

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
РАБОТЫ

УДК 615.21+612.014

ПРОИЗВОДНОЕ АМИНОАДАМАНТАНА ГИМАНТАН ОСЛАБЛЯЕТ
МОРФИН-ИНДУЦИРОВАННУЮ ГИПЕРЛОКОМОТОРНУЮ РЕАКЦИЮ,
МОДУЛИРУЯ АКТИВНОСТЬ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ
И СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ

© 2020 г. Л. Г. Колик¹, *, А. В. Надорова¹, В. Б. Наркевич¹, В. С. Кудрин¹

¹ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 29.12.2018 г.

После доработки 26.04.2019 г.

Принята к публикации 06.08.2019 г.

Известно, что морфин вызывает продолжительную гиперлокомоторную реакцию, усиливая высвобождение дофамина в прилежащем ядре посредством активации дофаминергических нейронов в вентральной области покрышки. Ранее была показана способность низко-аффинного антагониста NMDA-рецепторов гимантана ослаблять этанол-индуцированную стимуляцию поведения за счет воздействия на дофамин- и норадренергические системы. В данной работе изучено влияние производного аминокислоты гимантана на изменение баланса моноаминов и их метаболитов в структурах мозга мышей C57Bl/6 на фоне острого введения морфина. Гимантан в дозе 20.0 мг/кг, в/б, при однократном введении, не влияя на спонтанную двигательную активность *per se*, ослаблял индуцированную морфином (20.0 мг/кг, п/к) стимуляцию поведения ($p < 0.01$). В опытах *ex vivo* гимантан препятствовал вызываемому морфином значительному увеличению соотношения ДОФУК/ДА и 5-ОИУК/5-ОТ в стриатуме ($p < 0.05$, $p < 0.05$), ГВК/ДА в прилежащем ядре ($p < 0.01$), способствовал восстановлению показателя ДОФУК/ДА до значений контрольной группы в гипоталамусе. Полученные данные указывают на способность гимантана ингибировать морфин-индуцированную стимуляцию поведения, вероятно, через модуляцию дофаминергической и серотонинергической систем.

Ключевые слова: гимантан, морфин, гиперлокомоторная реакция, мыши C57Bl/6, прилежащее ядро, стриатум, дофамин, ВЭЖХ

DOI: 10.31857/S1027813320010136

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что подкрепляющие и психомоторные эффекты опиоидов определяются гиперполяризацией ГАМКергических интернейронов в результате активации μ -опиоидных рецепторов, что способствует растормаживанию дофаминергических нейронов в вентральной области покрышки (*ventral tegmental area*, VTA) и увеличению высвобождения дофамина (ДА) в вентральном стриатуме (*n. accumbens*), отвечающем за контроль двигательной активности и, в особенности, за формирование мотивационного поведения в ответ на действие психоактивных веществ [1, 2]. Последующая активация дофамином сопряженных с G-белками дофаминовых (D) рецепторов проявляется в изменении различных реакций, включая подкрепляющие эффекты и поведенческую сенсibilизацию. Механизмы, ответственные

за опиоид-индуцированное усиление локомоторной реакции, не нарушаются у мышей-нокаут по гену D₂-рецептора [3]. Предполагается, что за опиоид-индуцированное усиление психомоторной реакции в основном отвечают D₁-рецепторы [4] и недофаминергические системы [5]. Так, вызываемая морфином повышенная локомоторная активность купируется при системном введении антагониста D₁-рецепторов SCH23390 [6] и полностью отсутствует у мышей-нокаут по гену D₁-рецептора [7].

Согласно данным литературы, активация аденозин-3',5'-цикломонофосфата и зависимой протеинкиназы A (сАМР/РКА пути) в стриатуме опосредует психотропные эффекты многих психоактивных веществ. В работе Borgkvist A. et al. (2007) показано, что в прилежащем ядре (*n. accumbens*) у мышей морфин при остром введении вызывает увеличение фосфорилирования дофамин- и сАМР-регулирующего фосфопротеина 32 кДа (DARPP-32), которое устраняется при предвари-

* Адресат для корреспонденции: 125315 Россия, Москва, Балтийская ул., 8; тел.: (495) 601-22-38; e-mail: lgolik@mail.ru.

тельной блокаде D_1 -рецепторов, что доказывает участие cAMP/PKA/DARPP-32 пострецепторного сигнального пути в развитии психостимулирующего действия морфина [8]. Однако, наблюдаемая умеренная стимуляция двигательной активности у мышей-нокаутов DARPP-32 при введении морфина предполагает существование дополнительных сигнальных путей, участвующих в проявление данного поведения. В 2011г. Urs N.M. et al. опубликовали результаты исследований, свидетельствующие о возможной роли зависимого от активации D_1 -рецепторов сигнального комплекса бета-аррестин 2/внеклеточно сигнал-регулируемая киназа (β -arrestin2/ERK) в реализации психостимулирующего, но не подкрепляющего, действующего на систему “награды”, эффекта морфина [9]. Таким образом, многочисленные полученные экспериментальные данные указывают на вовлеченность D_1 -рецепторов в индуцированную опиоидами психостимулирующую реакцию.

В пионерской работе Bernard J. Carroll and Peter T. Sharp (1972) показано, что ДА, норадреналин (НА) и серотонин (5-ОТ) участвуют в формировании морфин-индуцированной гиперлокомоторной реакции, при этом ведущая роль принадлежит ДА-ергической системе. Кроме того, необратимый селективный ингибитор моноаминоксидазы (МАО) паргилин при одновременном введении с морфином статистически значимо увеличивал ответную реакцию на морфин [10]. С другой стороны, клоргидин, избирательный ингибитор МАО-А, заметно ослаблял психостимулирующее действие морфина [11].

Широко представленные в прилежащем ядре дофаминовые и глутаматные рецепторы посредством тесного межрецепторного взаимодействия способствуют развитию многих нейropsychических заболеваний, включая зависимость от психоактивных веществ. Так, в опытах *in vivo* выявлена роль D_3 -рецепторов в формировании морфин-индуцированной поведенческой двигательной сенсibilизации путем регулирования субъединиц ионотропных N-метил-D-аспартат(NMDA)-рецепторов в прилежащем ядре [12].

Синтезированный и фармакологически разработанный в ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” препарат для лечения болезни Паркинсона гимантан [13, 14] обладает выраженным антиаддиктивным потенциалом, доказанным в опытах *in vivo* на моделях экспериментального алкоголизма [15] и опиоидной зависимости [16]. При изучении механизма действия гимантана ранее показана его способность проявлять свойства конкурентного ингибитора МАО-В на культуре клеток [17], увеличивать плотность связывающих сайтов D_1 -рецепторов без изменения их сродства к селективным лигандам у крыс Wistar [18] и сни-

жать содержание 5-ОТ и его метаболитов в стриатуме у мышей линии C57Bl/6 в дозе 20 мг/кг [19]. Принимая во внимание многокомпонентный характер действия оригинального производного аминокислоты, включающий также неконкурентную блокаду NMDA-рецепторов [20], целью работы было изучение поведенческих эффектов и нейрохимических механизмов влияния гимантана на баланс моноаминов и их метаболитов в структурах мозга мышей на фоне острого введения морфина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Эксперименты выполнены на мышах-самцах линии C57Bl/6 ($n = 92$) с массой тела 22–24 г. (“Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства”, филиал “Столбовая”). Животных содержали по 15 особей в клетке стандарта Т/3 в условиях вивария ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова” при регулируемом световом режиме 12 ч/12 ч (свет/темнота) и постоянной температуре (21–23°C) со свободным доступом к воде и гранулированному корму (ГОСТ Р 50258-92) в течение 10 сут до начала тестирования в соответствии с приказом МЗ РФ № 199н от 23.08.2010 “Об утверждении Правил лабораторной практики”. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”. Для исключения влияния суточных биоритмов на скорость биосинтеза и метаболизма нейромедиаторов, эксперименты проводили между 10 и 12 ч дня.

Препараты. Гимантан (N-(2-адамантил)-гексаметиленмина гидрохлорид, субстанция, синтезированная в ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”) в дозе 20 мг/кг, внутривенно (в/в) и морфина гидрохлорид (Минмедбиопром объединение “Чимкентбиофарм”, субстанция) в дозе 20 мг/кг, подкожно, растворяли в воде для инъекций и вводили однократно из расчета 0.1 мл/10 г веса животного. Животные контрольных групп получали воду для инъекций в эквивалентных объемах. Выбор дозы морфина основан на данных литературы [21].

Дизайн исследования. Животных разделяли случайным образом на следующие группы:

для исследования поведения:

группа 1 “Контроль”, $n = 11$: вода для инъекций + через 30 мин вода для инъекций – посадка в актометр;

группа 2 “Морфин”, $n = 10$: вода для инъекций + через 30 мин морфин, 20 мг/кг – посадка в актометр;

группа 3 “Гимантан”, $n = 11$: Гимантан, 20 мг/кг + через 30 мин вода для инъекций – посадка в актометр;

группа 4: “Гимантан + Морфин”, $n = 12$: Гимантан, 20 мг/кг + через 30 мин морфин, 20 мг/кг – посадка в актометр;

для нейрохимических исследований (в скобках указано время экспозиции до декапитации):

группа 1 “Контроль”, $n = 12$: вода для инъекций (за 50 мин до декапитации) + вода для инъекций (20 мин);

группа 2 “Морфин”, $n = 12$: вода для инъекций (50 мин) + морфин, 20 мг/кг (20 мин);

группа 3 “Гимантан”, $n = 12$: Гимантан, 20 мг/кг (50 мин) + вода для инъекций (20 мин);

группа 4: “Гимантан + Морфин”, $n = 12$: Гимантан, 20 мг/кг (50 мин) + раствор морфина, 20 мг/кг (20 мин).

Поведенческие исследования. Спонтанную двигательную активность мышцей оценивали в актометре Opto-Varimex 4 (Columbus Instruments, США). Установка представляет собой квадратную плексигласовую арену со сторонами 42×42 см и высотой 20 см. По периметру арены расположены четыре пары чувствительных оптоэлектронных датчиков ($\lambda = 875$ нм) на высоте 2 см от пола, автоматически регистрирующие параметры двигательной активности животных (пройденное расстояние, см) и передающие их на блок управления, соединенный с компьютером. Двигательную активность животных регистрировали непрерывно в течение 30 мин [22, 23].

Нейрохимические исследования. Структуры головного мозга (фронтальная кора (ФК), гипоталамус, миндалевидное тело, прилежащее ядро, стриатум и гиппокамп) извлекали на льду и замораживали в жидком азоте. После этого выделенные структуры размельчали в 1 мл среды выделения в гомогенизаторе (тефлон–стекло) при 10°C и скорости вращения пестика 3000 об./мин. В качестве среды выделения использовали 0.1 н HClO_4 с добавлением дигидроксибензиламина (ДГБА, 0.25 нмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта. Пробы центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин. Получившийся супернатант в дальнейшем использовали для определения содержания моноаминов и их метаболитов: НА (норадреналин), ДА (дофамин), ДОФУК (3,4-диокси(гидрокси)фенилуксусная кислота), ГВК (гомованилиновая кислота), 3-МТ (3-метокситирамин), 5-ОТ (серотонин), 5-ОИУК (5-оксииндолуксусная кислота). Содержание моноаминов и их метаболитов определялось с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) на хроматографе LC-304T (BAS, West Lafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125 (петля для нанесения образцов 20 мкл). Изучаемые вещества разделяли на обращенно-фазной колонке ReproSil-Pur, ODS-3, 4×100 мм, 3 мкм (Dr. Majsch GmbH, Германия). Насос PM-80 (BAS, США), скорость элюции по-

движной фазы 1.0 мл/мин, при давлении 200 атм. Мобильная фаза: 0.1 М цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1.1 мМ октансульфоновой кислоты, 0.1 мМ ЭДТА и 9% ацетонитрила (рН 3.0). Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрация образцов проводилась с применением аппаратно-программного комплекса Мультихром 1.5 (“Амперсенд”, Россия). Все использовавшиеся для анализа реактивы были высокой степени чистоты: “ос. ч.”, “х. ч.” Для калибровки хроматографа использовались смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Величины концентрации моноаминов в опытных образцах рассчитывали методом “внутреннего стандарта”, исходя из отношений площади пиков в стандартной смеси и в образце [22].

В силу отсутствия данных о стрессиндуцированных изменениях при пересадке из домашней клетки в установку Optovarimex уровней кортизола или адреналина/норадреналина в крови, содержания моноаминов, индоламинов и их метаболитов в ЦНС – исследование имеет ограничение при сравнении поведенческого и биохимического экспериментов. Выбор временного интервала для момента декапитации животных выбран на основании данных, полученных при исследовании двигательной реакции в актометре, где было зарегистрировано статистически значимое увеличение двигательной активности с 12 по 30 мин. На 20 мин наблюдалось максимально выраженное ослабление морфин – индуцированной гиперлокомоторной реакции под действием гимантана.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в ПСП Statistica v.8.0 (StatSoft, USA) при помощи двухфакторного дисперсионного анализа для повторных измерений (анализируемые факторы: “Гимантан” и “Морфин”) с последующим использованием критерия Дункана, двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим использованием критерия Дункана. Критический уровень значимости $\alpha = 0.05$. Данные представлены в виде $M \pm SEM$: M – средние значения, SEM – стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поведенческие исследования. В опытах *in vivo* при поведенческом тестировании с помощью двухфакторного дисперсионного анализа для повторных измерений установлено взаимодействие факторов “Гимантана” и “Морфина” ($F(29, 1160) = 4.4719, p = 0.00000$). Факторы “Гимантан” ($F(29, 1160) = 9.7613, p = 0.0000$) и “Морфин” ($F(29, 1160) = 19.463, p = 0.0000$) оказывали существенное влияние на локомоторную двигательную ак-

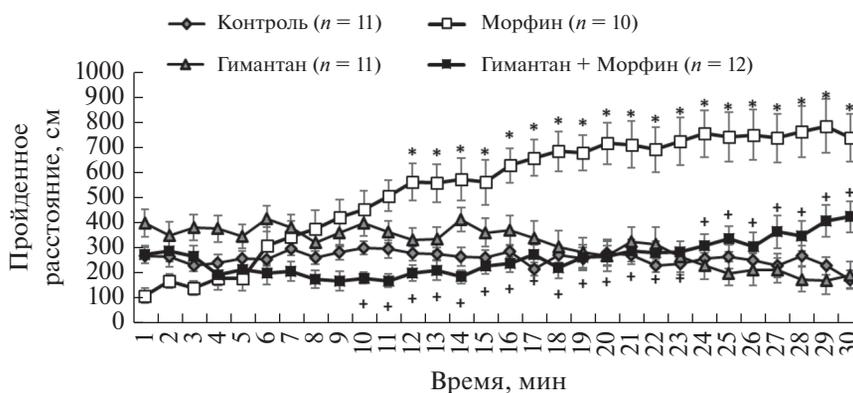


Рис. 1. Влияние гимантана на развитие морфин-индуцированной гиперлокомоторной реакции у мышей C57Bl/6. По-минутная регистрация. $M \pm SEM$. Примечание: Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: * – $p < 0.01$ между группами “Контроль” и “Морфин” для соответствующего отрезка времени; + – $p < 0.01$ между группами “Морфин” и “Гимантан + Морфин” для соответствующего отрезка времени.

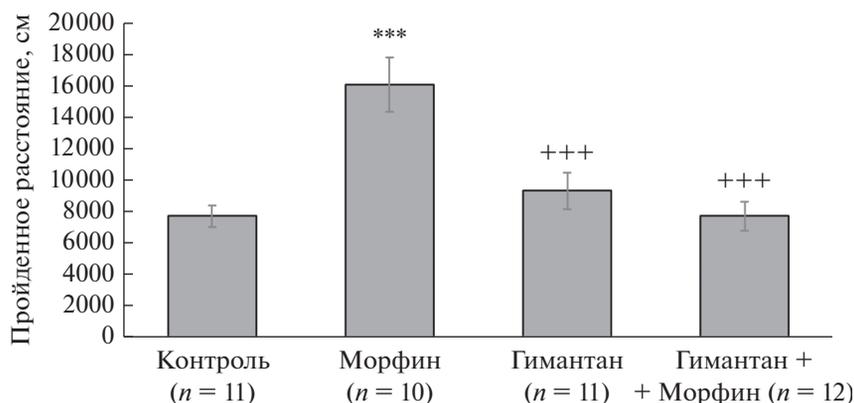


Рис. 2. Гимантан ослабляет морфин-индуцированную гиперлокомоторную активность у мышей C57Bl/6. Суммарные показатели (в течение 30 мин). $M \pm SEM$. Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: *** – $p < 0.001$ по отношению к группе “Контроль”; +++ – $p < 0.001$ по отношению к группе “Морфин”.

тивность. При межгрупповом сравнении с помощью критерия Дункана морфин в дозе 20.0 мг/кг, п/к, статистически значимо увеличивал двигательную активность ($p < 0.01$) мышей C57Bl/6 по сравнению с контрольной группой, начиная с 12-й мин наблюдения (рис. 1). Гимантан в дозе 20 мг/кг не оказывал самостоятельного влияния на поведение животных, что соответствует ранее полученным данным у мышей DBA/2 [22]. При введении гимантана за 30 мин до инъекции морфина наблюдалось ослабление психостимулирующего действия морфина уже на 10-й мин ($p < 0.01$), которое сохранялось в течение последующих 20-ти мин наблюдения (рис. 1).

На рис. 2 представлен суммарный показатель общего пройденного расстояния в течение 30 мин после введения морфина. Анализ данных с помо-

щью двухфакторного дисперсионного анализа позволил установить, что оба изучаемых фактора (“Гимантан” ($F(1, 40) = 8.5751, p = 0.00560$) и “Морфин” ($F(1, 40) = 8.5995, p = 0.00554$)) оказывали статистически значимое влияние на суммарные показатели общего пройденного расстояния. Выявлено взаимодействие между факторами “Гимантан + Морфин” ($F(1, 40) = 18.735, p = 0.00010$). При межгрупповом сравнении с помощью критерия Дункана показателей общего пройденного расстояния выявлено статистически значимое ($p < 0.001$) снижение гимантаном психостимулирующего действия морфина (рис. 2).

Нейрохимические исследования. В настоящей работе не выявлено влияния морфина и гимантана на изменения содержания норадреналина в изученных структурах мозга мышей C57Bl/6 по

сравнению с контрольной группой, хотя ранее было показано снижение уровня норадреналина в префронтальной коре при остром введении гимантана у мышей DBA/2 [22]. Также, не обнаружено статистически значимых изменений при действии изучаемых препаратов в префронтальной коре. Расхождение результатов, по-видимому, может объясняться разным временем экспозиции животных с препаратом и использованием инбредных мышей разных линий. Также не было отмечено статистически значимых влияний морфина и гимантана на содержание 3-МТ во всех изученных структурах мозга мышей C57Bl/6.

Как и предполагалось, морфин вызывал наиболее значительные сдвиги в концентрации дофамина и его метаболитов в стриатуме и прилежащем ядре, не влияя на баланс моноаминов в префронтальной коре, гипоталамусе, гиппокампе и миндалевидном теле (табл. 1). Увеличение содержания ДОФУК с соответствующим возрастанием показателя ДОФУК/ДА, свидетельствующего об увеличении скорости метаболизма дофамина, наблюдалось в стриатуме ($p < 0.001$) и прилежащем ядре ($p < 0.001$), тогда как уровень ГВК, другого метаболита ДА, повышался только в прилежащем ядре ($p < 0.01$) (табл. 1). Зарегистрированные изменения свидетельствуют об активирующем действии морфина на ДА-ергическую систему мышей C57Bl/6 и согласуются с работой Suzuki T. et al. (1995), в которой показано резкое увеличение под действием морфина содержания метаболитов дофамина, ДОФУК и ГВК в лимбической системе, в частности, в прилежащем ядре [24].

Гимантан *per se* не изменял содержание дофамина и его метаболитов по сравнению с контрольной группой. Исключение составило только снижение показателя ГВК/ДА в прилежащем ядре ($p < 0.05$) (табл. 1), что не противоречит ранее полученным данным на мышах в опытах *ex vivo* [22]. Следует отметить, что ранее при исследовании влияния гимантана на содержание моноаминов и их метаболитов у крыс с помощью метода микродиализа, выявлено дозо-зависимое снижение внеклеточного содержания ДОФУК и ГВК, а также 5-ОИУК в стриатуме, что свидетельствует об угнетении активности моноаминоксидазы в ЦНС [25] и соответствует данным, полученным на культуре клеток [17]. В то же время в работе Андрияжановой Э.А. и соавт. показано, что значимый эффект гимантана на содержание ДОФУК и ГВК развивается не ранее, чем через 1 ч после введения и удерживается в течение 6 ч [25], т.е. в настоящей работе через 30 мин после введения эффект гимантана, по-видимому, еще не проявился.

Гимантан при предварительном введении препятствовал вызываемым морфином сдвигам метаболизма ДА, а именно соотношения ДОФУК/ДА в

стриатуме ($p < 0.05$), в гипоталамусе гимантан способствовал восстановлению показателя соотношения ДОФУК/ДА до значений контрольной группы (табл. 1). Восстановление показателя происходило, по-видимому, за счет увеличения концентрации ДА в обоих случаях в группе “Гимантан + Морфин” ($p > 0.05$). Значительное снижение величины другого показателя скорости метаболизма ДА, ГВК/ДА, отмечалось в прилежащем ядре ($p < 0.01$), что было обусловлено уменьшением содержания ГВК по сравнению с группой “Морфин” ($p < 0.05$). В условиях данной модели при совместном использовании с морфином гимантан статистически значимо повышал уровень ДОФУК в гиппокампе ($p < 0.05$) по сравнению с контрольной группой и группой “гимантан”, животные которых были свободны от морфина, не влияя при этом на оборот ДОФУК/ДА.

В отношении функциональной активности 5-ОТ-ергической системы наблюдалось снижение под действием морфина содержания продукта метаболизма серотонина 5-ОИУК в миндалевидном теле ($p < 0.05$) и повышение 5-ОТ в гиппокампе ($p < 0.01$), которое не сопровождалось изменением оборота 5-ОИУК/5-ОТ в указанных структурах мозга. Напротив, в стриатуме зарегистрировано значительное увеличение оборота 5-ОИУК/5-ОТ в группе “Морфин” по сравнению с контрольными животными ($p < 0.05$) (табл. 2).

Гимантан *per se* не оказывал существенного влияния на активность серотонинергической системы в условиях данного эксперимента. На фоне предварительного введения гимантана наблюдалось снижение морфин-индуцированного незначительного повышения концентрации 5-ОИУК и статистически значимо повышенного показателя 5-ОИУК/5-ОТ в стриатуме ($p < 0.05$ и $p < 0.05$ соответственно).

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о корригирующем влиянии гимантана на сдвиги баланса моноаминергических нейротрансмиттеров в стриатуме и прилежащем ядре, вызванные острым введением морфина. Наблюдавшиеся эффекты на показатели как ДА-, так и 5-ОТ-ергических систем позволяют предположить, что снижение скорости утилизации катехол- и индоламинов связано с ингибированием фермента MAO двух подтипов. Подобное предположение хорошо согласуется с известными данными о механизме действия гимантана как ингибитора MAO-B [17]. Преимущественное влияние гимантана на баланс моноаминов и их метаболитов в стриатуме может объясняться избирательной тропностью препарата к ткани стриатума, где абсорбируется до 10^{-5} М радиоактивного эквивалента препарата, что существенно превышает количество в ткани целого мозга [26].

Таблица 1. Влияние гимантана на морфин-индуцированные изменения содержания дофамина и его основных метаболитов в разных структурах мозга мышей C57Bl/6 ($M \pm SEM$)

Группы	ДОФУК	ДА	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
Гипоталамус					
Контроль, $n = 12$	0.96 ± 0.04	2.48 ± 0.41	1.84 ± 0.24	0.43 ± 0.03	0.84 ± 0.12
Морфин, $n = 12$	1.09 ± 0.05	2.27 ± 0.17	1.89 ± 0.15	0.49 ± 0.02	0.87 ± 0.10
Гимантан, $n = 12$	1.05 ± 0.05	2.52 ± 0.14	1.83 ± 0.20	0.42 ± 0.03	0.65 ± 0.03
Гимантан + Морфин, $n = 11$	1.14 ± 0.05	3.25 ± 0.35	1.81 ± 0.11	$0.38 \pm 0.03^{++}$	0.60 ± 0.05
По фактору "Гимантан"	$F(1, 43) = 2.4627$, $p = 0.12391$	$F(1, 43) = 3.1634$, $p = 0.08238$	$F(1, 43) = 0.06795$, $p = 0.79559$	$F(1, 43) = 6.2823$, $p = 0.01606$	$F(1, 43) = 7.2585$, $p = 0.01002$
По фактору "Морфин"	$F(1, 43) = 5.6556$, $p = 0.02191$	$F(1, 43) = 0.80185$, $p = 0.37553$	$F(1, 43) = 0.00849$, $p = 0.92701$	$F(1, 43) = 0.19546$, $p = 0.66063$	$F(1, 43) = 0.02403$, $p = 0.87754$
По факторам "Гимантан + Морфин"	$F(1, 43) = 0.17399$, $p = 0.67867$	$F(1, 43) = 2.6572$, $p = 0.11038$	$F(1, 43) = 0.03645$, $p = 0.84949$	$F(1, 43) = 3.4766$, $p = 0.06908$	$F(1, 43) = 0.27962$, $p = 0.59967$
Стриатум					
Контроль, $n = 12$	4.42 ± 0.12	16.57 ± 0.55	8.34 ± 0.35	0.27 ± 0.00	0.50 ± 0.02
Морфин, $n = 12$	$5.51 \pm 0.19^{***}$	16.81 ± 0.42	9.05 ± 0.49	$0.33 \pm 0.01^{***}$	0.54 ± 0.03
Гимантан, $n = 12$	$4.41 \pm 0.10^{+++}$	17.29 ± 0.49	7.85 ± 0.28	$0.25 \pm 0.01^{+++}$	$0.46 \pm 0.02^+$
Гимантан + Морфин, $n = 12$	$5.24 \pm 0.23^{** \text{ xx}}$	17.52 ± 0.87	8.37 ± 0.36	$0.30 \pm 0.01^{** + \text{ xxx}}$	0.48 ± 0.02
По фактору "Гимантан"	$F(1, 44) = 0.71395$, $p = 0.40271$	$F(1, 44) = 1.3820$, $p = 0.24608$	$F(1, 44) = 2.4208$, $p = 0.12690$	$F(1, 44) = 8.0417$, $p = 0.00688$	$F(1, 44) = 6.5496$, $p = 0.01401$
По фактору "Морфин"	$F(1, 44) = 33.238$, $p = 0.00000$	$F(1, 44) = .14862$, $p = 0.70171$	$F(1, 44) = 2.6783$, $p = 0.10886$	$F(1, 44) = 55.623$, $p = 0.00000$	$F(1, 44) = 2.2528$, $p = 0.14052$
По факторам "Гимантан + Морфин"	$F(1, 44) = 0.60986$, $p = 0.43902$	$F(1, 44) = 0.00022$, $p = 0.98823$	$F(1, 44) = 0.06630$, $p = 0.79800$	$F(1, 44) = 0.80779$, $p = 0.37367$	$F(1, 44) = 0.05824$, $p = 0.81042$
Гиппокамп					
Контроль, $n = 12$	0.28 ± 0.03	1.79 ± 0.67	0.66 ± 0.11	0.27 ± 0.06	0.58 ± 0.09
Морфин, $n = 12$	0.32 ± 0.03	0.98 ± 0.14	0.46 ± 0.06	0.37 ± 0.03	0.55 ± 0.11
Гимантан, $n = 12$	$0.22 \pm 0.02^+$	0.86 ± 0.08	0.47 ± 0.06	0.32 ± 0.06	0.68 ± 0.18
Гимантан + Морфин, $n = 12$	$0.36 \pm 0.02^{* \text{ xx}}$	1.08 ± 0.23	0.51 ± 0.06	0.46 ± 0.09	0.60 ± 0.11
По фактору "Гимантан"	$F(1, 44) = 0.13753$, $p = 0.71253$	$F(1, 44) = 1.2946$, $p = 0.26135$	$F(1, 44) = 0.74142$, $p = 0.39388$	$F(1, 44) = 1.2836$, $p = 0.26336$	$F(1, 44) = 0.37737$, $p = 0.54218$
По фактору "Морфин"	$F(1, 44) = 12.106$, $p = 0.00115$	$F(1, 44) = 0.66027$, $p = 0.42084$	$F(1, 44) = 1.0837$, $p = 0.30356$	$F(1, 44) = 3.4244$, $p = 0.07096$	$F(1, 44) = 0.20713$, $p = 0.65127$
По факторам "Гимантан + Морфин"	$F(1, 44) = 2.5257$, $p = 0.11917$	$F(1, 44) = 1.9868$, $p = 0.16570$	$F(1, 44) = 2.1337$, $p = 0.15120$	$F(1, 44) = 0.11716$, $p = 0.73377$	$F(1, 44) = 0.06365$, $p = 0.80199$
Прилежащее ядро					
Контроль, $n = 12$	3.82 ± 0.24	36.19 ± 2.72	5.62 ± 0.48	0.11 ± 0.00	0.16 ± 0.01
Морфин, $n = 12$	$5.88 \pm 0.30^{***}$	42.86 ± 2.86	$7.95 \pm 0.50^{**}$	$0.14 \pm 0.01^{***}$	$0.19 \pm 0.01^*$
Гимантан, $n = 12$	$3.60 \pm 0.19^{+++}$	35.92 ± 1.67	$4.58 \pm 0.42^{+++}$	$0.10 \pm 0.00^{+++}$	$0.12 \pm 0.01^{* \text{ +++}}$
Гимантан + Морфин, $n = 11$	$5.84 \pm 0.61^{*** \text{ xxx}}$	41.00 ± 2.43	$5.99 \pm 0.68^+$	$0.14 \pm 0.01^{*** \text{ xxx}}$	$0.14 \pm 0.01^{++}$

Таблица 1. Окончание

Группы	ДОФУК	ДА	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
По фактору “Гимантан”	F(1, 43) = 0.12762, <i>p</i> = 0.72266	F(1, 43) = 0.18390, <i>p</i> = 0.67018	F(1, 43) = 8.2095, <i>p</i> = 0.00642	F(1, 43) = 0.18768, <i>p</i> = 0.66702	F(1, 43) = 16.031, <i>p</i> = 0.00024
По фактору “Морфин”	F(1, 43) = 35.427, <i>p</i> = 0.00000	F(1, 43) = 5.6678, <i>p</i> = 0.02178	F(1, 43) = 12.725, <i>p</i> = 0.00090	F(1, 43) = 34.596, <i>p</i> = 0.00000	F(1, 43) = 7.5067, <i>p</i> = 0.00891
По факторам “Гимантан + Морфин”	F(1, 43) = 0.06546, <i>p</i> = 0.79928	F(1, 43) = 0.10407, <i>p</i> = 0.74857	F(1, 43) = 0.77878, <i>p</i> = 0.38242	F(1, 43) = 0.31465, <i>p</i> = 0.57775	F(1, 43) = 0.27802, <i>p</i> = 0.60071
Миндалевидное тело					
Контроль, <i>n</i> = 12	0.87 ± 0.11	6.60 ± 0.79	1.69 ± 0.18	0.17 ± 0.05	0.29 ± 0.04
Морфин, <i>n</i> = 12	0.83 ± 0.13	4.01 ± 0.87	2.31 ± 0.25	0.30 ± 0.06	0.93 ± 0.22
Гимантан, <i>n</i> = 12	0.91 ± 0.16	6.71 ± 1.59	1.85 ± 0.33	0.16 ± 0.04	0.32 ± 0.06
Гимантан + Морфин, <i>n</i> = 11	0.98 ± 0.17	4.44 ± 1.14	1.75 ± 0.26	0.92 ± 0.61	2.41 ± 1.39
По фактору “Гимантан”	F(1, 43) = 0.45690, <i>p</i> = 0.50269	F(1, 43) = 0.05668, <i>p</i> = 0.81296	F(1, 43) = 0.54651, <i>p</i> = 0.46377	F(1, 43) = 1.1485, <i>p</i> = 0.28984	F(1, 43) = 1.3130, <i>p</i> = 0.25819
По фактору “Морфин”	F(1, 43) = 0.01039, <i>p</i> = 0.91930	F(1, 43) = 4.5454, <i>p</i> = 0.03876	F(1, 43) = 0.98437, <i>p</i> = 0.32667	F(1, 43) = 2.4025, <i>p</i> = 0.12847	F(1, 43) = 4.2856, <i>p</i> = 0.04448
По факторам “Гимантан + Морфин”	F(1, 43) = 0.12498, <i>p</i> = 0.72542	F(1, 43) = 0.01960, <i>p</i> = 0.88933	F(1, 43) = 1.8747, <i>p</i> = 0.17804	F(1, 43) = 1.2066, <i>p</i> = 0.27813	F(1, 43) = 1.2080, <i>p</i> = 0.27784

Примечание: Данные представлены в нмоль/г ткани. Двухфакторный дисперсионный анализ (Factorial ANOVA) для факторов “Гимантан” и “Морфин”.

Множественные сравнения с использованием критерия Дункана:

* – *p* < 0.05, ** – *p* < 0.01, *** – *p* < 0.001 статистически значимо по отношению к соответствующей группе “Контроль”;
+ – *p* < 0.05, ++ – *p* < 0.01, +++ – *p* < 0.001 статистически значимо по отношению к соответствующей группе “Морфин”;
xx – *p* < 0.01, xxx – *p* < 0.001 статистически значимо по отношению к соответствующей группе “Гимантан”.

Следует отметить, что большинство исследований *in vitro* и *in vivo* указывают на то, что морфин подавляет базальное и увеличивает внеклеточное содержание глутамата в таких областях головного мозга, как кора, дорсальный стриатум [27], прилежащее ядро [28], гиппокамп [29]. Способность морфина влиять на внеклеточные уровни глутамата, вероятно, опосредуется опиоидными рецепторами, расположенными пресинаптически на глутаматергических терминалах. Также морфин может действовать постсинаптически, подавляя глутамат-индуцированное возбуждение нейронов [30]. Снижение активности нейронов находит подтверждение и в других исследованиях, демонстрирующих, что стимулирующее влияние морфина на экспрессию генов быстрого реагирования *c-fos* и *c-jun* в дорсальном и вентральном стриатуме блокируется антагонистами NMDA-рецепторов и/или рецепторов α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) [31].

Одно из первых исследований взаимодействия между глутаматом и героином (диацетилморфином), злоупотребление которым обусловлено преимущественно его способностью вызывать эйфорию, показало, что блокада ионотропных

глутаматных NMDA-рецепторов в прилежащем ядре ослабляет стимулирующий двигательную активность эффект героина [32].

Существование у гимантана нескольких молекулярных мишеней, включая ионные каналы NMDA-рецепторов [20], его способность как неконкурентного антагониста NMDA-рецепторов купировать соматические проявления синдрома отмены морфина у крыс [16], а также влияние гимантана на плотности связывающих сайтов D₁-, D₂- и D₃-рецепторов в стриатуме у крыс Wistar [18] не исключают модулирующее влияние гимантана на глутаматергическую систему как один из возможных механизмов его потенциального антиаддиктивного действия.

Таким образом, полученные данные указывают на способность производного аминоксадамантина гимантана ингибировать морфин-индуцированную стимуляцию поведения через модуляцию дофаминергической и серотонинергической систем в стриатуме, прилежащем ядре и гипоталамусе.

Таблица 2. Влияние гимантана на морфин-индуцированные изменения содержания серотонина и его метаболита в разных структурах мозга мышей C57Bl/6 ($M \pm SEM$)

Группы	5-ОТ	5-ОИУК	5-ОИУК/5-ОТ
Гипоталамус			
Контроль, $n = 12$	7.35 ± 0.34	4.45 ± 0.19	10.14 ± 1.29
Морфин, $n = 12$	7.43 ± 0.40	4.87 ± 0.20	16.03 ± 3.16
Гимантан, $n = 12$	7.76 ± 0.37	4.57 ± 0.29	9.78 ± 1.62
Гимантан + Морфин, $n = 11$	7.24 ± 0.23	$3.84 \pm 0.13^{#++x}$	12.83 ± 2.47
По фактору “Гимантан”	$F(1, 43) = 0.10818,$ $p = 0.74383$	$F(1, 43) = 4.3985,$ $p = 0.04189$	$F(1, 43) = 0.62584,$ $p = 0.43323$
По фактору “Морфин”	$F(1, 43) = 0.40301,$ $p = 0.52890$	$F(1, 43) = 0.54584,$ $p = 0.46404$	$F(1, 43) = 3.9457,$ $p = 0.05339$
По факторам “Гимантан + Морфин”	$F(1, 43) = 0.76421,$ $p = 0.38687$	$F(1, 43) = 7.0492,$ $p = 0.01108$	$F(1, 43) = 0.39812,$ $p = 0.53140$
Стриатум			
Контроль, $n = 12$	4.22 ± 0.24	4.16 ± 0.24	1.65 ± 0.17
Морфин, $n = 12$	4.81 ± 0.17	4.74 ± 0.23	$2.46 \pm 0.37^*$
Гимантан, $n = 12$	$3.88 \pm 0.30^{++}$	$3.53 \pm 0.32^{++}$	$1.26 \pm 0.15^{++}$
Гимантан + Морфин, $n = 12$	4.52 ± 0.16	$3.89 \pm 0.19^+$	$1.63 \pm 0.17^+$
По фактору “Гимантан”	$F(1, 44) = 2.0227,$ $p = 0.16201$	$F(1, 44) = 8.7808,$ $p = 0.00490$	$F(1, 44) = 6.8402,$ $p = 0.01216$
По фактору “Морфин”	$F(1, 44) = 7.4280,$ $p = 0.00918$	$F(1, 44) = 3.4765,$ $p = 0.06893$	$F(1, 44) = 6.4088,$ $p = 0.01500$
По факторам “Гимантан + Морфин”	$F(1, 44) = 0.01150,$ $p = 0.91509$	$F(1, 44) = 0.18590,$ $p = 0.66846$	$F(1, 44) = .89010,$ $p = 0.35060$
Гиппокамп			
Контроль, $n = 12$	3.28 ± 0.24	3.24 ± 0.25	7.33 ± 1.05
Морфин, $n = 12$	$4.42 \pm 0.25^{**}$	3.77 ± 0.23	7.30 ± 1.82
Гимантан, $n = 12$	$3.39 \pm 0.25^+$	3.10 ± 0.22	7.15 ± 1.26
Гимантан + Морфин, $n = 12$	4.01 ± 0.33	3.24 ± 0.19	6.48 ± 0.93
По фактору “Гимантан”	$F(1, 44) = 0.32470,$ $p = 0.57169$	$F(1, 44) = 2.3197,$ $p = 0.13490$	$F(1, 44) = 0.14581,$ $p = 0.70441$
По фактору “Морфин”	$F(1, 44) = 11.057,$ $p = 0.00179$	$F(1, 44) = 2.2003,$ $p = 0.14511$	$F(1, 44) = 0.07079,$ $p = 0.79143$
По факторам “Гимантан + Морфин”	$F(1, 44) = 0.97324,$ $p = 0.32927$	$F(1, 44) = 0.76430,$ $p = 0.38673$	$F(1, 44) = 0.06237,$ $p = 0.80395$
Прилежащее ядро			
Контроль, $n = 12$	4.52 ± 0.39	2.90 ± 0.25	1.59 ± 0.16
Морфин, $n = 12$	4.28 ± 0.38	2.80 ± 0.19	1.64 ± 0.38
Гимантан, $n = 12$	3.67 ± 0.21	2.15 ± 0.14	1.85 ± 0.44
Гимантан + Морфин, $n = 11$	6.10 ± 1.25	3.11 ± 0.53	2.77 ± 0.99
По фактору “Гимантан”	$F(1, 43) = 0.53035,$ $p = 0.47041$	$F(1, 43) = 0.54731,$ $p = 0.46344$	$F(1, 43) = 1.5779,$ $p = 0.21585$

Таблица 2. Окончание

Группы	5-ОТ	5-ОИУК	5-ОИУК/5-ОТ
По фактору “Морфин”	F(1, 43) = 2.7535, <i>p</i> = 0.10432	F(1, 43) = 2.0179, <i>p</i> = 0.16267	F(1, 43) = 0.76686, <i>p</i> = 0.38606
По факторам “Гимантан + Морфин”	F(1, 43) = 4.1324, <i>p</i> = 0.04827	F(1, 43) = 3.0507, <i>p</i> = 0.08784	F(1, 43) = 0.60367, <i>p</i> = 0.44144
Миндалевидное тело			
Контроль, <i>n</i> = 12	1.02 ± 0.28	0.36 ± 0.07	0.69 ± 0.25
Морфин, <i>n</i> = 12	0.42 ± 0.10	0.12 ± 0.02*	0.29 ± 0.11
Гимантан, <i>n</i> = 12	1.22 ± 0.25	0.31 ± 0.10	0.66 ± 0.25
Гимантан + Морфин, <i>n</i> = 11	0.80 ± 0.20	0.17 ± 0.04 [#]	0.98 ± 0.85
По фактору “Гимантан”	F(1, 43) = 1.7856, <i>p</i> = 0.18849	F(1, 43) = 0.00001, <i>p</i> = 0.99695	F(1, 43) = 0.58222, <i>p</i> = 0.44961
По фактору “Морфин”	F(1, 43) = 5.3931, <i>p</i> = 0.02502	F(1, 43) = 8.4717, <i>p</i> = 0.00569	F(1, 43) = 0.00917, <i>p</i> = 0.92416
По факторам “Гимантан + Морфин”	F(1, 43) = 0.15832, <i>p</i> = 0.69268	F(1, 43) = 0.56861, <i>p</i> = 0.45492	F(1, 43) = 0.67016, <i>p</i> = 0.41751

Примечание: Данные представлены в нмоль/г ткани. Двухфакторный дисперсионный анализ (Factorial ANOVA) для факторов “Гимантан” и “Морфин”. Множественные сравнения с использованием критерия Дункана:

* – *p* < 0.05, ** – *p* < 0.01, [#] – *p* < 0.06 по отношению к соответствующей группе “Контроль”;

+ – *p* < 0.05, ++ – *p* < 0.01, статистически значимо по отношению к соответствующей группе “Морфин”;

^x – *p* < 0.05 статистически значимо по отношению к соответствующей группе “Гимантан”.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена по теме № 0521-2019-0006.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Di Chiara G., Imperato A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. P. 5274–5278.
2. Johnson S.W., North R.A. // J. Neurosci. 1992. V. 12. P. 483–488.
3. Maldonado R., Saiardi A., Valverde O., Samad T.A., Roques B.P., Borrelli E. // Nature. 1997. V. 388. P. 586–589.
4. Longoni R., Spina L., Di Chiara G. // Psychopharmacology. 1987. V. 93. P. 401–402.
5. Kalivas P.W., Widerlow E., Stanley D., Breese G., Prange A.J. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1983. V. 227. P. 229–237.
6. Serrano A., Aguilar M.A., Manzanedo C., Rodriguez-Arias M., Minarro J. // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 2002. V. 26. P. 1263–1271.
7. Becker A., Grecksch G., Kraus J., Peters B., Schroeder H., Schulz S., Holt V. // Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 2001. V. 363. P. 562–568.
8. Borgkvist A., Usiello A., Greengard P., Fisone G. // Neuropsychopharmacology. 2007. V. 32. № 9. P. 1995–2003.
9. Urs N.M., Daigle T.L., Caron M.G. // Neuropsychopharmacology. 2011. V. 36. № 3. P. 551–558.
10. Carroll B.J., Sharp P.T. // Br. J. Pharmacol. 1972. V. 46. P. 124–139.
11. Kitanaka N., Kitanaka J., Takemura M. // Neurochem. Res. 2006. V. 31. P. 829–837.
12. Liu X.S., Hou Y., Yan T.L., Guo Y.Y., Han W., Guan F.L., Chen T., Li T. // CNS Neurosci. Ther. 2014. V. 20. № 9. P. 823–829.
13. Катунина Е.А., Петрухова А.В., Авакян Г.Н., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Саядян Х.С. // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2008. Т. 108. № 6. С. 24–27.
14. Непоклонов А.В., Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Вальдман Е.А. // Эксперим. клин. фармакол. 2012. Т. 75. № 11. С. 3–6.
15. Колик Л.Г., Надорова А.В., Середенин С.Б. // Бюл. экспер. биол. 2017. Т. 164. № 8. С. 177–183.
16. Колик Л.Г., Константинопольский М.А. // Бюл. экспер. биол. 2018. Т. 166. № 12. С. 700–705.
17. Вальдман Е.А., Воронина Т.А., Аксенова Л.Н., Бунеева О.А., Медведев А.Е. // Эксперим. клин. фармакол. 2003. Т. 66. № 5. С. 3–5.
18. Абаимов Д.А., Зимин И.А., Ковалев Г.И. // Эксперим. клин. фармакол. 2008. Т. 71. № 1. С. 18–21.
19. Абаимов Д.А., Зимин И.А., Кудрин В.С., Ковалев Г.И. // Эксперим. клин. фармакол. 2009. Т. 72. № 1. С. 64–67.
20. Елшанская М.В., Соболевский А.И., Ходоров Б.И., Вальдман Е.А. // Эксперим. клин. фармакол. 2001. Т. 64. № 1. С. 18–21.
21. Mori T., Ito S., Narita M., Suzuki T., Sawaguchi T. // J. Pharmacol. Sci. 2004. V. 96. P. 450–458.
22. Кудрин В.С., Надорова А.В., Наркевич В.Б., Колик Л.Г. // Нейрохимия. 2018. Т. 35. № 1. С. 62–69.

23. *Melon L.C., Boehm S.L.* // Alcohol Clin. Exp. Res. 2011. V. 35. № 7. P. 1351–1360.
24. *Suzuki T., Maeda J., Funada M., Misawa M.* // Neurosci. Lett. 1995. V. 187. № 1. P. 45–48.
25. *Андряжанова Э.А., Вальдман Е.А., Кудрин В.С., Равевский К.С., Воронина Т.А.* // Эксперим. клин. фармакол. 2001. Т. 64. № 6. С. 13–16.
26. *Ковалёв Г.И., Родионов А.П., Петренко Е.С., Золотарев Ю.А.* // Эксперим. клин. фармакол. 2003. Т. 66. № 3. С. 50–52.
27. *Desole M.S., Esposito G., Fresu L., Migheli R., Enrico P., Mura M.A., De Natale G., Miele E., Miele M.* // Brain Res. 1996. V. 723. P. 154–161.
28. *Martin G., Przewlocki R., Siggins G.R.* // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1999. V. 288. P. 30–35.
29. *Guo M., Xu N.J., Li Y.T., Yang J.Y., Wu C.F., Pei G.* // Neurosci. Lett. 2005. V. 381. P. 12–15.
30. *Giacchino J.L., Henriksen S.J.* // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 1998. V. 22. P. 1157–1178.
31. *Liu J., Nickolenko J., Sharp F.R.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 8537–8541.
32. *Pulvirenti L., Swerdlow N.R., Koob G.F.* // Pharmacol. Biochem Behav. 1991. V. 40. № 4. P. 841–845.

The Derivative of Aminoadamantane Hemantane Alleviates Morphine-Induced Hyperlocomotion via Modulation of Activity of the Dopaminergic and Serotonergic Systems

L. G. Kolik^a, A. V. Nadorova^a, V. B. Narkevich^a, and V. S. Kudrin^a

^a*Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow, Russia*

Morphine is known to induce long-term hyperlocomotor response due to an increased dopamine release in the nucleus accumbens via the activation of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. It has been demonstrated that the low-affinity antagonist of NMDA receptors hemantane can alleviate ethanol-induced stimulation of behavior due to its effect on the dopamine- and noradrenergic systems. In the present study, we studied the effects of the aminoadamantane derivative hemantane on the changes in a balance of monoamines and their metabolites in brain structures of C57Bl/6 mice after acute morphine administration. Single i.p. administration of hemantane at a dose of 20 mg/kg did not affect spontaneous locomotor activity per se but alleviated behavior stimulated by s.c. morphine injection at a dose of 20 mg/kg ($p < 0.05$). In the ex vivo experiments, hemantane prevented a morphine-induced significant increase in the DOPAC/DA and 5-HIAA/5-HT ratios in the striatum (both $p < 0.05$) and HVA/DA in the nucleus accumbens ($p < 0.01$) and promoted the recovery of the DOPAC/DA ratio to the control level in the hypothalamus. These data demonstrate the capability of hemantane to inhibit the morphine-induced behavioral stimulation probably via modulation of the dopaminergic and serotonergic systems.

Keywords: hemantane, morphine, hyperlocomotion, C57Bl/6 mice, nucleus accumbens, striatum, dopamine, HPLC