

# БИОЛОГИЯ

УДК 612.833.81

## ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ БЛОКАДЫ ГИСТАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ДО И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА У КРЫС

О. В. Батянина, В. И. Беляков

В исследовании с использованием тестов «Открытое поле», «Чёрно-белая камера» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» изучены особенности поведения лабораторных крыс при блокаде гистаминовых рецепторов. Показано угнетение у животных различных вариантов двигательной активности в сочетании с незначительным повышением уровня исследовательской активности и неоднозначным изменением тревожно-фобического состояния. Блокада гистаминовых рецепторов также модулирует поведение крыс в условиях развития стресса.

**Ключевые слова:** поведение, гистаминергическая система, гистаминовые рецепторы, дифенгидрамин, гидрокортизон.

К настоящему времени сложилось представление о включении в сложный механизм контроля отдельных компонентов поведения химических веществ различного класса (нейромедиаторов, нейромодуляторов, цитокинов и др.). Относительно мало изученной системой в данной регуляции остаётся гистаминергическая. Между тем, в исследованиях показано, что гистамин активно проявляет нейромодуляторные эффекты и участвует в центральной регуляции таких функций как энергетический метаболизм, потребление пищи, водный баланс, поддержание на оптимальном уровне температуры тела, параметров системы кровообращения и дыхания [1–5]. В зависимости от уровня поведенческой активности меняется скорость высвобождения гистамина в мозге, также как и импульсная активность нейронов гистаминергической системы, что, вероятно, отражает участие гистамина в регуляции циркадианных ритмов двигательной активности [6]. Также

существуют данные о том, что гистамин регулирует уровень нейронной активности в коре мозга. Эта регуляция может осуществляться как за счёт восходящих проекций гистаминовых нейронов в кору мозга, таламус или преоптическую область гипоталамуса, так и за счёт нисходящих проекций в стволовую область мозга, где располагаются тела нейронов ацетилхолин-, серотонин- и норадренергической систем [2; 7].

В последнее время была показана роль гистамина в патогенезе некоторых патологических состояний: болезни Паркинсона и Альцгеймера, эпилепсии, различного рода наркотических зависимостей и др. [8; 9].

В настоящем исследовании поставлена цель по изучению особенностей поведения крыс в условиях функциональной недостаточности гистаминовых рецепторов мозга.

### Условия и методы исследования

Исследования проведены на 18 неллинейных крысах-самцах массой 180–220 граммов в летний период. Условия содержания лабораторных животных и методика исследования соответствовали общепринятым нормам гуманного отношения к лабораторным животным. Протокол эксперимента утверждён на заседании комиссии по биоэтике Самарского университета.

© Батянина О. В., Беляков В. И., 2016.

Батянина Ольга Владимировна,  
(veris1303@ya.ru),

магистрант биологического факультета;

Беляков Владимир Иванович,

(vladbelakov@mail.ru),

доцент кафедры физиологии человека и животных  
Самарского университета,  
443086, Россия, г. Самара, Московское шоссе, 34.

На первом этапе изучались поведенческие эффекты функциональной блокады гистаминовых рецепторов мозга. С этой целью формировались две группы крыс. Крысам опытной группы ежедневно на протяжении пяти недель *per os* вводили 1 мл раствора дифенгидрамина гидрохлорида (0,1 мг/мл; ОАО «Дальхимфарм», Россия), проникающего через гематоэнцефалический барьер и эффективно блокирующего центральные H-1 и H-3 рецепторы [10]. Крысы контрольной группы по аналогичной схеме получали физиологический раствор. Тестирование животных осуществляли в исходном состоянии и через 7, 14, 21, 28, и 35 дней от начала введения веществ.

На втором этапе с целью моделирования стрессорной реакции животным опытной группы после пятидневного введения блокатора гистаминовых рецепторов производилась внутримышечная инъекция 2,5 % гидрокортизона в объеме 0,02 мл (ОАО «Дальхимфарм», Россия). Животным контрольной группы в аналогичном объеме внутримышечно вводилось персиковое масло.

Изучение особенностей поведения крыс проводилось при помощи классических поведенческих тестов: «Открытое поле», «Чёрно-белая камера» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

В тесте «Открытое поле» поведенческие реакции животных регистрировали в течение трёх минут по следующим параметрам: горизонтальная активность (количество пересечённых секторов), вертикальная активность (число стоек на задних лапах с опорой на стенки и самостоятельно), исследовательская активность (число обследованных отверстий), уровень тревожности (число актов незавершённого, короткого грумिंगа). В тесте «Чёрно-белая камера» изучали поведение животных в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий). Для этого оценивали время пребывания крыс в чёрном и белом отсеках камеры. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» отмечали время нахождения крыс в открытых и закрытых рукавах лабиринта, установленного на высоте одного метра от пола. Предпочтение животными открытых рукавов в данном тесте и белой камеры в тесте «Чёрно-белая камера»

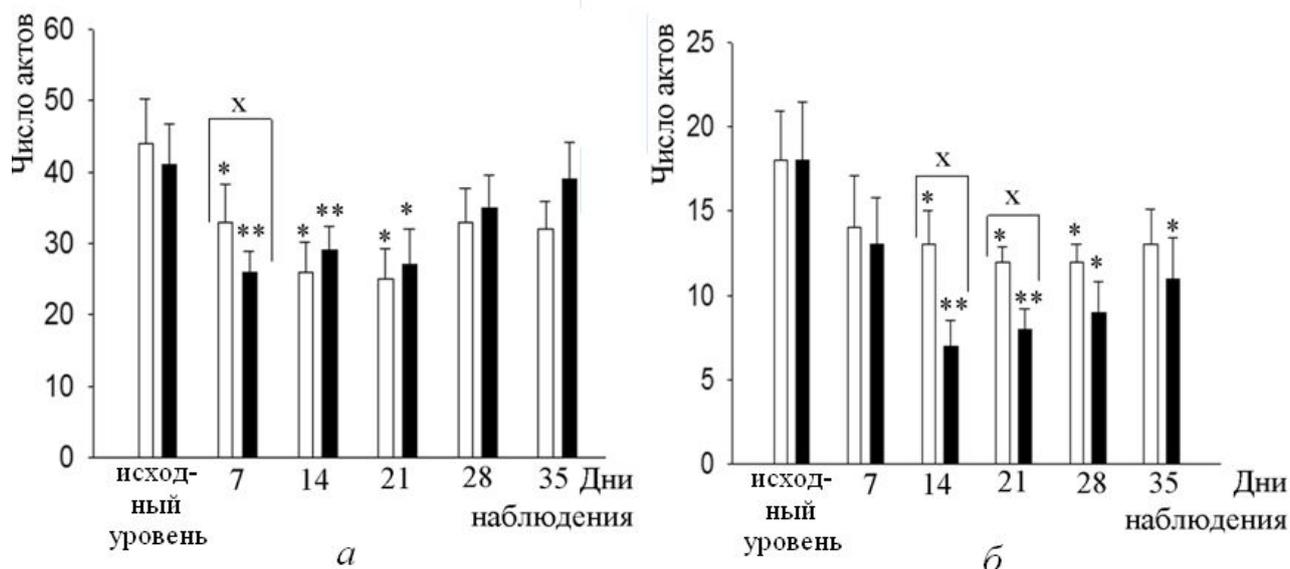
расценивали как показатель низкого уровня тревожности и активного проявления ориентировочно-исследовательского поведения.

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали с помощью пакетов анализа данных программы SigmaPlot 12.0 с использованием t-теста Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Результаты исследования представлены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

### Результаты и их обсуждение

Тестирование в исходном состоянии показало отсутствие значимых отличий в поведении контрольных и опытных животных в различных тестовых заданиях. Функциональная блокада гистаминовых рецепторов мозга обеспечивала формирование особого поведенческого статуса крыс. Так, в тесте «Открытое поле» исходная горизонтальная двигательная активность составляла за 3 минуты наблюдения в среднем  $42 \pm 5,7$  акта. На 7-й, 14-й и 21-й день эксперимента данный показатель снижался, соответственно, до  $27 \pm 6,5$  ( $p < 0,01$ ),  $30 \pm 5,8$  ( $p < 0,01$ ) и  $28 \pm 3,4$  ( $p < 0,05$ ) актов пересечений отсеков тестового задания. Таким образом, максимальное снижение перемещения животных по горизонтали отмечалось на 7-й день и составило 36 % (рис. 1). На последующих сроках значения данного поведенческого показателя несколько повышались, но не достигали исходного уровня. У крыс контрольной группы изменения уровня горизонтальной двигательной активности наблюдалось в те же сроки наблюдения. На 7-е сутки зарегистрировано статистически значимый более низкий уровень данного показателя в группе крыс, получавших дифенгидрамин.

Что касается другого варианта двигательной активности – вертикальных стоек, то отмечалась тенденция к их снижению у животных обеих групп, начиная с 14 дня наблюдений. В контрольной группе данный показатель к 21 дню снижался на 31 % ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня. У крыс в опыте максимальное снижение вертикальных стоек отмечалось на 14-е сутки (уменьшение на 62 % от исходного уровня;  $p < 0,01$ ). Дефицит в проявлении вертикальной двигательной активности у крыс с блокадой гистаминовых рецепторов мозга поддерживался до конца 5-й недели эксперимента.



**Рис. 1.** Влияние функциональной блокады гистаминовых рецепторов на особенности горизонтальной (а) и вертикальной (б) двигательной активности в тесте «Открытое поле»

*Примечание:* светлые столбики – крысы из контрольной группы, чёрные – крысы из опытной группы; \* – статистически значимые различия с исходными значениями при  $p < 0,05$ ; \*\* – статистически значимые различия с исходными значениями при  $p < 0,01$ ; x – статистически значимые различия между группами при  $p < 0,05$ .

Анализ полученных данных показал статистически значимые отличия в проявлении двигательной активности «по вертикали» между группами животных на 14-й и 21-й дни наблюдения.

Показатель исследовательской активности у животных обеих групп менялся неоднозначным образом, при этом его значение поддерживалось на более высоком уровне в случае крыс, подвергавшихся функциональной блокаде гистаминовых рецепторов. На 5-й неделе наблюдения исследование отверстий площадки теста у опытных крыс превышало таковое поведение контрольных особей более чем на 10 % ( $p < 0,05$ ).

Изучение динамики уровня тревожности крыс в тесте «Открытое поле» не показало значимых его изменений у крыс обеих групп. Единственной отличительной особенностью явилось некоторое возрастание тревожности у контрольных крыс к 28-му дню наблюдения на фоне волнообразного характера изменения изучаемого показателя у опытных особей.

Весьма неоднозначные перестройки уровня тревожно-фобического состояния отмечены в условиях наблюдения поведения животных в тестах «Чёрно-белая камера» и

«Приподнятый крестообразный лабиринт» (рис. 2). В первом тесте крысы из контрольной группы на 21-й, 28-й и 35-й дни наблюдения предпочитали белый отсек камеры. Подобное предпочтение регистрировалось и у крыс с блокадой гистаминовых рецепторов, начиная с 7-го дня. На 35-й день отмечалось максимальное время пребывания опытных крыс в белом отсеке (увеличение на 71 % от исходного уровня;  $p < 0,01$ ). В этот же срок отмечалось статистически значимое различие по времени пребывания крыс из обеих групп в белой камере тестового задания.

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», являющемся более стрессогенным для грызунов, исходная продолжительность нахождения в открытом рукаве составляла в среднем 155 с у контрольных и 135 с у опытных крыс. Введение дифенгидрамина обеспечивало отчётливую тенденцию к сокращению времени пребывания в открытом рукаве. На 28-й и 35-й день наблюдения данный показатель снизился до 79 с ( $p < 0,05$ ) и 83 с ( $p < 0,01$ ), то есть уменьшение составило 49 % и 38 % соответственно. Контрольные особи также демонстрировали тенденцию к снижению наблюдаемого пока-

зателя, которое к 14-му дню сократилось со 155 с до 96 с ( $p < 0,05$ ). К 28-му дню исследования время нахождения в открытых рукавах составило 98 с ( $p < 0,01$ ), а к 42-му дню – 79 с ( $p < 0,01$ ). Таким образом, уменьшение данного поведенческого показателя от исходного значения на последних сроках наблюдения составило 37 % и 49 % соответственно.

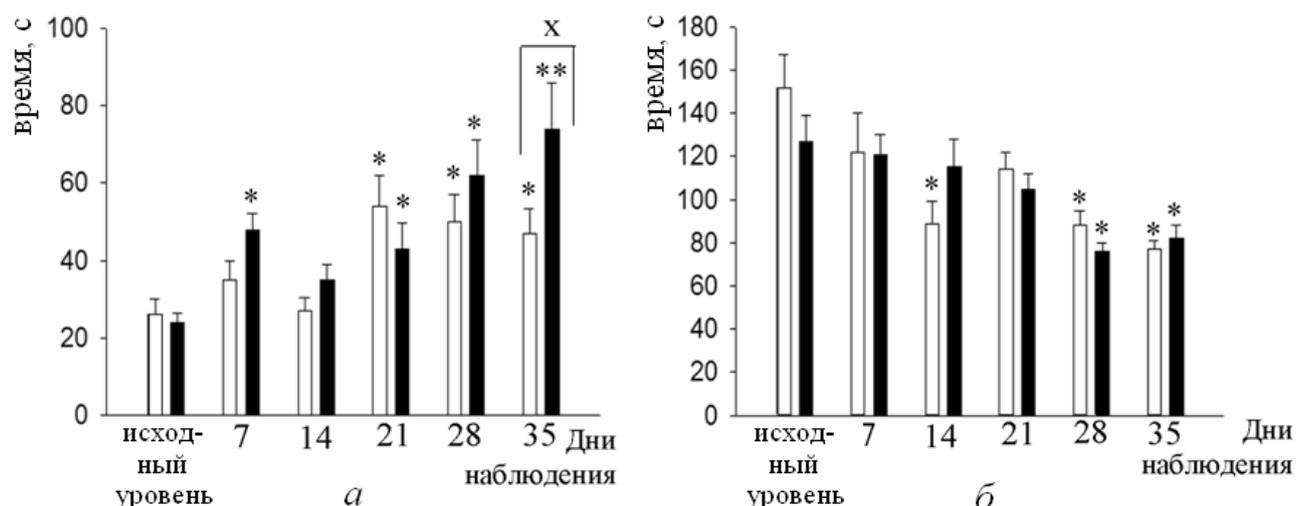
На основании результатов первой части исследования можно заключить, что применяемая блокада гистаминовых рецепторов оказывает выраженное влияние на особенности поведенческого статуса крыс в различных тестовых заданиях.

Во второй части исследования изучено влияние блокады гистаминовых рецепторов мозга на особенности поведения крыс в условиях фармакологически вызванного стресса. Последнее обеспечивалось процедурой внутримышечной инъекции гидрокортизона животным обеих групп. При этом отмечены различные стратегии поведения животных без и с функциональной блокадой гистаминовых рецепторов (табл.). У крыс контрольной группы установлены сравнительно выраженные изменения горизонтальной двигательной активности (увеличение на 32%,  $p < 0,05$ ), исследовательского поведения (увеличение на 96 %,  $p < 0,01$ ) в сочетании с усилением реакций тревожного груминга в «Открытом поле» (увеличение на 72 %,  $p < 0,05$ ) и избеганием открытых рукавов в «Приподнятом крестообразном лабиринте»

(снижение времени нахождения на 31 %,  $p < 0,05$ ).

Используемый в исследовании блокатор гистаминовых рецепторов – дифенгидрамин обладает относительно высокой проходимостью через гемато-энцефалический барьер и способностью эффективно блокировать центральные H-1 и H-3 рецепторы [10]. Как известно, основное скопление гистаминергических нейронов локализовано в туберомаммилярном ядре гипоталамуса. Наиболее мощные гистаминергические проекции направляются в нейрогипофиз, в близлежащие дофаминсодержащие области компактной части чёрной субстанции и вентральной покрышки среднего мозга, в базальную область переднего мозга, в неокортекс, стриатум, миндалину, гиппокамп, таламические ядра и в другие структуры центральной нервной системы [2–5; 11; 12].

Физиологические эффекты гистамина реализуются за счёт активации различных гистаминовых рецепторов: H-1, H-2, H-3 и H-4 рецепторов. Все они относятся к числу G-сопряжённых рецепторов [2; 4]. В связи с тем, что используемый в настоящем исследовании дифенгидрамин обладает способностью блокировать H-1 и H-3 рецепторы мозга, следует коротко остановиться на физиологической характеристике именно данных классов гистаминовых рецепторов.



**Рис. 2. Влияние функциональной блокады гистаминовых рецепторов на время нахождения в белом отсеке «Чёрно-белой камеры» (а) и открытых рукавах «Приподнятого крестообразного лабиринта» (б)**

*Примечание:* обозначения те же, что и на рис. 1.

**Таблица**

**Особенности поведения крыс с различным уровнем функциональной активности гистаминовых рецепторов в условиях фармакологической модели стресса**

Показатели поведения	Контрольная группа		Опытная группа	
	исходный уровень	при стрессе	исходный уровень	при стрессе
Горизонтальная двигательная активность в «Открытом поле», число актов	32,3 ± 4,6	*41,1 ± 6,2	39,5 ± 4,1	30,2 ± 5,6
Вертикальная двигательная активность в «Открытом поле», число актов	14,0 ± 3,8	12 ± 2,7	13,5 ± 3,2	17,4 ± 3,6
Исследовательская активность в «Открытом поле», число актов	3,8 ± 0,9	**6,1 ± 1,1	7,8 ± 0,9	6,0 ± 1,2
Тревожный груминг в «Открытом поле», число актов	2,2 ± 0,5	*3,8 ± 0,6	1,3 ± 0,3	2,0 ± 0,5
Время нахождения в белом отсеке «Чёрно-белой камеры», с	49,1 ± 7,2	*34,0 ± 9,1	78,4 ± 10,2	70,6 ± 9,4
Время нахождения в открытом рукаве «Приподнятого крестообразного лабиринта», с	79,7 ± 12,4	105,8 ± 11,4	81,3 ± 6,8	94,2 ± 7,3

*Примечание:* \* – статистически значимые различия с исходными значениями при  $p < 0,05$ ; \*\* – статистически значимые различия с исходными значениями при  $p < 0,01$ .

H-1 рецепторы представляют собой гликопротеины из 490 аминокислотных остатков. Они расположены на мембране постсинаптических клеток. Наибольшая плотность H-1 рецепторов отмечена в таламусе, пирамидальном слое гиппокампма, а также в слое клеток Пуркинью в мозжечке. Активация данных рецепторов обеспечивает увеличение внутринейрональной продукции цАМФ и концентрации внутриклеточного кальция, а также деполяризацию мембраны нейронов. H-1 рецепторы являются наиболее распространёнными в мозге. Отсутствие H-1 рецепторов у мышей ассоциируется с агрессией, двигательными нарушениями, расстройствами памяти и другими неврологическими симптомами [3; 4].

H-3 рецепторы имеют пресинаптическую локализацию и участвуют в регуляции синтеза и экскреции гистамина, то есть представляют собой популяцию ауторецепторов. В то же время, их активация приводит к торможению секреции других нейромедиаторов (ацетилхолина, серотонина, дофамина и норадреналина). H-3 рецепторы обнаружены в

участках лобной доли коры, *substantia nigra* среднего мозга и в базальных ядрах. Блокада H-3 рецепторов способствует активации внимания и краткосрочной памяти у грызунов. Нейрональные эффекты обусловлены активацией G<sub>i</sub>-белков, снижением продукции цАМФ и гиперполяризацией мембраны [3; 13; 14].

Одной из первых работ по изучению влияния гистаминергической системы на поведение стала работа М. С. Gerald и Р. Р. Maicel (1972), авторы которой пришли к заключению о том, что гистамин выражено влияет на некоторые поведенческие реакции крыс [15]. Позднее L. J. Bristow и G. W. Bennett обнаружили активизацию спонтанной двигательной активности у крыс под действием инъекций гистамина в прилегающее ядро [16]. Гистамин участвует в регуляции цикла сон-бодрствование, влияя на активность нейронов вентролатерального преоптического ядра. Перфузия гистамина в это ядро повышает двигательную активность крыс, что свидетельствует о повышении уровня бодрствования [6; 7]. Гистаминерги-

ческая система является одной из систем восходящей активации мозга. Она участвует в возникновении и поддержании кортикальной активации не только напрямую, но и путём возбуждения кортикопетальных холинергических нейронов базальной области переднего мозга, а также возбуждательного взаимодействия с холинергическими таламическими и гипоталамическими проекциями, исходящими из мезопонтинной покрывки [2; 3].

### Заключение

Таким образом, с учётом данных литературы допустимо предполагать, что введение блокатора H-1 и H-3 рецепторов дифенгидрамина обеспечивает снижение уровня возбудимости нейронов мозга (через блокаду H-1 рецепторов), а также нарушение регуляции экскреции различных нейромедиаторов (через блокаду H-3 рецепторов), включённых в сложный механизм организации паттерна поведения. Кроме того, угнетение должного уровня активности гистаминовых рецепторов влечет за собой «сбой» в функционировании всей системы поддержания структур головного мозга в бодрствующем состоянии. Подобные проявления функциональной недостаточности рецепторного уровня гистаминергической нейротрансмиссии способны вызвать дефицит ориентировочно-исследовательской активности, а также слабую выраженность мобилизующей функции тревоги в условиях развития стресса.

### Литература

1. Беляков В. И. Реакции дыхания на микроинъекции гистамина в фастигиальное ядро мозжечка у крыс // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009. Т. 11. № 4 (1). С. 769–772.
2. Зиматкин С. М., Кузнецова В. Б., Анищик О. В. Гистаминергическая нейронная система мозга // Морфология. 2003. № 2. С. 97–105.
3. Haas H. L., Sergeeva O. A., Selbach O. Histamine in the nervous system // *Physiol. Rev.* 2008. № 3. P. 1183–1241.
4. Schwartz J. C., Arrang J. M., Garbarg M. et al. Histaminergic transmission in the mammalian brain // *Physiol. Rev.* 1991. № 71. P. 1–51.

5. Watanabe T., Wada H. Histaminergic neurons: morphology and function. CRC Press. Boca Raton. 1991. 412 p.

6. Ковальзон В. М. Роль гистаминергической системы головного мозга в регуляции цикла сон-бодрствование // *Физиология человека.* 2013. № 6. С. 13–23.

7. Liu Y-W., Li J., Ye J-H. Histamine regulates activities of neurons in the ventrolateral preoptic nucleus // *The Journal of Physiology.* 2010. № 21. P. 4103–4116.

8. Bhowmik M., Khanam R., Vohora D. Histamine H3 receptor antagonists in relation to epilepsy and neurodegeneration: a systemic consideration of recent progress and perspectives // *British Journal of Pharmacology.* 2012. № 167. P. 1398–1414.

9. Zimatkin S. M., Phedina E. M. Influence of chronic alcohol consumption on histaminergic neurons of the rat brain // *Alcohol and Alcoholism.* 2015. № 1. P. 51–55.

10. Борисова Е. О. Антигистаминные препараты: вопросы безопасности // *Лечебное дело.* 2005. № 2. С. 37–43.

11. Кузнецова В. Б., Виноградова Л. Е., Зиматкин С. М. Гистохимическая характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы // *Аспекты клинической анатомии и вопросы конституционально-возрастной и экспериментальной морфологии* / под ред. Е. С. Околокулака. Гродно: ГГМУ, 2003. С. 105–106.

12. Bolam J. P., Ellender J. T. Histamine and the striatum // *Neuropharmacology.* 2015. № 8. P. 1–11.

13. Kruk M., Miszkiel J., McCreary A. C. et al. Effects of the histamine H3 receptor antagonist ABT-239 on cognition and nicotine-induced memory enhancement in mice // *Pharmacol. Reports.* 2012. № 64. P. 1316–1325.

14. Parsons M. E., Ganellin C. R. Histamine and its receptors // *Br. J. of Pharmacol.* 2006. № 147. P. 127–135.

15. Gerald M. C., Maickel R. P. Studies of the possible role of brain histamine in behavior // *Br. J. Pharmacol.* 1972. № 44. P. 462–471.

16. Bristow L. J., Bennet G. W. Biphasic effects of intra-accumbens histamine administration on spontaneous motor activity in the rat; a role for central histamine receptors // *Br. J. Pharmacol.* 1988. № 95. P. 1292–1302.

## EFFECT OF NONSPECIFIC BLOCKADE OF HISTAMINE RECEPTORS ON BEHAVIOR BEFORE AND UNDER STRESS IN RATS

O. V. Batyanina, V. I. Belyakov

The study examined behavioral features of laboratory rats in tests «open field», «black and white camera» and «elevated plus maze» with the pharmacological blockade of histamine receptors. Displaying pronounced inhibition in animals horizontal and vertical motor activity, slight increase in research activity. It established neodnaznachnoe change anxiety-phobic state in the blockade of histamine receptors. The blockade of histamine receptors modulates the behavior of rats under stress development.

**Key words:** behavior, histaminergic system, histamine receptors, diphenhydramine, stress, hydrocortisone.

*Статья поступила в редакцию 01.11.2016 г.*

---

© Batyanina O. V., Belyakov V. I., 2016.  
Batyanina Olga Vladimirovna,  
(veris1303@ya.ru),  
graduate student of the biological faculty;  
Belyakov Vladimir Ivanovich,  
(vladbelakov@mail.ru),  
assistant professor of the Human  
and Animal Physiology Department  
of the Samara University,  
443086, Russia, Samara, Moskovskoye Shosse, 34.