

Динамика самостимуляции латерального гипоталамуса при введении психоактивных веществ в возрастающих дозах (форсированном введении веществ)*

ШАБАНОВ П.Д.

д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург; e-mail: pdshabanov@mail.ru

ЛЕБЕДЕВ А.А.

д.б.н., старший научный сотрудник Физиологического отдела им. И.П. Павлова НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург; e-mail: aalebedev@yandex.ru

КОРНИЛОВ В.А.

соискатель кафедры фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Целью работы была оценка действия ряда наркогенов на подкрепляющие свойства самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс при форсированном градуальном способе введения веществ. Крысы-самцы Вистар с имплантированными в латеральный гипоталамус электродами в течение 4 дней подряд внутрибрюшинно получали в возрастающих дозах: 1) физиологический раствор (контроль; 0,1–0,2–0,4–0,8 мл/крысу), 2) психомоторный стимулятор фенамин (0,5–1,0–2,0–4,0 мг/кг); 3) наркотический анагетик фентанил (0,00625–0,0125–0,025–0,05 мг/кг), 4) этанол (0,5–1,0–2,0–4,0 г/кг), 5) снотворное барбитурового ряда этаминал натрия (2,5–5–10–20 мг/кг) или 6) синтетический глюкокортикоид дексаметазон (0,5–1,0–2,0–4,0 мг/кг). В процессе введения у крыс исследовали реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса. Форсированное (в возрастающих дозах) введение различных психоактивных веществ выявило следующую закономерность: подкрепляющие эффекты психостимулятора фенамина и опиоидного анагетика фентанила возрастают по мере увеличения дозы веществ. Дексаметазон оказывает модулирующее действие на самостимуляцию, повышая (на 2-й день введения, доза 1 мг/кг) или подавляя (на 3-й день введения, доза 2 мг/кг) ее. Этанол умеренно активизирует реакцию самостимуляции в дозах 1–2 г/кг. И, наконец, этаминал-натрий в целом оказывает умеренное угнетающее действие на реакцию самостимуляции независимо от дозы, повышая пороги самостимуляции. Сделан вывод, что самостимуляция является удобным методом оценки подкрепляющих свойств фармакологических веществ при их форсированном способе введения.

Ключевые слова: форсированная наркотизация, наркогены, самостимуляция мозга, фенамин, фентанил, этаминал-натрий, этанол, дексаметазон

Введение

Безусловные подкрепляющие (первично подкрепляющие) свойства фармакологических веществ исследуют, как правило, в моделях, связанных с самостимуляцией мозговых структур или самовведением [2, 5–8]. При этом в обоих типах тестов животное вначале обучают инструментальному рефлексу нажатия на педаль или заглядывания в специальное отверстие. После достижения критерия обучения (стабильного воспроизведения реакции) вводят исследуемое вещество либо однократно, либо в виде курса. Выбор дозировок веществ определяется типовой поведенческой реакцией на введение вещества. Фармакологические вещества, обладающие наркогенным потенциалом (способностью вызывать зависимость) применяют по аналогичной схеме, иногда увеличивая дозы. В последние годы активно стали при-

меняться так называемые форсированные режимы наркотизации, когда вещество вводят либо непродолжительно, но в возрастающих дозах (как правило, каждый раз доза вдвое превышает предыдущую), либо не меняя дозы при введении веществ заведомо в завышенных дозах, либо путем парентерального или ингаляционного введения достаточно больших доз веществ [1, 4, 7]. Такие способы наркотизации предупреждают формирование толерантности к изучаемому соединению, достаточно удобны для экспериментальных целей и не требуют длительного введения веществ [5, 11]. Во всех используемых схемах наркотизации экспериментатора интересуют, прежде всего, ее результат, т.е. формирование элементов зависимости, оцениваемое, как правило, по наличию синдрома отмены, но практически никогда не интересуют сам процесс наркотизации и становление этих элементов зависимости.

* Работа поддержана грантами РФФИ 07-04-00549а и РФФИ 06-04-00346а

Целью настоящей работы была оценка действия ряда фармакологических веществ, обладающих способностью вызывать зависимость (наркогенным потенциалом), на подкрепляющие свойства самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс при форсированном градуальном способе введения веществ.

Материалы и методы исследования

Выбор животных

Опыты выполнены на 76 крысах-самцах Вистар массой 220—250 г, полученных из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках по 5 особей в каждой в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света 8.00—20.00 при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Все опыты проведены в осенне-зимний период.

Вживление электродов и канюль в структуры мозга

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—0,30 мм, его толщина 0,12 мм) по следующим координатам: AP=2,5 мм назад от брегмы, SD=2,0 мм латерально от сагитального шва, H=8,4 мм от поверхности черепа согласно атласу К. Кенига и А. Клиппеля [9]. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе животного. Электроды фиксировали на черепе животного самотвердеющей пластмассой. Поведенческие эксперименты начинали не ранее 10 дней после операции.

По окончании всех опытов проводили 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.

Методы самораздражения мозга у крыс

Использовали классический вариант изучения самораздражения 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, пороговые значения тока в режиме «фиксированных пачек»). Для повтор-

ного раздражения животное было вынуждено вновь нажимать на педаль. Частота и длительность нажатий регистрировались автоматически. Анализировали частоту и время каждого нажатия на педаль. На основании этих результатов вычисляли коэффициент «рассогласования» [2, 8]. Коэффициент «рассогласования» принимает значения от -1 до +1 и показывает долю активации положительной и отрицательной подкрепляющей фазы самостимуляции. Уменьшение коэффициента «рассогласования» указывает на уровень подкрепляющих свойств самостимуляции, вследствие чего коэффициент «рассогласования» является удобным дополнительным показателем для оценки действия фармакологических препаратов. Регистрировали число нажатий на педаль и коэффициент «рассогласования» в течение 10 мин эксперимента, затем производили внутривентрикулярную инъекцию препарата, и через 15—20 мин регистрировали те же показатели (число нажатий на педаль и коэффициент «рассогласования») за 10-минутный интервал времени.

Фармакологические вещества

Все животные были разделены на несколько групп, которые в течение 4 дней подряд внутривентрикулярно получали в возрастающих дозах:

- 1) физиологический раствор (контроль; 0,1—0,2—0,4—0,8 мл/крысу);
- 2) психомоторный стимулятор фенамин (0,5—1,0—2,0—4,0 мг/кг);
- 3) наркотический анальгетик фентанил (0,00625—0,0125—0,025—0,05 мг/кг);
- 4) этанол (0,5—1,0—2,0—4,0 г/кг);
- 5) снотворное барбитурового ряда этаминал натрия (2,5—5—10—20 мг/кг);
- 6) синтетический глюкокортикоид дексаметазон (0,5—1,0—2,0—4,0 мг/кг).

Форсированный режим введения препаратов предусматривал повышение дозы препарата вдвое в каждый последующий день введения (всего 4 введения). Такой способ введения обеспечивает градуальную нагрузку организма препаратом и препятствует развитию толерантности. Данный способ активно применяется для ускоренного формирования зависимости (или отдельных ее признаков) от ряда наркогенов [1].

Статистическая обработка полученных результатов

Выборка для каждой группы животных составила не менее 10—12 крыс. Результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента, непараметрического критерия U Вилкоксона—Манна—Уитни, дисперсионного анализа по методу ANOVA на персональном компьютере Pentium IV 2300 мГц.

Результаты исследования и их обсуждение

Форсированное введение наркогенов (фенамина, фентанила, этаминал-натрия, этанола и дексаметазона) в течение 4 дней в возрастающих дозах выявило ряд характерных особенностей.

В 1-й день введения веществ в обычных (средних) дозах только фенамин (0,5 мг/кг) вызывал активацию реакции самостимуляции. Прирост числа нажатий на педаль составил в этом случае 33% с 245±33 до 325±23 нажатий после введения фенамина. Коэффициент «рассогласования» при этом снижался с

0,15±0,03 до 0,09±0,02, что указывает на активацию внутримозговых систем подкрепления (табл. 1).

Во 2-й день введения (двойные дозы веществ) активирующее действие выявлено у фенамина (+38%) и дексаметазона (+33%). При этом дексаметазон существенно снижал и пороги самостимуляции с 211±23 до 166±13 мкА. Тенденцию к повышению числа нажатий на педаль регистрировали у фентанила (+18%) и этанола (+10%). Параллельно этому достоверно снижались значения коэффициентов «рассогласования». Напротив, этаминал-натрий

Таблица

Влияние психоактивных веществ (фенамина, фентанила, этаминал-натрия, этанола и дексаметазона) на показатели самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс после их форсированного введения в течение 4 дней

Препараты	Число нажатий на педаль за 10 мин		Коэффициент "рассогласования"	
	До введения (%)	После введения (%)	До введения	После введения
1-й день				
0,9%-ный раствор NaCl (контроль)	147±16 (100±11)	161±12 (110±8)	0,21±0,02	0,20±0,01
Фенамин	245±33 (100±13)	325±23** (133±9)	0,15±0,03	0,09±0,02**
Фентанил	210±19 (100±9)	241±18 (115±9)	0,28±0,03	0,23±0,06
Этаминал-натрий	148±21 (100±15)	122±15 (82±10)	0,17±0,01	0,23±0,03
Этанол	155±21 (100±14)	166±17 (107±11)	0,33±0,11	0,21±0,07#
Дексаметазон	182±19 (100±10)	167±15 (92±8)	0,25±0,04	0,31±0,05
2-й день				
0,9%-ный раствор NaCl (контроль)	152±12 (100±8)	143±23 (94±15)	0,34±0,03	0,26±0,05
Фенамин	234±17 (100±7)	322±29** (138±12)	0,25±0,05	0,11±0,02**
Фентанил	214±21 (100±20)	246±15 (118±11)	0,22±0,02	0,13±0,04**
Этаминал-натрий	188±23 (100±12)	136±19# (72±10)	0,19±0,06	0,16±0,02*
Этанол	134±13 (100±10)	147±20 (110±15)	0,21±0,02	0,14±0,05**
Дексаметазон	175±17 (100±10)	232±22** (133±13)	0,24±0,03	0,15±0,04**
3-й день				
0,9%-ный раствор NaCl (контроль)	161±11 (100±7)	144±24 (89±15)	0,14±0,03	0,18±0,06
Фенамин	214±16 (100±7)	307±23** (143±11)	0,21±0,04	0,12±0,03#
Фентанил	202±31 (100±15)	256±13** (127±6)	0,20±0,03	0,18±0,05
Этаминал-натрий	170±23 (100±14)	155±17 (91±10)	0,21±0,02	0,20±0,01
Этанол	156±14 (100±9)	191±16** (122±10)	0,25±0,05	0,31±0,12
Дексаметазон	177±12 (100±7)	124±18** (70±5)	0,19±0,06	0,27±0,03
4-й день				
0,9%-ный раствор NaCl (контроль)	142±22 (100±15)	156±17 (110±12)	0,13±0,04	0,18±0,03
Фенамин	203±31 (100±15)	337±26** (166±13)	0,32±0,10	0,11±0,03**
Фентанил	177±19 (100±11)	231±25** (131±14)	0,20±0,05	0,16±0,03
Этаминал-натрий	201±17 (100±8)	177±14 (88±7)	0,15±0,02	0,21±0,03#
Этанол	147±16 (100±11)	161±12 (110±8)	0,21±0,02	0,20±0,01
Дексаметазон	156±11 (100±7)	140±19 (90±12)	0,25±0,04	0,29±0,01

Примечание. * — p<0,05 в сравнении с группой контроля; # — p<0,05 в сравнении с показателями до введения наркогенов

на 28% угнетал самостимуляцию латерального гипоталамуса. Ни один из исследованных препаратов (за исключением дексаметазона) достоверно не менял пороги самостимуляции.

В 3-й день введения (4-кратные дозы веществ) психоактивирующее действие наблюдали у фенамина (+43%), фентанила (+27%) и этанола (+22%). Фенамин и фентанил снижали пороги самостимуляции с 132 ± 9 до 120 ± 11 и с 218 ± 20 до 166 ± 24 мкА соответственно. В то же время дексаметазон на 30% снижал число нажатий на педаль в камере Скиннера, повышая пороги самостимуляции с 210 ± 25 до 276 ± 20 мкА.

В 4-й день введения (8-кратные дозы веществ) активирующее самостимуляцию действие сохранялось лишь у фенамина (возрастало до +66%) и фентанила (+31%). Параллельно фенамин и фентанил снижали пороги самостимуляции с 173 ± 11 до 112 ± 32 и с 210 ± 18 до 155 ± 14 мкА соответственно. Умеренное угнетение (достоверно лишь по значениям коэффициента «рассогласования») наблюдали у этаминала-натрия (-12%). Пороги самостимуляции при этом не изменялись.

Таким образом, форсированное (в возрастающих дозах) введение различных психоактивных веществ выявило следующую закономерность: у психостимулятора фенамина и опиоидного анальгетика фентанила подкрепляющие эффекты возрастают по мере увеличения их дозы. Дексаметазон оказывает модулирующее действие на самостимуляцию, повышая (на 2-й день введения, доза 1 мг/кг) или подавляя (на 3-й день введения, доза 2 мг/кг) ее. Этанол умеренно активирует реакцию самостимуляции в дозах 1—2 г/кг. И, наконец, этаминал-натрий в целом оказывает умеренное угнетающее действие на реакцию самостимуляции независимо от дозы, повышая пороги самостимуляции.

Реакция самостимуляции мозга является жестко детерминированной безусловной рефлекторной реакцией. Она сравнительно мало подвержена колебаниям и, как правило, имеет определенную мощность (потенциал) реализации, характеризующую способность животного отвечать на электрическое раздражение мозга. Существенно изменить реакцию самостимуляции могут лишь мощные психомоторные стимуляторы амфетаминового типа (активировать ее) или препараты депримирующего действия (нейролептики, транквилизаторы). Тем не менее, реакцию самостимуляции часто используют для оценки подкрепляющих свойств психоактивных веществ [2, 3].

Использование форсированного способа введения психоактивных веществ, обладающих наркотическим потенциалом, позволяет, с одной стороны, выявить

дозы веществ, наиболее активные в отношении реализации реакции самостимуляции, с другой стороны, оценить подкрепляющие свойства препарата в достаточно широком диапазоне доз.

Так, в наших опытах фенамин и фентанил в широком диапазоне доз активировали реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса, причем эффект возрастал пропорционально использованной дозе веществ вплоть до максимально переносимых доз. При этом фенамин был приблизительно в 2 раза активнее фентанила. Этот феномен мы отмечали и раньше в отношении опиоидного анальгетика морфина [2, 10]. В то же время этанол оказывал умеренный психоактивирующий эффект, но в больших дозах (1—2 г/кг). Нужно отметить, что используемые в подобного рода опытах дозы этанола, как правило, значительно ниже, поскольку в дозе 2 г/кг, например, этанол вызывает выраженное нарушение поведения (неустойчивая походка, появление стереотипий, повышенная двигательная активность).

Дексаметазон, как было показано нами ранее [5—8, 12], в диапазоне доз 0,125—1 мг/кг активировал подкрепляющие системы мозга. В приведенных в данной статье опытах дексаметазон (1 мг/кг, 2-й день введения) также стимулировал реакцию самораздражения мозга. Увеличение дозы в 2 раза (до 2 мг/кг) инвертировало эффект дексаметазона на ингибирующий. Это в целом укладывается в представления, что дексаметазон активирует мозговые системы подкрепления только в определенном диапазоне доз [10, 11]. При этом известно, что дексаметазон вызывает максимальную экспрессию мРНК для кортиколиберина в гипоталамусе в сравнении с другими наркотиками [6, 7].

И, наконец, этаминал-натрий оказывал умеренное угнетающее действие на реакцию самостимуляции, повышая при этом пороги самостимуляции. Ранее нами было показано, что этаминал-натрий может активировать подкрепляющие системы мозга, причем даже сильнее, чем морфин [2, 10]. Видимо при форсированном режиме введения данный феномен не проявляется.

Полученные данные позволяют с позиции вовлечения подкрепляющих систем мозга оценить форсированный способ наркотизации. Безусловно, такой метод введения психоактивных веществ в возрастающих дозах имеет право на жизнь, поскольку в целом отражает характер действия наркотиков на подкрепление.

Любопытно отметить, что для психостимуляторов (фенамин) и опиатов (фентанил) подкрепляющие свойства наркотиков в данном тесте возрастают. Аналогичную, но более абортивную форму влияния на подкрепление регистрировали для этанола и дексаметазона. И лишь барбитурат этаминал-натрий не выявил четких позитивных характеристик подкрепления.

Все это позволяет сделать вывод, что форсированный способ введения психоактивных веществ может с успехом быть использован для оценки их наркотических свойств.

Выводы

1. Форсированное (в возрастающих дозах) введение различных психоактивных веществ (фенамина, фентанила, этанола, этаминал-натрия, дексаметазона) вызывает формирование элементов зависимости от данных веществ.

2. При форсированном способе введения подкрепляющие эффекты психостимулятора фенамина и опиоидного анальгетика фентанила возрастают по мере увеличения дозы веществ; дексаметазон в зависимости от дозы (0,5—2 мг/кг) оказывает модулирующее действие на самостимуляцию, повышая или подавляя ее; этанол умеренно активизирует реакцию самостимуляции в дозах 1—2 г/кг; этаминал-натрий в целом оказывает умеренное угнетающее действие на реакцию самостимуляции независимо от дозы, повышая пороги самостимуляции.

3. Реакция самостимуляции латерального гипоталамуса является удобным методом оценки подкрепляющих свойств фармакологических веществ при форсированном способе их введения.

Список литературы

1. Константинопольский М.Б., Чернякова И.В., Майский А.И., Гудашева Т.А. Влияние дипептидных триптофансодержащих аналогов холецистокинина-4 на синдром отмены и анальгетический эффект морфина у крыс // Биологические

основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам. Матер. 4-й междунар. конф. — М., 2006. — С. 41.

2. Лебедев А.А., Павленко В.П., Воейков И.М. и др. Разное функциональное участие рецепторов кортиколиберина гипоталамуса и миндалины в эмоциогенных эффектах психотропных средств при блокаде рецепторов астрессинном // Психофармакол. и биол. наркол. — 2006. — Т. 6, №1—2. — С. 1204—1211.

3. Шабанов П.Д. Психофармакология. — СПб.: Элби-СПб., 2008. — 416 с.

4. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма. — СПб.: Лань, 1998. — 272 с.

5. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Экспрессия мРНК кортиколиберина и вазопрессина в гипоталамусе и миндалине крыс при введении дексаметазона и психоактивных веществ // Психофармакол. и биол. наркол. — 2008. — Т. 8, №1—2. — С. 2383.

6. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Экспрессия мРНК кортиколиберина и вазопрессина в гипоталамусе и миндалине крыс при введении наркотиков // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2008. — Т. 146, №9. — С. 292—296.

7. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Экспрессия мРНК кортиколиберина и вазопрессина в гипоталамусе и миндалине крыс при введении психоактивных веществ // Эксперим. и клин. фармакол. — 2008. — Т. 71, №4. — С. 3—6.

8. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мещеров Ш.К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. — СПб.: Лань, 2002. — 208 с.

9. Koenig K.P., Klippel A.A. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. — Baltimore, 1963. — 214 p.

10. Shabanov P.D. The extended amygdala CRF receptors regulate the reinforcing effect of self-stimulation // Int. J. Addiction Res. — 2008. — Vol. 1, №1. — P. 200—204.

11. Shabanov P.D., Lebedev A.A. Expression of mRNA for corticotropin and vasopressin in hypothalamus and amygdala of rats following administration of psychoactive drugs // Int. J. Neuropsychopharmacol. — 2008. — Vol. 11. — Suppl. 1. — P. 237.

12. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Streltsov V.F., Pavlenko V.P. Involvement of amygdaloid and hypothalamic CRF receptors in the reinforcing effects of psychoactive drugs in rats // Eur. Neuropsychopharmacol. — 2008. — Vol. 18. — Suppl. 4. — P. S540.

DYNAMICS OF SELF-STIMULATION OF THE LATERAL HYPOTHALAMUS DURING ADMINISTRATION OF PSYCHOACTIVE DRUGS IN ELEVATED DOSES (FORCED ADMINISTRATION OF DRUGS)

SHABANOV P.D.

Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Head, Dept. of Pharmacology, Military Medical Academy, St. Petersburg; e-mail: pdshabanov@mail.ru

LEBEDEV A.A.

Dr. Biol. Sci. (Physiology), Senior Researcher, I.P. Pavlov Dept. of Physiology, Research Institute of Experimental Medicine RAMS, St. Petersburg; e-mail: aalebedev@yandex.ru

KORNILOV V.A.

Fellow, Dept. of Pharmacology, Military Medical Academy, St. Petersburg; e-mail: pdshabanov@mail.ru

The purpose of the paper was to evaluate the action of a number of narcogenics on the reinforcing properties of hypothalamic self-stimulation in rats during the forced gradual administration of the drugs. Wistar rats with implanted into the lateral hypothalamus electrodes received within 4 days i.p. the following drugs in elevated doses: 1) physiological saline (control; 0.1—0.2—0.4—0.8 ml/rat), 2) psychostimulant amphetamine (0.5—1.0—2.0—4.0 mg/kg); 3) opioid fentanyl (0.00625—0.0125—0.025—0.05 mg/kg), 4) ethanol 40% solution (0.5—1.0—2.0—4.0 g/kg), 5) barbiturate sodium ethaminal (2.5—5—10—20 mg/kg) or 6) synthetic glucocorticoid dexamethasone (0.5—1.0—2.0—4.0 mg/kg). The forced regimen of drug administration led to gradual load of the organism and prevented drug tolerance. The self-stimulation reaction of the lateral hypothalamus was registered every day within drug administration. The forced (in elevated doses) administration of psychoactive drugs revealed the following regularity: firstly, the dose-dependent effect of psychostimulant amphetamine and opioid fentanyl; secondly, dexamethasone modulated self-stimulation, increasing (2 day, 1 mg/kg) or decreasing it (3 day, 2 mg/kg); thirdly, ethanol (1—2 g/kg) activated self-stimulation slightly. At last, sodium ethaminal slightly inhibited self-stimulation and increased the thresholds of self-stimulation. Therefore, self-stimulation reaction is suitable method to evaluate the reinforcing properties of drugs after their forced administration.

Key words: forced narcotization, narcogenic, self-stimulation, amphetamine, fentanyl, sodium ethaminal, ethanol, dexamethasone