

Антиоксидант аурул способен купировать синдром отмены морфина: поведенческие и биохимические аспекты¹

ПЕРЕГУД Д.И.
ОНУФРИЕВ М.В.

аспирант Национального научного центра наркологии (ННЦН) МЗ РФ, Москва
к.б.н., с.н.с. лаборатории функциональной биохимии нервной системы Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии (ИВНД и НФ) РАН, Москва

СТЕПАНИЧЕВ М.Ю.

к.б.н., с.н.с. лаборатории функциональной биохимии нервной системы ИВНД и НФ РАН, Москва

ЛАЗАРЕВА Н.А.

н.с. лаборатории функциональной биохимии нервной системы ИВНД и НФ РАН, Москва

ЯКОВЛЕВ А.А.

аспирант Московского физико-технического института, Московская область, Долгопрудный

БАРОНЕЦ В.Ю.

с.н.с. лаборатории биохимии ННЦН МЗ РФ, Москва

ПАНЧЕНКО Л.Ф.

академик РАМН, д.м.н., профессор, рук. лаборатории биохимии ННЦН МЗ РФ, Москва

ГУЛЯЕВА Н.В.

д.б.н., профессор, рук. лаборатории функциональной биохимии нервной системы ИВНД и НФ РАН, Москва

Исследовали влияние антиоксиданта аурул на поведенческие проявления синдрома отмены морфина, свободнорадикальный гомеостаз в печени и систему оксида азота в печени и мозге. Установили, что аурул купирует специфические поведенческие проявления синдрома отмены морфина, обладает определенным гепатопротекторным потенциалом благодаря частичному ослаблению гиперферментемии и окислительного стресса в печени, наблюдаемых при синдроме отмены морфина, аурул нормализует дисбаланс активностей изоформ синтазы оксида азота в печени, сопровождающий синдром отмены. При абстиненции наблюдались специфические изменения метаболизма оксида азота в отделах мозга; после введения аурула данные показатели частично нормализовались. Предполагается, что аурул является перспективным препаратом с комбинированным типом действия в терапии соматических и центральных нарушений, сопутствующих синдрому отмены морфина.

Введение

Опийная наркомания — угрожающее здоровью человечества медико-социальное явление, ведущее к социальной дезадаптации индивидуума и снижению, а порой потере работоспособности. Основными медицинскими последствиями данного заболевания является токсическое поражение внутренних органов в первую очередь печени, и, собственно, синдром зависимости как психической, так и физической. Ввиду вышесказанного чрезвычайно важны разработка и внедрение в клинику новых препаратов для усовершенствования патогенетически направленной фармакологической коррекции последствий опийной наркомании.

Известно, что основным механизмом гепатотоксичности морфина как самого яркого представителя препаратов опийной группы является развитие окислительного стресса, ведущего к патологии данного органа [1–3]. Синдром зависимости связывают с изменением функционирования нейробиохимических систем практически на всех уровнях биологической организации (молекулярном, субклеточном и клеточном) [4].

Несмотря на то, что показана определенная эффективность антиоксидантных препаратов при купировании соматических последствий опийной наркомании [5], чрезвычайно важно внедрение в клиническую практику препаратов данной фармакологической группы, способных, помимо купирования соматических последствий, нормализовать нейробиохимические нарушения. В институте органической химии СО РАН из корневища золотого корня (*Rodiola rosea* L.) было выделено индивидуальное соединение, которое было идентифицировано как 4-(2'-гидроксиэтил)фенол, или тирозол. В этом учрежде-

нии был разработан и налажен способ синтеза данного соединения, которое получило коммерческое название *аурул*. Аурул известен своими адаптогенными свойствами, он усиливает способность к запоминанию и благотворно действует на общее физическое состояние. Важно отметить, что разработан запатентованный (патент РФ на изобретение №2181587, 2002 г.) способ профилактики и лечения стрессов животных препаратом аурул (тирозол-с), который активно используется в животноводстве. Основным механизмом действия компонентов золотого корня, к которым относится тирозол (аурул), принято считать регуляцию уровня и активности моноаминов и эндогенных опиоидов [6]. К тому же, относясь к пространственно затрудненным фенолам, аурул проявляет антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства [7]. Благодаря своим адаптогенным и антиоксидантным свойствам, аурул может быть исследован как агент, стабилизирующий свободнорадикальный и нейробиохимический гомеостаз при синдроме отмены морфина.

Целью данной работы явилась оценка способности аурула влиять на поведенческие проявления синдрома отмены морфина, а также на свободнорадикальный гомеостаз в печени и систему оксида азота (NO) в печени и отделах головного мозга при синдроме отмены морфина.

Материалы и методы исследования

В работе использовали 29 крыс-самцов Wistar в возрасте 6 мес. массой 250–350 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. В ходе эксперимента были сформированы 4 группы животных: контрольная группа 1 (n=7; животные, на протяжении всего эксперимента получавшие изотонический раствор хлорида натрия), опытная группа (n=7; животные, получавшие морфин в течение 6 дней), контрольная группа 2 (n=6; животные, получавшие изотонический раствор хлорида натрия в течение

¹ Работа выполнена при поддержке грантов РГНФ 01-06-00146а и 04-06-00201.

6 дней, затем трижды перорально ауrol в дозе 40 мг/кг), опытная группа + ауrol (n=7; животные, получавшие морфин в течение 6 дней и в период отмены морфина — трижды перорально ауrol в дозе 40 мг/кг).

Морфин гидрохлорид вводили внутривенно в течение 6 дней 2 раза в сутки (в 10.00 и 20.00) в возрастающих дозах от 10 до 100 мг/кг [8, 9]. Спонтанный абстинентный синдром оценивали через 36 ч после завершающей дозы морфина в "открытом поле" (арена диаметром 120 см и высотой стенок 40 см). Выраженность абстинентного синдрома оценивали в течение 5 мин по ряду специфических двигательных (отряхивания "мокрой собаки", прыжковая активность, корчи, жевание, скрип зубами, встряхивание передними лапами) и вегетативных (диарея, птоз, ринорея, пилоэрекция, диспноэ, писк при дотрагивании, агрессивность) признаков [9, 10]. Если было возможно, наблюдаемые признаки регистрировали количественно с дальнейшим присвоением каждому признаку балла, зависящего от специфичности признака. Выраженность абстинентного синдрома представляли в виде суммы баллов. На протяжении эксперимента измеряли массу крыс. Животных декапитировали сразу после оценки синдрома отмены морфина.

После декапитации крыс кровь из сонных артерий собирали в пробирки с 5%-ным раствором ЭДТА (1:10) в качестве антикоагулянта. Для получения плазмы образцы крови центрифугировали 15 мин при 1500 g и при 4°C. Печень перфузировали охлажденным изотоническим раствором хлорида натрия, после чего вынимали и замораживали в жидком азоте. Параллельно на льду выделяли следующие отделы головного мозга: кора больших полушарий, гиппокамп, гипоталамус, стриатум, средний мозг, мозжечок и ствол мозга. До исследования все образцы хранились при -40°C.

Активность аламинотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), -глутамилтранспептидазы (ГГТП), креатинфосфокиназы (КФК) и -бутирилдегидрогеназы (ГБДГ) в плазме крови определяли с помощью диагностических наборов DiaSys, Германия.

Ткань печени и отделов мозга гомогенизировали в гомогенизаторе типа Potter S в течение 1 мин при 1500 об./мин в 5 объемах 20 mM HEPES (pH 7,4) при 4°C. Часть гомогенатов аликвотировали для определения SH-групп и ТБК-РП. Оставшуюся часть гомогенатов центрифугировали 30 мин при 14 000 g при 4°C, часть полученных супернатантов отбирали для определения нитратов и нитритов (NO_x) и супероксид-перехватывающей активности (СПА). В оставшуюся часть добавляли охлажденный 20 mM HEPES (pH 7,4), содержащий 0,5 mM ЭДТА, 1 mM ДТТ, 1 mM ФМСФ, аprotинин и лейпептин по 5 мкг/мл. Супернатанты печени дополнительно центрифугировали 1 ч при 105 000 g и 4°C для получения цитозоля, в котором определяли активность синтазы оксида азота (NOC).

Для определения общих и небелковых сульфгидрильных групп (SH-групп) применяли метод с использованием реактива Элмана [11]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали в системе генерации супероксидного радикала, который образуется в реакции восстановления молекулярного кислорода в присутствии феназинметасульфата и восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) [12]. Концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), оценивали спектрофотометрическим методом, регистрируя базальный и Fe^{2+} /аскорбат-индуцированный уровни [13].

Концентрацию стабильных метаболитов NO — нитратов и нитритов (NO_x) — определяли по интенсивности флуоресценции 2,3-диаминонафтотриазола, продукта реакции 2,3-диаминонафталиа (ДАН) и нитрита в кислой среде [14]. Активность NOC определяли радиометрическим методом [15] по скорости накопления [^3H]-L-цитрулина в реакции окисления [^3H]-L-аргинина, катализируемой NOC.

Содержание белка в пробах определяли по методу Бредфорд [16] с использованием красителя Кумасси голубого.

Статистическую обработку и анализ результатов проводили в программе "Statistica 6.0". Данные представлены в виде $M \pm S.E.M.$ Для оценки достоверности различий использовали U-тест Манна-Уитни, а также t-тест Стьюдента. Корреляционный анализ проводили с использованием непараметрического г-критерия Спирмана.

Результаты и их обсуждение

В ходе эксперимента, а также через 12 ч после завершающей дозы морфина заметных изменений массы животных зарегистрировано не было, однако спустя 36 ч после окончания введения морфина обнаружено достоверное (t-тест Стьюдента) снижение массы крыс как в опытной группе, так и в группе, которая в период отмены морфина получала ауrol ($P < 0,02$) (рис. 1). При синдроме отмены наблюдали выраженное и достоверно значимое ($P < 0,001$, t-тест) снижение массы тимуса (в контрольной группе данный показатель составил $229,5 \pm 13,7$ мг, а в опытной $145,2 \pm 9,0$ мг). В группе животных, получавших только ауrol, масса тимуса составила $259,0 \pm 30,2$ мг, а в опытной группе животных, получавших ауrol, данный показатель составил $179,3 \pm 19,2$ мг, причем это значение статистически не отличалось от аналогичного показателя в опытной группе ($P > 0,1$, t-тест). Таким образом, ауrol не проявляет терапевтической активности в отношении типичных для синдрома отмены морфина изменений — снижения массы тела и тимуса у крыс.

В печени происходит активный метаболизм морфина, с образованием продуктов, которые прямо или косвенно участвуют в формировании тканевой токсичности вследствие активации свободнорадикальных процессов [18]. Ранее было показано, что хроническое введение морфина сопряжено с развитием окислительного стресса в печени, который является одной из основных причин поражения органа, что было продемонстрировано как в экспериментах на животных [1–3], так и на больных опиоидной наркоманией [19]. Окислительный стресс в печени при хронической морфинизации приводит к тяжелой центростремительной гиперемии, фокальному и перивенулярному некрозу, а также вакуолизации тубулярных клеток, что в конечном итоге ведет к цитолизу и гиперферментации [20]. Согласно результатам данной работы при синдроме отмены достоверно повышалась активность сывороточных ферментов АСТ и ГГТП при неизменной активности АЛТ, ГБДГ и КФК (табл. 1). Введение ауrolа в период отмены снижает активность ГГТП, но не АСТ по сравнению с опытной группой (табл. 1). В плазме крови крыс изменений показателей свободнорадикального гомеостаза не обнаружено (табл. 2), однако в печени синдром отмены морфина вызывает глубокие изменения показателей свободнорадикального гомеостаза, свидетельствующие о развитии в печени окислительного стресса (табл. 3). Так, в опытной группе происходит снижение концентрации небелковых SH-групп, при этом концентрация об-

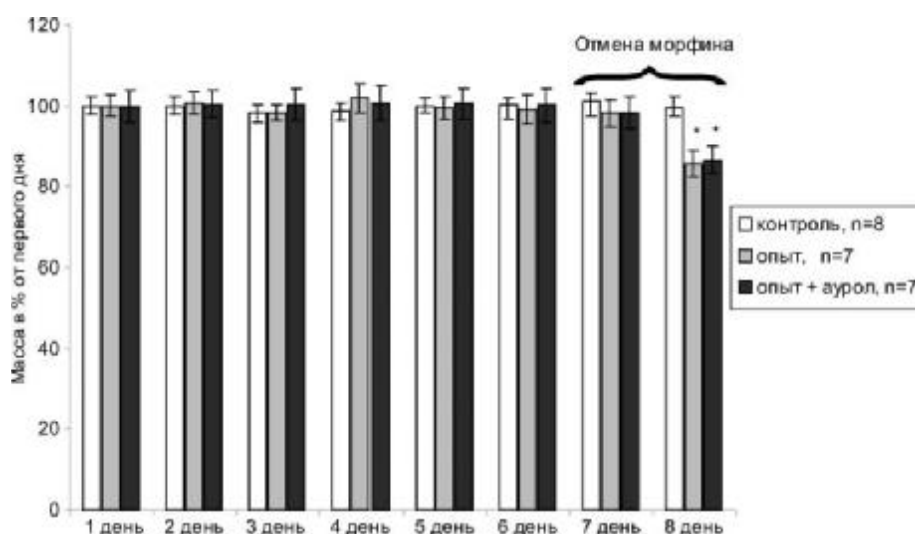


Рис. 1. Влияние аурола на динамику массы крыс при морфинизации и отмене морфина:

* — достоверность отличий (t-тест) от контроля ($P < 0,02$)

Таблица 1

Влияние аурола на активность ферментов в плазме крови при отмене морфина у крыс

Показатель	Контроль, n=7	Опыт, n=7	Аурол, n=6	Опыт + аурол, n=7
АЛТ, Ед/л	106,76 ± 11,35	116,12 ± 10,44	120,97 ± 10,68	127,02 ± 9,30
АСТ, Ед/л	179,88 ± 11,94	238,20 ± 14,71*	196,62 ± 19,91	233,60 ± 13,91
ГГТП, Ед/л	3,96 ± 0,93	16,8 ± 3,32*	4,12 ± 0,57	7,12 ± 0,68 ⁺
ГБДГ, Ед/л	195,2 ± 21,70	260 ± 21,79	214 ± 20,75	244,2 ± 23,03
КФК, Ед/л	6287 ± 292,1	5987,6 ± 318,2	6738 ± 260,1	6501 ± 579,5

Примечание. * — достоверность отличий (t-тест Стьюдента) от контроля ($P < 0,05$), ⁺ — от опыта ($P < 0,05$)

Таблица 2

Влияние аурола на свободнорадикальный гомеостаз плазмы крови крыс при синдроме отмены морфина у крыс

Показатель	Контроль, n=7	Опыт, n=7	Аурол, n=6	Опыт + Аурол, n=7
Небелковые SH-группы, мкмоль/л	6,8±1,4	5,9±1,3	7,6±1,8	4,6±0,6
Общие SH-группы, мкмоль/л	113,8±20,4	140,4±23,4	133,3±29,1	175,9±18,9
ТБК-активные продукты, ОД/мл	14,9±1,1	13,1±0,6	16,6±3,1	15,0±0,8
Активность СОД, Ед/мг Нв	32,6±1,3	34,0±2,4	33,4±2,9	34,3±4,9

Таблица 3

Влияние аурола на свободнорадикальный гомеостаз печени крыс при синдроме отмены морфина у крыс

Показатель	Контроль, n=7	Опыт, n=7	Аурол, n=7	Опыт + Аурол, n=7
Небелковые SH-группы, мкмоль/г ткани	5,5±0,3	3,8±0,3*	5,4±0,7	3,9±0,2
Общие SH-группы, мкмоль/г ткани	20,8±1,3	20,6±1,0	21,0±2,5	18,8±0,7
ТБК-активные продукты, ОД/г ткани	47,0±2,5	73,8±11,6*	41,6±3,6	36,3±4,6 ⁺
Индукция ТБК-АП, %	1057±148	545±152*	894±164	1024±210 ⁺
Активность СОД, Ед/мг белка/мин	38,2±0,4	39,4±0,8	41,2±0,9	41,5±1,3

Примечание. * — достоверность отличий (t-тест) от контрольной группы ($P < 0,05$), ⁺ — от опытной группы ($P < 0,05$)

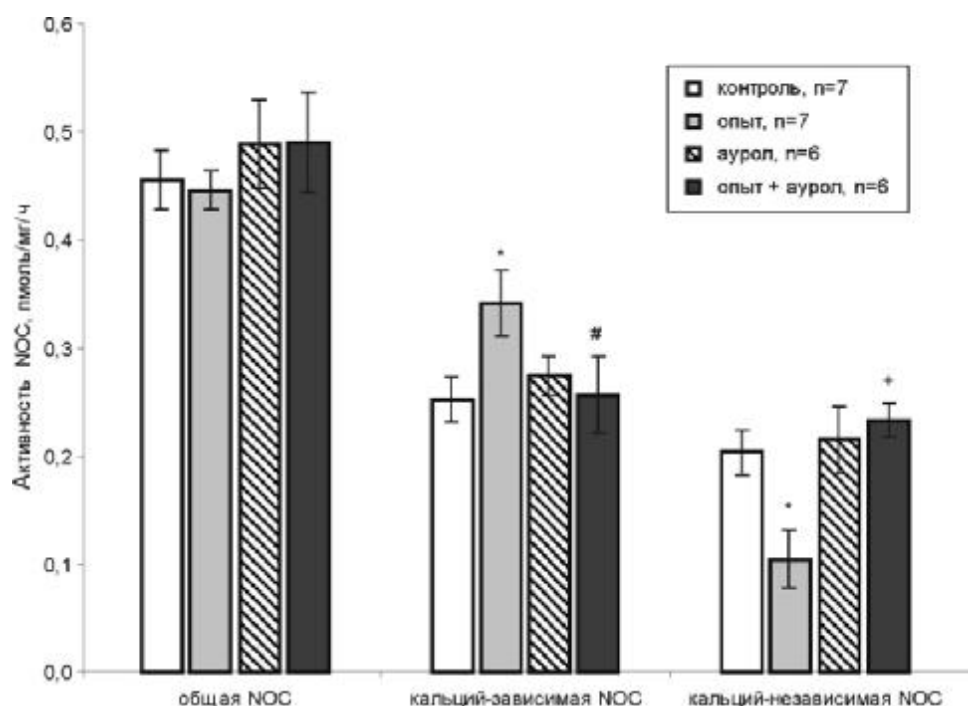


Рис. 2. Влияние аурола на активность изоформ NOS в печени крыс в период синдрома отмены морфина: достоверность различий * — от группы контроль $P < 0,05$; + — от группы опыт $P < 0,005$; # — от группы опыт $P < 0,1$

ших SH-групп оставалась неизменной. Отмена морфина приводит к значительному увеличению базального уровня ТБК-РП в печени, а также к снижению накопления ТБК-РП после индукции перекисного окисления (ПО) в Fe^{2+} /аскорбатной системе. Аурол не влияет на содержание небелковых SH-групп (в основном этот показатель отражает концентрацию эндогенного антиоксиданта — восстановленного глутатиона) в печени при отмене морфина, что, возможно, свидетельствует о том, что данный препарат не способен влиять на активность ферментов анаболизма глутатиона, таких, как глутатион-синтаза и -глутамил-цистеинсинтаза. Однако аурол достаточно эффективно нормализовал как базальное содержание ТБК-РП, так и накопление ТБК-РП в ходе индукции. Таким образом, аурол препятствует развитию окислительного стресса в печени при исследуемом состоянии за счет ингибирования перекисного окисления, но не за счет повышения пула эндогенных антиоксидантов (небелковые SH-группы). Целый ряд природных и синтетических препаратов антиоксидантной природы имеет определенный успех в купировании окислительного стресса и его по-

следствий для печени [2, 3, 5, 21]. Действительно, тирозол (аурол) способен проникать в мембраны клеток и взаимодействовать с перекисями, ингибируя процессы перекисного окисления липидов [22], кроме того, при окислении тирозола образуется гидрокситирозол, который проявляет антиоксидантные свойства в 2,5 раза большие, чем у аурола [17]. Таким образом, можно предположить, что нормализация содержания ТБК-РП в печени, сопровождающая введение аурола при синдроме отмены, связана именно с ингибированием перекисного окисления, что, в конечном счете, предотвращает цитолиз и частичное снижение гиперферментемии.

В плазме крови отмена морфина вызвала снижение концентрации NO_x в печени изменений данного показателя зарегистрировано не было (табл. 4), при этом аурол в отношении данного показателя оказался малоактивным агентом. В печени мы определяли как концентрацию NO_x , так и активность изоформ NOS (Ca^{2+} -зависимой и Ca^{2+} -независимой). Согласно нынешним представлениям в норме в печени отсутствует Ca^{2+} -независимая изоформа NOS и ее активация происходит только при воз-

Таблица 4

Влияние аурола на содержание NO_x в ткани печени и плазме крови при синдроме отмены морфина у крыс

Группа	NO_x в плазме крови, мкмоль/мл	NO_x в ткани печени, нмоль/мг белка
Контроль, n=7	18,3±2,1	0,260±0,023
Опыт, n=7	12,1±0,6*	0,259±0,012
Аурол, n=7	14,5±2,2	0,286±0,021
Опыт + аурол, n=7	14,9±1,9	0,263±0,022
Примечание. * — достоверность различий (t-test) от группы контроль ($P < 0,05$)		

действию эндотоксинов и/или провоспалительных цитокинов [23], однако продемонстрировано наличие данной изоформы у животных контрольных групп [24]. Общая активность NOC (Ca^{2+} -зависимая и Ca^{2+} -независимая) при отмене морфина не изменилась, однако мы зарегистрировали перераспределение активностей изоформ NOC (рис. 2). Так, при отмене морфина, произошло достоверное снижение активности Ca^{2+} -независимой изоформы NOC ($P < 0,02$, t-тест) и повышение Ca^{2+} -зависимой ($P < 0,05$, t-тест), при этом введение ауrolа нормализует активность обеих изоформ (рис. 2). Можно предположить, что концентрация метаболитов NO в плазме зависит от активности именно Ca^{2+} -независимой изоформы в печени, которая также снижена (рис. 2). Ранее было показано, что после введения производных морфина после инъекции бактериального липополисахарида обнаруживается снижение содержания белка и фермента NOC и его мРНК [25]. Поскольку Ca^{2+} -зависимая NOC является важным элементом неспецифической иммунной защиты [26], возможно предположить, что снижение активности Ca^{2+} -независимой NOC, вероятно, связано со снижением иммунитета, наблюдаемым при хроническом введении опиатов. Возможной причиной снижения активности и NOC может быть прямое воздействие морфина на иммунитеты печени (в первую очередь на купферовские клетки), на поверхности которых экспрессируются опиатные рецепторы [25]. Морфин также может опосредованно влиять на систему иммунологической защиты, в том числе и на активность и NOC через активацию вегетативной нервной системы и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси [25]. Повышение активности Ca^{2+} -зависимой NOC, скорее всего, имеет адаптивный характер и направлено на интенсификацию микроциркуляции в ткани печени, тем более известно, что эндотелиальная Ca^{2+} -зависимая NOC участвует в регуляции сосудистого тонуса [26]. Таким образом, можно предположить, что ауrol, нормализуя активность изоформ NOC, стабилизирует иммунологическую защиту и кровоснабжение в печени при синдроме отмены морфина. Объяснить механизм влияния ауrolа на активность изоформ NOC в печени при синдроме отмены чрезвычайно трудно, и данный вопрос требует дальнейшего детального изучения.

В результате данной работы было установлено, что ауrol обладает определенным антиабстинентным потенциалом: он достоверно ослабляет выраженность синдрома отмены морфина (рис. 3). Более того, ауrol достоверно снижает, по сравнению с опытной группой, выраженность и частоту встречаемости (U-тест, Манна–Уитни и χ^2 , табл. 5 и 6) отягчений по типу "мокрой собаки" ($P < 0,05$) и диареи ($P < 0,03$) — наиболее характерных признаков синдрома отмены. Ауrol сам по себе вызывает статистически достоверное (U-тест, Манна–Уитни) увеличение выраженности писка при дотрагивании ($P < 0,05$) и не вызывает других сколько-нибудь значимых изменений поведения крыс. Известно, что компоненты, входящие в состав золотого корня, такие, как тирозол и салидрозид (гликозидная форма тирозола), способны модулировать содержание моноаминов и серотонина в нервной системе, регулируя физиологическое состояние транспортеров данных соединений и активность ферментов, участвующих в деградации катехоламинов, таких, как моноаминоксидазы и катехол-О-метилтрансфераза [6]. Кроме того, есть указания на то, что тирозол и соответственно ауrol

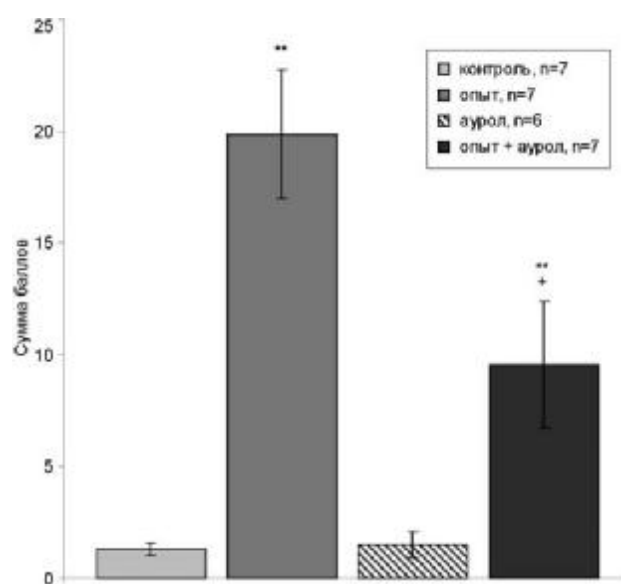


Рис. 3. Влияние ауrolа на выраженность синдрома отмены морфина: достоверность различий (U-тест Манна–Уитни).

** — от соответствующего контроля $P < 0,01$, + — от группы морфин $P < 0,05$

способны модулировать синтез эндогенных опиоидов и регулировать состояние центральных и периферических опиоидных рецепторов [6]. Более того, известно, что при поступлении в организм тирозола происходит его гидроксигирование с последующим образованием катехолоподобной структуры, действующей на адренорецепторы [17]. Исходя из того, что тирозол и соответственно его структурный аналог ауrol обладают определенной активностью в отношении некоторых нейромедиаторных систем, можно предположить, что его способность купировать поведенческие проявления отмены морфина связана с нормализацией функционирования нейромедиаторных систем, дисбаланс которых, как считается, определяет течение отмены морфина [27].

Известно, что нитригическая система головного мозга вовлечена в реализацию абстинентного состояния при отмене морфина, а воздействие на данную систему позволяет контролировать синдром отмены. Так, введение животным селективных и неселективных ингибиторов NOC приводило к ослаблению как спонтанного, так индуцированного антагонистами опиоидных рецепторов абстинентного синдрома [28]. Кроме того, показано, что при опиоидной абстиненции изменяется метаболизм NO в центральной нервной системе грызунов. При синдроме отмены морфина изменяется активность NOC в отделах головного мозга [29], концентрация нитратов и нитритов (NO_x -, стабильные метаболиты оксида азота) [30], изменяется число NO-позитивных клеток [31]. В данной работе абстинентный синдром сопровождался специфическими изменениями метаболизма NO в отделах мозга. Активность NOC (рис. 4), а также концентрация NO_x - (рис. 5) статистически достоверно увеличилась в среднем мозге и гиппокампе, снизилась в стриатуме и гипоталамусе и осталась неизменной в коре больших полушарий и стволе

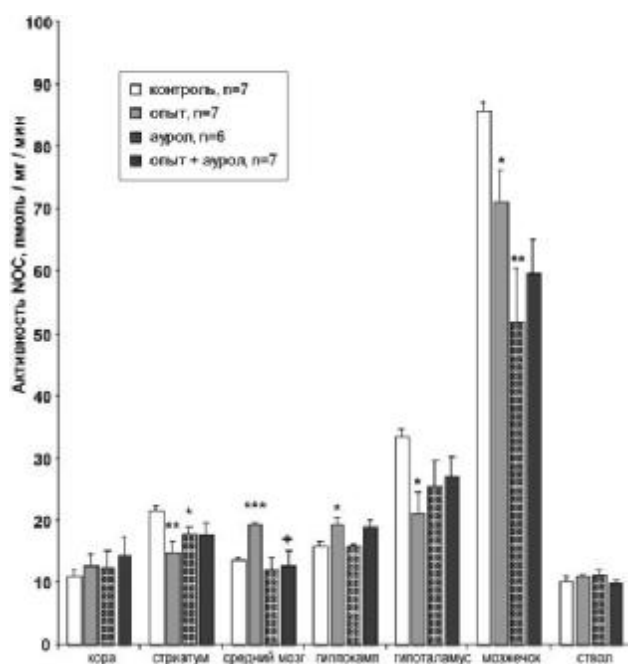


Рис. 4. Влияние ауrolа на активность NOC в отделах мозга крыс при синдроме отмены морфина: * — достоверность различий от контроля (t-тест Стьюдента) $P < 0,05$; ** — $P < 0,005$; *** — $P < 0,00001$; + — достоверность различий от опыта $P < 0,05$

мозга. Концентрация NO_x в мозжечке не изменилась (рис. 5), при этом активность NOC снизилась (рис. 4). Ауrol купировал нарушенную морфином активность NOC (рис. 4) и концентрацию NO_x (рис. 5) в гипоталамусе, среднем мозге, гиппокампе и стриатуме, но не в мозжечке. При этом ауrol сам по себе снижал активность NOC в стриатуме и мозжечке (рис. 4), а концентрация NO_x в гиппокампе под действием ауrolа увеличилась (рис. 5). При анализе данных (значения показателей опытной и контрольной групп объединены в единый массив, $n=14$) выявлено наличие статистически достоверных

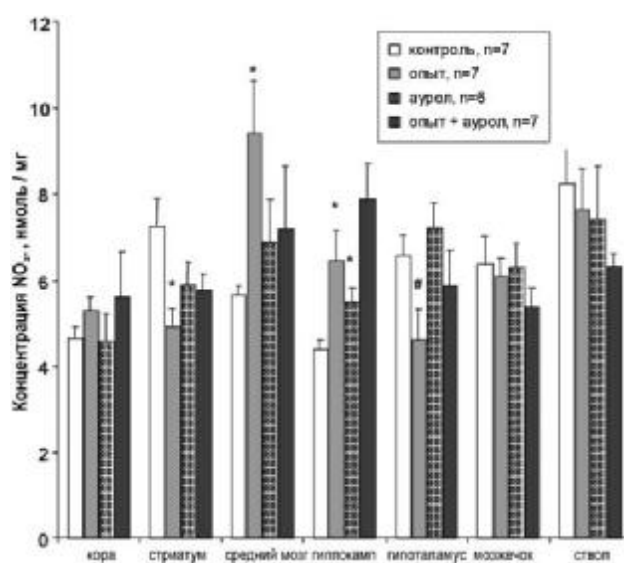


Рис. 5. Влияние ауrolа на содержание нитратов/нитритов в отделах мозга при синдроме отмены морфина: * — достоверность различий от контроля (t-тест Стьюдента) $P < 0,05$; # — $P < 0,1$

корреляций между показателями метаболизма NO и выраженностью синдрома отмены морфина, а также отдельными признаками абстиненции. И активность NOC, и концентрация NO_x в среднем мозге коррелировали с выраженностью отягиваний по типу "мокрой собаки", при этом только активность NOC в мозжечке и стриатуме и только концентрация NO_x в коре коррелировали с данным признаком синдрома отмены (табл. 5). Обнаружены корреляции активности NOC и концентрации NO_x с выраженностью диареи на уровне тенденции ($P < 0,1$) в среднем мозге и концентрации NO_x в стриатуме (табл. 6). При введении ауrolа корреляционные отношения между показателями метаболизма NO и выраженностью отягиваний по типу "мокрой собаки" и диареи отсутствовали. Таким образом, ауrol нормализует нитергическую сис-

Таблица 5
Корреляции по Спирману активности NOC и концентрации NO_x с выраженностью отягиваний по типу "мокрой собаки" (сумма баллов) в отделах мозга ($n=14$)

Показатель	Отдел мозга			
	Кора	Мозжечок	Стриатум	Средний мозг
Активность NOC, пмоль / мг / мин	$r=0,31$; $P>0,1$	$r=-0,61$; $P<0,05$	$r=-0,79$; $P<0,001$	$r=0,81$; $P<0,001$
NO_x , нмоль/мг белка	$r=0,56$; $P<0,05$	$r=-0,19$; $P>0,1$	$r=-0,54$; $P>0,1$	$r=0,91$; $P<0,001$

Таблица 6
Корреляции по Спирману активности NOC и концентрации NO_x с выраженностью диареи (сумма баллов) в отделах мозга ($n=14$)

Показатель	Отдел мозга			
	Кора	Мозжечок	Стриатум	Средний мозг
Активность NOC, пмоль / мг / мин	$r=0,41$; $P>0,1$	$r=-0,49$; $P>0,1$	$r=-0,37$; $P>0,1$	$r=0,51$; $P<0,1$
NO_x , нмоль/мг белка	$r=0,28$; $P>0,1$	$r=-0,12$; $P>0,1$	$r=-0,66$; $P<0,05$	$r=0,49$; $P<0,1$

тему в среднем мозге и гипоталамусе. Возможно, именно с этим связана его способность снимать такие признаки абстиненции, как судорожная активность (отряхивания по типу “мокрой собаки”) и вегетативное проявление абстиненции — диарею. Известно, что в среднем мозге расположены структуры (прилежащее ядро, околосредовое серое вещество, вентральная область покрышки), которые, как считается, участвуют в реализации абстиненции [4].

Основываясь на полученных результатах, можно полагать, что ауrol может быть перспективным средством в терапии опиоидного абстинентного синдрома. Важно отметить, что наряду с ослаблением гиперферментемии и окислительного стресса в печени он нормализует нейрохимический гомеостаз, что делает возможным использование ауrolа в комплексной терапии абстиненции, влияя на соматические и центральные последствия употребления опиатов. По-видимому, одной из точек приложения действия ауrolа на молекулярном уровне является нитрергическая медиаторная система в среднем мозге и гипоталамусе. Таким образом, целесообразны дальнейшее исследование данного препарата и активное внедрение его в клиническую практику.

Список литературы

1. Константинопольский М.А., Пирожков С.В., Соловьева А.Г., Панченко Л.Ф., Барков Н.К. Синдром отмены и перекисное окисление липидов при хроническом введении крысам наркотических анальгетиков // Эксперим. и клин. фармакол. — 1992. — Т. 55. — С. 21—24.
2. Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Соловьева А.Г. Антиоксидантные системы и перекисное окисление липидов при наркотической интоксикации // Вопросы наркологии. — 1995. — №1. — С. 32—36.
3. Zhang Y.T., Zheng Q.S., Pan J., Zheng R.L. Oxidative damage of biomolecules in mouse liver induced by morphine and protected by antioxidants // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. — 2004. — Vol. 95. — P. 53—58.
4. Williams J.T., Christie M.J., Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence // Physiol. Rev. — 2001. — Vol. 81. — P. 299—343.
5. Панченко Л.Ф., Калинина А.Г., Пирожков С.В., Алябьева Т.Н., Сокур М.Г., Баронцев В.Ю., Петровская М.В. Применение антиоксидантов при лечении наркологических больных // Проблемы диагностики и лечения алкоголизма и наркоманий: Сб. трудов НИИ наркологии / Под ред. проф. Иванца Н.Н. — М.: Анахарсис, 2001. — С. 86—94.
6. Kelly G.S. Rhodiola Rosea: A Possible Plant Adaptogen // Altern. Med. Rev. — 2001. — Vol. 6. — P. 293—302.
7. Сторожок Н.М., Гуреева Н.В., Крысин А.П., Дарюхина Е.Н., Долгих М.П., Попова Л.П. Антиоксидантные свойства ауrolа (тирозол-с) // Химико-фармацевтический журнал. — 2002. — Т. 36. — С. 14—18.
8. Dum J., Blasig J., Herz A. Buprenorphine: demonstration of physical dependence liability // Eur. J. Pharmacol. — 1981. — Vol. 70. — P. 293—300.
9. Rahman S., Ali Khan R., Kumar A. Experimental study of the morphine de-addiction properties of Delphinium denudatum Wall // BMC Complement. Altern. Med. — 2002. — Vol. 2, №1. — P. 6.
10. Blasig J., Herz A., Reinhold K., Zieglansberger S. Development of physical dependence on morphine in respect to time and dosage and quantification of the precipitated withdrawal syndrome in rats // Psychopharmacologia (Berl.). — 1973. — Vol. 33. — P. 19—38.
11. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent // Anal. Biochem. — 1968. — Vol. 25. — P. 192—205.
12. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1972. — Vol. 46. — P. 849—855.
13. Калан В.Е., Прилипко Л.Л., Савов В.М. и др. Участие активных форм кислорода в ферментативном окислении липидов в биомембранах // Биохимия. — 1979. — Т. 44. — С. 379—385.
14. Misko T.P., Schilling R.J., Salvemini D., Moore W.M., Currie M.G. A fluorometric assay for the measurement of nitrite in biological samples // Anal. Biochem. — 1993. — Vol. 214. — P. 11—16.
15. Bredt D.S., Snyder S.H. Nitric oxide mediates glutamate-linked enhancement of cGMP levels in the cerebellum // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1989. — Vol. 86. — P. 9030—9033.
16. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein binding // Anal. Biochem. — 1976. — Vol. 72. — P. 248—254.
17. Pras N., Wichers K.J., Bruins A.P. et al. // Plant. Cell. Tissue. Organ. Cult. — 1988. — Vol. 13. — P. 15—26.
18. William S., Sekar N., Subramanian S., Govindasamy S. Toxic effect of morphine and the antagonistic role of naloxone on isolated rat hepatocytes // Biochem. Int. — 1991. — Vol. 23. — P. 1071—1077.
19. Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Надеждин А.В., Баронцев В.Ю., Усманова Н.Н. Перекисное окисление липидов, система антипероксидальной защиты плазмы крови и патология печени и сердца у подростков, злоупотребляющих героинами // Вопр. мед. хим. — 1999. — Т. 45. — С. 501—506.
20. Atici S., Cinel I., Cinel L., Doruk N., Eskandari G., Oral U. Liver and kidney toxicity in chronic use of opioids: an experimental long term treatment model // J. Biosci. — 2005. — Vol. 30. — P. 245—252.
21. Дудко Т.Н., Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Баронцев В.Ю., Алябьева Т.Н., Перегуд Д.И. Гепатопротекторное и антиоксидантное действие мексиданта (оксиметилэтил пиридина сукцината) в комплексном лечении больных наркоманией // Вопр. наркологии. — 2003. — №3. — С. 4—10.
22. Yu Q., Wu C., Zeng Y. et al. // Zhongguo Yalixue Yu Dulixue Zazhi. — 1990. — Vol. 4. — P. 235—236.
23. Taylor B.S., Alarcon L.H., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase in the liver: regulation and function // Biochemistry (Mosc). — 1998. — Vol. 63. — P. 766—781.
24. Zhu W., Fung P.C. The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCl(4)-induced acute liver injury of mice // Free Radic. Biol. Med. — 2000. — Vol. 29. — P. 870—880.
25. Lysle D.T., How T. Heroin modulates the expression of inducible nitric oxide synthase // Immunopharmacology. — 2000. — Vol. 46. — P. 181—192.
26. Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev. — 1991. — Vol. 43. — P. 109—142.
27. Cami J., Farre M. Drug addiction // N. Engl. J. Med. — 2003. — Vol. 349. — P. 975—986.
28. Ozek M., Uresin Y., Gungor M. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice // Life Sci. — 2003. — Vol. 72. — P. 1943—1951.
29. Leza J.C., Lizasoain I., Cuellar B. et al. Correlation between brain nitric oxide synthase activity and opiate withdrawal // Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. — 1996. — Vol. 353. — P. 349—354.
30. Cappendijk S.L.T., Garrelts I.M., Dzolic M.R. // Nitric oxide in the nervous system. 1994. Laurentians Mountains. Montreal, Canada, Abstracts 1—18.
31. Cuellar B., Fernandez A.P., Lizasoain I. et al. Up-regulation of neuronal NO synthase immunoreactivity in opiate dependence and withdrawal // Psychopharmacology (Berl.). — 2000. — Vol. 148. — P. 66—73.

**THE ANTIOXIDANT DRUG AUROL CAN ARRESTS MORPHINE WITHDRAWAL SYNDROME:
BEHAVIOURAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS**

PEREGUD D.I.	PhD student, National Research Center on Addictions, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow
ONUFRIEV M.V.	PhD, Senior Researcher, Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
STEPANICHEV M.Y.	PhD, Senior Researcher, Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
LAZAREVA N.A.	researcher, Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
YAKOVLEV A.A.	PhD student, Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow region, Dolgoprudny
BARONETS V.Y.	Senior Researcher, Laboratory of Biochemistry, National Research Center on Addictions, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow
PANCHENKO L.F.	academician of RAMS, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Biochemistry, National Research Center on Addictions, Ministry of Health of Russian Federation
GULYAEVA N.V.	D.Sc., Head of the Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow

Effects of the antioxidant aurol on behavioral manifestations of the morphine withdrawal syndrome, as well as on liver free radical homeostasis and nitric oxide system in the liver and brain were studied. Aurol attenuated specific signs of morphine withdrawal. The antioxidant demonstrated some hepatoprotective potency by decreasing hyperenzymemia and oxidative stress during morphine abstinence. Aurol partially normalized specific changes of the brain region nitric oxide system induced by morphine withdrawal. Aurol is suggested to be a perspective drug with combined action in therapy of visceral and central consequences of morphine withdrawal syndrome.