

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ НА ПОВЕДЕНИЕ И ДОФАМИНОВУЮ СИСТЕМУ МОЗГА У МЫШЕЙ

© 2024 г. Д. В. Базовкина^{1,*}, У. С. Устинова², С. Н. Адонина¹, П. Д. Комлева¹,
А. Б. Арефьева¹, Е. А. Куликова¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия

*E-mail: daryabazovkina@gmail.com

Поступила в редакцию 19.10.2023 г.

После доработки 30.11.2023 г.

Принята к публикации 08.12.2023 г.

Дофаминовая система мозга участвует в регуляции различных физиологических процессов и поведенческих реакций, включая социальное поведение. На грызунах было показано, что длительное одиночное содержание может приводить к изменениям параметров поведения и нейрохимических показателей, однако не всегда эти данные можно однозначно интерпретировать. В настоящей работе исследовали эффекты продолжительной социальной изоляции на поведение и состояние дофаминовой системы мозга у самцов мышей линии C57Bl/6. Животных опытной группы с 40–42-дневного возраста содержали индивидуально в отдельных клетках в течение шести недель, в то время как мышей контрольной группы – в групповых условиях. Изоляция не повлияла на двигательную и исследовательскую активность в тесте «открытое поле» по сравнению с групповым содержанием. В то же время животные, подвергавшиеся продолжительной изоляции, демонстрировали большую длительность социальных контактов в модели «резидент – интродер» и ослабление стереотипного поведения в тесте «закапывание шариков» по сравнению с контрольной группой. Эти изменения в поведении сопровождались повышением уровней мРНК генов, кодирующих дофаминовые рецепторы D1 и D2, в стриатуме мышей. Кроме этого, уровень метаболита дофамина DOPAC снижался в гипоталамусе и повышался во фронтальной коре мышей вследствие действия социальной изоляции по сравнению с контрольной группой. Результаты вносят вклад в понимание эффектов длительной социальной изоляции на поведение и дофаминовую систему мозга у мышей.

Ключевые слова: социальная изоляция, поведение, дофамин, дофаминовый рецептор, экспрессия генов, мозг, мыши

DOI: 10.31857/S0869813924020071, **EDN:** DJINUE

ВВЕДЕНИЕ

Коронавирусная пандемия 2020 г. вызвала всплеск в исследовании последствий длительной социальной изоляции, поскольку главной рекомендацией ВОЗ для предотвращения распространения инфекции была минимизация социальных связей вплоть до полного карантина. Однако социальная изоляция, определяемая как лишение со-

циальных контактов и взаимодействия, является сильным стрессорирующим фактором как для людей, так и для животных [1, 2]. Особенно стоит отметить, что хронический стресс в раннем возрасте может быть причиной развития тяжелых психических расстройств, включая шизофрению, агрессию, тревожность во взрослом возрасте [2, 3]. Поэтому в последние несколько лет приобретают актуальность модели социальной изоляции, разрабатываемые на животных, в частности, на грызунах [4–6]. По литературным данным, длительное одиночное содержание мышей или крыс может приводить к снижению нейрогенеза и синаптической пластичности [6], а также к негативным последствиям, таким как повышенное тревожное и депрессивноподобное поведение [7, 8]. Продолжительная социальная изоляция может усиливать проявления агрессии и менять структуру социальных взаимодействий [4, 9, 10], при этом данные по влиянию длительной изоляции на стереотипное поведение остаются малочисленными и неоднозначными [11–13].

Дофаминовая система мозга участвует в регуляции различных физиологических процессов, включая двигательную активность, нейроэндокринные функции и многие виды поведения, в том числе тревожное, социальное и стереотипное [14–15]. Дофамин играет важную роль в патофизиологии таких нейродегенеративных и психических расстройств, как паркинсонизм [16], шизофрения, депрессия [17] и тревожность [18]. Дофаминовые рецепторы (D1 – D5) являются трансмембранными G-белок-связанными клеточными рецепторами. Наиболее изученными являются рецепторы D1 и D2, которые вовлечены в регуляцию широкого спектра поведенческих реакций [15].

Данные по влиянию социальной изоляции на дофаминовую систему мозга довольно противоречивы. Некоторые авторы обнаруживают, что длительное одиночное содержание увеличивает внеклеточный уровень дофамина [19–20], но другие исследователи этого не подтверждают [21]. Данные по влиянию длительной изоляции на рецепторы дофамина также неоднозначны: по одним сведениям, происходит снижение плотности рецепторов D1 и D2 в структурах мозга [22–24], но другие результаты указывают на повышение активности рецепторов D2 в мозге в ответ на изоляцию [25].

Целью данной работы было исследование влияния длительной социальной изоляции на двигательную активность и тревожное, стереотипное и социальное поведение и функциональную активность дофаминовой системы мозга. Для этого у самцов мышей линии C57Bl/6 было изучено влияние одиночного содержания на: 1) поведение в тестах «открытое поле», «закапывание шариков» и «социальное взаимодействие»; 2) содержание дофамина и его метаболитов DOPAC (ДОФУК, 3,4-диоксифенилуксусная кислота) и HVA (ГВК, гомованилиновая кислота) в структурах мозга; 3) уровни мРНК генов, кодирующих рецепторы D1 и D2, в структурах мозга.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Эксперименты проводились на самцах линии C57Bl/6 ($n = 20$). Данная линия имеет SPF-статус и поддерживается в Центре коллективного пользования SPF-виварий Института цитологии и генетики СО РАН. Исследование было выполнено на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI62119X0023). Были сделаны все усилия для снижения числа экспериментальных животных и уменьшения их страдания.

После отсадки от матерей в возрасте 4 недель самцы содержались по 5 особей в индивидуально вентилируемых клетках Optimice (Techniplast, Италия) в стандартных условиях вивария (температура 20–22°C, влажность 50–60%, световой цикл 14 : 10, стандартный корм и вода без ограничений). В начале эксперимента по изоляции возраст мышей составлял 40–42 дня.

Дизайн исследования: социальная изоляция

Самцов мышей разделили на две группы: контрольную (контроль, $n = 10$) и экспериментальную (изоляция, $n = 10$). Контрольных животных продолжали содержать в клетках по 5 особей, тогда как животные из опытной группы были рассажены в индивидуальные клетки сроком на 6 недель, поскольку, по литературным данным, необходимо не менее трех недель одиночного содержания для обнаружения изменений в поведении грызунов [26].

За день до тестирования животных контрольных групп рассаживали в отдельные клетки для снятия группового эффекта, поскольку содержание грызунов в группах в одной клетке сопровождается установлением иерархических отношений, которые влияют на поведение, метаболизм биогенных аминов в мозге и уровень кортикостерона. Поэтому перед тестированием рекомендуется рассадить животных в индивидуальные клетки. Было показано, что у грызунов через сутки после рассаживания влияние группового эффекта нивелируется [27].

Последовательно, по одному в день, были проведены тесты «открытое поле» (для оценки уровня двигательной активности и тревожного поведения), «закапывание шариков» (для оценки уровня стереотипного поведения) и «социальное взаимодействие». Выбор тестов был обусловлен тем, что дофаминовая система мозга участвует в регуляции данных видов поведения [14–15]. Социальная изоляция продолжалась до декаптации животного с последующим выделением на льду структур мозга: гипоталамуса, фронтальной коры и стриатума. Выбор структур был обусловлен тем, что вышеназванные отделы мозга получают дофаминергические проекции [14]. Образцы тканей замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C до дальнейших процедур.

Тесты поведения

Тест «открытое поле» (Open field test) проводили в аппарате, состоящем из круглой арены (40 см в диаметре), окруженной пластиковым бортиком 25 см, с инвертированным освещением (двумя галогенными лампами по 12 Вт, расположенными на 40 см ниже арены) и системой компьютерной регистрации “EthoStudio” (Россия). Мышь помещали около бортика и в течение 5 мин автоматически регистрировали пройденный путь (м) и время (%) пребывания в центре арены (20 см в диаметре) и исследованную площадь арены (%) [28].

В *тесте «закапывание шариков» (Marble burying)* мышей помещали в стандартные клетки OptiMice, в которые предварительно насыпали (и слегка утрамбовывали) чистые опилки подстила глубиной 5 см. Поверх опилок равномерно раскладывали 20 стеклянных шариков (диаметром 1 см). Тест длился 30 мин, во время теста экспериментаторы выходили из комнаты. После тестирования животных возвращали в домашние клетки, затем вручную подсчитывали число закопанных и незакопанных шариков. Шарик считался закопанным, когда более 2/3 его объема было покрыто опилками [29].

Социальное взаимодействие (Social interaction) тестировали в модели «резидент – интродер»: в домашнюю клетку экспериментального самца подсаживали ювенильного (4-недельного) самца линии Balb/c. В течение 10 мин с помощью программы EthoStudio фиксировали продолжительность социальных контактов (обнюхивание головы, тела, груминг) и длительность агрессивных атак по отношению к интродеру [30].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Для выделения общей РНК и ВЭЖХ использовали метод множественного выделения. Для этого структуры гомогенизировали в объеме (гипоталамус, фронтальная кора в 150 мкл, стриатум в 250 мкл) холодного 50 мМ Tris HCl буфера (pH 7.6) на льду, затем аликвоты гомогената использовали для выделения общей РНК (по 100 мкл для гипоталамуса и фронтальной коры и по 200 мкл для стриатума) и ВЭЖХ (50 мкл). Али-

квоту для ВЭЖХ (50 мкл) быстро переносили в эппендорф с 150 мкл 0.6 М хлорной кислоты (HClO_4). В оставшуюся аликвоту (100 мкл или 200 мкл) быстро добавляли TRIzolReagent (“Lifetechnologies”, США), вся процедура занимала меньше минуты.

Методом ВЭЖХ определяли содержание дофамина, DOPAC (3,4-Dihydroxyphenylacetic acid, 3,4-диоксифенилуксусная кислота) и HVA (Homovanillic acid, гомованилиновая кислота) в гипоталамусе, фронтальной коре и стриатуме по протоколу, описанному ранее [31]. После добавления аликвоты гомогената ткани мозга (50 мкл) в эппендорф с 150 мкл 0.6 М хлорной кислоты (HClO_4) пипетировали и центрифугировали 15 мин при 4°C и 14000 об/мин для осаждения белка. Отбирали супернатант и разбавляли водой miliQ в 2 раза. Оставшийся осадок хранили при -20°C для последующего определения белка методом Бредфорда. Для этого осадок растворяли в 1 мл 0.1М NaOH, концентрацию белка в полученном растворе определяли с помощью реактива Бредфорда в двух повторах для каждого образца. Измерение концентрации белка проводили с помощью спектрофотометра MultiScan GO и программного обеспечения Thermo Scientific SkanIt (Thermo Fisher Inc. США). 20 мкл супернатанта вводили в петлю системы ВЭЖХ, которая состояла из следующих компонентов: электрохимический детектор (750 мВ, DECADE ИТМ; Antec, Нидерланды), проточный элемент из стеклоуглерода (ячейка VT-03, 3 мм GC sb; Antec, Нидерланды), системный контроллер SVM-20A, блок подачи растворителя LC-20AD, автоматический пробоотборник SIL-20A и дегазатор DGU-20A5R (Shimadzu Corporation, США). Хроматографическое разделение веществ осуществляли в изократическом режиме элюирования при скорости потока 0.6 мл/мин на колонке C18 (размер частиц 5 мкм, L × ID 75 × 4.6 мм, Luna, Phenomenex, США), защищенной предколонкой C8 (Phenomenex, США). Подвижная фаза состояла из 87% буфера, содержащего 50 мМ дигидроортофосфата калия (Sigma Aldrich, США), 1.4 мМ натриевой соли октансульфоновой кислоты (Chimmed, Россия) и 0.05 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (Sigma Aldrich, США) pH 3.9, и 13% метанола (Chimmed, Россия). Для построения калибровочной кривой внешних стандартов использовали серию растворов, содержащих по 0.5, или 1, или 2 нг дофамина, DOPAC и HVA (Sigma Aldrich, США). Площадь пиков была оценена при помощи программы LabSolution LG/GC (Shimadzu, США) и калибрована на соответствующий внешний стандарт. Концентрации биогенных аминов выражали в нг/мг белка, как было описано ранее [31].

Выделение общей РНК

Общая РНК была выделена с помощью TRIzolReagent (“Lifetechnologies”, США), затем обработана ДНКазой без РНКазной активности (RNase free DNase, Promega, США, 1000 о.е./мл) в соответствии с инструкциями производителей. Оптическая плотность РНК была измерена на спектрофотометре (Nanodrop, США). РНК была разведена водой до концентрации 0.125 мкг/мкл и хранилась при -70°C. Отсутствие примесей геномной ДНК в образцах РНК определяли в соответствии с протоколом, описанным ранее [32, 33], с использованием праймеров к гену *Tph1*, который не экспрессируется в ЦНС (кроме эпифиза), а также с использованием отрицательного контроля (без обратной транскриптазы). Качество выделенной РНК также определяли по наличию в агарозном геле четких двух полос рибосомальной РНК без «шлейфа».

Реакция обратной транскрипции

Реакцию проводили по протоколу, описанному ранее [31–32]. Общая РНК (8 мкл, или 1 мкг) была смешана с 8 мкл смеси, содержащей 180 нг статистического праймера длиной 6 нуклеотидов (конечная концентрация праймера составила 5 мкМ), 5.65 мкл воды, обработанной диэтиллирокарбонатом и 2.25 мкл стерильного 1М KCl, денатурирована при 94°C в течение 5 мин на амплификаторе БИС М-120 (БИС-Н, Россия), затем до-

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и их характеристики

Ген	Нуклеотидная последовательность	$T_{отж.}, ^\circ\text{C}$	Длина продукта ПЦР, п.н.
<i>Drd1</i>	F 5'-ggaaacctgtcgaatgctctc-3' R 5'-ccagccaaccacacaatacatcg-3'	64	222
<i>Drd2</i>	F 5'-tccgccacttcttgacatacattg-3' R 5'-cccattccacagcctctctaag-3'	65	203
<i>Polr2a</i>	F 5'-tgtgacaactccatacaatgc-3' R 5'-ctctcttagtgaattgcgtact-3'	60	194

бавляли 15 мкл смеси, содержащей обратную транскриптазу MuMLV (Биосан, Россия) (2000 ед.), 0.5 М Tris-HCl (pH 8.3, 0.63 мкл), смесь трифосфатов 4мМ (3.63 мкл), дитиотреитол 0.1 М (2.25 мкл), 0.1 М MnCl₂ (0.3 мкл) и 8 мкл воды, обработанной диэтилпиноксикарбонатом. Полученная смесь (конечным объемом 31 мкл) была инкубирована при 41°C в течение 60 мин. Синтезированная кДНК хранилась при температуре -20°C.

ОТ-ПЦР в реальном времени

Экспрессию генов определяли с помощью количественного метода обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР), разработанного в нашей лаборатории [32, 33]. Праймеры, используемые для амплификации кДНК исследуемых генов (табл. 1), разрабатывали на основе последовательностей, опубликованных в базе данных EMBL Nucleotide database, при помощи инструментов Oligoanalyzer (<https://eu.idtdna.com/calc/analyzer>) и Ensemble (<https://www.ensembl.org/index.html>) и синтезировали в компании “Биосан” (Новосибирск, Россия) (в Базе данных RefSeq: NM_001291068.1 для *Polr2a*, NM_010076.3 для *Drd1*, NM_010077.3 для *Drd2*). Для проведения ПЦР в реальном времени 1 мкл кДНК смешивали с универсальным набором реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I (R-402, Синтол, Москва, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. ПЦР проводили на амплификаторе LightCycler 480 (Roche Applied Science, Швейцария) в соответствии со следующим протоколом: 3 мин 95°C, 1 цикл; 10 с при 95°C, 30 с при соответствующей температуре отжига (табл. 1), 30 с при 72°C, 40 циклов. Серию разведений геномной ДНК с концентрацией 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 и 128 нг/мкл амплифицировали в отдельных пробирках (одновременно с образцами кДНК) и использовали как внешний экзогенный стандарт для построения калибровочной кривой. Калибровочная кривая в координатах Ct (значение порогового цикла) – IgP (десятичный логарифм количества стандарта ДНК) была построена автоматически программным обеспечением LightCycler 480. Для контроля специфичности амплификации использовали анализ кривой плавления ПЦР-продукта для каждого прогона каждой пары праймеров.

Экспрессия каждого исследуемого гена была представлена как отношение количества кДНК исследуемого гена к 100 копиям гена ДНК-зависимой РНК-полимеразы 2 (*Polr2a*), выполняющей функцию внутреннего стандарта [32, 33].

Статистический анализ

Результаты представляли как $M \pm SEM$ и сравнивали в программе STATISTICA 8.0 с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Нормальность выборок определяли по критерию Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и критерию Шапиро – Уилка. Достоверными считались различия с $p < 0.05$.

Таблица 2. Влияние длительной социальной изоляции на поведение мышей линий C57Bl/6 в тестах «открытое поле», «закапывание шариков» и социальное поведение в модели «резидент – интродер»

	Контроль	Изоляция	F, p
Открытое поле			
Пройденный путь, м	10.9 ± 0.5	11.7 ± 0.7	$F_{1,18} < 1$
Исследованная площадь арены, %	96.2 ± 1.3	95.6 ± 1.4	$F_{1,18} < 1$
Время в центре, %	13.4 ± 2.5	10.8 ± 1.1	$F_{1,18} = 1.1, p > 0.05$
Социальное поведение			
Длительность социальных контактов, с	49.1 ± 15.9	119.4 ± 29.1	$F_{1,18} = 4.8, p < 0.05$
Длительность агрессивных атак, с	16.1 ± 4.7	18.8 ± 5.6	$F_{1,18} < 1$
Закапывание шариков			
Число закопанных шариков	11.0 ± 0.7	7.7 ± 0.8	$F_{1,18} = 9.4, p < 0.01$

$n = 10$ в группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведенческие результаты

В табл. 2 представлены результаты исследований поведения в тестах «открытое поле», «социальное взаимодействие», «закапывание шариков». В тесте «открытое поле» не было выявлено различий ни по длине пройденного пути, ни по исследованной площади арены, ни по времени, проведенному в центре, между исследуемыми группами мышей ($p > 0.05$). В тесте «социальное взаимодействие» самцы, подвергавшиеся изоляции, демонстрировали большую длительность социальных контактов ($p < 0.05$), но не отличались по продолжительности агрессивных атак ($p > 0.05$) по отношению к интродеру по сравнению с контрольными животными. В тесте «закапывание шариков» уровень стереотипного поведения (определяемого по числу закопанных шариков) снижался у мышей, подвергавшихся изоляции, по сравнению с контролем ($p < 0.01$) (табл. 2).

Метаболизм дофамина в мозге

Длительная социальная изоляция не оказала достоверного влияния на содержание дофамина в гипоталамусе самцов ($F_{1,18} = 1.2, p > 0.05$). При этом была обнаружена тенденция к увеличению уровня нейромедиатора во фронтальной коре ($F_{1,18} = 3.7, p = 0.07$) и стриатуме ($F_{1,17} = 3.8, p = 0.07$) у мышей вследствие действия изоляции (рис. 1а). Одинокое содержание мышей привело к падению уровня ДОРАС в гипоталамусе ($F_{1,18} = 4.4, p < 0.05$), а также к повышению уровней этого метаболита в стриатуме на уровне тенденции ($F_{1,17} = 3.5, p = 0.08$) и фронтальной коре ($F_{1,18} = 5.8, p < 0.05$) по сравнению с контролем (рис. 1б). Не было найдено влияния изоляции на содержание НВА в гипоталамусе ($F_{1,18} = 1.8, p > 0.05$) и фронтальной коре ($F_{1,18} < 1$), однако была обнаружена тенденция к повышению содержания этого метаболита в стриатуме ($F_{1,17} = 3.5, p = 0.08$) мышей, подвергавшихся изоляции, по сравнению с контролем (рис. 1с).

Индекс метаболизма дофамина, определяемый как ДОРАС/дофамин, не отличался у обеих групп для гипоталамуса ($F_{1,18} < 1$), фронтальной коры ($F_{1,18} < 1$) и стри-

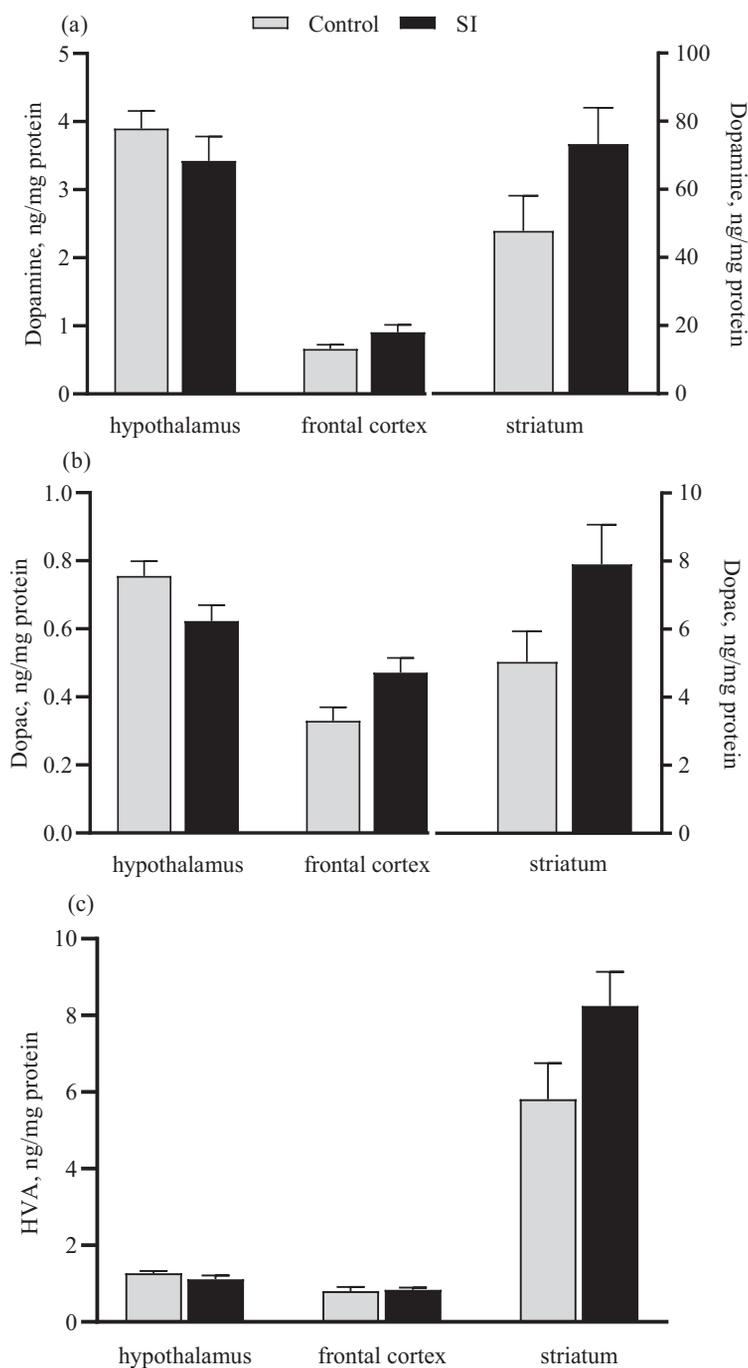


Рис. 1. Влияние длительной социальной изоляции на уровни дофамина (а), его метаболитов DOPAC (б) и HVA (с) в структурах мозга самцов мышей линии C57Bl/6. * $p < 0.05$, число животных в группе составляет 10 мышей.

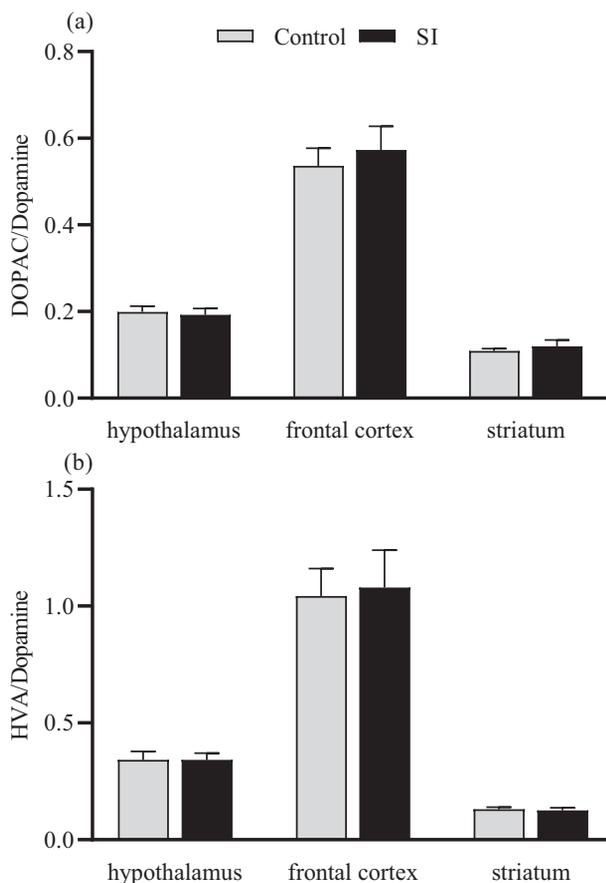


Рис. 2. Влияние длительной социальной изоляции на индексы метаболизма дофамина DOPAC/дофамин (а) и HVA/дофамин (б) для структур мозга у самцов мышей линии C57Bl/6. Число животных в группе составляет 10 мышей.

тума ($F_{1,17} < 1$) (рис. 2а). Также не отличался между группами индекс метаболизма нейромедиатора, определяемый как HVA/дофамин ($F_{1,18} < 1$), для всех изученных структур (рис. 2б).

Экспрессия генов

Исследуемые группы не отличались по уровню мРНК гена *Drd1*, кодирующего рецептор D1, ни в гипоталамусе ($F_{1,18} < 1$), ни во фронтальной коре ($F_{1,18} < 1$) (рис. 3а). Также не было найдено различий по экспрессии гена *Drd2*, кодирующего рецептор D2, в этих отделах мозга ($F_{1,18} < 1$ для обеих структур) (рис. 3б). Однако социальная изоляция привела к росту уровней мРНК генов *Drd1* ($F_{1,18} = 10.9, p < 0.01$) и *Drd2* ($F_{1,18} = 6.6, p < 0.05$) в стриатуме мышей по сравнению с контролем (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Целью настоящей работы было изучение влияния длительной социальной изоляции на поведение и дофаминовую систему мозга у мышей, причем впервые эффекты

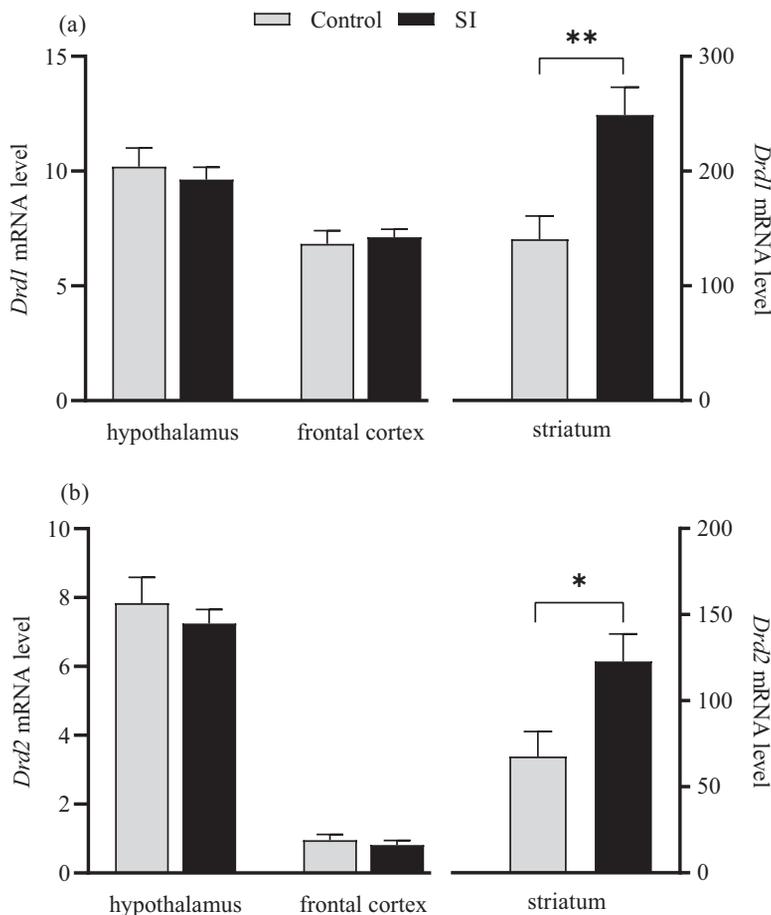


Рис. 3. Влияние длительной социальной изоляции на уровни мРНК генов *Drd1* (a) и *Drd2* (b), кодирующих дофаминовые D1- и D2-рецепторы, в структурах мозга у самцов мышей линии C57Bl/6. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, число животных в группе составляет 10 мышей.

изоляция были комплексно оценены и на уровне метаболизма нейромедиатора, и на уровне экспрессии генов ключевых дофаминергических рецепторов.

Большая часть авторов сообщает об анксиогенном действии длительной социальной изоляции у грызунов [9, 34]. Однако результаты зависят и от продолжительности одиночного содержания, и от возраста, в котором животное было подвергнуто изоляции [35, 36]. Кроме этого, такие факторы, как генотип и пол животного, тоже могут иметь важное значение [37–38]. Так, самцы мышей линии Swiss и крысы линии Sprague–Dawley (изоляция которых началась в 21-дневном возрасте) демонстрировали повышенное тревожное поведение, определяемое по снижению времени в центре «открытого поля», по сравнению с животными, содержащимися группой [7, 39]. При этом уровень двигательной активности у Sprague–Dawley крыс снижался [7], а у Swiss мышей, наоборот, увеличивался [39]. Однако в другой работе одиночное содержание с 28-го дня жизни самцов мышей линий C57Bl/6 и DBA/2 в течение семи недель приводило к снижению времени нахождения в центре новой арены только у мышей линии DBA/2. Примечательно, что при этом изоляция оказала анксиолитический эффект в тесте приподнятого крестообразного лабиринта у животных обеих линий [40].

В нашей работе самцы линии C57Bl/6, подвергавшиеся изоляции в течение шести недель, не отличались от контрольной группы по времени в центре исследованной площади арены в тесте «открытое поле», который является наиболее широко используемым методом исследования параметров двигательной активности и тревожности [41]. Таким образом, в нашем эксперименте одиночное содержание не повлияло на тревожное поведение и исследовательскую активность мышей в этом тесте. Также нужно отметить, что животные обеих групп не различались по длине пройденного пути, поэтому можно заключить, что различия в других показателях поведения не связаны с какими-либо изменениями базовой двигательной активности.

Тест «закапывание шариков» используется у грызунов для оценки уровня тревожности и/или стереотипного поведения [42, 43]. Данные по влиянию длительного одиночного содержания на поведение в этом тесте крайне малочисленны. Было показано, что социальная изоляция, длящаяся несколько недель, приводит к увеличению числа закопанных шариков у крыс линии Wistar, что интерпретируется как повышение тревожности [13, 44], однако другие авторы не подтверждают такого эффекта у мышей линии C57Bl/6 и крыс [11, 12]. Принято считать, что в норме закапывание предметов, не представляющих угрозу, может отражать у грызунов реакцию на новизну [45]. Снижение числа закопанных шариков у мышей, подвергавшихся изоляции в нашем эксперименте, можно было бы объяснить нарушением у них этой реакции. Это предположение согласуется с гипотезой других авторов о том, что социальные стимулы необходимы для модулирования адаптивных реакций на новые ситуации [44].

Хроническая социальная изоляция может влиять у грызунов на поведение в модели «резидент – интродер»: изоляция в раннем постнатальном периоде (post-weaning social isolation) уже давно используется на крысах для моделирования аномального агрессивного поведения [36, 46, 47]. Однако некоторые авторы сообщают, что длительное одиночное содержание (с 21-дневного возраста) самцов крыс Sprague–Dawley [7] и Wistar [4] приводило к снижению социального интереса в модели «резидент – интродер», но не влияло на показатели агрессии. У мышей длительная изоляция может вызывать в парадигме «резидент – интродер» усиление социального интереса [9, 10, 35] и/или агрессивности [5, 9, 34]. Примечательно, что если самцы мышей содержались в индивидуальных клетках начиная с половозрелого возраста, то изоляция не влияла на поведение в этом тесте [35, 48]. В нашем эксперименте мыши линии C57Bl/6, содержащиеся в одиночных клетках, демонстрировали большую длительность социальных контактов, но не отличались по продолжительности агрессивных атак от животных контрольной группы. Таким образом, наши результаты по поведению частично совпадают с работами других авторов.

Нейромедиатор дофамин участвует в регуляции многих видов поведения, в том числе тревожного, социального и стереотипного [14, 15]. Однако данные литературы по влиянию социальной изоляции на эту систему мозга неоднозначны, и стоит отметить, что они практически все получены на крысах разных линий, что затрудняет их интерпретацию.

В нашей работе изоляция мышей привела к повышению содержания дофамина (на уровне тенденции) и его метаболита DOPAC во фронтальной коре, структуре, входящей в мезокортикальный дофаминовый путь, который задействован в регуляции эмоционального поведения, когнитивных функций и реакции на новизну [14, 49]. Этот результат согласуется с другими исследованиями, демонстрирующими увеличение уровня этого нейромедиатора в префронтальной коре крыс вследствие изоляции [19, 20, 50]. Хотя другие авторы не обнаруживают влияния длительного одиночного содержания на метаболизм дофамина во фронтальной коре крыс Wistar [4] или даже сообщают о снижении уровня нейромедиатора в этой структуре крыс линий Sprague–Dawley [51] и FSL [52]. Наши результаты частично подтверждают гипотезу Shirenova и соавт. об усилении по мере пролонгирования социальной изоляции функциональной

активности дофаминовой системы в префронтальной коре [50]. Вероятно, такой эффект может быть обусловлен снижением плотности рецепторов D2 в этой структуре, что было показано на крысах линии Sprague-Dawley [24] и мышах линии C57Bl/6 [5], подвергавшихся длительному одиночному содержанию. Это предположение требует дальнейших исследований в этом направлении.

Что касается содержания дофамина в гипоталамусе, который является частью дофаминового тубероинфундибулярного пути, отвечающего за регуляцию гормональной секреции [14], то данные литературы неоднозначны. С одной стороны, уровень нейромедиатора не изменялся под действием 4-недельной изоляции у крыс линии Wistar [4] и 6-недельной – у мышей линии ddY [54]. Но, с другой стороны, содержание гипоталамического дофамина повышалось у крыс Wistar, подвергавшихся 9-месячному одиночному содержанию [50]. В нашей работе изоляция не изменила содержание дофамина, но привела к падению уровня его метаболита DOPAC в гипоталамусе. Этот результат частично можно объяснить, если рассматривать длительную изоляцию как модель хронического эмоционального стресса, характеризующуюся нарушением эндокринного статуса [6, 53].

Самым ярким эффектом изоляции на дофаминовую систему мозга в нашей работе было повышение уровня мРНК генов рецепторов D1 и D2 в стриатуме, которое сопровождалось тенденцией к увеличению уровней дофамина и его метаболитов DOPAC и HVA в этой структуре. Полученный результат коррелирует с данными, демонстрирующими повышенную активность рецепторов D2 в стриатуме самцов капюшонных крыс, подвергавшихся 4-недельной изоляции с 20–24-го дня жизни [25]. Авторы этой работы считают, что длительную социальную изоляцию можно рассматривать как модель психоза на животных, поскольку большая часть типичных антипсихотиков нацелена на блокаду рецепторов D2 [25]. В то же время недавние исследования говорят о том, что эффективность антипсихотических препаратов связана также с ингибированием рецепторов D1 в стриатуме [55], что также не противоречит нашим результатам. Примечательно, что внутрибрюшинное введение неселективных агонистов D2-рецепторов приводит (не влияя на двигательную активность) к снижению числа закопанных шариков в одноменном тесте у самцов мышей линии NMRI [56] и линии ICR [57], что согласуется с результатами нашей работы.

В то же время некоторые авторы сообщают о том, что у самцов крыс линии Sprague-Dawley 8-недельное одиночное содержание, начатое на 21-м дне жизни, не влияло на плотность и функциональную эффективность D2-рецепторов в полосатом теле [58], а по некоторым данным, 6-недельная изоляция крыс привела даже к снижению плотности рецепторов D2 в этой структуре [23].

Что касается влияния социальной изоляции на метаболизм дофамина в полосатом теле, то по одним данным, 9-недельная изоляция не оказала эффекта на содержание дофамина и его метаболитов в вентральном стриатуме крыс линии Sprague-Dawley [21], а 4-недельное одиночное содержание не изменило уровень дофамина в дорзальном стриатуме у крыс линии Wistar [4]. Однако, по другим сведениям, 6-недельное одиночное содержание увеличивало высвобождение и захват нейромедиатора в дорзомедиальном стриатуме у крыс линии Long-Evans, что сопровождалось повышением концентрации белка транспортера дофамина в этом отделе мозга [59]. Также на самцах и самках крысах линии Sprague-Dawley было показано повышение концентрации дофамина в стриатуме после 9-недельной изоляции [51], что согласуется с нашими результатами. Эти данные имеют особое значение, поскольку они предполагают возможный механизм повышенной восприимчивости к аддиктивным свойствам психостимуляторов у людей, испытавших тяжелый стресс в раннем возрасте [59].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о значительном влиянии хронической изоляции на стереотипное и социальное поведение, что сопровождалось изменениями в дофаминовой системе мозга, наиболее значительным из которых было повышение уровня экспрессии генов рецепторов D1 и D2 в стриатуме.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Д. В. Б., Е. А. К. – концепция и руководство работой; Д. В. Б., С. Н. А., У. С. У., П. Д. К., А.Б.А. – проведение экспериментов; Д. В. Б., С. Н. А., У. С. У. – обработка данных; Д. В. Б., Е. А. К. – написание и редактирование манускрипта.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Российского Научного Фонда (грант № 21-15-00051). Содержание линий мышей осуществлялось за счет средств бюджетного проекта FWNR-2022-0023. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры выполняли в соответствии с международными правилами обращения с животными (National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NIH Publications No. 80023, 1996 г.) и приказом Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 г. №119н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» (зарегистрирован 15.08.2016 г. № 43232). Дизайн эксперимента был одобрен Комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 101 от 10.11.2021 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Arakawa H* (2018) Ethological approach to social isolation effects in behavioral studies of laboratory rodents. *Behav Brain Res* 341: 98–108.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.022>
2. *Brandt L, Liu S, Heim C, Heinz A* (2022) The effects of social isolation stress and discrimination on mental health. *Translational Psychiatry* 12: 398.
<https://doi.org/10.1038/s41398-022-02178-4>
3. *Nakama N, Usui N, Doi M, Shimada S* (2023) Early life stress impairs brain and mental development during childhood increasing the risk of developing psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 126: 110783.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2023.110783>
4. *Kaneda Y, Kawata A, Suzuki K, Matsunaga D, Yasumatsu M, Ishiwata T* (2021) Comparison of neurotransmitter levels, physiological conditions, and emotional behavior between isolation-housed rats with group-housed rats. *Dev Psychobiol* 63: 452–460.
<https://doi.org/10.1002/dev.22036>
5. *Zhang X, Xun Y, Wang L, Zhang J, Hou W, Ma H, Cai W, Li L, Guo Q, Li Y, Lv Z, Jia R, Tai F, He Z* (2021) Involvement of the dopamine system in the effect of chronic social isolation during adolescence on social behaviors in male C57 mice. *Brain Res* 1765: 147497.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147497>
6. *Grigoryan GA, Pavlova IV, Zaichenko MI* (2022) Effects of Social Isolation on the Development of Anxiety and Depression-Like Behavior in Model Experiments in Animals. *Neurosci Behav Physiol* 52: 722–738.
<https://doi.org/10.1007/s11055-022-01297-1>
7. *Lukkes JL, Mokin MV, Scholl JL, Forster GL* (2009) Adult rats exposed to early-life social isolation exhibit increased anxiety and conditioned fear behavior, and altered hormonal stress responses. *Horm Behav* 55: 248–256.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.10.014>
8. *Wang HT, Huang FL, Hu ZL, Zhang WJ, Qiao XQ, Huang YQ, Dai RP, Li F, Li CQ* (2017) Early-Life Social Isolation-Induced Depressive-Like Behavior in Rats Results in Microglial Activation and Neuronal Histone Methylation that Are Mitigated by Mincycline. *Neurotox Res* 31: 505–520.
<https://doi.org/10.1007/s12640-016-9696-3>

9. *Koike H, Ibi D, Mizoguchi H, Nagai T, Nitta A, Takuma K, Nabeshima T, Yoneda Y, Yamada K* (2009) Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. *Behav Brain Res* 202: 114–121.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.03.028>
10. *Kercmar J, Büdefeld T, Grgurevic N, Tobet SA, Majdic G* (2011) Adolescent social isolation changes social recognition in adult mice. *Behav Brain Res* 216: 647–651.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.09.007>
11. *Dankoski EC, Agster KL, Fox ME, Moy SS, Wightman RM* (2014) Facilitation of serotonin signaling by SSRIs is attenuated by social isolation. *Neuropsychopharmacology* 39: 2928–2937.
<https://doi.org/10.1038/npp.2014.162>
12. *Kinley BL, Kyne RF, Lawton-Stone TS, Walker DM, Paul MJ* (2021) Long-term consequences of peri-adolescent social isolation on social preference, anxiety-like behaviour, and vasopressin neural circuitry of male and female rats. *Eur J Neurosci* 54: 7790–7804.
<https://doi.org/10.1111/ejn.15520>
13. *Perić I, Stanislavljević A, Gass P, Filipović D* (2021) Fluoxetine exerts subregion/layer specific effects on parvalbumin/GAD67 protein expression in the dorsal hippocampus of male rats showing social isolation-induced depressive-like behaviour. *Brain Res Bull* 173: 174–183.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021>
14. *Baskerville TA, Douglas AJ* (2010) Dopamine and oxytocin interactions underlying behaviors: potential contributions to behavioral disorders. *CNS Neurosci Ther* 16: e92–e123.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00154.x>
15. *Beaulieu JM, Espinoza S, Gainetdinov RR* (2015) Dopamine receptors - IUPHAR Review 13. *Br J Pharmacol* 172: 1–23.
<https://doi.org/10.1111/bph.12906>
16. *Villalba RM, Smith Y* (2013) Differential striatal spine pathology in Parkinson's disease and cocaine addiction: a key role of dopamine? *Neuroscience* 251: 2–20.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.07.011>
17. *Grace AA* (2016) Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. *Nat Rev Neurosci* 17: 524–532.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2016.57>
18. *Correia R, Coimbra B, Domingues AV, Wezik M, Vieitas-Gaspar N, Gaspar R, Sousa N, Pinto L, Rodrigues AJ, Soares-Cunha C* (2023) Involvement of nucleus accumbens D2-medium spiny neurons projecting to the ventral pallidum in anxiety-like behaviour. *J Psychiatry Neurosci* 48: E267–E284.
<https://doi.org/10.1503/jpn.220111>
19. *Han X, Wang W, Shao F, Li N* (2011) Isolation rearing alters social behaviors and monoamine neurotransmission in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of adult rats. *Brain Res* 1385: 175–181.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.02.035>
20. *Trabace L, Zotti M, Colaianna M, Morgese MG, Schiavone S, Tucci P, Harvey BH, Wegener G, Cuomo V* (2012) Neurochemical differences in two rat strains exposed to social isolation rearing. *Acta Neuropsychiatr* 24: 286–295.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-5215.2011.00627.x>
21. *Brenes JC, Fornaguera J* (2009) The effect of chronic fluoxetine on social isolation-induced changes on sucrose consumption, immobility behavior, and on serotonin and dopamine function in hippocampus and ventral striatum. *Behav Brain Res* 198: 199–205.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.10.036>
22. *Hall FS* (1998) Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Crit Rev Neurobiol* 12: 129–162.
<https://doi.org/10.1615/critrevneurobiol.v12.i1-2.50>
23. *Bean G, Lee T* (1991) Social isolation and cohabitation with haloperidol-treated partners: effect on density of striatal dopamine D2 receptors in the developing rat brain. *Psychiatry Res* 36: 307–317.
[https://doi.org/10.1016/0165-1781\(91\)90029-o](https://doi.org/10.1016/0165-1781(91)90029-o)
24. *Fitzgerald ML, Mackie K, Pickel VM* (2013) The impact of adolescent social isolation on dopamine D2 and cannabinoid CB1 receptors in the adult rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 235: 40–50.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.021>
25. *King MV, Seeman P, Marsden CA, Fone KCF* (2009). Increased dopamine D2 receptors in rats reared in social isolation. *Synapse* 63: 476–483.
<https://doi.org/10.1002/syn.20624>
26. *Archer J* (1969) Contrasting effects of group housing and isolation on subsequent open field exploration in laboratory rats. *Psychon Sci* 14: 234–235.
<https://doi.org/10.3758/BF03332812>

27. *Науменко ЕВ, Попова НК, Старыгин АГ* (1971) Гипофизарно-надпочечниковая система животных в группах и изоляции. Журн общей биол 32: 731–736. [*Naumenko EV, Popova NK, Starygin AG* (1971) Pituitary-adrenal system of animals in groups and isolation. J General Biol 32: 731–736. (In Russ)].
28. *Kulikov AV, Tikhonova MA, Kulikov VA* (2008). Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting. J Neurosci Methods 170: 345–351. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.01.024>
29. *Deacon RM* (2006) Digging and marble burying in mice: simple methods for in vivo identification of biological impacts. Nature Protocols 1: 122–124. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.20>
30. *Kulikova EA, Bazovkina DV, Antonov YV, Akulov AE, Kulikov AV, Kondaurova EM* (2017) Alteration of the brain morphology and the response to the acute stress in the recombinant mouse lines with different predisposition to catalepsy. Neurosci Res 117: 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2016.11.009>
31. *Bazovkina D, Naumenko V, Bazhenova E, Kondaurova E* (2021) Effect of Central Administration of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) on Behavior and Brain Monoamine Metabolism in New Recombinant Mouse Lines Differing by 5-HT1A Receptor Functionality. Int J Mol Sci 22: 11987. <https://doi.org/10.3390/ijms222111987>
32. *Naumenko VS, Kulikov AV* (2006) Quantitative assay of 5-HT(1A) serotonin receptor gene expression in the brain. Mol Biol (Mosk) 40: 37–44. <https://doi.org/10.1134/s0026893306010079>
33. *Naumenko VS, Osipova DV, Kostina EV, Kulikov AV* (2008) Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain. J Neurosci Methods 170: 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.01.008>
34. *Du Preez A, Law T, Onorato D, Lim YM, Eiben P, Musaelyan K, Egeland M, Hye A, Zunszain PA, Thuret S, Pariante CM, Fernandes C* (2020) The type of stress matters: repeated injection and permanent social isolation stress in male mice have a differential effect on anxiety- and depressive-like behaviours, and associated biological alterations. Transl Psychiatry 10: 325. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01000-3>
35. *Lander SS, Linder-Shacham D, Gaisler-Salomon I* (2017) Differential effects of social isolation in adolescent and adult mice on behavior and cortical gene expression. Behav Brain Res 316: 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.09.005>
36. *Locci A, Geoffroy P, Miesch M, Mensah-Nyagan AG, Pinna G* (2017) Social Isolation in Early versus Late Adolescent Mice Is Associated with Persistent Behavioral Deficits That Can Be Improved by Neurosteroid-Based Treatment. Front Cell Neurosci 11: 208. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00208>
37. *Liu N, Wang Y, An AY, Banker C, Qian YH, O'Donnell JM* (2020) Single housing-induced effects on cognitive impairment and depression-like behavior in male and female mice involve neuroplasticity-related signaling. Eur J Neurosci 52: 2694–2704. <https://doi.org/10.1111/ejn.14565>
38. *Oliver DK, Intson K, Sargin D, Power SK, McNabb J, Ramsey AJ, Lambe EK* (2020) Chronic social isolation exerts opposing sex-specific consequences on serotonin neuronal excitability and behaviour. Neuropharmacology 168: 108015. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108015>
39. *Amiri S, Haj-Mirzaian A, Rahimi-Balaei M, Razmi A, Kordjazy N, Shirzadian A, Ejtemaei Mehr S, Sianati H, Dehpour AR* (2015) Co-occurrence of anxiety and depressive-like behaviors following adolescent social isolation in male mice; possible role of nitergic system. Physiol Behav 145: 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.032>
40. *Vöikar V, Polus A, Vasar E, Rauvala H* (2005) Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences. Genes Brain Behav 4: 240–252. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2004.00106.x>
41. *Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z* (2019) The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. Methods Mol Biol 1916: 99–103. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9
42. *Dixit PV, Sahu R, Mishra DK* (2020) Marble-burying behavior test as a murine model of compulsive-like behavior. J Pharmacol Toxicol Methods 102: 106676. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2020.106676>
43. *Himanshu, Dharmila, Sarkar D, Nutan* (2020) A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects. Clin Psychopharmacol Neurosci 18: 341–351. <https://doi.org/10.9758/cpn.2020.18.3.341>

44. Zlatković J, Todorović N, Bošković M, Pajović SB, Demajo M, Filipović D (2014) Different susceptibility of prefrontal cortex and hippocampus to oxidative stress following chronic social isolation stress. *Mol Cell Biochem* 393: 43–57.
<https://doi.org/10.1007/s11010-014-2045-z>
45. Thomas A, Burant A, Bui N, Graham D, Yuva-Paylor LA, Paylor R (2009) Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. *Psychopharmacology (Berl)* 204: 361–373.
<https://doi.org/10.1007/s00213-009-1466-y>
46. Tulogdi A, Tóth M, Barsvári B, Biró L, Mikics E, Haller J (2014) Effects of resocialization on post-weaning social isolation-induced abnormal aggression and social deficits in rats. *Dev Psychobiol* 56: 49–57.
<https://doi.org/10.1002/dev.21090>
47. Biro L, Toth M, Sipos E, Bruzsik B, Tulogdi A, Bendahan S, Sandi C, Haller J (2017) Structural and functional alterations in the prefrontal cortex after post-weaning social isolation: relationship with species-typical and deviant aggression. *Brain Struct Funct* 222: 1861–1875.
<https://doi.org/10.1007/s00429-016-1312-z>
48. Ma YK, Zeng PY, Chu YH, Lee CL, Cheng CC, Chen CH, Su YS, Lin KT, Kuo TH (2022) Lack of social touch alters anxiety-like and social behaviors in male mice. *Stress* 25: 134–144.
<https://doi.org/10.1080/10253890.2022.2047174>
49. Weele CMV, Siciliano CA, Tye KM (2019) Dopamine tunes prefrontal outputs to orchestrate aversive processing. *Brain Res* 1713: 16–31.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.11.044>
50. Shirenova SD, Khlebnikova NN, Narkevich VB, Kudrin VS, Krupina NA (2023) Nine-month-long Social Isolation Changes the Levels of Monoamines in the Brain Structures of Rats: A Comparative Study of Neurochemistry and Behavior. *Neurochem Res* 48: 1755–1774.
<https://doi.org/10.1007/s11064-023-03858-3>
51. Ko C-Y, Liu Y-P (2016) Disruptions of sensorimotor gating, cytokines, glycemia, monoamines, and genes in both sexes of rats reared in social isolation can be ameliorated by oral chronic quetiapine administration. *Brain Behav Immun* 51: 119–130.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.08.003>
52. Mncube K, Möller M, Harvey BH (2021) Post-weaning social isolated flinders sensitive line rats display bio-behavioural manifestations resistant to fluoxetine: a model of treatment-resistant depression. *Front Psychiatry* 12: 688150.
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.688150>
53. Algamal M, Pearson AJ, Hahn-Townsend C, Burca I, Mullan M, Crawford F, Ojo JO (2021) Repeated unpredictable stress and social isolation induce chronic HPA axis dysfunction and persistent abnormal fear memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 104: 110035.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110035>
54. Watanabe T, Iba H, Moriyama H, Kubota K, Katsurabayashi S, Iwasaki K (2021) Sansoninto attenuates aggressive behavior and increases levels of homovanillic acid, a dopamine metabolite, in social isolation-reared mice. *J Tradit Complement Med* 12: 243–249.
<https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2021.08.006>
55. Yun S, Yang B, Anair JD, Martin MM, Fleps SW, Pamukcu A, Yeh NH, Contractor A, Kennedy A, Parker JG (2023) Antipsychotic drug efficacy correlates with the modulation of D1 rather than D2 receptor-expressing striatal projection neurons. *Nat Neurosci* 26: 1417–1428.
<https://doi.org/10.1038/s41593-023-01390-9>
56. Bruins Slot LA, Bardin L, Auclair AL, Depoortere R, Newman-Tancredi A (2008) Effects of antipsychotics and reference monoaminergic ligands on marble burying behavior in mice. *Behav Pharmacol* 19: 145–152.
<https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282f62cb2>
57. Egashira N, Kubota N, Goto Y, Watanabe T, Kubota K, Katsurabayashi S, Iwasaki K (2018) The antipsychotic trifluoperazine reduces marble-burying behavior in mice via D2 and 5-HT2A receptors: Implications for obsessive-compulsive disorder. *Pharmacol Biochem Behav* 165: 9–13.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.12.006>
58. Del Arco A, Zhu S, Terasmaa A, Mohammed AH, Fuxe K (2004) Hyperactivity to novelty induced by social isolation is not correlated with changes in D2 receptor function and binding in striatum. *Psychopharmacology (Berl)* 171: 148–155.
<https://doi.org/10.1007/s00213-003-1578-8>
59. Yorgason JT, Calipari ES, Ferris MJ, Karkhanis AN, Fordahl SC, Weiner JL, Jones SR (2016) Social isolation rearing increases dopamine uptake and psychostimulant potency in the striatum. *Neuropharmacology* 101: 471–479.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.10.025>

Influence of Long-Term Social Isolation on the Behavior and Dopamine System of the Brain in Mice

**D. V. Bazovkina^{a,*}, U. S. Ustinova^b, S. N. Adonina^a, P. D. Komleva^a, A. B. Arefieva^a,
and E. A. Kulikova^a**

^aInstitute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

^bNovosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

**e-mail: daryabazovkina@gmail.com*

The dopamine brain system is involved in the regulation of various physiological processes and behavioral responses, including social behavior. It was shown in rodents that prolonged social isolation can lead to changes in behavioral parameters and neurochemical parameters, but these data remain unclear. In this work, we studied the effects of prolonged social isolation on the behavior and state of the brain dopamine system in male C57Bl/6 mice. Animals of the experimental group from the age of 40 - 42 days were kept individually in separate cages for six weeks, while the mice of the control group were kept in-group conditions. Isolation did not affect locomotor and exploratory activity in the "open field" test compared to the content in the group. At the same time, animals subjected to prolonged isolation demonstrated a longer duration of social contacts in the "resident-intruder" model and a weakening of stereotypical behavior in the "marbles burying" test compared to the control group. These behavioral changes were accompanied by an increase in mRNA levels of the genes encoding dopamine D1 and D2 receptors in the striatum of mice. In addition, the level of the dopamine metabolite DOPAC decreased in the hypothalamus and increased in the frontal cortex of mice due to the effect of social isolation compared with the control group. The results contribute to the understanding of the effects of prolonged social isolation on the behavior and dopamine brain system in mice.

Keywords: social isolation, behavior, dopamine, dopamine receptor, gene expression, brain, mice