

БЛОКАДА ОРЕКСИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЯДРА ЛОЖА КОНЕЧНОЙ ПОЛОСКИ ПОВЫШАЕТ УРОВЕНЬ СЕРОТОНИНА ТОЛЬКО В ЛЕВОМ ГИПОТАЛАМУСЕ

УДК 616-092.9+612.82
DOI: 10.17816/RCF16233-36

© **И.В. Карпова, Е.Р. Бычков, А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов**

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: 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. doi: 10.17816/RCF16233-36

Поступила в редакцию 25.04.2018

Принята к печати 07.06.2018

◆ **Резюме.** Цель исследования: изучить роль серотонинергической системы гипоталамуса в механизмах блокирующего действия антагониста орексиновых рецепторов на фенаминовую самостимуляцию у крыс. **Методика.** Исследование проводили на 27 самцах крыс линии Вистар массой 250–300 г. За неделю до начала экспериментов животным в латеральный гипоталамус вживляли электроды для самостимуляции и в ядро ложа конечной полоски (ЯЛКП) — канюли для микроинъекций. Электроды для самостимуляции вживляли билатерально, а канюли — унилатерально (с правой или с левой стороны). Контролем служили интактные животные и крысы, получавшие фенамин. В день эксперимента животным вводили системно фенамин (1 мг/кг, в/бр), а через 10 мин в ЯЛКП локально — SB-408124 (1 мкг в 1 мкл на крысу). Через 15 мин после микроинъекции крыс декапитировали. Методом ВЭЖХ с электрохимической детекцией в левой и правой частях гипоталамуса определяли уровень серотонина (5-ГТ) и его метаболита (5-ГИУК). **Результаты.** У интактных животных уровень 5-ГИУК в левом гипоталамусе был выше, чем в правом ($p < 0,05$). При системном введении фенамина соотношение 5-ГИУК/5-ГТ достоверно снижалось

как в левом ($p < 0,01$), так и в правом гипоталамусе ($p < 0,05$). При этом содержание 5-ГТ и 5-ГИУК становилось симметричным. Примечательно, что на фоне действия фенамина эффекты антагониста орексина проявлялись только на стороне, контралатеральной микроинъекции, причем достоверные изменения показателей серотонинергической системы возникали только в левом гипоталамусе. При введении антагониста орексина в правое ЯЛКП содержание 5-ГТ в левом гипоталамусе повышалось как по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$), так и по сравнению с контрольными животными, получавшими фенамин ($p < 0,05$). **Заключение.** Результаты позволяют предположить, что левый гипоталамус играет ведущую роль в развитии реакции самостимуляции и подтверждают гипотезу о том, что серотонинергическая система вовлечена в механизм блокирующего действия антагониста орексиновых рецепторов на самостимуляцию, активированную фенамином.

◆ **Ключевые слова:** серотонин; антагонисты орексина; SB-408124; ядро ложа конечной полоски; латеральный гипоталамус; реакция самостимуляции.

BLOCKADE OF OREXIN RECEPTORS IN THE BED NUCLEUS OF STRIA TERMINALIS INCREASES SEROTONIN LEVEL ONLY IN THE LEFT HYPOTHALAMUS

© **I.V. Karpova, E.R. Bychkov, A.A. Lebedev, P.D. Shabanov**

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Karpova IV, Bychkov 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. doi: 10.17816/RCF16233-36

Received: 25.04.2018

Accepted: 07.06.2018

◆ **Abstract.** The aim of investigation was to study the role of the hypothalamic serotonergic system in mechanisms of blocking action of the orexin receptor antagonist on amphetamine-induced self-stimulation in rats. **Methods.** 27 male Wistar rats weighing 250-300 g were the object of the investigation. One week before the experiment, the microelectrodes were implanted into the lateral hypothalamus for self-stimulation and microcannulas into the bed nucleus of stria terminalis (BNST) for microinjections. The electrodes were implanted bilaterally and cannulas unilaterally (right or left). Intact rats and rats treated with amphetamine were controls. On the day of the experiment, amphetamine 1 mg/kg i.p. was injected, and then SB-408124 1 µg in 1 µl was administered into the BNST in 10 min. The rats were decapitated in 15 min after microinjection of SB-408124. The level of serotonin (Ser)

nulas into the bed nucleus of stria terminalis (BNST) for microinjections. The electrodes were implanted bilaterally and cannulas unilaterally (right or left). Intact rats and rats treated with amphetamine were controls. On the day of the experiment, amphetamine 1 mg/kg i.p. was injected, and then SB-408124 1 µg in 1 µl was administered into the BNST in 10 min. The rats were decapitated in 15 min after microinjection of SB-408124. The level of serotonin (Ser)

and its metabolite 5-HIAA was determined in the right and the left hypothalamus by HPLC with electrochemical detection. **Results.** In intact rats, the 5-HIAA level in the left hypothalamus was higher than in the right one ($p < 0.05$). After systemic administration of amphetamine the ratio of 5-HIAA/Ser was significantly decreased both in the left ($p < 0.05$) and the right ($p < 0.05$) hypothalamus. The levels of Ser and 5-HIAA stated symmetrical. It is important that effects of orexin antagonist after amphetamine administration appeared only on the side contralateral to microinjection being significantly only in the left hypothalamus. After administration of orexin antagonist into

the right BNST, the level of Ser in the left hypothalamus increased compared both to intact rats ($p < 0.05$) and rats treated with amphetamine ($p < 0.05$). **Conclusion.** The results suggest that the left hypothalamus plays a leading role in developing of self-stimulation reaction and support the hypothesis that the serotonergic system is involved in mechanism of blocking action of orexin receptors antagonist on self-stimulation activated with amphetamine.

◆ **Keywords:** serotonin; orexin antagonists; SB-408124; bed nucleus of stria terminalis; lateral hypothalamus; self-stimulation reaction.

ВВЕДЕНИЕ

Реакция самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс является одной из перспективных моделей для изучения фармакологических препаратов, потенциально способных купировать развитие патологических зависимостей [4].

Известно, что при активации дофаминергической системы фенамином происходит значительное усиление реакции самостимуляции [4]. В наших предыдущих исследованиях показано, что локальное введение препарата SB-408124 в ядро ложа конечной полоски (ЯЛКП) блокирует это поведение [2]. Препарат SB-408124 является избирательным антагонистом орексиновых рецепторов первого типа (OX1R). Имеются указания на то, что в мозге орексиновая и серотониновая системы тесно взаимосвязаны и это взаимодействие играет исключительную роль в механизмах положительного подкрепления [3].

Целью исследования было выяснить, влияет ли введение фенамина на серотонинергическую систему гипоталамуса и какое действие на эту систему оказывает локальная блокада орексиновых рецепторов ЯЛКП.

МЕТОДИКА

Исследование проводили на 27 самцах крыс линии Вистар массой 250–300 г. За неделю до начала экспериментов животным в латеральный гипоталамус вживляли электроды для самостимуляции и в ЯЛКП — канюли для микроинъекций. Электроды для самостимуляции вживляли билатерально, а канюли — унилатерально: пяти крысам — с правой стороны, пяти крысам — с левой. Контролем служили интактные животные ($n = 6$) и крысы, получавшие фенамин (5 неоперированных и 6 ложнооперированных крыс).

Вживление электродов и канюль в мозг крысам проводили под нембуталовым наркозом (50 мг/кг) с использованием стереотаксического прибора фирмы Medicor (Венгрия). В латеральные гипоталамические ядра 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. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе животного. Все электроды коммутировали на микроразъеме, который фиксировали на черепе самотвердеющей пластмассой. Металлические направляющие канюли из нержавеющей стали диаметром 0,2 мм вживляли унилатерально в правое или в левое ЯЛКП по координатам: $AP = 0,5$ мм назад от брегмы, $SD = 1,5$ мм латерально от сагиттального шва, $H = 6,7$ мм от поверхности черепа. 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 [2].

В день эксперимента животным системно вводили фенамин (1 мг/кг, внутривещно), через 10 мин в ЯЛКП локально вводили SB-408124 (1 мкг в 1 мкл на крысу). Через 15 мин после микроинъекции крыс декапитировали.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в левой и правой частях гипоталамуса определяли уровень серотонина (5-ГТ) и его метаболита (5-ГИУК). Анализ проводили на хроматографе Beckman Coulter с электрохимическим детектором, как описано ранее [1]. Результаты для левого и правого гипоталамуса обрабатывали отдельно методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), а различия между левым и правым гипоталамусом оценивали по Т-критерию Стьюдента с использованием стандартного пакета статистических программ GraphPad Prism 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании активности серотонинергической системы на фоне введения фенамина и блокады орексиновых рецепторов были обнаружены досто-

■ Таблица 1. Влияние унилатерального введения SB-408124 (1 мкг в 1 мкл) в ядро ложа конечной полоски на содержание серотонина и его метаболита в гипоталамусе у крыс после системного введения фенамина (1 мг/кг массы)

Группа крыс	5-ГТ (нг/мг ткани)		5-ГИУК (нг/мг ткани)		5-ГИУК/5-ГТ	
	Содержание в гипоталамусе					
	левом	правом	левом	правом	левом	правом
Контроль	0,143 ± 0,018	0,145 ± 0,017	0,334 ± 0,025	0,286 ± 0,028*	2,47 ± 0,27	2,027 ± 0,1287
Фенамин в/бр.	0,147 ± 0,021	0,146 ± 0,015	0,282 ± 0,042	0,256 ± 0,024	1,59 ± 0,21**	1,451 ± 0,1445 [#]
SB-408124 в ипсилатеральное ЯЛКП + фенамин в/бр.	0,152 ± 0,011	0,177 ± 0,016	0,260 ± 0,066	0,308 ± 0,060	1,30 ± 0,15**	1,416 ± 0,2113**
SB-408124 в контралатеральное ЯЛКП + фенамин в/бр.	0,230 ± 0,029 ^{##}	0,199 ± 0,034	0,283 ± 0,057	0,268 ± 0,048	1,25 ± 0,23**	1,104 ± 0,1911 [#]

Примечание: * $p < 0,05$ — по сравнению с левым гипоталамусом у крыс контрольной группы; [#] $p < 0,05$, ^{##} $p < 0,01$ — по сравнению с группой контрольных животных; [§] $p < 0,05$ — по сравнению с группой животных, получавших фенамин; [§] $p < 0,05$ — по сравнению с группой животных, получавших ипсилатеральную микроинъекцию SB-408124; ЯЛКП — ядро ложа конечной полоски

верные различия по показателю метаболизма серотонина (5-ГИУК/5-ГТ) как в левом ($F(3; 23) = 5,049$, $p = 0,008$), так и в правом ($F(3; 22) = 4,591$, $p = 0,012$) гипоталамусе. По содержанию 5-ГТ различия были достоверны только в левом гипоталамусе ($F(3; 20) = 3,128$, $p = 0,049$) (табл. 1).

Попарное сравнение по t -критерию Стьюдента позволило выявить у интактных животных асимметрию серотонинергической системы гипоталамуса. Уровень 5-ГИУК в левом гипоталамусе был выше, чем в правом ($p < 0,05$), аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении содержания самого медиатора ($p = 0,076$), при этом соотношение 5-ГИУК/5-ГТ оставалось симметричным (см. табл. 1).

Системное введение фенамина приводило к исчезновению обнаруженной асимметрии. Под действием фенамина уровни 5-ГТ и 5-ГИУК не изменялись. Однако показатель метаболизма серотонина (соотношение 5-ГИУК/5-ГТ) снижался как в левом ($p < 0,01$), так и в правом ($p < 0,05$) гипоталамусе (см. табл. 1).

Микроинъекции SB-408124 у крыс, получавших фенамин, не влияли на соотношение 5-ГИУК/5-ГТ ни в левом, ни в правом гипоталамусе: оно по-прежнему оставалось сниженным.

Действие антагониста орексина на содержание серотонина в гипоталамусе крыс, получавших фенамин, проявлялось только на стороне, контралатеральной микроинъекции, причем эффекты были достоверны только в левом гипоталамусе. При введении антагониста орексина в правое ЯЛКП содержание 5-ГТ в левом гипоталамусе повышалось как по сравнению с интактными крысами ($p = 0,015$), так и по сравнению с контрольными животными, получавшими фенамин ($p = 0,013$, см. табл. 1). При этом содержание серотонина в левом гипоталамусе после правосторонней (контралатеральной) микроинъекции было выше, чем после левосторонней (ипсилатеральной, $p = 0,044$) (см. табл. 1).

Это свидетельствует в пользу того, что блокирующий эффект антагониста орексина на фенаминовую стимуляцию проявляется за счет межполушарных взаимодействий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты позволяют предположить, что левый гипоталамус играет ведущую роль в развитии реакции самостимуляции, и подтверждают гипотезу о том, что серотонинергическая система вовлечена в механизм блокирующего действия антагониста орексиновых рецепторов на самостимуляцию, активированную фенамином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карпова И.В., Бычков Е.Р., Тиссен И.Ю., и др. Влияние блокатора грелиновых рецепторов [D-Lys3]-GHRP-6 на содержание и обмен моноаминов в симметричных зонах мозга крыс, хронически потреблявших алкоголь // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 3. – С. 48–56. [Karpova IV, Bychkov ER, Tissen IY, et al. The effect of the ghrelin receptors inhibitor [D-Lys3]-GHRP-6 on the levels and metabolism of monoamines in symmetric brain areas of rats treated chronically with alcohol. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(3):48-56. (In Russ.). doi: 10.17816/RCF15348-56.]
2. Лебедев А.А., Шумилов Е.Г., Бычков Е.Р., и др. Роль орексина А в механизмах подкрепления в ядре ложа конечной полоски // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т. 13. – № 2. – С. 20–26. [Lebedev AA, Shumilov EG, Bychkov ER, et al. Orexin A role in mechanisms of reinforcement in the bed nucleus of stria terminalis. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2015;13(2):20-26. (In Russ.)]

3. Bonnavion P, Mickelsen LE, Fujita A, et al. Hubs and spokes of the lateral hypothalamus: cell types, circuits and behaviour. *J Physiol.* 2016;594(22):6443-62. doi: 10.1113/JP271946.
4. Negus SS, Miller LL. Intracranial self-stimulation to evaluate abuse potential of drugs. *Pharmacol Rev.* 2014;66(3):869-917. doi: 10.1124/pr.112.007419.

♦ Информация об авторах

Инесса Владимировна Карпова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. акад. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: inessa.karpova@gmail.com.

Евгений Рудольфович Бычков — канд. мед. наук, заведующий лабораторией отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

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.

Петр Дмитриевич Шабанов — д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

♦ Information about the authors

Inessa V. Karpova — PhD (Physiology), Senior Researcher, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: inessa.karpova@gmail.com.

Eugenii R. Bychkov — PhD (Pathophysiology), Head of the Laboratory, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.

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

Petr D. Shabanov — Dr. Med. Sci., Professor, Head, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.