

## НАРУШЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ мРНК МЮ- И КАППА-ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В СРЕДНЕМ МОЗГЕ КРЫС С ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ

В.С. Кохан<sup>1,\*</sup>, П.К. Анохин<sup>1</sup>, Е.П. Пахлова<sup>2</sup>, Н.Ю. Сарычева<sup>2</sup>, И.Ю. Шамакина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России  
119002, Российская Федерация, Москва, Малый Могильцевский пер., 3

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»  
119234, Российская Федерация, Москва, ул. Ленинские горы, 1/12

Нарушение эпигенетического репрограммирования под действием экзогенных факторов в пренатальном периоде отражается на развитии и формировании фенотипа взрослого организма. Один из таких факторов — алкоголь, воздействие которого в период пренатального онтогенеза может приводить к высокому риску злоупотребления алкоголем в будущем. Механизмы, лежащие в основе этого эффекта, в настоящее время мало изучены. Мы предполагаем, что изменение «подкрепляющего» действия алкоголя в результате пренатальной алкоголизации может быть связано с нарушением транскрипционной активности генов опиоидной системы мозга. В работе проведён сравнительный анализ добровольного потребления алкоголя и уровня экспрессии мРНК  $\mu$ - (МОР) и  $\kappa$ -опиоидных (КОР) рецепторов в мезолимбических областях мозга взрослых крыс-самцов Wistar (PND60) — потомков самок, потреблявших 10%-ный р-р этанола со 2-го по 21-й дни беременности, и контрольных животных. Пренатально алкоголизированные крысы отличались от контрольных высоким предпочтением алкоголя и низким уровнем экспрессии мРНК МОР и КОР в среднем мозге. Выявленные нарушения могут лежать в основе дисфункции опиатной системы и, как следствие, высокого риска формирования аддиктивного поведения во взрослом возрасте.

**Ключевые слова:** алкоголь, мозг, пренатальный период, потомство, поведение, опиатные рецепторы, экспрессия мРНК

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликтов интересов.

**Для цитирования:** Кохан В.С., Анохин П.К., Пахлова Е.П., Сарычева Н.Ю., Шамакина И.Ю. Нарушение экспрессии мРНК  $\mu$ - и  $\kappa$ -опиоидных рецепторов в среднем мозге крыс с пренатальной алкогольной интоксикацией. *Биомедицина*. 2022;18(4):112–122. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-4-112-122>

Поступила 07.09.2022

Принята после доработки 17.10.2022

Опубликована 10.12.2022

## IMPAIRED EXPRESSION OF MU- AND KAPPA-OPIOID RECEPTOR mRNA IN THE MIDBRAIN OF RATS WITH PRENATAL ALCOHOL INTOXICATION

Viktor S. Kokhan<sup>1,\*</sup>, Petr K. Anokhin<sup>1</sup>, Ekaterina P. Pakhlova<sup>2</sup>, Natalia Yu. Sarycheva<sup>2</sup>,  
Inna Yu. Shamakina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre  
for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia  
119002, Russian Federation, Moscow, Maliy Mogiltsevskiy Lane, 3

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University  
119234, Russian Federation, Moscow, Leninskiye Gory Str., 1/12

Disruption of normal epigenetic reprogramming during the prenatal period under the influence of exogenous factors affects fetus development and adult phenotype formation. The mechanisms through which determinants, such as maternal alcohol intake, contribute to the formation of an alcohol-vulnerable phenotype later in life still remain unclear. In this paper, we suggest that alteration in the reinforcing properties of ethanol in prenatally alcohol-exposed subjects may be associated with transcriptional dysregulation of the brain opioid receptor genes. We compared voluntary alcohol intake and levels of mRNA coding for  $\mu$ - (MOP) and  $\kappa$ -opioid (KOP) receptors in the mesolimbic areas of adult male offspring of the female Wistar rats having received 10% ethanol as the only source of liquid throughout pregnancy or water (control). We found that prenatally alcohol exposed rats had higher alcohol preference on PND60 (free-choice paradigm) and lower mRNA expression for both MOP and KOP in the midbrain compared to the control. This suggests a potential link between prenatal alcohol, dysfunction of the brain opiate system and adult vulnerability for alcohol use disorder.

**Keywords:** alcohol, brain, prenatal period, offspring, behavior, opiate receptors, mRNA expression

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Kokhan V.S., Anokhin P.K., Pakhlova E.P., Sarycheva N.Yu., Shamakina I.Yu. Impaired Expression of Mu- and Kappa-Opioid Receptor mRNA in the Midbrain of Rats with Prenatal Alcohol Intoxication. *Journal Biomed.* 2022;18(4):112–122. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-4-112-122>

Submitted 07.09.2022

Revised 17.10.2022

Published 10.12.2022

### Введение

Употребление алкоголя во время беременности является причиной развития физиологических, психических, поведенческих и интеллектуальных отклонений у потомства, объединяемых термином «фетального алкогольного спектра нарушения» (ФАСН) [5]. Согласно эпидемиологическим данным, частота встречаемости ФАСН у детей в разных странах составляет от 3,1 до 17% [23, 28].

Одной из наиболее сложных и актуальных проблем, связанных с проявлениями ФАСН, является определение риска зло-

употребления алкоголем и др. психоактивными веществами (ПАВ) во взрослом возрасте [19]. Показано, что пренатальная алкоголизация увеличивает риск злоупотребления алкоголем в подростковом периоде и является предиктором подросткового алкоголизма, а вероятность возникновения алкогольной зависимости значительно возрастает при сочетании пренатальной алкоголизации и ранних первых проб алкоголя в детском и подростковом возрасте [2, 4]. Показано, что 46% подростков, перенёсших пренатальную алкогольную интоксикацию, злоупотребляли алкоголем в возрасте стар-

ше 21-го года [31]. Нейрохимические и молекулярные механизмы, лежащие в основе высокого риска злоупотребления алкоголем у подростков с ФАСН, до сих пор мало изучены, и их выяснение невозможно без использования экспериментальных моделей на животных.

В экспериментальных исследованиях ФАСН широко используется модель пренатальной алкоголизации грызунов — «полупринудительное потребление», когда животные получают в качестве единственного источника жидкости р-р этанола (6–15%). Согласно данным [3], при использовании такой схемы эксперимента животные получают в среднем 14 г/кг абсолютного спирта в сутки, а концентрация алкоголя в крови достигает 1,2 г/л. Преимущество описанной модели заключается в её простоте и минимизации дополнительных стрессорных факторов и рисков, которые могут привести к потере потомства.

В результате исследований, проведённых на животных, были высказаны предположения, что плод может приобретать «память» о связанных с этанолом сенсорных сигналах и воспроизводить в памяти этот пренатальный опыт [25, 30]. Действительно, установлено, что пренатальное воздействие этанола меняет чувствительность потомства к специфическим хемосенсорным характеристикам этанола. Так, воздействие этанола в пренатальном периоде приводило к формированию безусловной поведенческой реакции предпочтения запаха этанола у крыс на 15-й день после рождения [35], а также увеличивало потребление этанола во взрослом возрасте [36]. Авторы объяснили описанный эффект снижением количества нейронов в ядрах тройничного нерва ствола мозга в результате пренатального воздействия алкоголя, приводящим к сокращению каналов стимуляции и снижению вкусового восприятия этанола [34]. Кроме того, не исключается возможность нарушения этанолом функций рецептора

капсаицина, с активацией которого связана аверсивная реакция на вкус этанола [33]. На основании полученных результатов можно предположить, что пренатальное воздействие этанола изменяет обонятельное и вкусовое восприятие этанола у животных в сторону уменьшения аверсивной реакции на этанол, однако данный факт не исключает наличия других изменений функций центральной нервной системы, приводящих к росту предпочтения алкоголя во взрослом возрасте.

В исследованиях с применением электростимуляции различных областей мозга установлено, что центральным звеном т. н. «системы награды» являются мезокортиколимбические области [15]. Регуляция активности дофаминовых (DA) нейронов, тела которых локализованы в вентральной покрышке (VTA) среднего мозга, осуществляется при непосредственном участии  $\mu$ - и  $\kappa$ -опиоидной систем. Особое внимание исследователей привлечено в последнее время к роли динорфин/ $\kappa$ -опиоидной системы мозга в формировании зависимости от ПАВ [6]. Показано, что стимуляция динорфинергической нейротрансмиссии и КОР-рецепторов, локализованных на пресинаптических окончаниях и телах DA нейронов VTA, подавляет их активность и снижает высвобождение DA в мезокортиколимбической системе [21], а антагонистов КОР — повышение уровня дофамина в прилежащем ядре (NAc) [13]. Введение динорфина и агонистов КОР-рецепторов оказывает аверсивный, продисфорический и депрессогенный эффект [29].

Динорфин-экспрессирующие нейроны стриатума, оканчивающиеся как на телах DA нейронов VTA, так и на их пресинаптических окончаниях, выступают, по-видимому, в качестве системы отрицательной обратной связи, играющей «защитную» роль на начальных этапах формирования зависимости. Возможно, с активацией

именно этой системы связан аверсивный компонент эффекта первых проб алкоголя. Мы предполагаем, что изменение «подкрепляющего» действия алкоголя в результате пренатальной алкоголизации может быть связано с нарушением транскрипционной активности генов дофаминовой и опиоидной систем мозга. Последнее время проводится активное изучение влияния различных экзогенных факторов окружающей среды на изменение экспрессии генов, активно транскрибирующихся в развивающемся и взрослом мозге и играющих ключевую роль в поддержании гомеостатического состояния организма [12, 24, 37]. Ранее было показано влияние пренатальной алкоголизации на процесс метилирования генов в мозге [18, 20, 22], что может быть косвенным подтверждением стойких долговременных эффектов пренатальной алкоголизации на уровень транскрипционной активности генов в мозге.

**Целью** настоящего исследования были оценка уровня предпочтения алкоголя взрослыми животными, перенёсшими пренатальную алкоголизацию, и сравнительный анализ уровня экспрессии мРНК ключевых белков дофаминовой (тирозингидроксилазы — TH, транспортера дофамина — DAT) и опиоидной (MOR и KOR) систем в среднем мозге пренатально алкоголизированных и контрольных животных.

С практической точки зрения, экспериментальное изучение нарушений экспрессии мРНК в мозге взрослых животных с пренатальной алкогольной интоксикацией приведёт к более полному пониманию патогенеза ФАСН и разработке эффективных средств профилактики и терапии.

## Материалы и методы

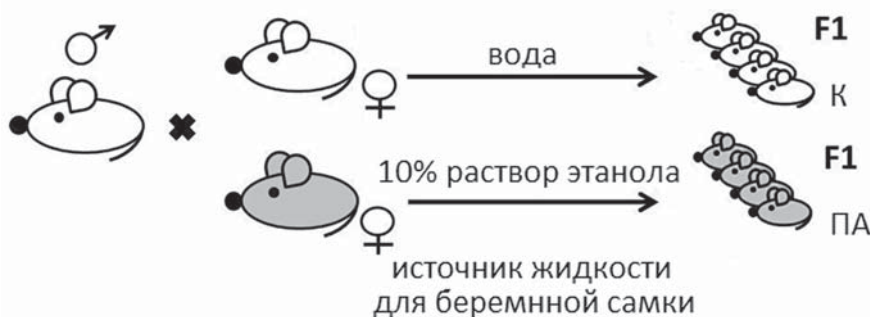
### Животные

Эксперименты проводились на аутбредных крысах-самцах Wistar (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России).

В период адаптации к условиям вивария животных содержали по 8 крыс в одной клетке, в условиях естественной освещённости при температуре  $22 \pm 2$  °C и свободном доступе к пище и воде.

### Модель пренатальной алкоголизации

Двух половозрелых самок в возрасте 60 дней подсаживали к одному самцу на 3 сут (рис. 1). Общее количество самцов — 10, самок — 20. Первым днём беременности считался день обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке. Самок, спаривавшихся с одним самцом, случайным образом делили на две группы: самки опытной группы на протяжении всей беременности (со 2-го по 21-й дни) получали 10%-ный р-р этанола в качестве единственного источника жидкости, для контрольных самок единственным источником жидкости была вода.



**Рис. 1.** Схема получения потомства F1: контрольного (K) и пренатально алкоголизированного (ПА).

**Fig. 1.** Scheme of obtaining F1 progeny: control (K) and prenatally alcohol exposed (PA).

До рождения детёнышей самок содержали по 5 крыс в одной клетке при свободном доступе к пище. После рождения детёнышей на период вскармливания все самки помещались в индивидуальные клетки и переводились на водный режим. На 30-й день жизни детёнышей отделяли от матери, разделяли по гендерному признаку и в дальнейшем содержали по 8 крыс в одной клетке при свободном доступе к пище и воде. Все эксперименты в дальнейшем проводились на половозрелых самцах — потомках интактных (контрольная группа; К) и алкоголизованных во время беременности самок (группа ПА, «пренатально алкоголизованные»). Для изучения потребления алкоголя и экспрессии генов использовали различных животных, отбор проводили таким образом, чтобы все помёты были равноценно представлены в ПА и К группах.

#### **Потребление алкоголя**

Для изучения уровня предпочтения этанола использовали экспериментальную модель «свободный выбор» [11]. Для этого крысы-потомки в возрасте 60 дней были помещены в индивидуальные клетки в условия «свободного выбора» между двумя поилками, содержащими 10%-ный р-р этанола и воду. Потребление этанола и воды измеряли ежедневно путём взвешивания поилок и расчёта уровня потребления в граммах на килограмм массы животного (г/кг).

#### **Забор биологического материала**

Животных в возрасте 60 дней декапировали, выделяли средний мозг на лёду, немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

#### **Полимеразная цепная реакция в реальном времени**

Для выделения тотальной РНК из мозга животных использовали набор «RNeasy Lipid Tissue Mini Kit» (Qiagen, США). 1 мкг РНК использовали в реакции обратной транскрипции для синтеза кДНК с помощью набора «Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit» (Fermentas, США).

Водный раствор кДНК хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Полученную кДНК использовали в качестве матрицы для количественной ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе «Multicolor Real-Time PCR Detection System iQTW5» (BioRad, США). При проведении ПЦР использовались олигонуклеотидные праймеры, приведённые в таблице. Амплификацию проводили в 25 мкл смеси, содержащей 25 нг матрицы (кДНК), праймеры в конечной концентрации 0,4 мкМ и 5 мкл 5-кратной реакционной смеси «qPCRmix-HS SYBR» (Евроген, Россия) в следующем режиме: исходная денатурация матрицы — 3 мин при  $95^{\circ}\text{C}$ ; денатурация —  $95^{\circ}\text{C}$ , 15 с; отжиг праймеров —  $60^{\circ}\text{C}$ , 15 с; элонгация —  $72^{\circ}\text{C}$ , 30 с; 35 циклов. Для нормализации данных в качестве референсного был выбран ген  $\beta$ -актина. Для сравнения уровней экспрессии интересующих генов в опыте и контроле использовали метод  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ .

#### **Статистическая обработка данных**

Статистические расчёты производили с помощью программного пакета Statistica 12 (Statsoft Inc., США). Для проверки нормальности распределения количественных данных использовали критерий Шапиро—Уилка. Т. к. все выборки подчинялись нормальному распределению ( $p > 0,05$ ; тест Шапиро—Уилка), результаты представлялись как «среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего» (SEM). Для оценки статистической значимости различий в потреблении этанола был использован двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) с повторными измерениями; апостериорный анализ с использованием критерия наименьшей значимой разницы (LSD) Фишера был использован, когда это было необходимо. Для оценки межгрупповых различий уровня мРНК использовали t-критерий Стьюдента.

#### **Биоэтика**

Эксперименты с животными были проведены в соответствии с Правилами надлежа-

**Таблица.** Последовательности олигонуклеотидных праймеров, использованных для проведения ПЦР в реальном времени

**Table.** Sequences of oligonucleotide primers used for real-time PCR

Ген	Праймеры	
	Прямой	Обратный
KOP, κ-опиоидный рецептор	5'-tcagggaagatgtggatgtcaatt-3'	5'-tgaagaggtcccaccaggaa-3'
MOP, μ-опиоидный рецептор	5'-gtagtgggcctcttcggaac-3'	5'-gttgggtggcagcttctattttg-3'
TH, тирозингидроксилаза	5'-tcggaagctgattgcagaga-3'	5'-ttccgctgtgtattccacatg-3'
DAT, транспортёр дофамина	5'-aatgctccgtgggaccaatg-3'	5'-caataaccatgaagagcagg-3'
β-актин	5'-cactgccgcctcctctcct-3'	5'-aacgcgtcattgccgatagtg-3'

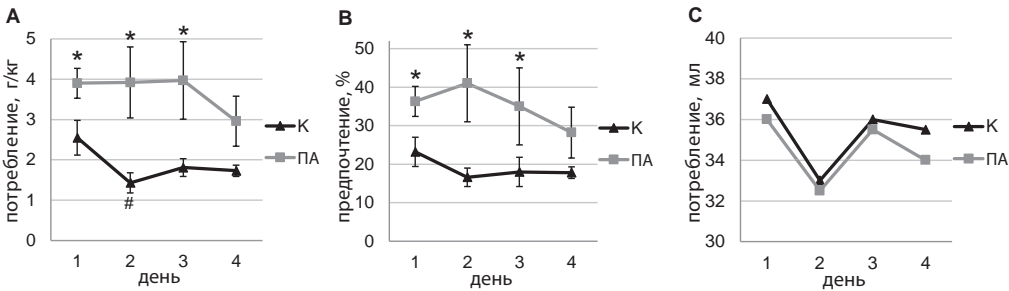
щей лабораторной практики в Российской Федерации (01.04.2016 г.) и требованиями директивы 2010/63/EU от 22.09.2010 г. Европейского Парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в лабораторных экспериментах. Работа утверждена протоколом биоэтической комиссии ФГБУ «НМИЦПН им. В.П. Сербского» Минздрава России.

## Результаты исследований

### Влияние пренатального воздействия этанола на алкогольную мотивацию экспериментальных животных

По результатам тестирования с 60-го по 65-й дни жизни в условиях «свободного

выбора» между двумя поилками, содержащими 10%-ный р-р этанола и воду, было установлено достоверное увеличение потребления (рис. 2А) алкоголя ПА животными в первые 3 дня тестирования, соответственно на 53% ( $p=0,04$ ), 174% ( $p=0,03$ ) и 119% ( $p=0,04$ ) по сравнению с К группой крыс. Также было обнаружено повышенное предпочтение этанола ПА крысами (рис. 2Б) в первые 3 дня тестирования, соответственно, в 1,6 ( $p=0,04$ ), 2,5 ( $p=0,03$ ) и 1,9 ( $p=0,04$ ) раза по сравнению с К группой крыс. Интересно, что у контрольных крыс отмечалось характерное снижение потребления этанола на второй день тестирования — на 44% ( $p=0,02$ ), тогда как у ПА жи-



**Рис. 2.** Потребление этанола и жидкости в условиях свободного выбора. А — среднесуточный уровень потребления в пересчёте на 100% этанол, г/кг; В — предпочтение алкоголя, выраженное в % к общему объёму выпитой жидкости; С — среднесуточный объём потреблённой жидкости, мл. К,  $n=10$  — контрольная группа; ПА,  $n=10$  — группа пренатально алкоголизированных крыс.

**Примечание:** межгрупповые различия: \* —  $p<0,05$  (апостериорный тест LSD); различия внутри групп по сравнению с 1-м днём тестирования: # —  $p<0,05$  (апостериорный тест LSD).

**Fig. 2.** Ethanol and liquid consumption under free choice paradigm. А — mean daily intake in terms of 100% ethanol, g/kg; В — alcohol preference expressed as % of total liquid intake; С — mean daily liquid intake, ml. К,  $n=10$  — control group; ПА,  $n=10$  — group of prenatally alcohol exposed rats.

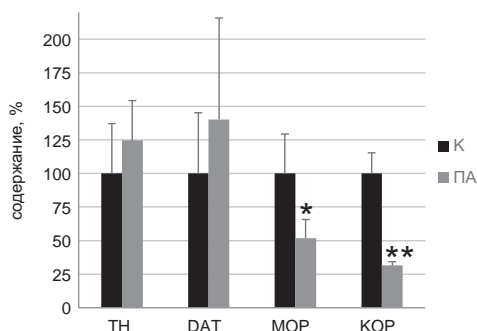
**Note:** intergroup differences: \* —  $p<0.05$  (LSD post hoc test); intra-group differences compared with day 1 testing: # —  $p<0.05$  (LSD post hoc test).



вотных уровень потребления в первые дни тестирования сохранялся постоянно высоким (рис. 2А). Важно, что полученные различия не были связаны с нарушением питьевого поведения, т. к. общие объёмы потребляемой жидкости не отличались в опытной и контрольной группах (рис. 2В).

### Влияние пренатального воздействия этанола на уровень экспрессии КОР, МОР, ТН и DAT

Мы не обнаружили достоверных изменений экспрессии мРНК ТН и DAT в среднем мозге ПА группы крыс по сравнению с контролем. Вместе с тем было обнаружено достоверное снижение уровня мРНК МОР и КОР в среднем мозге ПА группы крыс, соответственно, на 48% ( $p=0,03$ ) и 68% ( $p=0,008$ ) по сравнению с контрольной группой (рис. 3).



**Рис. 3.** Относительный уровень содержания мРНК тирозингидроксилазы (ТН), транспортера дофамина (DAT),  $\mu$ -опиоидных рецепторов (МОР) и  $\kappa$ -опиоидных рецепторов (КОР) в среднем мозге. Содержание — относительное содержание мРНК целевого гена, выраженное в % от содержания в контрольной группе, принятого за 100%. К,  $n=10$  — контрольная группа; ПА,  $n=10$  — группа пренатально этанолизированных крыс.

**Примечание:** межгрупповые различия: \* —  $p<0,05$ ; \*\* —  $p<0,01$  (t-критерий Стьюдента).

**Fig. 3.** Relative levels of tyrosine hydroxylase (TH), dopamine transporter (DAT),  $\mu$ -opioid receptor (MOR), and  $\kappa$ -opioid receptor (KOR) mRNA content in midbrain. Content is the relative mRNA content of the target gene expressed as % of the content in the control group, taken as 100%. K,  $n=10$  — control group; ПА,  $n=10$  — group of prenatally alcohol exposed rats.

**Note:** intergroup differences: \* —  $p<0,05$ ; \*\* —  $p<0,01$  (Student's t-test).

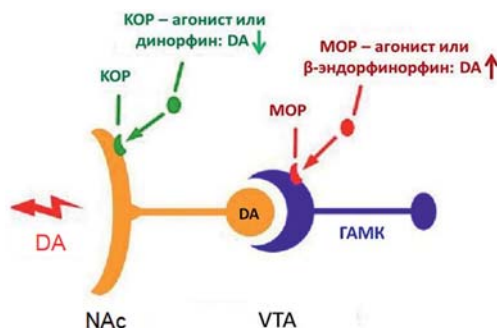
### Обсуждение результатов

Полученные данные свидетельствуют об увеличении потребления алкоголя ПА крысами в условиях свободного выбора и согласуются с клиническими наблюдениями, свидетельствующими, что пренатальное действие этанола увеличивает риск злоупотребления алкоголем в подростковом и взрослом возрасте [2, 4], а также экспериментальными данными, показавшими увеличение потребления этанола пренатально этанолизированными животными во взрослом возрасте [36]. Т. к., полагаясь на литературные данные, эффект алкоголя на поведение может быть связан с функциональным состоянием опиоид-зависимых механизмов, контролирующих активность мезолимбической дофаминовой системы [9], мы изучали уровень экспрессии мРНК  $\mu$ - и  $\kappa$ -опиоидных рецепторов, а также ключевого фермента синтеза дофамина ТН и пресинаптического транспортера DAT. Анализируя полученные данные, можно предположить, что наблюдаемый рост предпочтения алкоголя у ПА крыс не связан с долговременным изменением функций синтеза или обратного захвата дофамина вследствие изменений уровня транскрипции ТН и DAT. Вместе с тем изменение транскрипции МОР и КОР может быть вовлечено в модуляцию предпочтения алкоголя. Как известно, МОР- и КОР-рецепторы представляют две функционально антагонистичные друг другу системы, обеспечивающие функции системы «награды» (reward system) и её отрицательной регуляции (anti-reward system) [14].

Как уже отмечалось, неотъемлемым свойством всех ПАВ, вызывающих зависимость, включая этанол, является способность вызывать повышение уровня дофамина в НАс [15]. Показано, что для этанола одним из механизмов этой активации может быть освобождение  $\beta$ -эндорфина, активирующего МОР, лока-

лизированные на ГАМК-ергических нейронах VTA и, как следствие, дисингибирование (растормаживание) DA нейронов VTA и освобождение DA в областях-мишенях [7]. Антиподом  $\beta$ -эндорфина является динарфин — эндогенный опиоидный пептид, проявляющий преимущественную тропность к KOR [9]. Его психотропные поведенческие эффекты во многом противоположны таковым агонистам MOR: введение динарфина или агонистов KOR оказывает аверсивное, протидисфорическое и депрессогенное действие у человека и у животных [29]. Активация KOR, локализованных на телах и пресинаптических окончаниях DA нейронов VTA, наблюдается при действии алкоголя и, как предполагается, лежит в основе эффекта его «последствия». Таким образом, динарфин-KOR система выполняет функцию отрицательной обратной связи, регулируя DA-ергическую нейротрансмиссию в мезолимбической системе [16]. Необходимо отметить, что противоположный эффект активации опиоидных рецепторов на освобождение дофамина в областях-мишенях связан, прежде всего, с различной локализацией этих рецепторов: KOR — на пресинаптических окончаниях дофаминовых нейронов VTA в стриатуме (NAc), а MOR — на окончаниях ГАМК-ергических вставочных нейронов VTA (рис. 4).

Снижение уровня как MOR, так и KOR мРНК в среднем мозге может говорить о двойном эффекте пренатальной алкоголизации, приводящей к менее выраженному MOR-зависимому положительно-подкрепляющему эффекту алкоголя и, в то же время, к меньшей эффективности KOR-зависимого механизма отрицательной обратной связи [17]. Можно предполагать, что нарушение KOR-зависимой регуляции дофаминовой нейротрансмиссии у пренатально алкоголизированных животных может лежать в основе отсутствия характерного снижения потребления алко-



**Рис. 4.** Влияние стимуляции  $\mu$ -опиоидного (MOR) и  $\kappa$ -опиоидного (KOR) рецепторов на активность мезолимбической дофаминовой системы.

**Примечания:** зеленым отмечен путь, приводящий к снижению ( $\downarrow$ ) уровня дофамина (DA), красным — путь, приводящий к повышению ( $\uparrow$ ) уровня DA. NAc — прилежащее ядро, VTA — вентральная область покрышки, ГАМК —  $\gamma$ -аминомасляная кислота.

**Fig. 4.** Effect of  $\mu$ -opioid (MOR) and  $\kappa$ -opioid (KOR) receptor stimulation on the activity of the mesolimbic dopamine system.

**Notes:** the pathway leading to a decrease ( $\downarrow$ ) in dopamine (DA) levels is marked in green, the pathway leading to an increase ( $\uparrow$ ) in DA levels is marked in red. NAc — nucleus accumbens, VTA — ventral tegmental area, GABA (ГАМК) —  $\gamma$ -aminobutyric acid.

голя (аверсивной «защитной» реакции) на 2-й день эксперимента в модели «свободный выбор».

Полученные данные согласуются с результатами исследований [26], показавшими, что у 14–15-дневного потомства самок крыс, получавших внутрижелудочно 1 г/кг р-ра этанола на поздних сроках беременности (17–20-е дни), снижена экспрессия KOR в синапсоматальной фракции стриатума, и не проявляются поведенческие реакции на введение агонистов и антагонистов KOR рецепторов.

Таким образом, результаты работы подтверждают существующее представление о роли динарфин/к-опиоидной системы при действии алкоголя [27]. Можно предполагать, что её дисфункция вследствие снижения экспрессии мРНК KOR в среднем мозге может приводить к ослаблению аверсивных эффектов алкоголя и, как след-



ствие, его более высокому предпочтению у животных с пренатальной алкогольной интоксикацией.

Полученные данные позволяют предположить, что высокий риск потребления алкоголя у пренатально алкоголизированных животных во взрослом возрасте в значительной степени может быть обусловлен нарушением эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов, кодирующих ключевые белки опиатной системы в мезолимбических областях мозга.

Активация опиатных рецепторов, сопряжённых с ингибиторными G-белками, снижает внутриклеточную концентрацию цАМФ и возбудимость мембраны

посредством активации  $K^+$ -каналов и ингибирования  $Ca^{2+}$ -каналов, что приводит к подавлению активности нейрона, а также торможению пресинаптических процессов высвобождения нейромедиаторов [1, 10]. При этом важно, что агонисты МОР и КОР имеют противоположно направленное действие на активность мезолимбических дофаминовых нейронов. Если активация МОР приводит к их «растормаживанию» и освобождению дофамина, то активация динорфин/к-опиоидной системы является важнейшим из механизмов «противодействия» гиперактивации дофаминовых нейронов VTA и восстановления баланса дофамина в мозге [8, 32].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Al-Hasani R., Bruchas M.R. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *Anesthesiology*. 2011;115(6):1363–1381. DOI: 10.1097/ALN.0b013e318238bba6.
2. Alati R., Al Mamun A., Williams G.M., O'Callaghan M., Najman J.M., Bor W. In utero alcohol exposure and prediction of alcohol disorders in early adulthood: A birth cohort study. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2006;63(9):1009–1016. DOI: 10.1001/archpsyc.63.9.1009.
3. Allan A.M., Chynoweth J., Tyler L.A., Caldwell K.K. A mouse model of prenatal ethanol exposure using a voluntary drinking paradigm. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2003;27(12):2009–2016. DOI: 10.1097/01.ALC.0000100940.95053.72.
4. Baer J.S., Sampson P.D., Barr H.M., Connor P.D., Streissguth A.P. A 21-year longitudinal analysis of the effects of prenatal alcohol exposure on young adult drinking. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2003;60(4):377–385. DOI: 10.1001/archpsyc.60.4.377.
5. Basavarajappa B.S., Subbanna S. Epigenetic mechanisms in developmental alcohol-induced neurobehavioral deficits. *Brain Sci.* 2016;6(2):12. DOI: 10.3390/brainsci6020012.
6. Bazov I., Sarkisyan D., Kononenko O., Watanabe H., Taqi M.M., Stålhandske L., Verbeek D.S., Mulder J., Rajkowska G., Sheedy D., Kril J., Sun X., Syvänen A.C., Yakovleva T., Bakalkin G. Neuronal expression of opioid gene is controlled by dual epigenetic and transcriptional mechanism in human brain. *Cereb. Cortex*. 2018;28(9):3129–3142. DOI: 10.1093/cercor/bhx181.
7. Berrettini W. Alcohol addiction and the mu-opioid receptor. *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2016;65:228–233. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2015.07.011.
8. Estave P.M., Spodnick M.B., Karkhanis A.N. KOR control over addiction processing: An exploration of the mesolimbic dopamine pathway. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2022;271:351–377. DOI: 10.1007/164\_2020\_421.
9. Ford C.P., Mark G.P., Williams J.T. Properties and opioid inhibition of mesolimbic dopamine neurons vary according to target location. *J. Neurosci.* 2006;26(10):2788–2797. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4331-05.2006.
10. Fricker L.D., Margolis E.B., Gomes I., Devi L.A. Five decades of research on opioid peptides: Current knowledge and unanswered questions. *Mol. Pharmacol.* 2020;98(2):96–108. DOI: 10.1124/mol.120.119388.
11. Green A.S., Grahame N.J. Ethanol drinking in rodents: Is free-choice drinking related to the reinforcing effects of ethanol? *Alcohol*. 2008;42(1):1–11. DOI: 10.1016/j.alcohol.2007.10.005.
12. Hao J., Hao W., Liu Z., Shi P. The toggle switch model for gene expression change during the prenatal-to-postnatal transition in mammals. *Mol. Biol. Evol.* 2022;39(3):msac036. DOI: 10.1093/molbev/msac036.
13. Hutsell B.A., Cheng K., Rice K.C., Negus S.S., Banks M.L. Effects of the kappa opioid receptor antagonist nor-binaltorphimine (nor-BNI) on cocaine versus food choice and extended-access cocaine intake in rhesus monkeys. *Addict. Biol.* 2016;21(2):360–373. DOI: 10.1111/adb.12206.
14. Koob G.F. Addiction is a reward deficit and stress surfeit disorder. *Front. Psychiatry*. 2013;4:72. DOI: 10.3389/fpsyt.2013.00072.

15. Koob G.F., Volkow N.D. Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*. 2016;3(8):760–773. DOI: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8.
16. Lalanee L., Ayranci G., Kieffer B.L., Lutz P.E. The kappa opioid receptor: From addiction to depression, and back. *Front. Psychiatry*. 2014;5:170. DOI: 10.3389/fpsyt.2014.00170.
17. Laurent V., Leung B., Maidment N., Balleine B.W.  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid-related processes in the accumbens core and shell differentially mediate the influence of reward-guided and stimulus-guided decisions on choice. *J. Neurosci*. 2012;32(5):1875–1883. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4688-11.2012.
18. Lussier A.A., Morin A.M., MacIsaac J.L., Salmon J., Weinberg J., Reynolds J.N., Pavlidis P., Chudley A.E., Kobor M.S. DNA methylation as a predictor of fetal alcohol spectrum disorder. *Clin. Epigenetics*. 2018;10:5. DOI: 10.1186/s13148-018-0439-6.
19. MacPherson L., Magidson J.F., Reynolds E.K., Kahler C.W., Lejuez C.W. Changes in sensation seeking and risk-taking propensity predict increases in alcohol use among early adolescents. *Alcohol. Clin. Exp. Res*. 2010;34(8):1400–1408. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2010.01223.x.
20. Mandal C., Halder D., Jung K.H., Chai Y.G. Gestational alcohol exposure altered DNA methylation status in the developing fetus. *Int. J. Mol. Sci*. 2017;18(7):1386. DOI: 10.3390/ijms18071386.
21. Margolis E.B., Lock H., Chefer V.I., Shippenberg T.S., Hjelmstad G.O., Fields H.L. Kappa opioids selectively control dopaminergic neurons projecting to the prefrontal cortex. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006;103(8):2938–2942. DOI: 10.1073/pnas.0511159103.
22. Marjonen H., Sierra A., Nyman A., Rogojin V., Grohn O., Linden A.M., Hautaniemi S., Kaminen-Ahola N. Early maternal alcohol consumption alters hippocampal DNA methylation, gene expression and volume in a mouse model. *PLoS One*. 2015;10(5):e0124931. DOI: 10.1371/journal.pone.0124931.
23. McQuire C., Mukherjee R., Hurt L., Higgins A., Greene G., Farewell D., Kemp A., Paranjothy S. Screening prevalence of fetal alcohol spectrum disorders in a region of the United Kingdom: A population-based birth-cohort study. *Prev. Med*. 2019;118:344–351. DOI: 10.1016/j.ypmed.2018.10.013.
24. Miao Z., Li Y., Mao F., Zhang J., Sun Z.S., Wang Y. Prenatal witness stress induces intergenerational anxiety-like behaviors and altered gene expression profiles in male mice. *Neuropharmacology*. 2022;202:108857. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108857.
25. Molina J.C., Spear N.E., Spear L.P., Mennella J.A., Lewis M.J. The International society for developmental psychobiology 39th annual meeting symposium: Alcohol and development: Beyond fetal alcohol syndrome. *Dev. Psychobiol*. 2007;49(3):227–242. DOI: 10.1002/dev.20224.
26. Nizhnikov M.E., Pautassi R.M., Carter J.M., Landin J.D., Varlinskaya E.I., Bordner K.A., Werner D.F., Spear N.E. Brief prenatal ethanol exposure alters behavioral sensitivity to the kappa opioid receptor agonist (U62,066E) and antagonist (Nor-BNI) and reduces kappa opioid receptor expression. *Alcohol. Clin. Exp. Res*. 2014;38(6):1630–1638. DOI: 10.1111/acer.12416.
27. Pautassi R.M., Nizhnikov M.E., Acevedo M.B., Spear N.E. Early role of the kappa opioid receptor in ethanol-induced reinforcement. *Physiol. Behav*. 2012;105(5):1231–1241. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.01.003.
28. Popova S., Lange S., Probst C., Gmel G., Rehm J. Estimation of national, regional, and global prevalence of alcohol use during pregnancy and fetal alcohol syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*. 2017;5(3):e290–e299. DOI: 10.1016/S2214-109X(17)30021-9.
29. Shippenberg T.S., Zapata A., Chefer V.I. Dynorphin and the pathophysiology of drug addiction. *Pharmacol. Ther*. 2007;116(2):306–321. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.06.011.
30. Spear N.E., Molina J.C. Fetal or infantile exposure to ethanol promotes ethanol ingestion in adolescence and adulthood: A theoretical review. *Alcohol. Clin. Exp. Res*. 2005;29(6):909–929. DOI: 10.1097/01.alc.0000171046.78556.66.
31. Streissguth A.P., Bookstein F.L., Barr H.M., Sampson P.D., O'Malley K., Young J.K. Risk factors for adverse life outcomes in fetal alcohol syndrome and fetal alcohol effects. *J. Dev. Behav. Pediatr*. 2004;25(4):228–238. DOI: 10.1097/00004703-200408000-00002.
32. Tejada H.A., Bonci A. Dynorphin/kappa-opioid receptor control of dopamine dynamics: Implications for negative affective states and psychiatric disorders. *Brain Res*. 2019;1713:91–101. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.09.023.
33. Trevisani M., Smart D., Gunthorpe M.J., Tognetto M., Barbieri M., Campi B., Amadesi S., Gray J., Jerman J.C., Brough S.J., Owen D., Smith G.D., Randall A.D., Harrison S., Bianchi A., Davis J.B., Geppetti P. Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1. *Nat. Neurosci*. 2002;5(6):546–551. DOI: 10.1038/nn0602-852.
34. Youngentob S.L., Glendinning J.I. Fetal ethanol exposure increases ethanol intake by making it smell and taste better. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2009;106(13):5359–5364. DOI: 10.1073/pnas.0809804106.
35. Youngentob S.L., Kent P.F., Sheehy P.R., Molina J.C., Spear N.E., Youngentob L.M. Experience-induced fetal plasticity: The effect of gestational ethanol exposure on the behavioral and neurophysiological

- olfactory response to ethanol odor in early postnatal and adult rats. *Behav. Neurosci.* 2007;121(6):1293–1305. DOI: 10.1037/0735-7044.121.6.1293.
36. Youngentob S.L., Molina J.C., Spear N.E., Youngentob L.M. The effect of gestational ethanol exposure on voluntary ethanol intake in early postnatal and adult rats. *Behav. Neurosci.* 2007;121(6):1306–1315. DOI: 10.1037/0735-7044.121.6.1306.
37. Zuccarello D., Sorrentino U., Brasson V., Marin L., Piccolo C., Capalbo A., Andrisani A., Cassina M. Epigenetics of pregnancy: Looking beyond the DNA code. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2022;39(4):801–816. DOI: 10.1007/s10815-022-02451-x.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Кохан Виктор Сергеевич\***, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;  
e-mail: [viktor\\_kohan@hotmail.com](mailto:viktor_kohan@hotmail.com)

**Анохин Пётр Константинович**, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;  
e-mail: [petranokhin@mail.ru](mailto:petranokhin@mail.ru)

**Пахлова Екатерина Павловна**, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;  
e-mail: [kpakhlova@gmail.com](mailto:kpakhlova@gmail.com)

**Сарычева Наталия Юрьевна**, к.б.н., ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;  
e-mail: [nsarychava@gmail.com](mailto:nsarychava@gmail.com)

**Шамакина Инна Юрьевна**, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;  
e-mail: [shamakina@yahoo.com](mailto:shamakina@yahoo.com)

**Viktor S. Kokhan\***, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [viktor\\_kohan@hotmail.com](mailto:viktor_kohan@hotmail.com)

**Petr K. Anokhin**, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [petranokhin@mail.ru](mailto:petranokhin@mail.ru)

**Ekatерина P. Pakhlova**, Lomonosov Moscow State University;  
e-mail: [kpakhlova@gmail.com](mailto:kpakhlova@gmail.com)

**Natalia Yu. Sarycheva**, Cand. Sci. (Biol.), Lomonosov Moscow State University;  
e-mail: [nsarychava@gmail.com](mailto:nsarychava@gmail.com)

**Inna Yu. Shamakina**, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [shamakina@yahoo.com](mailto:shamakina@yahoo.com)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author