

## ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В АДДИКТИВНОМ ПОВЕДЕНИИ ВЗРОСЛЫХ КРЫС: ЭФФЕКТЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

П.К. Анохин, Т.В. Проскурякова\*, В.А. Шоханова, В.С. Кохан, И.Е. Тарабарко,  
И.Ю. Шамакина

*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*

Употребление алкоголя во время беременности является одним из факторов риска неврологических, нервно-психических дисфункций и аддиктивного поведения у потомства, однако биологические основы этих эффектов пренатальной алкоголизации (ПА) до сих пор плохо изучены. Принимая во внимание, что экстрагипоталамическая система кортикотропин-рилизинг фактора (corticotropin-releasing factor, CRF) играет ключевую роль в регуляции аффективного состояния на фоне употребления алкоголя и его отмены, целью настоящего исследования было изучение: 1) влияния ПА на добровольное потребление алкоголя взрослыми крысами Wistar в режиме постоянного или «прерывистого» («питьё в темноте») доступа; 2) различий в базальных уровнях экспрессии мРНК CRF и его рецептора CRFR1 в миндалине взрослых ПА и контрольных крыс; 3) влияния добровольного потребления алкоголя взрослым потомством на уровень мРНК CRF и CRFR1 в миндалине. В обеих моделях алкоголизации у самцов, но не у самок, с ПА было обнаружено значимое увеличение добровольного потребления алкоголя по сравнению с соответствующими контрольными группами. Через 24 ч после первого эпизода отмены только у самцов с ПА отмечался более высокий уровень тревожности в тесте «светлая/тёмная камера». Базальные уровни мРНК CRF и CRFR1 в миндалине не различались между ПА и контрольными крысами обоих полов. При употреблении алкоголя у ПА и контрольных самцов также не было выявлено различий в уровне мРНК CRF в миндалине. У самок с ПА уровень мРНК CRF был снижен по сравнению с контрольной группой на фоне отсутствия тревожно-подобного поведения и увеличения потребления этанола. Таким образом, полученные данные показали, что эффект ПА на потребление алкоголя в будущем зависит от пола, но не связан с нарушением экспрессии мРНК CRF и CRFR1 в миндалине.

**Ключевые слова:** алкоголь, беременность, аддиктивное поведение, миндалина, мРНК, кортикотропин-рилизинг фактор

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

**Для цитирования:** Анохин П.К., Проскурякова Т.В., Шоханова В.А., Кохан В.С., Тарабарко И.Е., Шамакина И.Ю. Половые различия в аддиктивном поведении взрослых крыс: эффекты пренатальной алкоголизации. *Биомедицина*. 2023;19(2):27–36. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-27-36>

Поступила 20.02.2023

Принята после доработки 25.05.2023

Опубликована 10.06.2023

## SEX DIFFERENCES IN ADDICTIVE BEHAVIOR OF ADULT RATS: EFFECTS OF PRENATAL ALCOHOL EXPOSURE

Petr K. Anokhin, Tatyana V. Proskuryakova\*, Vera A. Shokhonova, Victor S. Kokhan,  
Irina E. Tarabarko, Inna Yu. Shamakina

*National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center  
for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia  
11900, Russian Federation, Moscow, Maliy Mogiltsevskiy Lane, 3*

Alcohol experienced during gestation is associated with the development of neurodevelopmental and neuropsychiatric dysfunctions, as well as addictive behavior in the offspring. However, the biological basis of these effects remains poorly understood. Taking into account that the extrahypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) system plays an important role in regulation of the negative emotional state produced by alcohol abuse and withdrawal, the present study was aimed at investigating: 1) the effect of prenatal alcohol exposure (PA) on voluntary alcohol drinking (free choice 24 hours/day) or intermittent (“drinking in the dark”) regimen in adult Wistar rats; 2) differences in the basal gene expression levels of CRF and CRF-R1 in amygdala of adult PA and control rats; and 3) the effect of voluntary alcohol drinking on the above mRNA levels. PA males displayed a significantly greater voluntary alcohol intake than control males as observed by both drinking paradigms. 24 hours after the first withdrawal episode, PA males demonstrated a higher level of anxiety in the light-dark box test. No differences were found between PA and control females. Basal amygdalar CRF and CRFR1 mRNA levels did not differ between PA and control rats of both sexes. No difference was observed in the amygdalar CRF and CRFR1 mRNA levels after alcohol drinking in PA and control males. Conversely, the CRF mRNA levels in amygdala of PA female rats decreased under the action of alcohol consumption, compared to control female rats. The results show that the PA effect on future alcohol-related behavior is sex-specific, but do not support the hypothesis that changes in CRF and CRFR1 mRNA levels in amygdala may be responsible for high alcohol intake in males.

**Keywords:** alcohol, pregnancy, addictive behavior, amygdala, mRNA, corticotropin-releasing factor

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

**For citation:** Anokhin P.K., Proskuryakova T.V., Shokhonova V.A., Kokhan V.S., Tarabarko I.E., Shamakina I.Yu. Sex Differences in Addictive Behavior of Adult Rats: Effects of Prenatal Alcohol Exposure. *Journal Biomed.* 2023;19(2):27–36. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-27-36>

*Submitted 20.02.2023*

*Revised 25.05.2023*

*Published 10.06.2023*

### Введение

Роль эпигенетических нарушений, развивающихся под влиянием экзогенных факторов в критические периоды развития и формирования фенотипа взрослого организма, является важной фундаментальной проблемой. Один из таких факторов — алкоголь, воздействие которого в период пренатального онтогенеза может приводить к развитию физиологических, поведенческих, аффективных, когнитивных нарушений в подростковом и взрослом возрасте [5, 21]. Среди наиболее сложных и актуальных

проблем, связанных с влиянием пренатальной алкогольной интоксикации, можно выделить вероятность риска аддиктивного поведения в подростковом и взрослом возрасте [6, 11, 18, 22]. Показано, что 46% подростков, перенёсших пренатальную алкогольную интоксикацию, злоупотребляют алкоголем в возрасте старше 21 года, при этом характерной особенностью является раннее начало первых проб алкоголя [19]. Нейрохимические и молекулярные механизмы, лежащие в основе этого феномена, до сих пор мало изучены. Опираясь

на данные о значении экстрагипоталамической системы стресса в механизмах острого и хронического действия алкоголя [12, 13, 16, 20] и ключевой роли миндалины мозга в реализации подкрепляющих эффектов этанола и развитии анксиогенеза в остром периоде синдрома отмены алкоголя [15], в настоящем исследовании нами проведена экспериментальная проверка гипотезы о возможной связи аддитивного поведения пренатально алкоголизированных крыс с нарушением транскрипции кортикотропин-рилизинг фактора (corticotropin-releasing factor, CRF) и его рецептора (CRFR1) в миндалине мозга. Учитывая важность фактора пола в трансляционных исследованиях аддитивных расстройств [17], нами было проведено сравнительное изучение эффектов пренатальной алкоголизации на потребление алкоголя и экспрессию мРНК CRF и CRFR1 у взрослых самцов и самок крыс.

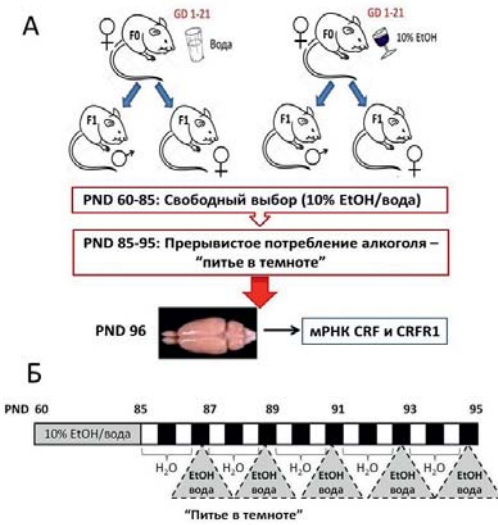
## Материалы и методы

Работа выполнена на аутбредных крысах Wistar (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России) с соблюдением Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г., с приложением от 15.06.2006), правил Совета Европейского сообщества (Директива 86/609/ЕЕС в пересмотре от 14.11.2005 и Директива 2010/63/EU от 22.09.2010), а также Принципов надлежащей лабораторной практики (ГОСТ Р 53434-2009). На протяжении всех этапов исследования животных содержали в условиях естественной освещенности, при температуре  $22 \pm 2$  °С. В качестве пищевого рациона использовали гранулированный корм (ГОСТ Р 50258-92). Соблюдены все положения, в т. ч. использование минималь-

ного количества животных, которое требуется для получения научно достоверных результатов. Протокол эксперимента соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных и был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ПН им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Спаривание животных осуществлялось путём подсаживания двух половозрелых самок (PND60, PND — постнатальные дни) к одному самцу на 3-и сут. На протяжении всей беременности (с 1-го по 21-й дни) самки опытной группы получали 10%-ный р-р этанола в качестве единственного источника жидкости, контрольные самки содержались в условиях водного режима. В период вскармливания детёныши содержались по одному выводку в клетке вместе с матерью в условиях водного режима, а по окончании вскармливания (PND21) отсаживались от матери, и самцов и самок-сисюв распределяли по отдельным клеткам. По достижении половозрелого возраста (PND60) потомство было разделено на 4 группы: пренатально алкоголизированные (ПА) самцы и самки; контрольные (К) самцы и самки, не подвергавшиеся пренатальному воздействию алкоголя. Часть животных была помещена в индивидуальные клетки в условия «свободного выбора» между 10%-ным р-ром этанола и воды с последующим переходом на прерывистое потребление алкоголя («питьё в темноте»), когда свободный выбор предоставлялся на 12 ч во время тёмной фазы суток с последующей заменой этанола на воду на 36 ч [3] (рис. 1).

Потребление этанола и воды измеряли ежедневно на протяжении всего эксперимента, и уровень потребления алкоголя выражали в граммах на килограмм массы животного (г/кг). В исследование были также включены группы ПА и контрольных животных обоего пола соответствующего возраста, не подвергавшиеся алкоголизации



**Рис. 1.** Дизайн эксперимента. А — Самки опытной группы с 1-го по 21-й дни беременности получали 10%-ный р-р этанола в качестве единственного источника жидкости, контрольные самки содержались в условиях водного режима. Взрослое потомство (PND60) было помещено в индивидуальные клетки в условия постоянного доступа к 10%-ному р-ру этанола и воде с последующим переходом на прерывистое потребление алкоголя («питьё в темноте»). Б — Схема алкоголизации потомства.

**Примечание:** PND — постнатальные дни (postnatal days); GD — дни гестации (gestation days).

**Fig. 1.** Experimental design. А — Females of the experimental group received 10% ethanol solution as the only source of fluid throughout the gestational period (GD 1-21); control females received water. Adult offspring (PND60) were housed individually with continuous access to two bottles with 10% ethanol and water followed by intermittent access ("drinking in the dark" regimen). Б — Scheme of alcohol exposure in the offspring.

**Note:** PND — postnatal day; GD — gestation days.

во взрослом возрасте. Оценка двигательной активности и уровня тревожности у потомства осуществлялась в экспериментальной модели тревоги («светлая/тёмная камера»,

TSE, Германия) через 24 ч после первого эпизода отмены алкоголя. Через 24 ч после последнего эпизода отмены алкоголя животных (PND96) декапитировали, миндалину выделяли на холоде, и в дальнейшем образцы хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Уровень экспрессии мРНК CRF и CRFR1 определяли, используя ПЦР в режиме реального времени после обратной транскрипции на амплификаторе CFX Connect Real-Time PCR System («BioRad», Германия). Тотальную РНК выделяли из структур мозга животных с помощью набора «RNeasy Lipid Tissue Mini Kit» («QIAGEN», Нидерланды). 1 мкг тотальной РНК использовали в реакции обратной транскрипции для синтеза кДНК с помощью набора «RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit» («Fermentas», США). В качестве референсного был выбран ген  $\beta$ -актина. При проведении ПЦР использовались опубликованные последовательности олигонуклеотидных праймеров («ДНК-синтез», Россия) (табл. 1). Амплификацию проводили в 25 мкл смеси, содержащей 25 нг матрицы (кДНК), праймеры в конечной концентрации 0,4 мкМ и 5 мкл 5 $\times$  реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR с интеркалирующим красителем SYBR Green I («Евроген», Россия) в течение 40 циклов (исходная денатурация матрицы — 3 мин при 95  $^{\circ}\text{C}$ ; денатурация — 15 сек при 95  $^{\circ}\text{C}$ ; отжиг праймеров — 15 сек при 60  $^{\circ}\text{C}$ ; элонгация — 30 сек при 72  $^{\circ}\text{C}$ ) с последующим анализом кривых плавления полученных продуктов амплификации.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного комплекса Statistica 12 («StatSoft Inc.», США).

**Таблица 1.** Последовательности олигонуклеотидных праймеров, использованных при проведении полимеразной цепной реакции

**Table 1.** Oligonucleotide primers for polymerase chain reaction

Ген, кодирующий:	Праймеры	
	Прямой	Обратный
CRF	5'-ctgtcgcctctgtctgccttc-3'	5'-gttgctggggctgctccggtt-3'
CRFR1	5'-ctctgggatgtcggagcgatcca-3'	5'-cagtgaccaggttagttgat-3'
$\beta$ -актин	5'-cactgcgcgcatcctcttct-3'	5'-aacgcctcattgccgatagtg-3'

Данные представлены в виде: среднее  $\pm$  стандартное отклонение (SD). Критерий Шапиро — Уилка (W-критерий) был использован для оценки нормальности распределения признака в выборке; в случае  $p > 0,05$  распределение считали гауссовым и применяли параметрические методы статистики. Данные анализировались с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA). Апостериорный тест Дункана применяли при обнаружении статистически значимых отличий. Для оценки межгрупповых различий уровня мРНК использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Достоверными считали различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Тестирование животных в условиях свободного выбора при постоянном доступе к алкоголю (PND60-85) не выявило достоверных различий между пренатально алкоголизированными и контрольными животными, а также между самками и самцами. Уровень среднесуточного потребления алкоголя в первую неделю тестирования составил: группа «Самцы К» —  $2,3 \pm 0,66$  г/кг, группа «Самцы ПА» —  $2,84 \pm 0,88$  г/кг; группа «Самки К» —  $2,28 \pm 0,62$  г/кг, группа «Самки ПА» —  $2,3 \pm 1,05$  г/кг. Полученные данные опровергают одну из существующих гипотез, связывающую высокий уровень потребления алкоголя у пренатально

алкоголизированных животных с возможным нарушением вкусовых предпочтений и снижением аверсивного эффекта алкоголя при его первых пробах [23]. В процессе дальнейшего тестирования во всех группах животных наблюдался рост потребления алкоголя, показатели которого на последней неделе в группе «Самцы ПА» были значимо выше, чем в группе «Самцы К» ( $7,5 \pm 1,8$  и  $4,5 \pm 0,97$  г/кг соответственно;  $p < 0,05$ ), тогда как у самок значимых различий не наблюдалось («Самки ПА» —  $4,1 \pm 1,21$  г/кг, «Самки К» —  $4,0 \pm 1,4$  г/кг). Таким образом, при постоянном доступе к алкоголю ПА усиливала рост потребления у самцов, но не у самок крыс.

В модели «питьё в темноте» после первого эпизода отмены потребление алкоголя в тёмное время суток в группе «Самцы ПА» также было значимо выше, чем в группе «Самцы К» ( $4,3 \pm 0,25$  г/кг/12 ч vs.  $2,85 \pm 0,85$  г/кг/12 ч;  $p < 0,05$ ), тогда как потребление алкоголя в опытной и контрольной группах самок достоверно не различалось ( $2,5 \pm 0,5$  г/кг/12 ч vs.  $2,56 \pm 0,72$  г/кг/12 ч). Вместе с тем после второго эпизода отмены алкоголя потребление алкоголя во всех группах претерпело значительный прирост (табл. 2). Дальнейшее тестирование выявило устойчивое значимое превышение потребления в группе «Самцы ПА» по сравнению с контрольной группой, тогда как в группе пренатально алкоголизированных самок

**Таблица 2.** Потребление этанола (в г/кг массы) крысами в модели «прерывистое потребление» («питьё в темноте»)

**Table 2.** Ethanol consumption (g/kg) in rats during repeated cycles of free-choice ethanol intake and withdrawal with the use of intermittent access to 10% ethanol (“drinking in the dark”)

Группы животных	Потребление алкоголя (г/кг/12 ч)				
	1	2	3	4	5
«Самцы К» (n=8)	$2,85 \pm 0,85$	$3,9 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,5$	$3,2 \pm 1,5$
«Самцы ПА» (n=8)	$4,3 \pm 0,25^*$	$6,4 \pm 1,4^*$	$4,9 \pm 1,1^*$	$5,4 \pm 0,7^*$	$5,0 \pm 1,7^*$
«Самки К» (n=8)	$2,5 \pm 0,5$	$5,3 \pm 1,1$	$2,7 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,8$	$4,6 \pm 0,8$
«Самки ПА» (n=8)	$2,56 \pm 0,72$	$6,8 \pm 1,7^{\#}$	$3,2 \pm 0,44$	$5,1 \pm 1,2$	$4,3 \pm 0,4$

**Примечание:** \* —  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Самцы К»;  $^{\#}$  —  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Самки ПА» после первого эпизода отмены.

**Note:** \* —  $p < 0,05$  relative to Group “Males, Control”;  $^{\#}$  —  $p < 0,05$  relative to Group “Females, Control” after the first withdrawal episode.



**Таблица 3.** Поведение потомства после первого эпизода отмены алкоголя в тесте «светлая/тёмная камера»  
**Table 3.** Rat behavior measured in the light-dark box test after the first withdrawal episode

Группы животных	Тёмный отсек			Светлый отсек			Общая двигательная активность
	Входы	Пробег (y. е.)	Время (сек)	Входы	Пробег (y. е.)	Время (сек)	
«Самцы К» (n=8)	59,5±6,01	3794±301,4	755,6±126,4	49±5,7	3131,1±416,9	609,6±104,5	8821,4±693,4
«Самцы ПА» (n=8)	<b>36,3±3,7</b>	<b>2269,3±247,2*</b>	<b>742,6±171,1</b>	<b>36,4±5,3</b>	<b>1941,1±340,7*</b>	<b>440,8±121,7</b>	<b>5664,6±476,0**</b>
«Самки К» (n=8)	59,3±8,5	3350,1±480,5	692,3±130,3	51±7,4	3125,8±466,8	580,4±94,0	8579,3±1127,6
«Самки ПА» (n=8)	59,5±10,7	3702,8±397,0	779,8±120,2	59,3±9,4	2924,4±328,1	595,4±117,5	8516,4±827,5

**Примечание:** \* —  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Самцы К»; \*\* —  $p < 0,15$  по сравнению с группой «Самцы К».  
**Note:** \* —  $p < 0,05$  relative to Group “Males, Control”; \*\* —  $p < 0,01$  relative to Group “Males, Control”.

отмечалась лишь тенденция к увеличению потребления этанола (табл. 2).

В тесте «светлая/тёмная камера» претерпели статистически значимые изменения следующие характеристики поведения пренатально алкоголизированных самцов: пройденное расстояние в светлом отсеке ( $F_{1,14}=5,216$ ;  $p=0,0385$ ), в тёмном отсеке ( $F_{1,14}=15,134$ ;  $p=0,016$ ) и общая двигательная активность ( $F_{1,14}=13,4$ ;  $p=0,0026$ ) по сравнению с самцами контрольной группы. Животные группы «Самцы ПА» в сравнении с группой «Самцы К» отличались меньшим пробегом в светлом отсеке — на 62%, и меньшей суммарной пройденной дистанцией — на 64%. У «Самок ПА» не отмечалось достоверных различий ни по одному из показателей по сравнению с самками контрольной группы. Таким образом, у пренатально алкоголизированных самцов, но не у самок, наблюдалось снижение ориентировочно-исследовательской активности в новой среде, что может свидетельствовать о повышенном уровне тревоги на фоне отмены алкоголя (табл. 3).

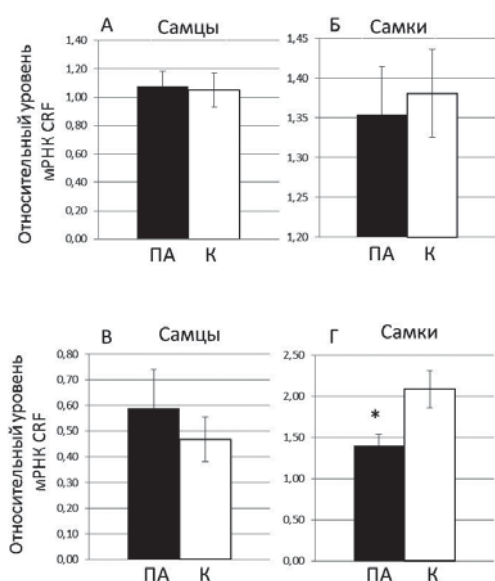
Мы предположили, что в основе повышенного уровня потребления алкоголя и тревожности в состоянии отмены у пренатально алкоголизированных самцов может лежать изменение экспрессии мРНК CRF и/или его рецептора CRFR1 в миндалине [9]. Однако мы не обнаружили значимых различий уровня мРНК CRF между группами прена-

тально алкоголизированных и контрольных самцов, как не подвергавшихся алкоголизации (рис. 2А), так и после алкоголизации в режиме «питьё в темноте» (рис. 2В).

Интересно, что для группы «Самки ПА» было показано достоверное снижение уровня мРНК CRF после алкоголизации по сравнению с группой «Самки К» (на 34%,  $p < 0,05$ ) (рис. 2Г).

Мы также не обнаружили значимых различий уровня мРНК CRFR1 между группами как пренатально алкоголизированных и контрольных самцов, так и пренатально алкоголизированных и контрольных самок (рис. 3).

Важная роль экстрагипоталамической CRF-системы в «продуцировании» выраженных аффективных расстройств, в т. ч. тревожных состояний, на фоне отмены алкоголя многократно обсуждалась в работах зарубежных и отечественных авторов [4, 7, 14]. Была сформулирована гипотеза («kindling»/stress hypothesis), согласно которой повторные эпизоды отмены алкоголя на фоне хронической алкоголизации приводят к долговременной сенситизации — усилению стресс-реактивности, состояния тревоги и депрессии, одним из механизмов которой может быть нарушение функций миндалины [8]. Изучение экспрессии мРНК CRF в миндалине в экспериментальных моделях алкогольной зависимости проводили, главным образом, с использованием инб-



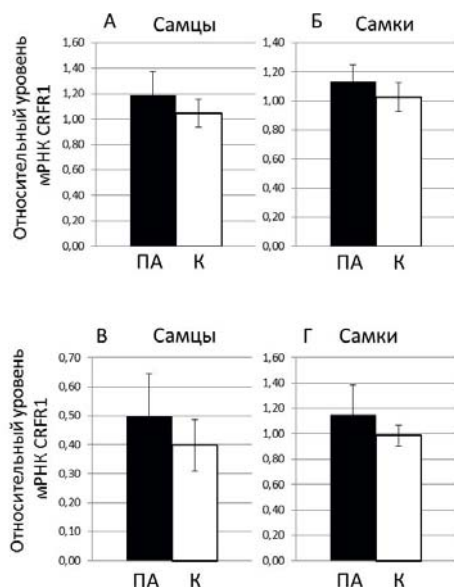
**Рис. 2.** Относительный уровень мРНК CRF в миндалине пренатально алкоголизованных (ПА) и контрольных (К) крыс: животные, не потреблявшие алкоголь во взрослом возрасте (А, Б), и животные после хронической алкоголизации (В, Г).

**Примечание:** \* —  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Самки К».

**Fig. 2.** Relative CRF mRNA expression level in the amygdala of prenatally alcohol exposed (ПА) and control (К) rats: alcohol-free as adults (А, Б), alcohol-experienced in adulthood (В, Г).

**Note:** \* —  $p < 0.05$  relative to Group "Females, Control".

редных линий крыс. Так, при длительной хронической алкоголизации были выявлены изменения уровня мРНК CRF в нейронах центрального ядра миндалины у крыс инбредной линии Sardinian с высоким и низким уровнем предпочтения алкоголя (Sardinian alcohol-preferring (sP) и Sardinian non-alcohol-preferring (sNP) соответственно) [24]. Было установлено, что крысы sP имели более высокий уровень экспрессии мРНК CRF в миндалине по сравнению с крысами sNP. Добровольное потребление алкоголя в режиме свободного выбора между 10% р-ром этанола и водой приводило к снижению уровня мРНК CRF на фоне повышения уровня мРНК продинорфина в миндалине крыс sP [24]. Мы показали, что пренатально алко-



**Рис. 3.** Относительный уровень мРНК CRFR1 в миндалине пренатально алкоголизованных (ПА) и контрольных (К) крыс: животные, не потреблявшие алкоголь во взрослом возрасте (А, Б), и животные после хронической алкоголизации (свободный выбор + «питьё в темноте», В, Г).

**Fig. 3.** Relative CRFR1 mRNA expression level in the amygdala of prenatally alcohol exposed (ПА) and control (К) rats: alcohol-free as adults (А, Б), alcohol-experienced in adulthood (В, Г).

голизированные самцы, но не самки крыс, отличаются высоким уровнем потребления алкоголя и тревоги при использовании модели «прерывистого потребления» («питьё в темноте»). Однако в нашем исследовании не было выявлено значимых различий уровня мРНК CRF у пренатально алкоголизованных самцов по сравнению с контрольными самцами после хронической алкогольной интоксикации. Таким образом, изменение экспрессии мРНК CRF и CRFR1 в миндалине не является фактором, определяющим повышенный уровень тревоги и добровольного потребления алкоголя, наблюдаемые у пренатально алкоголизованных самцов.

Вместе с тем снижение экспрессии мРНК CRF в миндалине пренатально алкоголизи-

ванных самок на фоне отсутствия тревожно-подобного поведения и увеличения уровня потребления этанола можно рассматривать как один из протективных факторов формирования зависимости во взрослом возрасте. Следует отметить, что большинство доклинических исследований в экспериментальной наркологии проводилось, главным образом, на самцах грызунов, тогда как данные исследований последних лет [1, 2, 13, 17] свидетельствуют о важности и необходимости проведения сравнительного анализа нарушений с учётом фактора пола. В связи с этим выяснение молекулярных основ нарушений функций центральной нервной системы, в т. ч. лежащих в основе зависимого от пола аддиктивного поведения, у пренатально алкоголизированных животных приведёт к более полному пониманию патогенеза нарушений фетального алкогольного спектра.

## Выводы

1. Пренатальная алкоголизация способствует увеличению добровольного по-

требления алкоголя у взрослых самцов, но не у самок крыс Wistar. Эти различия наблюдаются как при постоянном, так и при прерывистом доступе к алкоголю.

2. На фоне отмены алкоголя только у пренатально алкоголизированных самцов отмечены признаки тревожно-подобного поведения.

3. Результаты исследования не подтверждают предположение, что в основе повышенного уровня потребления алкоголя и тревожности в состоянии отмены у пренатально алкоголизированных самцов может лежать изменение экспрессии мРНК CRF и/или его рецептора CRFR1 в миндале.

4. Полученные результаты свидетельствуют о зависимом от пола влиянии потребления алкоголя матерью во время беременности на аддиктивное поведение потомства, что необходимо учитывать при проведении дальнейших трансляционных исследований механизмов нарушений фетального алкогольного спектра и разработке средств их профилактики и терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Проскурякова Т.В., Шоханова В.А., Анохин П.К., Тарабарко И.Е., Анохина И.П. Гендерные различия в поведении потомства крыс, употреблявших алкоголь до и во время беременности. *Вопросы наркологии*. 2018;10–11(170):40–54. [Proskuryakova T.V., Shohonova V.A., Anohin P.K., Tarabarko I.E., Anohina I.P. Gendernye razlichiya v povedenii potomstva kryss, upotrebyavshikh alkohol' do i vo vremya beremennosti [Gender differences in the behavior of the offspring of rats that consumed alcohol before and during pregnancy]. *Voprosy narkologii [Journal of Addiction Problems]*. 2018;10–11(170):40–54. (In Russian)].
2. Проскурякова Т.В., Анохин П.К., Шоханова В.А., Разумкина Е.В., Шамакина И.Ю. Половые различия уровня мРНК кортикотропин-рилизинг фактора, его рецептора в мозге и кортикостерона в крови у потомства самок крыс, употреблявших алкоголь до и во время беременности. *Вопросы наркологии*. 2019;12(183):66–80. [Proskuryakova T.V., Anohin P.K., Shohonova V.A., Razumkina E.V., Shamakina I.Iu. Polovye razlichiya urovnya mRНК kortikotropin-rilizing faktora, ego retseptora v mozge i kortikosterona v krvi u potomstva samok kryss, upotrebyavshikh alkohol' do i vo vremya beremennosti [Sex differences in the mRNA levels of corticotropin-releasing factor, its receptor in the brain, and corticosterone in the blood of the offspring of female rats that consumed alcohol before and during pregnancy]. *Voprosy narkologii [Journal of Addiction Problems]*. 2019;12(183):66–80. (In Russian)]. DOI: 10.47877/0234-0623\_2019\_12\_66.
3. Проскурякова Т.В., Шоханова В.А., Шамакина И.Ю. Экспериментальные модели формирования физической зависимости от алкоголя. *Российский психиатрический журнал*. 2021;4:80–92. [Proskuryakova T.V., Shohonova V.A., Shamakina I.Iu. Eksperimental'nye modeli formirovaniya fizicheskoy zavisimosti ot alkogolya [Experimental models of the formation of physical dependence on alcohol]. *Rossiyskiy psikhiatricheskii zhurnal [Russian Journal of Psychiatry]*. 2021;4:80–92. (In Russian)]. DOI: 10.47877/1560-957X-2021-10409.
4. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Гормональные механизмы зависимости. Концепция гиперциркуляции в амигдало-гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе. *Экология человека*. 2009;8:19–24. [Shabanov P.D., Lebedev A.A. [Gormonal'nye mekh-



- anizmy zavisimosti. Kontseptsiya gipertsirkulyatsii v amigdalno-gipotalamo-gipofizarno-nadpocheknikovoy sisteme [Hormonal mechanisms of dependence. The concept of hypercirculation in the amygdala-hypothalamic-pituitary-adrenal system]. *Ehkologiya cheloveka* [Human ecology]. 2009;8:19–24. (In Russian)].
5. 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.
  6. 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.
  7. Breese G.R., Overstreet D.H., Knapp D.J., Navarro M. Prior multiple ethanol withdrawals enhance stress-induced anxiety-like behavior: Inhibition by CRF1- and benzodiazepine-receptor antagonists and a 5-HT1a-receptor agonist. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30(9):1662–1669. DOI: 10.1038/sj.npp.1300706.
  8. Breese G.R., Overstreet D.H., Knapp D.J. Conceptual framework for the etiology of alcoholism: A “kindling”/stress hypothesis. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2005;178(4):367–380. DOI: 10.1007/s00213-004-2016-2.
  9. Brunton P.J., Donadio M.V., Russell J.A. Sex differences in prenatally programmed anxiety behaviour in rats: Differential corticotropin-releasing hormone receptor mRNA expression in the amygdaloid complex. *Stress*. 2011;14(6):634–643. DOI: 10.3109/10253890.2011.604750.
  10. Heilig M., Koob G.F. A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. *Trends Neurosci*. 2007;30(8):399–406. DOI: 10.1016/j.tins.2007.06.006.
  11. Honey P.L., Galef B.G. Jr. Ethanol consumption by rat dams during gestation, lactation and weaning increases ethanol consumption by their adolescent young. *Dev. Psychobiol*. 2003;42(3):252–260. DOI: 10.1002/dev.10098.
  12. Kirson D., Khom S., Rodriguez L., Wolfe S.A., Varodayan F.P., Gandhi P.J., Patel R.R., Vlkolinsky R., Bajo M., Roberto M. Sex differences in acute alcohol sensitivity of naïve and alcohol dependent central amygdala GABA synapses. *Alcohol Alcohol*. 2021;56(5):581–588. DOI: 10.1093/alcac/agab034.
  13. Kirson D., Steinman M.Q., Wolfe S.A., Spierling Bagsic S.R., Bajo M., Sureshchandra S., Oleata C.S., Messaoudi I., Zorrilla E.P., Roberto M. Sex and context differences in the effects of trauma on comorbid alcohol use and post-traumatic stress phenotypes in actively drinking rats. *J. Neurosci. Res*. 2021;99(12):3354–3372. DOI: 10.1002/jnr.24972.
  14. Merlo Pich E., Lorang M., Yeganeh M., Rodriguez de Fonseca F., Raber J., Koob G.F., Weiss F. Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress and ethanol withdrawal as measured by microdialysis. *J. Neurosci*. 1995;15(8):5439–5447. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.15-08-05439.1995.
  15. Mineur Y.S., Garcia-Rivas V., Thomas M.A., Soares A.R., McKee S.A., Picciotto M.R. Sex differences in stress-induced alcohol intake: A review of preclinical studies focused on amygdala and inflammatory pathways. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2022;239(7):2041–2061. DOI: 10.1007/s00213-022-06120-w.
  16. Roberto M., Kirson D., Khom S. The role of the central amygdala in alcohol dependence. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2021;11(2):a039339. DOI: 10.1101/cshperspect.a039339.
  17. Rodriguez L., Kirson D., Wolfe S.A., Patel R.R., Varodayan F.P., Snyder A.E., Gandhi P.J., Khom S., Vlkolinsky R., Bajo M., Roberto M. Alcohol dependence induces CRF sensitivity in female central amygdala GABA synapses. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(14):7842. DOI: 10.3390/ijms23147842.
  18. 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.
  19. 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.
  20. Varodayan F.P., Patel R.R., Matzeu A., Wolfe S.A., Curley D.E., Khom S., Gandhi P.J., Rodriguez L., Bajo M., D'Ambrosio S., Sun H., Kerr T.M., Gonzales R.A., Leggio L., Natividad L.A., Haass-Koffler C.L., Martin-Fardon R., Roberto M. The amygdala noradrenergic system is compromised with alcohol use disorder. *Biol. Psychiatry*. 2022;91(12):1008–1018. DOI: 10.1016/j.biopsych.2022.02.006.
  21. Wozniak J.R., Riley E.P., Charness M.E. Clinical presentation, diagnosis, and management of fetal alcohol spectrum disorder. *Lancet Neurol*. 2019;18(8):760–770. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30150-4.
  22. 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: 10.1037/0735-7044.121.6.1293.
  23. 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.

24. Zhou Y., Colombo G., Gessa G.L., Kreek M.J. Effects of voluntary alcohol drinking on corticotropin-releasing factor and preprodynorphin mRNA levels

in the central amygdala of Sardinian alcohol-preferring rats. *Neurosci. Lett.* 2013;554:110–114. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.08.071.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**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)

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

**Проскурякова Татьяна Васильевна\***, д.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;  
e-mail: [tproskuryakova48@yandex.ru](mailto:tproskuryakova48@yandex.ru)

**Tatyana V. Proskuryakova\***, Dr. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [tproskuryakova48@yandex.ru](mailto:tproskuryakova48@yandex.ru)

**Шоханова Вера Алексеевна**, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;  
e-mail: [verash51@rambler.ru](mailto:verash51@rambler.ru)

**Vera A. Shokhonova**, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [verash51@rambler.ru](mailto:verash51@rambler.ru)

**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: [victor\\_kohan@hotmail.com](mailto:victor_kohan@hotmail.com)

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

**Тарабарко Ирина Евгеньевна**, Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;  
e-mail: [irkul@mail.ru](mailto:irkul@mail.ru)

**Irina E. Tarabarko**, National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [irkul@mail.ru](mailto:irkul@mail.ru)

**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)

**Inna Yu. Shamakina**, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center 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