



УДК 612.82.821

ВЛИЯНИЕ АНГИОТЕНЗИНА II И АНТИСЫВОРОТКИ  
К НЕМУ НА АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ У КРЫС

ПАНФИЛОВ А. Д., ГОМАЗКОВ О. А., КОМИССАРОВА Н. В.

НИИ медицинской физиологии АМН СССР, Москва

Исследовано значение ангиотензина II (А-II) для регуляции агрессивного поведения у спонтанно-мурицидных крыс. Активность ангиотензинпревращающего фермента, исследованная в 6 регионах мозга, у агрессивных животных в 2—3 раза выше в таламо-гипоталамической области и среднем мозгу. Агрессивная реакция тормозится при интрацеребральном и внутривенном введении А-II. Очищенная антисыворотка к этому пептиду потенцирует проявление агрессивности. Очевидно, система «центрального» ангиотензина принадлежит роль своеобразного индуктора в нейрохимической регуляции эмоциотропных поведенческих реакций и, в частности, агрессивного поведения.

Ангиотензину принадлежит заметная роль в регуляции различных форм поведенческих и вегетативных реакций организма. По мнению Ganten и соавт. [1], «нет другого пептида или биологически активного соединения со столь разносторонним действием на различные регуляторные системы организма». Можно считать доказанным, что в мозгу, независимо от периферии, существует «своя» ренин-ангиотензиновая система с характерным комплексом биохимических компонентов образования, распада и рецепции основного физиологически активного фактора—А-II. Множественность физиологических реакций А-II может быть, в частности, объяснена его сопряженностью с функциями АКТГ, альдостерона,  $\beta$ -эндорфина, серотонина, катехоламинов и др. При этом существенным является аспект регионального образования и действия А-II, приуроченного к определенным отделам и структурам ЦНС.

Комплекс этих вопросов, связанных с регуляторной функцией А-II, может быть рассмотрен на модели агрессивного поведения, которая оценивается как одна из форм эмоциогенного статуса организма. Следует констатировать, что в регуляции различных форм агрессивности участвует несколько групп нейрохимических факторов—классические нейромедиаторы, пептиды, гормоны, во взаимодействии которых не определена какая-либо упорядоченность. Что касается конкретно А-II, информация о его роли в модуляции эмоциотропной активности пред-

ставляется важной [2—4], однако недостаточной в отношении реакций агрессивного поведения.

В данной работе была поставлена задача рассмотреть на примере мурицидной модели (агрессивное поведение крыс, убивающих мышей), активность ангиотензинпревращающего фермента в различных регионах мозга, а также влияние А-II и антисыворотки к этому пептиду на изменения показателей агрессивного поведения.

### Материалы и методы

Работа выполнена на 103 беспородных крысах-самцах массой 130—200 г. Крыс из питомника помещали в индивидуальные клетки и давали им стандартную виварийную диету без ограничения пищевого и водного рациона. Из общей группы производили отбор агрессивных животных: крыса признавалась мурицидной, если в течение 3 мин она атаковала подсаженную белую мышь, убивая ее укусами в голову. Тестирование и отбор крыс осуществляли в течение 3-х недель до получения стабильных показателей агрессивности для каждого индивидуального животного. Критериями мурицидного поведения считали процент убивающих крыс из общей группы и латентный период до атаки на мышь с момента ее подсадки. Для более достоверной оценки мурицидности через 5 мин после первого тестирования осуществляли повторную подсадку мыши и учитывали латентный период до второй атаки.

На агрессивных и контрольных крысах были выполнены три серии исследований. В I-й серии исследовали активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), дипептидилкарбоксипептидаза (К.Ф. 3.4.15.1)—в гипофизе, мозжечке, таламо-гипоталамической области, стриатуме, среднем мозгу и обонятельных луковицах. Выделение зон мозга производилось по схеме [5]. Материал хранили в пластиковых планшетах при  $-20^{\circ}$  до момента исследования ферментативной активности. Активность АПФ определяли по методу Fridland, Silverstein [6] в гомогенатах мозговой ткани, приготовленных на 0,05 М  $K^{+}$ -фосфатном буфере, pH 7,5, содержащем 0,01%-ный тритон X-100 в качестве субстрата использовали гиппурил-гистидил-лейцин.

Во II-й серии опытов исследовали влияние А-II на показатели агрессивности при интрацеребральном и внутрибрюшинном введении препаратов. А-II вводили под эфирным наркозом фиксированным на стереотаксической установке крысам, у которых предварительно (за 7 дней) осуществляли частичное скальпирование теменного участка черепа. Препарат вводили 1 раз в объеме 5 мкл в боковые желудочки мозга по стереотаксическим координатам AP+1,5; 2: 6,5 мм. Внутрибрюшинное введение веществ—в дозах 0,3—0,5 мл.

В III-ей серии животным интрацеребрально вводили очищенную кроличью сыворотку к А-II. Исходная антисыворотка была получена в Институте органического синтеза АН Латвийской ССР\* и очищена

Авторы приносят глубокую благодарность Г. А. Афанасьевой за предоставление антисыворотки к А-II.

нами на колонке с протеин-А-сефарозой CL-4B. Радиоиммунологическое определение [7] показало, что активность выделенной IgG фракции антител была в 7—10 раз выше исходной антисыворотки.

Статистическая обработка результатов проведена с применением критерия Стюдента и непараметрическим методом с использованием критерия знаков [8]. Последний метод был применен при оценке латентного периода до атаки, который у животных с разной степенью агрессивной реакции достигал значительного диапазона: от I с до полной утраты мурицидности: в этом случае принималась условная величина времени до атаки—180 с.

В работе были использованы следующие реактивы: ангиотензин-II-амид (Экспериментальный завод Института органического синтеза АН Латвийской ССР), гиппурил-гистидил-лейцин, гистидил-лейцин и о-фталевый диальдегид („Serva“, ФРГ), тритон-X-100 („Sigma“, США), протеин-А-сефароза („Pharmacia“, Швеция).

### Результаты и обсуждение

*Региональные изменения активности АПФ у агрессивных и неагрессивных крыс.* На рис. 1 приведены показатели активности АПФ в различных зонах мозга крыс. Наивысшие уровни У.А.—в пределах 3,7—5,5 нмоль His-Leu/мин/мг—отмечаются в ткани гипофиза. Сходные и несколько меньшие значения активности—2,7—3,5 нмоль—обнаружены у неагрессивных крыс в мозжечке, среднем мозгу, стриатуме, таламо-гипоталамической области. Наименьшая активность АПФ выявлена в обонятельных луковицах. Существенным в этих опытах явилось значительное снижение активности АПФ в среднем мозгу и таламо-гипоталамической зоне у крыс с агрессивным поведением. В сравнении с контролем эти величины ниже соответственно в 2,4 и 3,1 раза. У агрессивных крыс в гипофизе и стриатуме отмечается тенденция к увеличению активности АПФ.

Таким образом, агрессивные крысы характеризуются существенно более низким уровнем ферментативной активности, генерирующей образование А-II. Отсюда следует, что изменение концентрации этого пептида в мозгу за счет его экзогенного введения или связывания соответствующей антисывороткой может явиться фактором, модулирующим проявление агрессивности в ту или другую сторону.

*Влияние препаратов А-II на агрессивное поведение мурицидных крыс.* Следующую серию экспериментов проводили с препаратами А-II, которые вводили интрацеребрально или внутрибрюшинно. Установили, что 7 нг интрацеребрально вводимого А-II приводит к значительному торможению агрессивного поведения (рис. 2). Число животных, утративших мурицидность, в первые 4 ч после введения вещества составляет 57,8—63,1%. Через 24 ч отмечается тенденция к восстановлению показателей агрессивности, через 48 ч эффект интрацеребрально введенного А-II уже отсутствует.

Приведенные данные «процента отказа» подтверждаются изменениями латентного периода атаки у агрессивных крыс. Показано существенное замедление этой реакции у животных, получавших 7 мг А-II в течение первых 4-х ч (табл. 1). Следует обратить внимание, что другая доза А-II—70 мг, вводимого также интрацеребрально, почти не оказывает тормозящего влияния на мурицидное поведение: число убивающих крыс не отличается от таковых в контроле; увеличение латент-

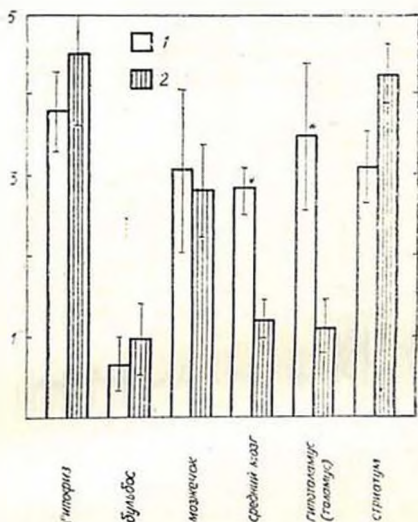


Рис. 1. Активность ангиотензинпревращающего фермента в зонах мозга неагрессивных (1) и агрессивных (2) крыс. Активность фермента в нмоль His-Leu/мин/мг белка. Средние данные для 4—6 определений; достоверность разницы контроль/опыт для  $p < 0,05$

ного периода атаки достоверно только для срока 4 ч после введения этой дозы А-II (табл. 1). Торможение агрессивности было обнаружено также и при внутрибрюшинном введении А-II. При этом из серии доз от 1.0 до 10.0 мкг/кг эффективной оказалась лишь последняя доза (табл. 1). Из 13 крыс, получивших 10 мкг А-II, временное исчезновение мурицидности зафиксировано у 3; максимальное увеличение времени латентного периода атаки на жертву приходится на 4-й ч после введения препарата. Через 24 ч этот показатель близок к исходному.

**Влияние антисыворотки к А-II на агрессивное поведение.** Третья группа исследований была проведена с очищенной антисывороткой к А-II. Были выбраны крысы с нестойким агрессивным поведением, утратившие во время проведения опытов выявленную ранее мурицидность. Эти крысы не обнаруживали признаков агрессивного поведения или

такое было выражено в неполном и замедленном виде (атака без укуса, латентный период более 3-х мин). Из 18 таких крыс 12-и интрацеребрально была введена антисыворотка к А-II. Остальные животные получили физиологический раствор. Через сутки у 7 крыс, получивших антисыворотку, восстановилась агрессивная реакция с характерной быстрой атакой на жертву. В последующие сутки количество крыс с восстановленной мурицидностью увеличилось до 67%, и этот показатель сохранялся в течение 1 месяца периодического тестирования (табл. 2). При этом показатели агрессивной реакции были максимальными. У всех 6 крыс, получивших физиологический раствор, в течение того же срока феномен агрессивного поведения отсутствовал.

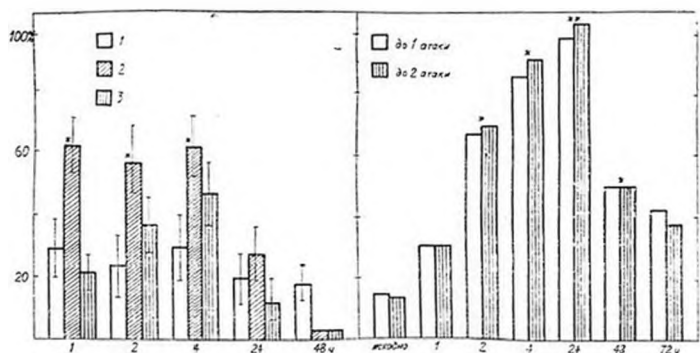


Рис. 2. Торможение агрессивного поведения у мурицидных крыс под влиянием ангиотензина II. По оси абсцисс—время после интрацеребрального введения препарата; по оси ординат—количество животных, утративших мурицидность («процент отказа»). 1—введение физиологического раствора, 2—ангиотензин II, 7 нг, 3—ангиотензин II, 70 нг; \*достоверность разницы по отношению к контролю для  $p < 0.05$ . Средние данные для 19 животных в каждой группе

Рис. 3. Торможение агрессивной реакции под влиянием ангиотензина II у крыс с восстановленной мурицидностью. По оси абсцисс—время после введения ангиотензина II (7 нг, интрацеребрально); по оси ординат—латентный период до атаки на объект (с). Достоверность по «критерию значков» в сравнении с исходным уровнем: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ . Средние данные для 12 крыс

Наконец, на крысах с восстановленной после введения антисыворотки мурицидностью опыт повторили в обратном порядке: животным интрацеребрально был введен А-II, в дозе 7 нг. Из 8 таких крыс временная потеря мурицидности отмечалась у 5; в группе в целом значительно увеличивался латентный период до первой и второй атаки на жертву (рис. 3). Эти результаты свидетельствуют о тормозящем влиянии А-II на проявления агрессивной реакции у крыс с восстановленной

мурицидностью. Эффект пептида сохранялся в течение 3-х суток—срока, значительно большего, чем в экспериментах, представленных в предыдущей серии (табл. 1).

Таблица 1

Влияние ангиотензина II на агрессивную реакцию мурицидных крыс  
(изменение латентного периода до 1 атаки, с)

| Вводимые вещества, дозы                                             | Исх. | 1 ч    | 2 ч    | 4 ч    | 1 сутки | 2 суток |
|---------------------------------------------------------------------|------|--------|--------|--------|---------|---------|
| Интрацеребрально<br>Контроль<br>(физиологический раствор)<br>(n=17) | 2,05 | 55,1   | 62,0   | 54,3   | 42,3    | 30,8    |
| Ангиотензин II, 7 мкг<br>(n=19)                                     | 7,9  | 157,2* | 117,3* | 123,7* | 65,9    | 38,8    |
| Ангиотензин II, 70 мкг<br>(n=19)                                    | 3,1  | 55,4   | 70,8   | 86,3*  | 39,5    | —       |
| Внутрибрюшинно<br>Контроль<br>(физиологический раствор)<br>(n=12)   | 1,7  | 1,9    | 2,0    | 1,9    | 10,4**  | 7,0***  |
| Ангиотензин II, 10 мкг<br>(n=13)                                    | 2,7  | 26,1   | 34,9   | 56,4*  | 27,4**  | 8,8**   |

Примечание. \* Достоверность разницы ( $p < 0,01$ ) по критерию знаков, вычисленная по отношению к исходному показателю; время после введения препарата—\* 6 ч, и \*\*\* 1 сутки соответственно

Описанные серии экспериментов показали причастность А-II к реализации агрессивного поведения крыс. Об этом свидетельствует пониженная активность в таламо-гипоталамической зоне и среднем мозгу фермента, генерирующего пептид: тормозящее влияние А-II при интрацеребральной аппликации малых доз: восстановление агрессивного поведения при введении антисыворотки к А-II. Ранее было исследовано влияние ангиотензина и брадикинина на различные формы агрессивного поведения у крыс [9]. Однако, несмотря на большой спектр исследуемых вариантов, отчетливого влияния этих пептидов на агрессивность выявлено не было, вероятно, из-за поздних сроков тестирования. Попытка связать агрессивное поведение мышей с изменениями активности рениновой системы была предпринята Poulsen и соавт. [10, 11]. В этих работах речь идет об увеличении активности ангиотензин-I-генерирующего фермента ренина в крови при отсутствии влияния на уровень артериального давления.

В наших опытах введенный интраперитонеально А-II оказывал тормозящее действие на проявления агрессивности. Эффективные дозы пептида при этом оказывались на три порядка больше, чем при интрацеребральной аппликации. При исследовании нейропептидов остро стоит вопрос о соотношении центральных и периферических звеньев этой регуляторной системы и о возможности проникновения пептида с «периферии» в центральные образования. Ferrario [12] обсуждает возможность достижения субфornикальной области мозга при инфузии А-II в сонную или позвоночную артерию. Этим, возможно, определяется спе-

цифичность регуляторного влияния А-II на секреторную функцию гипофиза, метаболизм минералокортикостероидов или активность адренорецепторов некоторых отделов мозга. Вероятно, пептид может проникать в мозг через перивентрикулярные структуры гипоталамуса, где имеются проходимые участки ГЭБ для молекул подобной величины [13]. Поэтому эффект вводимого интраперитонеально А-II на агрессивность мо-

Таблица 2

Влияние антисыворотки к ангиотензину II на восстановление агрессивного поведения у крыс

| Вещество                        | Животные                    | Время после инъекции антисыворотки, сутки |     |     |     |     |     |
|---------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                                 |                             | исх.                                      | 1   | 2   | 3   | 18  | 30  |
| Антисыворотка к ангиотензину II | неагрессивные / агрессивные | 12/0                                      | 5/7 | 5/7 | 4/8 | 4/8 | 4/8 |
| Физиологический раствор         | неагрессивные / агрессивные | 6/0                                       | 6/0 | 6/0 | 6/0 | 6/0 | 6/0 |

Примечание. Очищенная антисыворотка вводится интрацеребрально в дозе 7 мкг/крысу однократно.

жет быть опосредован через эти пути. Понятно, что доза препарата будет в этом случае во много раз выше той, которая оказывается эффективной при непосредственном введении в желудочки мозга. Поскольку А-II влияет на проявления разнообразных физиологических реакций—увеличение артериального давления, липогенный эффект, высвобождение гормонов, регуляцию эмоционального поведения и др., зависящих от дозы и места образования или введения вещества в мозг, вопрос о региональной специфичности действия нейропептидов имеет особое значение.

В регуляции агрессивного поведения и, в частности, мурицидности принимают участие биохимические системы и тканевые структуры, связанные с метаболизмом серотонина, катехоламинов, ГАМК и др. [14]. Учитывая сопряженность биохимических реакций этих систем с нейропептидами, следует считать, что речь идет о целостной нейрохимической системе регуляции эмоциотропных реакций, в которых А-II принадлежит место своеобразного «индуктора». Вероятно, что эти элементы центральной регуляции сложных поведенческих реакций могут быть объектом специфической коррекции с применением соответствующих факторов и ведущей к активации или торможению процесса в целом.

# EFFECT OF ANGIOTENSIN—II AND ANTISERUM TO IT ON THE MODULATION OF THE AGGRESSIVE BEHAVIOR IN MURICIDAL RATS

PANFILOV A. D., GOMAZKOV O. A., KOMISSAROVA N. V.

Institute of Medical Enzymology, USSR Academy of Medical Sciences,  
Moscow

The role of angiotensin II in the regulation of aggressive behavior in muricidal (mouse-killing) rats has been studied. The activity of angiotensin-converting enzyme, investigated in 6 regions of the brain, has been found to be 2–3-fold lower in the thalamo-hypothalamic region and in the midbrain of aggressive animals. The muricidal reaction is inhibited by intracerebroventricular and intraperitoneal administration of angiotensin II. A purified antiserum to this peptide potentiates aggressiveness. Probably, the „central“ angiotensin system operates as a trigger in the neurochemical regulation of the emotiotropic behavioral reactions, particularly, muricidae.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ganten D., Lang R., Lehmann E., Unger T. *Biochem. Pharmacol.*, v. 33, p. 3523–3528, 1984.
2. Левшина И. П., Гехт К., Поппай М., Шлезель Г., Кранц Д., Вольмбергтер А. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, т. 27, с. 363–367, 1977.
3. Балакова В. И., Ломакина Е. А., Сулакян К. В. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* № 10, с. 442–445, 1981.
4. Кольдун М. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, т. 35, с. 280–287, 1985.
5. Glowinsky I., Iversen L. L. *J. Neurochem.*, v. 13, p. 655–669, 1966.
6. Fridlund J., Silverstein E. *Amer. J. Clin. Pathol.*, v. 66, p. 416–428, 1976.
7. Афанасьева Г. А., Чипенс Г. Н. *Биохимия*, т. 42, с. 1711–1719, 1977.
8. Гублер Е. В., Генкин А. А. *Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях*, М., Медицина, 1973.
9. Рилова А. А., Шерстнев В. В. *Журн. высш. нерв. деят-сти*, т. 34, с. 904–910, 1984.
10. Pedersen E. B., Poulsen K. *Acta Endocrinol. (Copenh.)*, v. 104, p. 510–512, 1983.
11. Poulsen K., Jacobsen J. *Clin. Exper. Hypert.—Theor. Pract.*, v. A5, p. 969–973, 1983.
12. Ferrurlo C. M. *Hypertension*, v. 5, Suppl. V, p. V73–V79, 1983.
13. Simpson J. B. *Neuroendocrinology*, v. 32, p. 248–252, 1981.
14. Mandel P., Mack G., Kempf E.—In: *Psychopharmacology of aggression* (ed. M. Sandler), p. 95–110, Raven Press, N. Y., 1979.

Поступила 14. II 1987