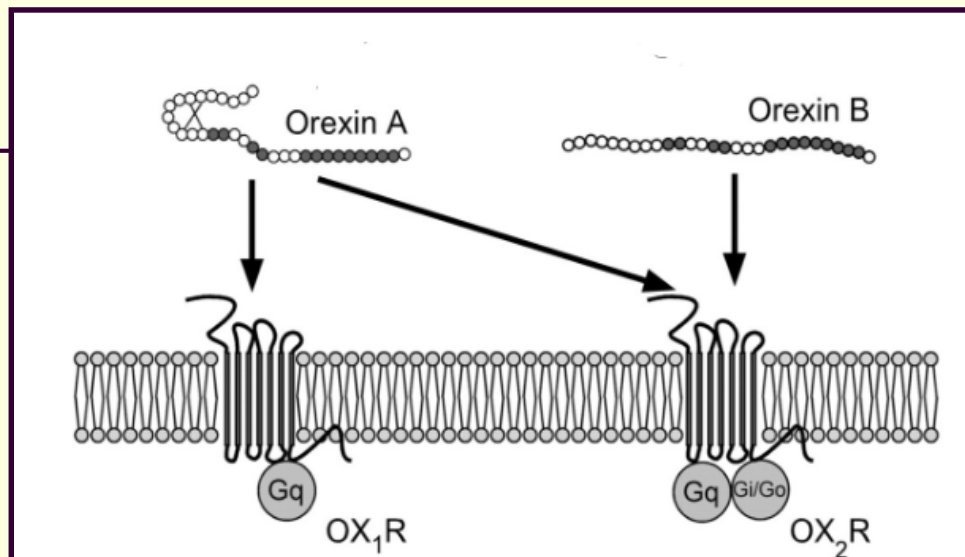
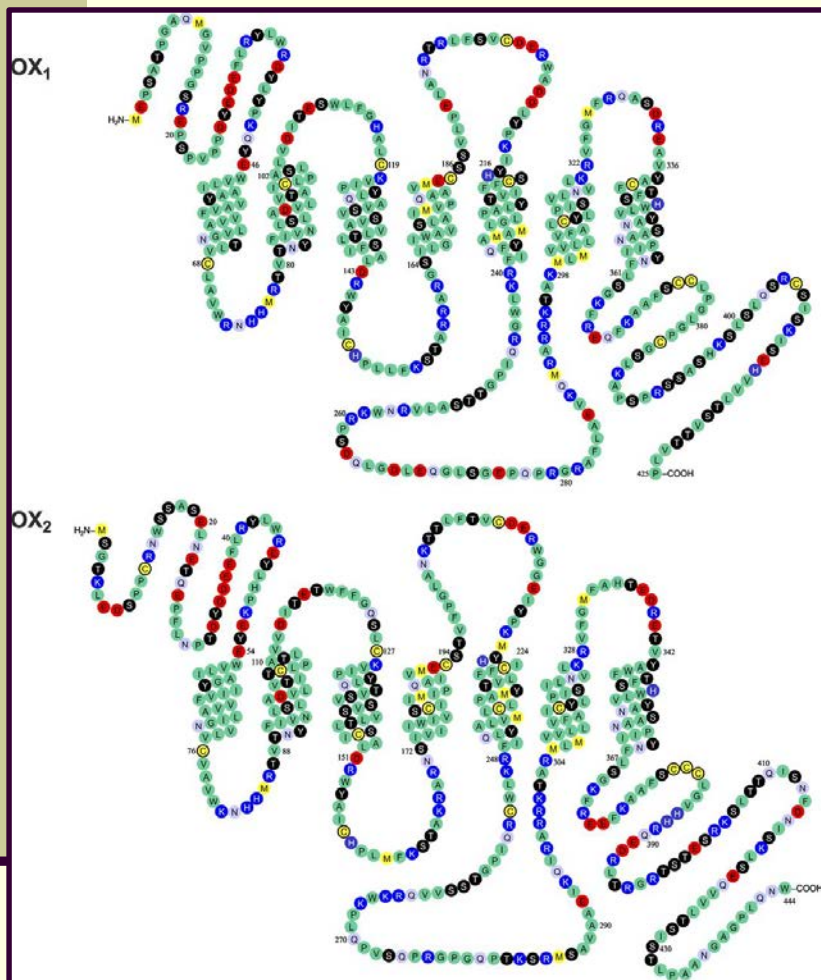


Система орексина в экспериментальных моделях аддикции и стресса

Орексин А и орексин В – пептиды, выделяемые небольшой популяцией клеток латерального гипоталамуса вовлечённые в процессы регуляции цикла сон-бодрствование, потребления пищи и энергетического обмена, поведения, сопряженное с системой подкрепления и реакции на стресс.



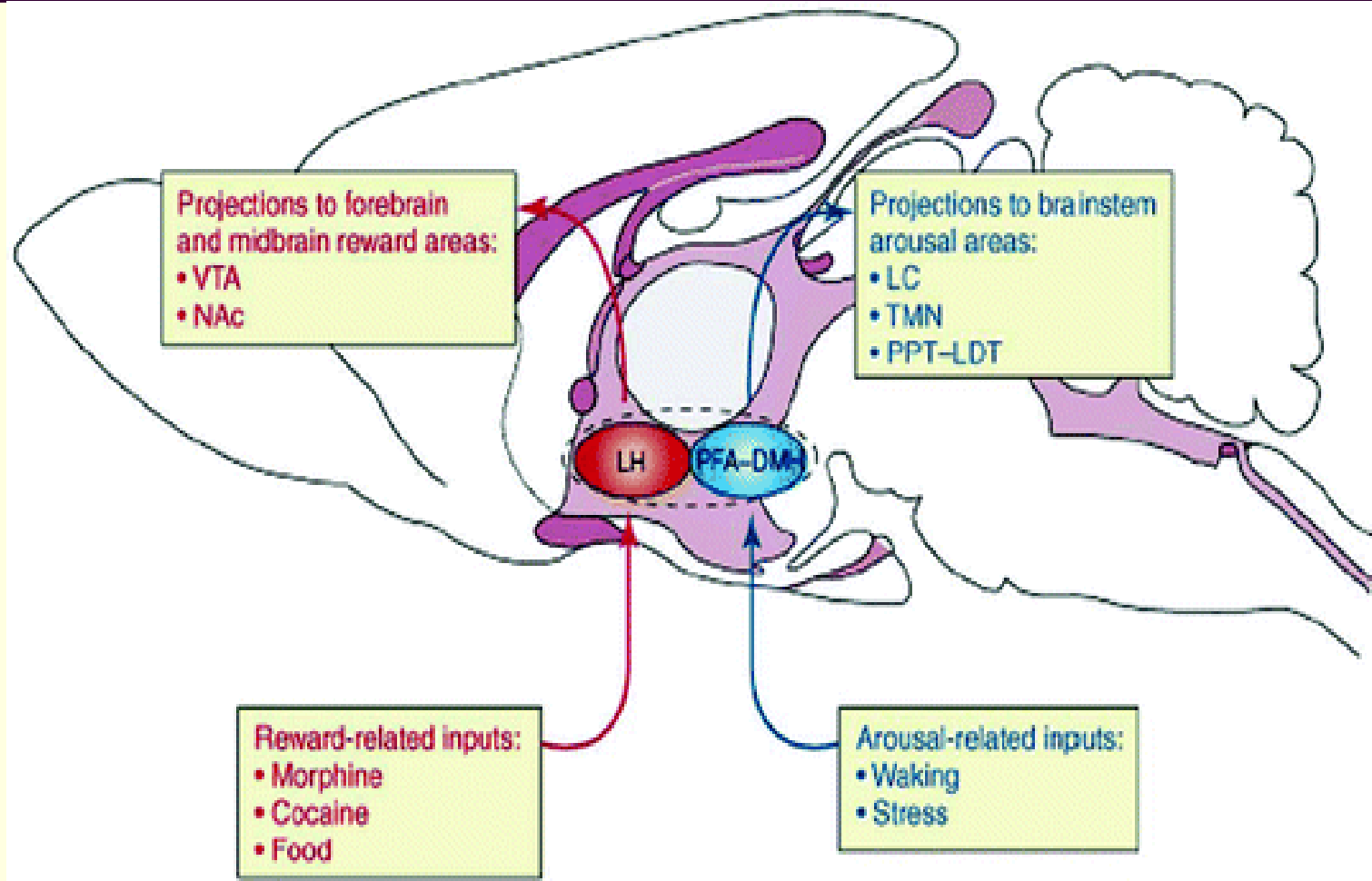
Рецепторы орексина



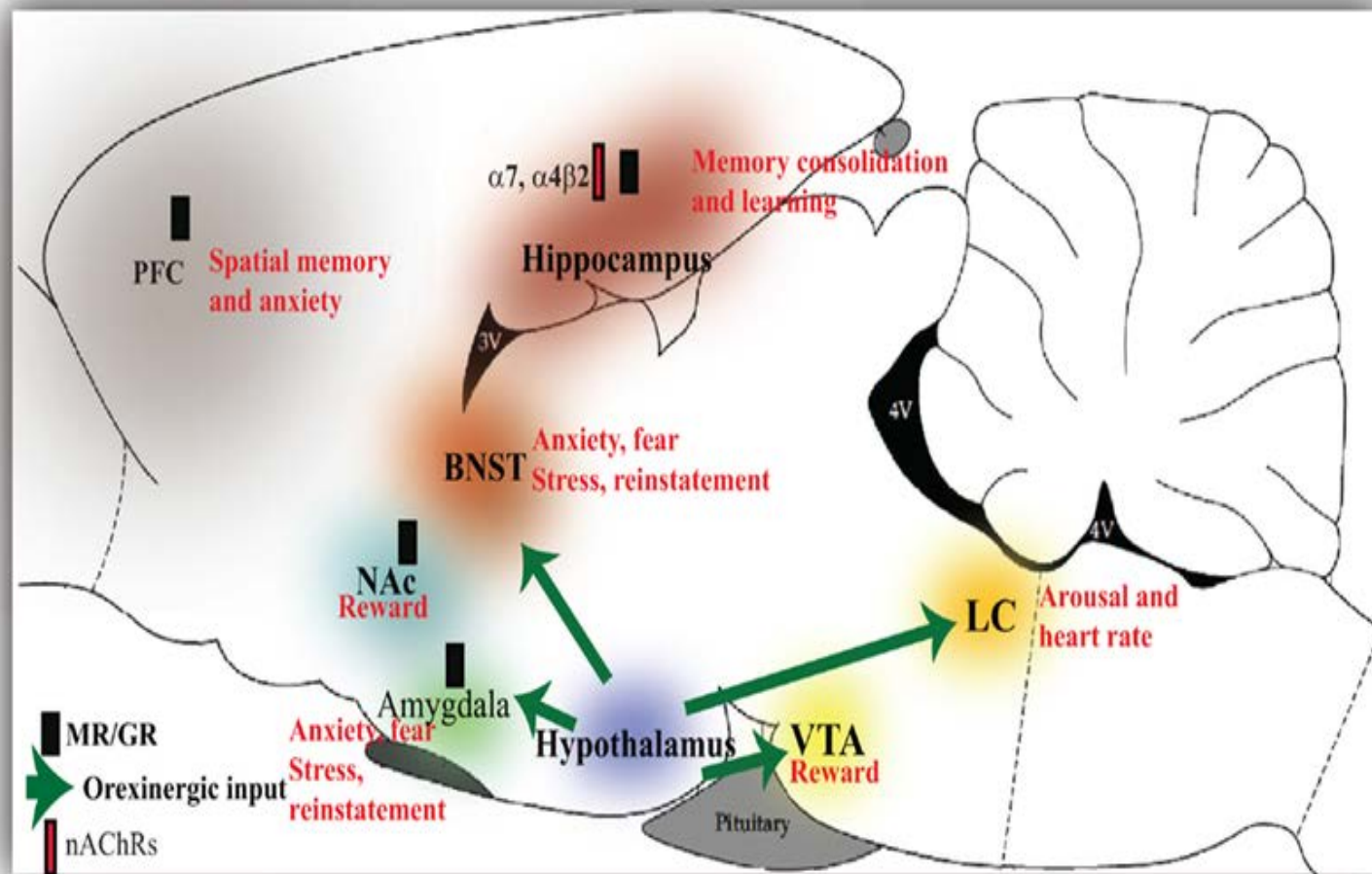
Реализация действия орексинов в клетке происходит посредством активации специфических пре-синаптических орексиновых рецепторов OX₁R и OX₂R.

OX₁R имеет гораздо большую аффинность к орексину А, чем к орексину В, в то время, как OX₂R имеет примерно равную аффинность для обоих типов орексинов.

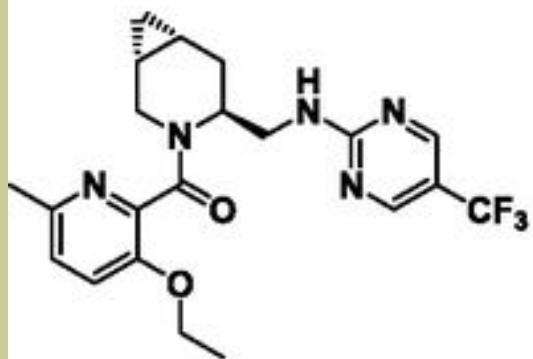
Две области синтеза орексина в гипоталамусе: латеральный гипоталамус и перифорникальная зона



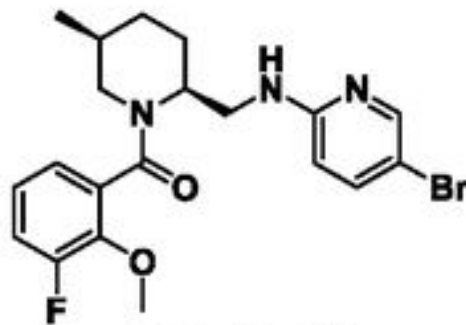
Эфферентные связи нейронов, содержащих орексин



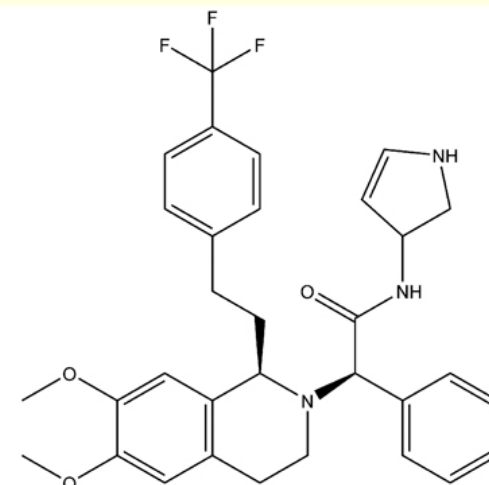
Антагонисты рецепторов орексина



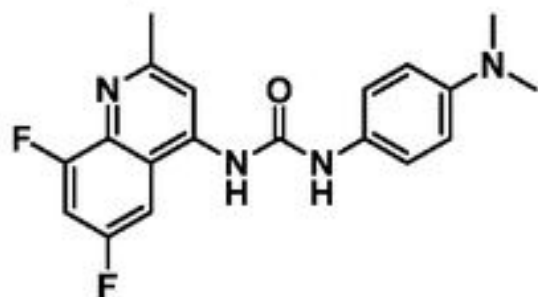
Compound 56



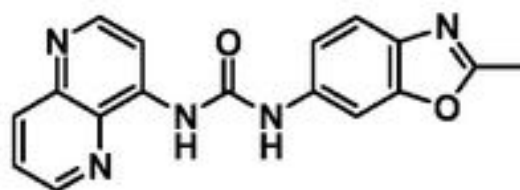
GSK-1059865



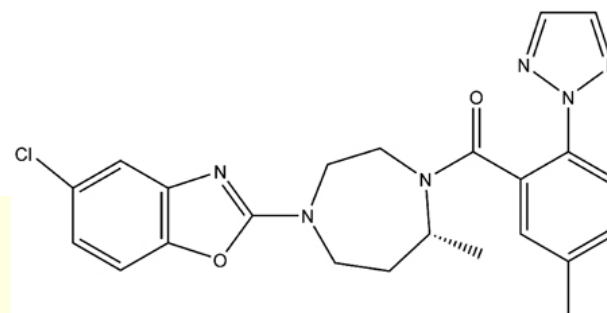
almorexant



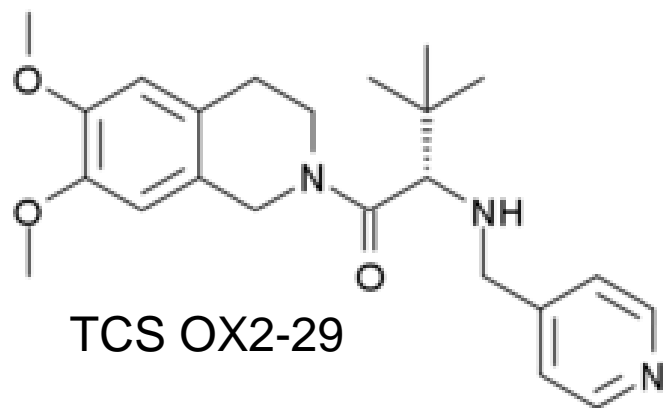
SB-408124



SB-334867

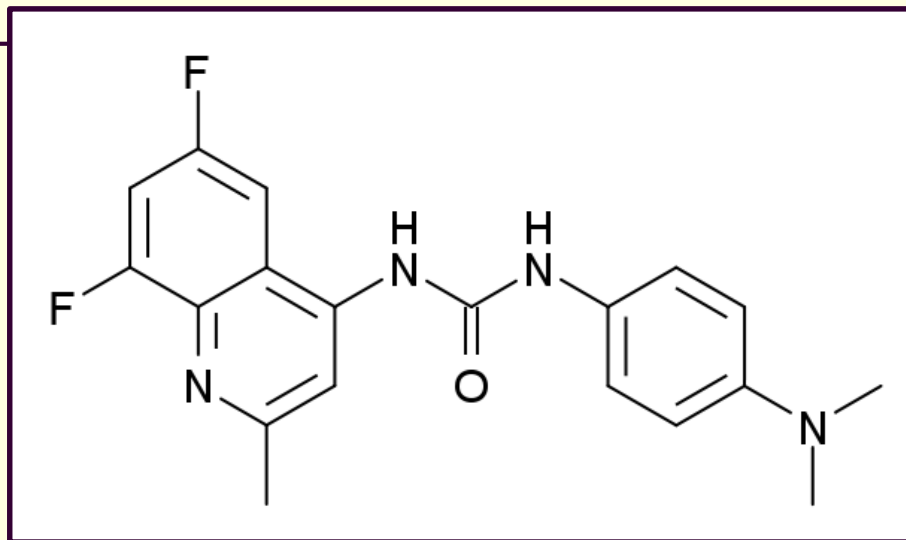


suvorexant



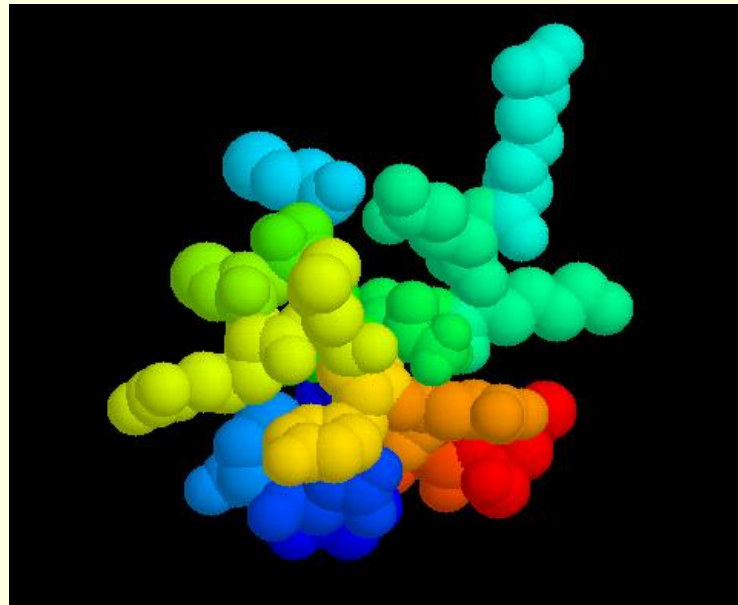
TCS OX2-29

Исследованный препарат



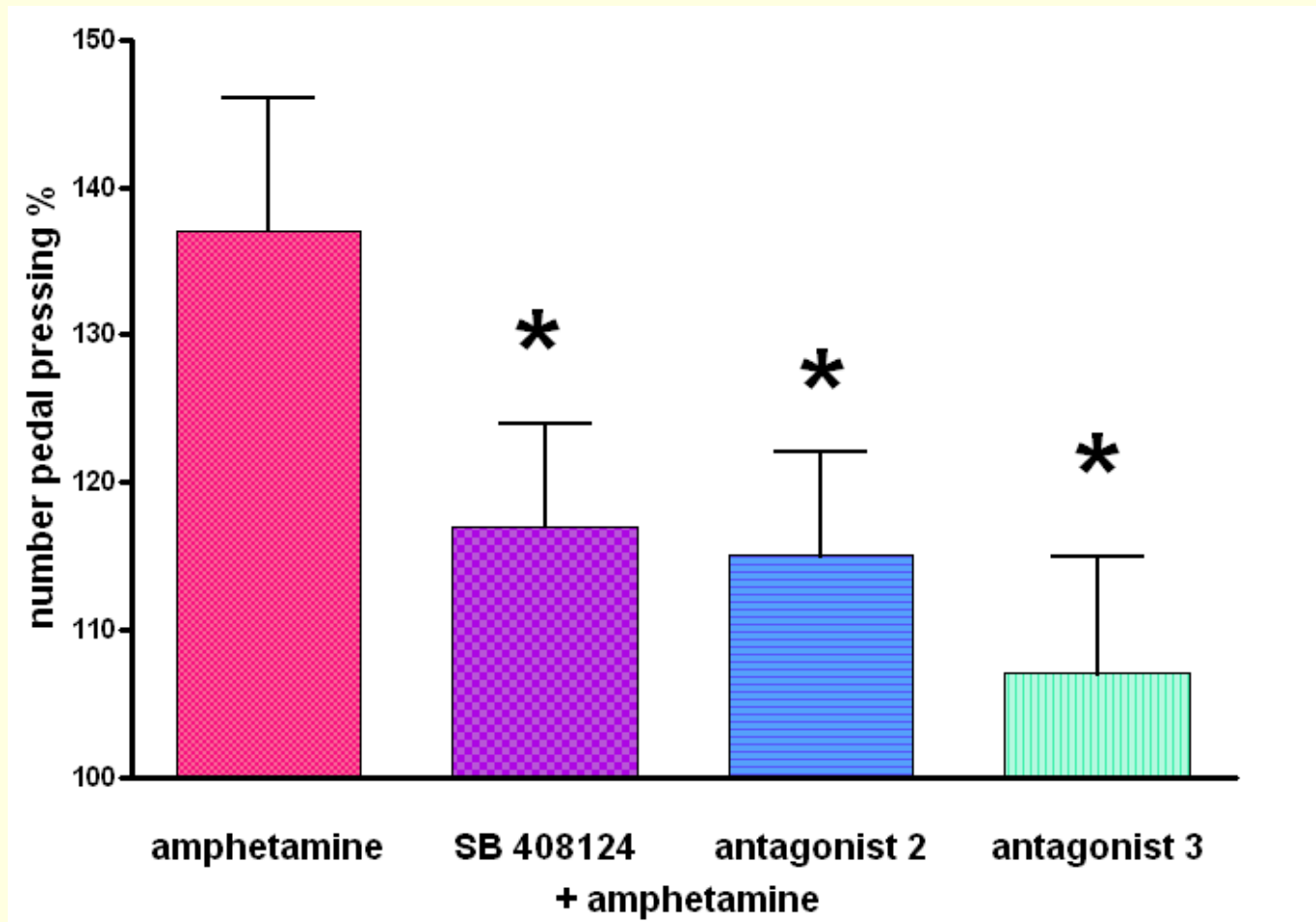
SB-408124 (N-(6,8-дифтор-2-метил-4-хинолинил)-N'-[4-(диметиламино)фенил]мочевина) — селективный антагонист орексиновых рецепторов 1 типа непептидной структуры, отличающийся высокой биодоступностью при различных путях введения.

Структура анторекса, антагониста орексина А, полученная методом молекулярного дизайна

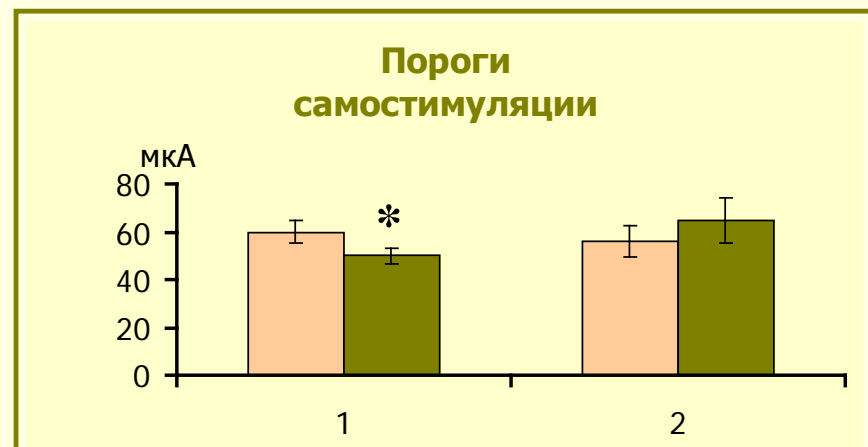


Methods of docking (DockSearch) and program service GROMACS and HyperChem to assess the affinity of the structure to orexin A receptors (OX1R)

Антагонисты орексина (i.c.v.) уменьшают вызванную амфетамином самостимуляцию мозга у крыс



Действие фенамина и антагониста OX1R SB-408124, введенного в центральное ядро миндалины, на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс



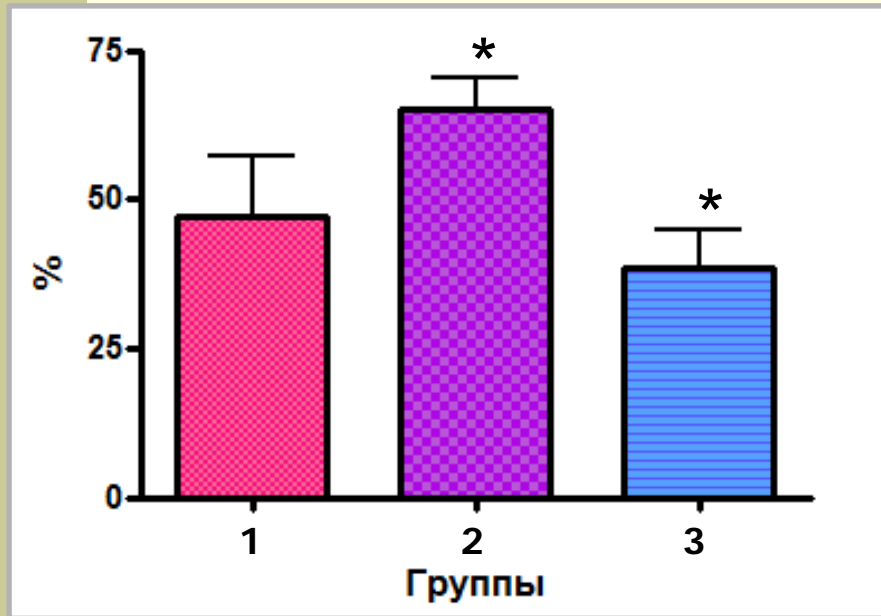
По оси абсцисс: вещества и доза введения. – до; – после.

1 – фенамин (1мг/кг внутривбрюшинно);

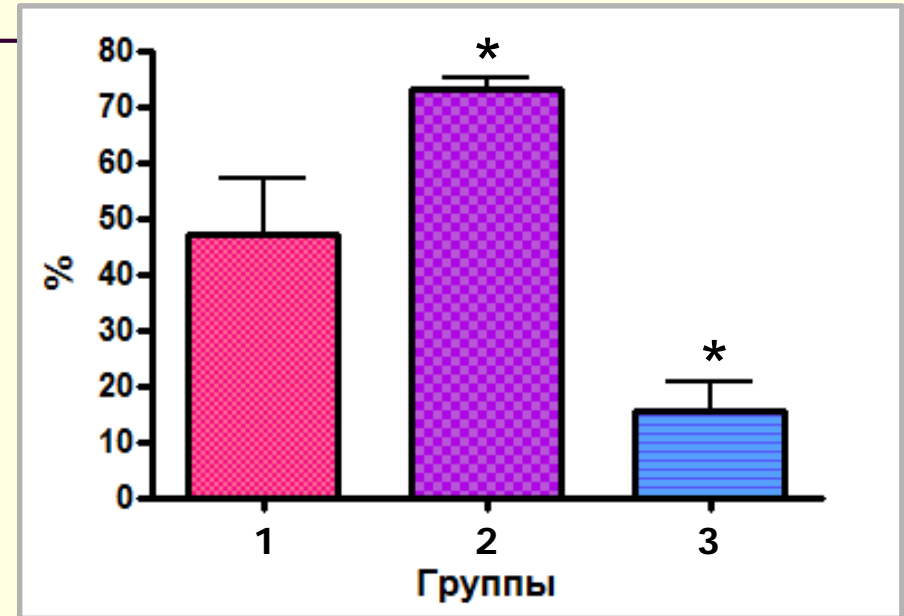
2 – SB-408124 (1 мкг в центральное ядро миндалины) + фенамин (1мг/кг внутривбрюшинно);

* - $p \leq 0,05$.

Влияние SB-408124 на экспрессию и возобновление условной реакции предпочтения места этанола у хронически алкоголизованных крыс



Экспрессия УРПМ



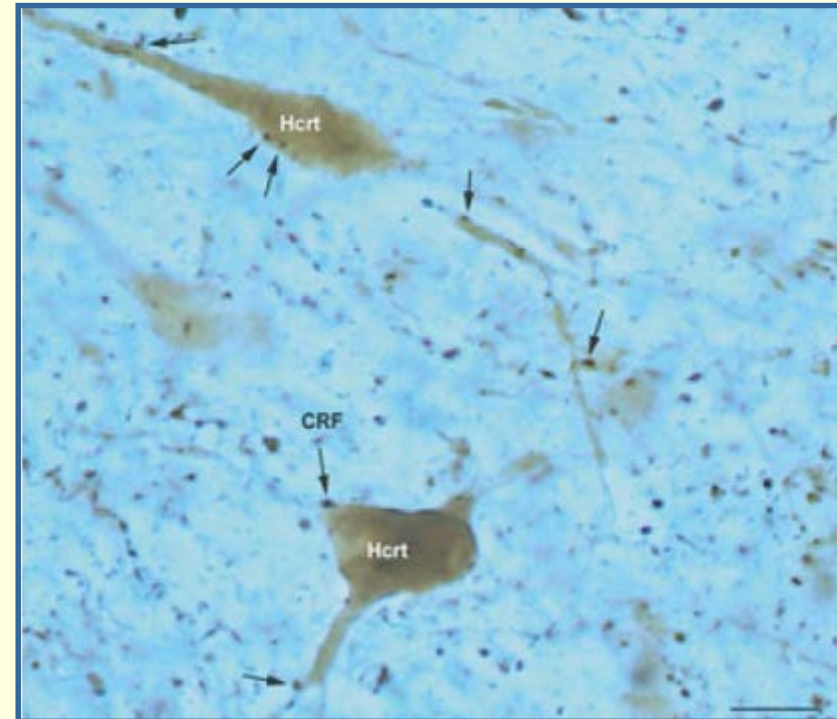
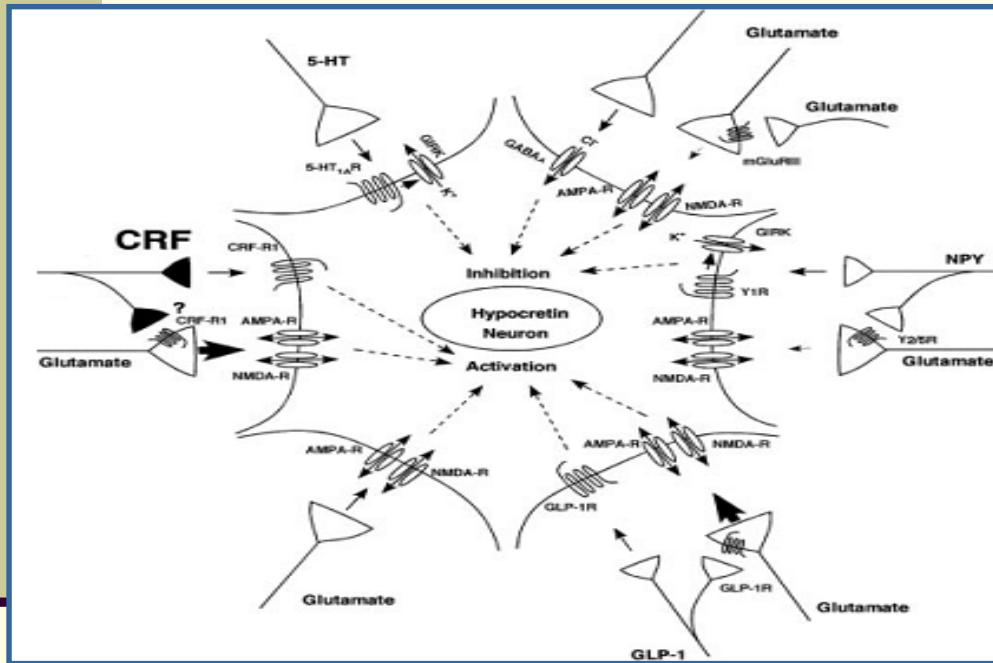
Возобновление УРПМ

Время, проведенное в камере, ассоциированной с введением этанола;

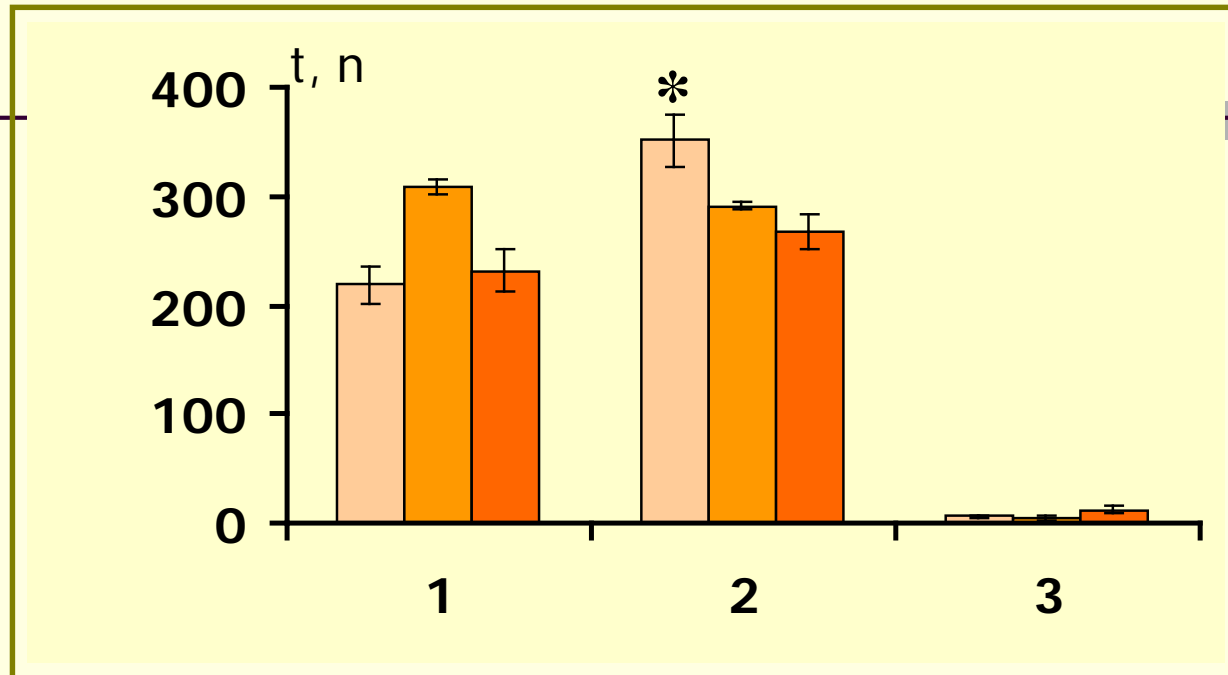
* - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы.

1. Контрольная группа
2. Этанол + NaCl
3. Этанол + SB-408124

CRF осуществляет возбуждающее действие на нейроны, продуцирующие орексин



Действие астрессина на выработку условного предпочтения места орексина



— орексин (10 мкг/мкл, в/ж);

— астрессин (1 мкг/мкл, в/ж);

— астрессин (1 мкг/мкл, в/ж) + орексин (10 мкг/мкл, в/ж).

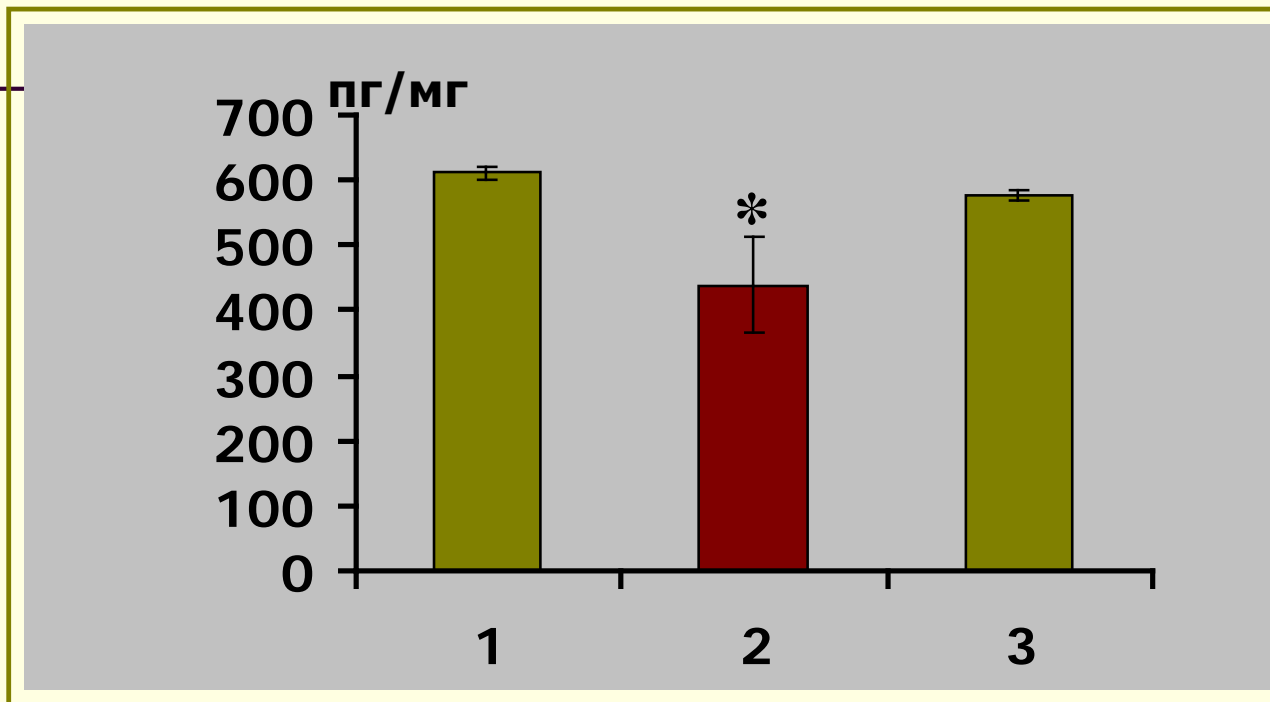
1 – время в отсеке без введения препаратов (с);

2 – время в отсеке с введением препаратов (с);

3 – число переходов из отсека в отсек.

* - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы.

Роль орексина в регуляции содержания CRF в миндалине после витального стресса



По оси ординат: содержание вещества в пг/мг белка;

По оси абсцисс:

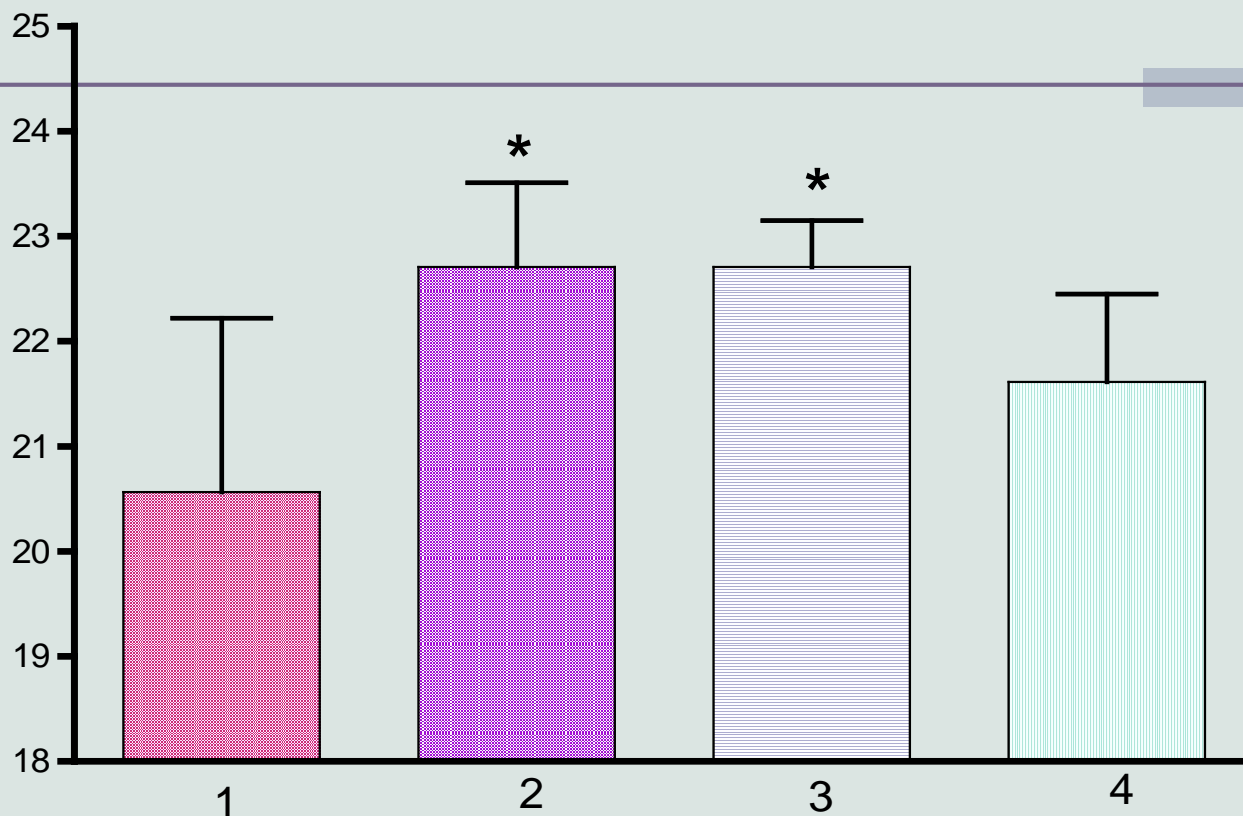
1 – контрольная группа;

2 – после витального стресса;

3 – после витального стресса и интраназального введения SB408124.

* – $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы.

Концентрации орексина А в сыворотке крови крыс после хронической алкоголизации (6 мес)



1 - control group

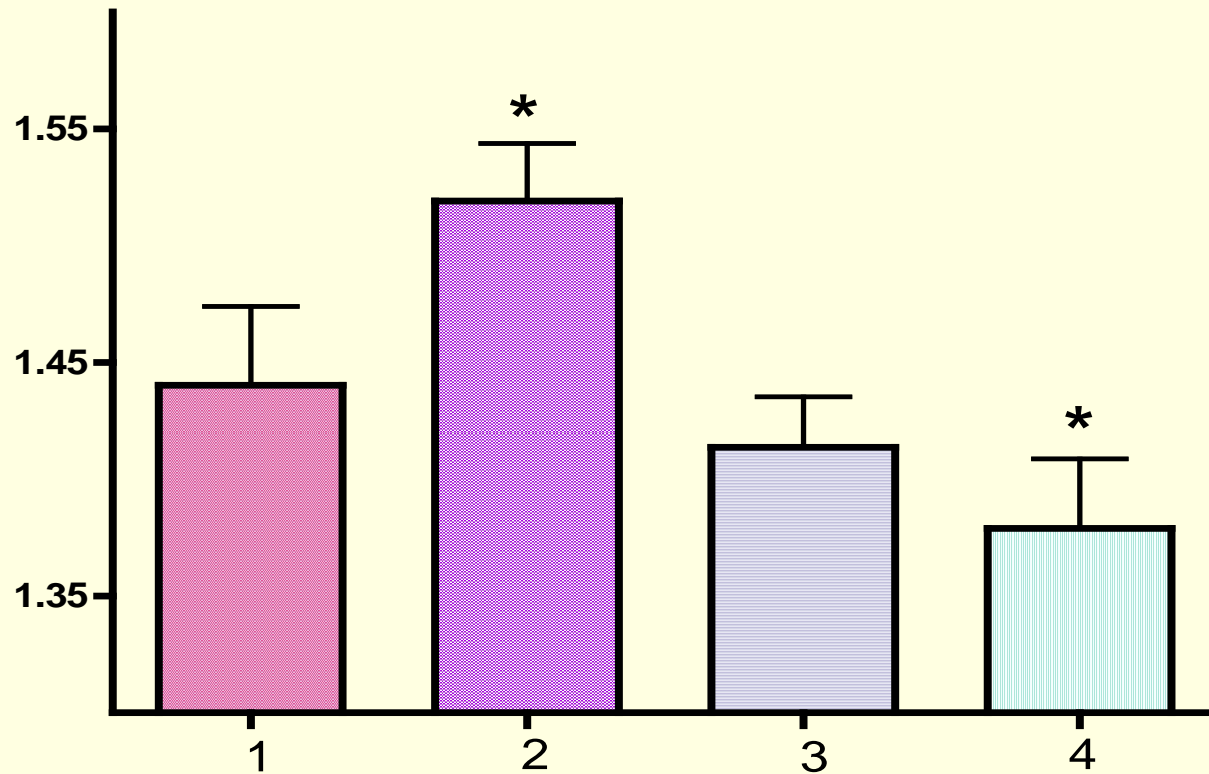
2 - chronic alcoholisation during 6 months

3 - one day (clockaround) of alcohol withdwawal

4 - seven days of alcohol withdrawal

Y axis - orexin A concentration (ng/ml)

Концентрации кортиколиберина (CRF) в сыворотке крови крыс после хронической алкоголизации



1 - control group

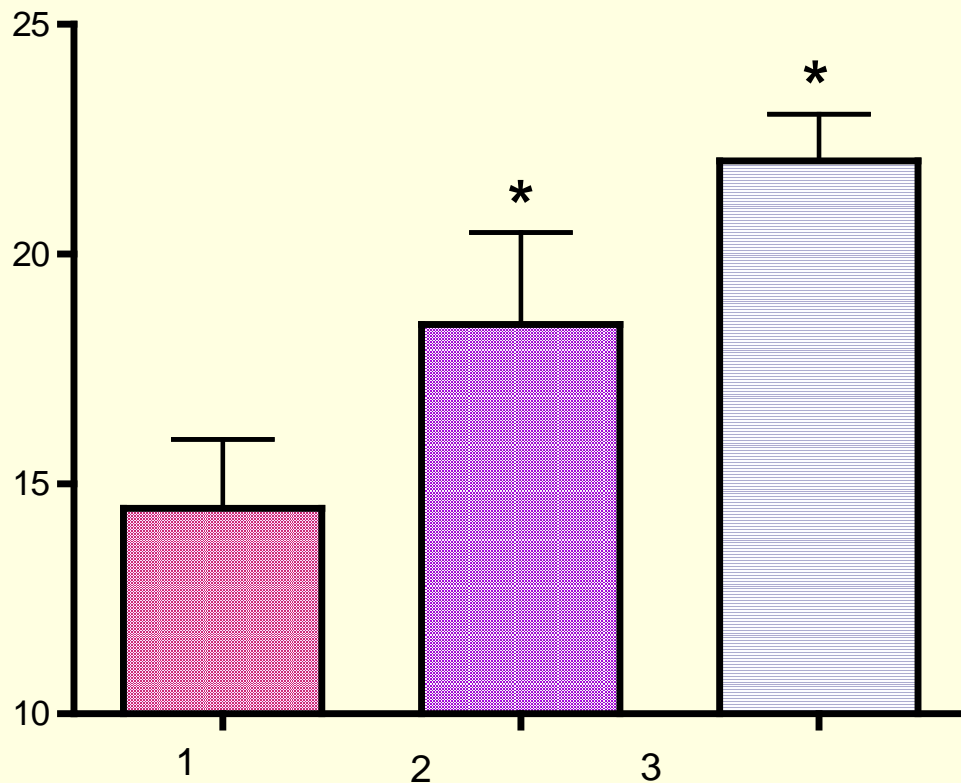
2 - chronic alcoholization during 6 months

3 - 1 day (clock around) of alcohol withdrawal

4 - 7 days of alcohol withdrawal

Y axis - CRF concentration (ng/ml)

Концентрации орексина А в сыворотке крови 17-дневных крысят, рожденных от алкоголизованных матерей во время беременности



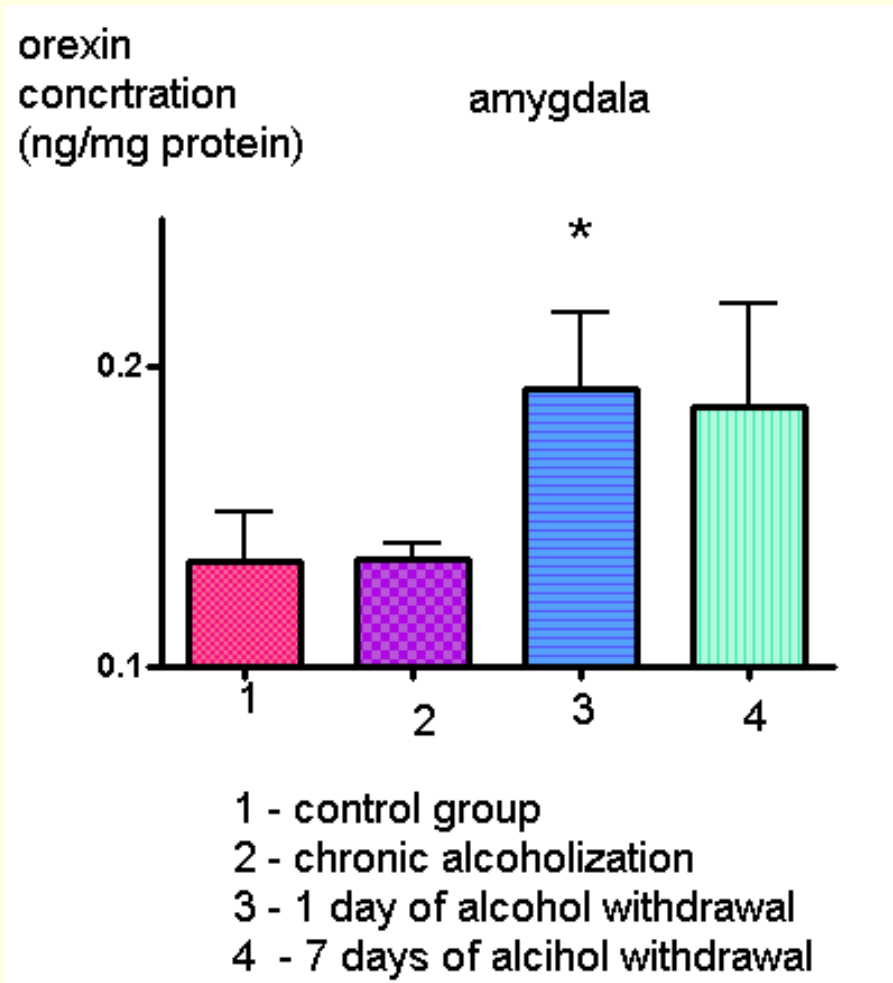
1 - control group

2 - alcoholization of females during pregnancy

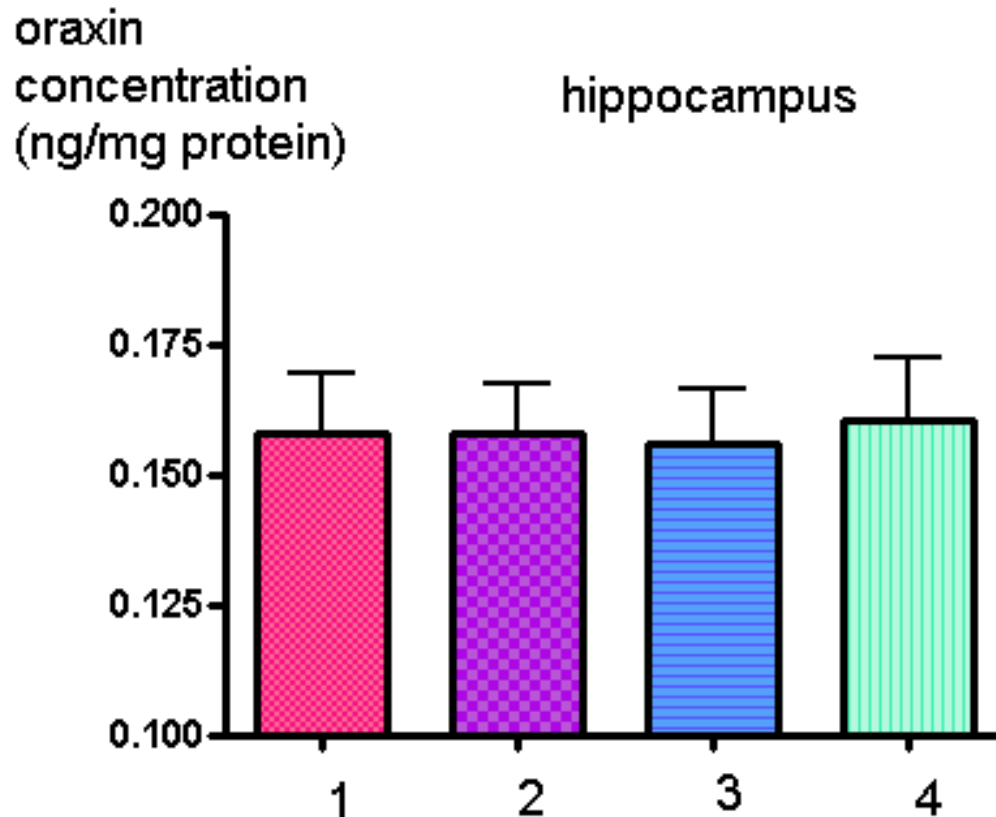
3 - alcoholization of females during pregnancy and lactation

Y axis - orexin A concentration (ng/ml)

Содержание орексина А в амигдале хронически алкоголизированных крыс



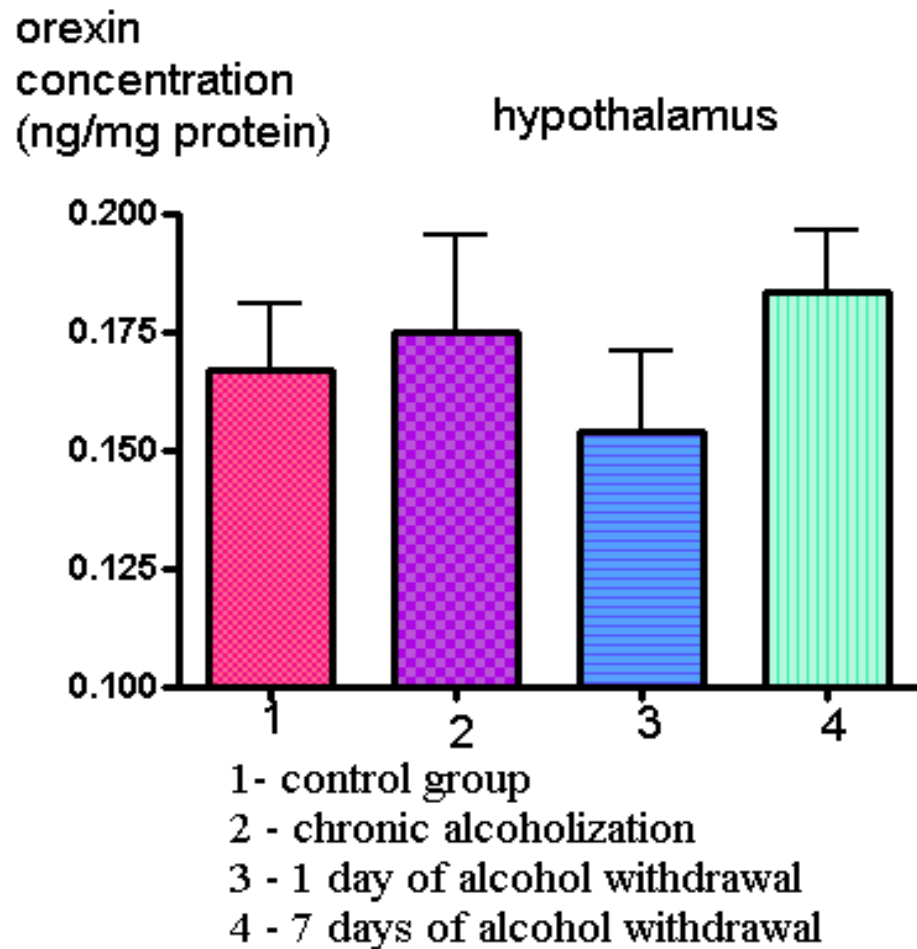
Содержание орексина А в гиппокампе хронически алкоголизованных крыс



- 1 - control group
- 2 - chronic alcoholization
- 3 - 1 day of alcohol withdrawal
- 4 - 7 days of alcohol withdrawal

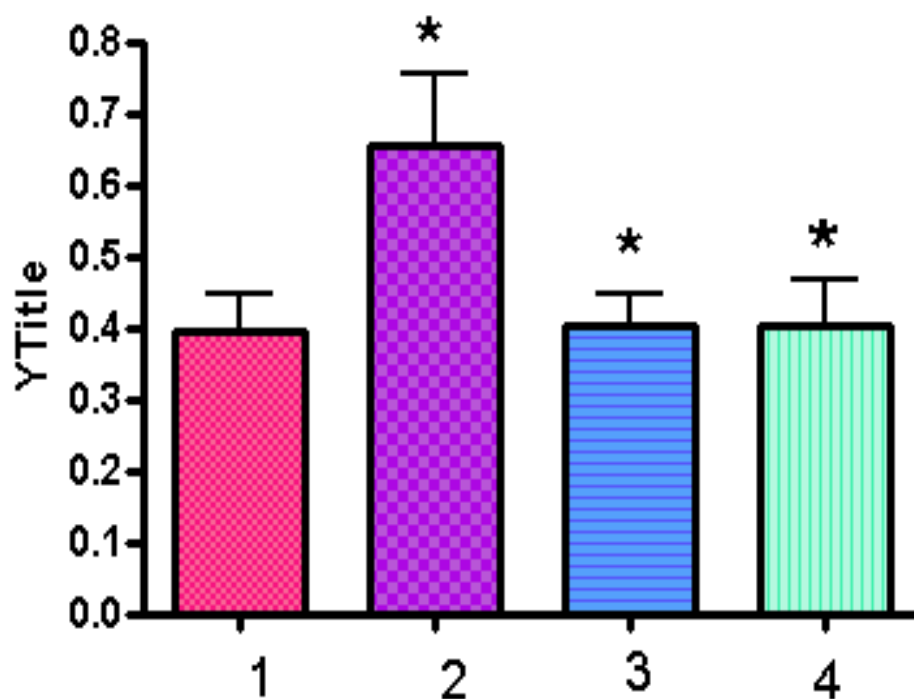


Содержание орексина А в гипоталамусе хронически алкоголизованных крыс



Концентрация орексина А в амигдале после психоэмоционального стресса и действия антагониста OхR1 рецепторов

ng orx/mg protein



1 - control group

XTitle

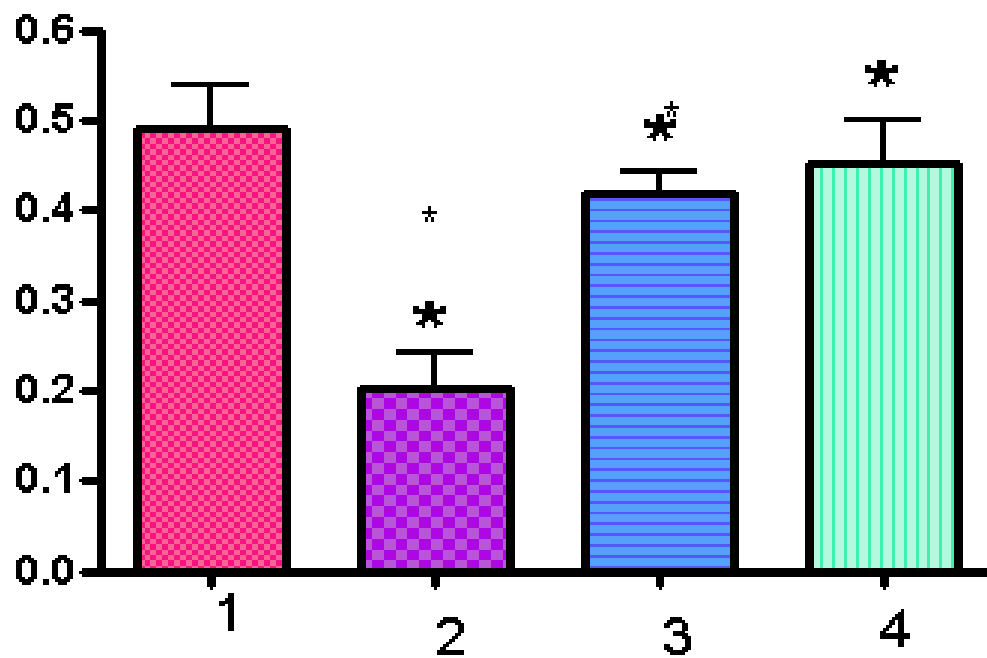
2 - psychotraumatic exposition

3 - pst exposition + orexin administration

4 - pst exposition + orexin antagonist SB administration

Концентрация орексина А в гиппокампе после психоэмоционального стресса и действия антагониста OхR1 рецепторов

ng orexin/mg ptotein



1- control goup

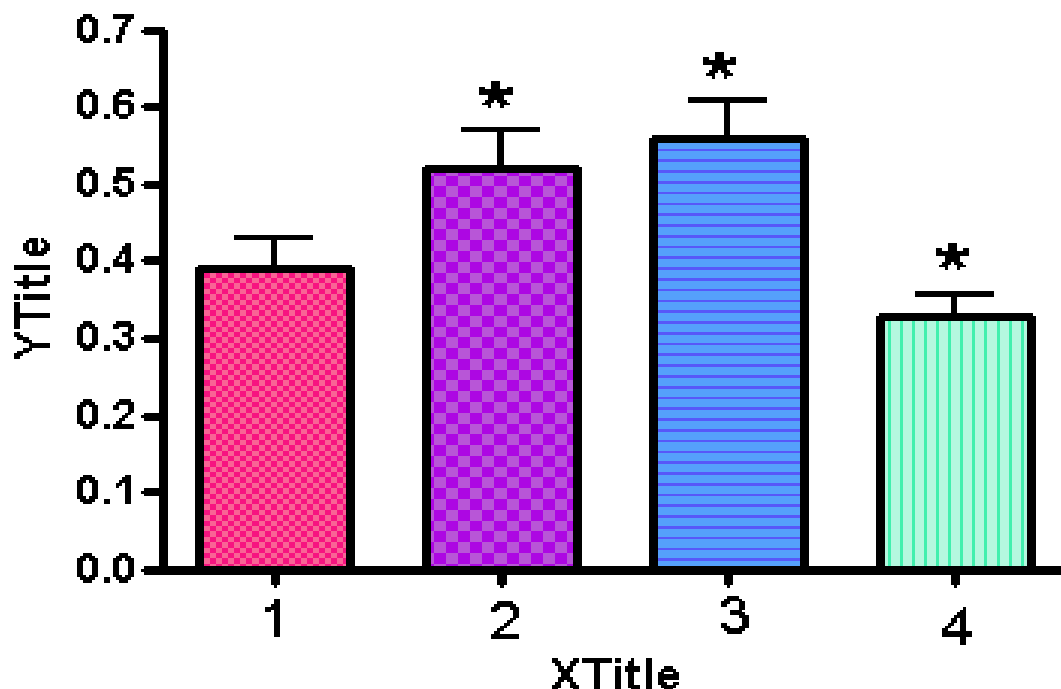
2 - psychotraumatic exposition

3 - pst + orexin administiration

4 - pst exposion + orexin anragonist SB administration

Концентрация орексина А в гипоталамусе после психоэмоционального стресса и действия антагониста OхR1 рецепторов

ng orexin/mg protein



1 - control group

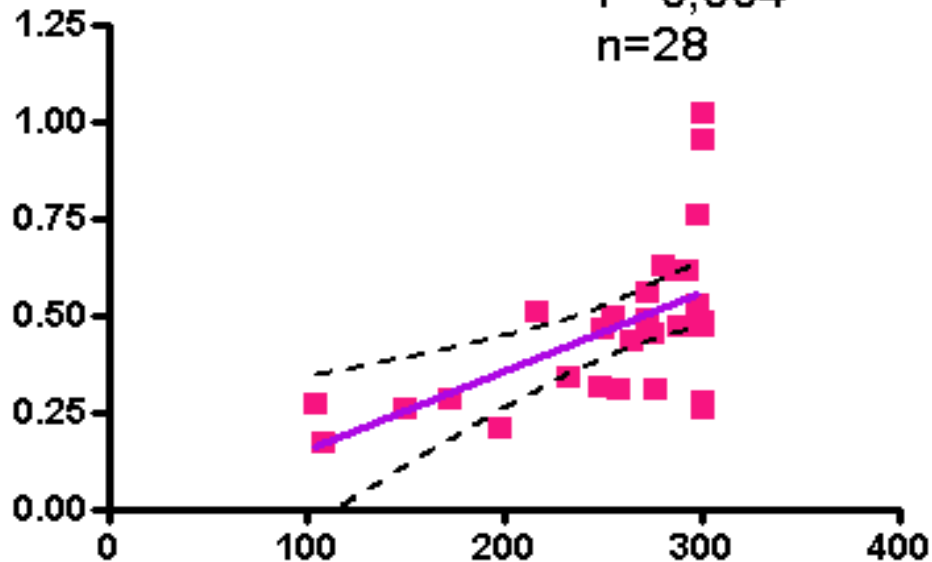
2 - psychotraumatic exposition

3 - pst exposition + orexin

4 - pst exposition + orexin antagonist SB

Корреляция между временем нахождения в темных рукавах в «приподнятом крестообразном лабиринте» и содержанием орексина А в миндалине у крыс

концентрация
орексина А
(нг/мг белка)



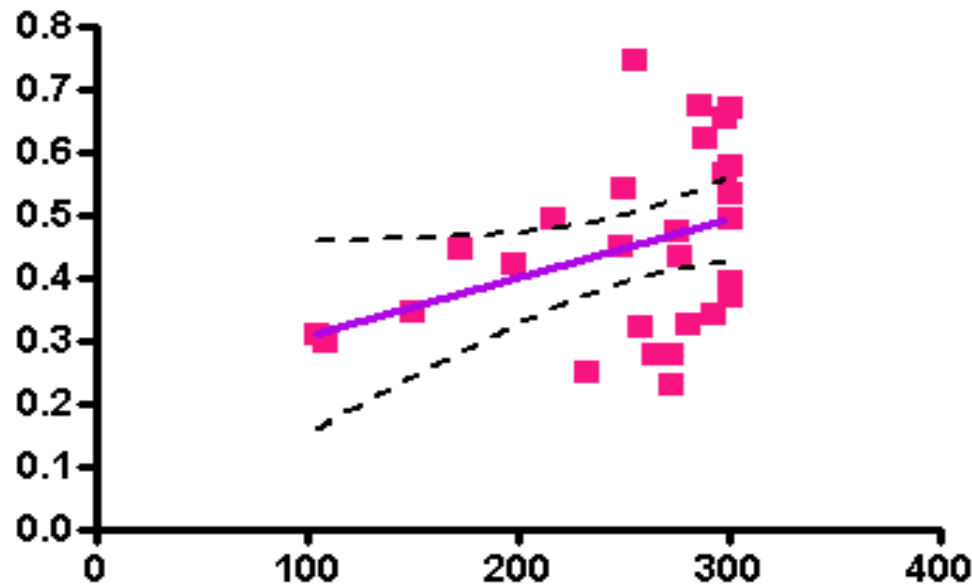
время
пребывания
в темном рукаве
(сек)

r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена
 P - уровень значимости

Корреляция между временем нахождения в темных рукавах в «приподнятом крестообразном лабиринте» и содержанием орексина А в гиппокампе у крыс

Концентрация
орексина А
(нг/мг белка)

$r = 0,41$
 $P = 0,03$
 $n = 28$



нехождение
в темных рукавах
(сек)

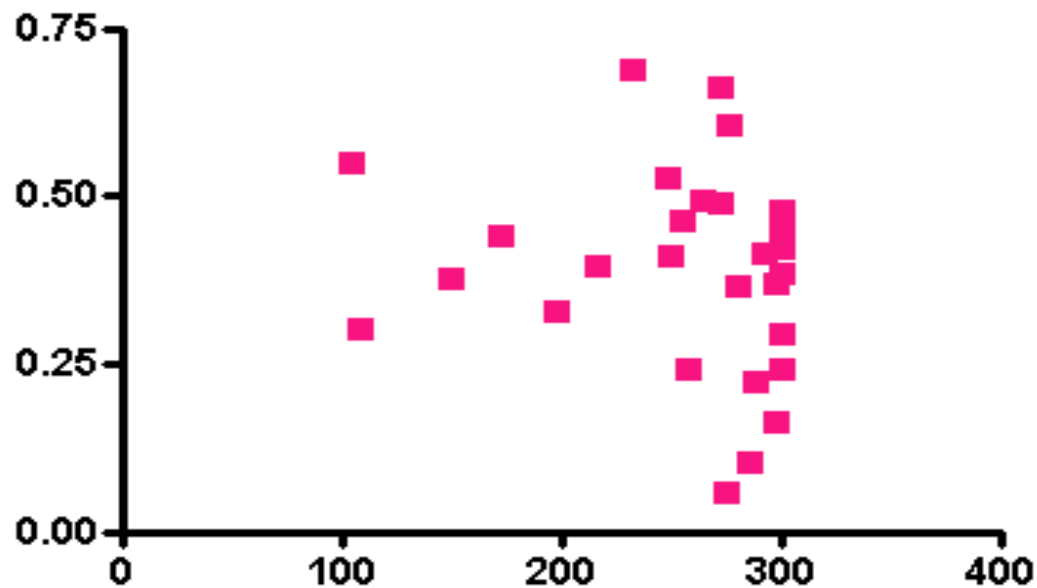
r = коэффициент ранговой корреляции Спирмена
 P = уровень значимости
 n - число животных

Отсутствие корреляции между временем нахождения в темных рукавах в «приподнятом крестообразном лабиринте» и содержанием орексина А в гипоталамусе у крыс

n = 28

Значимая
корреляция
отсутствует

концентрация
орексина А
(нг/мг белка)

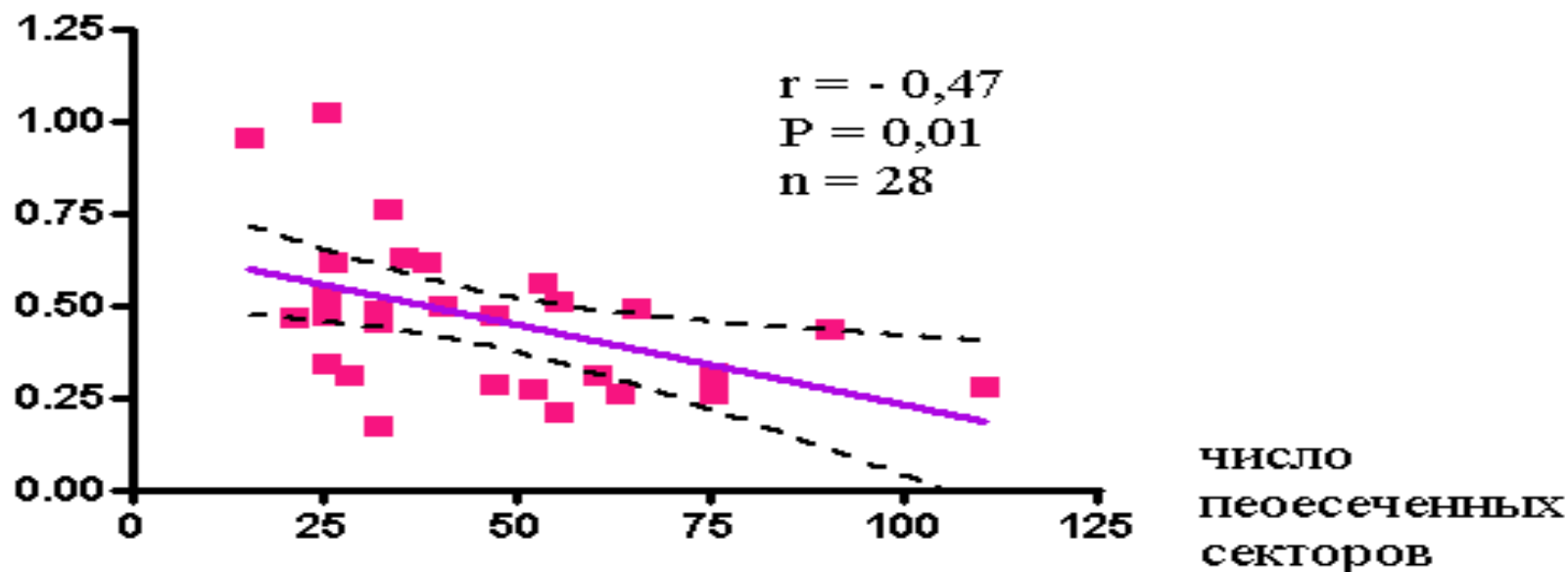


нахождение
в темных рукавах
(сек)

n = ЧИСЛО ЖИВОТНЫХ

Отрицательная корреляция между числом пересеченных секторов в «открытом поле» и содержанием орексина А в миндалине у крыс

концентрация
орексина А
(гг/мг белка)

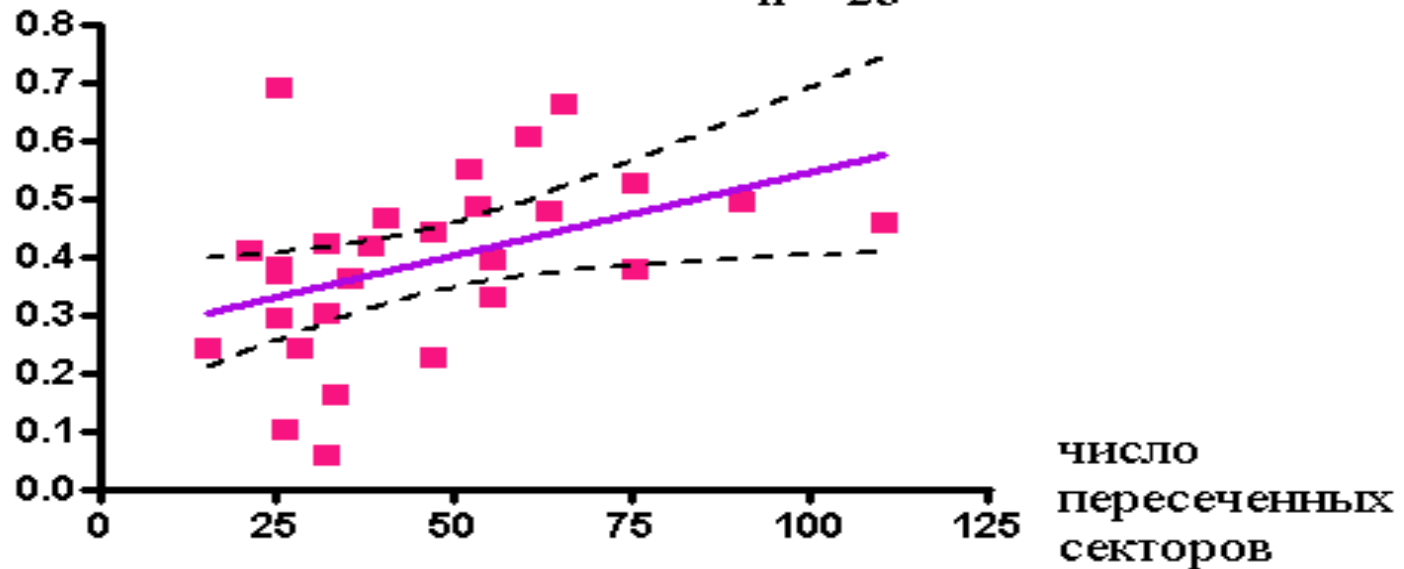


r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена
 P - уровень значимости
 n - число животных

Корреляция между числом пересеченных секторов в «открытом поле» и содержанием орексина А с гипоталамусе у крыс

концентрация
орексина А
(нг/мг белка)

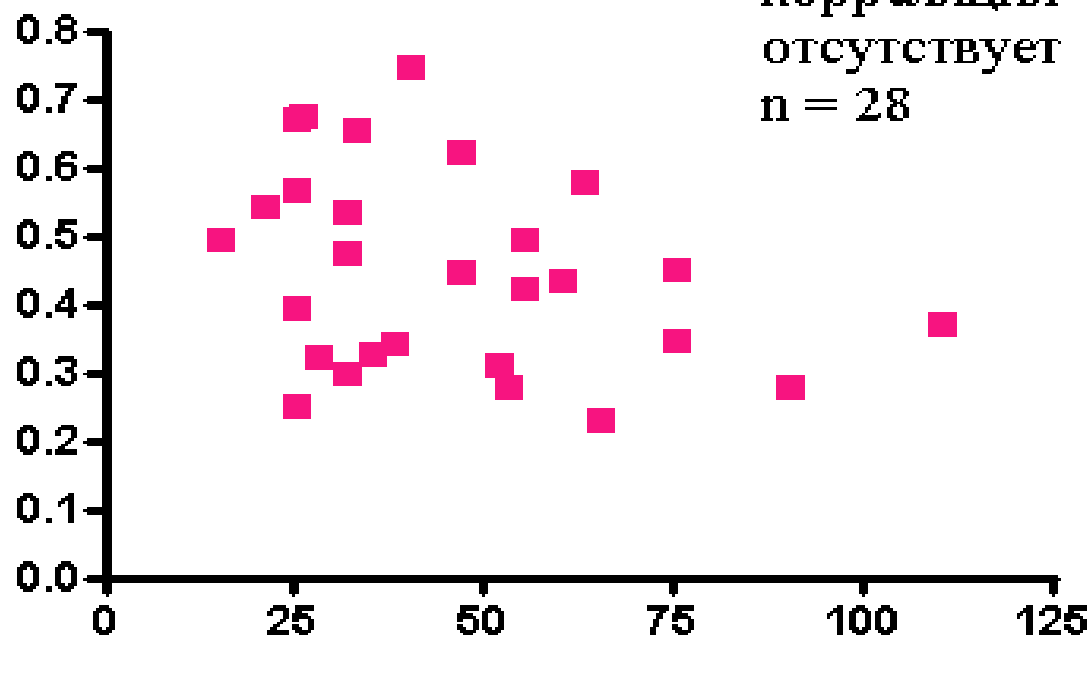
$r = 0,49$
 $P = 0,007$
 $n = 28$



r - коэффициент ранговой корреляции Спирмена
 P - уровень значимости
 n - число животных

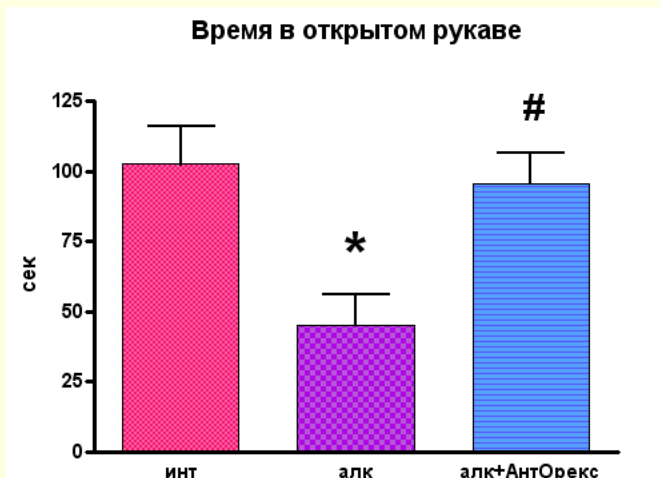
Отсутствие корреляции между числом пересеченных секторов в «открытом поле» и содержанием орексина А в гиппокампе у крыс

концентрация
орексина А
(нг/мг белка)

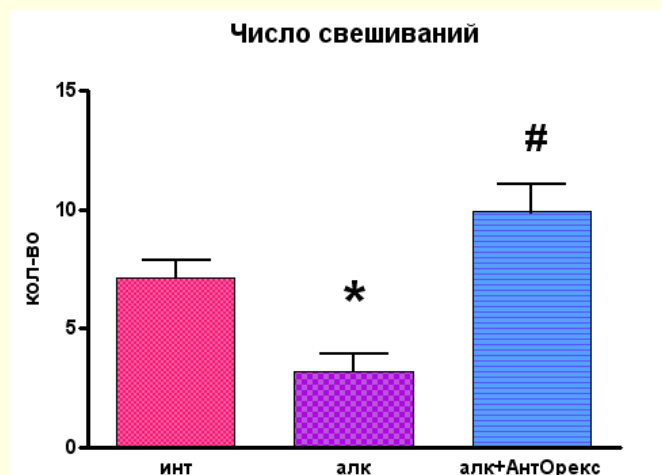


n - ЧИСЛО ЖИВОТНЫХ

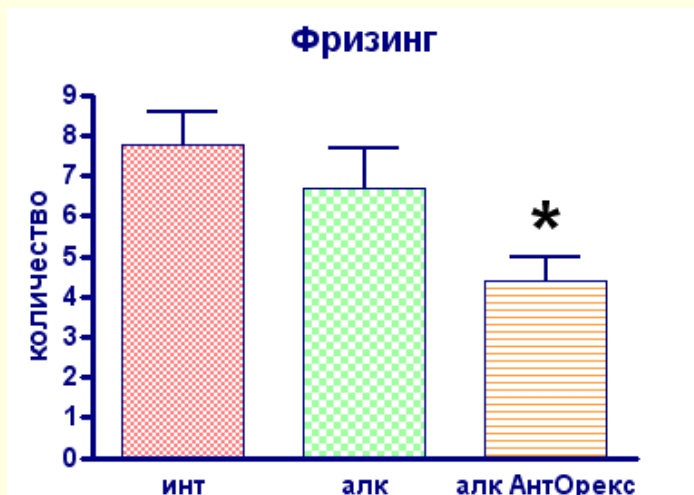
Влияние анторекса на уровень тревожности у хронически алкоголизированных крыс



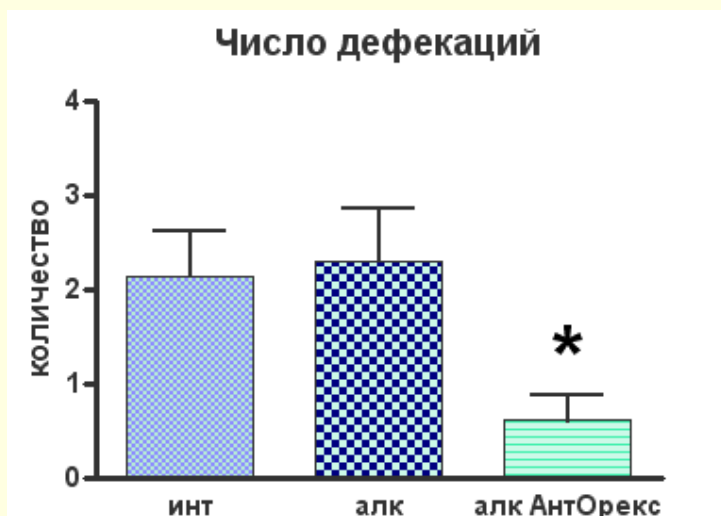
- Antorex reduced anxiety level of the chronically alcoholized rats in the elevated plus maze



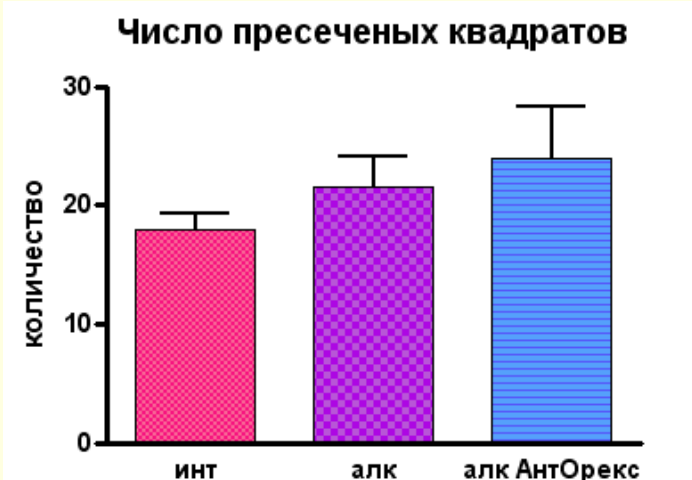
Влияние анторекса на эмоциональное поведение хронически алкоголизированных крыс



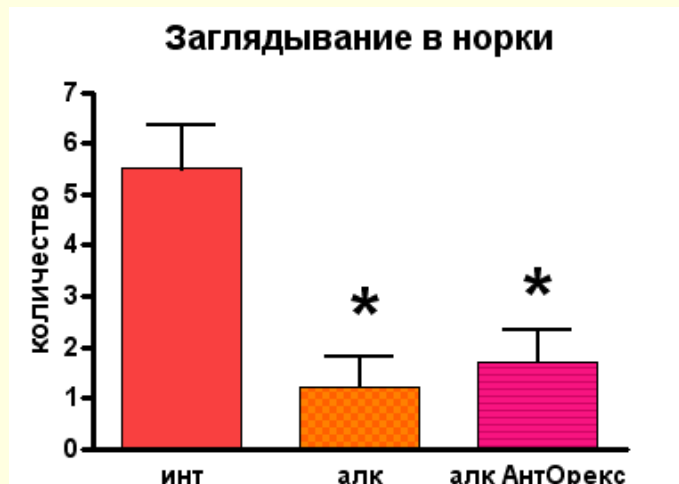
- Antorex reduced negative emotionality level of the chronically alcoholized rats in open field test



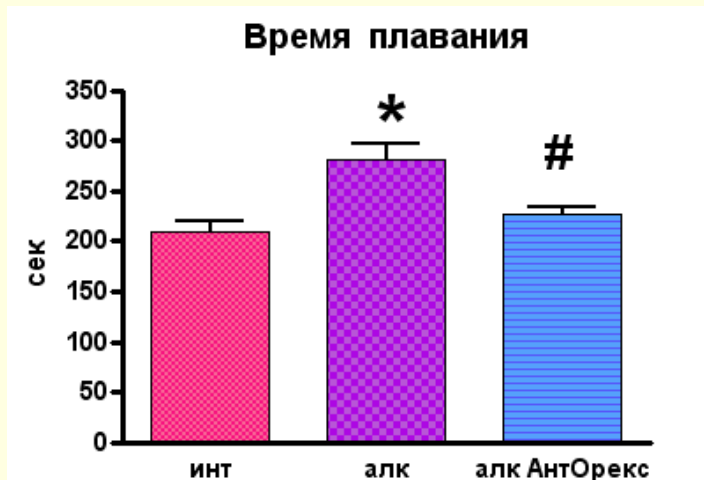
Влияние анторекса на двигательную и исследовательскую активность хронически алкоголизованных крыс



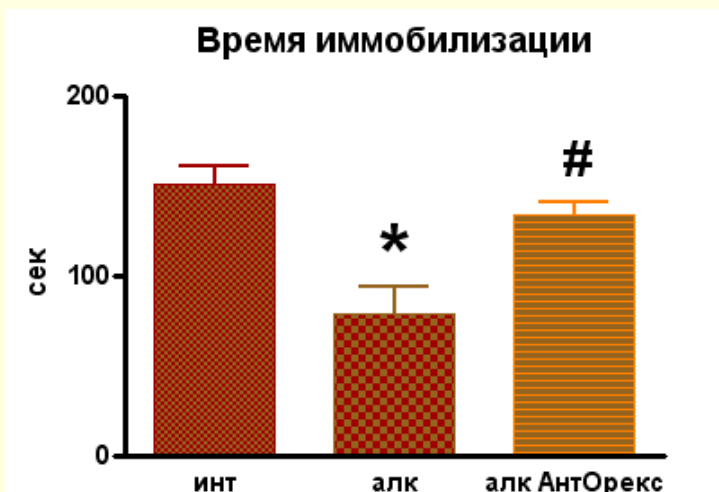
- Antorex did not effect on the motility and explorative behavior of the chronically alcoholized rats in open field test



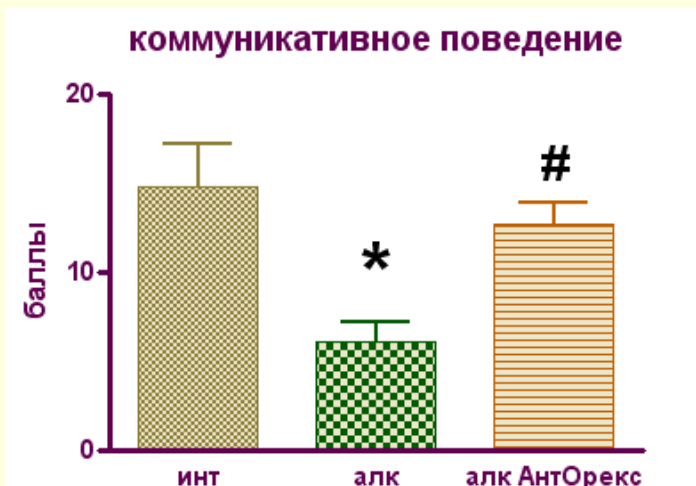
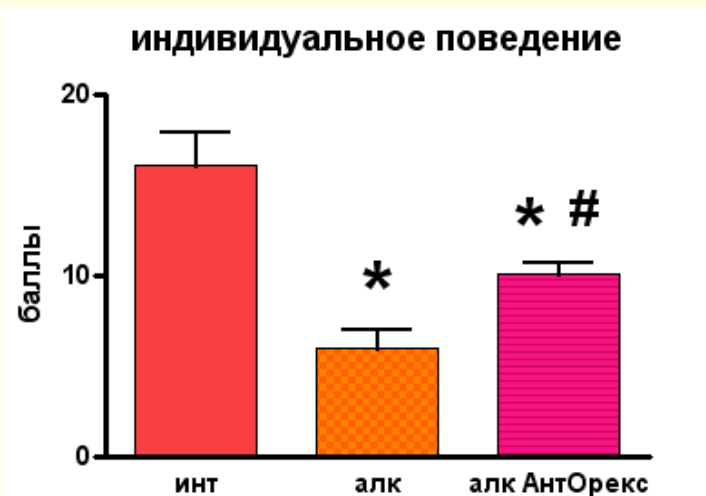
Влияние анторекса на уровень депрессивности хронически алкоголизованных крыс



- Antorex blocked antidepressive effect of ethanol of the chronically alcoholized rats in Porsolt's test



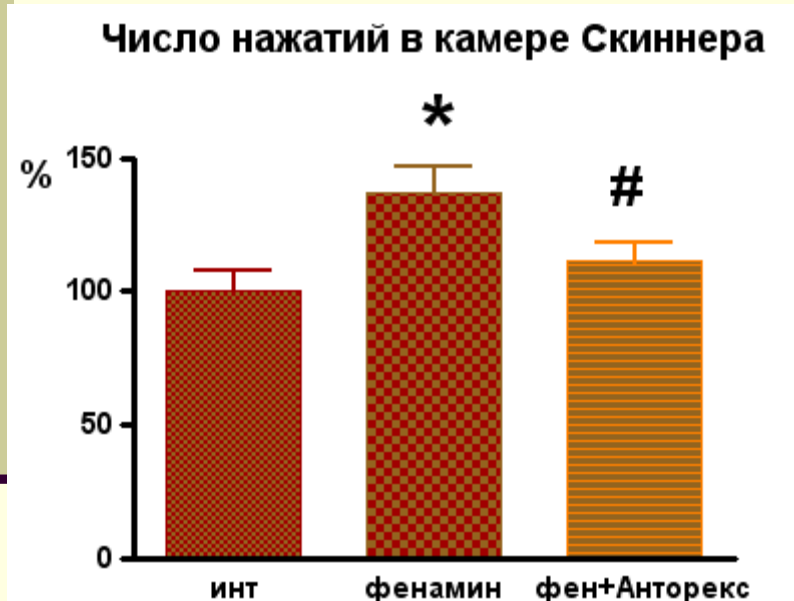
Влияние анторекса на коммуникативное поведение хронически алкоголизованных крыс



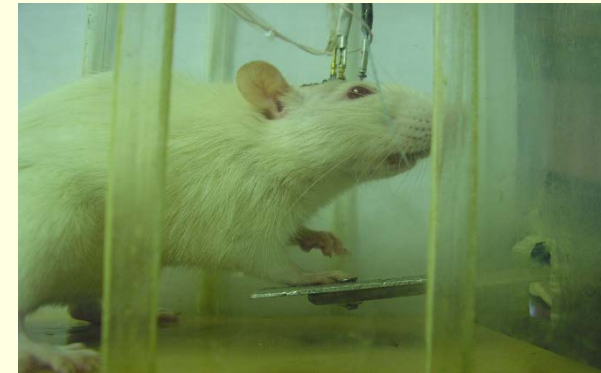
- Antorex normalized individual (grooming, rearings) and communicative behavior of the chronically alcoholized rats in resident-intruder test



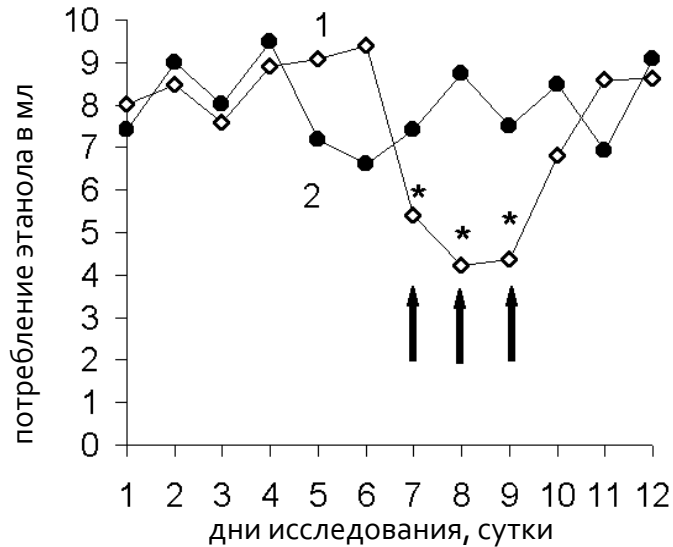
Влияние анторекса на самостимуляцию гипоталамуса у хронически алкоголизованных крыс



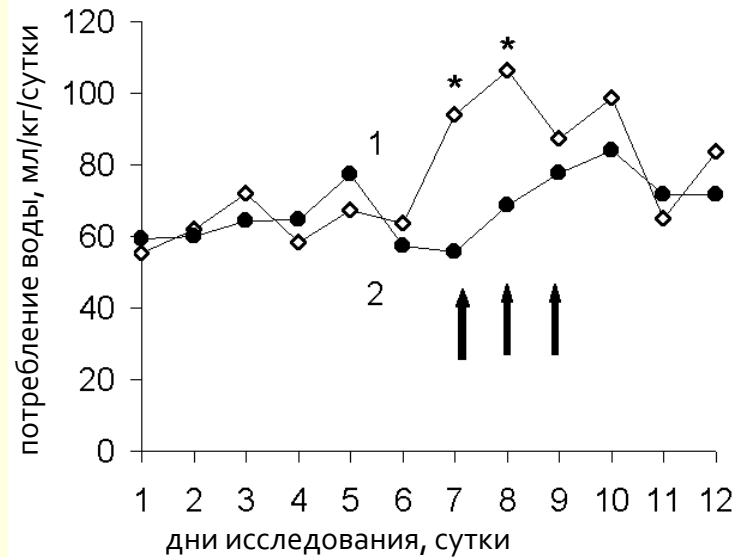
- Antorex reduced reinforcing effects of amphetamine of the chronically alcoholized rats in self-stimulation of the lateral hypothalamus



Влияние анторекса на потребление 10%-ного этанола в ситуации свободного выбора у хронически алкоголизованных (6 мес) крыс



Every day consumption of ethanol solution in a free choice test before and after intranasal administration of Antorex 50 µg (1) and physiological saline (2) as a control

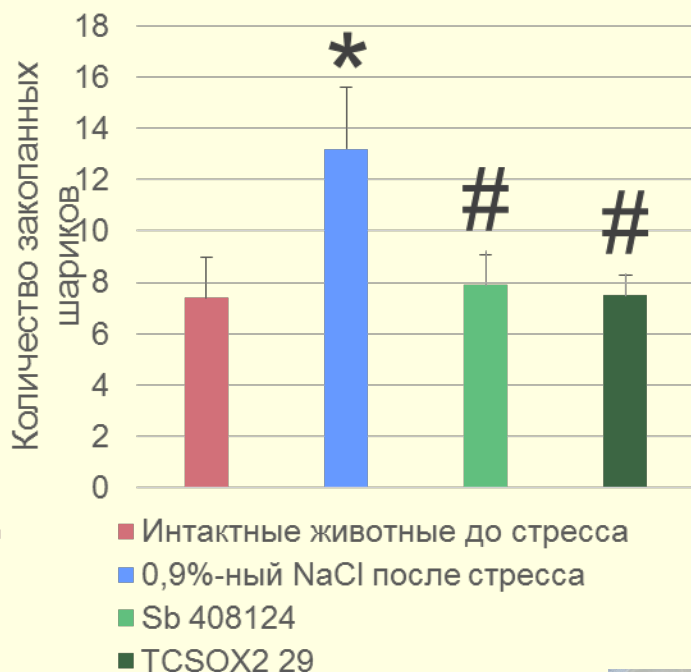


Every day consumption of water in a free choice test before and after intranasal administration of Antorex 50 µg (1) and physiological saline (2) as a control

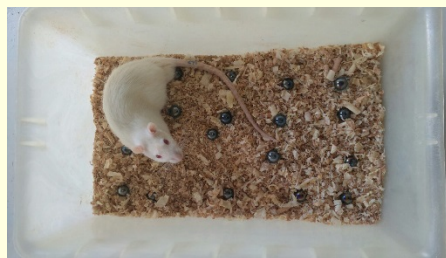


Участие орексиновой системы в обсессивно-компульсивном компоненте игровой зависимости в тесте закапывания шариков

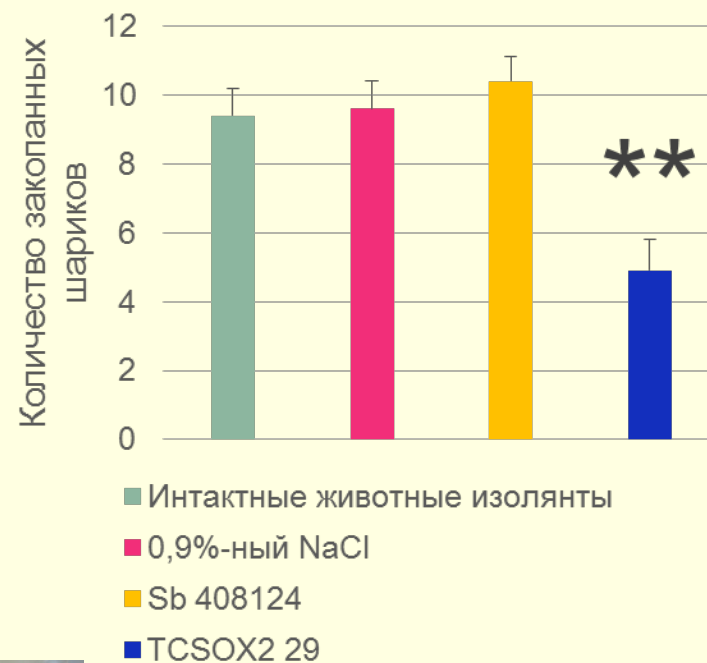
После предъявления
витального стрессорного
воздействия



* – $p \leq 0,05$ в сравнении с интактным контролем, # – $p \leq 0,05$ в сравнении с активным контролем (7 дней 0,9% раствор NaCl после стресса)

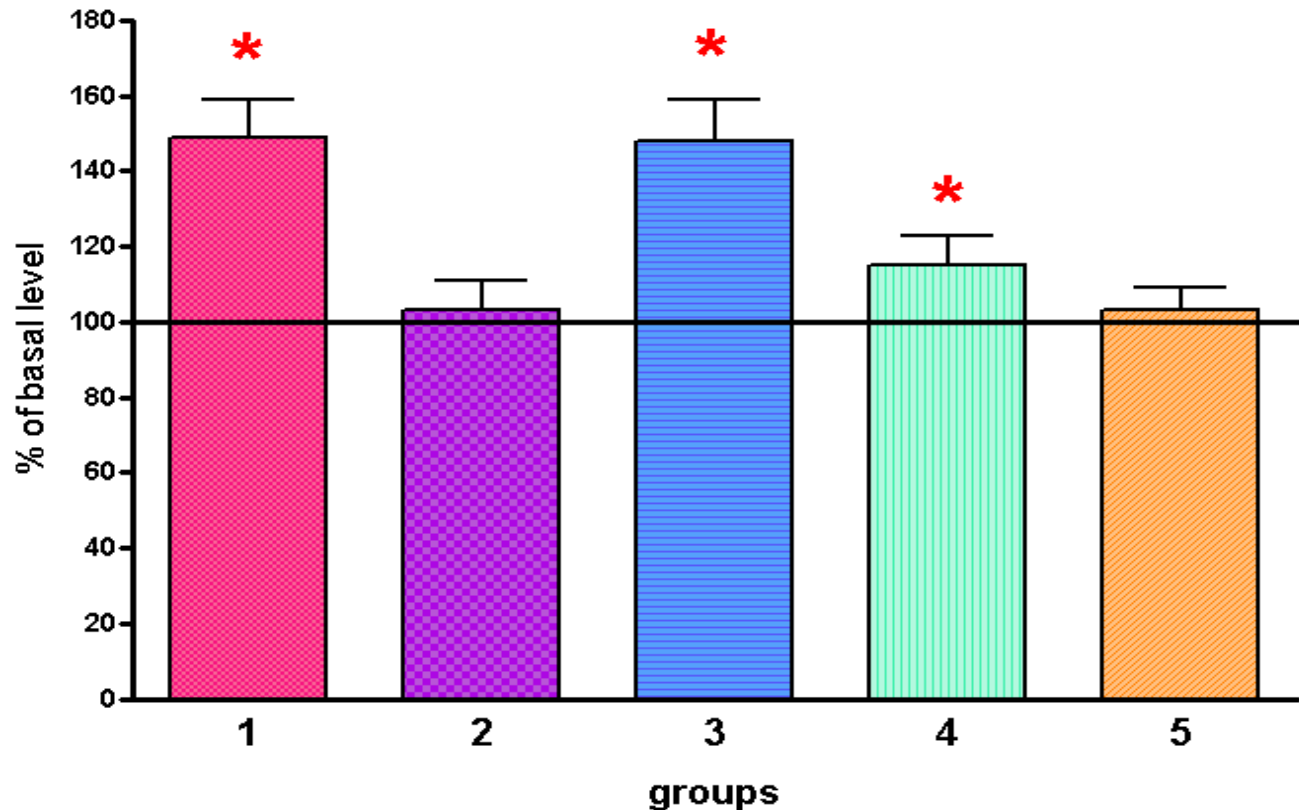


У крыс, выращенных в
условиях социальной изоляции



** – $p \leq 0,001$ по сравнению с интактным контролем и с физиологическим раствором

Блокада вызванной амфетамином самостимуляции мозга у крыс в результате взаимодействия орексина и антагонистов D2 рецепторов дофамина



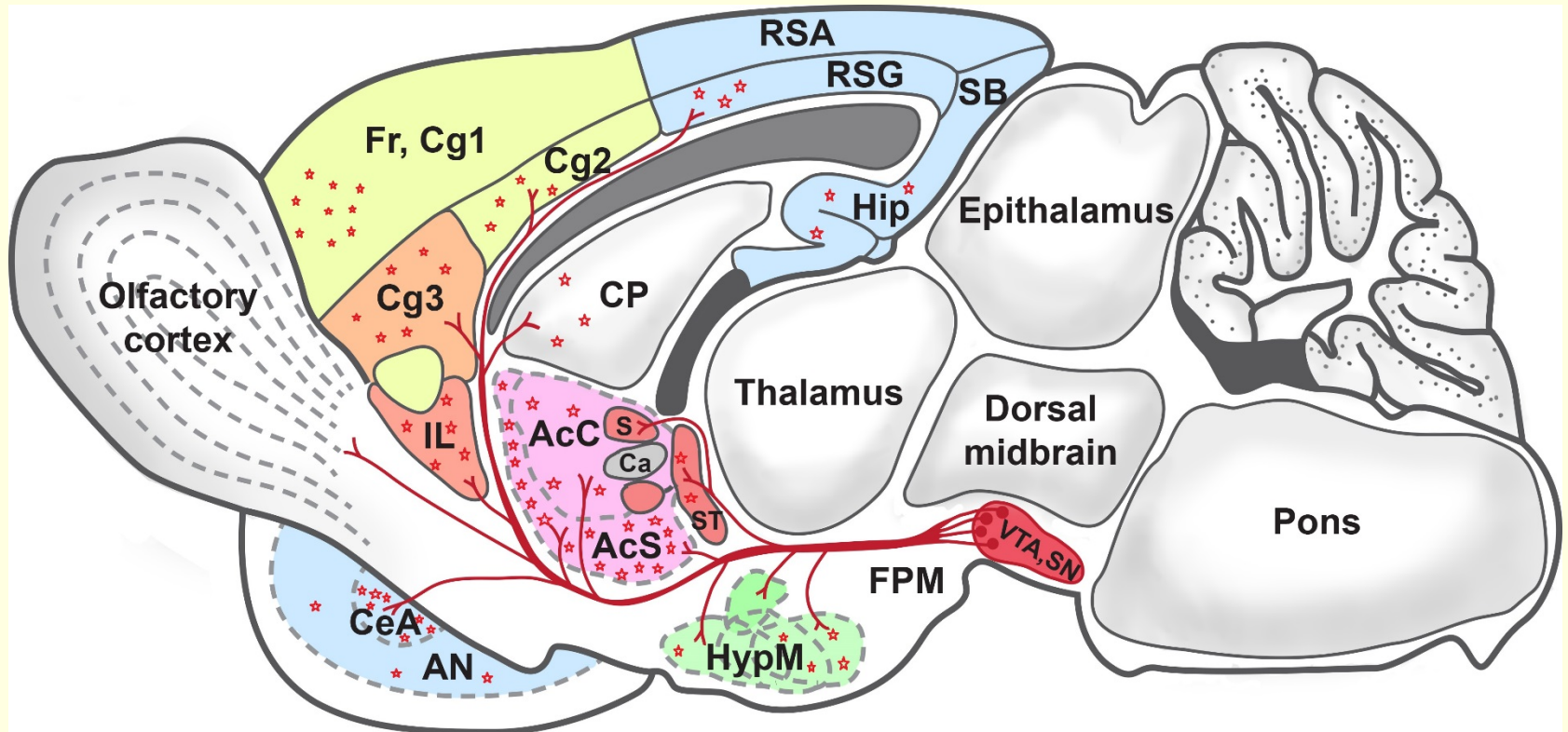
- 1 - amphetamine 1mg/kg i.p.
- 2 - amphetamine 1mg/kg i.p. + sulpiride 20mg/kg i.p.
- 3 - amphetamine 1mg/kg i.p. + sulpiride 5mg/kg i.p.
- 4 - amphetamine 1mg/kg i.p. + SB 408124 5µg i.c.v.
- 5 - amphetamine 1mg/kg i.p. + sulpiride 5mg/kg i.p. + SB 408124 5µg i.c.v.

Исследование системы грелина в головном мозге и крови крыс

Massayasu Kojima, открывший грелин в 1999 году



Колокализация дофаминергических терминалей и рецепторов грелина GHR1 (красные звездочки) в эмоциогенных структурах мозга

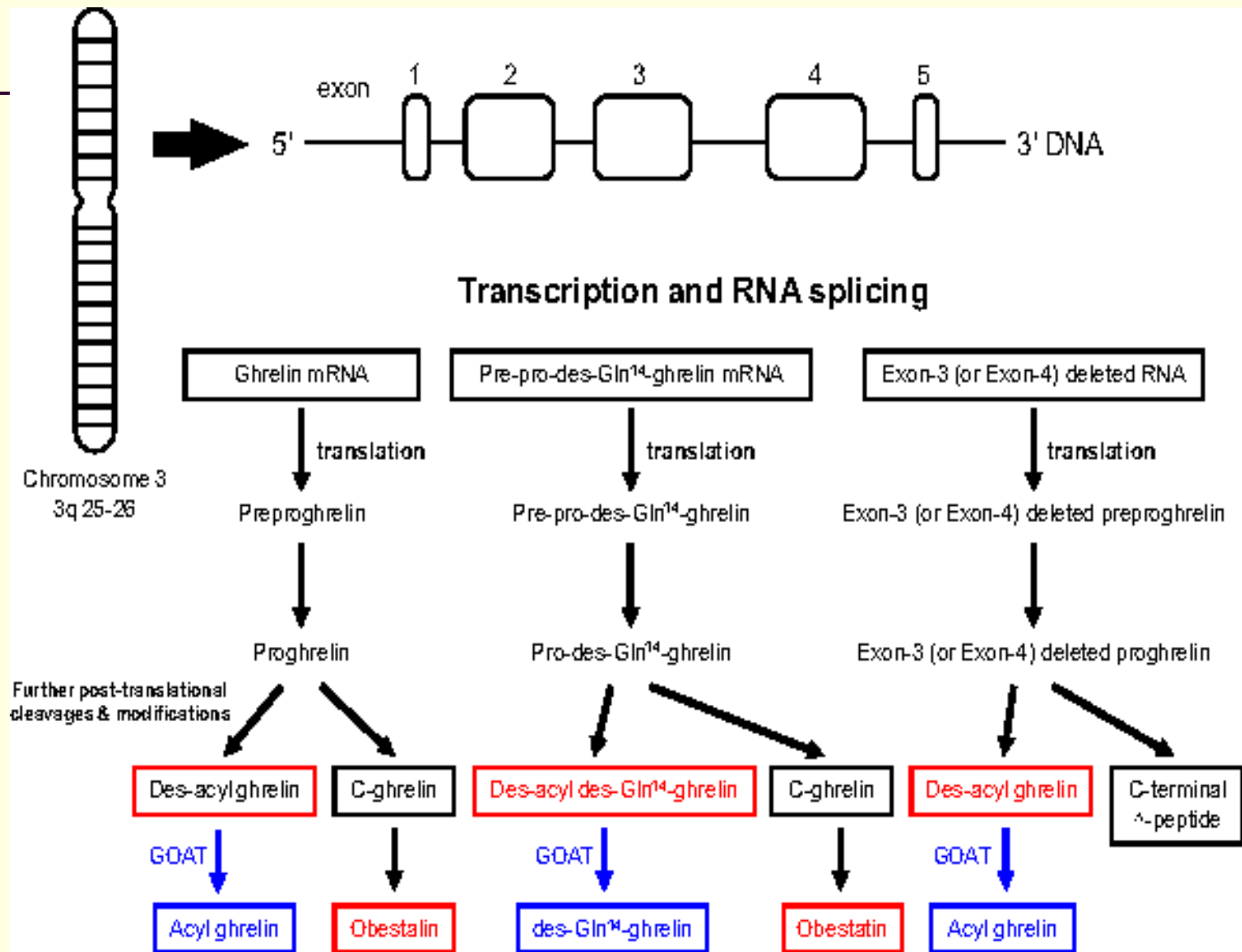


Грелиновая система мозга

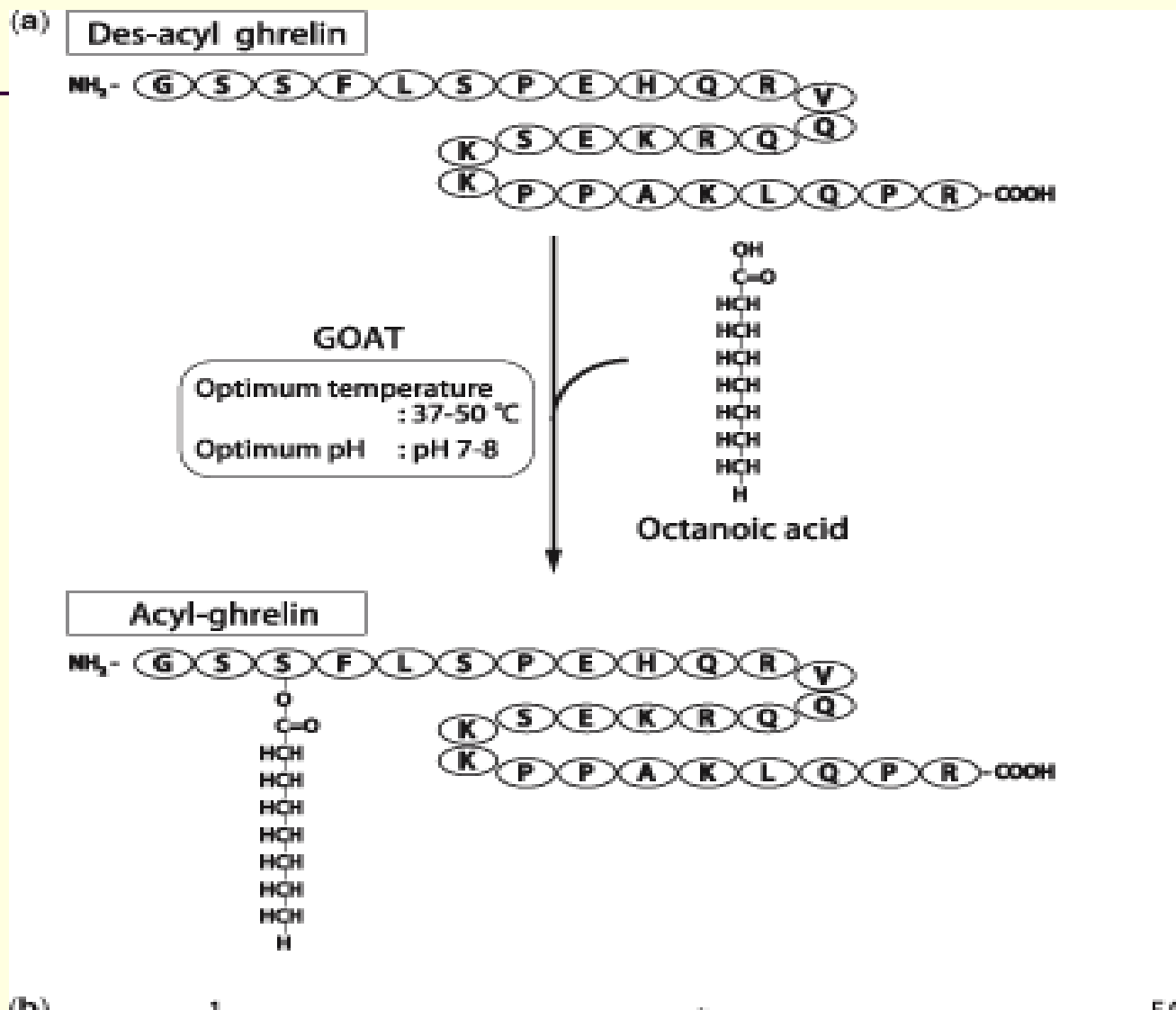
- ❑ **Ghrelin (growth hormone secretagogue)** – пептид, состоящий из 28 аминокислотных остатков.
- ❑ **Грелин** имеет 2 основных структурных формы – октаноильную (нестойкая, в крови не стабильна) и дезацильную (присутствует в крови).
- ❑ **Грелин** играет важную роль в формировании зависимости к алкоголю и наркотикам.
- ❑ **Грелин** взаимодействует с дофаминергическими системами мозга.
- ❑ Другие нейромедиаторы также вовлечены в подкрепляющие эффекты **грелина**.

Ген грелина и продукты его экспрессии

(Portelli J. & Smolders I., 2014)

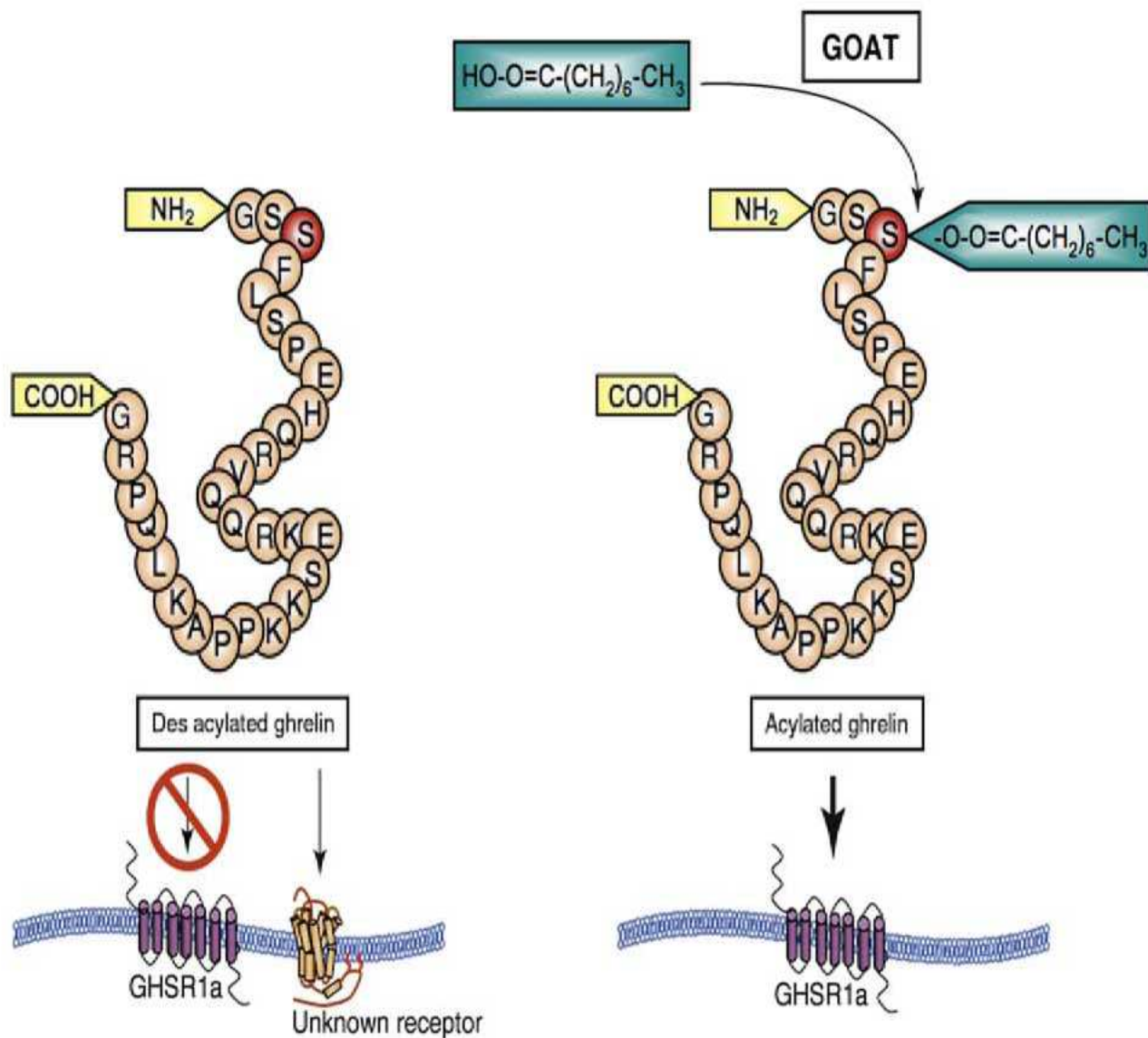


Основные формы грелина и их ферментативная трансформация



GOAT – ghrelin-octanoyl-acyltransferase

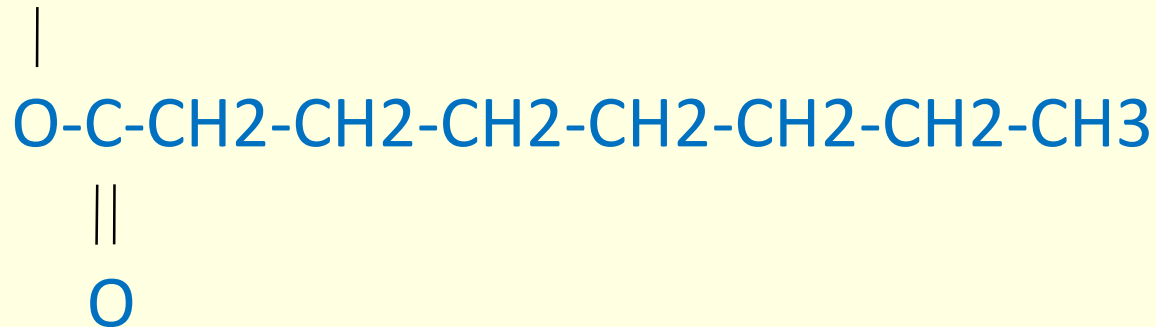
Схематическое изображение взаимодействия грелинов с рецепторами (Andrews Z., 2010)



Структура ацилированного грелина (Z. Andrews, 2010)

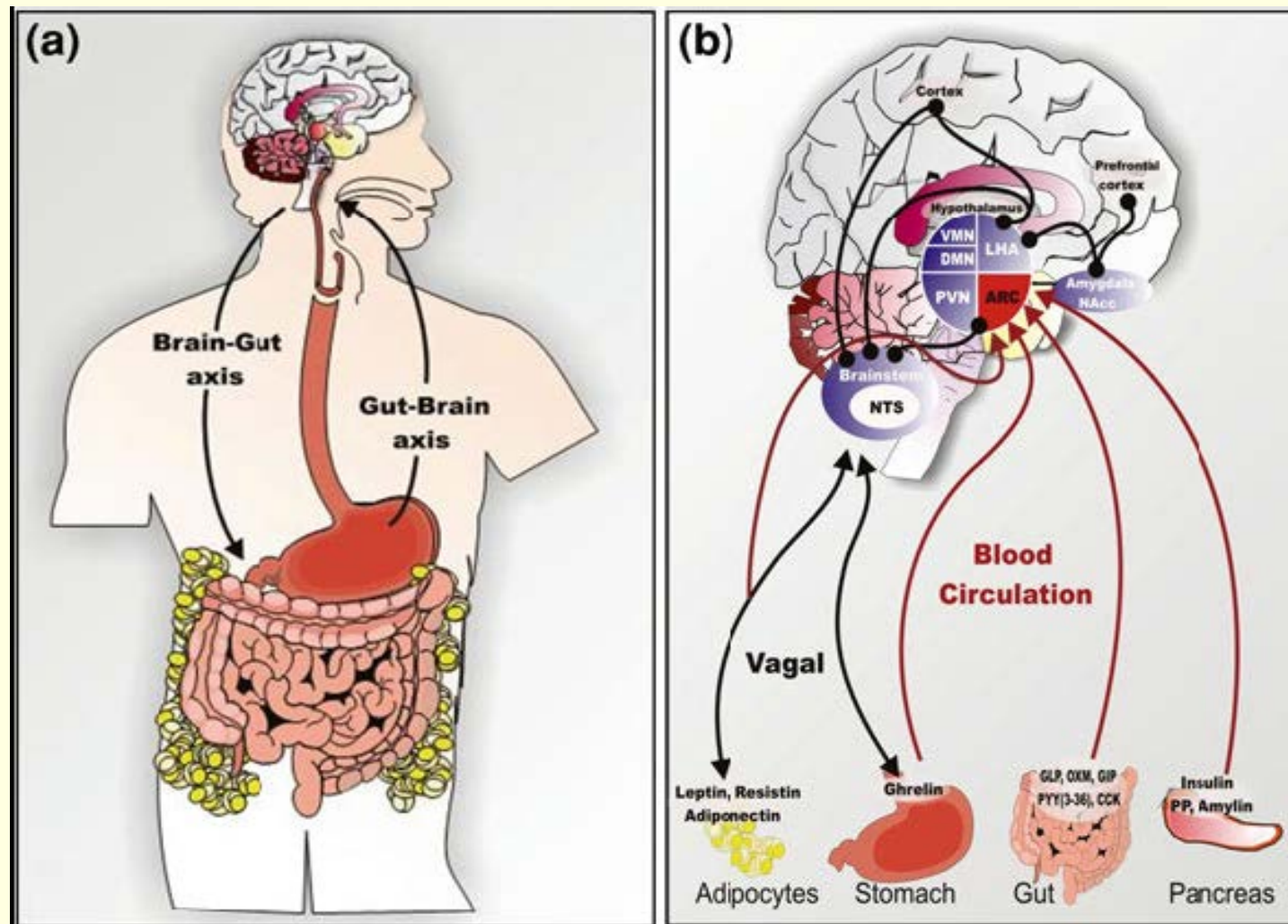
Ghrelin (28)

H₂N-GSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR-COOH

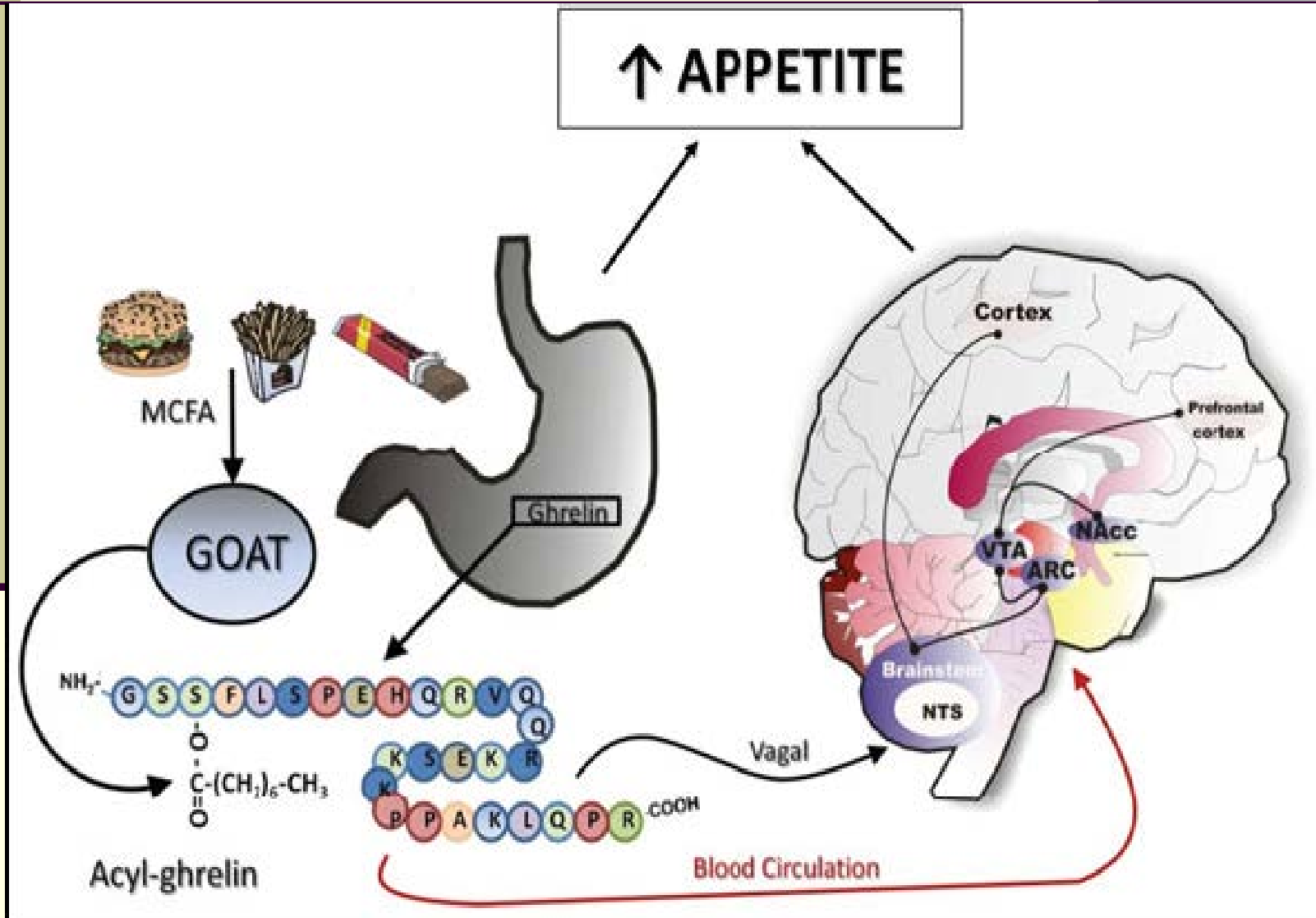


n-octanoic acid (n-octanoyl or C8:0)

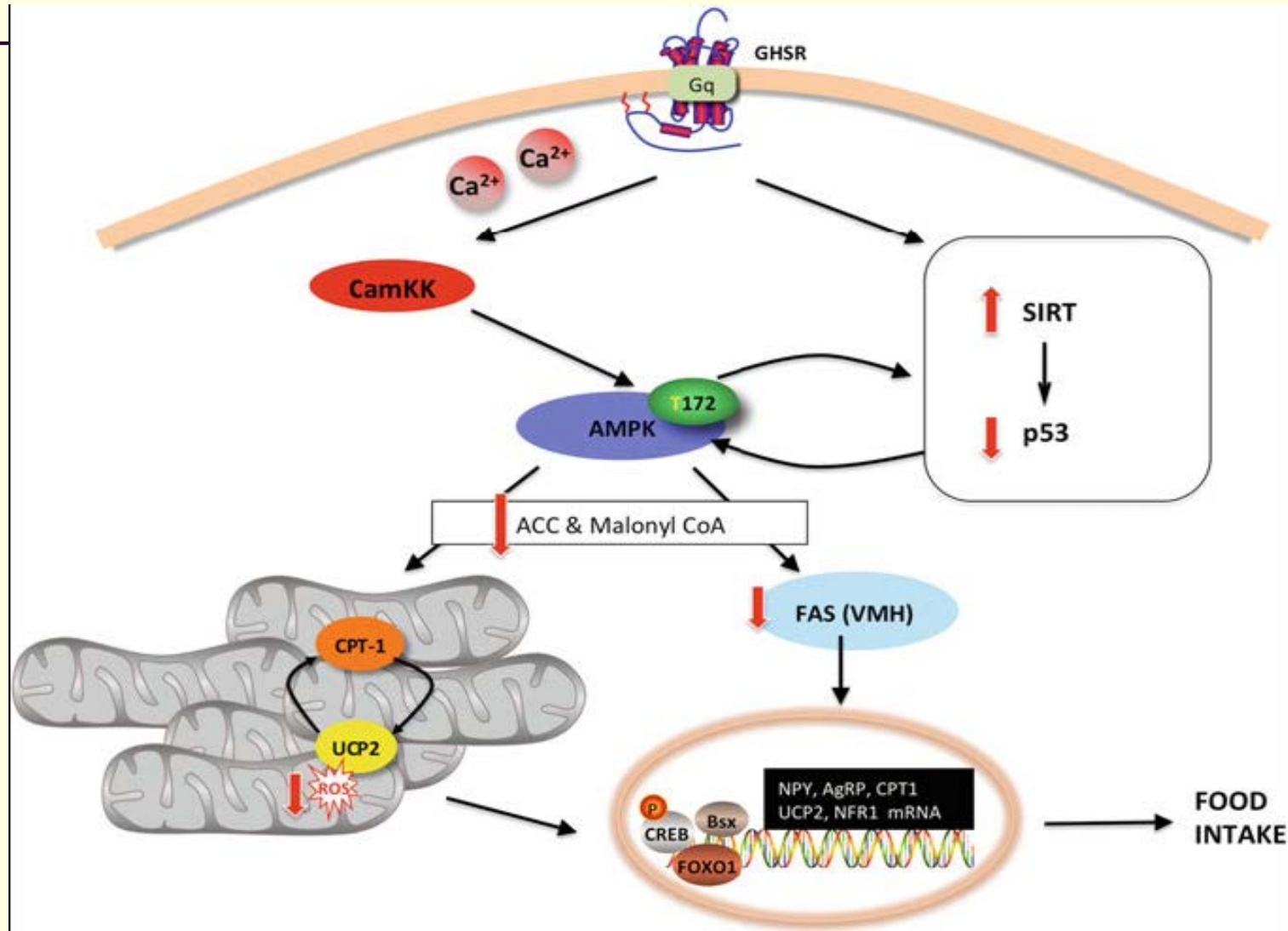
Схема опосредованного грелином сигналинга от желудка к мозгу (Portelli J. & Smolders I., 2014)



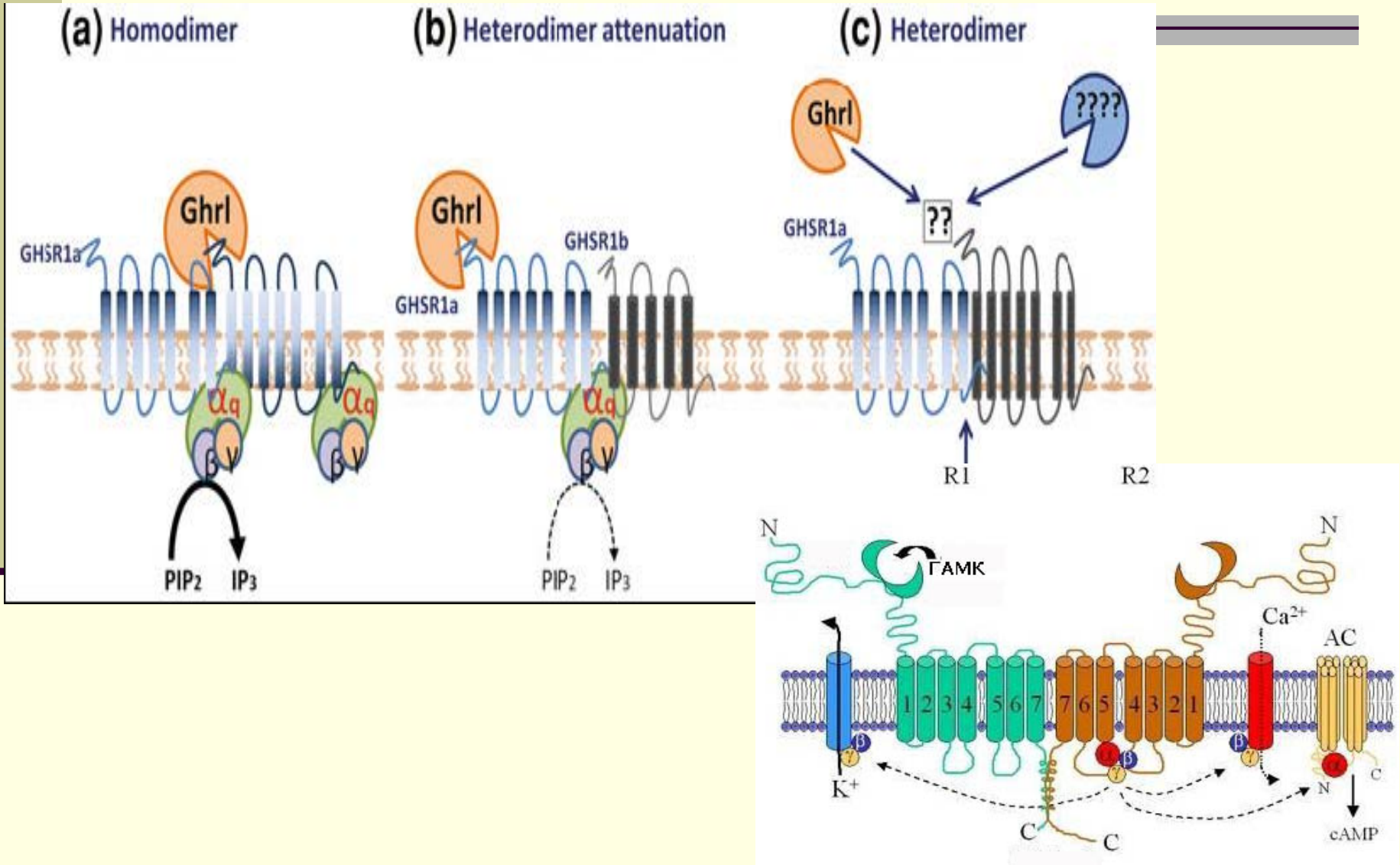
Регуляция аппетита посредством вовлечения грелиновой сигнальной системы (Portelli J. & Smolders I., 2014)



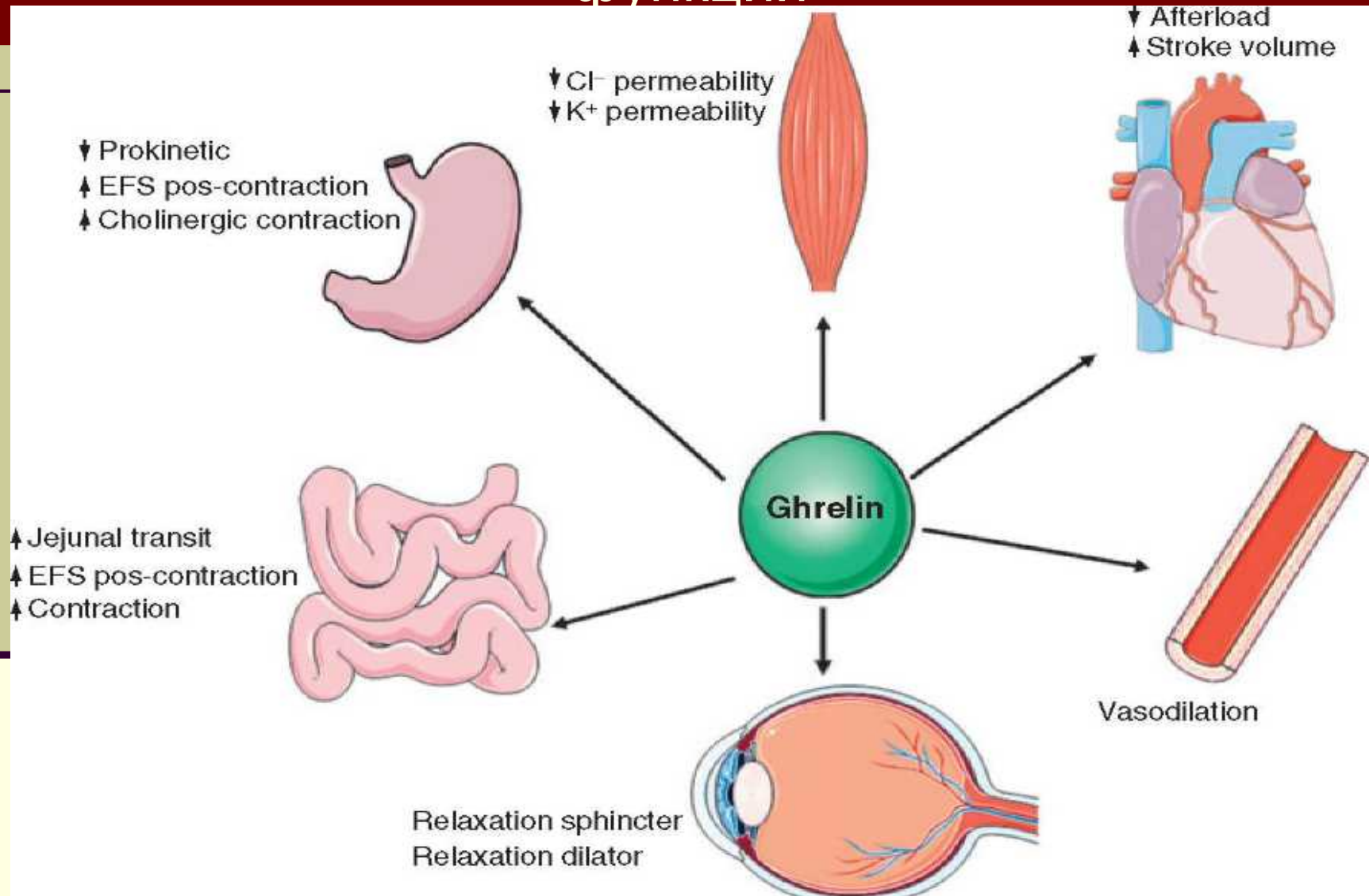
Внутриклеточные события активации рецепторов грелина GHSR (Portelli J. & Smolders I., 2014)



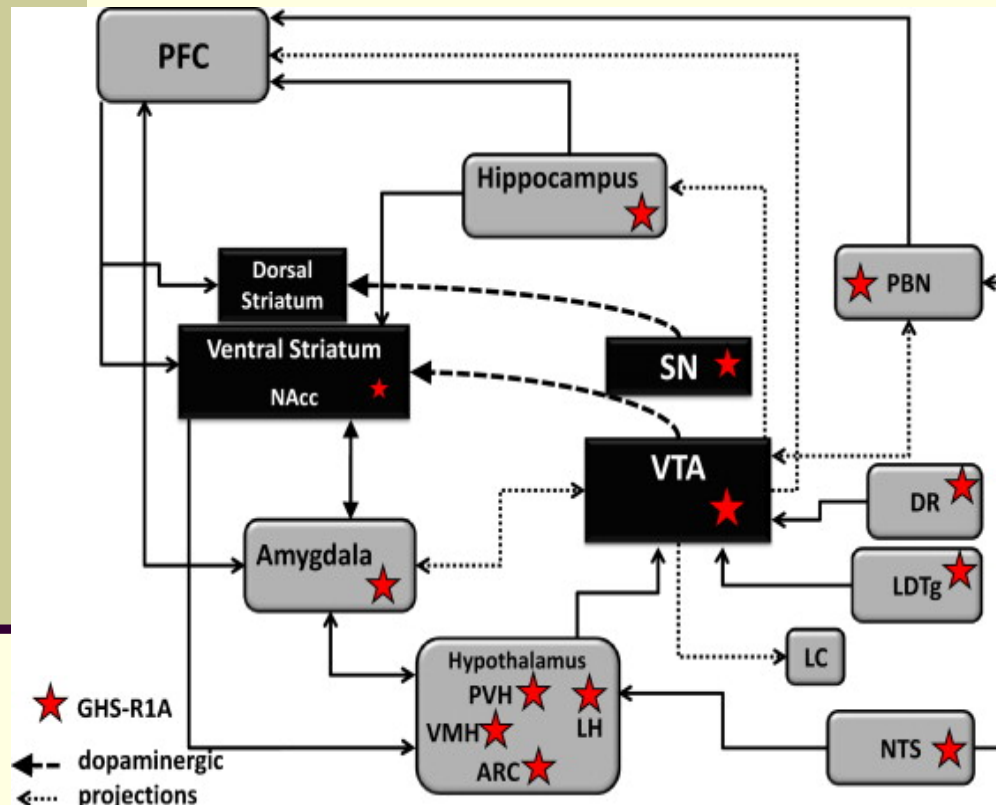
Вторичные (внутриклеточные) посредники активации рецепторов грелина GHSR (Portelli J. & Snolders I., 2014)



Участие грелина в регуляции физиологических функций



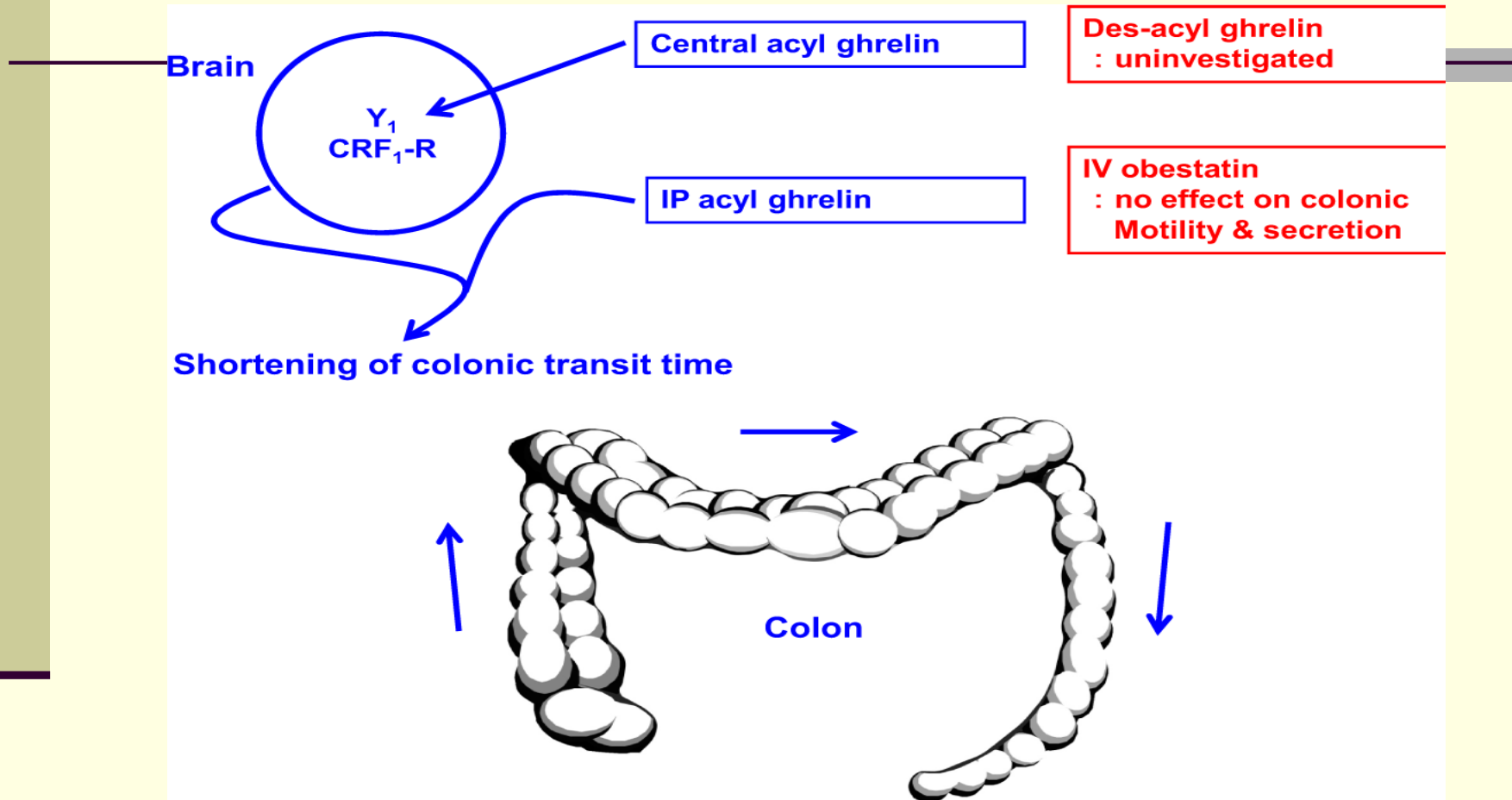
Система грелина головного мозга



■ Грелиновые рецепторы в гипоталамусе расположены на нейропептид Y- и орексин-содержащих нейронах и участвуют в регуляции пищевого поведения и энергетического обмена.

■ Грелиновые рецепторы в вентральной тегментальной области расположены на дофаминсодержащих нейронах и участвуют в процессах положительного подкрепления.

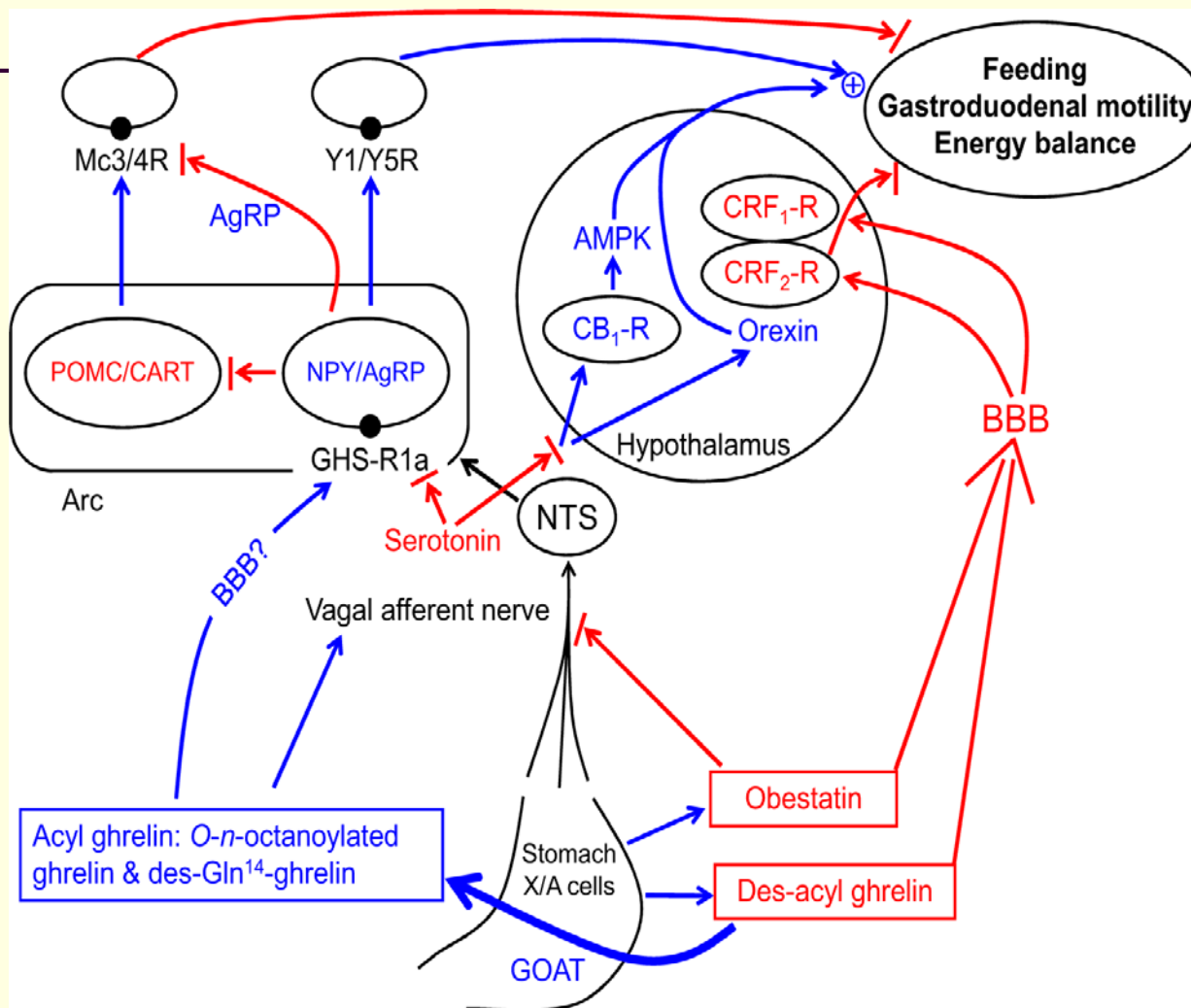
Различия в регуляторном действии грелина, дезацилгрелина и обестатина в ЦНС и секреторной и двигательной активности кишечника



IP – intraperitoneal

IV – intravenous

Активация нейроэндокринных сигнальных путей ацилгрелином, дезацилгрелином и обестатином



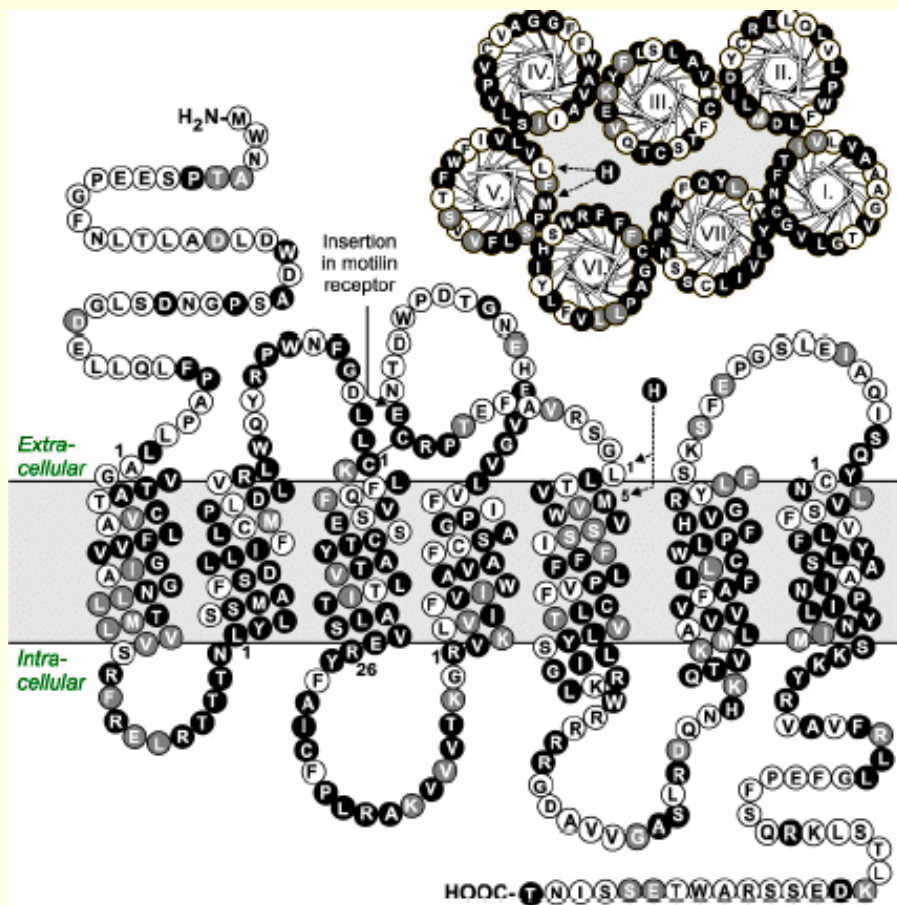
Arc – nucleus arcuatus, BBB – blood-brain barrier,
NST – nucleus of tractus solitarius

Эксперимент 1

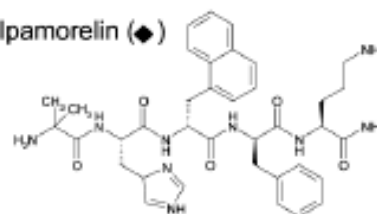
Цели исследования

- 1) Исследовать концентрации грелина, кортиколиберина (CRF), кортикостерона, тестостерона в сыворотке хронически алкоголизованных (6 мес) крыс и после отмены этанола;
- 2) Оценить экспрессию мРНК рецептора грелина 1-го типа (GHSR 1a mRNA) в эмоциогенных структурах головного мозга крыс;
- 3) Изучить особенности формирования дофаминовой и грелиновой систем в онтогенезе в условиях хронической алкоголизации у крыс.

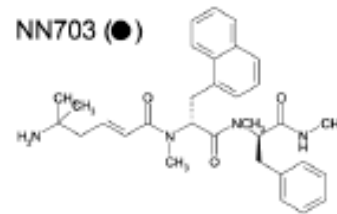
Строение рецептора грелина GHSR 1a и антагонистов рецепторов грелина



Ipamorelin (◆)

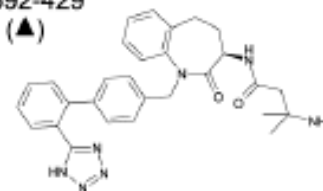


NN703 (●)

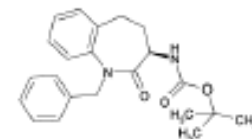


L-692-429

(▲)



L-692-400 (Δ)



Substance P analog

DArg-Pro-Lys-Pro-DPhe-Gln-DTrp-Phe-DTrp-Leu-Leu-CONH₂

[D-Lys³]-GHRP-6
 Агрелакс
 (генноинженерное
 соединение молекулярной
 массой 3,5 кДа, созданное в
 ФБГНУ «ИЭМ»)

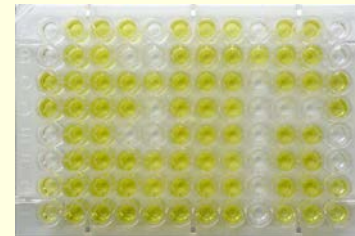
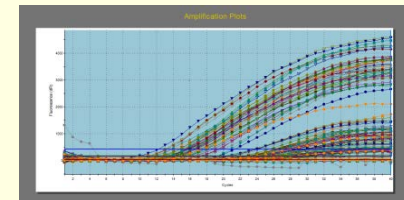
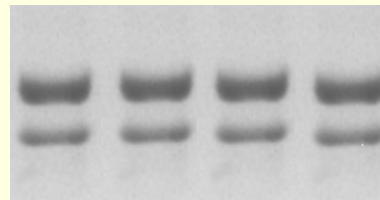
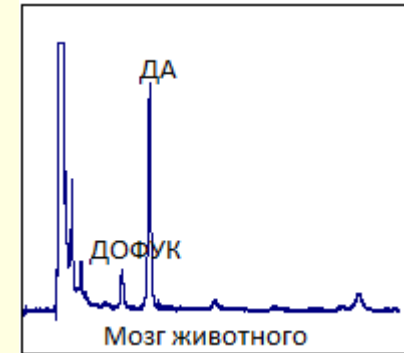
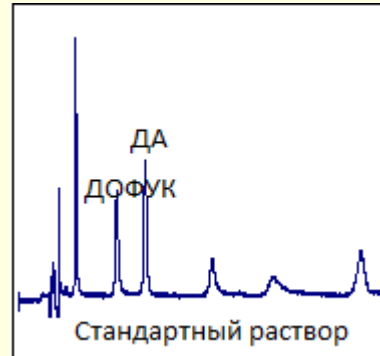
Схема эксперимента

- Экспрессия мРНК рецептора грелина 1-го типа (GHSR 1a mRNA) в структурах головного мозга (**ventral tegmental area, nucleus accumbens, hypothalamus, hippocampus, striatum, substantia nigra**) хронически алкоголизированных (6 мес) крыс самцов Вистар и через 1 и 7 суток после отмены этанола методом ПЦР в реальном времени;
- Беременных самок крыс подвергали полунасильственной алкоголизации с 1-го дня беременности до ее окончания. Половину самок после рождения детенышей переводили на водный режим, а другую половину подвергали дальнейшей алкоголизации до 17-го дня постнатального развития детенышей;
- Алкоголизация крыс 15%-ным этанолом в качестве единственного источника жидкости в течение 6 месяцев;
- Контрольные крысы получали воду.

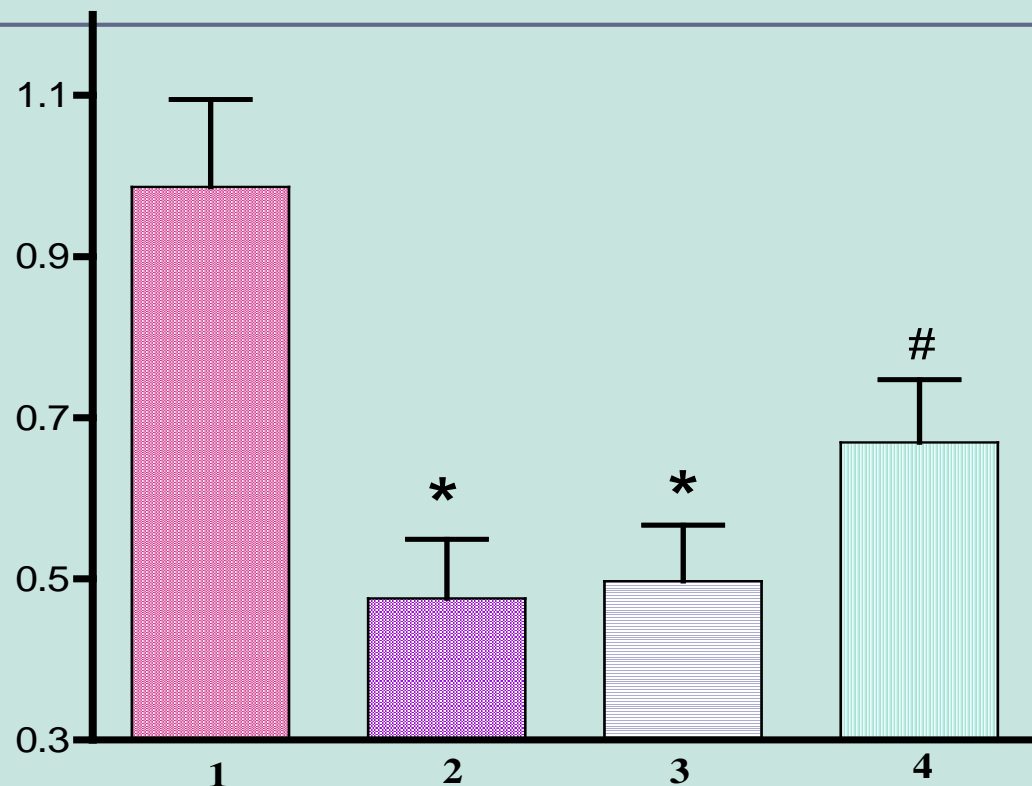
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ❑ Высокоэффективная жидкостная хроматография электрохимической детекцией
- ❑ Обратная транскрипция с последующей полимеразной цепной реакцией (обычная и реал-тайм)
- ❑ Иммуноферментный анализ

С



Концентрация неацилированного грелина (дезацилгрелина) в сыворотке крыс после хронической алкоголизации



1- control group

2 - chronic alcoholization during 6 months

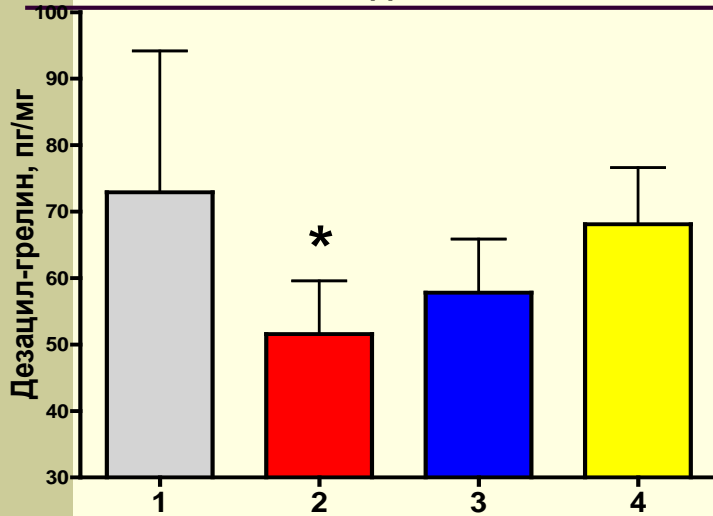
3 - 1 day (clock around) after alcohol withdrawal

4 - 7 days after alcohol withdrawal

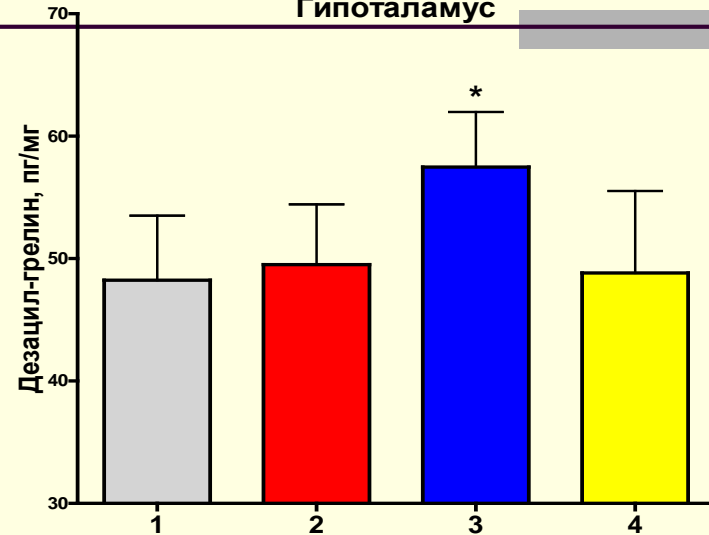
Y axis - unacylated ghrelin concentration (ng/ml)

Динамика содержания дезацил-грелина в структурах мозга при хронической алкоголизации и последующей отмене этанола

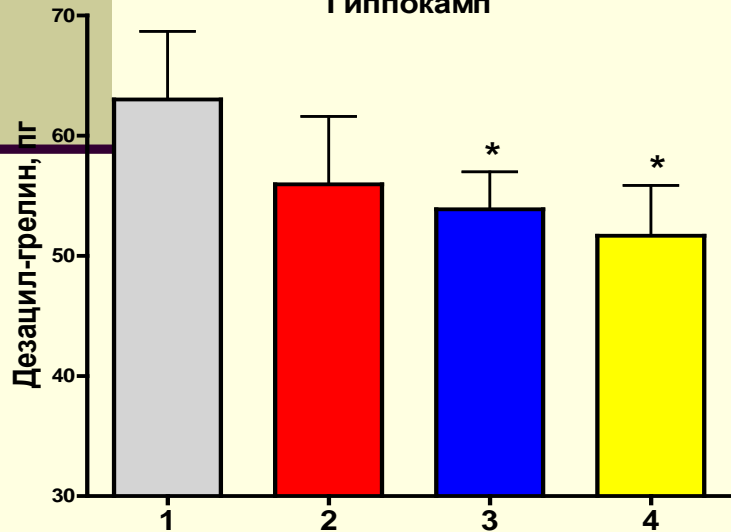
Миндалина



Гипоталамус



Гиппокамп



При хронической алкоголизации выявлено снижение концентрации дезацил-грелина в структурах расширенной миндалины. В гиппокампе отмечалась тенденция к снижению концентрации дезацил-грелина во всех экспериментальных группах. В гипоталамусе отмечается резкое увеличение концентрации дезацил-грелина при 2х дневной отмене алкоголя по сравнению с другими группами.

1 – контроль

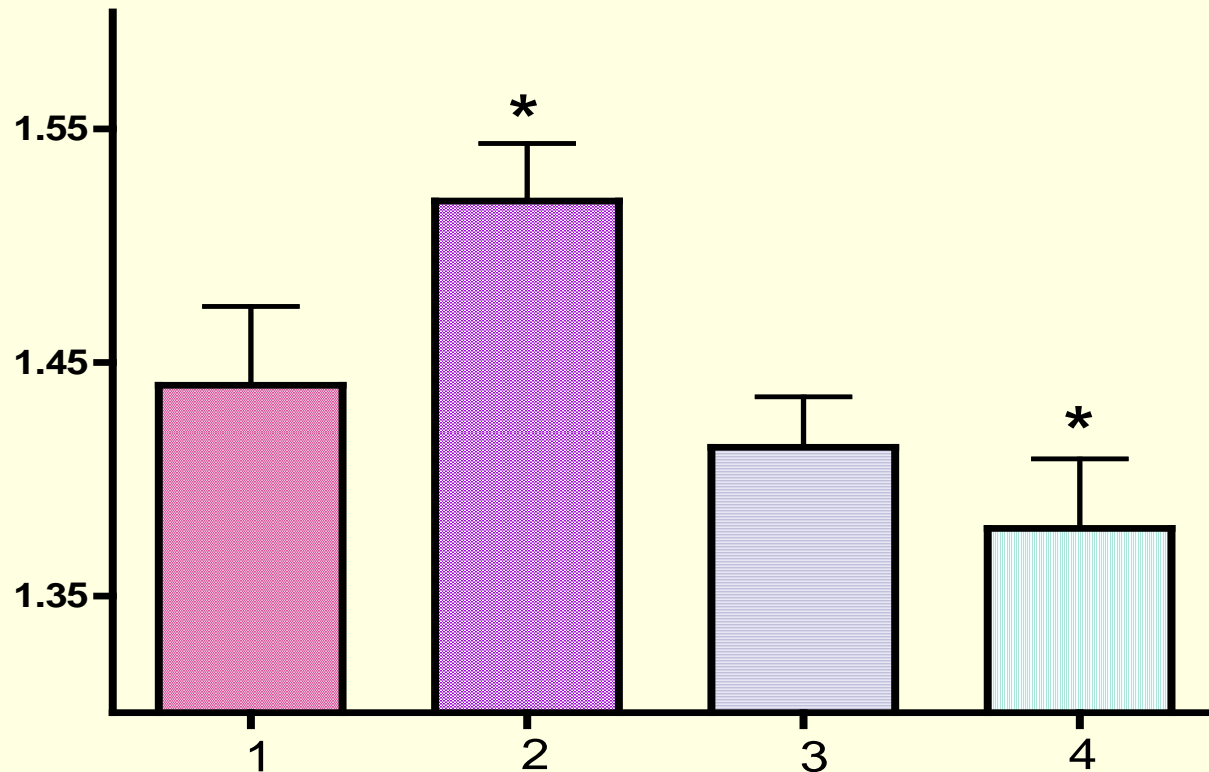
2 – хр. Алкоголизация

3 – 2х-дневная отмена

4 – 7-ми дневная отмена

* - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы.

Концентрации кортиколиберина (CRF) в сыворотке крови крыс после хронической алкоголизации



1 - control group

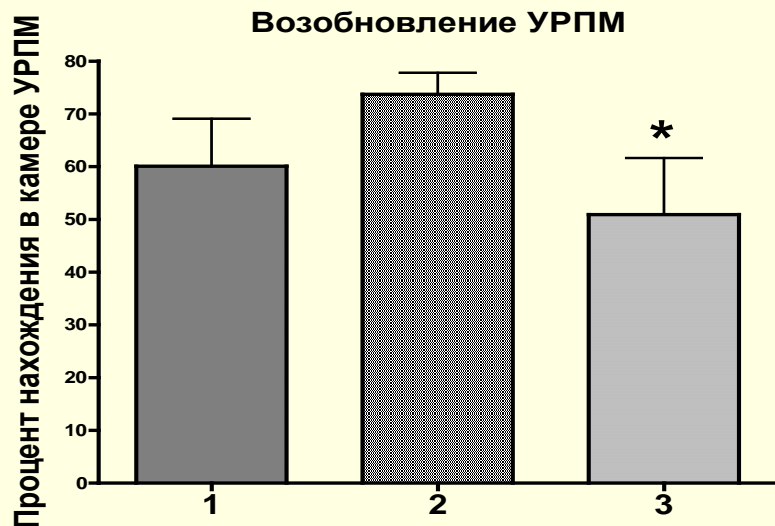
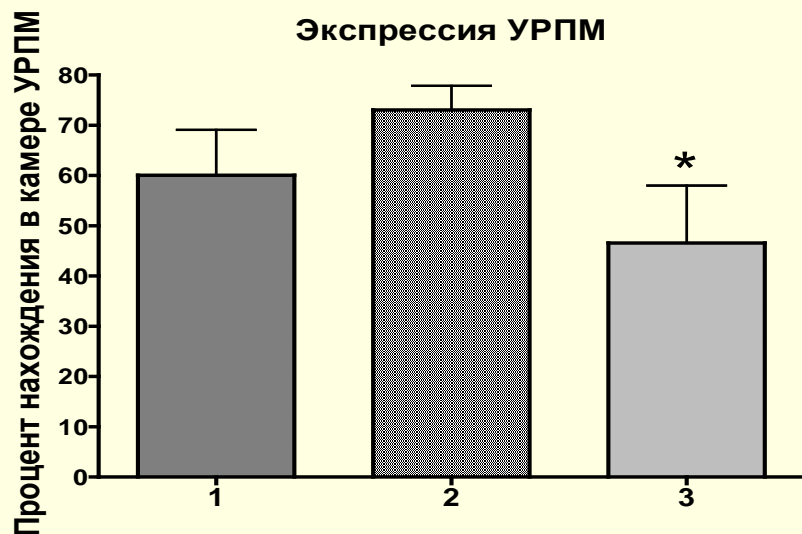
2 - chronic alcoholization during 6 months

3 - 1 day (clock around) of alcohol withdrawal

4 - 7 days of alcohol withdrawal

Y axis - CRF concentration (ng/ml)

Влияние интраназального введения антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 на УРПМ при хронической алкоголизации



Интраназальное введение пептидного антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 в дозе 20 мкг блокировало экспрессию УРПМ и возобновление УРПМ этанола.

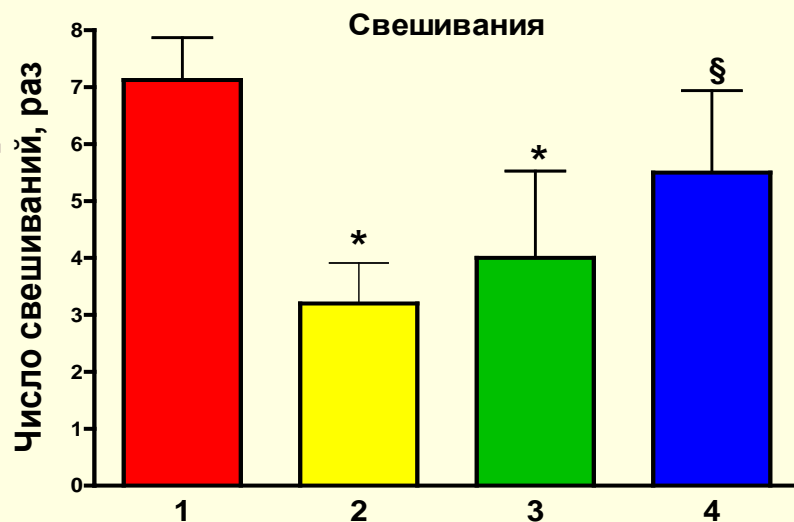
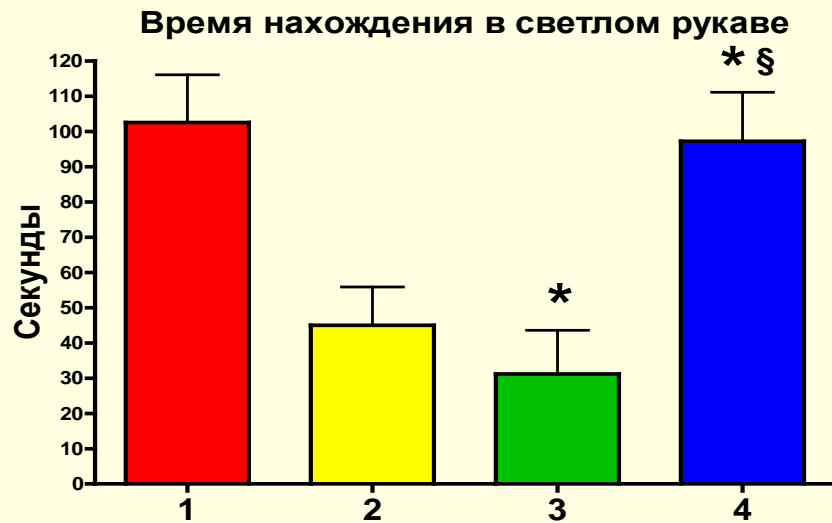
1- 0,9% NaCl интраназально

2- 0,9%NaCl
интраназально+этанол
в/бр

3- Антагонист рецепторов
грелина и/наз+этанол в/бр

* - $p \leq 0,05$ относительно
контрольной группы

Влияние интраназального введения антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 в «приподнятом крестообразном лабиринте» при хронической алкоголизации



■ Антагонист грелина [D-Lys3]-GHRP-6 восстанавливал поведение экспериментальных животных до контрольной группы. Антагонист рецепторов грелина [D-Lys3]-GHRP-6 у животных, не получавших этанол, снижал время нахождения животных в светлом рукаве установки.

1- 0,9% NaCl интраназально

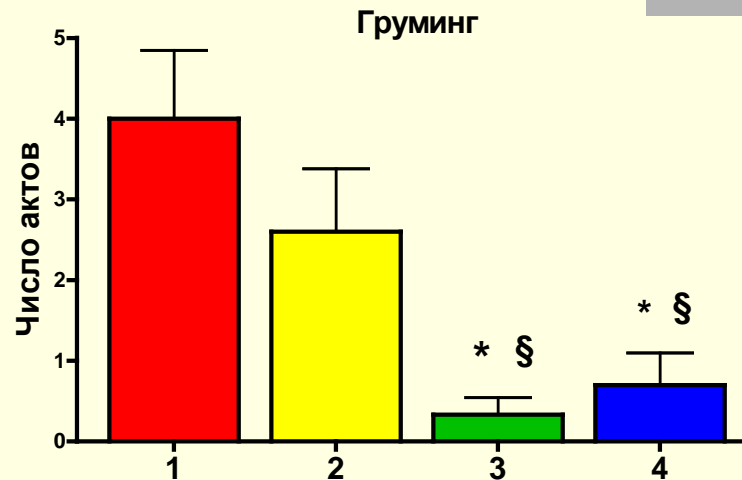
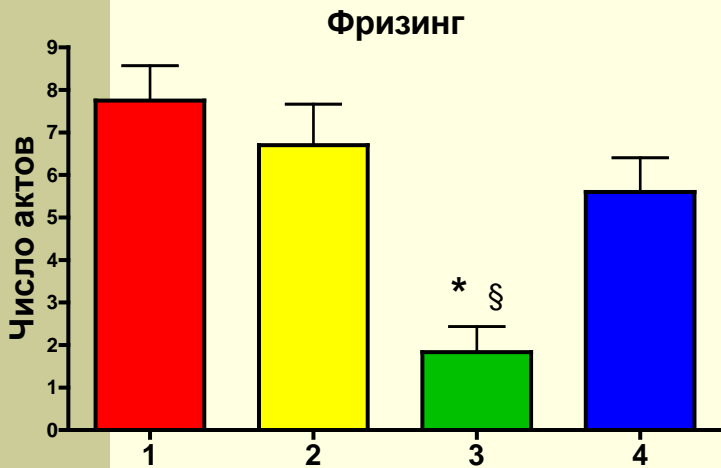
2-0,9%NaCl интраназально+этанол в/бр

3-Антагонист рецепторов грелина и/наз+0,9% NaCl в/бр

4-Антагонист рецепторов грелина и/наз+этанол в/бр

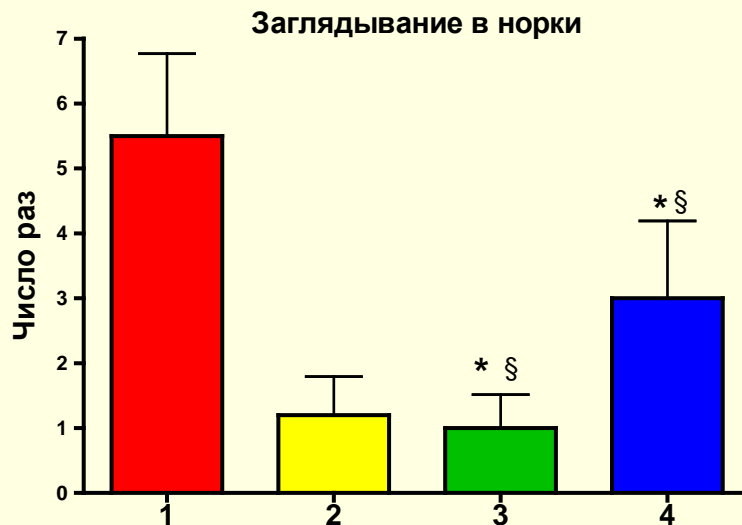
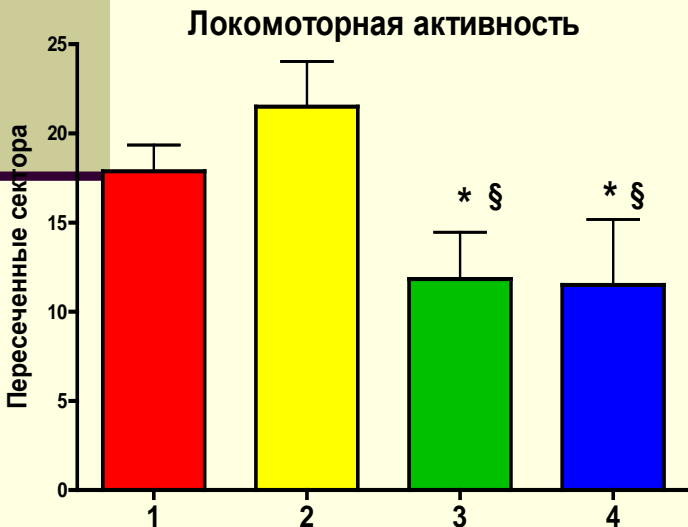
* - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы,
§ - $p \leq 0,05$ относительно группы животных, получавших этанол внутривенно.

Влияние интраназального введения антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 в «открытом поле» при хронической алкоголизации



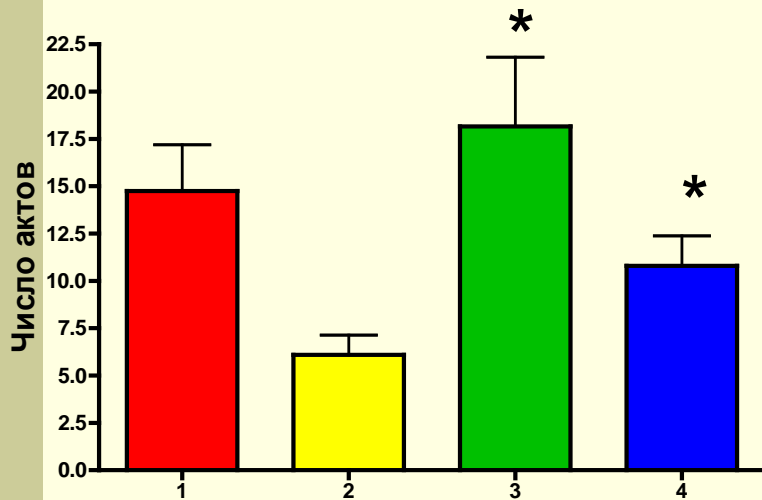
- 1- 0,9% NaCl интраназально
- 2- 0,9% NaCl интраназально + этанол в/бр
- 3- Антагонист рецепторов грелина и/наз + 0,9% NaCl в/бр
- 4- Антагонист рецепторов грелина и/наз + этанол в/бр

* - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы,
 § - $p \leq 0,05$ относительно группы животных, получавших этанол в/бр.

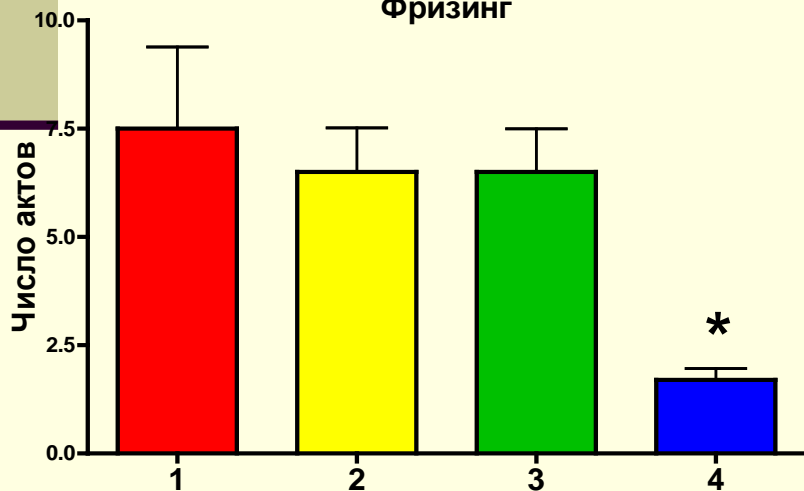


Влияние интраназального введения антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 на поведение в тесте «чужак-резидент» при хронической алкоголизации

Коммуникативные акты поведения



Фризинг



■ Антагонист рецепторов грелина [D-Lys3]-GHRP-6 увеличивал коммуникативную активность, снижал защитное поведение животных. Актов агрессии в данном опыте выявлено не было

1 – 0,9% NaCl интраназально

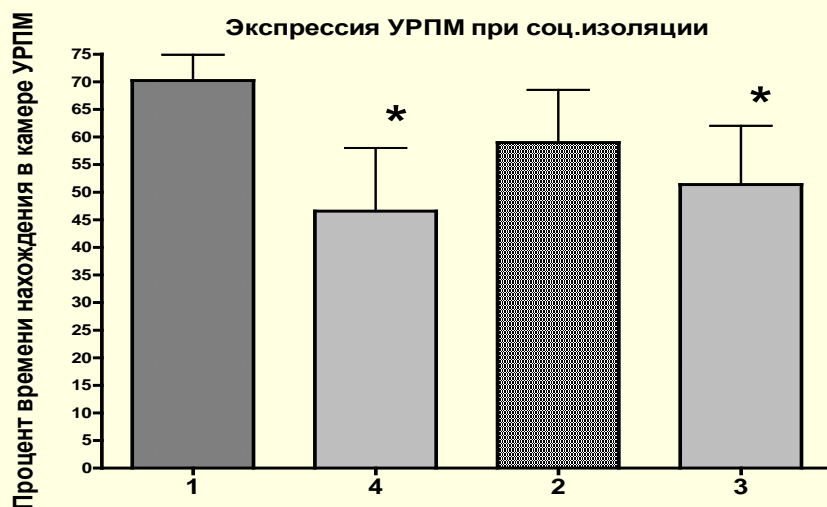
2 – 0,9%NaCl интраназально+этанол в/бр

3 – Антагонист рецепторов грелина и/наз+0,9% NaCl в/бр

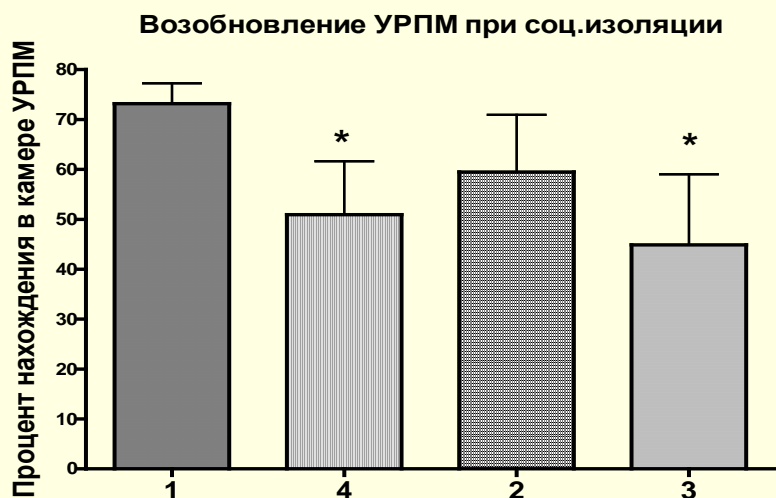
4 – Антагонист рецепторов грелина и/наз+этанол в/бр

* - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы, § - $p \leq 0,05$ относительно группы животных, получавших этанол внутривенно.

Влияние интраназального введения антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 на УРПМ этанола крыс, выращенных в условиях социальной изоляции



- Интраназальное введение пептидного антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 животным, выращенным в условиях изоляции, блокировало экспрессию УРПМ и возобновление УРПМ этанола после угашения.

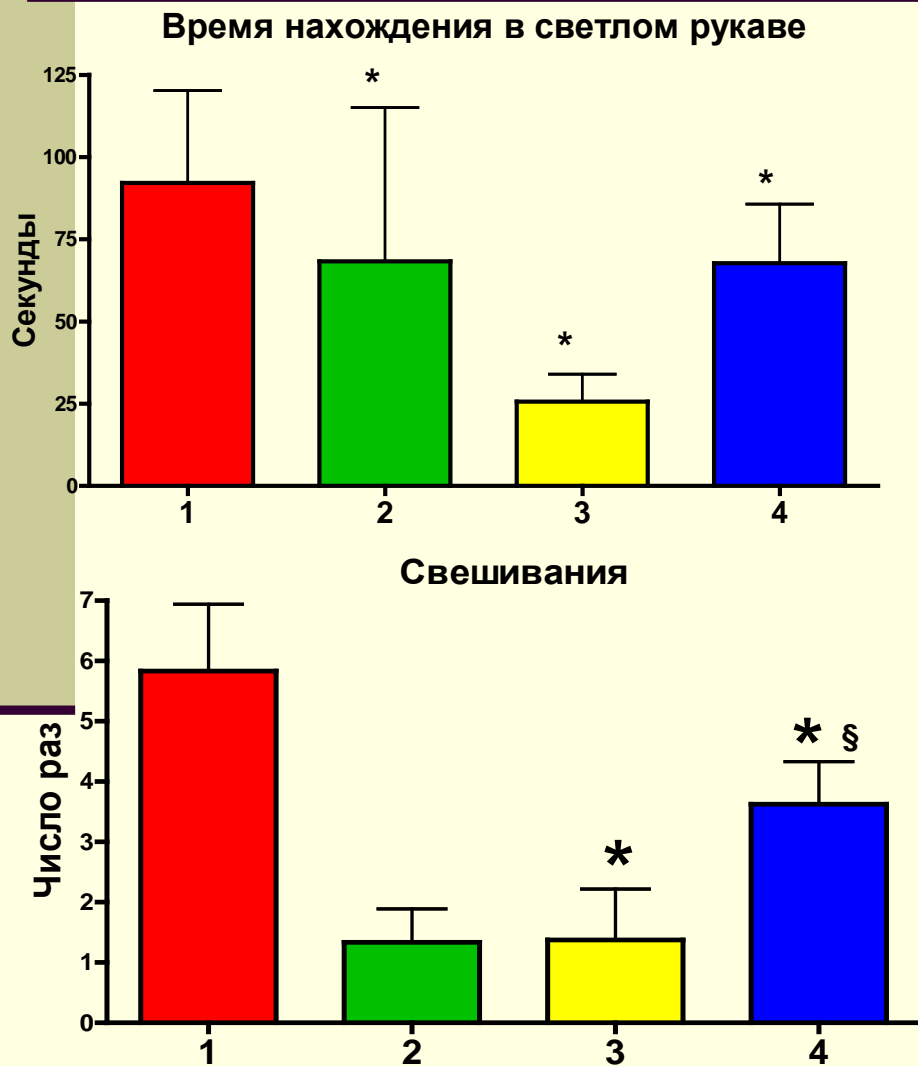


- 1 – Крысы, выращенные в сообществе
- 2 – Крысы, выращенные в изоляции
- 3 – Крысы, выращенные в сообществе + [D-Lys3]-GHRP-6 интраназально
- 4 – Крысы, выращенные в изоляции + [D-Lys3]-GHRP-6 интраназально
- * - $p \leq 0,05$ по сравнению с животными, выращенными в сообществе

Моделирование психоэмоциональной травмы у крыс помещением в клетку с голодным питоном



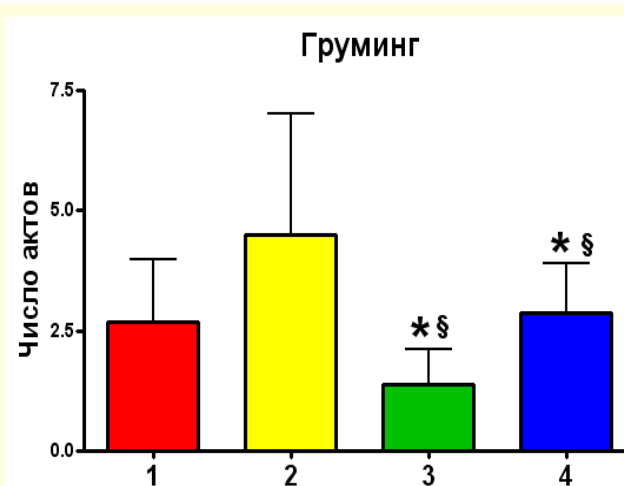
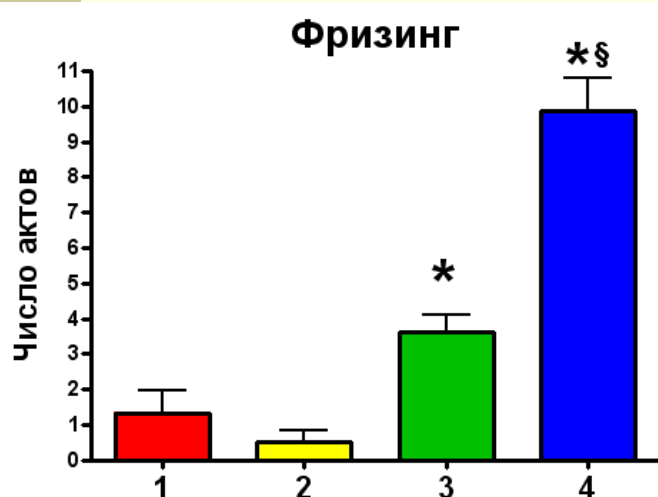
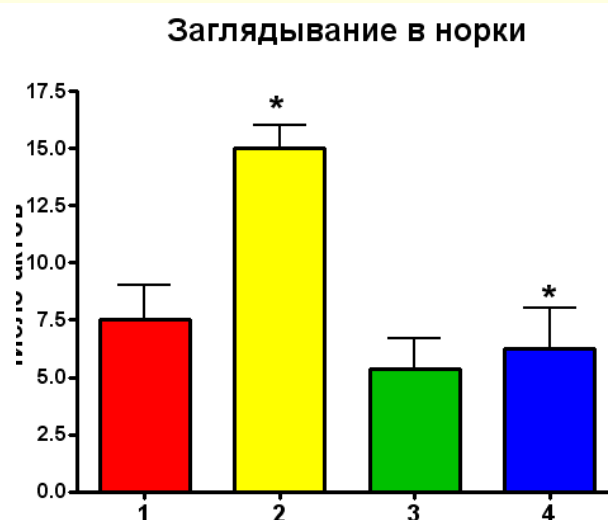
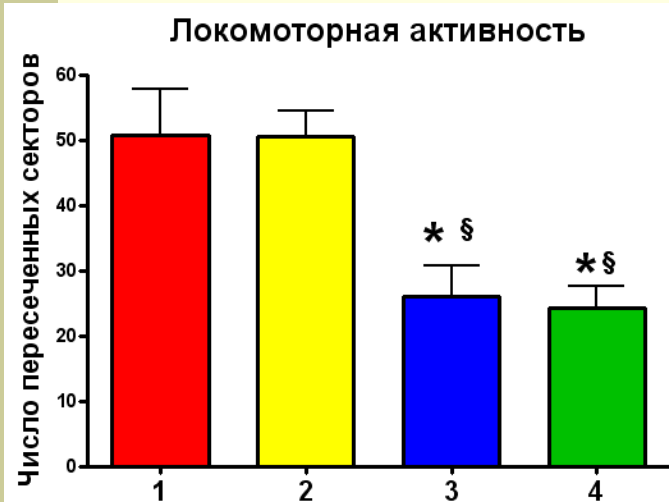
Влияние интраназального введения грелина и антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 на поведение животных с постстрессовым расстройством в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»



■ Антагонист грелина обладал анксиогенным действием, снижая время нахождения животного в светлом рукаве установки, а также число свешиваний. Грелин, наоборот, показал себя как умеренный анксиолитик, увеличивая данные показатели.

- 1 – нестрессированные животные
 - 2 – стрессированные животные
 - 3 – стрессированные животные, получавшие [D-Lys3]-GHRP-6 и/наз
 - 4 – стрессированные животные, получавшие грелин и/наз
- * - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы, § - $p \leq 0,05$ относительно животных с постстрессовым расстройством.

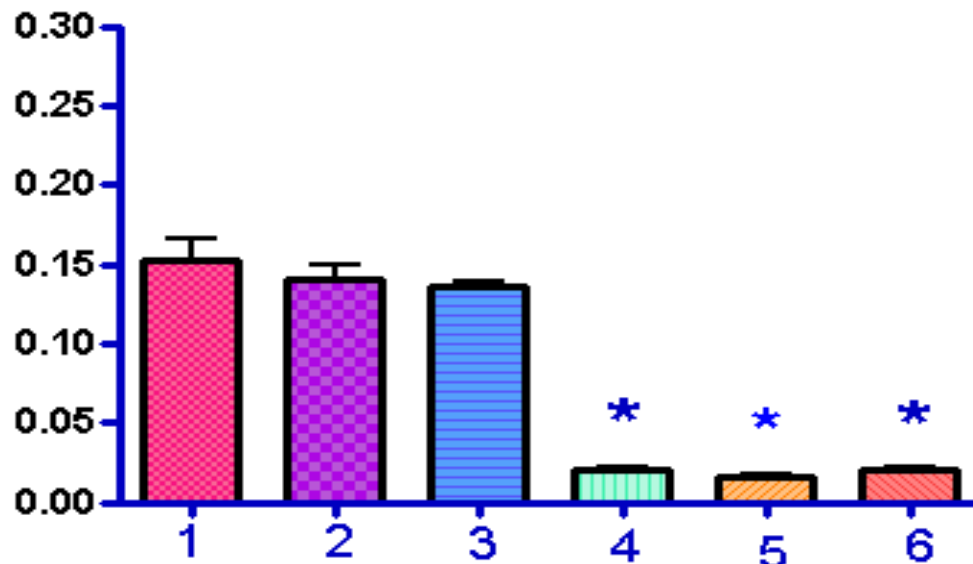
Влияние интраназального введения грелина и антагониста грелина [D-Lys3]-GHRP-6 на поведение животных с постстрессовым расстройством в тесте «открытое поле»



- 1 – нестрессированные животные
 - 2 – стрессированные животные
 - 3 – стрессированные животные, получавшие [D-Lys3]-GHRP-6 и/наз
 - 4 – стрессированные животные, получавшие грелин и/наз
- * - $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы, § - $p \leq 0,05$ относительно животных с постстрессовым расстройством.

Содержание дезацилгрелина в головном мозге крыс после психоэмоционального стресса и введения грелина или его антагониста

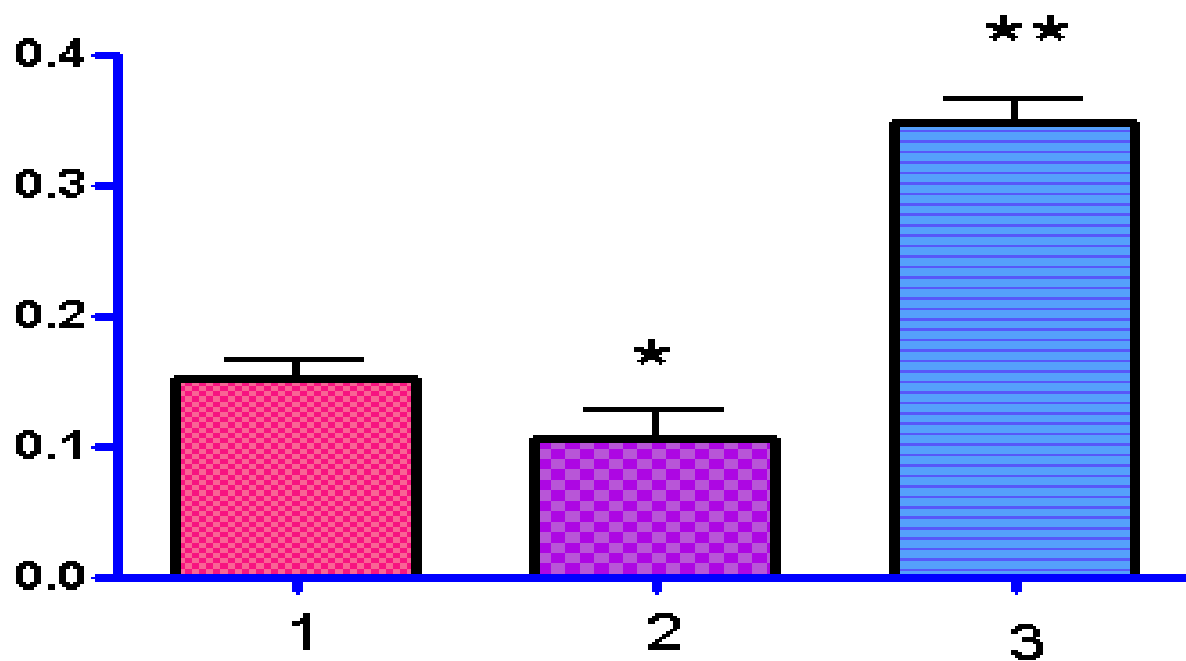
DAG concentrations
(ng DAG/mg of total
protein)



- 1 - control group
- 2 - ghrelin administration
- 3 - ghrelin antagonist administration
- 4 - psychotraumatic exposure
- 5 - pst exposure + ghrelin administration
- 6 - pst exposure + ghrelin antagonist DL6 administration

Содержание дезацилгрелина в структурах головного мозга интактных крыс

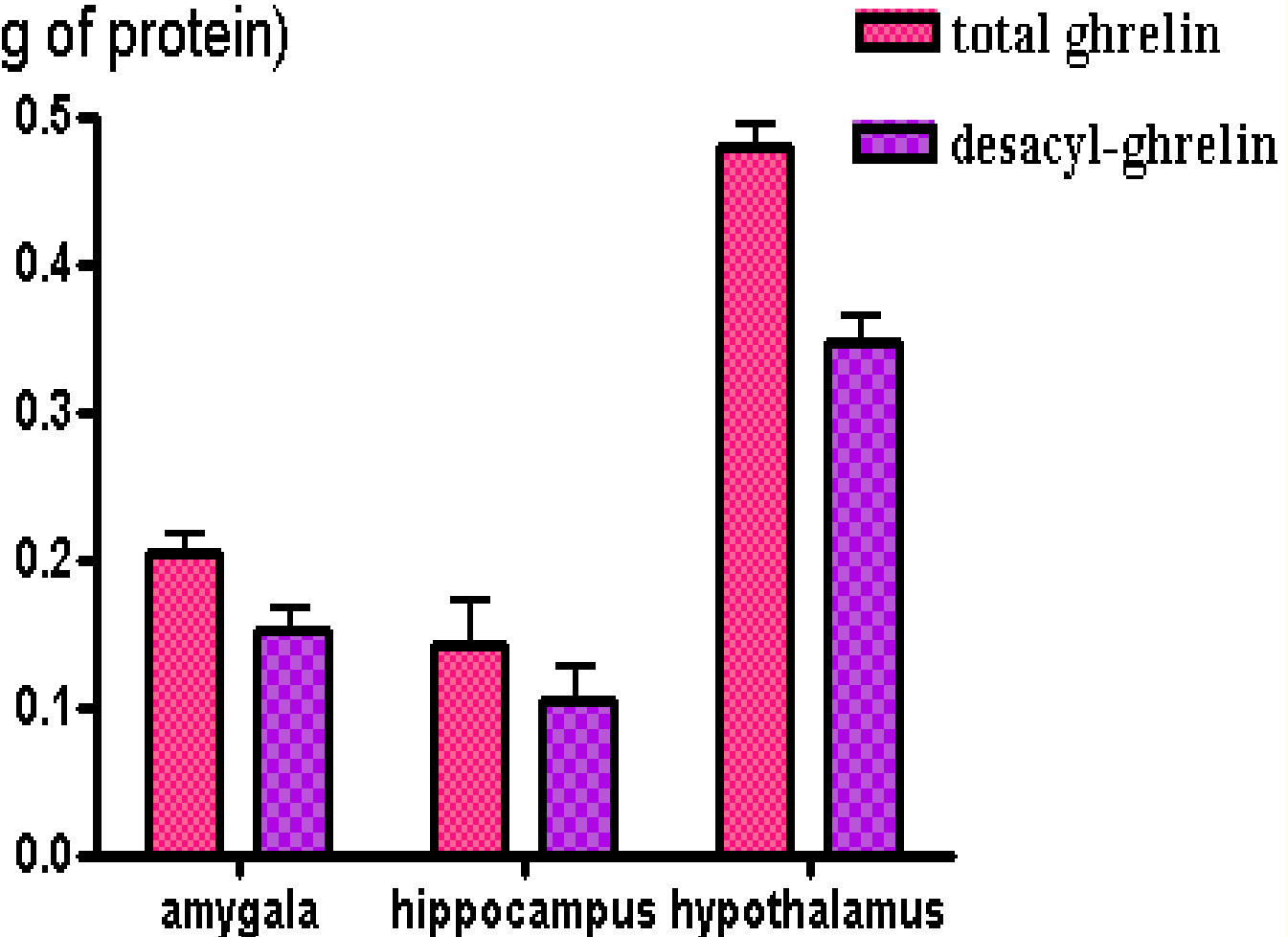
DAG concentrations
ng/ptotein mg



1- amygdala
2 - hippocampus
3 - hypothalamus

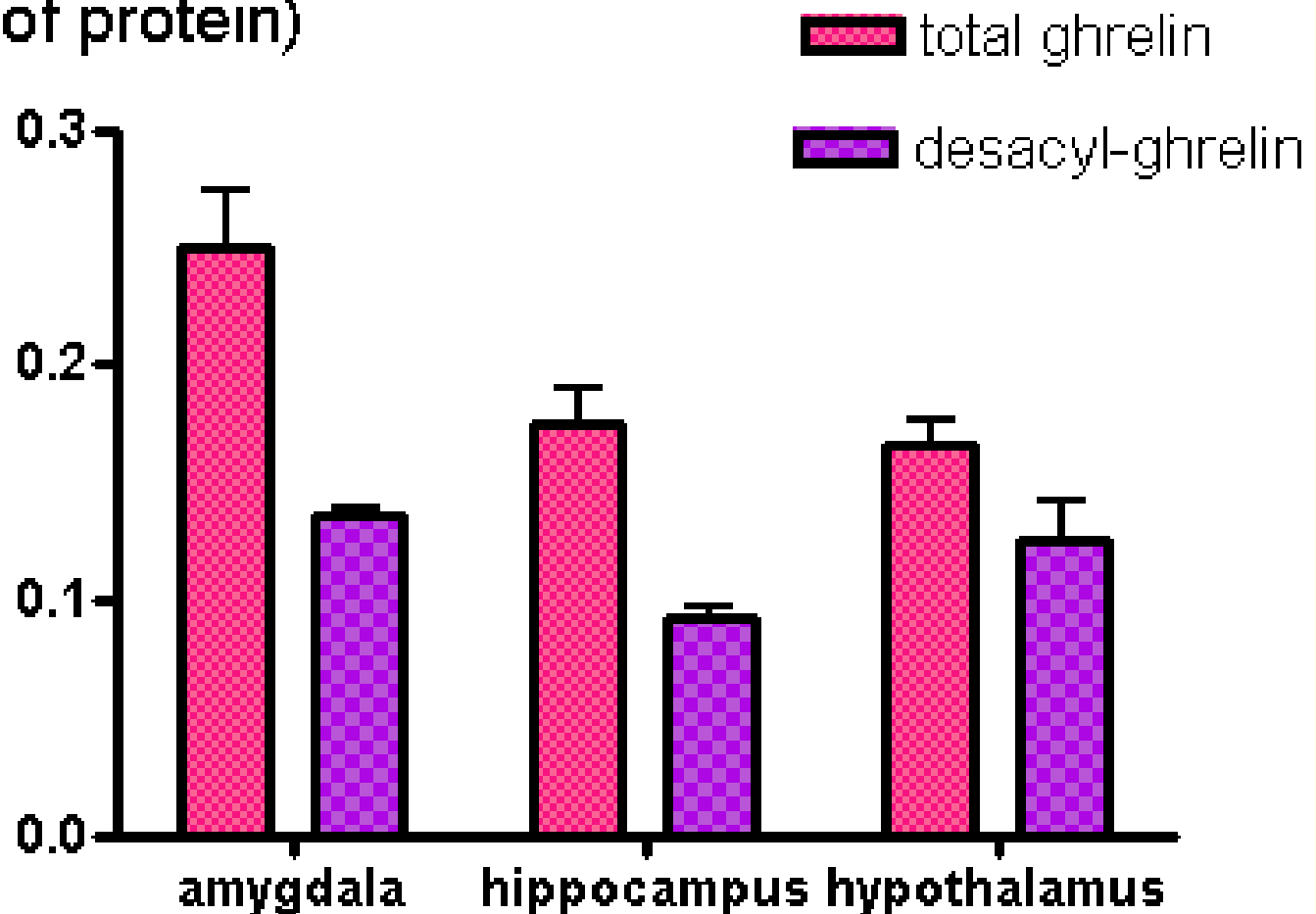
Содержание общего грелина и дезацилгрелина в структурах головного мозга интактных крыс

ghrelin concentraion
(ng/mg of protein)

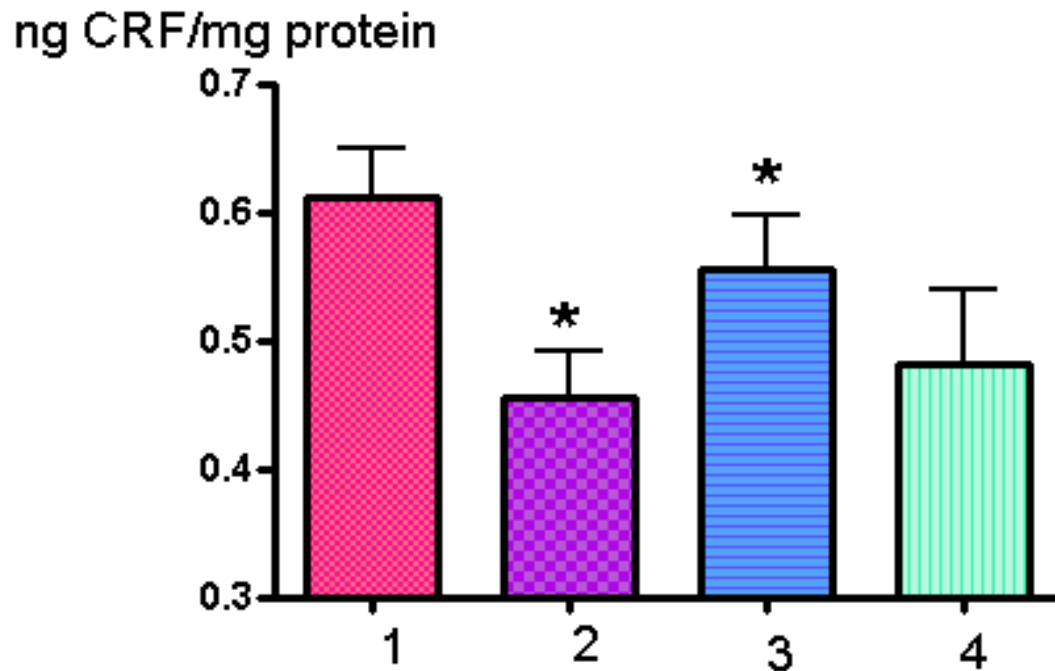


Содержание общего грелина и дезацилгрелина в структурах головного мозга после интраназального введения антагониста грелина D-Lys3-GHRP6

ghrelin concentration
(ng/mg of protein)



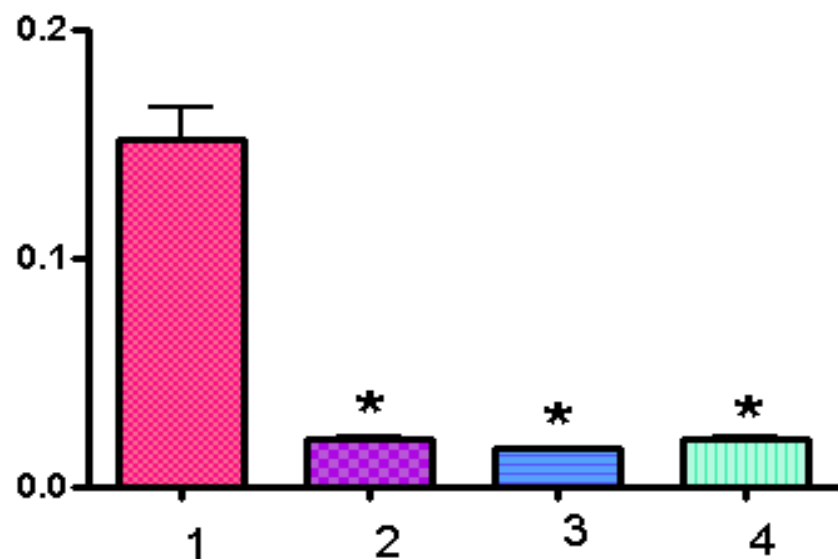
Содержание CRF в амигдале крыс после психозэмоционального стресса и введения антагонистов рецепторов орексина и грелина



- 1 - control group
- 2 - psychotraumatic exposition
- 3 - pst exposition + orexin antagonist SB
- 4 - pst exposition + ghrelin antagonist

Содержание дезацилгрелина в амигдале крыс после психозэмоционального стресса и введения грелина или его антагониста

pg ghelin/mg protein



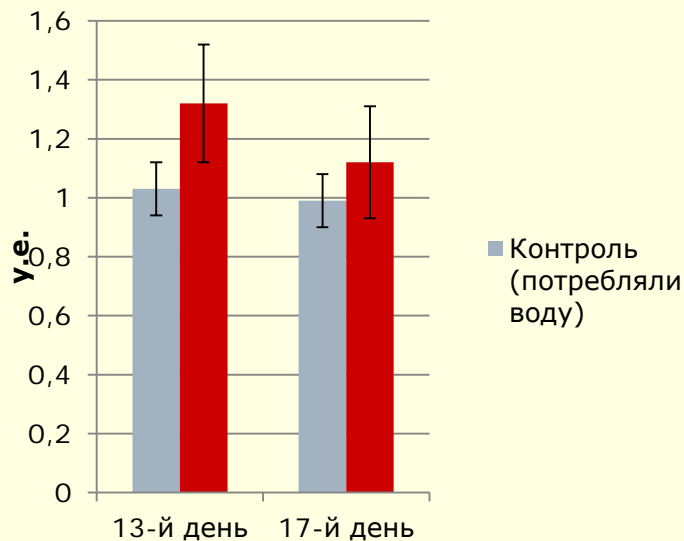
1 - control group

2 - psychotraumatic exposition

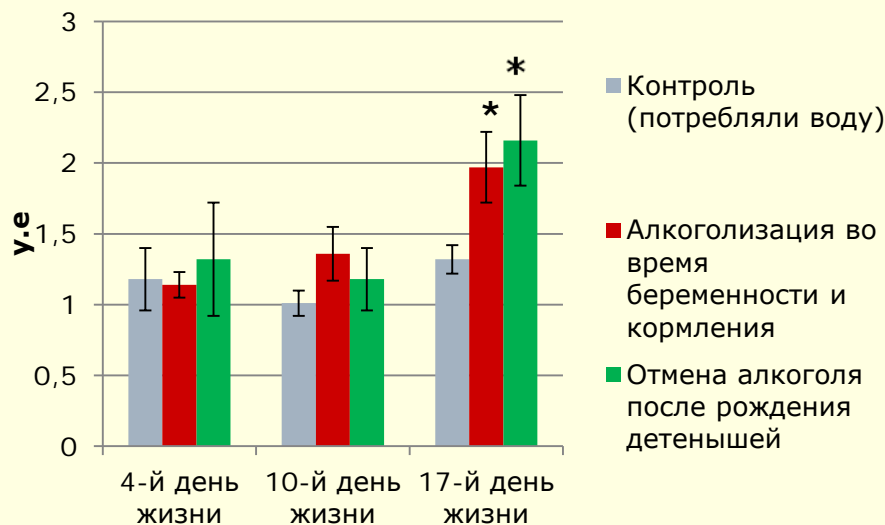
3 - pst exposition + ghrelin administration

4 - pst exposition + ghrelin antagonist DL6 administration

Влияние алкоголизации крыс в период беременности на экспрессию мРНК рецептора грелина в структурах переднего мозга крысят в пренатальный и ранний постнатальный периоды



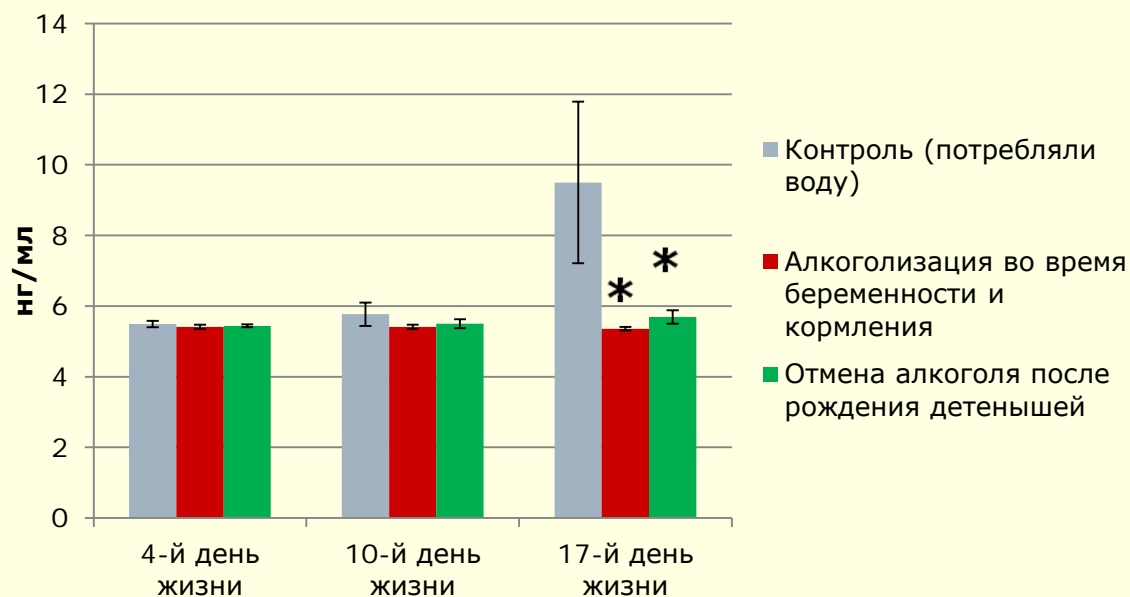
Пренатальный период



Постнатальный период

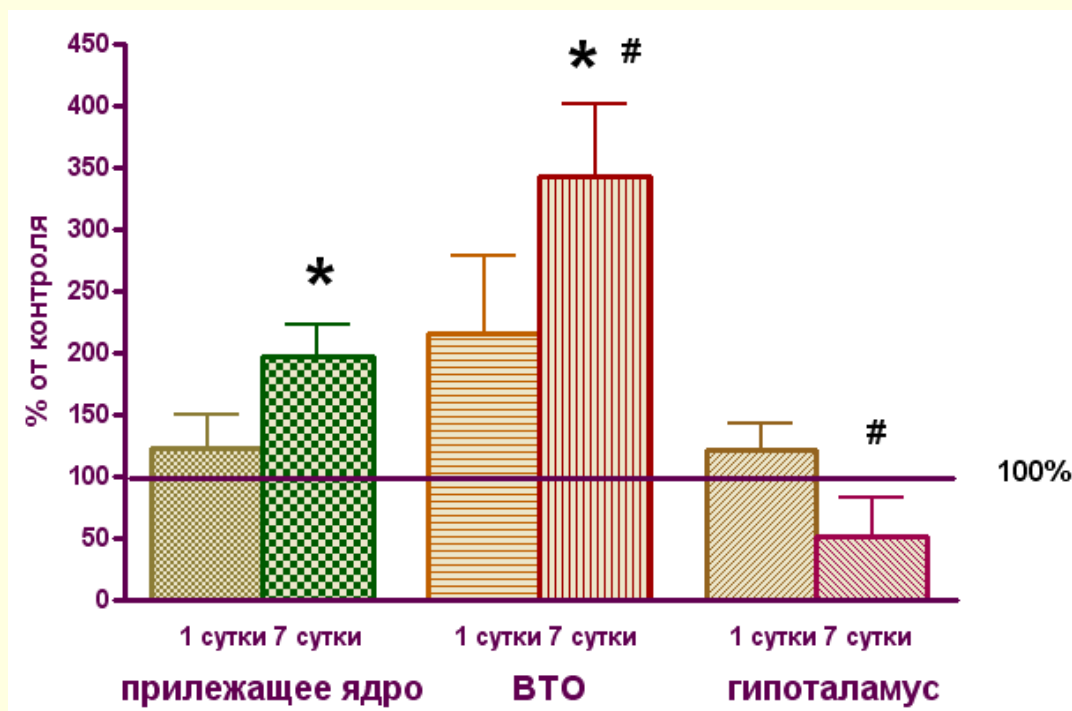
Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Влияние алкоголизации матерей на содержание дезацилгрелина в сыворотке крови рожденных от них крысят в ранний постнатальный период



Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Влияние отмены алкоголя после хронической алкоголизации на содержание мРНК грелинового рецептора в структурах мозга крыс

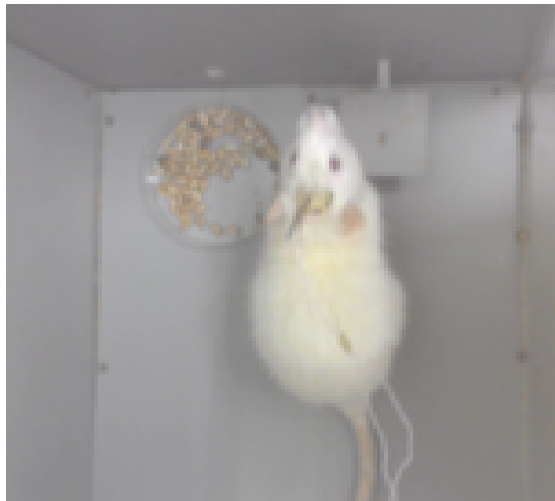


* – $p < 0,05$ по отношению к группе интактных животных

– $p < 0,05$ по отношению к группе алкоголизованных крыс;

Тест пищевой самодепривации

Предварительно у животных выработывали условный пищевой рефлекс, стимуляцию гипоталамуса производили только при нажатии педали

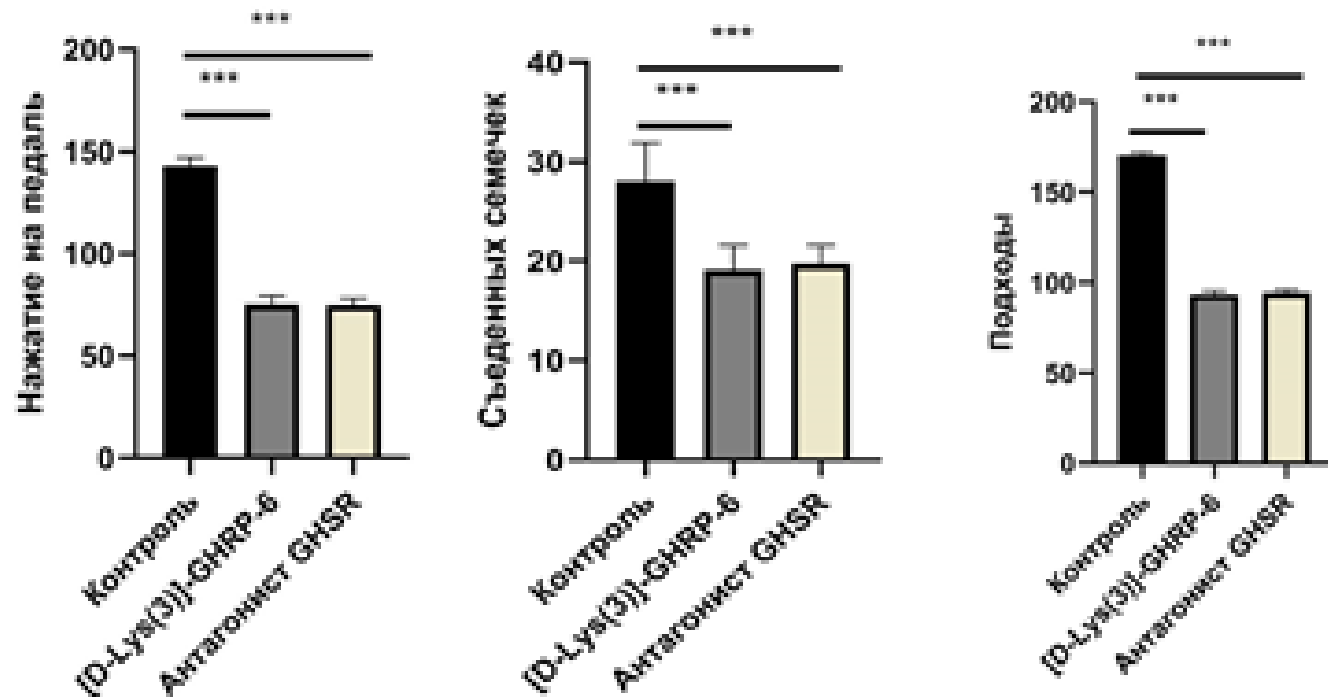


Самостимуляция
латерального
гипоталамуса



Пищевое поведение

Действие антагонистов грелина на реакцию пищевой самодепривации, вызванной электрической самостимуляцией латерального гипоталамуса у «сытых» крыс



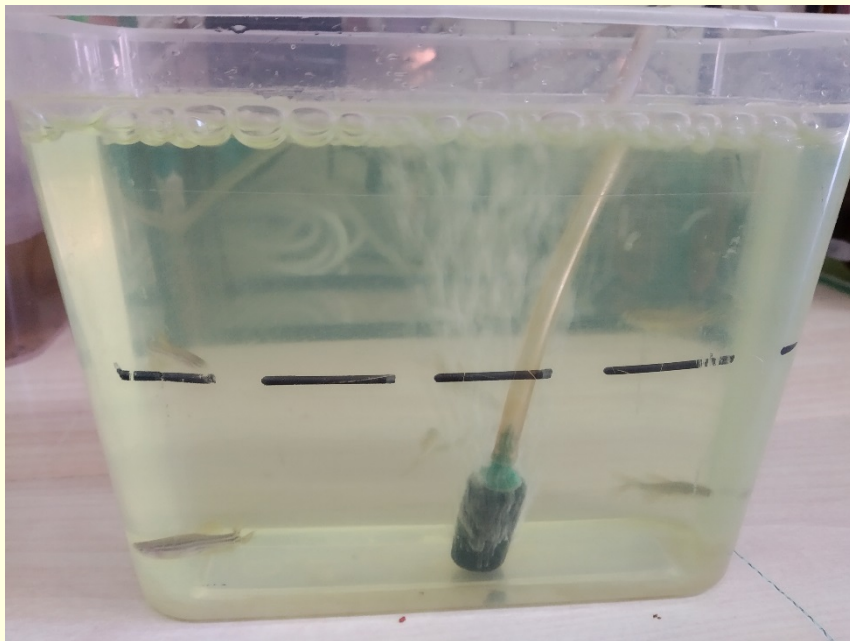
- *Примечание: *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем, ns - $p > 0,9$ по сравнению с [D-Lys(3)]-GHRP-6.*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

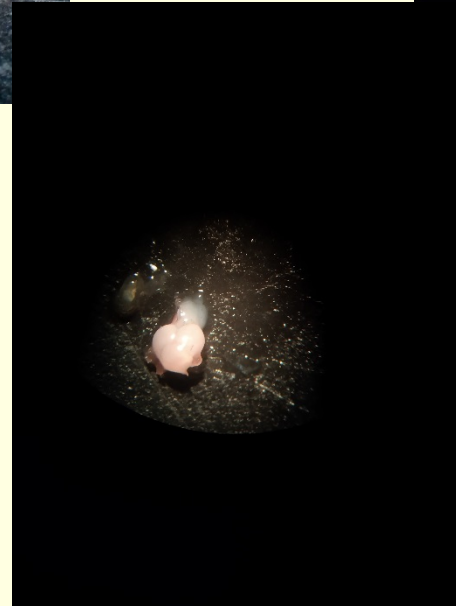
- ❑ Результаты доказывают, что пренатальное действие алкоголя негативно влияет на созревание DA-ергической и грелиновой систем мозга, вызывая дисбаланс грелиновой системы.
- ❑ Алкоголизация матерей приводит к снижению уровня дезацилгрелина в сыворотке в ранний постнатальный период у плодов, однако экспрессия мРНК рецептора грелина в мозге компенсаторно увеличивается.
- ❑ Хроническая алкоголизация взрослых крыс влияет на грелиновую систему. В процессе алкоголизации происходит уменьшение содержания дезацилгрелина в сыворотке крови с компенсаторным увеличением экспрессии грелинового рецептора в мозге. В условиях отмены алкоголя наблюдается увеличение содержания дезацилгрелина (тенденция к нормализации).
- ❑ Хроническая алкоголизация снижает содержание грелина в сыворотке крови и увеличивает экспрессию мРНК рецепторов грелина в вентральной тегментальной области и прилежащем ядре после отмены этанола.

**Исследование системы
грелина в головном мозге
*Danio rerio***

Поведенческие исследования *Danio rerio* (слева) и стрессирование *Danio rerio* хищником циклозой (справа)



Препаративное исследование головного мозга *Danio rerio*



Почему мы изучаем систему грелина в головном мозге *Danio rerio*?

- Пептид грелин и рецепторы грелина идентифицированы у многих позвоночных, в том числе и у *Danio rerio*;
- Грелин хорошо описан для *Danio rerio*;
- Грелин выполняет многочисленные функции в головном мозге;
- Мы одними из первых обнаружили значимый ответ системы грелина на стрессорное воздействие у крыс (Khokhlov et al., 2017).

Эксперимент 2

Группы *Danio rerio*

- 1-я группа → активный контроль
(введение физраствора);
- 2-я группа → экспозиция хищника;
- 3-я группа → введение транквилизатора,
растворенного в воде;
- 4-я группа → экспозиция хищника + введение
транквилизатора

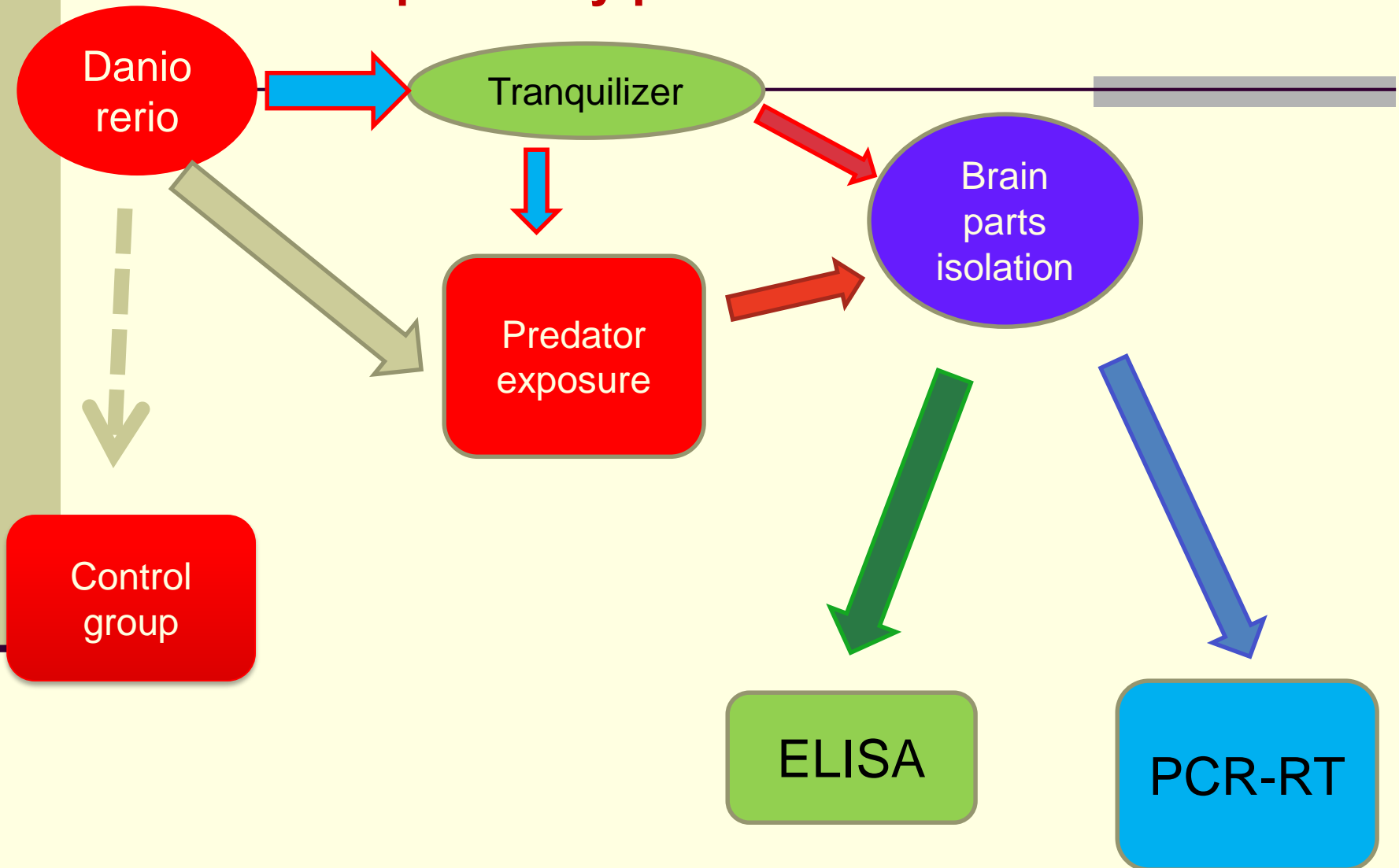
Дизайн экспериментов с *Danio rerio*

- Экспериментальные рыбы: *Danio rerio* (Teleosts, Cyprinidae), 17 – 20 мм в длину, 500 – 600 мг массой
- Рыба-хищник: *Cyathostoma nicaraguensis* (Teleosts, Cyathidae)
- Регистрация поведения: программное оборудование для зебрафиш (zebrafish research)
- Гомогенизация: LN₂ Cryomill 200 (Retsch, Germany)
- ELISA: Synergy-2 (Biotek, USA), Ghrelin fish kit (Phoenix, USA)
- PCR-RT в реальном времени

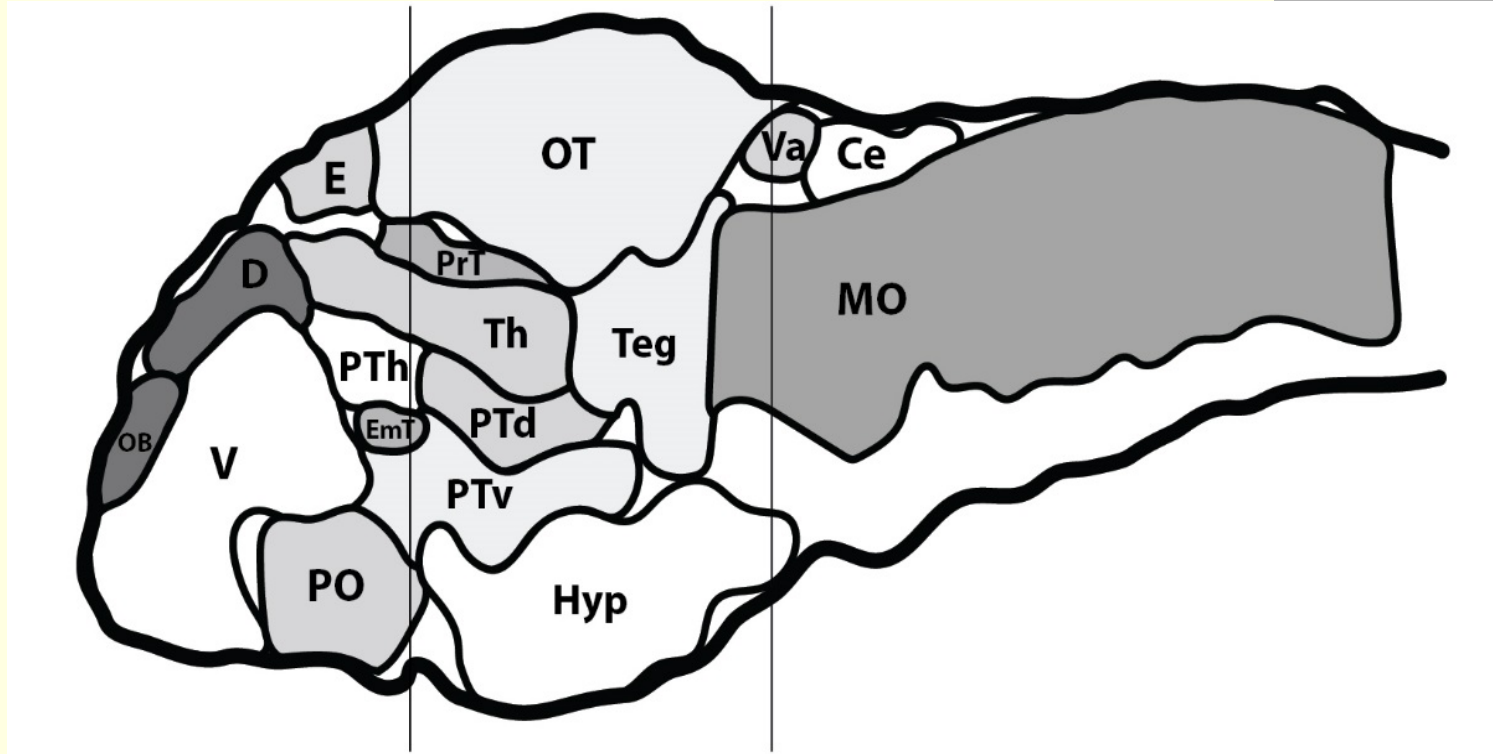
Основные процедуры в экспериментах с *Danio rerio*

1. Регистрация поведенческих паттернов посредством видеозаписи и последующей компьютерной обработки
2. Эвтаназия рыб и выделение структур головного мозга
3. Иммунохимическое и молекулярное исследование с применением ELISA и PCR

Диаграмма экспериментального дизайна исследований грелина у рыб *Danio rerio*

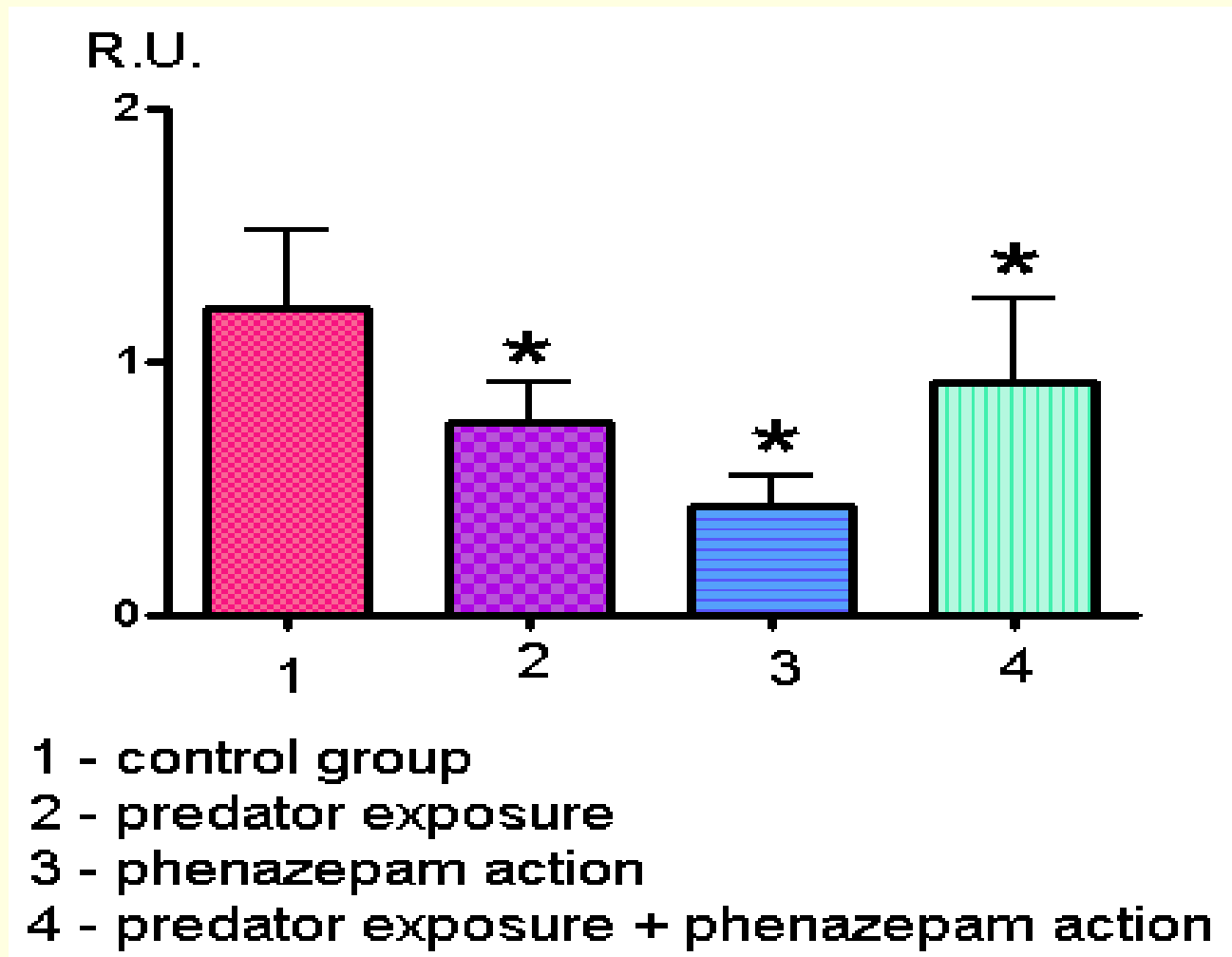


Реконструкция отделов головного мозга *Danio rerio*, использованная для забора материала



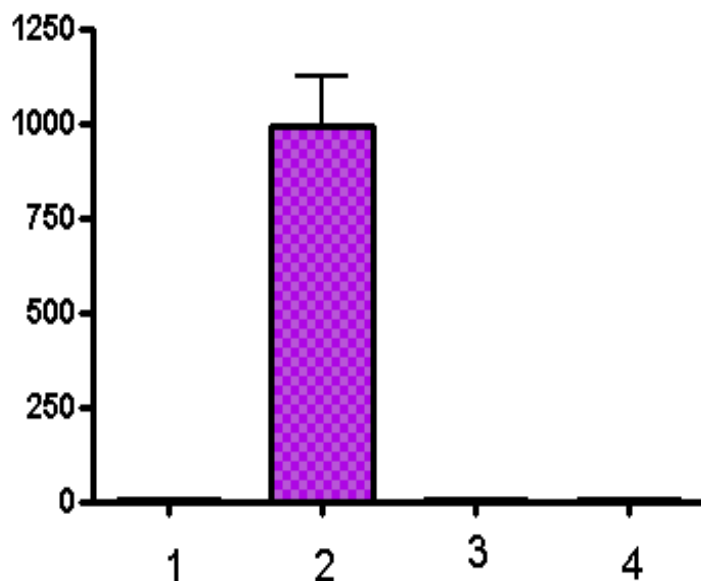
Ce – cerebellar plate; D – dorsal telencephalon/pallium; E – epiphysis; EmT – eminentia thalami; Hyp – hypothalamus; MO – medulla oblongata; OB – olfactory bulb; OT – optic tectum; PO – preoptic area; PrT – pretectum; PTd – posterior tuberculum dorsal part; PTh – prethalamus; PTv – posterior tuberculum ventral part; Teg – tegmentum; Th – thalamus; V – ventral telencephalon/subpallium; Va – valvula cerebelli.

Экспрессия мРНК грелина в головном мозге *Danio rerio* после экспозиции с хищником и введения транквилизатора феназепама



Содержание грелина в переднем мозге *Danio rerio* после психоэмоционального стресса и введения феназепама

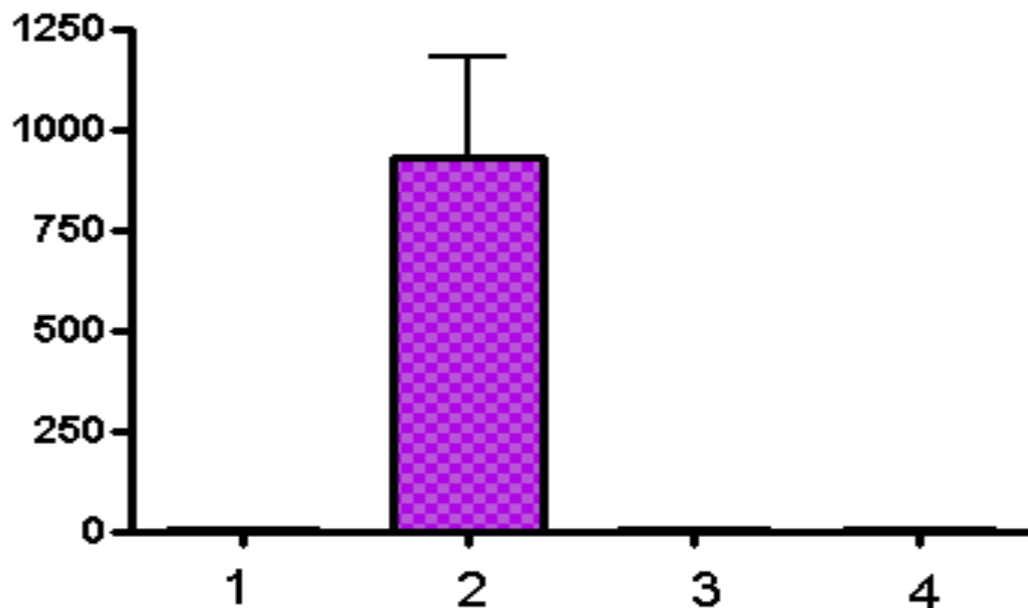
ghrelin concentraion
(pg/mg protein)



- 1 - control group
- 2 - predator exposure
- 3 - phenazepam action
- 4 - predator exposure + phenazepam action

Содержание грелина в среднем мозге *Danio rerio* после психоэмоционального стресса и введения феназепама

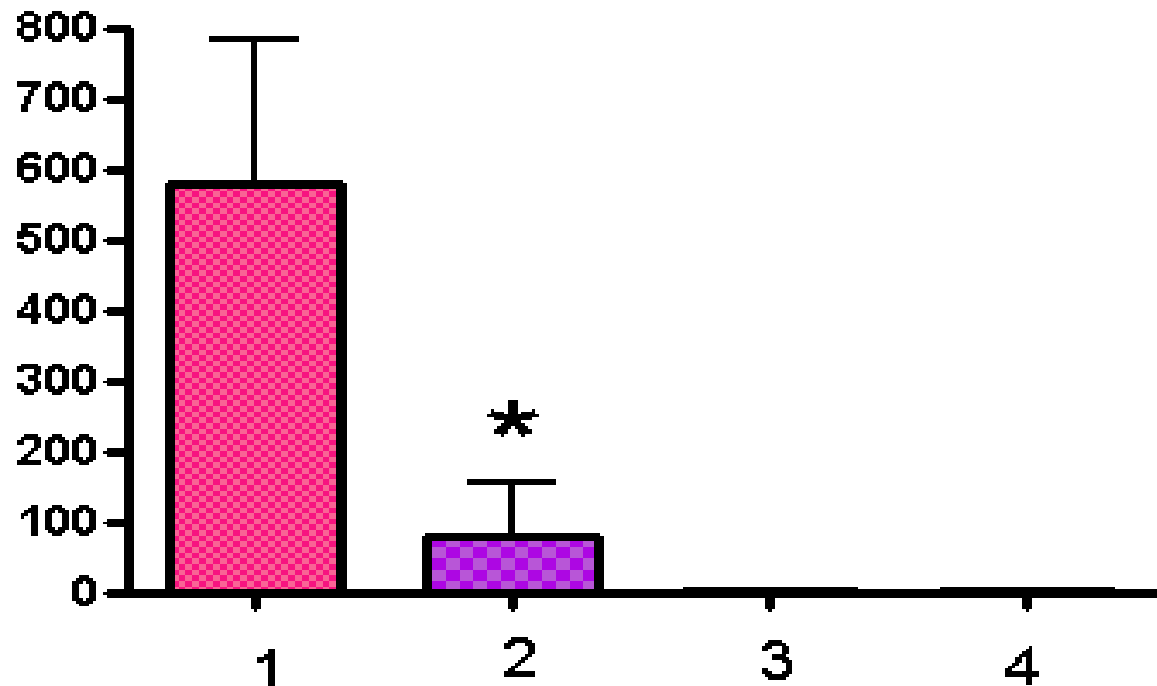
ghrelin concentraion
(pg/mg protein)



- 1 - control group
- 2 - predator exposure
- 3 - phenazepam action
- 4 - predator exposure + phenazepam action

Содержание грелина в мозжечке *Danio rerio* после психоэмоционального стресса и введения феназепама

ghrelin concentraion
(pg/mg protein)



1 - control group

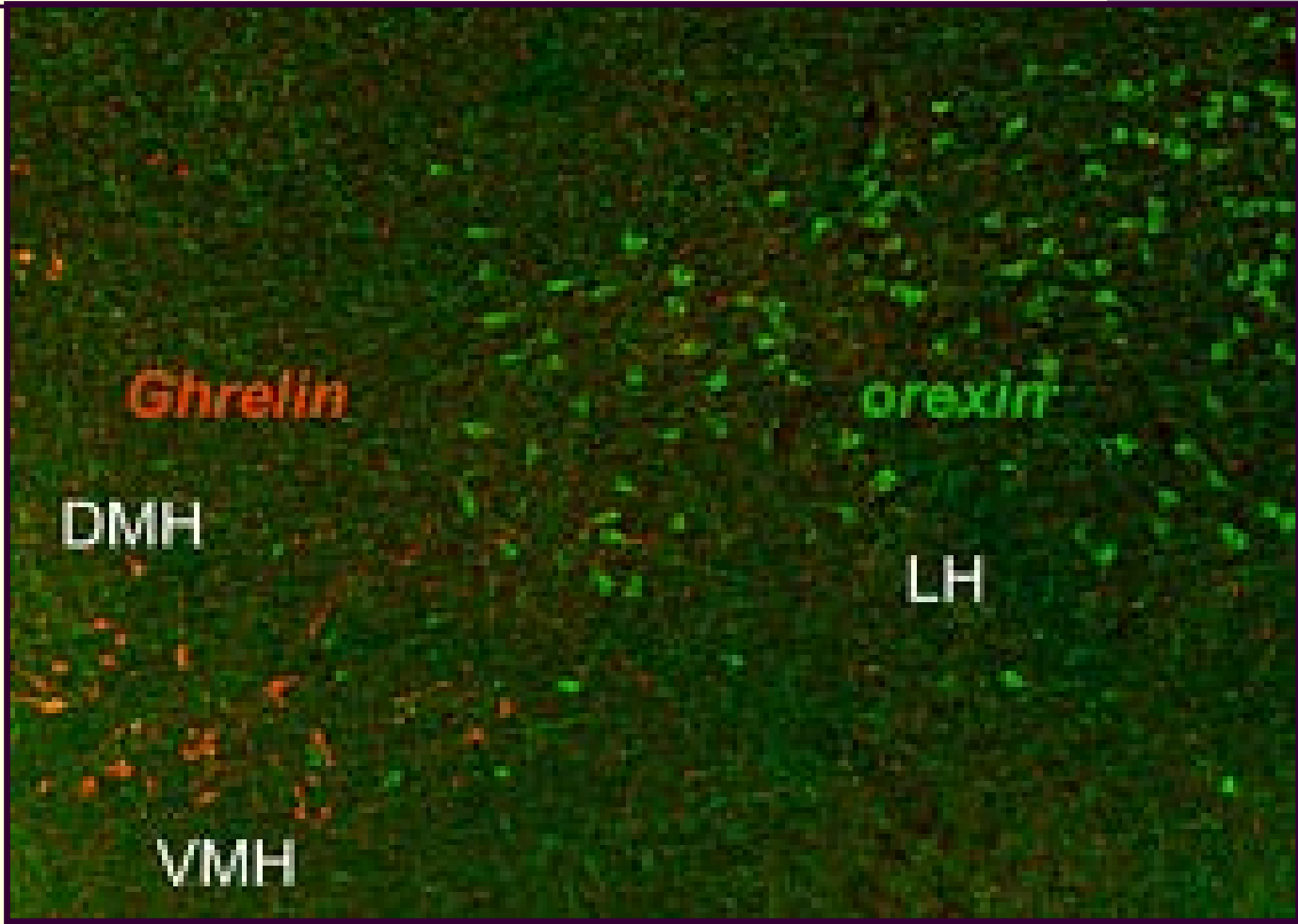
2 - predator exposure

3 - phenazepam action

4 - predator exposure + phenazepam action

Выводы

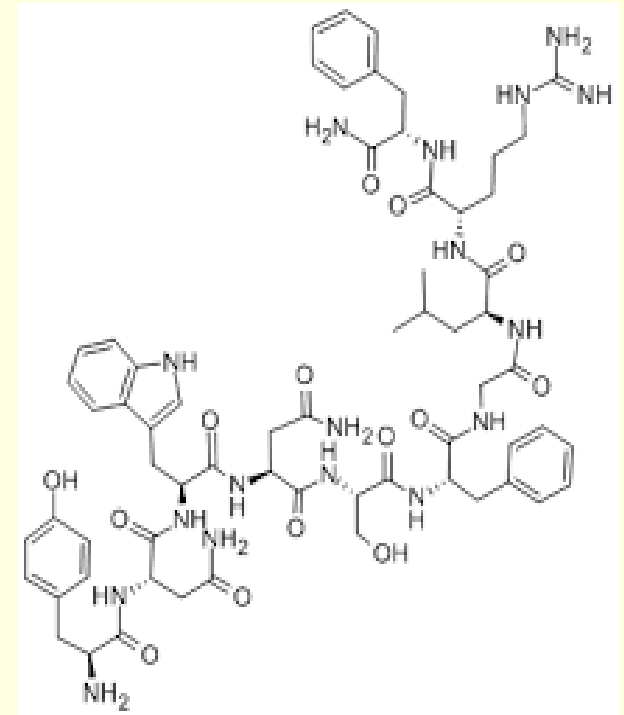
1. Структурам расширенной миндалины принадлежит управляющая и координирующая роль в регуляции подкрепляющих механизмов мозга, опосредуемых как медиаторами, так и нейропептидами.
2. Действие орексиновой системы осуществляется через стресс-зависимые системы мозга.
3. Хроническая алкоголизация повышает концентрацию орексина в сыворотке крови.
4. Антагонисты орексина снижают вызванную амфетамином самостимуляцию латерального гипоталамуса у крыс.
5. Антагонисты орексиновых рецепторов потенцируют действие антагонистов D2 рецепторов дофамина на вызванную амфетамином (фенциклидином, морфином), но не спонтанную самостимуляцию латерального гипоталамуса (по типу синергизма).
6. Антагонисты орексина могут рассматриваться как потенциальные средства антиалкогольной и антинаркотической направленности.



**Исследование пептидов
группы кисспептина в
половом поведении крыс
самцов**

Актуальность

- **Кисспептин** – пептидный продукт гена KiSS-1 и эндогенный агонист рецептора Kiss1. Кисспептин стимулирует секрецию гонадолиберина и играет важную роль в регуляции репродуктивной функции организма и полового поведения.
- Кисспетин-10 – С-концевой фрагмент кисспептина, обладающий физиологической активностью.



Цель исследования

Изучение фармакологических эффектов нейропептида кисспептина-10 в эмоционально-исследовательском и половом поведении в норме и условиях хронического стресса социальной изоляции.

Задачи исследования

1. Исследовать влияние кисспептина-10 на эмоционально-исследовательское и двигательное поведение у крыс самцов при интраназальном и внутрибрюшинном введении кисспептина-10.
2. Исследовать подкрепляющие свойства кисспептина-10 с помощью метода условной реакции предпочтения места.
3. Исследовать действие кисспептина-10 на половое поведение у самцов крыс при интраназальном и внутрибрюшинном введении кисспептина-10.
4. Исследовать влияние кисспептина-10 на уровень тестостерона в крови у крыс самцов.
5. Исследовать действие кисспептина-10 на половое поведение у самцов крыс с хроническим стрессом социальной изоляции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Фармакологический анализ
- Поведенческие методы
- Биохимические методы

Фармакологические вещества для анализа

- Кисспептин-10 («Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов», Россия)
- Бусерелина ацетат – синтетический аналог гонадотропин-рилизинг гормона («Фарм-Синтез» ООО, Россия)
- Йохимбина гидрохлорид – селективный блокатор альфа₂-адренорецепторов (фармакологическая компания «Здоровье», Россия)

Методы исследования поведения

Открытое поле



Крестообразный лабиринт

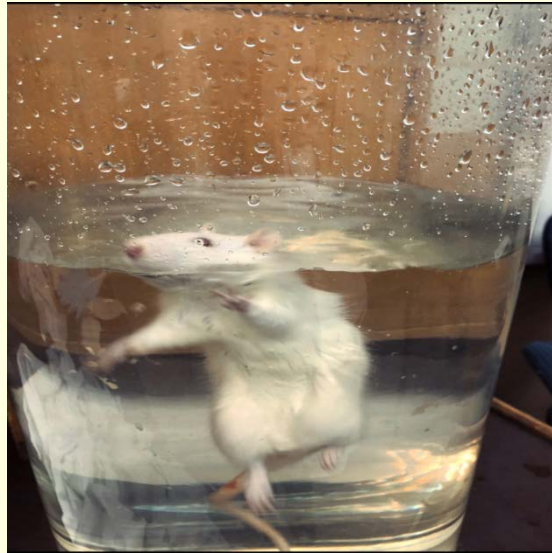


Методы исследования поведения

Резидент-интродер



Тест Порсолта



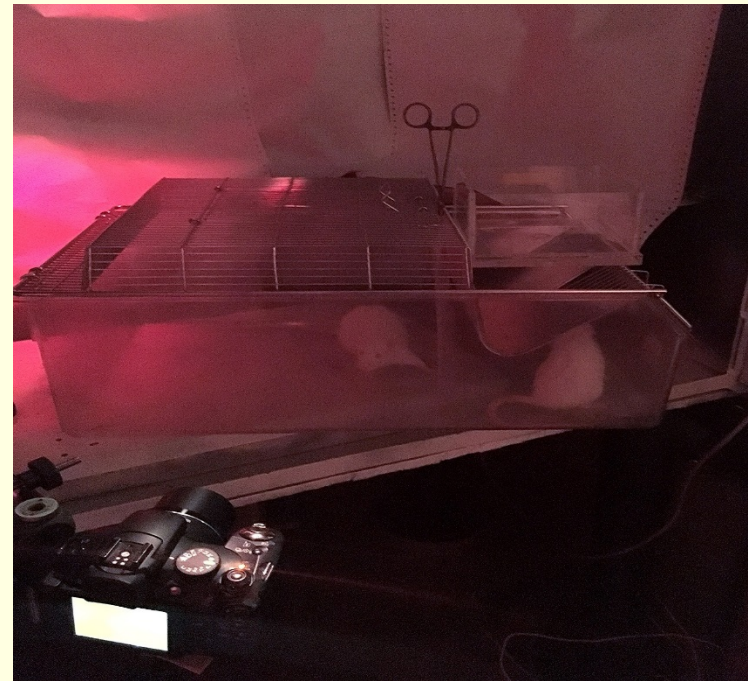
Условная реакция
предпочтения



Метод исследования полового поведения

■ Для оценки половой мотивации использовалась камера, разделенная прозрачной перфорированной стенкой. Перфорированная перегородка позволяет животным исследовать потенциального партнера (обнюхивать самку в стадии эструса), но препятствует тактильному взаимодействию или копуляции.

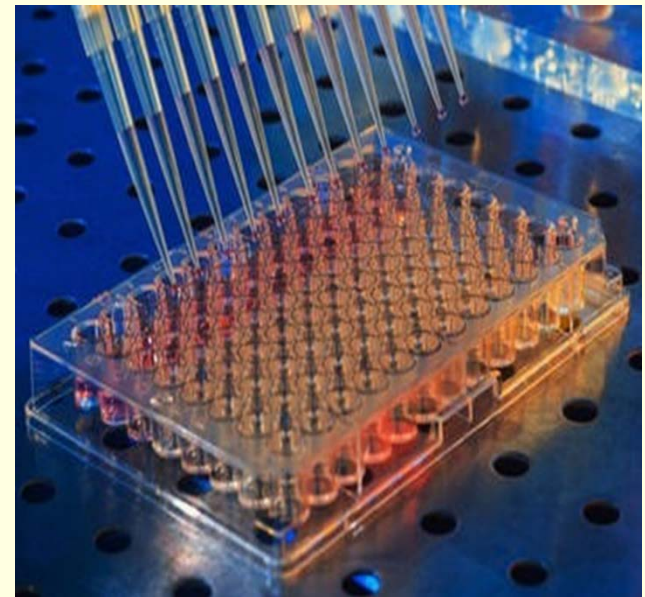
■ Для измерения половой мотивации у каждого животного фиксировалось латентное время до начала реакции на самку, число попыток достичь самки и время, проведенное вблизи разделительной перегородки.



Биохимические методы исследования

Имунноферментный анализ

Концентрации тестостерона в сыворотке крови измеряли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест – системы «Тестостерон стероид-ИФА» (Алкор – Био, Россия)



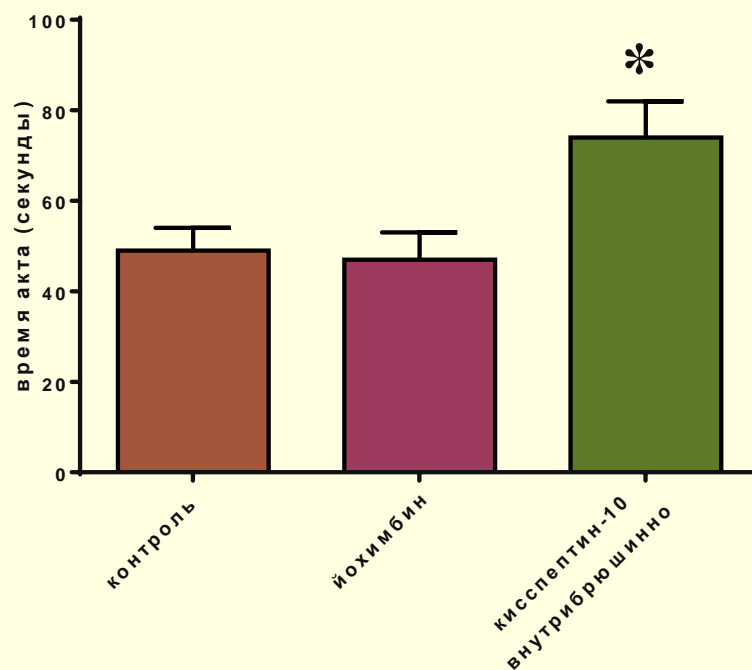
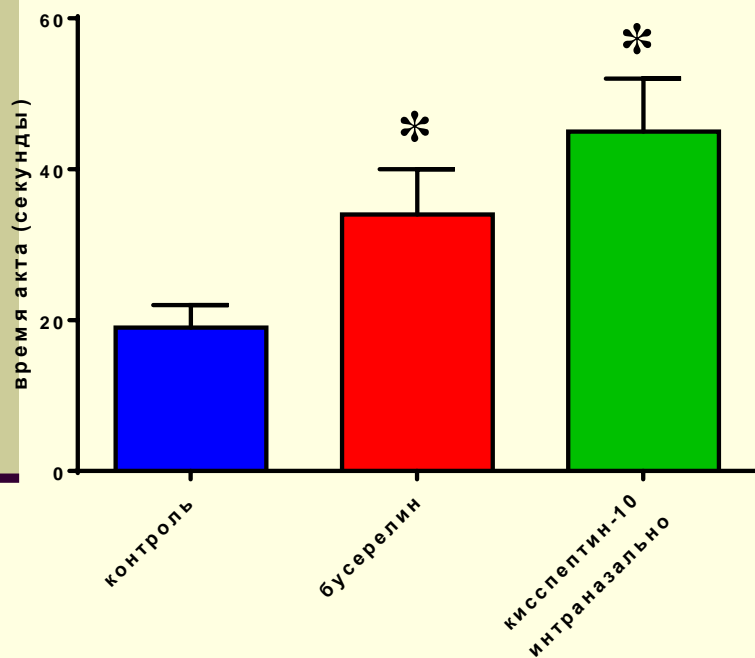
Поведенческие эффекты ксиспептина-10

Ксиспептин-10 при интраназальном введении обладает широким спектром поведенческих эффектов: повышает двигательную и исследовательскую активность, снижает уровень депрессивности, увеличивает проявления защитного поведения и вызывает выработку условной реакции предпочтения места.

Интраназальное и внутрибрюшинное введение кисспептина-10 повышает двигательную активность в тесте открытое поле

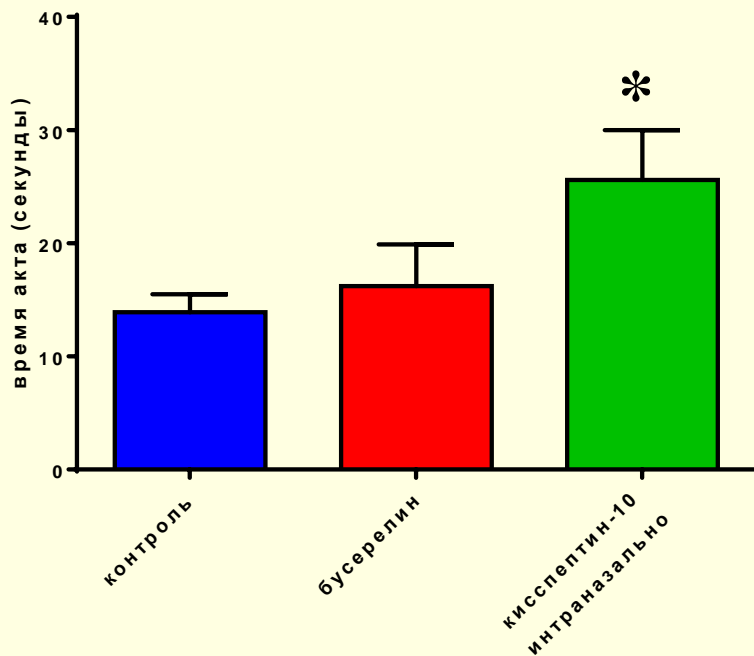
локомоция интраназальное введение КИСС-10

локомоция внутрибрюшинное введение КИСС-10

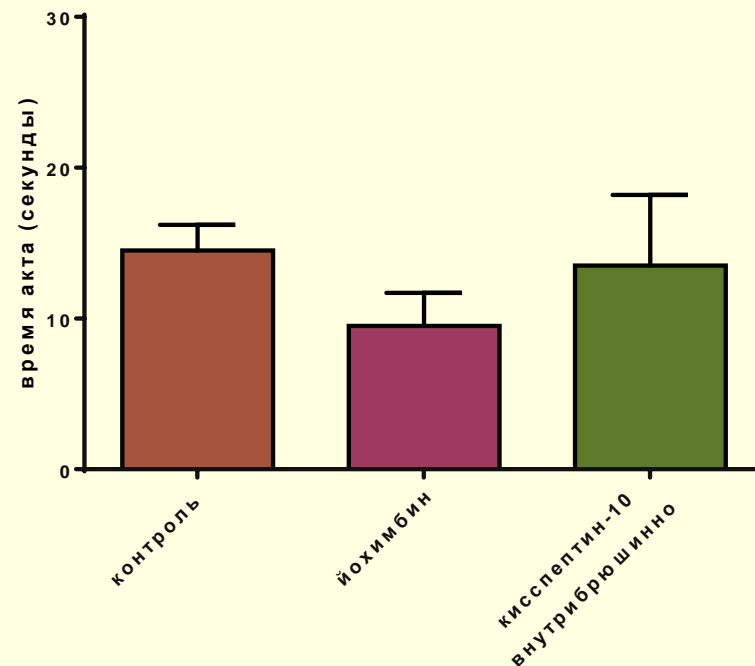


Интраназальное введение кисспептина-10 повышает исследовательскую активность крыс в открытом поле

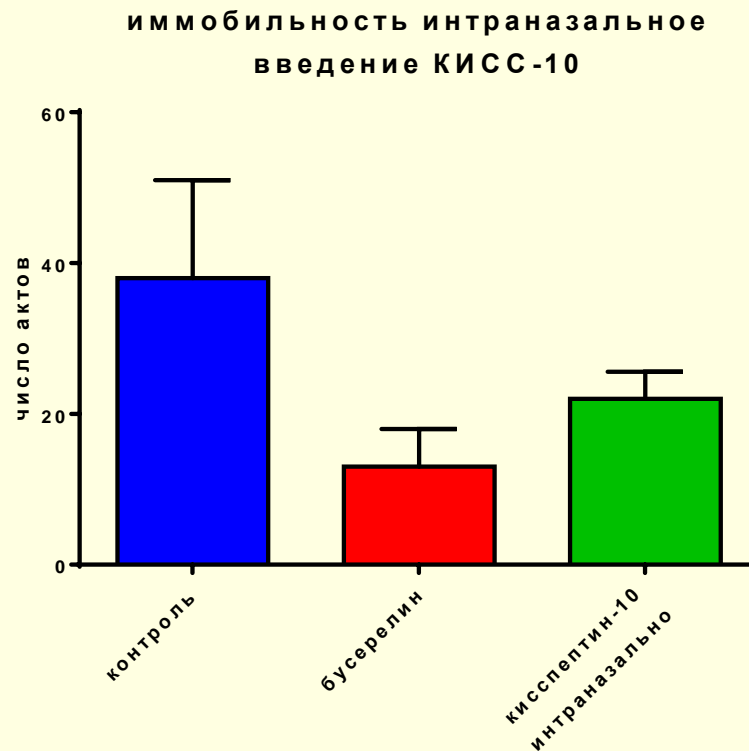
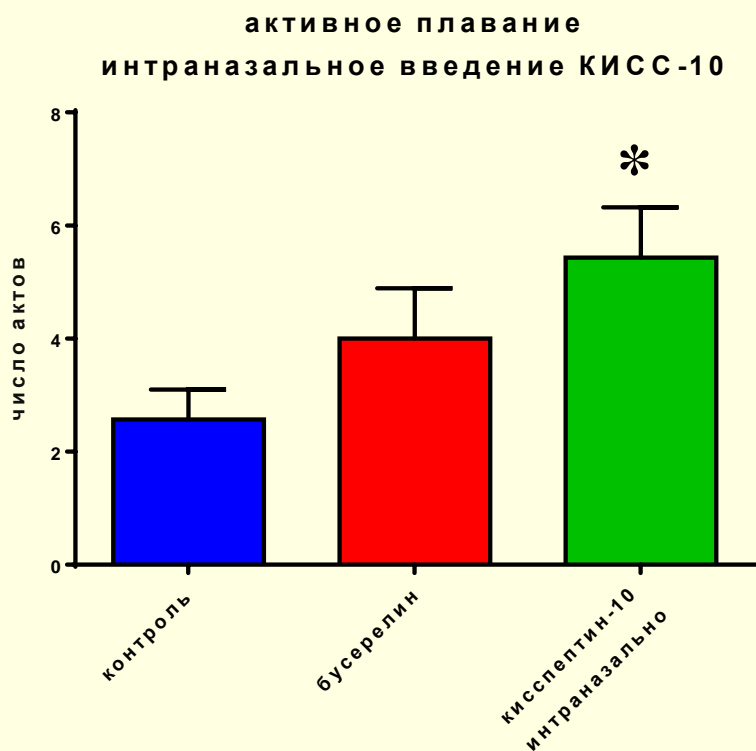
исследование норок интраназальное
введение КИСС-10



исследование норок внутрибрюшинное
введение КИСС-10

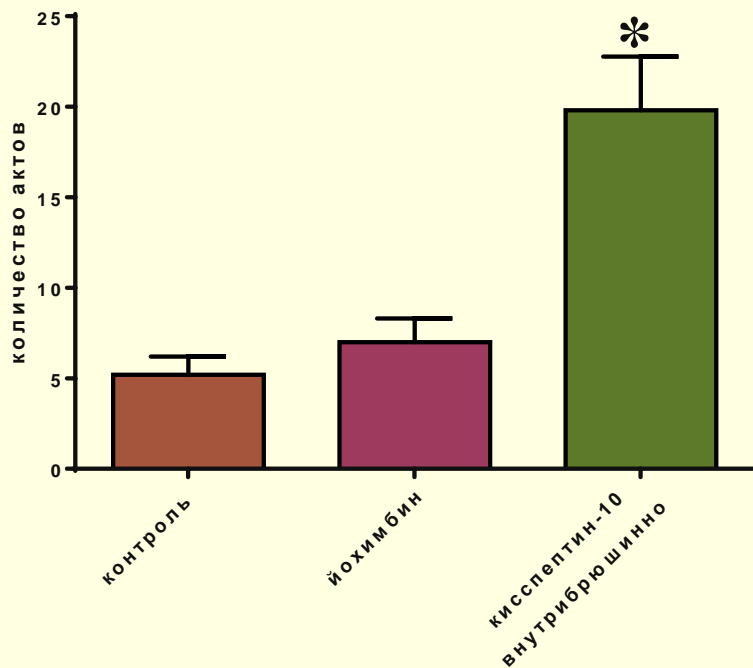


Поведение крыс в тесте Порсолта после интраназального введения кисспептина-10

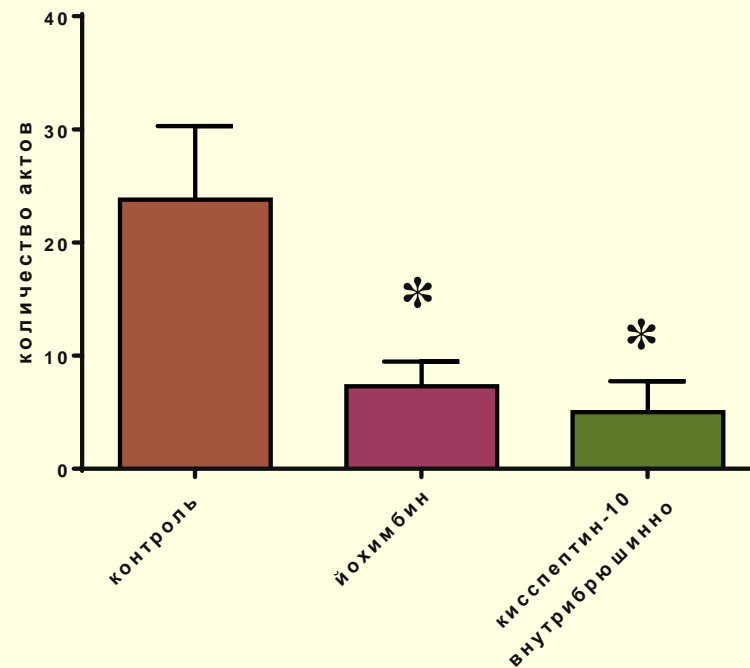


Поведение крыс в тесте Порсолта после внутрибрюшинного введения кисспептина-10

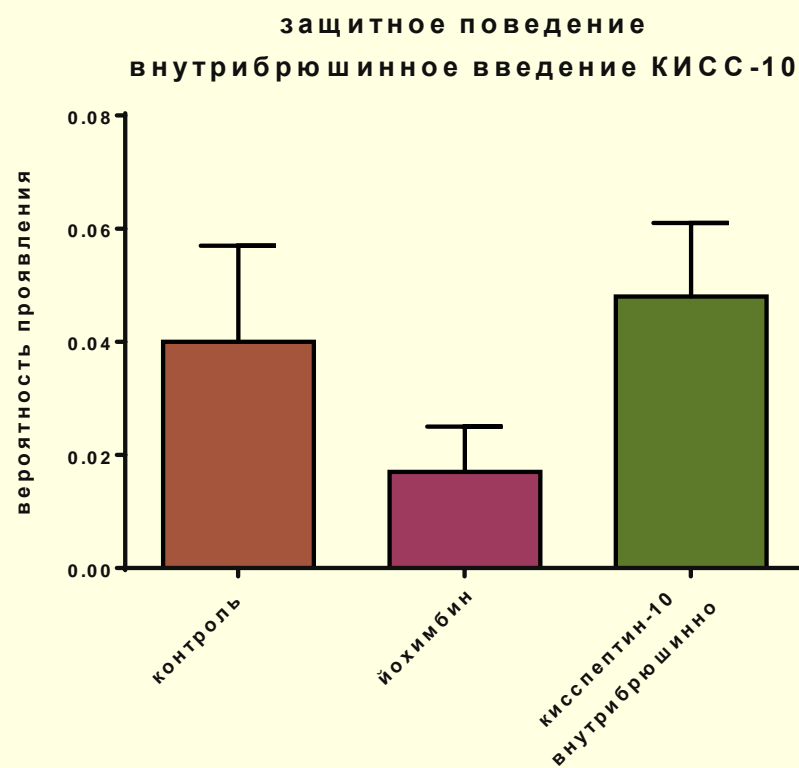
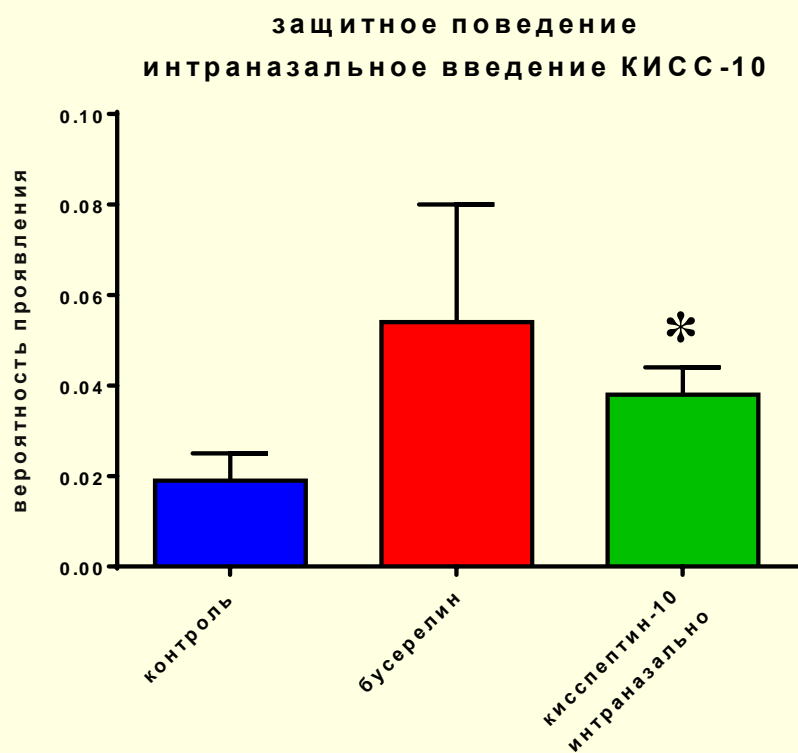
активное плавание
внутрибрюшинное введение КИСС-10



иммобильность
внутрибрюшинное введение КИСС-10

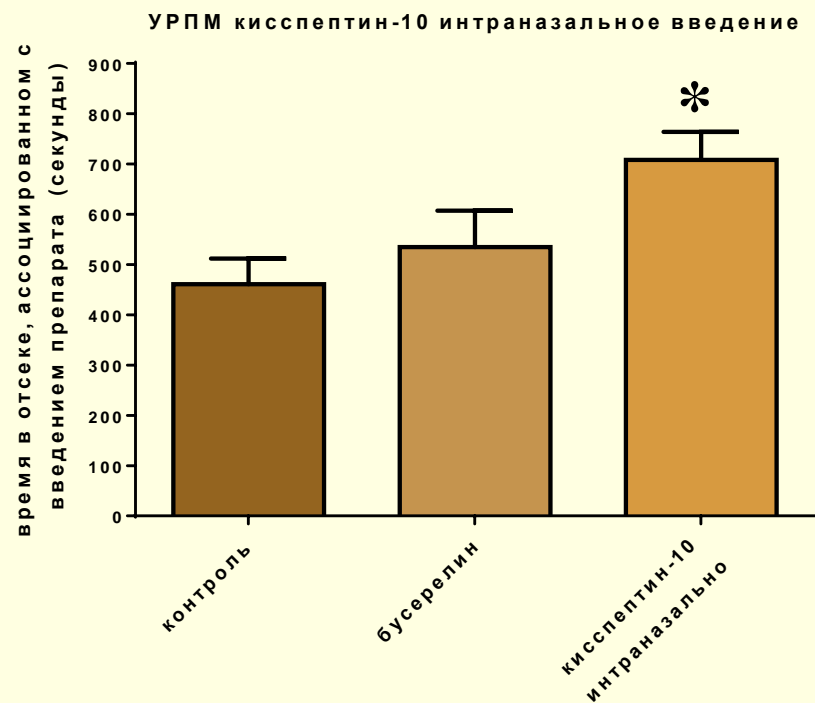


Поведение крыс в тесте резидент-интродер после интраназального и внутрибрюшинного введения кисспептина-10



Исследование условной реакции предпочтения места кисспептина-10 у крыс при интраназальном введении

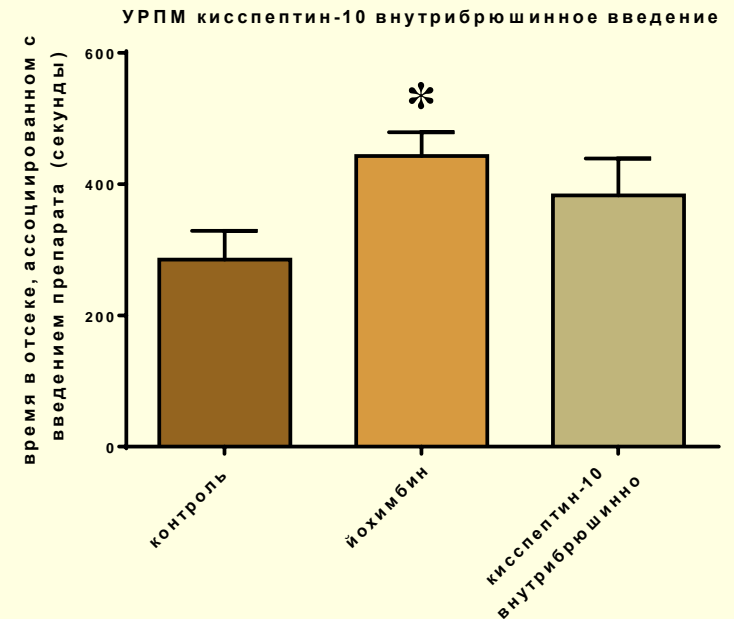
В тесте условной реакции предпочтения места интраназальное введение кисспептина-10 увеличило время проведения животных в камере, ассоциированной с введением пептида, в отличие от синтетического аналога гонадотропин-рилизинг гормона бусерелина.



Исследование условной реакции предпочтения места кисспептина-10 при внутрибрюшинном введении

Внутрибрюшинное введение кисспептина-10 не приводило к выработке условной реакции предпочтения места.

Препарат сравнения йохимбин проявлял подкрепляющие свойства



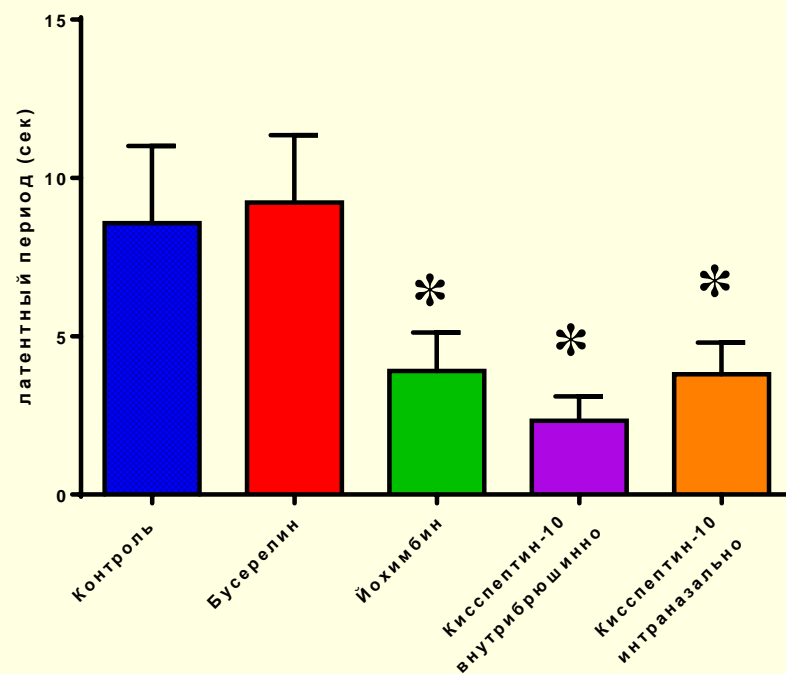
Исследование половой мотивации у крыс

Кисспептин-10 при интраназальном и внутрибрюшинном введении активирует половую мотивацию у крыс самцов.

Эффекты кисспептина-10 реализуются независимо от уровня половых стероидов, не влияя на концентрацию тестостерона в крови, что доказывает его преимущественно центральное действие.

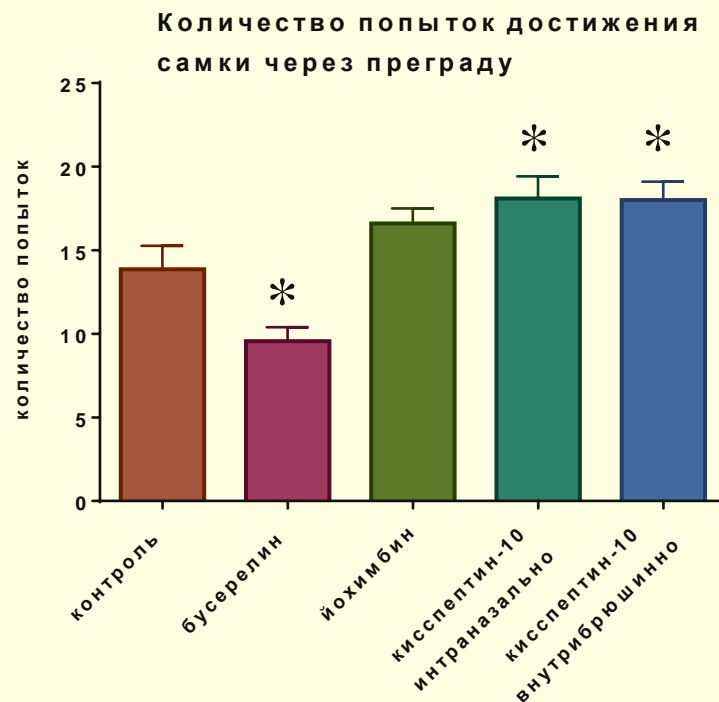
Влияние кисспептина-10 на проявления половой мотивации у крыс самцов

- Интраназальное и внутрибрюшинное введение кисспептина-10 сократило латентный период до начала реакции на самку в 2 раза по сравнению с контролем.
- Внутрибрюшинное введение йохимбина также сократило латентный период больше чем в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой.
- Интраназальное введение бусерелина практически не повлияло на латентный период.



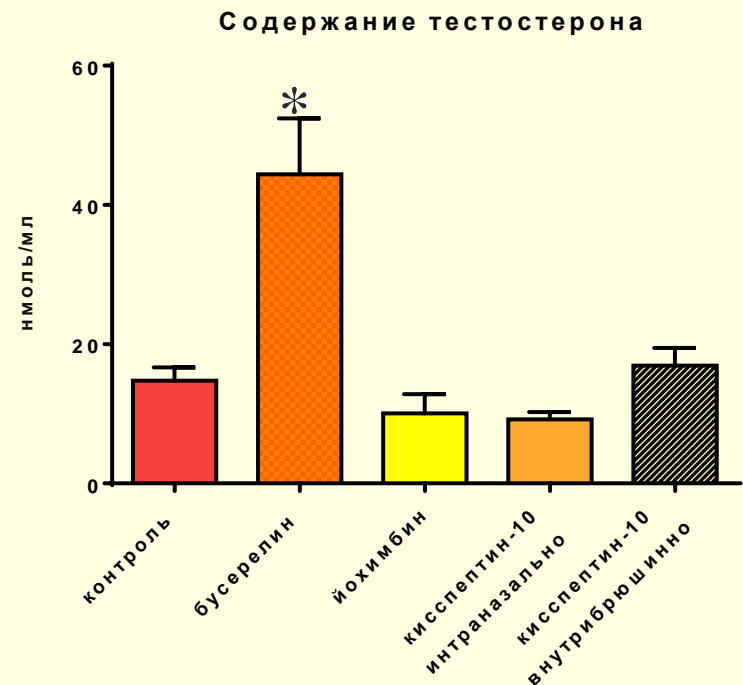
Влияние кисспептина-10 на проявления половой мотивации у крыс самцов

- Интраназальное и внутрибрюшинное введение кисспептина-10 увеличило количество попыток достижения самки самцом у перегородки по сравнению с контролем.
- Интраназальное введение бусерелина сократило количество попыток достижения самки самцом у перегородки по сравнению с контролем.
- В то же время внутрибрюшинное введение йохимбина практически не оказывало влияние на количество попыток.



Содержание тестостерона в крови у крыс самцов после интраназального и внутрибрюшинного введения кисспептина-10

- Интраназальное и внутрибрюшинное введение кисспептина-10, не повлияло на уровень тестостерона по сравнению с контролем.
- Интраназальное введение бусерелина в 3 раза увеличивало концентрацию тестостерона в крови у крыс самцов по сравнению с контролем.
- Внутрибрюшинное введение йохимбина также не проявило значимых изменений в концентрации тестостерона в крови у крыс самцов по сравнению с контрольной группой.

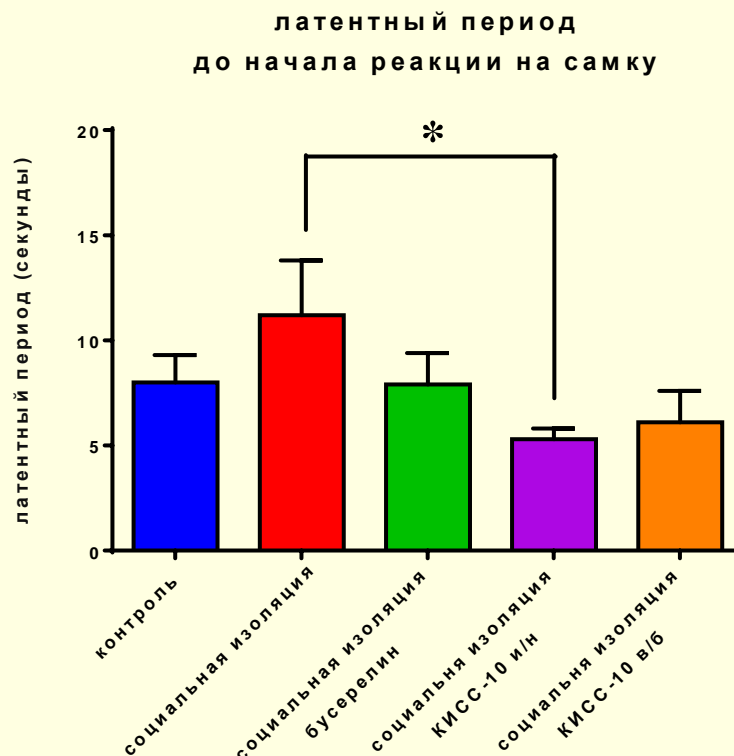


Хронический стресс и половая мотивация крыс самцов

У крыс самцов, выращенных в условиях хронического стресса социальной изоляции, снижаются как проявление половой мотивации, так и уровень тестостерона в крови. Интраназальное введение кисспептина-10 повышает половую мотивацию до контрольного уровня у крыс самцов после социальной изоляции. Внутривбрюшинное введение кисспептина-10 увеличивает половую мотивацию и выработку тестостерона у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции. Полученные данные создают предпосылки для понимания нарушений регуляции репродуктивного поведения при воздействии стрессовых факторов и поиска новых перспективных фармакологических средств для их коррекции.

Исследование действия кисспептина-10 на половое поведение у самцов крыс, выращенных в условиях социальной изоляции

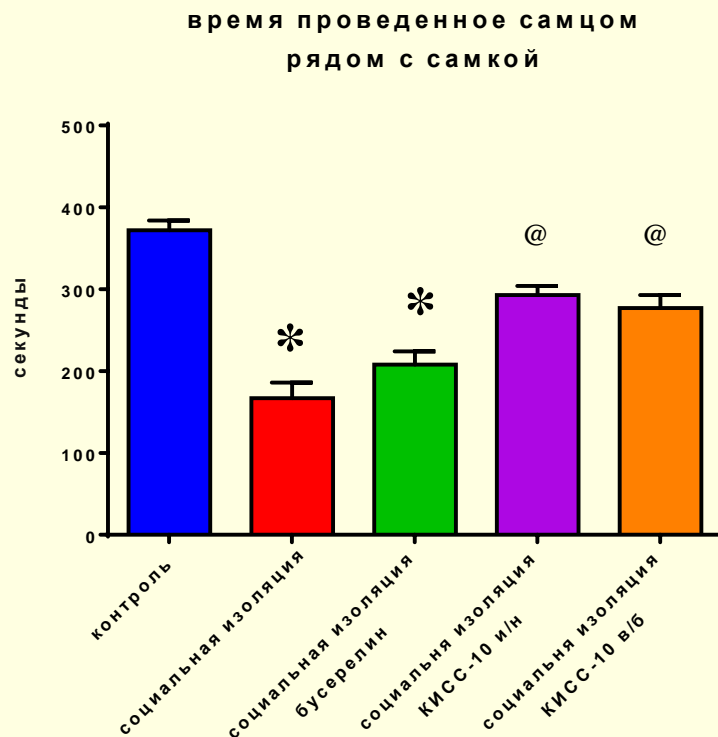
- У группы животных с хроническим стрессом социальной изоляции увеличилось латентное время до начала реакции на самку по сравнению с группой интактных животных.
- Интраназальное введение кисспептина-10 сократило латентное время до начала реакции на самку в 2 раза по сравнению с группой крыс, выращенных в условиях социальной изоляции.
- Интраназальное введение бусерелина ацетата не оказало влияние на латентный период по сравнению с группой крыс, выращенных в условиях социальной изоляции.



Исследование действия кисспептина-10 на половое поведение у самцов крыс, выращенных в условиях социальной изоляции

- Крысы самцы, выращенные в условиях социальной изоляции, в 2 раза меньше времени проводили рядом с самкой у перегородки по сравнению с группой интактных животных.
- Интраназальное и внутрибрюшинное введение кисспептина-10 животным, выращенным в условиях социальной изоляции, восстанавливало время, проведенное самцом рядом с самкой до контрольных значений.

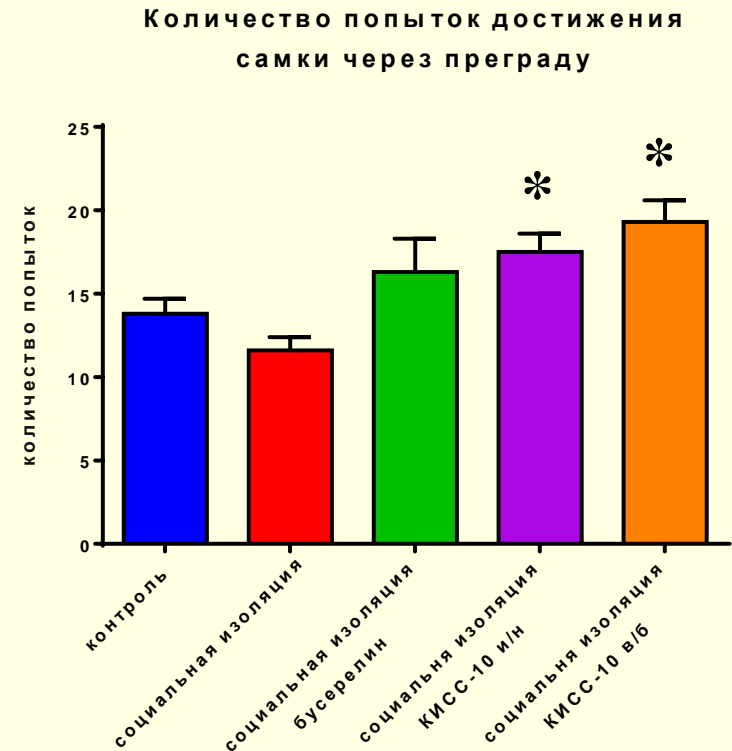
* – $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы;
@ – $p \leq 0,05$ относительно животных, выращенных в условиях социальной изоляции



Определение количества попыток достижения самки самцом с хроническим стрессом у перегородки

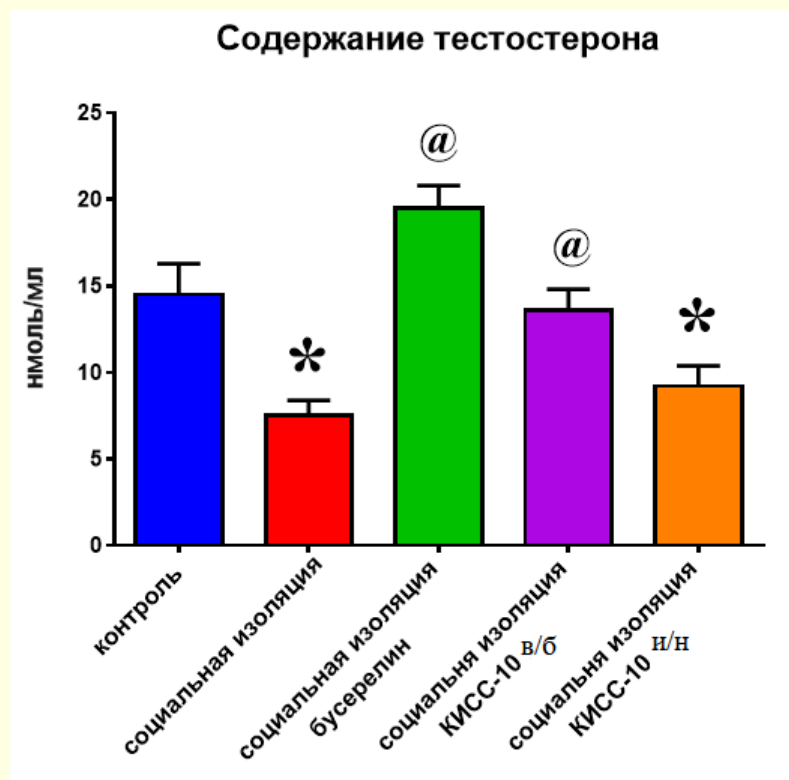
- Количество попыток достижения самки самцом через перегородку у животных, которых вырастили в условиях социальной изоляции, существенно не изменилось по сравнению с группой интактных животных.
- Интраназальное и внутрибрюшинное введение кисспептина-10 экспериментальным животным увеличивало количество попыток достижения самки самцом через перегородку по сравнению с группой контрольных животных, выращенных в условиях социальной изоляции.

* – $p \leq 0,05$ относительно животных, выращенных в условиях социальной изоляции



Содержание тестостерона в крови у крыс самцов, выращенных в условиях социальной изоляции, после интраназального и внутрибрюшинного введения кисспептина-10

- Уровень тестостерона в крови у крыс самцов, выращенных в условиях социальной изоляции, сократился в 2 раза по сравнению с группой интактных животных.
- Интраназальное введение бусерелина и внутрибрюшинное введение кисспептина-10 экспериментальным животным увеличивало уровень тестостерона в крови у крыс самцов по сравнению с животными, выращенными в условиях социальной изоляции.
- При интраназальном введении кисспептина-10 незначительно увеличился уровень тестостерона у крыс, выращенными в условиях социальной изоляции, но отличался от содержания тестостерона у интактных животных.

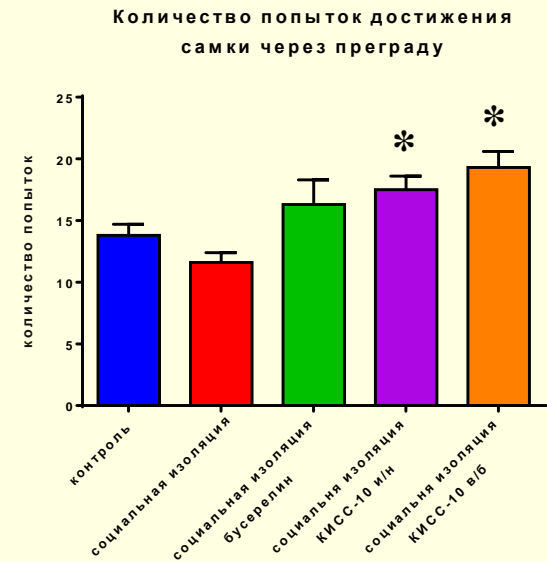
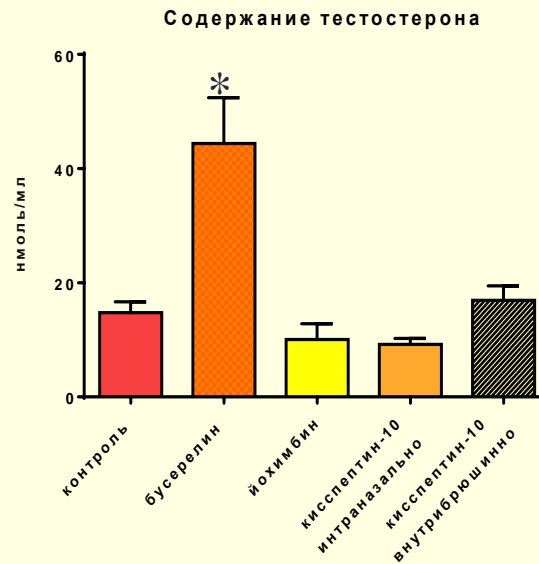
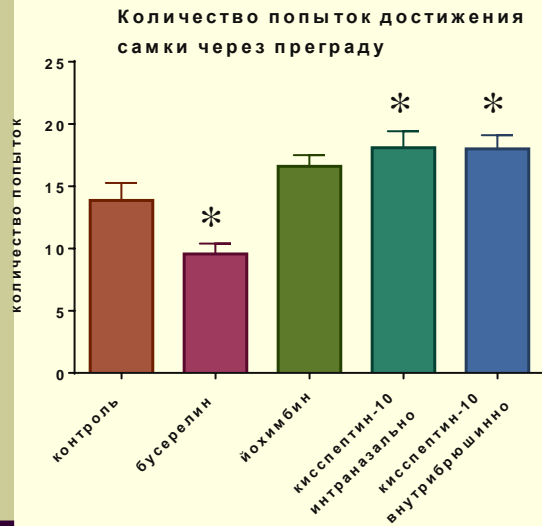


* – $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы;
@ – $p \leq 0,05$ относительно животных, выращенных в условиях социальной изоляции

Половая мотивация и кисспептин-10

При изучении половой мотивации кисспептин-10 обладает рядом преимуществ перед веществами сравнения, которые используются для коррекции половых расстройств, в частности, бусерелина ацетата (аналога гонадотропин-рилизинг гормона), и йохимбина гидрохлорида (альфа2-адреноблокатора).

Влияние кисспептина-10 и препаратов сравнения на половую мотивацию крыс самцов



Выводы

1. Кисспептин-10 при интраназальном и внутрибрюшинном введении активирует половую мотивацию у крыс самцов, увеличивая число подходов к самке и снижая латентный период приближения к ней. Эффекты кисспептина реализуются независимо от уровня половых стероидов и не влияют на концентрацию тестостерона в крови, что доказывает его преимущественно центральное действие.
2. Аналог гонадотропин-рилизинг гормона бусерелин при интраназальном и внутрибрюшинном введении не влияет на половую мотивацию у крыс, но в то же время повышает уровень тестостерона. Таким образом, механизм действия бусерелина связан преимущественно с активацией гормонального звена полового поведения. Его известные эффекты повышения половой активности и целенаправленного полового поведения обусловлены, по-видимому, вторичным действием тестостерона из кровяного русла на структуры головного мозга.
3. Интраназальное введение кисспептина-10 вызывает выработку условной реакции предпочтения места у крыс, а интраназальное введение аналога гонадотропин-рилизинг гормона бусерелина не обладает подкрепляющими свойствами. Это дает основания полагать, что кисспептин-10 вызывает активность в системе положительного подкрепления и приводит к формированию эмоционально-положительного состояния животного, что, по-видимому, является одним из механизмов формирования половой мотивации.

Выводы

4. Внутривбрюшинное введение антагониста альфа2-адренорецепторов йохимбина, который используется для лечения половых дисфункций у мужчин, умеренно повышает проявление половой мотивации, не влияя на уровень тестостерона, и вызывает выработку условной реакции предпочтения места, по-видимому, за счет блокады пресинаптических рецепторов, регулирующих высвобождение нейротрансмиттеров в ЦНС, тем самым положительно влияя на психоэмоциональное состояние животного.

5. Кисспептина-10 вызывает у самцов крыс повышение двигательной активности и исследовательской активности, проявлений защитного поведения и снижение уровня депрессивности. Таким образом, эффекты кисспептина-10 на поведение в сочетании активацией системы положительного подкрепления (эффекты предпочтения места) дают основания для исследования его антидепрессантных свойств с мягким активирующим действием.

6. У крыс самцов, выращенных в условиях хронического стресса социальной изоляции, снижаются как проявление половой мотивация, так и уровень тестостерона в крови. Интраназальное введение кисспептина-10 повышает половую мотивацию до контрольного уровня у крыс самцов после социальной изоляции в отличие от эффектов бусерелина. Внутривбрюшинное введение кисспептина-10 увеличивает половую мотивацию и выработку тестостерона у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции. Полученные данные о действии кисспептина-10 у крыс самцов, выращенных в условиях социальной изоляции, создают предпосылки для поиска новых механизмов, лежащих в основе регуляции репродуктивного поведения и влияния стрессовых факторов на его реализацию.