

И.П. Буткевич, В.А. Михайленко, Б.В. Крылов,  
В.Н. Казаков, Т.И. Панова, В.А. Отеллин

## Влияние модулятора передачи сигналов от опиоидного рецептора к натриевым каналам на самостимуляцию гипоталамуса

*На самцах крыс линии Вистар исследовано действие разных доз нового препарата – коленовой кислоты, модулятора передачи сигналов от опиоидного рецептора к медленным натриевым каналам, на систему положительного подкрепления гипоталамуса. Обнаружено, что исследуемый препарат пропорционально дозе вызывает угнетение реакции самостимуляции (СС) латерального гипоталамуса. Наиболее ярко эффект воздействия наблюдался в дозе 28,8 – 30 мг/кг и проявился в уменьшении числа нажатий на рычаг при пороговой для реакции СС силе тока или в повышении порога реакции СС и полном ее прекращении. Такой же подавляющий эффект исследуемого препарата на СС был получен нами при повторных его инъекциях. Таким образом, установлено, что фармакологический препарат коленовой кислоты не вызывает активации системы положительного подкрепления латерального гипоталамуса и реакции привыкания к нему.*

### ВВЕДЕНИЕ

Открытие мозговой системы положительного подкрепления или системы «наград» [17] предоставило ученым возможность измерять интенсивность положительных внутренних состояний животных с помощью объективных количественных показателей. Латеральный гипоталамус, участвующий в естественной регуляции положительных эмоциональных состояний, наиболее часто используют в экспериментах в качестве структуры, стимуляция которой вызывает у животных самостоятельные нажатия на рычаг для получения позитивного подкрепляющего эффекта, то есть реакцию самостимуляции (СС) [1,4,9,16,20,24]. Реакция СС структур мозга, входящих в систему положительного подкрепления, является признанной моделью для экспериментальной оценки позитивного эмоционального поведения у

животных [2,12,15,17,22,25,26]. Показатели реакции СС, в частности число нажатий на рычаг за определенный период времени, характеризует интенсивность эффекта «наград» [5,23]. На этой модели исследовано действие разных по природе фармакологических препаратов, влияющих на эмоциональное поведение [10,11,13,14,18,19]. Обнаружено, что общим свойством препаратов, вызывающих лекарственную зависимость, является интенсификация реакции СС [3].

Ранее нами описано, что новый препарат – коленовая кислота – способен купировать проявления абстинентного синдрома у морфий-зависимых крыс [6]. Целесообразность дальнейших испытаний этого вещества может быть оправдана только в том случае, если оно не вызывает патологической зависимости, как это наблюдается по отношению ко всем известным сегодня «лёгким заменителям» нар-

котиков, применяющимся для купирования тяжёлых проявлений абстинентного синдрома на стадии отмены наркотика [8]. Предполагается, что механизм действия коеновой кислоты на мембрану клетки отличается от механизма действия опиоидов. Допускают, что коеновая кислота является модулятором передачи сигналов от опиоидного рецептора к натриевым каналам [7].

Цель настоящей работы состояла в исследовании влияния коеновой кислоты на интенсивность реакции СС латерального гипоталамуса.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на 13 крысах-самцах линии Вистар с соблюдением правил Хельсинской конвенции. Животных, масса которых составляла 150 – 250 г, под наркозом (кетамин, 0,3 мг/100 г и нембутал, 3 мг/100 г) помещали в стереотаксический прибор. При соблюдении стерильных условий в область латерального гипоталамуса (А = 1,5 мм, L = 1,5 мм, Н = 8,5 мм), согласно координатам атласа мозга крысы [21], были вживлены биполярные концентрические электроды. Предварительно с черепа тщательно соскабливали надкостницу, высушивали ее 5%-м раствором пергидроля и делали насечки на черепе для дополнительного крепежа электрода. Каждый электрод состоял из инъекционной иглы диаметром 0,8 мм (индифферентный электрод), через которую был пропущен нихромовый провод сечением 0,2 мм в лаковой изоляции, покрытый дополнительно эпоксидным клеем (активный электрод). Кончик нихромовой проволоки выходил за пределы инъекционной иглы на 0,8 – 1,0 мм. Весь электрод покрывали дихлорэтановым клеем. Кончики активного и индифферентного электродов зачищали от изоляции в пределах 0,6 – 0,8 мм.

Через 5 – 7 сут после операции крыс помещали в экспериментальную камеру (40x40x60 см) с рычагом, нажатие на который замыкало цепь тока и подачу на электрод со стимулятора ЭСУ-1 на 0,5 с пачки импульсов (длительность импульса 0,5 мс, частота следования 100 Гц, сила тока 90 – 300 мкА, у одной крысы – 500 мкА). Выработка стабильного навыка реакции СС занимала 2 – 3 сут. Силу тока, вызывающую стабильную частоту нажатий на рычаг, условно принимали за пороговую. Регистрировали количество нажатий за 10 мин. Реакцию СС тестировали при введении трех доз препарата коеновой кислоты (1, 10 и 30 мг/кг внутривенно). Препарат разводили в 1,5 мл раствора Хенкса при рН 7,0 – 7,4. Контрольным животным (3 крысы) вводили раствор Хенкса в том же объеме. Частоту СС в течение всего опыта регистрировали на чернильном самописце НЗ20-5. Кроме этого, на компьютере с помощью программы, написанной специально для данного исследования сотрудником Института физиологии им. И.П. Павлова С. Н. Солнышкиным, осуществлялось построение гистограммы и таблицы количества нажатий на рычаг в течение 10 мин до инъекции коеновой кислоты, сразу и через 30 и 60 мин после инъекции, с одновременной обработкой средней величины. У двух крысы продолжили регистрацию эффекта и дальше, через 90 и 120 мин после инъекции. Наблюдали за изменением порога реакции СС. Определяли достоверность различий полученных результатов по критерию Стьюдента – Фишера.

После завершения экспериментов осуществляли коагуляцию мест СС (2 мА, DC, 10 с). Мозг помещали в 10%-й раствор формалина. Локализацию кончика электрода определяли гистологически на срезах (60 мкм) методом заморозки, используя атлас мозга крысы [21].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Результаты гистологического анализа подтвердили локализацию кончика стимулирующего электрода в области латерального гипоталамуса.

У экспериментальных крыс число нажатий на рычаг за 10 мин находилось в пределах от 220 до 550. Пороговая сила тока, при которой наблюдалась стабильная реакция СС, составила 90 – 330 мкА, у одной крысы – 500 мкА. Влияние коме-

новой кислоты на реакцию СС зависело от дозы и времени от момента инъекции до регистрации частоты нажатий на рычаг. В таблице представлены результаты изменения реакции СС после инъекции разных доз коленовой кислоты через разные промежутки времени. Препарат, вводимый в дозе 1 мг/кг (n=1) не вызывал достоверных изменений ни в частоте нажатий на рычаг, ни в пороговой силе тока для реакции СС. На фоне дозы 10 мг/кг (n=2) наб-

**Влияние коленовой кислоты на показатели реакции самостимуляции (СС) латерального гипоталамуса**

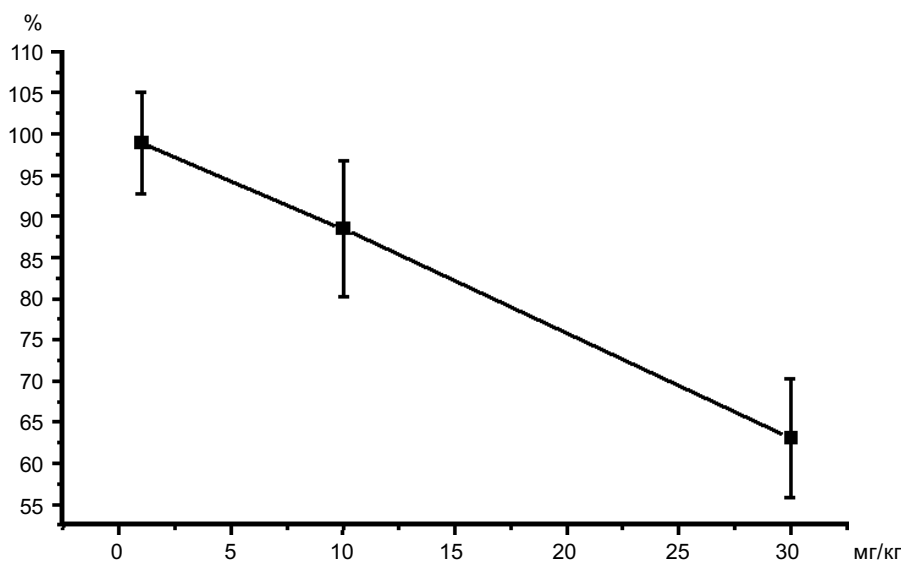
№ опыта	Доза коленовой кислоты, мг/кг	Время после инъекции, мин	Увеличение числа нажатий на рычаг за 10 мин, %	Уменьшение числа нажатий на рычаг за 10 мин, %	Увеличение порога реакции СС, %	Уменьшение порога реакции СС, %	
1	1	1-10	1,5	-	-	-	
		30-40	-	-	-	-	
		60-70	-	-	-	-	
2	10	1-10	-	-	-	-	
		30-40	2,5	-	-	-	
		60-70	5,3	-	-	-	
		90-100	-	23,1*	14	-	
3	10	120-130	-	21,4 *	-	-	
		1-10	5,3	-	-	-	
		30-40	-	-	-	-	
4	30	60-70	4,6	-	-	-	
		1-10	-	13,5 *	-	-	
		30-40	-	18,2 *	-	-	
5	30	60-70	-	23,8 *	-	-	
		1-10	9,0	-	-	-	
		30-40	-	17,7 *	-	-	
6	30	60-70	-	43,8 *	-	-	
		1-10	<b>Прекращение</b>			-	-
		30-40	-	92 *	11,2	-	
7	28,8	60-70	-	90 *	11,2	-	
		1-10	<b>Прекращение</b>			-	-
		30-40	-	-	28,6	-	
8	28,8	60-70	-	92,5 *	28,6	-	
		1-10	-	1,0	6,6	-	
		30-40	-	1,0	6,6	-	
9	28,8	60-70	-	17,7 *	6,6	-	
		90-100	-	1,0	6,6	-	
		1-10	<b>Прекращение</b>			-	-
		30-40	-	71 *	4,5	-	
10	30,0	60-70	-	78 *	4,5	-	
		1-10	-	58 *	-	-	
		30-40	-	23 *	-	-	
		60-70	-	9	-	-	

\* статистически достоверное снижение (P<0,05).

людалось незначительное увеличение СС. Однако через 90 и 120 мин после инъекции такой дозы коеновой кислоты у одной крысы (N2) произошло повышение порога реакции СС и достоверное уменьшение частоты нажатий на рычаг. Инъекция препарата в дозе 28,8 – 30 мг/кг (n=7) вызвала значительное угнетение реакции СС. У крысы (N5) с высоким пороговым значением тока для реакции СС (500 мкА) сразу после инъекции коеновой кислоты наблюдалась кататония, без прекращения СС. В последующие два периода регистрации, спустя 30 и 60 мин после инъекции, частота нажатий на рычаг достоверно уменьшилась. У крыс N4 и N10 препарат вызвал уменьшение частоты нажатий на рычаг, которое произошло уже в первые минуты после инъекции коеновой кислоты, но порог реакции СС не изменился. Далее картина была противоположной: если у первой крысы в последующие временные интервалы наблюдалось ослабление СС, то у второй, наоборот, самый сильный эффект наблюдался в первые 10 мин, а затем – постепенное восстановление СС. У крысы N 8

инъекция препарата вызвала повышение порога реакции и достоверное ослабление частоты нажатий спустя 60 мин после инъекции. У трех крыс (N6, N7 и N9) коеновая кислота вызвала существенное изменение в поведении, а также снижение порога реакции и уменьшение частоты нажатий на рычаг. Сразу после инъекции коеновой кислоты у них наблюдалось полное торможение СС, ослабление двигательной активности. Спустя 5 – 10 мин на фоне спокойного поведения иногда появлялись акты груминга, но ориентировочно-исследовательская реакция, которая обычно предшествует СС и подходу к рычагу, не восстанавливалась. На принудительную стимуляцию мозга, подаваемую экспериментатором, животное не реагировало. При регистрации СС через 30 – 40 и 60 – 70 мин после инъекции коеновой кислоты обнаружилось повышение порога (у N7 почти на 30%) и уменьшение частоты СС (см. таблицу). На рисунке отражена зависимость изменения частоты нажатия на рычаг от дозы используемого препарата.

У трех крыс (N2, N6 и N7) исследовали влияние повторной инъекции коеновой



Зависимость интенсивности реакции самостимуляции латерального гипоталамуса от дозы коеновой кислоты. На оси абсцисс – доза препарата (мг/кг). На оси ординат – число нажатий на рычаг (в процентах). За 100% принято число нажатий, до инъекции

кислоты на реакцию СС на следующие сутки. Результаты опытов подтвердили угнетающий эффект препарата на реакцию СС. В таблицу включены результаты экспериментов только первого введения препарата.

У контрольных крыс, получивших инъекцию физиологического раствора, достоверных изменений в частоте нажатий на рычаг (среднее число нажатий на рычаг за 10 мин составило  $295 \pm 13$ ) и в пороге реакции не наблюдалось.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что коменовая кислота вызывает угнетение реакции СС латерального гипоталамуса. Наблюдаемое нами снижение “вознаграждающего” эффекта СС после внутривенной инъекции исследуемого вещества было пропорционально его дозе (см. рисунок). Наиболее ярко эффект воздействия наблюдался при введении препарата в дозе 28,8 – 30 мг/кг и проявился в уменьшении числа нажатий на рычаг при пороговой силе тока или в повышении порога реакции СС и полном ее прекращении. При дозе 10 мг/кг у одной из двух крыс снижалась частота нажатий на рычаг и увеличивался порог СС. Ослабление СС, вызванное препаратом, в большинстве случаев проявилось сразу после его инъекции. Важно отметить, что в настоящей работе нейротоксическое действие коменовой кислоты проявилось при дозе 30 мг/кг. По литературным данным [3], при исследовании влияния морфина на интенсивность эффекта «наград» латерального гипоталамуса кататония проявилась в дозе 120 мг/кг, но даже в таком состоянии СС продолжалась, причем с более высокой частотой по сравнению с фоновой. Сравнение доз коменовой кислоты и морфина, при которых появляется кататония у крыс, позволяет сделать заключение, что действие используемого нами препарата оказывается в четыре раза сильнее по сравнению

с эффектом последнего. Однако коменовая кислота не вызывает усиления реакции СС, а, наоборот, подавляет ее. Такой же подавляющий эффект исследуемого препарата на СС был получен нами при повторных его инъекциях.

Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают целесообразность использования метода СС в подобных целях. Исследуемый препарат коменовой кислоты не вызывает активации системы положительного подкрепления латерального гипоталамуса и привыкания к нему.

**I.P. Bytkevich, V.A. Michaylenko, B.V. Krylov,  
V.N. Kazakov, T.I. Panova**

#### **EFFECTS OF MODULATOR OF SIGNAL TRANSMISSION FROM OPIOID RECEPTOR TO SODIUM CHANNELS ON SELF-STIMULATION OF HYPOTHALAMUS**

We investigated effects of different doses of a new preparation comenic acid as a modulator of the transmission of signals from an opioid receptor to slow sodium channels on the hypothalamic rewarding system in male Wistar rats. Comenic acid has been shown to inhibit the reaction of the hypothalamic self-stimulation (SS) in a dose-dependent fashion with the strongest effect at doses of 28,8 - 30 mg/kg. We observed a decrease in the rate of lever-pressings, induced by the threshold for SS current intensity, and an increase in the threshold for the response of SS, or its cessation. The similar suppressing effect of the preparation was found at its repeated injections. Thus, those results showed that comenic acid failed in both activation of the rewarding system of the lateral hypothalamus and adaptation to it.

*I.P.Pavlov Institute of Physiology RAN, St.Petersburg;  
Donetsk Medical University*

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Буров Ю.В., Борисенко С.А. Особенности влияния нейротропных веществ на реакцию самостимуляции на гипоталамическом уровне // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1976. – **81**. – С. 43 – 45.
2. Вальдман А.В., Бабаян Э.А., Звартау Э.Э. Психофармакологические и медико-правовые аспекты токсикоманий. – М.: Медицина, 1988. – 288 с.
3. Звартау Э.Э. Влияние хронического введения морфина на систему «наград» у крыс // Фармакология и токсикология. – 1978, **3**. – С. 529 – 535.
4. Звартау Э.Э. Действие налоксона на эмоционально-позитивные и антиноцицептивные эффекты

- стимуляции гипоталамуса у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1979. – **88**, № 11. – С. 43–45.
5. Звартау Э.Э., Паткина Н.А. Мотивационные компоненты и самостимуляция при поведенческих реакциях, вызванных электрической стимуляцией гипоталамуса // Журн. высш. нервн. деятельности. – 1974, № 3. – С. 529–535.
  6. Казаков В.Н., Панова Т.И., Крылов Б.В., Панов Ю.Е. Субстанция Q-134 купирует абстинентный синдром // Нейрофизиологи/Neurophysiology. – 2003.
  7. Крылов Б.В., Дербенёв А.В., Подзорова С.А. и др. Морфин уменьшает чувствительность к потенциалу медленных натриевых каналов // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1999. – **85**, № 2. – С. 225–236.
  8. Шабанов П.Д., Штакельберг О.Ю. Наркомании. Патопсихология, клиника, реабилитация. – С-Пб: Лань, 2001. – 460 с.
  9. Barr A.M., Brotto L.A., Phillips A.G. Chronic corticosterone enhances the rewarding effect of hypothalamic self-stimulation in rats // Brain Res. – 2000. – **875**, № 1–2. – P. 196–201.
  10. Bespalov A., Lebedev A., Panchenko G., Zvartau E. Effects of abused drugs on thresholds and breaking points of intracranial self-stimulation in rats // Eur. Neuropsychopharmacol. – 1999. – **9**, № 5. – P. 377–383.
  11. Carlezon W.A., Wise R.A. Morphine-induced potentiation of brain stimulation reward is enhanced by MK-801 // Brain Res. – 1993. – **620**, № 2. – P. 339–342.
  12. Diotte M., Miguez M., Miliaressi E., Bielajew C. Interactions between rewarding lateral hypothalamic and aversive nucleus reticularis gigantocellularis stimulation // Behav. Brain Res. – 2000. – **116**, № 2. – P. 149–156.
  13. Hatcher J.P., Hagan J.J. The effects of dopamine D3/D2 receptor agonists on intracranial self stimulation in the rat // Psychopharmacology (Berl). – 1998. – **140**, № 4. – P. 405–410.
  14. Konkle A.T., Kubelka S.L., Bielajew C. The effects of cholecystokinin on stimulation-induced feeding and self-stimulation // Behav. Brain Res. – 2000. – **107**, № 1–2. – P. 145–152.
  15. Knapp C.M., Kornetsky C. Low-dose apomorphine attenuates morphine-induced enhancement of brain stimulation reward // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1996. – **55**, № 1. – P. 87–91.
  16. Lorens S.A. Influence of morphine on lateral hypothalamic self-stimulation in the rat // Psychopharmacologia (Berl.). – 1973. – **32**. – P. 271–277.
  17. Olds J., Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of the septal area and other regions of the rat brain // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1954. – **47**. – P. 419–427.
  18. Panchenko G.N., Lebedev A.A., Shabanov P.D. Comparison of the effects of dopamine agonists on self-stimulation of the hypothalamus with lesioning of mesolimbic brain structures in rats reared in conditions of social isolation // Neurosci. Behav. Physiol. – 1998. – **28**, № 2. – P. 130–135.
  19. Paterson N.E., Myers C., Markou A. Effects of repeated withdrawal from continuous amphetamine administration on brain reward function in rats // Psychopharmacology (Berl). – 2000. – **152**, № 4. – P. 440–446.
  20. Pavlova I.V. Linked spike activity of rabbit neocortex neurons during self-stimulation of the lateral hypothalamus // Neurosci. Behav. Physiol. – 2001. – **31**, № 3. – P. 275–281.
  21. Pellegrino L.J., Pellegrino A.S., Cushman L.J. A stereotaxic atlas of the rat brain. – New-York. – London: Plenum. Press. – 1979.
  22. Rada P.V., Mark G.P., Yeomans J.J., Hoebel B.G. Acetylcholine release in ventral tegmental area by hypothalamic self-stimulation, eating, and drinking // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2000. – **65**, № 3. – P. 375–379.
  23. Saitoh Y., Inokuchi K. A triphasic curve characterizes the retention of lever-pressing behavior rewarded by lateral hypothalamic stimulation during the immediate-post-trial period in rats: implications for a transient-intermediate stage between short- and long-term memory // Neurosci. Res. – 2000. – **37**, № 3. – P. 211–219.
  24. Sundstrom J.M., Hall F.S., Stellar J.R., Waugh E.J. Effects of isolation-rearing on intracranial self-stimulation reward of the lateral hypothalamus: baseline assessment and drug challenges // Life Sci. – 2002. – **70**, № 23. – P. 2799–2810.
  25. Touzani K., Vellely L. Electrical self-stimulation in the central amygdaloid nucleus after ibotenic acid lesion of the lateral hypothalamus // Behav. Brain Res. – 1998. – **90**, № 2. – P. 115–124.
  26. Zimmermann P., Privou C., Huston J.P. Differential sensitivity of the caudal and rostral nucleus accumbens to the rewarding effects of a H1-histaminergic receptor blocker as measured with place-preference and self-stimulation behavior // Neuroscience. – 1999. – **94**, № 1. – P. 93–103.

*Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург;  
Дон. мед. ун-т им. М. Горького МЗ Украины*

*Материал поступил в редакцию 10.12.2002*