ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СИСТЕМ ОРЕКСИНА И ОПИОИДОВ В СТРУКТУРАХ ПАРАМИГДАЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ПРИ ОЦЕНКЕ ПОДКРЕПЛЯЮЩИХ ЭФФЕКТОВ СПОНТАННОЙ И АКТИВИРОВАННОЙ САМОСТИМУЛЯЦИИ ЛАТЕРАЛЬНОГО ГИПОТАЛАМУСА

П. Д. Шабанов^{1,2}, А. А. Лебедев¹, В. И. Морозов¹, С. В. Азаренко¹

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия

² ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Крысам самцам Вистар вживляли биполярные электроды в латеральный гипоталамус для изучения реакции самостимуляции в камере Скиннера и микроканюли в правый боковой желудочек и структуры параамигдаллярного комплекса (ядро ложа конечной полоски, центральное ядро миндалины или прилежащее ядро) для изучения центральных эффектов действия орексина (5 мкг в 5 мкл в боковой желудочек на инъекцию) на подкрепляющие свойства фармакологических веществ. Исследования показали, что при внутрибрюшинном введении синтетический опиоид тримеперидин (3 мг/кг в/бр) на 51,8% повышал, антагонист D₂ рецепторов дофамина сульпирид в малой дозе (5 мг/кг) не менял, а в большой дозе (20 мг/кг) на 49,3% снижал частоту реакции самостимуляции латерального гипоталамуса в камере Скиннера (т. е. число нажатий педали за 10 мин). В то же время антагонист OX1R-рецепторов SB-408124 и комбинация антагониста с орексином при внутрискелетном введении в ядро ложа конечной полоски, центральное ядро миндалины или прилежащее ядро не меняли основных показателей реакции самостимуляции. На фоне блокады OX1R антагонистом SB-408124 (1 мкг внутрискелетно во все три исследованные структуры) тримеперидин снижал свое активирующее действие на реакцию самостимуляции. Сульпирид в низкой дозе (5 мг/кг в/бр, которая не вызывает подавления реакции самостимуляции)

на фоне блокады OX1R антагонистом SB-408124 (1 мкг) блокировал активирующее действие тримеперидина. Полученные данные позволяют сделать выводы, что рецепторы OX1R участвуют в подкрепляющих эффектах синтетического опиоида тримеперидина и что их блокада с помощью SB-408124 потенцирует антагонистические эффекты сульпирида на самостимуляцию (4 табл., библи.: 23 ист.).

Ключевые слова: орексин, подкрепление, прилежащее ядро, рецепторы OX1R, самостимуляция, SB-408124, сульпирид, тримеперидин, центральное ядро миндалины, ядро ложа.

Статья поступила в редакцию 26.01.2017.

INTERACTION BETWEEN OREXIN AND OPIOIDS SYSTEMS OF THE STRUCTURES OF PARAAMYGDALAR COMPLEX IN THE REINFORCING EFFECTS OF SPONTANEOUS AND ACTIVATED SELF-STIMULATION OF THE LATERAL HYPOTHALAMUS

P. D. Shabanov^{1,2}, A. A. Lebedev¹, V. I. Morozov¹, S. V. Azarenko¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

² S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, Saint Petersburg, Russia

Summary. Male Wistar rats were implanted bipolar electrodes into the lateral hypothalamus to study self-stimulation reaction in the Skinner box and microcannulas into the right lateral ventricle and structures of the paraamygdalar complex (bed nucleus of stria terminalis, central nucleus of amygdala or nucleus accumbens) to study central effects of orexin (5 µg in 5 µl i. v. for an injection) on the reinforcing properties of pharmacological drugs. Intraperitoneal administration of trimiperidine (3 mg/kg), a synthetic opioid, was shown to increase self-stimulation of the lateral hypothalamus in the Skinner box (number of pedal pressings for 10 min) by 51.8%, and sulpiride (5 mg/kg, a small dose), an antagonist of D₂ dopamine receptors, did not change but in the large dose (20 mg/kg) decreased self-stimulation by 49.3% (a number of pedal pressings, or self-stimulation frequency within 10 min).

At the same time, SB-408124, an antagonist of OX1R receptors and its combination with orexin did not change self-stimulation indexes after intrastructural administration into the bed nucleus of stria terminalis, central nucleus of amygdala or nucleus accumbens. On the background of blockade of OX1R receptors by SB-408124 (1 μ g for all structures) trimeperidine reduced their activating action on self-stimulation reaction. Sulpiride (5 mg/kg i. p., a dose not affecting self-stimulation reaction) blocked activating action of trimeperidine after blockade OX1R receptors by SB-408124 (1 μ g). The data obtained can suggest that OX1R receptors participate in the reinforcing effects of synthetic opioid trimeperidine and the blockade of them by SB-408124 potentiate antagonist effects of sulpiride on self-stimulation (4 tables, bibliography: 23 refs).

Key words: bed nucleus of stria terminalis, central nucleus of amygdala, nucleus accumbens, orexin, OX1R receptors, reinforcement, SB-408124, self-stimulation trimeperidine, sulpiride.

Article received 26.01.2017.

Функциональное картирование эмоциогенных структур мозга привело к выделению в последние годы отдельной специализированной мозговой системы параамигдаллярного комплекса (ПАМК), в литературе часто называемой системой расширенной миндалины, которая включает центральное ядро миндалины, прилежащее ядро, ядро ложа конечной полоски, безымянную субстанцию [1, 2]. Эта система объединена сходным морфологическим строением ее элементов, состоит из стриатоподобных ГАМК-ергических клеток и содержит большое количество кортиколиберина (CRF). С этих позиций ее можно рассматривать как экстрагипоталамическую систему CRF, обуславливающую в основном стресс-зависимое поведение, эмоционально-мотивированные ответы (чаще негативные) и анксиогенные эффекты CRF и других стрессогенов [2, 3]. Все структуры ПАМК иннервируются дофаминергическими нейронами, имеющими начало в

вентральной области покрышки. На всех дофаминергических терминалях выявлены опиоидные рецепторы. Кроме того, в последние годы в структурах расширенной миндалины обнаружена высокая плотность рецепторов орексина 1-го типа — OX1R [4–6].

Тримеперидин (1,2,5-триметил-4-фенил-4-пиперидинопропаноат, промедол) относится к прямым агонистам опиоидных рецепторов, активирующим все подтипы этих рецепторов (μ , κ , δ , σ , ϵ) в головном мозге [7]. Фармакологические эффекты тримеперидина сопоставимы с фармакологическими эффектами морфина, по анальгетической активности тримеперидин уступает морфину в 2–4 раза [8]. Опиоидные рецепторы расположены пресинаптически в основном на моноаминергических терминалях, что позволяет им модулировать эффекты активации соответствующих нейронов. Однако функцию пресинаптической модуляции на моноаминергических терминалях выполняют не только эндогенные опиоиды, но и другие пептиды (кортикотропин-рилизинг-гормон, или CRF, орексины, грелин, пептид Y, тахикинины), осуществляющие регуляцию эмоциональных эффектов, в том числе активируемых наркотическими веществами [9, 10]. Колокализация рецепторов на пресинаптических терминалях не означает прямого (значимого) модулирующего действия на эффективность химической передачи нервного импульса в синаптическом звене межнейронных контактов [1, 7].

Нейропептиды головного мозга орексин А и орексин В (или гипокретин-1 и гипокретин-2 соответственно) синтезируются преимущественно в гипоталамусе небольшой популяцией нейронов, у крыс составляющих до 3500 [11]. Орексины, как и другие нейропептиды, секретируются из орексинсодержащих нейронов по типу нейрокринной (паракринной) секреции [12] и действуют на два связанных с G-белком рецептора, получивших название рецепторов орексина 1-го и 2-го типов (OX1R и OX2R) [13]. При этом выявлено, что OX1R-рецепторы орексина вовлекаются преимущественно в

регуляцию системы положительного подкрепления, а OX2R-рецепторы — в механизмы пробуждения и контроль уровня бодрствования [14–16].

Поскольку орексины наряду с другими нейропептидами участвуют в механизмах подкрепления и пищевого поведения, целью настоящего исследования было изучение значения OX1R-рецепторов структур ПАМК, или расширенной миндалины (центральное ядро миндалины, ядро ложа конечной полоски, медиальный отдел прилежащего ядра), в механизмах самостимуляции латерального гипоталамуса, активируемых синтетическим опиоидом тримеперидином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выбор животных. Опыты выполнены на 109 крысах самцах Вистар массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Температура воздуха поддерживалась в пределах 20–22 °С, относительная влажность — 50–70%. Животных содержали при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света (8.00–20.00 ч). Все опыты проведены в осенне-зимний период.

Вживление электродов и канюль в мозг крысам проводили под нембуталовым наркозом (50 мг/кг) с использованием стереотаксического прибора фирмы «Medicor» (Венгрия). Билатерально в латеральное гипоталамическое ядро вживляли нихромовые монополярные электроды в стеклянной изоляции (диаметр электрода 0,25 мм, длина оголенного кончика 0,25–0,30 мм, его толщина 0,12 мм) по следующим координатам: AP = 2,5 мм назад от брегмы, SD = 2,0 мм латерально от сагиттального

шва, $H = 8,4$ мм от поверхности черепа [17]. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе животного. Все электроды коммутировались на микроразъеме, который фиксировался на черепе самотвердеющей пластмассой.

Металлические направляющие канюли из нержавеющей стали диаметром 0,2 мм вживляли одновременно с гипоталамическими электродами униполярно в правое центральное ядро миндалины по следующим координатам: $AP = 2,8$ мм назад от брегмы, $SD = 3,9$ мм латерально от сагиттального шва, $H = 8,2$ мм от поверхности черепа, либо в правое ядро ложа конечной полоски по координатам: $AP = 0,5$ мм назад от брегмы, $SD = 1,5$ мм латерально от сагиттального шва, $H = 6,7$ мм от поверхности черепа, либо в правое прилежащее ядро по координатам: $AP = 2,2$ мм вперед от брегмы, $SD = 1,2$ мм латерально от сагиттального шва, $H = 6,5$ мм от поверхности черепа, а также в боковой желудочек мозга по координатам: $AP = 0,2$ мм назад от брегмы, $SD = 1,4$ мм латерально от сагиттального шва, $H = 3,5$ мм от поверхности черепа, согласно атласу [17]. Канюли фиксировали на черепе животного самотвердеющей пластмассой и после операции закрывали специальным колпачком, который временно снимали для введения веществ в структуру мозга. При внутривещном введении веществ в направляющие вставляли металлические микроканюли диаметром 100 мкм, кончик которых был на 0,2 мм длиннее направляющей.

Поведенческие эксперименты начинали не ранее 10 дней после операции. По окончании всех опытов производили морфологический контроль локализации кончиков электродов на серии фронтальных срезов мозга, которые окрашивали по методу Ниссля; предварительно производили коагуляцию через вживленные электроды током силой 1 мА в течение 30 с.

Методы самораздражения. Для воспроизведения самораздражения мозга у крыс использовали классический вариант изучения самостимуляции мозга в виде pedalной самостимуляции в камере Скиннера. Через 10 дней после вживления электродов в мозг крыс обучали нажимать на педаль в камере Скиннера для получения электрического раздражения мозга (прямоугольные импульсы отрицательной полярности длительностью 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0,4 с пороговыми значениями тока в режиме «фиксированных пачек» — FR1). Для повторного раздражения животное было вынуждено вновь нажимать на педаль. Анализировали частоту и пороги реакции самостимуляции. Фармакологические препараты вводили на 3-й день эксперимента после стабилизации реакции. Регистрировали число нажатий на педаль в течение 10 мин эксперимента, а также определяли порог возникновения реакций нажатия на педаль, затем производили внутривентрикулярную микроинъекцию препарата и через 15–20 мин повторно регистрировали те же показатели за 10-минутный интервал времени [10, 18].

Для нейрофармакологического анализа использовали тримеперидин (промедол 3 мг/кг, ФГУП «Государственный завод медицинских препаратов», Россия) и антагонист D₂-рецепторов дофамина S(-)сульпирид (5 и 20 мг/кг, «Sigma», США), которые вводили внутривентрикулярно за 30 мин до тестирования реакции самостимуляции (после определения ее фоновых значений). Орехсин А, разведенный в дистиллированной воде, и антагонист OX1R-рецепторов SB-408124 («Sigma», США), разведенный в диметилсульфоксиде, вводили внутривентрикулярно в ядро ложа конечной полоски, центральное ядро миндалины, медиальный отдел прилежащего ядра через вживленные в эти мозговые структуры канюли. Орехсин А и SB-408124 (1 мкг) вводили в объеме

1 мкл с помощью микроинъектора «СМА-100» (Швеция) в течение 30 с за 15–20 мин до тестирования после определения исходных значений самораздражения латерального гипоталамуса. Учитывая хронический характер эксперимента (продолжительность опыта в среднем 30–40 дней для каждой крысы), фармакологические агенты вводили через канюли каждому животному повторно с интервалом не менее 5 дней между введениями таким образом, что одна прооперированная крыса получала одно и то же фармакологическое вещество 3–4 раза. Каждый раз перед введением вещества определяли фоновые значения реакции самостимуляции, которые квалифицировали как контрольные значения для данного опыта. Учитывали общее число опытов (их было 10–12 для каждого вещества), а не только число исследованных животных.

Статистическая обработка результатов. Выборка для каждого вещества составила не менее 10–12 опытов. Для статистической обработки полученных количественных данных и построения графиков применяли пакеты программ GraphPadPrizm v.5, SPSS SigmaStat 3.0 и Minitab 14. Для оценки соответствия распределений случайных величин гауссовым применяли критерий нормальности Колмогорова–Смирнова. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали непараметрический критерий Вилкоксона для парных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При системном введении за 30–40 мин до тестирования тримеперидин (3 мг/кг) на 51,8%, а сульпирид (5 мг/кг) на 12,3% повышали частоту нажатий педали в камере Скиннера (т. е. число нажатий педали за 10 мин) при регистрации реакции самостимуляции латерального гипоталамуса. В то же

время сульпирид (20 мг/кг) на 49,3% снижал частоту реакции самостимуляции и на 38% повышал пороги реакции самостимуляции. В дальнейших исследованиях мы использовали только низкую дозу сульпирида, не вызывающего снижения реакции самостимуляции (5 мг/кг). Параллельно изменялись и пороги реакции самостимуляции. В случае введения тримеперидина (3 мг/кг) пороги снижались с $60 \pm 4,9$ мкА в контроле до $50 \pm 3,1$ мкА после применения препарата ($p < 0,05$).

Исследование действия орексина и антагониста орексина при введении в структуры ПАМК на самостимуляцию латерального гипоталамуса. После введения орексина (1 мкг) в ядро ложа конечной полоски число нажатий педали проявляло лишь тенденцию к снижению (–17,2%) без изменения порога самостимуляции, т. е. орексин достоверно не менял основных показателей реакции самостимуляции в камере Скиннера (как числа нажатий на педаль, так и порогов реакции самостимуляции). При этом антагонист OX1R SB-408124 (1 мкг) и его комбинация с орексином, вводимым в боковой желудочек мозга (1 мкг), также достоверно не меняли основных показателей реакции самостимуляции в камере Скиннера. Аналогично этому не было установлено значимых эффектов орексина и его антагониста SB-408124 (1 мкг) на самостимуляцию латерального гипоталамуса при их введении в центральное ядро миндалины и прилежащее ядро (табл. 1).

Таблица 1

Действие орексина и антагониста OX1R SB-408124, введенных локально в структуры ПАМК, а также их комбинаций на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс

Вещество, доза	Число нажатий на педаль за 10 мин		Пороги самостимуляции, мкА	
	до введения	после введения	до введения	после введения
<i>Введение в ядро ложа конечной полоски</i>				
Орексин, 1 мкг в BNST	$100,2 \pm 18,3$	$83,0 \pm 17,2$	$59,5 \pm 15,5$	$56,9 \pm 8,1$

	(100%)	(82,8%)	(100%)	(95,6%)
SB-408124, 1 мкг в BNST	97,7 ± 13,4 (100%)	101,0 ± 17,4 (103,4%)	59,8 ± 4,4 (100%)	52,4 ± 6,4 (87,6%)
SB-408124, 1 мкг в BNST + орексин, 1 мкг в/ж	81,4 ± 12,9 (100%)	74,2 ± 5,4 (91,2%)	57,8 ± 6,4 (100%)	53,8 ± 9,5 (93,1%)
<i>Введение в центральное ядро миндалины</i>				
Орексин, 1 мкг в/ам	83,7 ± 6,2 (100%)	84,0 ± 9,75 (100,4%)	56,7 ± 12,2 (100%)	60,0 ± 8,56 (105,8%)
SB-408124, 1 мкг в/ам	82,8 ± 8,3 (100%)	82,0 ± 9,88 (99%)	56,7 ± 8,3 (100%)	56,7 ± 9,2 (100%)
SB-408124, 1 мкг в/ам + орексин, 1 мкг в/ж	82,0 ± 10,3 (100%)	81,5 ± 11,0 (99,4%)	56,7 ± 8,1 (100%)	58,3 ± 9,46 (102,8%)
<i>Введение в прилежащее ядро</i>				
Орексин, 1 мкг в/акум	86,7 ± 6,9 (100%)	87,0 ± 10,1 (100%)	51,7 ± 12,2 (100%)	51,7 ± 6,0 (100%)
SB-408124, 1 мкг в/акум	104,0 ± 10,1 (100%)	103,0 ± 12,1 (99%)	51,7 ± 5,8 (100%)	53,3 ± 7,6 (103%)
SB-408124, 1 мкг в/акум + орексин, 1 мкг в/ж	105,0 ± 10,9 (100%)	105,0 ± 9,75 (100%)*	51,7 ± 3,1 100%	51,7 ± 6,5 100%

Примечание. В/ж — в боковой желудочек мозга; в BNST — в ядро ложа конечной полоски; в/ам — в миндалину; в/акум — в прилежащее ядро; * — $p < 0,05$ в сравнении с соответствующим контролем (до введения препарата).

Исследование действия орексина и антагониста орексина при введении в ядро ложа конечной полоски на подкрепляющие свойства тримеперидина. На фоне блокады OX1R-рецепторов антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в ядро ложа конечной полоски (табл. 2), тримеперидин не проявлял своего психоактивирующего действия, уменьшая частоту нажатий на педаль с +51,8 до -26,3% (т. е. общее снижение на 78,1% по частоте самостимуляции), при этом пороги самостимуляции проявляли тенденцию к возрастанию. Сульпирид (5 мг/кг в/бр) существенно не менял эффектов тримеперидина, но на фоне блокады OX1R-рецепторов антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в ядро ложа конечной полоски, угнетал психоактивирующее действие тримеперидина с +51,8 до -55,5% (т. е. общее снижение на 107,3%) по частоте самостимуляции, при этом пороги самостимуляции повышались с $50,0 \pm 2,8$ до $58,3 \pm 1,7$ мкА ($p < 0,05$).

Таблица 2

Действие тримеперидина, сульпирида и антагониста OX1R SB-408124, введенного в ядро ложа конечной полоски, а также их комбинаций на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс

Вещество, доза	Число нажатий на педаль за 10 мин		Пороги самостимуляции, мКа	
	до введения	после введения	до введения	после введения
Тримеперидин, 3 мг/кг в/бр	251,0 ± 11,9 (100%)	381,0 ± 31,1* (151,8%)	60,0 ± 4,9 (100%)	50,0 ± 3,1* (83,3%)
Сульпирид, 5 мг/кг в/бр	175,9 ± 7,8 (100%)	197,6 ± 21,3 (112,3%)	92,4 ± 9,1 (100%)	103,6 ± 8,3 (112,1%)
Тримеперидин, 3 мг/кг в/бр + сульпирид, 5 мг/кг в/бр	241,0 ± 13,2 (100%)	348,0 ± 35,4* (144,4%)	60,0 ± 4,8 (100%)	50,0 ± 5,1* (83,3%)
SB-408124, 1 мкг в BNST + тримеперидин, 3 мг/кг в/бр	316,0 ± 9,4 (100%)	233,0 ± 45,4* (73,7%)	50,0 ± 3,7 (100%)	51,7 ± 3,1 (103,4%)
SB-408124, 1 мкг в BNST + тримеперидин, 3 мг/кг в/бр + сульпирид, 5 мг/кг в/бр	371,0 ± 13,6 (100%)	165,0 ± 38,5* (44,5%)	50,0 ± 2,8 (100%)	58,3 ± 1,7* (116,6%)

Примечание. в/бр — введение внутривенно; BNST — в ядро ложа конечной полоски; * — $p < 0,05$ в сравнении с соответствующим контролем (до введения препарата).

Таким образом, низкая доза сульпирида (5 мг/кг) не вызывала снижения фоновых значений реакции самостимуляции и активирующего действия на систему положительного подкрепления тримеперидина. Орексин, его антагонист SB-408124, а также комбинация орексина и SB-408124 при введении в ядро ложа конечной полоски не меняли основных показателей реакции самостимуляции. На фоне блокады OX1R-рецепторов SB-408124 (1 мкг), введенного в ядро ложа конечной полоски, тримеперидин не проявлял своего активирующего действия на реакцию самостимуляции. Сульпирид в низкой дозе (5 мг/кг в/бр), которая не вызывает подавления реакции самостимуляции, на фоне блокады OX1R-рецепторов антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в ядро ложа конечной полоски, существенно уменьшал активирующее действие тримеперидина. Следовательно, совместное

использование антагониста OX1R-рецепторов SB-408124, введенного в ядро ложа конечной полоски, и антагониста D₂-рецепторов дофамина сульпирида в низкой дозе (5 мг/кг в/бр) трансформирует активирующее действие тримеперидина на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса в депрессантный тип реагирования.

Исследование действия орексина и антагониста орексина при введении в центральное ядро миндалины на подкрепляющие свойства тримеперидина. Орексин (1 мкг), введенный в центральное ядро миндалины, достоверно не менял основных показателей при регистрации реакции самостимуляции в камере Скиннера (как числа нажатий на педаль, так и порогов реакции самостимуляции). При этом антагонист OX1R-рецепторов SB-408124 (1 мкг) и его комбинация с орексином (1 мкг), введенным в центральное ядро миндалины, также не меняли основных показателей реакции самостимуляции (см. табл. 1).

На фоне блокады OX1R-рецепторов антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в центральное ядро миндалины, тримеперидин не проявлял своего психоактивирующего действия, снижая число нажатий педали с +51,8 до -25,1% (т. е. общего снижения на 76,9% по частоте самостимуляции, $p < 0,05$). При этом пороги самостимуляции проявляли тенденцию к возрастанию (+15,5%). Сульпирид (5 мг/кг в/бр) не влиял на эффекты тримеперидина, но на фоне блокады OX1R-рецепторов SB-408124 (1 мкг), введенного в центральное ядро миндалины, устранял психоактивирующее действие тримеперидина, снижая число нажатий педали с +51,8 до -41,7% (т. е. общее снижение на 93,5% по частоте самостимуляции, $p < 0,05$), тем самым трансформируя активирующее действие тримеперидина на реакцию самостимуляции в депрессантный тип реагирования (табл. 3). При этом пороги самостимуляции достоверно возрастали на +13,3% ($p < 0,05$).

Таблица 3

Действие тримеперидина, сульпирида и антагониста OX1R SB-408124, введенного в центральное ядро миндалины, а также их комбинаций на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс

Вещество, доза	Число нажатий на педаль за 10 мин		Пороги самостимуляции, мКа	
	до введения	после введения	до введения	после введения
Тримеперидин, 3 мг/кг в/бр	251,0 ± 11,9 (100%)	381,0 ± 31,1* (151,8%)	60,0 ± 4,9 (100%)	50,0 ± 3,1* (83,3%)
Сульпирид, 5 мг/кг в/бр	175,9 ± 7,8 (100%)	197,6 ± 21,3 (112,3%)	92,4 ± 9,1 (100%)	103,6 ± 8,3 (112,1%)
Тримеперидин, 3 мг/кг в/бр + сульпирид, 5 мг/кг в/бр	241,0 ± 13,2 (100%)	348,0 ± 35,4* (144,4%)	60,0 ± 4,8 (100%)	50,0 ± 5,1* (83,3%)
SB-408124, 1 мкг в/ам + тримеперидин, 3 мг/кг в/бр	111,0 ± 9,4 (100%)	83,1 ± 7,75* (74,9%)	56,3 ± 6,45 (100%)	65,0 ± 9,45 (115,5%)
SB-408124, 1 мкг в/ам + тримеперидин, 3 мг/кг в/бр + сульпирид, 5 мг/кг в/бр	115,0 ± 9,3 (100%)	67,1 ± 5,4* (58,3%)	56,3 ± 5,9 (100%)	63,8 ± 9,25* (113,3%)

Примечание. в/бр — введение внутрибрюшинно; в/ам — в центральное ядро миндалины; * — $p < 0,05$ в сравнении с соответствующим контролем (до введения препарата).

Таким образом, было показано, что орексин, введенный в центральное ядро миндалины, не менял основных показателей реакции самостимуляции. При этом антагонист OX1R SB-408124 и их комбинация с орексином при введении в центральное ядро миндалины также достоверно не меняли основных показателей самостимуляции. На фоне блокады OX1R SB-408124 (1 мкг), введенного в центральное ядро миндалины, тримеперидин не проявлял своего активирующего действия на реакцию самостимуляции. Сульпирид в низкой дозе (которая не вызывает подавления реакции самостимуляции, 5 мг/кг в/бр) на фоне блокады OX1R SB-408124 (1 мкг), введенного в центральное ядро миндалины, блокировал активирующее действие тримеперидина. Более того, совместное использование антагониста OX1R SB-408124, введенного в центральное ядро миндалины, и антагониста дофаминовых рецепторов 2-го

типа сульпирида в низкой дозе (5 мг/кг в/бр) трансформирует активирующее действие на реакцию самостимуляции тримеперидина в депрессантный тип реагирования. Депрессантный тип реагирования означает, что параметры самостимуляции снижались достоверно ниже, чем при фоновых значениях до введения препарата. Интересно, что для трансформации активирующего действия на реакцию самостимуляции тримеперидина в депрессантный тип реагирования достаточно было применения только блокады OX1R антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в центральное ядро миндалины, даже без применения сульпирида.

Исследование действия орексина и антагониста орексина при его введении в прилежащее ядро на подкрепляющие свойства тримеперидина. Орексин (1 мкг), введенный в медиальный отдел прилежащего ядра (см. табл. 1), достоверно не менял основных показателей реакции самостимуляции в камере Скиннера (как числа нажатий на педаль, так и порогов реакции самостимуляции). При этом антагонист OX1R SB-408124 (1 мкг) и его комбинация с орексином (1 мкг), введенные в медиальный отдел прилежащего ядра, также достоверно не меняли основных показателей реакции самостимуляции в камере Скиннера (как числа нажатий на педаль, так и порогов самостимуляции).

На фоне блокады OX1R антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в медиальный отдел прилежащего ядра, психоактивирующее действие тримеперидина (3 мг/кг в/бр) на частоту самостимуляции снижалось с +51,8 до +29,3%, достоверно не влияя на пороги самостимуляции. Сульпирид в низкой дозе (5 мг/кг, в/бр) не менял частоты самостимуляции, активированной тримеперидином, но на фоне блокады OX1R SB-408124 (1 мкг), введенного в медиальный отдел прилежащего ядра, умеренно снижал активирующее действие тримеперидина (3 мг/кг в/бр) с +51,8 до +9,7% (табл. 4), проявляя тенденцию к потенцированию тормозного эффекта антагониста OX1R SB-408124 на самостимуляцию.

Действие тримеперидина, сульпирида и антагониста OX1R SB-408124, введенного в прилежащее ядро, а также их комбинаций на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс

Вещество, доза	Число нажатий на педаль за 10 мин		Пороги самостимуляции, мКа	
	до введения	после введения	до введения	после введения
Тримеперидин, 3 мг/кг в/бр	251,0 ± 11,9 (100%)	381,0 ± 31,1* (151,8%)	60,0 ± 4,9 (100%)	50,0 ± 3,1* (83,3%)
Сульпирид, 5 мг/кг в/бр	175,9 ± 7,8 (100%)	197,6 ± 21,3 (112,3%)	92,4 ± 9,1 (100%)	103,6 ± 8,3 (112,1%)
Тримеперидин, 3 мг/кг в/бр + сульпирид, 5 мг/кг в/бр	241,0 ± 13,2 (100%)	348,0 ± 35,4* (144,3%)	60,0 ± 4,8 (100%)	50,0 ± 5,1* (83,3%)
SB-408124, 1 мкг в/акум + тримеперидин, 3 мг/кг в/бр	123,0 ± 5,5 (100%)	159,0 ± 6,48** (129,3%)	56,3 ± 5,65 (100%)	50,0 ± 6,27* (88,8%)
SB-408124, 1 мкг в/акум + тримеперидин, 3 мг/кг в/бр + сульпирид, 5 мг/кг в/бр	113,0 ± 6,4 (100%)	124,0 ± 7,1 (109,7%)	56,3 ± 4,84 (100%)	51,3 ± 6,93 (91,1%)

Примечание. в/бр — введение внутривенно; в/акум — в прилежащее ядро; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ в сравнении с соответствующим контролем (до введения препарата).

Таким образом, орексин, его антагонист SB-408124, а также комбинация орексина и SB-408124 при введении в прилежащее ядро не меняли основных показателей реакции самостимуляции. На фоне блокады OX1R-рецепторов SB-408124 (1 мкг), введенного в прилежащее ядро, тримеперидин снижал свое активирующее действие на реакцию самостимуляции. Сульпирид в низкой дозе (5 мг/кг, в/бр), которая не вызывает подавления реакции самостимуляции, на фоне блокады OX1R-рецепторов антагонистом SB-408124 (1 мкг), введенным в прилежащее ядро, также достоверно снижал активирующее действие тримеперидина, но в меньшей степени, чем при введении в ядро ложа конечной полоски и центральное ядро миндалины.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В исследованиях показано, что орексин, его антагонист SB-408124, а также комбинация орексина и SB-408124 при внутривентрикулярном введении в одну из структур ПАМК (ядро ложа конечной полоски, центральное ядро миндалины, прилежащее ядро) не меняли основных показателей реакции самостимуляции как по частоте, так и по порогам самостимуляции. Однако предварительное внутривентрикулярное введение антагониста рецепторов орексина А SB-408124 модулирует эмоциогенную реакцию самостимуляции, активируемую тримеперидином, возможно, за счет оценки стресса и вероятности достижения положительного подкрепления [19–21]. В настоящей работе описаны структурно-функциональные мишени действия орексина, которыми являются исследуемые структуры ПАМК, и нейрохимические звенья действия нейрпептида на центральную нервную систему. Введение орексина и его антагониста в ПАМК может направленно влиять на механизмы центрального действия опиатов и опиоидов. В связи с этим антагонисты орексина могут рассматриваться как возможные перспективные средства профилактики и лечения вызванного стрессом (зло)употребления аддиктивных средств опиатной группы.

Совместное введение антагониста OX1R SB-408124 и антагониста D₂-рецепторов дофамина сульпирида в низких дозах трансформирует активирующее действие тримеперидина на реакцию самостимуляции в депрессантный тип реагирования. В большей степени этот феномен выражен при введении SB-408124 в центральное ядро миндалины и ядро ложа конечной полоски и в наименьшей — при введении в прилежащее ядро. Это совпадает с описанными нами ранее подобными закономерностями с блокадой рецепторов CRF в центральном ядре миндалины [10] и в прилежащем ядре [3, 22]. Интересно отметить, что центральное ядро миндалины оказывает мощное модулирующее эмоциогенное действие (в основном с негативным радикалом) на обусловленную дофаминергическими механизмами самостимуляцию латерального гипоталамуса. И вне зависимости от того, какие пептидергические модулирующие пути в латеральный гипоталамус мы

блокируем (CRF-содержащие астрессинном или орексиновые SB-408124), мы получаем однонаправленный тормозящий эффект. Однако в случае с CRF это в большей степени касается опиоидергической передачи, активируемой морфином или иными морфиноподобными субстанциями [10], в случае с орексином А — дофаминергической передачи.

Прямым доказательством этого тезиса являются полученные нами данные о потенцировании действия антагониста OX1R-рецепторов SB-408124 с помощью малой дозы сульпирида (5 мг/кг), которая, по нашим данным, определяет активирующий тип реагирования D₂-рецепторов дофамина за счет перевода рецептора из мономерной структуры в димерную [23]. Следовательно, для реорганизации центральных механизмов направленной коррекции аддиктивных расстройств опиатного типа рекомендуется использовать комбинированное применение низких концентраций антагонистов рецепторов орексина OX1R типа SB-408124 и селективных антагонистов D₂-рецепторов дофамина типа сульпирида.

ВЫВОДЫ

1. Структурно-функциональной основой подкрепления в тесте самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс является система ПАМК, в которую входят центральное ядро миндалины, ядро ложа конечной полоски, медиальный отдел прилежащего ядра.
2. Система орексиновых пептидов структур ПАМК прямо не участвует в обеспечении эмоционального реагирования при исследовании феноменов самостимуляции головного мозга, но опосредует дофаминергические механизмы подкрепления.
3. Введение антагонистов рецепторов орексина OX1R в структуры ПАМК может направленно влиять на механизмы центрального действия опиоидов с наркотическим потенциалом. Это дает основание рассматривать антагонисты орексина как возможные перспективные средства профилактики и лечения аддиктивных расстройств.

4. Наибольшей антагонистической активностью в отношении психоактивирующего действия тримеперидина обладает антагонист рецепторов орексина OX1R SB-408124 при локальном введении в ядро ложа конечной полоски и центральное ядро миндалины. После введения в медиальный отдел прилежащего ядра антагонистическая эффективность SB-408124 на подкрепляющие свойства тримеперидина снижается.

5. На фоне блокады рецепторов орексина OX1R антагонистом SB-408124, введенным в структуры ПАМК (ядро ложа конечной полоски, центральное ядро миндалины и медиальный отдел прилежащего ядра), психоактивирующие свойства опиоидов морфинового типа (тримеперидин) на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса снижаются или инвертируются в депрессантный тип реагирования.

6. Антагонист рецепторов орексина OX1R SB-408124, введенный внутривнутриструктурно в ПАМК, потенцирует тормозящее действие антагониста D₂-рецепторов дофамина сульпирида (5 мг/кг в/бр) на реакцию самостимуляции, при этом сульпирид в данной дозе не влияет на самостимуляцию мозга. Совместное введение обоих веществ трансформирует активирующее действие тримеперидина на реакцию самостимуляции исключительно в депрессантный тип реагирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Lebedev A. A., Lyubimov A. V., Shabanov P. D.* Mechanisms of relapse or reinstatement of use for psychoactive drugs. *Obzory po klinicheskoy farmakologii y lekarstvennoy terapii*. 2011; 9 (4): 3–37. Russian (*Лебедев А. А., Любимов А. В., Шабанов П. Д.* Механизмы срыва, или возобновления потребления психоактивных средств. *Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии*. 2011; 9 (4): 3–37).
2. *Koob G. F.* Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, antireward, and emotional memory. *Pharmacopsychiatry*. 2009; 42 (1): 32–41. DOI: 10.1055/s-0029-1216356

3. *Shabanov P. D., Lebedev A. A., Shevelyeva M. V., Shumilov E. G., Roik R. O.* Participation of the nucleus accumbens in mechanisms of conditioned reinforcement in rats. *Narkologiya*. 2014; 8 (151): 52–9. Russian (*Шабанов П. Д., Лебедев А. А., Шевелева М. В., Шумилов Е. Г., Роик Р. О.* Участие прилежащего ядра в механизмах условного подкрепления у крыс. *Наркология*. 2014; 7 (151): 52–9).
4. *Gotter A. L., Roecker A. J., Hargreaves R., Coleman P. J., Winrow C. J., Renger J. J.* Orexin receptors as therapeutic drug targets. *Progr. Brain Res.* 2012; 198: 48–56. DOI: 10.1016/B978-0-444-59489-1.00010-0
5. *Espana R. A., Oleson E. B., Locke J. L., Brookshire B. R., Roberts D. C., Jones S. R.* The hypocretin-orexin system regulates cocaine self-administration via actions on the mesolimbic dopamine system. *Eur. J. Neuroscience*. 2010; 31: 336–48. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2009.07065.x
6. *Espana R. A., Melchior J. R., Roberts D. C., Jones S. R.* Hypocretin 1/orexin A in the ventral tegmental area enhances dopamine responses to cocaine and promotes cocaine self-administration. *Psychopharmacology*. 2011; 214: 415–26. DOI: 10.1007/s00213-010-2048-8
7. *Shabanov P. D.* *Narcology*. 2nd ed., rev. and extra. Moscow: GEOTAR-media; 2012. 832. Russian (*Шабанов П. Д.* *Наркология*. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-медиа; 2012. 832).
8. *Shabanov P. D.* *Psychopharmacology*. Saint Petersburg: N-L; 2008. 384. Russian (*Шабанов П. Д.* *Психофармакология*. СПб.: Н-Л; 2008. 384).
9. *Anokhina I. P., Stanishevskaya A. V., Vesela I. V., Kamernitskiy A. V.* Study of efficacy of new derivatives of cortexolone on psychoactive drugs craving in conditions of experimental remission in rats consuming chronically ethanol and narcotics. *Narkologiya*. 2015; 14 (1): 34–40. Russian (*Анохина И. П., Станишевская А. В., Весела И. В., Камерницкий А. В.* Изучение эффективности новых производных кортексолонна на влечение к психоактивным веществам в условиях экспериментальной ремиссии у

- крыс, длительно потребляющих алкоголь и наркотики. Наркология. 2015; 14 (1): 34–40).
10. *Shabanov P. D., Lebedev A. A.* Inhibition of self-stimulation of the lateral hypothalamus by opiates and opioids administered into the central amygdalar nucleus. *Ros. fiziol. zhurn. imeni I. M. Sechenova*. 2011; 93 (2): 27–35. Russian (*Шабанов П. Д., Лебедев А. А.* Угнетение самостимуляции латерального гипоталамуса опиатами и опиоидами, вводимыми в центральное ядро миндалина. *Рос. физиол. журн. имени И. М. Сеченова*. 2011; 97 (2): 27–35).
 11. *Perekrest S. V., Shainidze K. Z., Korneva E. A.* System of orexin-containing neurons. Structure and function. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2012. 80. Russian (*Перекрест С. В., Шаинидзе К. З., Корнева Е. А.* Система орексинсодержащих нейронов. Структура и функции. СПб: ЭЛБИ-СПб; 2012. 80).
 12. *Shumilov E. G., Lebedev A. A., Bychkov E. P.* Effect of orexin A receptor antagonist SB-408124 in the bed nucleus of stria terminalis on amphetamine-activated self-stimulation in rats. *Obozreniye psikhiatrii i med. psikhologii imeni V. M. Bekhtereva*. 2014; Suppl.: 202–3. Russian (*Шумилов Е. Г., Лебедев А. А., Бычков Е. Р.* Действие антагониста рецепторов орексина А SB-408124 в ядре ложа конечной полоски на вызванную фенамином активацию самостимуляции у крыс. *Обозрение психиатрии и мед. психологии имени В. М. Бехтерева*. 2014; прил.: 202–3).
 13. *Mahler S. V., Smith R. J., Moorman D. E., Sartor G. C., Aston-Jones G.* Multiple roles for orexin/hypocretin in addiction. *Progr. Brain Res.* 2012; 198: 76–121. DOI: 10.1016/B978-0-444-59489-1.00007-0
 14. *Akanmu M. A., Honda K.* Selective stimulation of orexin receptor type 2 promotes wakefulness in freely behaving rats. *Brain Res.* 2005; 1048: 138–45. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.04.064
 15. *Aston-Jones G., Smith R. J., Sartor G. C., Moorman D. E., Massi L., Tahsili-Fahadan P., Richardson K. A.* Lateral hypothalamic orexin/hypocretin

- neurons: A role in reward-seeking and addiction. *Brain Res.* 2010; 1314: 74–90. DOI: 10.1016/j.brainres.2009.09.106
16. *Smith R. J., Aston-Jones G.* Orexin/hypocretin 1 receptor antagonist reduces heroin self-administration and cue-induced heroin seeking. *Eur. J. Neurosci.* 2012; 35: 798–804. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2012.08013.x
17. *König K. P., Klippel A. A.* A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore: Williams and Wilkins; 1963. 214.
18. *Shabanov P. D., Lebedev A. A.* Participation of GABA- and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of stria terminalis in reinforcing effects of psychotropic drugs realized via the lateral hypothalamus. *Ros. fiziol. zhurn. imeni I. M. Sechenova.* 2011; 97 (8): 804–13. Russian (*Шабанов П. Д., Лебедев А. А.* Участие ГАМК- и дофаминергических механизмов ядра ложа конечной полоски в подкрепляющих эффектах психотропных средств, реализуемых через латеральный гипоталамус. *Рос. физиол. журн. имени И. М. Сеченова.* 2011; 97 (8): 804–13).
19. *Boutrel B., De Lecea L.* Addiction and arousal: The hypocretin connection. *Physiol. and Behav.* 2008; 93: 947–51. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.11.022
20. *Morgan H. J., Jiann W. Y., Brett A. G., Dayas C. V.* Insights for developing pharmacological treatments for psychostimulant relapse targeting hypothalamic peptide systems. *J. Addict. Res. Ther.* 2012; Suppl. 4: 2–13.
21. *Winrow C. J., Tanis K. Q., Reiss D. R., Rigby A. M., Uslaner J. M., Uebele V. N., Doran S. M., Fox S. V., Garson S. L., Gotter A. L., Levine D. M., Roecker A. J., Coleman P. J., Koblan K. S., Renger J. J.* Orexin receptor antagonism prevents transcriptional and behavioral plasticity resulting from stimulant exposure. *Neuropharmacol.* 2010; 58: 185–94.
22. *Lebedev A. A., Shumilov E. G., Smirnov A. A., Tissen I. Yu., Roik R. O., Bychkov E. R., Shabanov P. D.* Participation of neuropeptide orexin A in mechanisms of reinforcement activated by psychostimulants. *Narkologiya.* 2015; 14 (2): 12–8. Russian (*Лебедев А. А., Шумилов Е. Г., Смирнов А. А., Тиссен И. Ю., Роик Р. О., Бычков Е. Р., Шабанов П. Д.* Участие

нейропептида орексина А в механизмах подкрепления, активируемых психостимуляторами. Наркология. 2015; 14 (2): 12–8).

23. *Bukinich A. A., Shabanov P. D.* Functional role of dimer (heteromer) receptors in the CNS of vertebrates. *Obzory po klinicheskoy farmakologii y lekarstvennoy terapii.* 2015; 13 (1): 25–31. Russian (*Букинич А. А., Шабанов П. Д.* Функциональное значение димерных (гетеромерных) рецепторов в ЦНС позвоночных. *Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии.* 2015; 13 (1): 25–31).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Шабанов Петр Дмитриевич — докт. мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии имени С. В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, заведующий кафедрой фармакологии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, конт. тел.: +7(921)9001951, e-mail: pdshabanov@mail.ru

Shabanov Petr D. — M. D., D. Sc. (Pharmacology), Prof., the Head and Professor of Anichkov Neuropharmacology Dept., Institute of Experimental Medicine, 12, Akademika Pavlova str., Saint Petersburg, Russia, 197376, the Head of Pharmacology Dept., S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russia, 194044, cont. phone: +7(921)9001951, e-mail: pdshabanov@mail.ru

Лебедев Андрей Андреевич — докт. биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии имени С. В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

Lebedev Andrei Andreevich — M. D., D. Sc. (Pharmacology), Prof., Senior Researcher, Anichkov Neuropharmacology Dept., Institute of Experimental Medicine, 12, Akademika Pavlova str., Saint Petersburg, Russia, 197376

Морозов Виталий Иванович — канд. мед. наук, научный сотрудник отдела нейрофармакологии имени С. В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

Morozov Vitalii Ivanovich — M. D., Ph. D. (Medicine), Researcher, Anichkov Neuropharmacology Dept., Institute of Experimental Medicine, 12, Akademika Pavlova str., Saint Petersburg, Russia, 197376

Азаренко Сергей Владимирович — аспирант отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

Azarenko Sergei Vladimirovich — Post-graduate Fellow, Anichkov Neuropharmacology Dept., Institute of Experimental Medicine, 12, Akademika Pavlova str., Saint Petersburg, Russia, 197376