

ТОРМОЗЯЩИЕ ЭФФЕКТЫ АНТАГОНИСТОВ ОРЕКСИНА НА ПОДКРЕПЛЯЮЩИЕ СВОЙСТВА ФЕНАМИНА ПРИ САМОСТИМУЛЯЦИИ МОЗГА И ВЫРАБОТКЕ УСЛОВНОГО ПРЕДПОЧТЕНИЯ МЕСТА У КРЫС

УДК 616-092.9+612.82

<https://doi.org/10.7816/RCF17457-64>© П.Д. Шабанов^{1,2}, С.В. Азаренко¹, В.И. Морозов¹, Ю.Н. Бессолова¹, А.А. Лебедев¹¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;² ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Шабанов П.Д., Азаренко С.В., Морозов В.И., и др. Тормозящие эффекты антагонистов орексина на подкрепляющие свойства фенамина при самостимуляции мозга и выработке условного предпочтения места у крыс // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2019. – Т. 17. – № 4. – С. 57–64. <https://doi.org/10.7816/RCF17457-64>

Поступила: 15.10.2019

Одобрена: 14.11.2019

Принята: 18.12.2019

Цель. Изучение реакции самостимуляции латерального гипоталамуса и условной реакции предпочтения места при активации (орексин) и блокаде рецепторов орексина SB-408124 или Orexin B₁₈₋₂₈ у крыс. **Методы.** В качестве поведенческих методов выбраны самостимуляция латерального гипоталамуса и условная реакция предпочтения места. Для фармакологического анализа использовали орексин и его антагонисты SB-408124 или Orexin B₁₈₋₂₈ (Sigma, США). Все препараты использовали в трех дозировках: 0,1, 1, 10 мкг, вводя в боковой желудочек мозга (в/ж) через вживленную канюлю. **Результаты.** Показано, что вещества пептидной природы — орексин и его антагонисты — модулируют условные и безусловные подкрепляющие свойства головного мозга. Исследован-

ные антагонисты орексина проявляли дозозависимое (0,1-1-10 мкг, в/ж) тормозное действие на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса, активируемую непрямым адреномиметиком фенамином (β-фенилизопропиламин). Тормозный эффект антагонистов орексина проявлялся также и в отношении выработки и экспрессии реакции предпочтения места фенамина, особенно при использовании высоких доз пептида (10 мкг, в/ж). **Вывод.** Эффект антагонистов орексина можно использовать при разработке и исследовании антинаркотических средств.

◆ **Ключевые слова:** орексин; антагонисты орексина SB-408124; Orexin B₁₈₋₂₈; психостимуляторы; фенамин; самостимуляция; предпочтение места.

THE INHIBITORY EFFECTS OF OREXIN ANTAGONISTS ON THE REINFORCING PROPERTIES OF AMPHETAMINE DURING BRAIN SELF-STIMULATION AND THE DEVELOPMENT OF A CONDITIONED PLACE PREFERENCE IN RATS

© P.D. Shabanov^{1,2}, S.V. Azarenko¹, V.I. Morozov¹, Yu.N. Bessolova¹, A.A. Lebedev¹¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;² S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Shabanov PD, Azarenko SV, Morozov VI, et al. The inhibitory effects of orexin antagonists on the reinforcing properties of amphetamine during brain self-stimulation and the development of a conditioned place preference in rats. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(4):57-64. <https://doi.org/10.7816/RCF17457-64>

Received: 15.10.2019

Revised: 14.11.2019

Accepted: 18.12.2019

Purpose. In experiments on rats, we studied the self-stimulation reaction of the lateral hypothalamus and the conditioned reaction of place preference upon activation (orexin) and blockade of the orexin receptor by SB-408124 or Orexin B₁₈₋₂₈ in rats. **Methods.** As behavioral methods, self-stimulation of the lateral hypothalamus and a conditioned reaction of place preference were chosen. Orexin and its antagonists SB-408124 or Orexin B₁₈₋₂₈ (Sigma, USA) were used for pharmacological analysis. All preparations were used in 3 dosages: 0.1, 1.0, 10 μg, injecting into the lateral ventricle of the brain (i.v.) through the implanted cannula. **Results.** It has been shown that peptide substances of orexin and its antagonists modulate the conditional and unconditional reinforcing properties of the

brain. The studied orexin antagonists showed a dose-dependent (0.1-1-10 μg, i.v.) inhibitory effect on the self-stimulation of the lateral hypothalamus, activated by indirect adrenergic agonist amphetamine (β-phenylisopropylamine). The inhibitory effect of orexin antagonists also manifested itself in relation to the generation and expression of a preference for amphetamine place, especially when using high doses of the peptide (10 μg i.v.). **Conclusion.** The effect of orexin antagonists can be used in the development and study of antinarcotic drugs.

◆ **Keywords:** orexin; orexin antagonists; SB-408124; Orexin B₁₈₋₂₈; psychostimulants; amphetamine; self-stimulation; place preference.

До сих пор остаются нерешенными вопросы, связанные с базисными механизмами формирования зависимости от психоактивных средств [1, 4, 14]. Используемые в эксперименте методы (самостимуляция структур головного мозга, самовведение, условная реакция предпочтения места (УРПМ) и др.) во многом приближают выяснение физиологических и нейрохимических механизмов, лежащих в основе зависимости. Все это определяет актуальность исследования, связанного с изучением подкрепляющих (наркогенных) свойств психоактивных веществ пептидной и синтетической природы в эксперименте.

В последние годы акцент в исследовании механизмов зависимости сделан на изучении аномального функционирования эмоциогенных структур мозга, активация которых во многом зависит от центральных механизмов стресса (система структур расширенной миндалины, или параамигдаллярного комплекса). Особенно неясным и противоречивым является вопрос о роли нейропептидов расширенной миндалины в регуляции подкрепляющих систем мозга [16, 17].

Предпосылкой для выполнения настоящей работы послужили данные о возможном вовлечении пептидов орексина в механизмы подкрепления и зависимости от аддиктивных средств. Нейропептиды гипоталамуса орексины, по-видимому, участвуют в механизмах положительного подкрепления, пищевого поведения и механизмах пробуждения (arousal) [7]. Показано, что регуляция системы положительного подкрепления связана с активацией преимущественно OX1R рецепторов орексина [8, 19]. Кортиколиберин, гормон центральных механизмов стресса, вызывает деполяризацию орексинергических клеток, а антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин ее снимает. Таким образом, орексиновая система может быть компонентом центрального ответа на острый стресс, который вызывает активацию опосредуемых кортиколиберином механизмов подкрепления [20].

Целью исследования было изучить реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса и УРПМ при активации (орексин) и блокаде рецепторов орексина SB-408124 или Orexin B₁₈₋₂₈ у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выбор животных. Опыты выполнены на 73 крысах-самцах Вистар массой 200–220 г, содержащихся в группе по 5 особей в стандартных пластмассовых клетках в условиях вивария. 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. Все опыты проведены в осенне-зимний период.

Вживление электродов и канюль в структуры мозга. 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 согласно атласа K.P. König и A.A. Klippel [2]. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе животного. Все электроды коммутировались на микроразъеме, который фиксировали на черепе самотвердеющей пластмассой.

Металлические направляющие канюли из нержавеющей стали диаметром 0,2 мм вживляли униполярно в правый желудочек мозга одновременно с электродами, вводимыми в латеральный гипоталамус, по следующим координатам: AP = 0,8 мм назад от брегмы, SD = 1,4 мм латерально от сагиттального шва, H = 3,8 мм от поверхности черепа согласно атласу K.P. König и A.A. Klippel [2]. Канюли фиксировали на черепе животного самотвердеющей пластмассой и после операции закрывали специальным колпачком, который временно снимали для введения веществ в структуру мозга. При внутрижелудочковом (в/ж) 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 мозга у крыс. 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 третий день эксперимента после стабилизации реакции при использовании фиксированного значения силы тока. Частота нажатий регистрировалась автома-

тически. Регистрировали число нажатий на педаль в течение 10 мин эксперимента, затем производили микроинъекцию (в/ж) препарата и через 15–20 мин повторно регистрировали число нажатий на педаль за 10-минутный интервал времени.

Методика выработки условного предпочтения места. Опыты с УРПМ проводили в прямоугольной двухкамерной экспериментальной установке размером 35 × 35 × 30 см, стороны которой различались цветом (темный и светлый) и текстурой пола и были разделены перегородкой с опускающейся и поднимающейся дверцей. В течение первых двух дней эксперимента животных помещали в установку с целью их адаптации. В первый тестовый день регистрировали время нахождения животного в каждом отсеке в течение 10 мин для определения исходного предпочтения. Отсек считался предпочитаемым, если животное проводило в нем больше 50 % времени. Крысе делали укол без введения каких-либо веществ, затем через 5 мин ее помещали в предпочитаемый отсек установки на 30 мин. После 1 ч перерыва тому же животному вводили препарат, вызывающий предпочтение места (фенамин в дозе 1 мг/кг), совместно с исследуемым веществом (в/ж), и через 5 мин его помещали в непредпочитаемый отсек камеры на 30 мин. Таким образом, в течение пяти дней у животных вырабатывали стойкое предпочтение ранее непредпочитаемого поля. На шестой день ту же крысу без введения каких-либо препаратов помещали в камеру с открытой дверцей между полями на 10 мин и определяли время нахождения животного в каждом отсеке и число переходов между ними. Животные контрольной группы получали только физиологический раствор.

Методика экспрессии выработанного предпочтения места. Методику проводили, как описано выше, вырабатывая УРПМ фенамина, но на шестой день опыта (тестовый день) вводили не фенамин, а препараты орексина или его антагонисты. Поднимали дверцу между отсеками и сажали животное в камеру на 10 мин с определением времени нахождения в каждом отсеке и число перемещений между ними.

Фармакологические вещества, используемые для анализа эмоциональных форм поведения. Для фармакологического анализа использовали психомоторный стимулятор фенамина гидрохлорид (1 мг/кг), который вводили внутривентриально (в/бр) за 30 мин до изучения самостимуляции (после определения фоновых ее значений), а в опытах с УРПМ непосредственно перед помещением в исходно непредпочитаемый отсек; астрессин (неизбирательный антагонист рецепторов кортикотропинрилизинг-гормон), орексин, а также его антагонисты: синтетический антагонист OX1R — SB-408124 либо рекомбинантный антагонист OX1R Orexin B₁₈₋₂₈ (Sigma, США). Все препараты использовали в трех дозировках: 0,1, 1, 10 мкг, вводя в боковой желудочек мозга (в/ж) через вживленную канюлю. Субстанции веществ растворяли

в дистиллированной воде и вводили в объеме 1 мкл с помощью микроинъектора СМА-100 (Швеция) в течение 30 с за 10–15 мин до тестирования после определения исходных значений самораздражения латерального гипоталамуса.

Статистическая обработка полученных материалов. Выборка для каждого вещества составила не менее 10–12 опытов. Для статистической обработки полученных количественных данных и построения графиков применяли пакеты программ GraphPad Prizm 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 U-Вилкоксона для парных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования показали, что при системном введении фенамина (в дозе 1 мг/кг в/бр) на 32 % повышалась частота нажатий педали в камере Скиннера (то есть число нажатий педали за 10 мин) при регистрации реакции самостимуляции латерального гипоталамуса. Напротив, оба антагониста орексина (SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈) в дозах 0,1, 1 или 10 мкг, введенные в боковой желудочек мозга, достоверно не меняли основных показателей при регистрации реакции самостимуляции в камере Скиннера (как числа нажатий на педаль, так и порогов реакции самостимуляции). В то же время, антагонисты орексина в дозах 1 и 10 мкг, введенные в/ж одновременно с фенамином (в/бр), снижали его активирующие эффекты на самостимуляцию латерального гипоталамуса (табл. 1). Интересно отметить, что в дозе 0,1 мкг оба антагониста не уменьшали стимулирующих эффектов фенамина. Следовательно, пороговыми дозами действия обоих антагонистов орексина следует считать дозу в 1 мкг/мкл при введении в боковой желудочек мозга.

В опытах с УРПМ фенамин (1 мг/кг) при внутривентриальном введении значительно повышал время нахождения животного в отсеке, ассоциированном с введением препарата (табл. 2).

На фоне блокады рецепторов орексина его антагонистами (SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈) в дозах 1 и 10 мкг (действующие дозы, по данным предыдущих экспериментов) эффект фенамина либо не проявлялся (SB-408124 в дозах 1 и 10 мкг и Orexin B₁₈₋₂₈ в дозе 10 мкг), либо проявлялся в меньшей степени после введения Orexin B₁₈₋₂₈ в дозе 1 мкг. В любом случае отмечен функциональный антагонизм между психоактивирующим действием фенамина и антагонистами орексина в тесте на выработку УРПМ у крыс. Физиологический раствор, вводимый в качестве активного контроля, не вызывал выработки предпочтения.

■ Таблица 1. Влияние фенамина при внутрибрюшинном введении и антагонистов орексина SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈ при внутрижелудочковом введении на реакцию самостимуляции у крыс

Вещество, доза	Число нажатий на педаль за 10 мин		Пороги самостимуляции, мкА	
	до введения	после введения	до введения	после введения
Фенамин, 1 мг/кг в/бр	145 ± 19 100 %	216 ± 26* 132 %	143 ± 18 100 %	125 ± 22 86 %
SB-408124, 0,1 мкг в/ж	104 ± 10 100 %	105 ± 9 101 %	94 ± 10 100 %	92 ± 10 99 %
SB-408124, 1 мкг в/ж	78 ± 10 100 %	76 ± 9 101 %	89 ± 11 100 %	88 ± 11 99 %
SB-408124, 10 мкг в/ж	118 ± 13 100 %	121 ± 10 103 %	62 ± 8 100 %	59 ± 5 98 %
Фенамин, 1 мг/кг в/бр + SB-408124, 0,1 мкг в/ж	126 ± 16 100 %	150 ± 17 129 %	90 ± 10 100 %	104 ± 12 118 %
Фенамин, 1 мг/кг в/бр + SB-408124, 1 мкг в/ж	117 ± 15 100 %	130 ± 18# 115 %	80 ± 10 100 %	69 ± 12 97 %
Фенамин, 1 мг/кг в/бр + SB-408124, 10 мкг в/ж	87 ± 7 100 %	97 ± 9# 110 %	110 ± 14 100 %	118 ± 15 105 %
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 0,1 мкг в/ж	96 ± 12 100 %	95 ± 10 98 %	85 ± 10 100 %	86 ± 7 101 %
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 1 мкг в/ж	126 ± 16 100 %	123 ± 16 99 %	121 ± 15 100 %	120 ± 15 100,1 %
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 10 мкг в/ж	94 ± 10 100 %	93 ± 7 99 %	142 ± 11 100 %	145 ± 13 103 %
Фенамин, 1 мг/кг в/бр + Orexin B ₁₈₋₂₈ , 0,1 мкг в/ж	155 ± 21 100 %	203 ± 18* 133 %	135 ± 14 100 %	155 ± 18 118 %
Фенамин, 1 мг/кг в/бр + Orexin B ₁₈₋₂₈ , 1 мкг в/ж	264 ± 33 100 %	279 ± 35# 113 %	214 ± 28 100 %	213 ± 30 104 %
Фенамин, 1 мг/кг в/бр + Orexin B ₁₈₋₂₈ , 10 мкг в/ж	135 ± 16 100 %	146 ± 10# 106 %	83 ± 8 100 %	86 ± 6 103 %

Примечание. * $p < 0,05$ по отношению к показателям до введения; # $p < 0,05$ по отношению к показателям при введении фенамина.

■ Таблица 2. Влияние фенамина при внутрибрюшинном введении и антагонистов орексина SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈ при внутрижелудочковом введении на выработку условной реакции предпочтения места у крыс

Препарат, доза	Время в отсеке, не ассоциированном с введением препарата, с	Время в отсеке, ассоциированном с введением препарата, с	Число перемещений из отсека в отсек
Контроль (физраствор, 1 мл в/бр)	297 ± 16	303 ± 16	12 ± 2
Фенамин, 1 мг/кг в/бр	175 ± 44	425 ± 44*	7 ± 2
SB-408124, 1 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	296 ± 15	304 ± 15	10 ± 2
SB-408124, 1 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	285 ± 26	315 ± 27#	11 ± 3
SB-408124, 10 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	303 ± 16	297 ± 16	11 ± 2
SB-408124, 10 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	282 ± 21	318 ± 20#	8 ± 2
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 1 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	306 ± 13	294 ± 13	13 ± 5
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 1 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	234 ± 51	331 ± 24*.#	11 ± 4
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 10 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	301 ± 10	299 ± 9	6 ± 2
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 10 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	276 ± 36	324 ± 18#	13 ± 3

Примечание. * $p < 0,05$ по отношению ко времени пребывания в камере, не ассоциированной с введением препарата; # $p < 0,05$ по отношению к группе, получавшей фенамин.

■ Таблица 3. Влияние фенамина при внутрибрюшинном введении и антагонистов орексина SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈ при внутрижелудочковом введении на экспрессию выработанной условной реакции предпочтения места у крыс

Препарат, доза	Время в отсеке, не ассоциированном с введением препарата, с	Время в отсеке, ассоциированном с введением препарата, с	Число перемещений из отсека в отсек
Контроль (физраствор, 1 мл в/бр)	297 ± 16	303 ± 16	12 ± 2
Фенамин, 1 мг/кг в/бр	175 ± 44	425 ± 44*	7 ± 2
SB-408124, 1 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	301 ± 15	299 ± 15	10 ± 4
SB-408124, 1 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	271 ± 24	329 ± 27*.*	11 ± 3
SB-408124, 10 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	294 ± 8	306 ± 7	8 ± 3
SB-408124, 10 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	264 ± 21	336 ± 23#	11 ± 4
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 1 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	292 ± 13	308 ± 13	14 ± 4
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 1 мкг/мкл, в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	217 ± 17	382 ± 20*	10 ± 3
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 10 мкг/мкл в/ж + 1 мл физраствора в/бр	299 ± 11	301 ± 9	10 ± 2
Orexin B ₁₈₋₂₈ , 10 мкг/мкл в/ж + фенамин, 1 мг/кг в/бр	242 ± 15	358 ± 14#	7 ± 3

Примечание. * $p < 0,05$ по отношению ко времени пребывания в камере, не ассоциированной с введением препарата; # $p < 0,05$ по отношению к группе, получавшей фенамин.

В опытах с влиянием препаратов на экспрессию (возобновление) выработанного УРПМ оба антагониста орексина SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈ в дозе 1 мкг при введении в желудочки мозга уменьшали экспрессию УРПМ, а в дозе 10 мкг полностью ее блокировали, то есть животные не проявляли предпочтения той или иной камеры (табл. 3).

Важно отметить, что у обоих антагонистов орексина (SB-408124 и Orexin B₁₈₋₂₈) не проявлялось антифенаминовое действие в тестах на выработку и экспрессию УРПМ, если они были применены в дозе 0,1 мкг. Следовательно, и в этих опытах было подтверждено, что пороговой (работающей) дозой антагонистов орексина является доза 1 мкг/мкл.

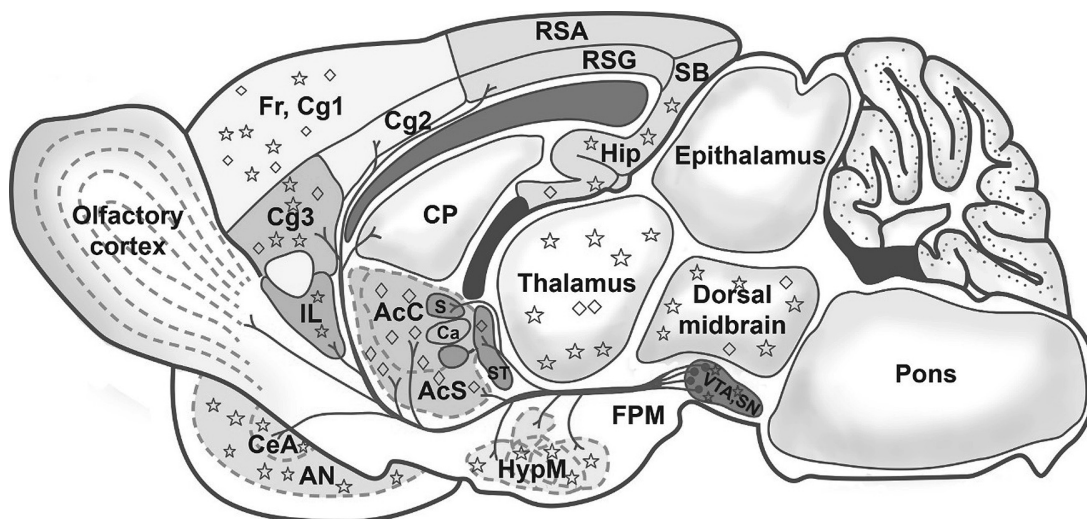
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе показано, что орексин и их антагонисты могут направленно влиять на центральные механизмы действия психостимуляторов. В частности, антагонисты орексина Orexin B₁₈₋₂₈ и SB-408124 при введении в желудочки мозга проявляют дозозависимое (0,1, 1, 10 мкг) тормозное действие на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса, активируемую непрямым адреномиметиком фенамином, снижают как выработку, так и экспрессию УРПМ фенамина.

Ранее показано, что орексинпродуцирующие нейроны являются частью системы, которая обеспечивает ответную реакцию гипоталамуса на стресс.

Так, вызванное стрессом возобновление поискового поведения в отношении пищи и наркотиков может быть заблокировано антагонистами рецепторов орексина [9]. Морфологической основой этого феномена могут служить данные, что орексиновые нейроны получают сигналы от нейронов, принадлежащих к системе стресса. В то же время кортиколиберинсодержащие терминалы формируют синапсы на орексиновых нейронах [20], обуславливая таким образом взаимодействие двух пептидных регуляторных систем (орексина и кортиколиберина) в эмоциогенных структурах головного мозга.

Нейропептиды головного мозга орексин А и орексин В были изначально описаны как регуляторы потребления пищи из-за их исключительной выработки в области латерального гипоталамуса, именуемой «центром голода» [13]. Позже было показано, что нейропептиды гипоталамуса орексина принимают участие в механизмах подкрепления, пробуждения и поддержания уровня бодрствования [10]. При этом было обнаружено, что механизмы пробуждения и регуляции уровня бодрствования в большей степени связаны с активацией OX2R, в то время как регуляция системы положительного подкрепления — с OX1R [1, 5, 6]. Это позволило допустить возможность разработки фармакологических средств, избирательно вовлекающих OX1R или OX2R подтипы рецепторов, для лечения аддикции и расстройств сна соответственно [11, 18]. Орексин активирует моноаминергические и холинергические нейроны, нужные для поддержания уровня бодрствования и получающие обильные связи от лимбической



Схема, иллюстрирующая колокализацию дофаминергических терминалей и рецепторов орексина (пояснения в тексте). VTA — вентральная область покрышки; SN — черная субстанция; FPM — медиальный передний мозговой пучок; HypM — медиальный гипоталамус; CeA — центральное ядро миндалины; AN — переднее ядро миндалины; AcC — центральная часть прилежащего ядра (core); AcS — скорлупа прилежащего ядра (shell); Cg — цингулярная кора (цифрами обозначены номера полей); IL — подлимбическая область; St — полосатое тело; S — перегородка; Ca — центральное ядро перегородки; CP — полосатое тело; Hip — гиппокамп; RSA, RSG, SB — поля лимбической коры; Fr — фронтальная кора

системы [12, 15]. Орексиновые нейроны имеют и реципрокные соединения с аркуатным ядром гипоталамуса, регулирующие потребление пищи. Кроме того, чувствительность орексиновых нейронов к лептину и глюкозе предполагает, что эти нейроны играют ключевую роль в поддержании энергетического гомеостаза и уровнем бодрствования. Орексиновые нейроны имеют тесные связи с дофаминергической подкрепляющей системой мозга [3, 16]. Таким образом, система орексина принимает участие в механизмах эмоционального подкрепления, энергетическом гомеостазе для поддержания уровня бодрствования. Поэтому данная система является потенциально важной терапевтической мишенью для лечения расстройств сна, ожирения, эмоционального стресса и наркологической зависимости [12].

Позиционирование орексиновой системы в качестве мишени для воздействия на формирование наркотической зависимости и ее поддержания стало одной из принципиальных стратегий, развиваемых в лаборатории проф. П.Д. Шабанова [1–7]. Особенно важна роль орексинов в стремлении к получению наркотика, инициируемая внешними стимулами, то есть мотивационном компоненте зависимости (обсессивно-компульсивном и импульсивном, по терминологии моделируемых состояний) [6]. Существуют функциональные нейронные связи, в которые вовлечена система орексинов. При этом важны не только гипоталамические, но и экстрагипоталамические структуры головного мозга, особенно структуры расширенной миндалины [2, 19]. На рисунке схематически представлены места локализации OX1R (звездочки) и OX2R (ромбы), подтверждающие широкое распространение

рецепторов орексина в головном мозге. Важно, что эти связи орексина с другими медиаторными (прежде всего, дофаминергической) и пептидными (кортиколиберин, грелин) регуляторными системами мозга во многом опосредуют поведение, связанное с аддикцией [10]. При этом собственно функция награды связана с орексинсодержащими нейронами, локализованными на дофаминергических нейронах медиального переднего мозгового пучка (на рисунке он изображен начинающимся от вентральной тегментальной области, идущим к эмоциогенным структурам расширенной миндалины, гипоталамусу и медиальной префронтальной коре).

Орексиновые нейроны реагируют на подкрепляющие стимулы, включая пищу, половое влечение и аддиктивные вещества [1, 4, 6]. Блокирование OX1R препятствует возможности стимулов к восстановлению поведенческих реакций в отношении тяги к наркотикам или пище. В этом отношении полученные в работе результаты полностью соответствуют данному положению. В наших опытах два антагониста OX1R проявляли функциональный антагонизм по отношению к подкрепляющим эффектам прихостимулятора фенамина. При этом эффект был подтвержден как в дозозависимом диапазоне (1 и 10 мкг в/ж), так и в отношении разной природы подкрепления: безусловнорефлекторной (самостимуляция латерального гипоталамуса) и условнорефлекторной (предпочтение места).

И хотя механизмы тяги к наркотикам остаются не выясненными полностью, подобные исследования открывают определенную надежду и перспективы для создания лекарственных средств, блокирующих регуляторные (управляющие) механизмы, каковыми являются рецепторы орексина с целью

воздействия на исполнительную систему подкрепления (дофаминергические нейроны медиального переднего мозгового пучка). Примером успешного использования таких антагонистов в качестве антинаркотических средств стал разработанный в нашей лаборатории новый препарат Анторекс, по механизму блокатор OX1R [18], позиционируемый как средство подавления влечения к алкоголю и другим наркотенам. Следовательно, антагонисты орексина могут рассматриваться как возможные перспективные средства профилактики и лечения вызванной стрессом и окружающими стимулами среды зависимости от приема аддиктивных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетов М.И., Сексте Э.А., Ереско С.О., и др. Уровень мРНК рецепторов орексина первого типа (OX1R) в эмоциогенных структурах мозга крыс при их хронической алкоголизации // Вопросы наркологии. – 2018. – № 8. – С. 18–25. [Airapetov MI, Sekste EA, Eresko SO, et al. Orexin receptor type 1 (OX1R) mRNA level in emotiogenic structures of the brain under chronic alcoholization. *Voprosy narkologii*. 2018;(8):18-25. (In Russ.)]
2. Дробленков А.В., Федоров А.В., Маградзе Р.Н., и др. Взаимодействие нейронов орексинергического и дофаминергического ядер ствола мозга в механизме алкогольной зависимости, формируемой в перинатальном периоде // Вестник новых медицинских технологий. – 2018. – Т. 25. – № 3. – С. 137–141. [Doblenkov AV, Fedorov AV, Magradze RN, et al. Interaction of orexinergic and dopaminergic brain stem nuclei neurons in the mechanism of alcoholic dependence, formed in the perinatal period. *Journal of new medical technologies*. 2018;25(3):137-141. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2018-16125>.
3. Карпова И.В., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Блокада орексиновых рецепторов ядра ложа конечной полоски повышает уровень серотонина только в левом гипоталамусе // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16. – № 2. – С. 33–36. [Karpova IV, Vyckhov ER, Lebedev AA, Shabanov PD. Blockade of orexin receptors in the bed nucleus of stria terminalis increases serotonin level only in the left hypothalamus. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(2):33-36. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/RCF16233-36>.
4. Лебедев А.А., Хохлов П.П., Якушина Н.Д., и др. Фармакологический и биохимический анализ участия пептидной системы грелина в поведенческих проявлениях игровой зависимости у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 82. – № 6. – С. 16–20. [Lebedev AA, Khokhlov PP, Yakushina ND, et al. Pharmacological and Biochemical Analysis of Participation of the Ghrelin Peptide System in Behavioral Manifestations of Gambling In Rats. *Experimental and clinical pharmacology*. 2019;82(6):16-20. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-6-16-20>.
5. Тиссен И.Ю., Якушина Н.Д., Лебедев А.А., и др. Эффекты антагониста OX1R рецепторов орексина А SB-408124 на компульсивное поведение и уровень тревожности после витального стресса у крыс // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16. – № 1. – С. 34–42. [Tissen IYu, Yakushina ND, Lebedev AA, et al. Effect of SB-408124, an orexin A OX1R receptor antagonist, on the compulsive behavior and the level of anxiety after the vital stress in rats. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(1):34-42. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/RCF16134-42>.
6. Якушина Н.Д., Тиссен И.Ю., Лебедев А.А., и др. Возможное участие OX1R рецепторов орексина А в компульсивном поведении и поддержании уровня тревожности после витального стресса у крыс // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 10–18. [Yakushina ND, Tissen IYu, Lebedev AA, et al. Probable participation of OX1R orexin A receptor in the compulsive behavior and support of the level of anxiety after vital stress in rats. *Vestnik Smolenskoj gosudastvennoj meditsinskoj akademii*. 2018;17(1):10-18. (In Russ.)]
7. Айрапетов МИ, Сексте ЭА, Ереско СО, и др. Хроническая алкоголизация приводит к изменению уровня мРНК рецептора орексина первого типа (OX1R) в эмоциогенных структурах мозга крыс // Биомедицинская химия. – 2018. – Т. 64. – № 5. – С. 451–454. [Airapetov MI, Sekste EA, Eresko SO, et al. Chronic alcoholism influences the mRNA level of the orexin receptor type 1 (OX1R) in emotiogenic structures of the rat brain. *Biomed Khim*. 2018;64(5):451-454. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18097/PBMC20186405451>.
8. Aston-Jones G, Smith RJ, Sartor GC, et al. Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction. *Brain Res*. 2010;1314:74-90. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.09.106>.
9. Boutrel B, de Lecea L. Addiction and arousal: the hypocretin connection. *Physiol Behav*. 2008;93(4-5):947-951. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.022>.
10. de Lecea L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. *Prog Brain Res*. 2012;198:15-24. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59489-1.00003-3>.
11. Gotter AL, Roecker AJ, Hargreaves R, et al. Orexin receptors as therapeutic drug targets. *Prog Brain Res*. 2012;198:163-188. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59489-1.00010-0>.
12. Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, et al. Genetic Ablation of Orexin Neurons in Mice Results in Narcolepsy, Hypophagia, and Obesity. *Neuron*. 2001;30(2):345-354. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00293-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00293-8).
13. Haynes AC, Chapman H, Taylor C, et al. Anorectic, thermogenic and anti-obesity activity of a selective orexin-1 receptor antagonist in ob/ob mice. *Regul Pept*. 2002;104(1-3):153-159. [https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(01\)00358-5](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(01)00358-5).
14. Koob GF. A Role for Brain Stress Systems in Addiction. *Neuron*. 2008;59(1):11-34. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.06.012>.

15. Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, et al. Neurons Containing Hypocretin (Orexin) Project to Multiple Neuronal Systems. *J Neurosci.* 1998;18(23):9996-10015. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.18-23-09996.1998>.
16. Roik RO, Lebedev AA, Shabanov PD. The value of extended amygdala structures in emotive effects of narcogenic with diverse chemical structure. *Research Results in Pharmacology.* 2019;5(3):11-19. <https://doi.org/10.3897/rpharmacology.5.38389>.
17. Sustkova-Fiserova M, Puskina N, Havlickova T, et al. Ghrelin receptor antagonism of fentanyl-induced conditioned place preference, intravenous self-administration, and dopamine release in the nucleus accumbens in rats. *Addict Biol.* 2019; e12845. <https://doi.org/10.1111/adb.12845>.
18. Tissen IY, Lebedev AA, Tsikunov SG, Shabanov PD. Orexin A is involved in stress-induced behavior due to social isolation and psychotraumatic exposure. In Proceedings of the 26th International "Stress and Behavior" Neuroscience and Biopsychiatry Conference; Saint Petersburg, 16-19 May 2019. Saint Petersburg; 2019. p. 25-26.
19. Tissen I, Kurbanov R, Hohlov K, et al. OX1R antagonist SB408124 action and extrahypothalamic CRF in rats after psychotraumatic exposure. *Georgian Med News.* 2019;5(290):127-131.
20. Winsky-Sommerer R, Yamanaka A, Diano S, et al. Interaction between the corticotropin-releasing factor system and hypocretins (orexins): a novel circuit mediating stress response. *J Neurosci.* 2004;24(50):11439-11448. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3459-04.2004>.

♦ Информация об авторах

Петр Дмитриевич Шабанов — д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; заведующий кафедрой фармакологии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Сергей Владимирович Азаренко — аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: azsergei@yandex.ru.

Виталий Иванович Морозов — канд. мед. наук, докторант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: vitmoroz@yandex.ru.

Юлия Николаевна Бессолова — аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: juliannna_7@mail.ru.

Андрей Андреевич Лебедев — д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией общей фармакологии отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

♦ Information about the authors

Petr D. Shabanov — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; Head, Department of Pharmacology, S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Sergei V. Azarenko — Post-graduate Student, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: azsergei@yandex.ru.

Vitalii I. Morozov — PhD (Narcology), Postdoc Student, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vitmoroz@yandex.ru.

Yulia N. Bessolova — Post-graduate Student, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: juliannna_7@mail.ru.

Andrei A. Lebedev — Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Head of the Laboratory of General Pharmacology, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.