

ЭФФЕКТЫ АНТАГОНИСТА OX1R РЕЦЕПТОРОВ ОРЕКСИНА А SB-408124 НА КОМПУЛЬСИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ ПОСЛЕ ВИТАЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС

УДК 616-092.9+612.82
DOI: 10.17816/RCF16134-42

© **И.Ю. Тиссен¹, Н.Д. Якушина¹, А.А. Лебедев¹, А.Г. Пшеничная¹, Е.Р. Бычков^{1, 2}, С.Г. Цикунов¹, П.Д. Шабанов^{1, 2}**

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

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

Для цитирования: 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. doi: 10.17816/RCF16134-42

Поступила в редакцию 11.01.2018

Принята к печати 02.03.2018

◆ **Резюме.** Исследовали действие антагониста OX1R рецепторов орексина А SB-408124 на проявление компульсивного поведения и уровень тревожности у крыс после предъявления витального стрессорного воздействия в ряде поведенческих тестов: закапывание шариков, приподнятый крестообразный лабиринт, «открытое поле» и тест «резидент – интродер». В тесте закапывания шариков моделировали поведенческие компоненты obsessions (навязчивость и тревожность) и compulsions (навязчивое поведение). Психическую травму вызывали стрессорным воздействием, суть которого состояла в переживании животным обстоятельств гибели партнера от действий хищника. Группу крыс однократно помещали в террариум к тигровому питону. После действия витального психического стресса у крыс отсроченно (через 7–10 дней) наблюдали два сопряженных поведенческих феномена — высокий уровень тревожности и увеличение числа закопанных шариков на фоне снижения коммуникативности, что трактовалось как посттравматическое стрессорное расстройство (ПТСР). Антаго-

нист OX1R рецепторов орексина А SB-408124 (10 мкг) при интраназальном курсовом (7 дней) введении после предъявления витального стрессорного воздействия снижал уровень тревожности, а также нормализовал коммуникативную активность животных и число закопанных шариков, то есть компульсивное поведение. Таким образом, орексиновая система является важным компонентом реакции на психотравмирующее воздействие. Антагонисты OX1R рецепторов орексина А могут потенциально рассматриваться как корректоры obsessive-compulsive расстройств на фоне ПТСР. Использование интраназального введения антагонистов OX1R рецепторов орексина А в клинике позволит применять малые дозы веществ и этим снижать их возможные токсические эффекты.

◆ **Ключевые слова:** орексин А; OX1R-рецептор; obsessive-compulsive расстройство; компульсивное поведение; тревожность; закапывание шариков; посттравматическое стрессорное расстройство (ПТСР).

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

© **I.Yu. Tissen¹, N.D. Yakushina¹, A.A. Lebedev¹, A.G. Pshenichnaya¹, E.R. Bychkov^{1, 2}, S.G. Tsykunov¹, P.D. Shabanov^{1, 2}**

¹ Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

² S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: 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. doi: 10.17816/RCF16134-42

Received: 11.01.2018

Accepted: 02.03.2018

◆ **Abstract.** The effect of the orexin A OX1R receptor antagonist SB-408124 on the compulsive behavior and the anxiety in rats after the presentation of vital stress in a number of behavioral tests: marble test, elevated plus

maze, in the open field and in the test “resident intruder”. In the burying marble test, the behavioral components of the obsession (obsessive and obtrusive thoughts) and compulsions (obtrusive behavior), aimed to reduce anxiety, were

modeled. Mental trauma was caused by a stressful effect, the essence of which was the experience of the animals of the circumstances of the death of a partner from the actions of a predator. A group of rats were placed once in the terrarium to a tiger python. After the action of vital mental stress in rats, two connected behavioral phenomena were observed: a high level of anxiety and an increase in the number of buried balls. This was accompanied by a decrease in communicability. Intranasal administration (for 7 days) of orexin A antagonist OX1R receptor SB-408124 after presentation of the vital stress reduced the level of anxiety, and also normalized the communicative activity of animals and the number of buried balls,

Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) занимает особое место среди тревожных расстройств. Оно интерпретируется прежде всего как тревожное заболевание, связанное с появлением навязчивых и тревожных мыслей (обсессии), которые сопровождаются навязчивым поведением (компульсии), направленным на снижение тревоги [29]. Основу фармакотерапии ОКР составляют антидепрессанты, анксиолитики бензодиазепинового ряда и низкие дозы нейролептиков [14]. Эти препараты различаются по спектру действия и эффектам и не снимают с повестки дня поиск новых эффективных лекарственных средств терапии ОКР, в том числе пептидов, не вызывающих побочных эффектов и способных проявлять антикомпульсивную активность в эксперименте. Наиболее информативным тестом оценки в эксперименте ОКР является закапывание шариков у грызунов [9]. Компульсивное поведение также служит функциональным элементом аддиктивного поведения и рассматривается как нейробиологический компонент алкогольной, наркотической, игровой и других видов зависимости [1, 7, 21].

Одной из мишеней, представляющих заметный практический интерес для лечения стресс-зависимых расстройств эмоциональной сферы, является мозговая система орексиновой регуляции [2]. Орексин представлен в головном мозге двумя пептидами, орексином А и В, которые синтезируются преимущественно в гипоталамусе [26]. Из латерального гипоталамуса они транспортируются в другие отделы ЦНС, где модулируют различные функции, такие как поддержание циркадианного ритма, регуляция пищевого поведения, системы подкрепления и стресса [13]. Согласно современным представлениям орексины играют ключевую роль в развитии аддиктивных состояний, связанных с активацией систем подкрепления. Особенно важна роль орексинов в реализации эмоциональных реакций на фоне стрессорных факторов. Структурной основой данного действия орексинов служит, по-видимому, обширная проекционная сеть связей орексинпродуцирующих нейронов со структурами мезокортиколимбической системы и системой расширенной миндалины. Эти связи могут опосредо-

вать поведение, связанное с аддикцией [2, 4, 13]. Ряд недавних исследований выявили значение орексинов в регуляции стресс-зависимых процессов в ЦНС [15], обусловленное взаимодействием орексиновых нейронов с эмоциогенными структурами головного мозга, такими как ядро ложа конечной полоски, голубоватое место, центральное и дорзомедиальное ядра миндалины, гиппокамп, медиальная префронтальная кора [25].

♦ **Keywords:** orexin A; OX1R receptor; obsessive-compulsive disorder; compulsive behavior; anxiety; marble burying test; posttraumatic stress disorder (PTSD).

вать поведение, связанное с аддикцией [2, 4, 13]. Ряд недавних исследований выявили значение орексинов в регуляции стресс-зависимых процессов в ЦНС [15], обусловленное взаимодействием орексиновых нейронов с эмоциогенными структурами головного мозга, такими как ядро ложа конечной полоски, голубоватое место, центральное и дорзомедиальное ядра миндалины, гиппокамп, медиальная префронтальная кора [25].

Таким образом, изучение значения системы орексина (орексин А — OX1R-рецептор орексина), рассматриваемой в качестве молекулярной мишени действия при ОКР, особенно после действия стресса, представляет собой перспективное направление исследований. В связи с вышесказанным целью настоящей работы было исследование действия антагониста OX1R рецепторов орексина А SB-408124 на проявление обсессивно-компульсивного поведения и уровень тревожности после предъявления витального стрессорного воздействия у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выбор животных. В работе использовано 76 половозрелых крыс самцов линии Вистар массой 160–180 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Все животные были разделены на несколько экспериментальных групп по 7–10 в каждой. Животных содержали в условиях вивария, в стандартных пластмассовых клетках при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре 22 ± 2 °С.

Метод моделирования психической травмы. Под психической травмой понимается сильное, непродолжительное воздействие внешних отрицательных обстоятельств, приводящее к развитию негативных эмоциональных реакций типа страха, тревоги, ужаса, отчаяния и других и формированию соматических нарушений (МКБ-10, 1993). Психическую травму моделировали стрессорным воздействием, суть которого состояла в переживании животным обстоятельств гибели партнера от действий хищника [3]. Применяли острую однократную

психотравмирующую ситуацию. Группу крыс в количестве 20–22 животных помещали в террариум (размеры 1,2 × 0,7 × 1 м) к тигровому питону. Питон удушал и заглатывал одно из животных в присутствии остальных, которые переживали ситуацию гибели сородича. В ходе эксперимента регистрировали следующие поведенческие акты: локомоцию, обнюхивание, движение на месте, вертикальную стойку, груминг, фризинг, покой — сидит спокойно в неподвижной позе. После этого крыс забирали из террариума и на протяжении нескольких дней проводили тестирование поведения.

Тест закапывания шариков (marble test). Этот тест предложен как модель ОКР, связанного с навязчивыми идеями и действиями [12]. В клетку размером 20 × 25 × 17 см насыпали опилки слоем 5 см, сверху равноудаленно раскладывали 20 стеклянных шариков диаметром 1 см. Крысу помещали в клетку на 30 мин. По истечении этого времени подсчитывали число шариков, закрытых опилками более чем на $\frac{2}{3}$ [18, 24]. В данном эксперименте каждое животное тестировали 3 раза.

Исследование поведения крыс в «открытом поле». Свободную двигательную активность крыс исследовали в «открытом поле», представляющем собой круглую площадку диаметром 80 см, ограниченную по окружности непрозрачными бортами высотой 30 см. По всей площади «открытого поля» равномерно расположены 16 отверстий (норок) диаметром 3 см каждое, предназначенных для выявления видоспецифического компонента исследовательской активности у грызунов (норковый рефлекс). Освещенность «открытого поля» равнялась 100 лк. Во время опыта экспериментальный вольер находился в специальной звукоизолированной комнате. Наблюдение за животным осуществляли с помощью прикладной телевизионной установки [6]. Продолжительность одного опыта составляла 3 мин. Каждому отдельному элементарному акту присваивался определенный номер (код): 0 — «локомоция» (поступательное движение тела в горизонтальной плоскости); 1 — «обнюхивание» (принюхивание и повороты головы без существенных изменений координат корпуса в горизонтальной и вертикальной плоскостях. Этот акт может осуществляться в позах сидя, стоя, которые трудноразличимы без потери его основного биологического значения, поэтому при регистрации акт не разделялся в зависимости от позы, в которой он появлялся); 2 — «вертикальная стойка» (стойка на задних лапах в центре «открытого поля»); 3 — груминг (все разновидности этой реакции); 4 — «неподвижность» (покой, сидение, визуально определяемая неподвижность животного обычно в позе сидя с подогнутыми конечностями и сгорбленной спиной); 5 — «движение на месте» (изменение координат головы и корпуса в пределах условной окружности, центром которой являются задние конечности животного, координаты которых существенно не меняются. Достигается переступа-

нием передних конечностей при опоре на задние); 6 — «заглядывание в норку» (норковый рефлекс); 7 — «стойка на стенку» (вертикальная стойка на задних лапах с упором передними на стенку вольера). Полученные данные обрабатывали математически с использованием персонального компьютера.

Исследование внутривидового поведения в тесте «чужак – резидент». Смысл методики состоит в том, что к крупному самцу, постоянно находящемуся в клетке (резиденту), подсаживают более мелкое животное (чужака). Регистрируют число поведенческих проявлений агрессивности и защиты, а также общее число поведенческих актов, описывающих взаимоотношение двух особей крыс [8]. Изучение внутривидового взаимодействия производили в тесте «чужак – резидент» следующим образом. Подопытное животное — «резидент» в течение 1 ч находилось в клетке размером 20 × 36 × 20 см, после чего к нему подсаживали на 5 мин второе животное — «чужака». «Чужаками» являлись крысы-самцы массой 170–180 г, то есть заведомо меньших размеров, чем «резиденты», что создавало условия для зоосоциального доминирования последних. В процессе 5-минутного совместного пребывания «резидента» и «чужака», помещаемого в клетку только на время опыта, регистрировали этограмму поведения «резидента» — общее число, последовательность и длительность всех элементарных актов и поз, образующих внутривидовую общительность, агрессию, защиту и индивидуальное поведение. Общительность включала в себя следующие дискретные акты: приближение, следование за партнером, обнюхивание партнера, груминг загривка или тела, наползание или подползание под партнера. Агрессия проявлялась в виде вертикальных или боковых стоек (угроза) или атаки. Социальная пассивность выражалась различными актами индивидуального поведения: локомоцией, обнюхиванием, аутогрумингом, движениями на месте, вертикальными стойками, неподвижностью.

Исследования поведения в приподнятом крестообразном лабиринте. Поведение крыс исследовали в установке, представлявшей приподнятый крестообразный лабиринт, который состоял из двух открытых рукавов размером 50 × 10 см и двух закрытых рукавов размером 50 × 10 см с открытым верхом, расположенных перпендикулярно относительно друг друга [1]. Высота над полом — 1 м. Животное помещали в центр лабиринта. Путем нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, фиксировали время пребывания в закрытых и открытых рукавах, время свешивания с платформы в открытых рукавах и выглядывания из закрытых рукавов. Продолжительность теста составляла 5 мин.

Фармакологические вещества, используемые для анализа. Селективный антагонист OX1R рецепторов SB-408124 (N-(6,8-Difluoro-2-methyl-4-quinolinyl)-N'-[4-(dimethylamino)phenyl]urea, cat. № S2694; Sigma-Aldrich Co. LLC USA), разведен-

ный в дистиллированной воде 0,5 мг/мл, вводили интраназально в дозе 10 мкг в 20 мкл (по 10 мкл в каждую ноздрю) при помощи стандартной микропипетки в течение 7 дней после стрессирующего воздействия. Первое введение SB-408124 осуществляли через 2 часа после действия стрессогена, поведение тестировали через 2 часа после последнего его введения.

Статистические методы анализа. Оценку статистической достоверности различий проводили при помощи пакета программ SPSS Sigma Stat 3,0; GraphPad Prism 6 с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Из непараметрических критериев применяли критерий Краскела – Уоллиса для сравнения групп. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Для представления полученных данных использовали такие показатели описательной статистики, как среднеарифметическое значение и ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В тесте «закапывание шариков» (marble test) число закопанных шариков в группе intactных животных составило $7,4 \pm 1,6$. После стрессорного воздействия и курса интраназального введения SB-408124 не наблюдали увеличения числа закопанных шариков ($7,9 \pm 1,2$) по сравнению с intactным контролем до стрессорного воздействия. Напротив, после действия стресса (активный контроль после

стресса) через 7 дней введения 0,9 % раствора NaCl наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение числа закопанных шариков до $13,2 \pm 2,4$ в сравнении с intactным контролем до стресса. После курса интраназального введения SB-408124 число закопанных шариков ($7,9 \pm 1,2$) было достоверно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с активным контролем после стрессорного воздействия ($13,2 \pm 2,4$) (табл. 1).

В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» в контрольной группе животных время нахождения в светлом рукаве составило $92,1 \pm 28,0$ с, время нахождения в темном рукаве — $207,8 \pm 28,0$ с. Число свешиваний в данной группе составило $5,8 \pm 1,1$ акта, число перебежек по рукавам — $5,1 \pm 1,2$ акта, число актов груминга — $0,5 \pm 0,5$. В группе стрессированных животных, получавших интраназально физиологический раствор, время нахождения в светлом рукаве составило $19,0 \pm 6,8$ с, время нахождения в темном рукаве — $281,0 \pm 6,8$ с, число свешиваний — $1,3 \pm 0,5$ акта, число перебежек — $1,6 \pm 0,5$ акта, число актов груминга — $0,1 \pm 0,1$. В группе стрессированных животных, получавших интраназально селективный антагонист OX1R рецепторов SB-408124 20 мкл, время нахождения в светлом рукаве составило $53,2 \pm 19,7$ с, время нахождения в темном рукаве — $246,7 \pm 19,7$ с, число свешиваний — $1,8 \pm 0,2$, количество перебежек — $1,7 \pm 0,5$, число актов груминга — $2,0 \pm 1,6$ (табл. 1, 2).

В тесте «чужак – резидент» определяли коммуникативные поведенческие акты, акты агрессии, а также общее число двигательных актов. В контрольной группе животных число актов коммуникации составило $12,1 \pm 3,2$, актов агрессии не наблюдалось. В группе стрессированных животных, получавших

■ Таблица 1. Оценка компульсивного поведения в тесте закапывания шариков и уровня тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте после предъявления витального стрессорного воздействия у крыс

Тест	Intactные животные (intactный контроль)	7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса	7 дней SB-408124 после стресса
Закапывание шариков (число закопанных шариков за 30 мин)	$7,4 \pm 1,6$	$13,2 \pm 2,4^*$	$7,9 \pm 1,2^\#$
Время в открытых рукавах крестообразного лабиринта (с)	$92,1 \pm 28,0$	$19,0 \pm 6,81^{**}$	$53,2 \pm 19,7^{**}$

Примечание: $*p \leq 0,05$; $**p \leq 0,01$ в сравнении с intactным контролем, $^\#p \leq 0,05$ в сравнении с активным контролем (7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса)

■ Таблица 2. Оценка уровня тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте после предъявления витального стрессорного воздействия у крыс

Показатель	Intactные животные (intactный контроль)	7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса	7 дней SB-408124 после стресса
Время нахождения в открытом рукаве, с	$92,1 \pm 28,0$	$19,0 \pm 6,8^{**}$	$53,2 \pm 19,7^{**}$
Число свешиваний	$5,8 \pm 1,1$	$1,3 \pm 0,5^*$	$1,8 \pm 0,2^*$
Число перебежек по рукавам	$5,1 \pm 1,2$	$1,6 \pm 0,5^*$	$3,4 \pm 1,2^\#$
Число актов груминга	$0,5 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,1^*$	$2,0 \pm 1,5$

Примечание: $*p \leq 0,05$; $**p \leq 0,01$ в сравнении с intactным контролем, $^\#p \leq 0,05$ в сравнении с активным контролем (7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса)

■ Таблица 3. Оценка уровня агрессивности, защитного поведения и коммуникабельности в тесте «чужак – резидент» после предъявления витального стрессорного воздействия у крыс

Показатель	Интактные животные (интактный контроль)	7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса	7 дней SB-408124 после стресса
Груминг	2,5 ± 0,8	2,1 ± 1,4	2,3 ± 1,0
Замирание	1,1 ± 0,5	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,6
Стойка	12,8 ± 3,5	7,8 ± 2,7	10,1 ± 2,0
Коммуникация	12,1 ± 3,2	9,8 ± 1,0*	13,3 ± 1,6 [#]
Агрессия	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Примечание: * $p \leq 0,05$ в сравнении с интактным контролем, [#] $p \leq 0,05$ в сравнении с активным контролем (7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса)

■ Таблица 4. Оценка эмоционального, двигательного и исследовательского поведения в тесте «открытое поле» после предъявления витального стрессорного воздействия у крыс

Показатель (число актов)	Интактные животные (интактный контроль)	7 дней 0,9 % раствор NaCl после стресса	7 дней SB-408124 после стресса
Груминг	2,6 ± 1,3	4,5 ± 2,5*	5,3 ± 1,3*
Число пересеченных секторов	50,8 ± 7,1	50,6 ± 3,8	53,1 ± 7,2
Движение в секторе	4,8 ± 0,9	2,6 ± 0,7*	1,1 ± 0,5*
Обнюхивание	7,5 ± 1,1	2,8 ± 0,8*	16,9 ± 2,6* [#]
Замирание	1,3 ± 0,6	0,5 ± 0,3	1,3 ± 0,6
Стойки	4,5 ± 2,4	0,5 ± 0,2*	1,1 ± 0,5
Стойки с упором	7,5 ± 1,8	6,5 ± 1,0	6,3 ± 1,1
Заглядывание в норки	7,5 ± 1,5	15,0 ± 1,0*	9,4 ± 1,0 [#]
Болюсы	3,6 ± 1,4	1,6 ± 0,6*	2,7 ± 0,9

Примечание: * $p \leq 0,05$ относительно контрольной группы, [#] $p \leq 0,05$ относительно стрессированных животных

интраназально 0,9 % раствор NaCl, число актов коммуникации составило 9,8 ± 1,0, актов агрессии также не наблюдалось. В группе стрессированных животных, получавших интраназально антагонист орексина, число актов коммуникации составило 13,3 ± 1,6, актов агрессивного поведения также не было выявлено (табл. 3).

В тесте «открытое поле» в контрольной группе крыс число пересеченных секторов составляло 50,8 ± 7,1, число заглядываний в норки — 7,5 ± 1,5, число принюхиваний — 7,5 ± 1,1, число актов груминга — 2,6 ± 1,3, число вертикальных стоек — 4,5 ± 2,4, число стоек с упором на стенку — 7,5 ± 1,8, число болюсов дефекации — 3,6 ± 1,4. В группе стрессированных крыс, получавших интраназально 0,9 % раствор NaCl, увеличилась представленность груминга (до 4,5 ± 2,5), сократилось число обнюхиваний (до 2,8 ± 0,8), движений в секторе (до 2,6 ± 0,7) и число вертикальных стоек (до 5,0 ± 0,2), но возросло число заглядываний в норки (15,0 ± 1,0; $p \leq 0,05$). В группе стрессированных крыс, получавших SB-408124 20 мкг интраназально, возросло число обнюхиваний (16,9 ± 2,6 акта) и до уровня контроля снизилось число заглядываний в норки (9,4 ± 1,0 акта) по сравне-

нию со стрессированными крысами, получавшими 7 дней 0,9 % раствор NaCl после стрессорного воздействия (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе показано, что антагонист OX1R рецепторов орексина A SB-408124 при интраназальном курсовом (7 дней) введении после предъявления витального стрессорного воздействия обладает анксиолитическим действием и восстанавливает коммуникативную активность животных. Это выражалось в изменении параметров поведения в батарее поведенческих тестов. В приподнятом крестообразном лабиринте антагонист орексина A SB-408124 у стрессированных крыс проявлял анксиолитические свойства, увеличивая время нахождения в светлом рукаве. В «открытом поле» SB-408124 не оказывал значимого влияния на двигательную и эмоционально-исследовательскую активность животных. В то же время возросло число обнюхиваний и до уровня контроля снизилось число заглядываний

в норки по сравнению со стрессированными крысами, получавшими 7 дней 0,9 % раствор NaCl после стрессорного воздействия. В тесте «чужак – резидент» у стрессированных животных антагонист орексина A SB-408124 восстанавливал подавленную коммуникативную активность. Это во многом согласуется с литературными данными. В работах последних лет показано участие орексиновой регуляции в механизмах реализации реакции на стресс. Так, блокада OX1R рецепторов орексина с помощью SB334867 способствует ускорению угасания, индуцированного стрессорным воздействием, и обстановочного избегания [15]. Микроинъекции орексинов A и B в паравентрикулярное ядро таламуса оказывают анксиогенное действие на животных в приподнятом крестообразном лабиринте [22]. В то же время фармакологическая блокада OX1R в голубоватом месте путем микроинъекции SB334867 препятствовала реализации условной реакции на пугающий звуковой сигнал.

Практически неосвещенным в литературе является вопрос влияния орексиновой регуляции на социальное взаимодействие. Отмечается роль орексиновых рецепторов в формировании социальной тревожности [16]. Показано сниженное проявление признаков стресса социального взаимодействия у нокаутных по гену препроорексина мышей [19]. В настоящей работе продемонстрированы результаты, согласующиеся с ранее полученными данными. В частности, антагонист орексина SB-408124 увеличивал коммуникативную активность животных в тесте «чужак – резидент». Антагонист орексина снижал частоту вертикальных стоек и увеличивал частоту груминга. В тесте «чужак – резидент» у стрессированных животных антагонист орексина проявлял тенденцию к восстановлению подавленной коммуникативной активности.

Показано также, что антагонист OX1R рецепторов орексина A SB-408124 при интраназальном курсовом (7 дней) введении после предъявления витального стрессорного воздействия, обладая анксиолитическим действием и активируя зоосоциальную коммуникативную активность животных, снижает повышенное компульсивное поведение, вызванное психотравмирующим воздействием переживания гибели партнера. При введении антагониста орексина SB-408124 наблюдали снижение числа закопанных шариков в сравнении с группой животных, которым интраназально в течение 7 дней вводили 0,9 % раствор NaCl после предъявления витального стрессорного воздействия. Следовательно, снижение тревожности при курсовом введении антагониста OX1R рецепторов орексина A SB-408124 сопровождается снижением числа закопанных шариков, при этом растормаживается коммуникативная активность.

Как отмечалось, ОКР интерпретируется прежде всего как тревожное состояние, связанное с появлением навязчивых и тревожных мыслей (обсессии),

которые сопровождаются навязчивым поведением (компульсии), направленным на снижение тревоги [29]. В нашем случае эта направленность выражается в закапывании шариков. Тест «закапывание шариков» применяется для исследования выраженности обсессивно-компульсивного (ОКР-подобного) поведения грызунов и для скрининга антикомпульсивных препаратов [1, 7, 24], поскольку данный тест отвечает соответствующим критериям моделей психопатологий, которые в англоязычной литературе описываются как predictive и face validity [17], то есть составляющие предпосылку для развития и проявляющиеся этим развитием или в данном случае поведенческой симптоматикой. Считается, что животные используют доступный материал подстилки, чтобы закопать нежелательные источники дискомфорта, находящиеся в домашнем окружении. Число закопанных шариков отражает выраженность стереотипного поведения животного [23]. Эффекты антагонистов орексина на поведение в тесте закапывания шариков у крыс ранее не изучали. Подобный эффект вызывают у мышей и крыс анксиолитики, антидепрессанты и нейрелептики в малых дозах [10, 12, 23].

Как известно, компульсивное поведение служит функциональным элементом аддиктивного поведения и рассматривается как нейробиологический компонент алкогольной, наркотической, игровой и других видов зависимостей [1, 7, 21]. Аддикция определяется как повторяющееся, навязчивое влечение, которое сопровождается нарушением функционирования подкрепляющих систем головного мозга. Заболевание прогрессирует от случайного употребления наркотических средств (игровых эпизодов) до навязчивого патологического пристрастия, что сопровождается переходом от положительного подкрепления к отрицательному, проявляемому синдромом абстиненции, или лишения [20]. Для объяснения механизмов зависимости в течение нескольких десятилетий доминировали концепции, которые рассматривали в большей степени механизмы положительного подкрепления при формировании и реализации аддиктивного поведения, игнорируя механизмы отрицательного подкрепления. Однако более поздние работы были направлены на анализ отрицательных механизмов подкрепления, связанных с избеганием отрицательного эмоционального состояния, которое наблюдается на стадиях озабоченность/ожидание и синдром отмены/отрицательный аффект [2, 4, 20]. Активация системы отрицательного подкрепления непосредственно связана с состоянием организма, которое наблюдается при абстинентном синдроме. Мозговым субстратом синдрома отмены («темная сторона» наркомании по Дж. Кообу [20]) служат элементы системы расширенной миндалины и стресс-зависимые системы головного мозга, включая системы с участием кортикотропин-рилизинг-гормона (КРГ) и норадреналина. Изменения, сопровождающиеся снижением функции награды при синдроме отмены, в дальней-

шем сохраняются в форме состояния облегчения, или успокоения [5, 20], которое формирует высокий уровень мотивационного возбуждения для повторного употребления наркотиков. «Темная сторона» наркомании включает постоянное и длительное изменение активности нервных цепей, опосредующих мотивационные эффекты избегания. В отличие от системы награды ее можно условно обозначить системой «антинаграды» [20]. В качестве морфологического субстрата негативных эффектов в отношении награды, то есть системы «антинаграды», можно представить систему структур расширенной миндалины. Расширенная миндалина состоит из ядра ложа конечной полоски, центрального ядра миндалины и медиальной зоны прилежащего ядра (раковина прилежащего ядра). У каждой из этих областей есть как общие черты, так и индивидуальные цитоархитектонические особенности [4, 20]. Орексин во взаимодействии с КРГ может способствовать повышению высвобождения глутамата, который в конечном счете активирует мотивационную систему мозга, включающую катехоламины. По-видимому, орексиновая система может активироваться вследствие хронической наркотической интоксикации [11, 28], поэтому она может играть важную роль в регуляции механизмов подкрепления и стресса и орексин может быть использован в терапии аддиктивного поведения [11, 28].

Было показано, что орексиновая система действительно является важным компонентом реакции на стресс, которая опосредуется КРГ. КРГ-иммунореактивные терминалы, как оказалось, имеют прямой контакт с орексиновыми нейронами в латеральном гипоталамусе. При этом орексинергические нейроны взаимодействуют с CRF-R2/1-рецепторами кортиколиберина. Нанесение КРГ на гипоталамические срезы, содержащие орексиновые нейроны, вызывает деполяризацию мембранного потенциала. Последняя может быть заблокирована антагонистом КРГ астрессинном, то есть данные исследования показывают прямую нейроанатомическую и физиологическую связь между системой КРГ и орексиновыми нейронами [30].

Исследования *in situ* подтверждают это положение: экспрессия препроорексиновой мРНК ограничена областью латерального гипоталамуса с расширением на перифорникальное ядро и на заднюю гипоталамическую область. Экспрессия препроорексиновой мРНК в латеральной гипоталамической области снизилась на 50 % после адреналэктомии. Введение дексаметазона восстанавливало нормальный уровень экспрессии. Эти исследования говорят о том, что экспрессия орексина в латеральном гипоталамусе непосредственно связана с уровнем глюкокортикоидов. Поскольку орексиновая система тесно связана с кортиколиберином и нейропептидом Y, сделано предположение, что орексин выполняет важную функцию в реакции на стресс и пищевом поведении [27].

Было показано также, что уровень кортикостерона дозозависимо повышался через 15 мин после внутрижелудочкового введения орексина и сохранялся около 60 мин. У двухмесячных крыс 1 час иммобилизационного стресса повышал уровень орексиновой мРНК, но не мРНК меланоцитстимулирующего гормона в латеральной гипоталамической области. У шестимесячных грызунов холодовой стресс в течение 30 мин повышал экспрессию орексиновой мРНК в латеральной гипоталамической области. Эти результаты свидетельствуют о том, что КРГ участвует в орексин-индуцированном поведении и что орексин может играть важную роль в некоторых стрессовых реакциях [16].

Таким образом, при действии витального стресса у взрослых крыс наблюдаются два сопряженных поведенческих феномена — высокий уровень тревожности и увеличение числа закопанных шариков. Это сопровождается снижением коммуникативности и вертикальной двигательной активности, но в то же время увеличением числа паттернов исследовательского поведения (норковый рефлекс). Антагонист OX1R рецепторов орексина A SB-408124 при интраназальном курсовом (7 дней) введении после предъявления витального стрессорного воздействия, обладая анксиолитическим действием и активируя зоосоциальную коммуникативную активность животных, снижает повышенное компульсивное поведение, вызванное психотравмирующим воздействием переживания гибели партнера. Орексиновая система является важным компонентом реакции на витальный стресс, которая опосредуется, по-видимому, через КРГ систему головного мозга. Антагонисты OX1R рецепторов орексина A могут потенциально рассматриваться как корректоры вызванных стрессом тревожных расстройств обсессивно-компульсивного характера. Также они могут рассматриваться как корректоры эмоционального поведения, мотивационных девиаций и нарушений когнитивной сферы. Использование интраназального введения агонистов и антагонистов OX1R рецепторов орексина A в клинике позволит применять малые дозы веществ и тем самым снижать их возможные токсические эффекты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев А.А., Пшеничная А.Г., Бычков Е.Р., и др. Антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14. – № 4. – С. 24–31. [Lebedev AA, Pshenichnaya AG, Bychkov ER, et al. Astressin, an antagonist of CRF receptors, reduces anxiety and fobial states in rats reared in social isolation conditions. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*. 2016;14(4):24-31. (In Russ.)]

2. Лебедев А.А., Шумилов Е.Г., Смирнов А.А., и др. Участие нейропептида орексина А в механизмах подкрепления, активируемых психостимуляторами // Наркология. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 12–18. [Lebedev AA, Shumilov EG, Smirnov AA, et al. Participation of the orexine A neuropeptide in reinforcement mechanisms activated by psychostimulants. *Narkologiya*. 2015;14(2):12-18. (In Russ.)]
3. Цикунов С.Г., Ключева Н.Н., Кусов А.Г., и др. Изменение липидного спектра сыворотки крови и печени крыс, вызванное тяжелой психогенной травмой // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 141. – № 5. – С. 575–578. [Tsikunov SG, Klyueva NN, Kusov AG, et al. Changes in the lipid composition of blood plasma and liver in rats induced by severe psychic trauma. *Biull Eksp Biol Med*. 2006;141(5):575-578. (In Russ.)]
4. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Угнетение самостимуляции латерального гипоталамуса опиатами и опиоидами, вводимыми в центральное ядро миндалина у крыс // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 2. – С. 180–188. [Shabanov PD, Lebedev AA. The extended amygdala system and self-stimulation of the lateral hypothalamus in rats: modulation with opiates and opioids. *Russian journal of physiology*. 2011;97(2):180-188. (In Russ.)]
5. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Участие ГАМК- и дофаминергических механизмов ядра ложа конечной полоски в подкрепляющих эффектах психотропных средств, реализуемых через латеральный гипоталамус // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 8. – С. 804–813. [Shabanov PD, Lebedev AA. Participation of gaba- and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of stria terminalis in reinforcing effects of psychotropic drugs mediated via the lateral hypothalamus. *Russian journal of physiology*. 2011;97(8):804-813. (In Russ.)]
6. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мещеров Ш.К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. – СПб.: Лань, 2002. [Shabanov PD, Lebedev AA, Meshcheroov SK. *Dopamine and reinforcing brain systems*. Saint Petersburg: Lan'; 2002. (In Russ.)]
7. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Якушина Н.Д., и др. Моделирование обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения у крыс введением фенамина в тесте закапывания шариков // Наркология. – 2017. – Т. 16. – № 1. – С. 32–38. [Shabanov PD, Lebedev AA, Yakushina ND, et al. Modeling the obsessive-compulsive and addictive gambling behavior in a rat marble test by means of amphetamine administration. *Narkologiya*. 2017;16(1):32-38. (In Russ.)]
8. Шабанов П.Д., Русановский В.В., Лебедев А.А. Зоосоциальное поведение млекопитающих. – СПб.: Медкнига «ЭЛБИ», 2006. [Shabanov PD, Rusanovskiy VV, Lebedev AA. *Zoosocial behavior of mammals*. Saint Petersburg: Medkniga "ELBI"; 2006. (In Russ.)]
9. Albedan N, Joel D. Current animal models of obsessive compulsive disorder: an update. *Neuroscience*. 2012;211:83-106. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.070.
10. Blampied NM, Kirk RC. Defensive burying: Effects of diazepam and oxprenolol measured in extinction. *Life Sci*. 1983;33(8):695-699. doi: 10.1016/0024-3205(83)90773-7.
11. Boutrel B, de Lecea L. Addiction and arousal: the hypocretin connection. *Physiol Behav*. 2008;93(4-5):947-951. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.11.022.
12. Craft RM, Howard JL, Pollard GT. Conditioned defensive burying as a model for identifying anxiolytics. *Pharmacol Biochem Behav*. 1988;30(3):775-780. doi: 10.1016/0091-3057(88)90098-6.
13. de Lecea L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. *Prog Brain Res*. 2012;198:15-24. doi: 10.1016/B978-0-444-59489-1.00003-3.
14. Declodt EH, Stein DJ. Current trends in drug treatment of obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2010;6:233-242. doi: 10.2147/NDT.S3149.
15. Flores A, Saravia R, Maldonado R, Berrendero F. Orexins and fear: implications for the treatment of anxiety disorders. *Trends Neurosci*. 2015;38(9):550-559. doi: 10.1016/j.tins.2015.06.005.
16. Ida T, Nakahara K, Murakami T, et al. Possible involvement of orexin in the stress reaction in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;270(1):318-323. doi: 10.1006/bbrc.2000.2412.
17. Joel D. Current animal models of obsessive compulsive disorder: a critical review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(3):374-388. doi: 10.1016/j.pnpbp.2005.11.006.
18. Kalinina T, Kudryashov N, Naplekova P, et al. P.1.h.032 Interaction of antidepressants with mild chronic stress: behavioural effects and content of monoamines and their metabolites in mouse brain. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2014;24:S288. doi: 10.1016/s0924-977x(14)70455-9.
19. Kayaba Y, Nakamura A, Kasuya Y, et al. Attenuated defense response and low basal blood pressure in orexin knockout mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003;285(3):R581-593. doi: 10.1152/ajpregu.00671.2002.
20. Koob GF. Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, anti-reward, and emotional memory. *Pharmacopsychiatry*. 2009;42 Suppl 1:S32-41. doi: 10.1055/s-0029-1216356.
21. Leeman RF, Potenza MN. Similarities and differences between pathological gambling and substance use disorders: a focus on impulsivity and compulsivity. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012;219(2):469-490. doi: 10.1007/s00213-011-2550-7.
22. Li Y, Wang H, Qi K, et al. Orexins in the midline thalamus are involved in the expression of conditioned place aversion to morphine withdrawal. *Physiol Behav*. 2011;102(1):42-50. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.10.006.
23. Marazziti D, Carlini M, Dell'Osso L. Treatment Strategies of Obsessive-Compulsive Disorder and Panic Disorder/Agoraphobia. *Curr Top Med Chem*. 2012;12(4):238-253. doi: 10.2174/1568026799078688.
24. Naumenko VS, Bazovkina DV, Semenova AA, et al. Effect of glial cell line-derived neurotrophic factor on behavior

- and key members of the brain serotonin system in mouse strains genetically predisposed to behavioral disorders. *J Neurosci Res.* 2013;91(12):1628-1638. doi: 10.1002/jnr.23286.
25. 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.
 26. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 1998;92(4):573-585. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80949-6.
 27. Stricker-Krongrad A, Beck B. Modulation of hypothalamic hypocretin/orexin mRNA expression by glucocorticoids. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;296(1):129-133. doi: 10.1016/s0006-291x(02)00848-3.
 28. Tissen I, Vinogradov PM, Khokhlov PP, et al. P1.g.061 Orexin receptor type 1 (Ox1R) are involved in the formation and reinstatement of conditioned place preference. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2015;25:S269-S270. doi: 10.1016/s0924-977x(15)30313-8.
 29. Veale D, Roberts A. Obsessive-compulsive disorder. *BMJ.* 2014;348:g2183. doi: 10.1136/bmj.g2183.
 30. 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. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3459-04.2004.

♦ Информация об авторах

Илья Юрьевич Тиссен — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

Наталья Дмитриевна Якушина — аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

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

Анна Геннадиевна Пшеничная — научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

Евгений Рудольфович Бычков — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

Сергей Георгиевич Цикунов — д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

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

♦ Information about the authors

Ilya Yu. Tissen — PhD, Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Peresburg, Russia.

Natalia D. Yakushina — Post-graduate Student, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Peresburg, Russia.

Andrei A. Lebedev — Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Leading Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Peresburg, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Anna G. Pshenichnaya — Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Peresburg, Russia.

Eugenii R. Bychkov — PhD (Biochemistry), Leading Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Peresburg, Russia.

Sergei G. Tsykunov — Dr. Med. Sci. (Physiology), Professor, Head of Laboratory, I.P. Pavlov Dept. of Physiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia.

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