

РОЛЬ ОРЕКСИНА А В МЕХАНИЗМАХ ПОДКРЕПЛЕНИЯ В ЯДРЕ ЛОЖА КОНЕЧНОЙ ПОЛОСКИ

УДК 616-092.9+612.82

© А. А. Лебедев, Е. Г. Шумилов, Е. Р. Бычков, В. И. Морозов, П. Д. Шабанов

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Ключевые слова:

орексин А; антагонисты орексина; SB-408124; ядро ложа конечной полоски; реакция самостимуляции; расширенная миндалина; подкрепление.

Резюме

В последние годы было показано, что нейропептиды гипоталамуса орексина участвуют в механизмах подкрепления и пищевого поведения. В работе исследовали роль рецепторов орексина А1 (OX1R) ядра ложа конечной полоски (BNST) для реализации механизмов подкрепления и зависимости от психостимуляторов (на примере фенамина) у крыс. В латеральное ядро гипоталамуса крысам самцам Вистар вживляли электроды, канюли вживляли в боковой желудочек или в BNST. Впоследствии крыс обучали нажимать на педаль в камере Скиннера для получения электрического раздражения мозга в фиксированном режиме подкрепления. SB-408124 1 мкг/мкл вводили в течение 1 мин в BNST или 5 мкг/5 мкл в течение 1 мин в левый желудочек мозга. Фенамин (1 мг/кг в/бр) на 49% повышал частоту и на 20% снижал порог реакции самостимуляции латерального гипоталамуса. Антагонист рецепторов орексина А SB-408124 не изменял параметры реакции самостимуляции как при введении в желудочек мозга, так и при введении в BNST. В то же время SB-408124 при введении в BNST полностью блокировал вызванное фенамином повышение частоты и снижение порога самостимуляции латерального гипоталамуса. SB-408124 при введении в желудочек мозга также вдвое снижал показатели реакции самостимуляции, активируемой фенамином. Результаты настоящих исследований обсуждаются с точки зрения нейрохимических механизмов BNST, структуры расширенной миндалины (extended amygdala), вовлечения экстрагипоталамической системы кортиколиберина. В этой связи антагонисты орексина А, по-видимому, могут рассматриваться как перспективные вещества биологической профилактики злоупотребления психостимуляторами.

ВВЕДЕНИЕ

Посылкой для выполнения настоящей работы послужили данные о возможном вовлечении рецепторов орексина А (OX1R), локализованных в ядре ложа конечной полоски (BNST), в механизмы подкрепления и зависимости от психостимуляторов на примере фенамина. BNST принадлежит координирующая роль в формировании эмоциональных, обусловленных стрессом реакций, ведущую роль

в запуске которых играют нейромедиаторы дофамин и глутамат, а также ряд нейроактивных пептидов (CRF, орексина, грелин, нейрокинины и др.) [2, 4, 17, 18]. Исследованиями последних лет доказана высокая плотность OX1R в BNST [19]. В настоящее время стало очевидным, что нейропептиды гипоталамуса орексина (наряду с другими нейропептидами) участвуют в механизмах подкрепления и пищевого поведения. Показано также участие орексинов в механизмах пробуждения (arousal) и поддержания уровня бодрствования [12]. Нейропептиды головного мозга орексин А и орексин В (или гипокретин-1 и гипокретин-2, соответственно) образуются исключительно в гипоталамусе и действуют по типу нейромедиаторов на два связанных с G-белком рецептора, получивших название рецепторов орексина 1-го и 2-го типов (OX1R и OX2R) [20]. При этом найдено, что механизмы пробуждения и регуляции уровня бодрствования в большей степени связаны с активацией OX2R, в то время как регуляция системы положительного подкрепления — с активацией OX1R [9, 10, 26]. Это предполагает возможность разработки фармакологических средств, избирательно вовлекающих OX1R или OX2R подтипы рецепторов орексинов, для лечения аддикции и расстройств сна, соответственно [17].

Ранее [24] была показана тормозная роль антагонистов OX1R в эффектах поведенческой сенситизации, условной реакции предпочтения места и реакции самовведения психостимуляторов. Авторы делают вывод, что орексин может усиливать работу нейронов вентральной области покрышки в ответ на подкрепляющие стимулы среды. По-видимому, орексина увеличивают побудительные мотивационные свойства отмеченных стимулов и усиливают мотивацию в отношении их поиска [29]. В настоящей работе мы исследовали действие антагониста рецепторов орексина А SB-408124 при локальном введении в ядро ложа конечной полоски на вызванную фенамином активацию реакции самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Опыты выполнены на 46 крысах самцах Вистар массой 200–250 г, полученных из питомника Рапполово РАМН (Ленинградская область). Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках в условиях вивария при свободном доступе

к воде и пище в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре 22 ± 2 °С. Все опыты проведены в осенне-зимний период.

Операции. Вживление электродов 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 0,25–0,3 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 атласу К. Кёнига и А. Клиппеля [19]. Канюли из нержавеющей стали диаметром 0,25 мм вживляли униполярно в левое ядро ложа конечной полоски одновременно с гипоталамическими электродами по следующим координатам: AP=0,5 мм назад от брегмы, SD=1,5 мм латерально от сагиттального шва, H=6,7 мм от поверхности черепа [19]. Животным других групп вживляли униполярно канюли в левый боковой желудочек одновременно с гипоталамическими электродами по следующим координатам: AP=0,9 мм назад от брегмы, SD=1,4 мм латерально от сагиттального шва, H=3,5 мм от поверхности черепа [19]. Канюли фиксировали на черепе животного самотвердеющей пластмассой и после операции закрывали специальным колпачком, который временно снимали для введения веществ в структуру мозга.

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.

Процедура. 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 режим). Для повторного раздражения животное было вынуждено вновь нажимать на педаль. Анализировали частоту самостимуляции. Фармакологические препараты вводили на 3-й день эксперимента после стабилизации реакции при использовании фиксированного значения силы тока. Регистрировали число нажатий на педаль в течение 10 мин эксперимента, затем производили внутривенную микроинъекцию препарата и через 15–20 мин повторно регистрировали число нажатий на педаль за 10-минутный интервал времени. В дополнительных сериях экспериментов исследовали порог возникновения реакций нажа-

тия на педаль. После определения значений силы тока, когда наблюдаются первые изменения в поведении животного, производили ступенчатое повышение тока с шагом в 5 мкА. В камере Скиннера подавали ток в навязанном режиме (серии прямоугольных импульсов отрицательной полярности, длительностью 1 мс, с частотой 100 Гц, в течение 0,4 с, интервалы между сериями импульсов 0,5 с) нарастающими порциями (priming stimulation) с интервалом 30 с длительностью по 5 с до появления стойких нажатий педали. Процедуру поиска пороговых значений силы тока повторяли 2 раза. Затем повышали силу тока на 10% от пороговых значений, когда наблюдали выраженную реакцию самостимуляции, и снижали ток порциями с (шаг 5 мкА длительностью 30 с) до появления отказа от нажатий педали. Процедуру поиска пороговых значений силы тока также повторяли 2 раза. При совпадении значений силы тока, полученных с использованием нарастающего и снижающего режимов, его считали порогом реакции самостимуляции. Затем производили внутривенную микроинъекцию препарата, и через 15–20 мин повторно производили поиск порога реакции самостимуляции.

Фармакологические агенты. Для фармакологического анализа использовали психомоторный стимулятор фенамин (1 мг/кг), который вводили внутривенно за 30 мин до тестирования реакции самостимуляции (после определения фоновых ее значений). Антагонист рецепторов орексина А (OX1R) SB-408124 1 мкг (Sigma, США), разведенный в диметилсульфоксиде (ДМСО), вводили внутривенно в ядро ложа конечной полоски через вживленную в эту мозговую структуру канюлю. SB-408124 1 мкг вводили в объеме 1 мкл с помощью микроинъектора СМА-100 (Швеция) в течение 30 с за 15–20 мин до тестирования после определения исходных значений самораздражения латерального гипоталамуса. Учитывая хронический характер эксперимента (продолжительность опыта в среднем 30–40 дней для каждой крысы), фармакологические агенты вводили через канюли каждому животному повторно с интервалом не менее 5 дней между введениями таким образом, что одна прооперированная крыса получала одно и то же фармакологическое вещество 3–4 раза. Каждый раз перед введением вещества определяли фоновые значения реакции самостимуляции, которые квалифицировали как контрольные значения для данного опыта. Учитывали общее число опытов (их было 10–12 для каждого вещества), а не только число исследованных животных. Такой принцип введения веществ повсеместно распространен для подобного рода исследований [18–21].

Статистика. Выборка для каждого вещества составила не менее 10–12 опытов. Для статистической обработки полученных количественных данных и построения графиков применяли пакеты программ Graph Pad 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 Вилкоксона для парных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования показали, что при системном введении фенамин (1 мг/кг, в/бр) на 49% повышал частоту и на 20% снижал порог реакции самостимуляции латерального гипоталамуса. Орексин и его антагонист SB-408124 достоверно не меняли параметров реакции самостимуляции у крыс как при введении в желудочек мозга, так и при введении в BNST (табл. 1). В то же время антагонист рецепторов орексина SB-408124 при введении в BNST полностью блокировал вызванное фенамином повышение частоты реакции самостимуляции латерального гипоталамуса ($p < 0,05$). При этом наблюдали умеренное повышение порога самостимуляции латерального гипоталамуса на 19% (табл. 2). SB-408124 при введении в боковой желудочек мозга достоверно снижал показатели реакции самостимуляции, активируемой фенамином (с 32 до 12%, $p < 0,05$). При этом наблюдали некоторое повышение порога самости-

муляции латерального гипоталамуса, по сравнению со сниженными значениями после введения фенамина, с –18 до –13% (табл. 3). Полученные данные указывают на существенный вклад семейства орексинов, относящихся к нейропептидам гипоталамуса, в подкрепляющих свойствах психостимуляторов на примере фенамина.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, в настоящей работе продемонстрировано блокирующее действие антагониста рецепторов орексина A SB-408124 на вызванную фенамином активацию самостимуляции латерального гипоталамуса. При этом SB-408124 существенно не менял спонтанную самостимуляцию латерального гипоталамуса как при введении в BNST, так и при введении в боковой желудочек. Это согласуется с рядом исследований действия орексина и его антагонистов на подкрепляющие свойства психостимуляторов. В частности, показано, что центральные введения орексина вызывают ряд эффектов при использовании экспериментальных моделей аддиктивного поведения [22]. Так, орексин принимает участие в развитии локомоторной сенситизации и экспрессии условной реакции предпочтения места кокаина. Орексин также вызывает активацию ре-

■ Таблица 1. Действие орексина и антагониста рецепторов орексина A SB-408124 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
Орексин А в BNST 1 мкг	101 ± 14 (100%)	83 ± 12* (81%)	59 ± 16 (100%)	56 ± 8 (95%)
Орексин А в/ж 5 мкг	134 ± 20 (100%)	127 ± 24 (96%)	65 ± 12 (100%)	70 ± 8 (108%)
SB-408124 в/ж 5 мкг	139 ± 29 (100%)	139 ± 21 (103%)	108 ± 16 (100%)	105 ± 11 (99%)
SB-408124 в/ж 5 мкг + орексин А в/ж 5 мкг	137 ± 19 (100%)	138 ± 24 (101%)	124 ± 12 (100%)	126 ± 20 (102%)
SB-408124 в BNST 1 мкг	97 ± 13 (100%)	101 ± 17 (106%)	59 ± 4 (100%)	52 ± 6 (93%)
SB-408124 в BNST 1 мкг + орексин А в BNST 1 мкг	81 ± 13 (100%)	74 ± 5 (90%)	57 ± 6 (100%)	53 ± 10 (93%)

* — $p < 0,05$ в сравнении с фоновыми показателями до введения вещества. BNST — ядро ложа конечной полоски (от англ.: bed nucleus of stria terminalis), в/ж — введение в боковой желудочек мозга

■ Таблица 2. Действие фенамина и антагониста рецепторов орексина A SB-408124 при введении в BNST 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	144 ± 22 (100%)	216 ± 20* (149%)	143,2 ± 24,4 (100%)	115,0 ± 29,4* (80,4%)
Орексин А в BNST 1 мкг	100 ± 18 (100%)	83 ± 17 (83%)	59 ± 16% (100%)	56 ± 8% (95%)
SB-408124 в BNST 1 мкг	97 ± 13 (100%)	101 ± 17 (106%)	59 ± 4 (100%)	52 ± 6,4 (93%)
SB-408124 в BNST 1 мкг + Фенамин 1 мг/кг в/бр	96,7 ± 8,57 (100%)	75,7 ± 7,70 (78,6%)	38,3 ± 7,31 (100%)	45,4 ± 7,76 (119%)

* — $p < 0,05$ в сравнении с фоновыми показателями до введения вещества

■ Таблица 3. Действие антагониста рецепторов орексина А SB-408124 при введении в желудочки мозга 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	144±22 (100%)	216±20* (149%)	143,2±24,4 (100%)	115,0±29,4* (80,4%)
Орексин А в/ж 5 мкг	134±20 (100%)	127±24 (96%)	65±12% (100%)	70±8% (108%)
SB-408124 в/ж 5 мкг	139±29 (100%)	138±21 (99%)	108±16 100%	105±11 (99%)
SB-408124 в/ж 5 мкг + Фенамин 1 мг/кг в/бр	139,9±9,5 (100%)	157±19,1* (112%)	118,8±21,5 (100%)	102,6±10,5 (87%)

* — $p < 0,05$ в сравнении с фоновыми показателями до введения вещества

акции самовведения кокаина, если она наблюдается на фоне высокой мотивации (например, голода) или вовлекает стрессорные стимулы среды. Напротив, орексин не действует на реакцию самовведения кокаина в отсутствие этих стимулов. Сделан вывод, что орексин может специфично инициировать тягу к психостимуляторам, но не влиять на их способность вызывать положительные подкрепляющие эффекты [22].

В настоящих исследованиях мы использовали фенамин для исследования роли орексина А и его рецепторов OX1R в BNST для реализации механизмов подкрепления и зависимости от психостимуляторов. Важно отметить, что BNST принадлежит важная роль в формировании реакций на стрессорные стимулы, и в пределах этой структуры мозга отмечена большая плотность рецепторов OX1R [2, 20, 22]. BNST относится к структурам расширенной миндалины (extended amygdala), которые во многом обеспечивают эмоционально-мотивационные эффекты наркотиков. Система расширенной миндалины помимо орексина содержит большое количество рецепторов кортиколиберина (CRF). Она рассматривается как основа экстрагипоталамической системы CRF, влияя на стресс-зависимое поведение, инициируя эмоционально-мотивированные ответы и опосредуя его анксиогенные эффекты [20]. Поэтому можно ожидать, что введение орексина и его антагонистов в BNST может направленно влиять на стресс-зависимые механизмы центрального действия психостимуляторов.

Результатом настоящих исследований стало выявление факта, что локальное введение антагониста рецепторов орексина А SB-408124 в BNST снижает стимулируемые фенамином подкрепляющие свойства мозга без его существенного влияния на спонтанную самостимуляцию латерального гипоталамуса. Последнее согласуется с рядом исследований по изучению действия антагонистов рецепторов орексина на подкрепляющие свойства психостимуляторов на моделях самостимуляции и самовведения. В частности, было показано, что орексин может быть вовлечен в поиск подкрепляющего агента под воздействием стимулов окружающей среды, свя-

занных со стрессом [14]. Системное введение антагониста рецепторов А SB-334867 блокировало восстановление реакции самостимуляции мозга после процедуры наказания электростимуляцией по лапам у животного, при этом внутрижелудочковое введение орексина увеличивало порог самостимуляции мозга [12]. В этих условиях, в противоположность SB-334867, внутрижелудочковое введение орексина восстанавливало тягу к кокаину, а системное введение антагонистов CRF или норадреналина блокировало этот эффект [12]. По-видимому, внутримозговой мишенью действия этих стресс-подобных эффектов не является вентральная область покрышки, дающая начало мезолимбической дофаминергической системе, поскольку восстановление тяги к кокаину после введения орексина в данную структуру не блокировалось введением антагониста CRF [30].

Орексин также вовлекается и в формирование мотивации к аддиктивному средству в случае, когда для достижения подкрепления требуется большое число попыток (то есть, в режиме вероятностного подкрепления) [18]. Показано, что системные или внутривнутривентрикулярные введения антагониста рецепторов орексина А SB-334867 не действовали на самовведение кокаина в режиме фиксированного подкрепления (FR1), когда подкрепляется каждое нажатие педали [26]. Введение орексина в вентральную покрышку или желудочки мозга также не сопровождалось изменением самовведения кокаина в режиме FR1 [12, 14]. Предварительное введение кокаина также не приводило к изменению реакции самовведения как при системном введении SB-334867, так и при его введении в вентральную область покрышки [22]. Кроме того, системное введение SB-334867 не влияло на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса и на эффекты снижения порога самостимуляции после введения кокаина у мышей [25]. Считают, что орексин в большей степени вовлечён в формировании мотивации достижения стимулирующих аддиктивных средств во время самостимуляции. Так, системное введение SB-334867 или его введение в вентральную область покрышки снижало подкрепляющие свойства кокаина в условиях про-

грессивного режима подкрепления, когда число нажатий педали за одно подкрепление током постоянно росло через определенные промежутки времени [11, 14]. Напротив, введение орексина в вентральную область покрышки вызывало противоположный эффект [15]. Введение SB-334867 в вентральную область покрышки снижало, а введение орексина, напротив, увеличивало самовведение кокаина, когда животные имели непрерывный, в течение суток, доступ к педали в режиме обучения при подаче трех 10-минутных периодов в час, когда подавалась только одно введение вещества за период доступа [14, 15]. Эти данные указывают на преимущественное действие орексина на мотивационные компоненты подкрепления. Однако авторы не исключают влияния на эти явления циркадианных, или суточных ритмов [16].

Таким образом, орексин может модулировать оценку стресса и вероятность достижения положительного подкрепления. В настоящей работе показана мишень действия орексина, каковой является BNST, структура системы расширенной миндалины. Введение орексина и его антагониста в данную структуру может направленно влиять на стресс-зависимые механизмы центрального действия психостимуляторов. В связи с этим антагонисты орексина могут рассматриваться как возможные перспективные средства профилактики и лечения вызванных стрессом и окружающими стимулами среды приема аддиктивных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев А. А., Шабанов П. Д. Сопоставление реакции самостимуляции и условного предпочтения места при введении фенамина у крыс. Журн. высш. нервн. деят. 1992; 42 (4): 692–8.
2. Лебедев А. А., Любимов А. В., Шабанов П. Д. Механизмы срыва, или возобновления потребления психоактивных средств. Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. 2011; 9 (4): 3–17.
3. Шабанов П. Д. Психофармакология. СПб.: Н-Л, 2008. 384 с.
4. Шабанов П. Д., Лебедев А. А. Угнетение самостимуляции латерального гипоталамуса опиатами и опиоидами, вводимыми в центральное ядро миндалины у крыс. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2011; 97 (2): 180–8.
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. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2011; 97 (8): 804–13.
6. Шабанов П. Д., Лебедев А. А. Нейрохимические механизмы прилежащего ядра, реализующие подкрепляющие эффекты самостимуляции латерального гипоталамуса. Мед. акад. журн. 2012; 12 (2): 68–76.
7. Шабанов П. Д., Лебедев А. А., Мещеров Ш. К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. СПб.: Лань, 2002, 208 с.
8. Шабанов П. Д., Лебедев А. А., Стрельцов В. Ф. Гормональные механизмы подкрепления. СПб.: Н-Л, 2008, 278 с.
9. Akanmu M. A., Honda K. Selective stimulation of orexin receptor type 2 promotes wakefulness in freely behaving rats. Brain Res. 2005; 1048: 138–45.
10. Aston-Jones G., Smith R. J., Sartor H. et al. Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction. Brain Res. 2010; 1314: 74–90.
11. Borgland S. L., Chang S. J., Bowers M. S. et al. OrexinA/hypocretin-1 selectively promotes motivation for positive reinforcers. J. Neurosci. 2009; 29: 11215–25.
12. Boutrel B., de Lecea L. Addiction and arousal: The hypocretin connection. Physiol. Behav. 2008; 93: 947–51.
13. De Lecea L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. Prog. Brain Res. 2012; 198: 234–48.
14. Espana R. A., Oleson E. B., Locke J. L. et al. The hypocretin-orexin system regulates cocaine self-administration via actions on the mesolimbic dopamine system. Eur. J. Neurosci. 2010; 31: 336–48.
15. Espana R. A., Melchior J. R., Roberts D. C., Jones S. R. Hypocretin 1/orexin A in the ventral tegmental area enhances dopamine responses to cocaine and promotes cocaine self-administration. Psychopharmacol. 2011; 214: 415–26.
16. Estabrooke I. V., McCarthy M. T., Ko E. C. et al. Fos expression in orexin neurons varies with behavioral state. J. Neurosci. 2011; 21: 1656–62.
17. Gotter A. L., Roecker A. J., Hargreaves R. et al. Orexin receptors as therapeutic drug targets. Prog. Brain Res. 2012; 198: 48–56.
18. Hutcheson D. M., Quarta D., Halbout B. et al. Orexin-1 receptor antagonist SB-334867 reduces the acquisition and expression of cocaine-conditioned reinforcement and the expression of amphetamine-conditioned reward. Behav. Pharmacol. 2011; 22: 173–181.
19. König K. P., Klippel A. A. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore, 1963. 214 p.
20. Koob G. F. Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, anti-reward, and emotional memory. Pharmacopsychiatry. 2009; 42 (Suppl. 1): S32–S41.
21. Lebedev A. A., Bychkov E. R., Shabanov P. D. Orexin A receptor antagonist SB-408124 attenuates the effect of amphetamine on the brain reward system. Eur. Neuropsychopharmacol. 2013; 23 (Suppl. 2): S244.
22. Mahler S. V., Smith R. J., Moorman D. E. et al. Multiple roles for orexin/hypocretin in addiction. Progr. Brain Res. 2012; 198: 76–121.
23. Mieda M., Sakurai T. Overview of orexin/hypocretin system. Progr. Brain Res. 2012; 198: 234–45.
24. Morgan H. J., Jiann W. Y., Brett A. G., Dayas C. V. Insights for developing pharmacological treatments for psychostimulant relapse targeting hypothalamic peptide systems. J. Addict. Res. Ther. 2012; S.4: 2–13.
25. Riday T. T., Fish E. W., Robinson J. E. Orexin-1 receptor antagonism does not reduce the rewarding potency of cocaine in Swiss-Webster mice. Brain Res. 2011; 1431: 53–61.
26. Smith R. J., Aston-Jones G. Orexin/hypocretin 1 receptor antagonist reduces heroin self-administration and cue-induced heroin seeking. Eur. J. Neurosci. 2012; 35: 798–804.
27. Shabanov P. D., Lebedev A. A. Involvement of GABA and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of the stria terminalis in the reinforcing effects of psychotropic substances mediated via the lateral hypothalamus. Neurosci. Behav. Physiol. 2013; 43 (4): 485–91.
28. Shabanov P. D., Lebedev A. A., Bychkov E. R. Influences of intrauterine ethanol on the maturation of the monoaminergic systems in the developing rat brain. Neurosci. Behav. Physiol. 2013; 43 (8): 951–6.
29. Winrow C. J., Tanis K. Q., Reiss D. R. et al. Orexin receptor antagonism prevents transcriptional and behavioral plasticity resulting from stimulant exposure. Neuropharmacol. 2010; 58: 185–94.
30. Wang B., You Z. B., Wise R. A. Reinstatement of cocaine seeking by hypocretin (orexin) in the ventral tegmental area: Independence from the local corticotropin releasing factor network. Biol. Psychiatry. 2009; 65: 857–62.

OREXIN A ROLE IN MECHANISMS OF REINFORCEMENT IN THE BED NUCLEUS OF STRIA TERMINALIS

A. A. Lebedev, E. G. Shumilov, E. R. Bychkov, V. I. Morozov, P. D. Shabanov

◆ **Summary:** The orexin family of hypothalamic neuropeptides has been implicated in reinforcement mechanisms relevant to both food and drug reward. Previous behavioral studies with antagonists at the orexin A-selective receptor OX(1), have demonstrated its involvement in behavioral sensitization, conditioned place-preference, self-administration and reinstatement of drugs abuse. There are dense concentrations of hypocretin receptors, in brain regions implicated in drug reinforcement processes, such as the nucleus accumbens, ventral tegmental area and bed nucleus of the stria terminalis. Adult male Wistar rats were implanted the stimulating electrodes to the lateral hypothalamus. Simultaneously, the microcannules were implanted into the BNST to inject the OX(1) receptor antagonist. Rats were trained to perform intracranial self-stimulation. The effects of the OX(1)-selective antagonist SB-408124 on brain stimulation-reward (BSR) were measured. SB-408124 injected into the BNST (1 μg/1 μl in volume for each injection.) alone had no effect on self-stimulation of lateral hypothalamus. Amphetamine (1 mg/kg i.p.) potentiated BSR, measured as lowering of BSR threshold and enhancing of BSR frequency. Amphetamine-induced stimulatory effects on intracranial self-stimulation was blocked by injections of SB-408124 into BNST. These data demonstrate that OX(1) play an important role in regulating the reinforcing and reward-enhancing properties of amphetamine and suggest that orexin transmission is likely essential for establishing and maintaining the amphetamine habit in human addicts. However, the observations that OX1 antagonism reduce brain reward and block stress- and cue-induced reinstatement of drug-seeking suggests that this class of compounds may be useful additions to stress-reduction and other behavioral therapies in the treatment of substance abuse disorders.

◆ **Key words:** orexin A; orexin antagonists; SB-408124; bed nucleus of stria terminalis; self-stimulation reaction; extended amygdala; reinforcement.

REFERENCES

1. Lebedev A.A., Shabanov P.D. Sopostavlenie reaktsii samostimulyatsii i uslovnogo predpochteniya mesta pri vvedenii fenamina u kryz [A comparison of the self-stimulation reaction and conditioned place preference after administration of amphetamine in rats]. Zh. Vyss. Nerv. Deiat. Im I. P. Pavlova. 1992; 42 (4): 692–8. (in Russian).
2. Lebedev A.A., Liubimov A.V., Shabanov P.D. Mekhanizmy sryva, ili vozobnovleniya potrebleniya psikoaktivnykh sredstv [The mechanisms of reinstatement of drug abuse or craving of psychotropic drugs]. Obzori po klin. farmakologii i lekarstvennoi terapii. 2011; 9 (4): 3–17. (in Russian).
3. Shabanov P.D. Psikhofarmakologiya [Psychopharmacology]. SPb.: N-L, 2008. 384 p. (in Russian).
4. Shabanov P.D., Lebedev A.A. Ugnetenie samostimulyatsii lateral'nogo gipotalamusa opiatami i opioidami, vvodimymi v tsentral'noe yadro mindaliny u kryz [The extended amygdala system and self-stimulation of the lateral hypothalamus in rats: modulation with opiates and opioids. Ross]. Fiziol. Zh. Im I. M. Sechenova. 2011; 97 (2): 180–188. (in Russian).
5. Shabanov P.D., Lebedev A.A. Uchastie GAMK- i dofaminergicheskikh mekhanizmov yadra lozha konechnoy poloski v podkrepyayushchikh effektakh psikhotropnykh sredstv, realizuemykh cherez lateral'nyy gipotalamus [Participation of GABA- and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of stria terminalis in reinforcing effects of psychotropic drugs mediated via the lateral hypothalamus]. Ross. Fiziol. Zh. Im. I. M. Sechenova. 2011; 97 (8): 804–13. (in Russian).
6. Shabanov P.D., Lebedev A.A. Neyrokhimicheskie mekhanizmy prilozhashchego yadra, realizuyushchie podkrepyayushchie efekty samostimulyatsii lateral'nogo gipotalamusa [Neurochemical mechanisms of nucleus accumbens include into the reinforcing effects of self-stimulation of the lateral hypothalamus]. Med. Acad. Journ. 2012; 12 (2): 68–76. (in Russian).
7. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Mesharov Sh.K. Dofamin i podkrepyayushchie sistemy mozga [Dopamine and reinforcing systems of the brain]. SPb.: Lan, 2002. 208 p. (in Russian).
8. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Streltsov V.F. Gormonal'nye mekhanizmy podkrepleniya [The hormonal mechanisms of reinforcement]. SPb. N-L, 2008. 278 p. (in Russian).
9. Akanmu M.A., Honda K. Selective stimulation of orexin receptor type 2 promotes wakefulness in freely behaving rats. Brain Res. 2005; 1048: 138–45.
10. Aston-Jones G., Smith R.J., Sartor H. et al. Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction. Brain Res. 2010; 1314: 74–90.
11. Borgland S.L., Chang S.J., Bowers M.S. et al. OrexinA/hypocretin-1 selectively promotes motivation for positive reinforcers. J. Neurosci. 2009; 29: 11215–25.
12. Boutrel B., de Lecea L. Addiction and arousal: The hypocretin connection. Physiol. Behav. 2008; 93: 947–51.
13. De Lecea L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. Prog. Brain Res. 2012; 198: 234–48.
14. Espana R.A., Oleson E.B., Locke J.L. et al. The hypocretin-orexin system regulates cocaine self-administration via actions on the mesolimbic dopamine system. Eur. J. Neurosci. 2010; 31: 336–48.
15. Espana R.A., Melchior J.R., Roberts D.C., Jones S.R. Hypocretin 1/orexin A in the ventral tegmental area enhances dopamine responses to cocaine and promotes cocaine self-administration. Psychopharmacol. 2011; 214: 415–26.
16. Estabrooke I.V., McCarthy M.T., Ko E.C. et al. Fos expression in orexin neurons varies with behavioral state. J. Neuroscience. 2011; 21: 1656–62.
17. Gotter A.L., Roecker A.J., Hargreaves R. et al. Orexin receptors as therapeutic drug targets. Prog. Brain Res. 2012; 198: 48–56.
18. Hutcheson D.M., Quarta D., Halbout B. et al. Orexin-1 receptor antagonist SB-334867 reduces the acquisition and expression of cocaine-conditioned reinforcement and the expression of amphetamine-conditioned reward. Behav. Pharmacol. 2011; 22: 173–181.
19. König K.P., Klippel A.A. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore, 1963. 214 p.
20. Koob G.F. Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, antireward, and emotional memory. Pharmacopsychiatry. 2009; 42 (Suppl. 1): S32–S41.
21. Lebedev A.A., Bychkov E.R., Shabanov P.D. Orexin A receptor antagonist SB-408124 attenuates the effect of amphetamine on the brain reward system. Eur. Neuropsychopharmacol. 2013; 23 (Suppl. 2): S244.
22. Mahler S.V., Smith R.J., Moorman D.E. et al. Multiple roles for orexin/hypocretin in addiction. Progr. Brain Res. 2012; 198: 76–121.
23. Mieda M., Sakurai T. Overview of orexin/hypocretin system. Progr. Brain Res. 2012; 198: 234–45.
24. Morgan H.J., Jiann W.Y., Brett A.G., Dayas C.V. Insights for developing pharmacological treatments for psychostimulant relapse targeting hypothalamic peptide systems. J. Addict. Res. Ther. 2012; S.4: 2–13.

25. Riday T.T., Fish E.W., Robinson J.E. Orexin-1 receptor antagonism does not reduce the rewarding potency of cocaine in Swiss-Webster mice. *Brain Res.* 2011; 1431: 53–61.
26. Smith R.J., Aston-Jones G. Orexin/hypocretin 1receptor antagonist reduces heroin self-administration andcue-induced heroin seeking. *Eur. J. Neurosci.* 2012; 35: 798–804.
27. Shabanov P.D., Lebedev A.A. Involvement of GABA and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of the stria terminalis in the reinforcing effects of psychotropic substances mediated via the lateral hypothalamus. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2013; 43 (4): 485–91.
28. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Bychkov E. R. Influences of intrauterine ethanol on the maturation of the monoaminergic systems in the developing rat brain. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2013; 43 (8): 951–6.
29. Winrow C.J., Tanis K.Q., Reiss D.R. et al. Orexin receptorantagonism prevents transcriptional and behavioral plasticity resulting from stimulant exposure. *Neuropharmacol.* 2010; 58: 185–94.
30. Wang B., You Z.B., Wise R.A. Reinstatement of cocaine seeking by hypocretin (orexin) in the ventral tegmental area: Independence from the local corticotropin releasing factor network. *Biol. Psychiatry.* 2009; 65: 857–62.

◆ Информация об авторах

Лебедев Андрей Андреевич — д.биол.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Шумилов Евгений Григорьевич — аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12.

Бычков Евгений Рудольфович — к.м.н., старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: bychkov@mail.ru.

Морозов Виталий Иванович — к.м.н., докторант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12.

Шабанов Петр Дмитриевич — д.м.н., профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Lebedev Andrei Andreevich — Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Professor, Leading Researcher, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Shumilov Eugeny Grigorievich — Post-Graduate Student, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia.

Bychkov Eugeny Rudolfovich — PhD (Biochemistry), Senior Researcher, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.

Morozov Vitaly Ivanovich — PhD (Therapy), Post-Doc Fellow, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia.

Shabanov Petr Dmitriyevich — Doct. of Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.