

Воздействие на периферические опиоидные рецепторы изменяет морфиновую анальгезию, толерантность и зависимость*

СУДАКОВ С.К. член-корреспондент РАМН, профессор, рук. лаборатории, НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, НИИ морфологии человека РАМН, Москва, Моховая ул., д. 11, стр. 4, тел.: (495) 601-22-45
ТРИГУБ М.М. к.б.н., н.с., НИИ морфологии человека РАМН, Москва
БАШКАТОВА В.Г. д.б.н., вед. н.с., НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва

Целью данного исследования было изучение влияния периферического введения лигандов μ -опиоидных рецепторов лоперамида и метилналлоксона на показатели болевой чувствительности, морфиновую анальгезию, толерантность к анальгетическому действию морфина и проявлению физической зависимости у крыс. Эксперименты были выполнены на 140 самцах крыс линии Wistar. Результаты показали, что при периферическом введении антагониста μ -опиоидных рецепторов метилналлоксона наблюдался выраженный анальгетический эффект. Агонист этих рецепторов лоперамид не оказывал подобного действия. При исследовании морфиновой анальгезии выявлен значительный анальгетический эффект и метилналлоксона, и лоперамида, начиная со второго часа после введения морфина, когда анальгетическое влияние последнего уже прекращалось. В экспериментах по изучению формирования физической зависимости от морфина животным вводили морфин гидрохлорид в возрастающих дозах по стандартной методике в течение 14 дней. Контрольные крысы вместо морфина получали инъекции хлорида натрия по той же схеме введения. Через 1 ч после последней инъекции всех крыс тестировали в установке «открытое поле» для регистрации появления специфических абстинентных реакций. Установлено, что периферическое введение иодида метилналлоксона в дозе 2 мг/кг приводило к менее выраженному проявлению синдрома абстиненции у морфинзависимых животных по сравнению с крысами, которым вместо метилналлоксона вводили изотонический раствор хлорида натрия. Полученные данные свидетельствуют о том, что периферическое введение лоперамида и метилналлоксона оказывает влияние на центральные механизмы восприятия болевых стимулов, что подтверждает гипотезу реципрокного взаимодействия центрального и периферического отделов эндогенной опиоидной системы.

Ключевые слова: периферические опиоидные рецепторы, морфиновая анальгезия, зависимость, толерантность

Введение

Распространенность злоупотребления психоактивными веществами, в том числе наркотическими средствами, имеет постоянную тенденцию к росту [4, 13]. Известно, что наиболее широко распространенными наркотиками в мире в настоящее время являются опиаты [15]. Введение в организм человека или животного опиатов приводит к различным эффектам. Так, острое введение классического опиата морфина вызывает ряд эффектов, наиболее яркими из которых является анальгетический и положительноподкрепляющий. Эти эффекты связаны, в первую очередь, с тем, что опиаты специфически влияют на эндогенную опиоидную систему, связываясь с опиоидными рецепторами. Хроническое же введение морфина или других опиатов вызывает каскад внутриклеточных метаболических изменений [18], что приводит к формированию толерантности к анальгетическому и другим эффектам морфина, а также к развитию ведущего синдрома в клинике наркологических заболеваний — синдрома зависимости [1].

Несмотря на наличие ряда выраженных побочных эффектов опиатов (они способны угнетать дыхание, моторику желудочно-кишечного тракта, вызывать рвоту, привыкание и зависимость), опиоидные анальгетики (морфин и его производные) до сих пор остаются наиболее эффективной группой лекарственных препаратов, применяемых для купирования острой боли, например при тяжелых ранениях и онкологических заболеваниях [2, 3, 7, 17]. Все остальные группы имеющихся на сегодня анальгетических лекарственных средств (ненаркотические анальгетики, нестероидные противовоспалительные препараты) недостаточно эффективны для снижения интенсивности сильных болей острого и/или хронического происхождения. По-видимому, это обусловлено тем обстоятельством, что именно эндогенная опиоидергическая система, которая является основной фармакологической мишенью для действия морфина и его производных, играет ключевую роль в регуляции болевой чувствительности и анальгезии [5].

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №08-04-00780)

Эндогенная опиоидергическая система была открыта и описана более 30 лет назад [12]. Эндогенные опиоидные рецепторы трех подтипов (μ -, κ -, δ -) были обнаружены как в различных отделах центральной нервной системы (ЦНС), так и во многих периферических органах и тканях. Известно, что структура опиоидных рецепторов и опиоидных лигандов (пептидов) в ЦНС и на периферии одинакова, что достигается непроницаемостью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для большинства опиоидных пептидов [11, 14]. В связи с этим центральные и периферические функции эндогенной опиоидной системы исследуются раздельно. В литературе имеются единичные работы по исследованию центральных эффектов периферического введения лигандов опиоидных рецепторов, не проникающих через ГЭБ. Так, подкожное введение животным конъюгированных форм β -эндорфина (опиоидного пептида, не проникающего через ГЭБ) вызывало активацию пищевого поведения, которое, как известно, контролируется ЦНС [6]. Показано также подавление судорожной активности в коре мозга мышей DBA/2, которым периферически вводили аналог β -эндорфина [10]. Фрагмент β -эндорфина 1-27, введенный периферически, подавлял, подобно налоксону, стресс-вызванную анальгезию [19]. Однако механизмы этих эффектов оставались до сих пор неясными. Для объяснения этих данных литературы, а также результатов собственных экспериментов нами была выдвинута гипотеза о реципрокном взаимодействии центрального и периферического звеньев эндогенной опиоидной системы [9]. Согласно этой гипотезе, подавление активности периферического звена приводит к активации центрального, а активация периферических опиоидных рецепторов должна подавлять активность центральных. С целью проверки этого предположения было исследовано влияние периферического введения лигандов μ -опиоидных рецепторов лоперамида и метилналоксона на показатели болевой чувствительности, морфиную анальгезию, толерантность к анальгетическому действию морфина и проявления физической зависимости у крыс.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на 140 самцах крыс линии Wistar. Крыс содержали в условиях искусственного освещения (12 ч в сутки).

Анальгезия и толерантность

Исследование болевой чувствительности и толерантности к анальгетическому действию морфина проводилось на 60 крысах самцах линии Вистар с начальной массой 140—180 г. Животные содержались

в клетках по 8 особей в каждой при свободном доступе к воде и стандартному комбинированному корму. После периода адаптации к условиям вивария животные были разделены на 3 группы (по 8 животных в каждой группе). Болевую чувствительность определяли методом «отдергивания хвоста»: хвост животного погружали на 5 см в горячую воду (56°C) и определяли латентный период его извлечения крысой. У 30 крыс измеряли исходный латентный период отдергивания хвоста. Затем по 10 животных в каждой группе получали внутривентральную инъекцию изотонического раствора хлорида натрия, налоксона метиоидида (10 мг/кг) (Sigma) или лоперамида (10 мг/кг) (Sigma) соответственно. Латентный период отдергивания хвоста измеряли через 10, 30, 60, 120 и 180 мин после введения указанных веществ. Морфиную анальгезию оценивали у 30 крыс в этом же тесте после предварительного внутривентрального введения 5 мг/кг морфина гидрохлорида. Животные этой серии дополнительно получали однократные инъекции морфина в последующие двое суток. На третий день им повторяли тест «отдергивания хвоста» для определения толерантности к анальгетическому действию морфина.

Физическая зависимость и синдром отмены

Изучение формирования физической зависимости от морфина проводилось на 80 крысах линии Wistar, самцах, весом в начале экспериментов 180—200 г. Крыс содержали в условиях постоянного доступа к стандартному комбинированному корму и воде в клетках по 8—10 животных, из них на 40 крысах оценивали выраженность абстинентного синдрома.

Животным вводили морфин гидрохлорид в течение 14 дней в дозах, возраставших от 10 до 60 мг/кг, 2 раза в день с интервалом 12 ч; 40 контрольным крысам вместо морфина вводили дважды в день равный объем раствора хлорида натрия.

В экспериментах принимало участие 8 групп животных по 10 крыс в каждой группе. 4 группы — контрольные, не получавшие морфин, и 4 группы — морфинзависимые животные. Спустя 24 ч после последней инъекции морфина или изотонического раствора группе «здоровых» крыс, не получавших морфин, так же как и морфинзависимым крысам, внутривентрально вводили 1 мл/кг изотонического раствора хлорида натрия, 0,5, 2,0 или 10,0 мг/кг иодида метилналоксона трижды с интервалом в 24 ч. Через 1 ч после последней инъекции крыс индивидуально помещали в автоматизированную установку «открытое поле» на 3 мин для регистрации появления специфических абстинентных реакций: отряхиваний, нарушения дыхания, птоза, корчей, скрежета зубами, пилоэрекции, ринореи, нарушений позы и диареи.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что внутрибрюшинное введение антагониста μ -опиоидных рецепторов метилналлоксона оказывает достоверное анальгетическое действие, в то время как агонист этих рецепторов лоперамид вызывал несущественное уменьшение латентного периода отдергивания хвоста (рис. 1).

Введение морфина приводило к выраженному увеличению латентного периода отдергивания хвоста из горячей воды. К 60-й минуте после введения морфина наблюдался максимум анальгезии (до 500%), после чего латентный период снижался до исходного уровня. К 120-й минуте после введения морфина наступала незначительная, но достоверная гипералгезия. Внутрибрюшинное введение лоперамида практически не оказало влияния на динамику анальгетического действия морфина. Однако метилналлоксон, введенный внутрибрюшинно, приводил к выраженному подавлению морфинвызванной анальгезии (рис. 2). Можно отметить, что на фоне введения морфина и метилналлоксон, и лоперамид оказывали достоверное анальгетическое действие во время второго часа после введения, когда анальгетическое влияние морфина уже прекращалось.

Хорошо известно, что повторяющееся введение морфина приводит к развитию толерантности к его анальгетическому действию [16]. Действительно, в наших экспериментах на третий день введения наблюдалось снижение анальгетического действия морфина на 45% по сравнению с первым днем. Перифе-

рическое введение лоперамида приводило к тому, что анальгетическое действие морфина снизилось на третий день введения только на 17%. При введении метилналлоксона анальгетический эффект морфина ослабевал на 30% (рис. 3).

В экспериментах по изучению синдрома отмены были получены данные о том, что у морфинзависимых животных контрольной группы наблюдались признаки синдрома отмены морфина разной степени выраженности. Средний суммарный показатель, характеризующий все исследуемые общеповеденческие

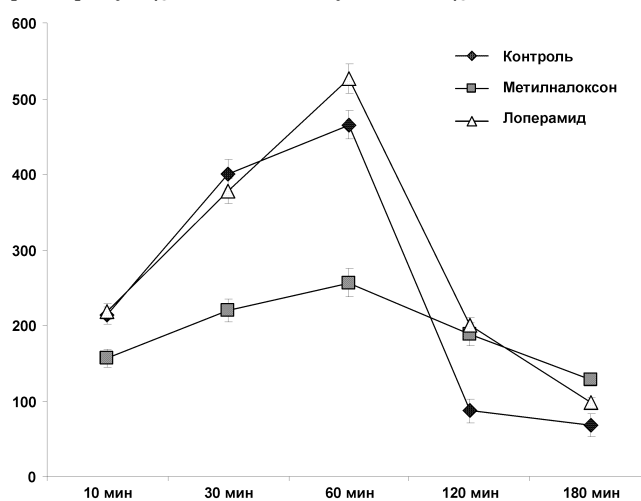


Рис. 2. Болевая чувствительность крыс при введении морфина в сочетании с изотоническим раствором хлорида натрия (контроль), метилналлоксоном и лоперамидом: по оси ординат — латентный период отдергивания хвоста в процентах к исходному; по оси абсцисс — время после введения препаратов

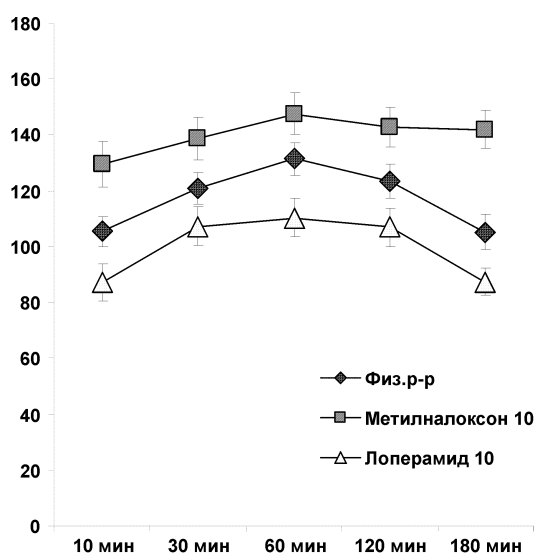


Рис. 1. Болевая чувствительность крыс при введении изотонического раствора хлорида натрия (контроль), метилналлоксона и лоперамида: по оси ординат — латентный период отдергивания хвоста в процентах к исходному; по оси абсцисс — время после введения препаратов

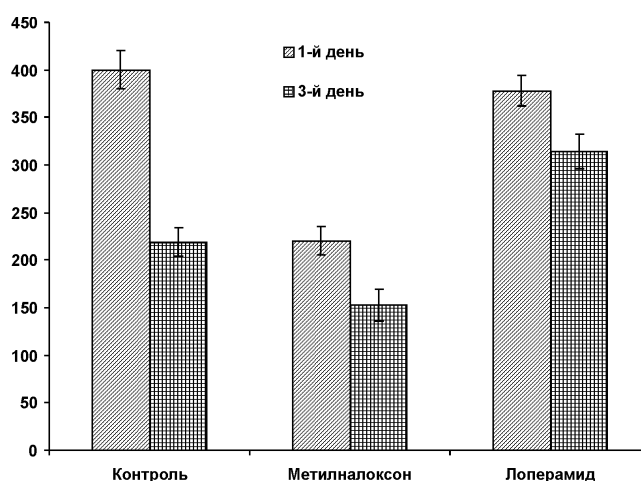


Рис. 3. Процент анальгезии (процентное отношение латентного периода на 30-й минуте после введения морфина к исходному латентному периоду отдергивания хвоста) при введении изотонического раствора хлорида натрия (контроль), метилналлоксона и лоперамида в первый и третий день эксперимента

и специфические реакции животных, в контрольной группе был равен $6,17 \pm 0,41$. «Здоровые» крысы, которым вместо морфина вводили изотонический раствор хлорида натрия, также имели определенное значение суммарного показателя ($1,54 \pm 0,12$) за счет таких неспецифических признаков, как встряхивания лапами или головой, реж — птоза и скрежета зубами. Введение иодида метилналоксона не приводило к изменению суммарного показателя у «здоровых крыс». Однако инъекции иодида метилналоксона в дозе 2 мг/кг приводили к тому, что проявление абстиненции у морфинзависимых животных было выражено меньше, чем у крыс, которым вместо метилналоксона вводили изотонический раствор хлорида натрия. Средний суммарный показатель был равен $3,2 \pm 0,13$, что почти в 2 раза меньше, чем в контроле ($p < 0,05$).

Уменьшение суммарного показателя синдрома отмены происходило, в основном, за счет таких показателей, как отряхивание «мокрой собаки», встряхивание головой и лапами, диспноэ, птоз и скрежет зубами. Метилналоксон иодид в данной дозе не снижал такие проявления абстиненции, как диарея и корчи. Препарат повышал также уровень вертикальной двигательной активности (число стоек), сниженный у зависимых животных. Таким образом, периферическое действие лоперамида и метилналоксона оказывает влияние на центральные механизмы восприятия болевых стимулов. Полученные данные хорошо согласуются с недавно полученными нами результатами о разнонаправленном воздействии агониста μ -опиоидных рецепторов лоперамида и антагониста этого подтипа рецепторов метилналоксона на плотность μ -опиоидных рецепторов в коре мозга крыс [8]. Эти факты подтверждают выдвинутую нами гипотезу реципрокного взаимодействия центрального и периферического отделов эндогенной опиоидной системы. Действительно, метилналоксон, оказывает угнетающее действие на периферические μ -опиоидные рецепторы, что, по-видимому, антагонистически приводит к активации центральных μ -опиоидных рецепторов и к развитию анальгетического эффекта. Лоперамид, наоборот, активируя периферические, по-видимому, подавляя центральные μ -опиоидные рецепторы, что вызывало гиперальгезию.

Выводы

1. Внутривентрикулярное введение антагониста μ -опиоидных рецепторов метилналоксона оказывает выраженное анальгетическое действие, в то время как агонист этих рецепторов лоперамид не проявляет подобного эффекта.

2. На фоне введения морфина оба исследуемых лиганда μ -опиоидных рецепторов (и метилналоксон, и лоперамид) оказывают достоверное анальгетическое действие начиная со второго часа после введения морфина, когда анальгетическое влияние последнего уже прекращалось.

3. Инъекции иодида метилналоксона в дозе 2 мг/кг приводят к менее выраженному проявлению синдрома абстиненции у морфинзависимых животных по сравнению с крысами, которым вместо метилналоксона вводили изотонический раствор хлорида натрия.

4. Полученные данные свидетельствуют о том, что периферическое введение лоперамида и метилналоксона оказывает влияние на центральные механизмы восприятия болевых стимулов, что подтверждает гипотезу реципрокного взаимодействия центрального и периферического отделов эндогенной опиоидной системы.

Список литературы

1. Анохина И.П. Основные биологические механизмы алкогольной и наркотической зависимости // Вопросы наркологии. — 2002. — Т. 1. — С. 33—37.
2. Воинов О.В., Бояринов Г.А. Использование морфиновой анальгезии при лечении пациентов в острой фазе ИБС // Анест. реанимат. — 2005. — №3. — С. 57—59.
3. Голиков А.П. Боль и анальгезия в экстренной кардиологии (лекция) // Тер. Архив. — 1994. — Т. 66, №10. — С. 6—10.
4. Кошкина Е.А. Распространенность употребления наркотических и других психоактивных веществ в России сегодня // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2000. — №4. — С. 15—19.
5. Игнатов Зайцев А.А., Михайлович В.А., Страшнов В.И. Адренергическая анальгезия. — СПб., 1994. — С. 10—26.
6. Котов А.В., Толпыго С.М., Судаков С.К., Бурбаева Г.Ш., Панков Ю.А. Модификация мотивационного поведения крыс путем вызванных изменений в уровне эндогенного бета-эндорфина // Бюллетень эксперим. биол. и медицины. — 1987. — Т. 104, №11. — С. 604—607.
7. Осипова Н.А. Принципы клинического использования анальгетиков, действующих через центральные механизмы // Анестезиолог. Реаниматология. — 1994. — Т. 4. — С. 16—20.
8. Проскурякова Т.В., Шохонова В.А., Чумакова Ю.П., Башкатова В.Г., Судаков С.К. Воздействие на периферические опиоидные рецепторы изменяет концентрацию мю-опиоидных рецепторов в мозге // Бюллетень эксперим. биол. и медицины. — 2007. — Т. 147, №7.
9. Судаков С.К., Тригуб М.М. Гипотеза о реципрокном взаимодействии центрального и периферического звеньев эндогенной опиоидной системы // Бюллетень эксперим. биол. и медицины. — 2008. — Т. 146, №12. — С. 604—607.
10. Capasso A., Sorrentino L., Di Giannuario A., Pieretti S., Loizzo A. Effect of des-tyrosine-gamma-endorphin on neocortical spike-and-wave spindling in DBA/2J mice // Eur. J. Pharmacol. — 1994. — Vol. 261, №1—2. — P. 209—212.
11. Egleton R.D., Abbruscato T.J., Thomas S.A., Davis T.P. Transport of opioid peptides into the central nervous system // J. Pharm. Sci. — 1998. — Vol. 87. — P. 1433—1439.
12. Hughes J. Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine // Brain Res. — 1975. — Vol. 88. — P. 295—308.

13. Gonzalez-Saiz F., Rojas O.L., Castillo I.I. Measuring the impact of psychoactive substance on health-related quality of life: an update // Curr. Drug Abuse Review. — 2009. — Vol. 2, №1. — P. 5—10.
14. Kastin A.J., Fasold M.B., Zadina J.E. Endomorphins, Met-enkephalin, Tyr-MIF-1, and the P-glycoprotein efflux system // Drug Metab. Dispos. — 2002. — Vol. 30. — P. 231—234.
15. Kreek M.J., Zhou Y., Butelman E.R., Levran O. Opiate and cocaine addiction: from bench to clinic and back to the bench // Curr. Opin. Pharmacol. — 2009. — Vol. 9, №1. — P. 74—80.
16. Laulin J.P., Celerier E., Larcher A., Le Moal M., Simonnet G. Opiate tolerance to daily heroin administration: an ap-
parent phenomenon associated with enhanced pain sensitivity // Neuroscience. — 1999. — Vol. 89, №3. — P. 631—636.
17. Manchikanti L., Singh A. Therapeutic opioids: a ten-year perspective on the complexities and complications of the escalating use, abuse, and of opioids // Pain Physician. — 2008. — Vol. 11. — Suppl. 2. — P. 63—88.
18. Passik C.D. Issues in long-term opioid therapy: unmet needs, risks, and solutions // Mayo Clin. Proc. — 2009. — Vol. 84. — P. 593—601.
19. Wong C.L., Wai M.K., Cheng H.C., Chung D., Yamashiro D. Preliminary study on the antinociceptive effect of elephant beta-endorphin // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. — 1990. — Vol. 17, №1. — P. 33—37.

ALTERATIONS IN MORPHINE-INDUCED ANALGESIA, TOLERANCE, AND DEPENDENCE BY A MODULATION OF ACTIVITY OF PERIPHERAL OPIOID RECEPTORS

SUDAKOV S.K.

Correspondent-Member RAMS, P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology,
Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

TRIGUB M.M.

Ph.D., Institute of Human Morphology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

BASHKATOVA V.G.

Dr. Sci., P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The aim of this study was to investigate an effects of peripheral administration of mu-opioid receptor ligands loperamide and methylnaloxone on pain sensitivity, formation of morphine-induced analgesia as well as development of morphine tolerance and dependence in rats. Experiments were carried out on 148 male Wistar rats. Our experiments showed that peripheral administration of mu-opioid receptor antagonist methylnaloxone produced significant analgesic effect while agonist of these receptors loperamide failed this effect. Both loperamide and methylnaloxone produced significant analgesic effect in the model of morphine-induced analgesia beginning from 2nd h after administration of morphine when its effect of was already stopped.

For the studying of development of morphine dependence rats were treated with morphine hydrochloride during 14 days using standard protocol. Controls animals received injection of isotonic saline instead of the morphine by the same scheme. The severity of withdrawal symptoms was estimated in the test «open field» 1 h after last injection. It was established that peripheral administration of methylnaloxone at dose 2 mg/kg led to less pronounced withdrawal symptoms in morphine dependent animals in comparison with rats treated with saline instead of mu opioid antagonist. In conclusion, peripheral administration of loperamide and methylnaloxone influence the central mechanisms of perception of painful stimulus. This fact confirmed the hypothesis on the reciprocal interactions between the central and peripheral compartments of the endogenous opioid system.

Key words: peripheral opioid receptors, pain sensitivity, morphine-induced analgesia, tolerance, dependence