ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Бортников Никита Сергеевич

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АГОНИСТА TAAR1 RO5263397 В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ХИМИЧЕСКИХ ЗАВИСИМОСТЕЙ

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Суханов Илья Михайлович -
доктор медицинских наук

Санкт-Петербург - 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

Актуальность 5

Степень научной разработанности проблемы 6

Цель исследования 6

Основные задачи исследования 6

Научная новизна 7

Положения, выносимые на защиту 7

Степень достоверности и апробации результатов 8

Апробация 8

Внедрение 9

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 11

1.1. Следовые амины 11

1.2. Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами (TAAR) 14

1.3. Внутриклеточная передача сигнала при активации TAAR1 17

1.4. Экспериментальные исследование значения TAAR1 20

1.5. Перспективы клинического применения агонистов TAAR1 25

1.7. Перспективы использования агонистов TAAR1 в терапии патологического пристрастия к ПАВ 27

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 31

2.1. Животные 31

2.2. Вещества 32

2.3. Высокоэффективная жидкостная хроматография 32

2.4. Поведенческие методы 33

2.4.1. Сахариновый депривационный эффект (СДЭ) 33

2.4.2. Инициация реакции внутривенного самовведения (ИРВС) у мышей 34

2.4.3. Реакция внутривенного самовведения у крыс (РВС)..... 36
2.4.4. Оперантная реакция, поддерживаемая пищевым подкреплением, у крыс (РППП)..... 42
2.4.5. Условнорефлекторная реакция предпочтения места (УРПМ)..... 42
2.5. Статистическая обработка 44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ 45
3.1. Оценка влияния фармакологической активации TAAR1 на содержание МА и их метаболитов в стриатуме..... 45
3.1.1. Результаты 45
3.1.2. Обсуждение 46
3.2. Влияние активации TAAR1 на ИРВС мышей..... 56
3.2.1. Результаты 56
3.2.2. Обсуждение 58
3.3. Влияние фармакологической активации TAAR1 на поддержание реакции внутривенного самовведения никотина (РВС) у крыс..... 60
3.3.1. Результаты однократного введения RO5263397 на поддержание реакции внутривенного самовведения никотина (РВС) у крыс..... 60
3.3.2. Результаты повторного введения RO5263397 на РВС никотина у крыс 61
3.3.3. Результаты однократного введения RO5263397 на оперантную реакцию, поддерживаемую пищевым подкреплением, у крыс 64
3.3.4. Обсуждение 69
3.4. Влияние активации TAAR1 на выраженность СДЭ у крыс 89
3.4.1. Результаты 89
3.4.2. Обсуждение 92
3.5. Оценка вторично-подкрепляющих свойств RO5263397 с помощью УРПМ у крыс..... 95

3.5.1. Результаты 95
3.5.2. Обсуждение 98
ВЫВОДЫ 109
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 111
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 112
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 114

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

В настоящее время число людей, страдающих синдромом зависимости (СЗ), увеличивается как у нас в стране, так и во всем остальном мире. В России общая заболеваемость наркологическими расстройствами в 2021 году составляла 1870109 или 1279,4 на 100 тыс. населения [183]. Несмотря на то, что за последние десятилетия накоплен большой объем данных о патогенезе СЗ от различных психоактивных веществ (ПАВ), возможности фармакологической коррекции таких нарушений остаются ограниченными. Это определяет высокую актуальность продолжения углубленного изучения нейрофизиологических и фармакологических основ действия ПАВ и формирования СЗ. Одной из перспективных фармакологических мишеней в области нейропсихических расстройств представляются рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами (TAAR), открытые в 2001 году [176]. Следовые амины (СА), вещества образующиеся в ходе метаболизма «классических» моноаминов в «следовых» концентрациях (<100 нг/г): β-фенилэтиламин, триптамин, тирамин, и ряд других [176]. Из 9-ти типов рецепторов TAAR наиболее изученными являются TAAR1. TAAR1 экспрессируются в ряде лимбических структур, включая структуры дофаминергического мезолимбического пути [118]. Считается, что функцией рецепторы к СА является модулирующее влияние на моноамин- и глутамат-ергическую нейропередачу в ЦНС [67].

В настоящее время в клинических исследованиях находятся два вещества, обладающих агонистической активностью по отношению к TAAR1: улотаронт [110] и ралмитаронт [111]. Оба рассматривают в качестве представителей принципиально нового класса препаратов с антипсихотической активностью. Поскольку длительный прием ПАВ разных

групп связывают с определенными изменениями активности дофаминергических структур мезолимбического пути, агонисты TAAR1 кажутся перспективным направлением в области наркологических расстройств.

Степень научной разработанности проблемы

В экспериментальных исследованиях на животных получен ряд свидетельств, указывающих на то, что активация TAAR1 препятствовала развитию эффектов ПАВ в таких экспериментальных моделях аддиктивных состояний как реакция внутривенного самовведения (РВС), реакция электрической самостимуляции мозга, условнорефлекторная реакция предпочтения места (УРПМ) и другие [4, 58]. Несмотря на многообещающие результаты экспериментальных работ, в целом потенциальное «антиаддиктивное» действие агонистов TAAR1 требует дальнейшего углубленного изучения и проверки.

Цель исследования

Изучение функциональной роли рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, 1-го подтипа (TAAR1) в различных аспектах поведения, направленного на поиск и прием психоактивных веществ в экспериментальных моделях химических зависимостей.

Задачи исследования

1. Оценить изменение содержания моноаминов и их метаболитов в стриатуме крыс под действием высокоселективного агониста TAAR1 RO5263397;
2. Оценить действие RO5263397 при однократном введении на инициацию реакции внутривенного самовведения (ИРВС) никотина у мышей;

3. Оценить действие RO5263397 при однократном введении на поддержание реакции внутривенного самовведения (РВС) никотина у крыс;

4. Оценить действие RO5263397 при повторном введении на поддержание РВС никотина у крыс;

5. Оценить действие RO5263397 при однократном введении на реакцию, поддерживаемую пищевым подкреплением (РППП), у крыс;

6. Оценить действие RO5263397 при однократном введении на выраженность сахаринового депривационного эффекта (СДЭ) у крыс;

7. Оценить вторично-подкрепляющие свойства RO5263397 в тесте «условнорефлекторное предпочтение места» у мышей.

Научная новизна

В работе впервые показано, что:

1. Введение RO5263397 крысам сопровождается снижением уровня дофамина в стриатуме;

2. Фармакологическая активация TAAR1 препятствует поддержанию РВС никотина у крыс, как при однократном, так и при повторном введении;

3. Введение RO5263397 препятствует инициации РВС никотина у мышей;

4. Фармакологическая активация TAAR1 уменьшает выраженность СДЭ у крыс, при этом не оказывая влияния на потребление воды;

5. RO5263397 не обладает вторично-подкрепляющими свойствами.

Положения, выносимые на защиту

1. Фармакологическая активация рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, 1-го подтипа препятствует формированию и поддержанию поведения, направленного на получение подкрепления разной природы;

2. Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, 1-го подтипа, являются потенциальной терапевтической мишенью для разработки средств противорецидивной терапии болезней зависимости от психоактивных веществ;

3. Агонисты рецепторов, ассоциированных со следовыми аминами, 1-го подтипа не обладают собственными вторично-подкрепляющими свойствами.

Степень достоверности и апробации результатов

Достоверность полученных результатов определяется: использованием классических фармакологических и нейрофизиологических методических подходов к решению поставленных задач; проведением экспериментальных исследований в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств [186]; достаточным числом животных и проб в экспериментальных группах, а также применением адекватных методов анализа для статистической обработки.

Личный вклад автора состоит в разработке дизайна исследования, проведении экспериментов, систематизации и обработке результатов, сборе и анализе литературных данных. При активном участии соискателя сформулированы положения, выносимые на защиту, и выводы, а также подготовлены публикации по результатам диссертационного исследования.

Апробация

Основные положения диссертационной работы доложены на различных российских и международных конференциях. Устные доклады:

- Всероссийская молодежная медицинская конференция с международным участием «Алмазовские чтения – 2018», (г. Санкт-Петербург, 2018)
- XXIII, XXV ежегодные научные сессии института фармакологии им. А.В. Вальдмана Первого Санкт-Петербургского государственного

медицинского университета имени академика И.П. Павлова, (г. Санкт-Петербург, 2019, 2022);

- семинар «ECNP Seminar in Neuropsychopharmacology», (г. Санкт-Петербург, 2018);
- LXXXI научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины» (г. Санкт-Петербург, 2020);
- конференция «Summer School on Stress From Hans Selye's original concept to recent advances», (г. Санкт-Петербург, 2022);
- конференции «Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных средств и клинических испытаний медицинских изделий», (г. Санкт-Петербург, 2022);
- доклад на постерной сессии 32-го Конгресса Европейского Колледжа Нейропсихофармакологии (г. Копенгаген, Дания, 2019).

Внедрение

Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, существенно дополняют существующие данные о неспецифических поведенческих эффектах агонистов TAAR1. Данные используются в научно-исследовательской работе института фармакологии им. А.В. Вальдмана Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, кафедры фармакологии, в области поиска новых терапевтических подходов терапии патологического пристрастия к ПАВ.

Также в ходе исследования проведено усовершенствование метода инициации (выработки) внутривенного самовведения у мышей. Представленная модификация протокола исследования, предполагающая использование одноразовых стерильных внутривенных канюль (размер 26G), позволяет избежать перфорации стенок хвостовой вены мыши при фиксации хвоста. Улучшение качества выполнения экспериментальной процедуры

(включая сокращение количества используемых в эксперименте животных, необходимых для получения статистически обоснованных результатов), которое в конечном счете будет способствовать повышению эффективности научно-исследовательской работы.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах перечня ВАК РФ, входящих в международные базы Web of Science, Scopus, и 5 тезисов в материалах российских и международных научных конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 134 листе машинописного текста, содержит 9 таблиц, иллюстрирована 18 рисунками. Список литературы включает 186 источников, из них 5 – отечественные и 181 – иностранные.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Следовые амины

Известно, что в ходе метаболизма «классических» моноаминов (МА) в организме позвоночных в очень низких, «следовых» (<100 нг/г; 100 нМ) концентрациях образуются так называемые следовые амины (СА). СА по химическому строению достаточно гетерогенная группа. Так, к СА обычно относят (1) производные фенилэтиламина (фенилэтиламин, р-октопамин, м-тирамин, триметокстирамин, синефрин, смотри Рисунок 1), (2) производные тиронамина (тиронамин, трийодтиронамин), (3) триптамин и его производные [30, 90]. Также в некоторых работах в число СА включают (4) ди- и поли-амины (путресцин, кадаверин, спермин, спермидин).

По структуре и физиологическим эффектам СА очень близки к «классическим» МА нейротрансмиттерам таким, как адреналин, норадреналин, дофамин и серотонин. Биосинтез и метаболизм СА осуществляется теми же ферментами, что и МА. Например, СА могут образовываться через декарбоксилирование аминокислот прекурсоров МА и являются конечным продуктом работы таких ферментов как тирозин- или триптофан-гидроксилаза [35]. Далее СА могут также образовывать такие агонисты TAAR1 как N-метилтриптамин, и по крайней мере у некоторых видов, N-диметилтриптамин, подвергаясь N-метилированию под действием ферментов фенилэтаноламин N-метилтрансферазы, индолэтиламин N-метилтрансферазы [85]. Так же как и классические МА СА являются субстратом фермента моноаминоксидаза (МАО), но в отличии от МА нейротраснсмиттеров не депонируются в везикулы и быстро дезаминируются. СА способны проникать через клеточные мембраны путем пассивной диффузии и диффундировать в синаптическую щель,

аналогичным образом они могут преодолевать гематоэнцефалический барьер [107], [125].

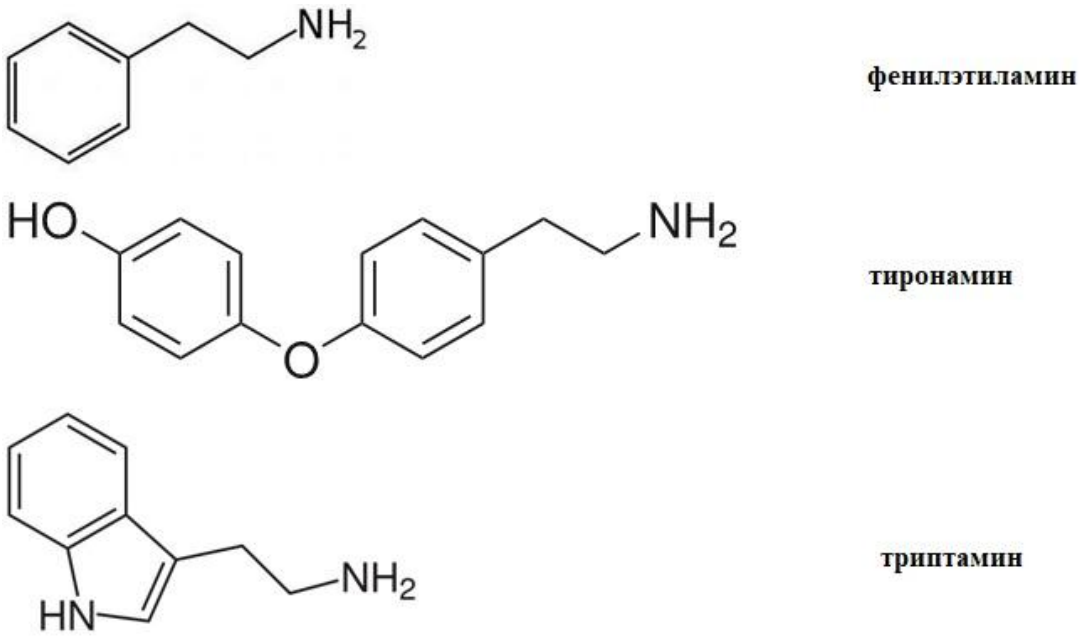

Рисунок 1. *Структурные формулы СА разных химических групп.*

СА у беспозвоночных играют роль нейромедиаторов, например, октопамин «выполняет функции» адреналина и норадреналина в симпатической нервной системе беспозвоночных [128, 130]. СА обнаружены в бактериях, растениях и грибах [32]. Также показано, что эти вещества могут образовываться в процессе брожения и гниения [32]. Кроме того, СА в большом количестве можно обнаружить в таких продуктах как шоколад, сыры и красное вино [32].

Известно, что такие СА как фенилэтиламин и тирамин могут обладать симпатомиметическим, амфетаминоподобным действием. Проявления их симпатомиметического действия известны как «тираминовый» или «сырный» синдром, который может возникать у пациентов, принимающих ингибиторы МАО, при употреблении в пищу продуктов, содержащих большие количества СА [77]. В условиях блокады МАО концентрация СА в плазме может достигать уровня, при котором могут быть заметны клинические проявления их симпатомиметических эффектов, в первую очередь резкого повышения артериального давления [33, 62].

На центральном уровне СА, например, фенилэтиламин, способны оказывать психостимулирующее действие, а также проявляют подкрепляющие свойсва. Так упомнятый фенилэтиламин поддерживает РВС у собак [127, 141, 142] и вызывает развитие УРПМ у крыс [69]. Стоит отметить, что для проявления подкрепляющих свойств фенилэтиламина и других СА, например, тирамина, необходимы введение этих веществ в высоких (более 25 мг/кг в случае фенилэтиламина и тирамина) дозах [49], которые многократно превышает обычное содержания этих веществ в организме млекопитающих [27].

Механизм симпатомиметического амфетаминоподобного действия фенилэтиламина до конца не изучен. Предполагают, что он может быть схож с механизмом действия амфетамина. Известно, что ингибиторы DAT (например кокаин, номифензин) препятствуют увеличению внеклеточной концентрации катехоломинов, вызванному введением тирамина [52, 156] и амфетамина [14]. Можно также предположить, что в высоких концентрациях СА способны проникать в аксон пресинаптического нейрона через транспортеры МА (дофаминовый, норадреналиновый и серотониновый, соответственно, DAT, NET и SERT) и в цитозоле препятствовать депонированию нейромедиаторов в везикулы [64, 91, 92]. Как можно видеть на Рисунке 2 данному предположению способствует очевидное сходство в химической структуре СА и амфетамина [27, 32, 121].

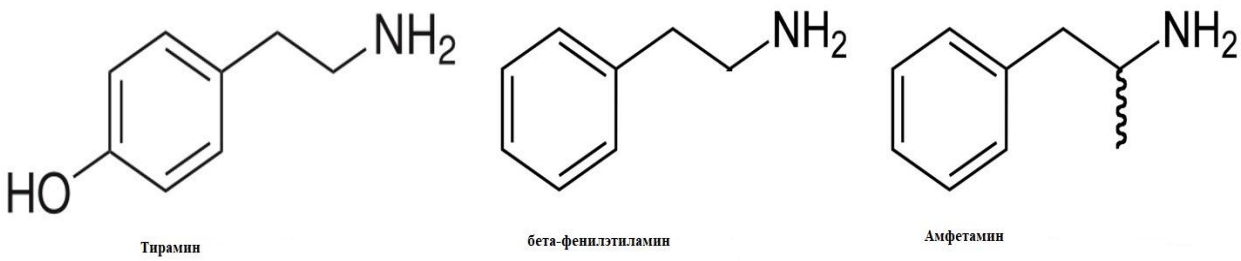

Рисунок 2 *Структурные формулы тирамина, фенилэтиламина и амфетамина.*

В пользу этого механизма свидетельствуют данные, полученные на генномодифицированных животных. В исследованиях с использованием микродиализа и мышей, нокаутных по гену DAT (DAT-KO), показано, что введение бета-фенилэтиламина в системный кровоток или непосредственно в стриатум приводит к отчетливому увеличению внеклеточного дофамина у животных «дикого типа» или гетерозигот, при этом данный эффект не наблюдали у DAT-KO грызунов [48]. Данные результаты подтверждены и электрофизиологически: с помощью вольтамперметрии показано, что введения фенилэтиламина DAT-KO мышам не сопровождалось увеличением высвобождения дофамина в стриатуме [48]. Таким образом, имеющиеся данные указывают на необходимость наличия транспортера DAT для развития стимулирующего эффекта фенилэтиламина. Интересно отметить, что после введения фенилэтиламина или амфетамина у DAT-KO животных наблюдается снижение спонтанной двигательной гиперактивности и стереотипий [48]. Выявленный эффект может быть связан с влиянием на какую-то иную мишень, в качестве которой в настоящее время рассматривается и TAAR1 [147].

1.2. Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами

Хотя рецепторы к СА у беспозвоночных известны с 1977 [177, 179], до открытия соответствующих рецепторов у млекопитающих прошло более 10 лет. Только в 2001 году две группы исследователей в параллели выявили рецепторы, способные взаимодействовать со СА [13, 176], получившие впоследствие название TAAR.

На сегодняшний день известно 9 подтипов TAAR (1-9), которые делят на 3 типа [68]. Номенклатура TAAR и их распределение по некоторым видам млекопитающих представлена в Таблице 1.

TAAR широко представлены в разных органах и системах (для обзора см. [134]). На Рисунке 3 можно видеть, что наиболее распространённым на периферии подтипом является TAAR1, его экспрессия показана в сердце [47], эпителиальных клетках щитовидной железы [168], клетках крови [74], а

также в желудочно-кишечном тракте, включая D-клетки желудка [176], бета-клетки островков Лангерганса поджелудочной железы [3, 82] и энтерохромаффинные клетки кишечника [3, 18, 82, 103]. Стоит отметить, что в недавней статье Raab и коллег активация TAAR1 вызывала снижение потребления пищи у мышей в модели индуцированного ожирения, а также способствовал нормализации уровня глюкозы после глюкозотолерантного теста, что позволяется рассматривать эти рецепторы как терапевтическую мишень для разработки новой группы сахароснижающих средств [82]. Среди других распространённых на периферии у человека TAAR стоит отметить TAAR2 (сердце, ЖКТ, лейкоциты), TAAR5 (лейкоциты), TAAR8 (сердце) и TAAR9 (почка, скелетная мускулатура).

Таблица 1. Номенклатура и распределение TAAR по видам.

Тип	**Подтип**	**Мышь дворовая**	**Серая крыса**	**Человек**
I	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+/-
	4	+	+	+/-
II	5	+	+	+
III	6	+	+	+
	7	a,c-f + b+/-	a-e,g,h + f,i +/-	+/-
	8	a-c +	a-c +	+
	9	+	+	+

+ — обнаружен ген, +/– — есть псевдоген, a-i — паралогичные гены [173, 174].

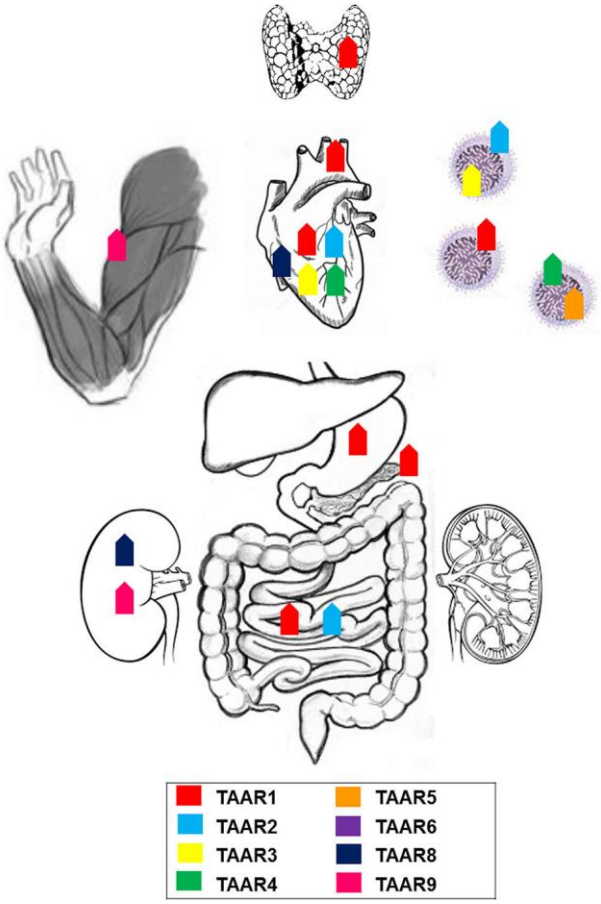

Рисунок 3. *Схема экспрессии TAAR, заимствована из* [166].

Если говорить про ЦНС, то основное место экспрессии TAAR2-9 - обонятельный эпителий [83, 98, 99]. Считается, что данные подтипы рецепторов играют важную роль в обонянии [79, 80]. Однако недавние статьи, выполненный на генетически модифицированных животных с нокаутом генов различных TAAR, позволяют предположить, что активация рецепторов тоже иметь определенную нейрорегуляторную функцию [80, 132, 172]. TAAR1 в отличие от других подтипов TAAR отсутствуют в обонятельном эпителии. Главным образом, эти рецепторы экспрессируются в нейронах МА-ядер головного мозга (вентральная область покрышки среднего мозга (ВОП), ядра шва (ЯШ), черная субстанция (ЧС) и областях аксональных проекций этих нейронов в головном мозге, например префронтальной коре, миндалевидном теле, базальных ганглиях, а также

других лимбических структурах и некоторых областях глутаматергических проекций (см. Рисунок 4)) [13, 176]. Подобное распределение наблюдается как у грызунов, так и приматов, что открывает хорошие возможности для экспериментального изучения специфической фармакологической активности селективных лигандов TAAR1 на лабораторных грызунах. Кроме того, экспрессия TAAR1 в ЦНС не ограничиваться только нейронами головного мозга. Показано, что TAAR1 также присутствуют в астроцитах [36] и в спинном мозге [17].

Интересной особенностью экспрессии TAAR1 на нейронах является то, что данные рецепторы могут находиться как на клеточных мембранах (пре-, и пост-синаптических), так и внутриклеточно [120, 153, 154, 160]. В зависимости от локализации активация TAAR1 может вызывать разные внутриклеточные изменения.

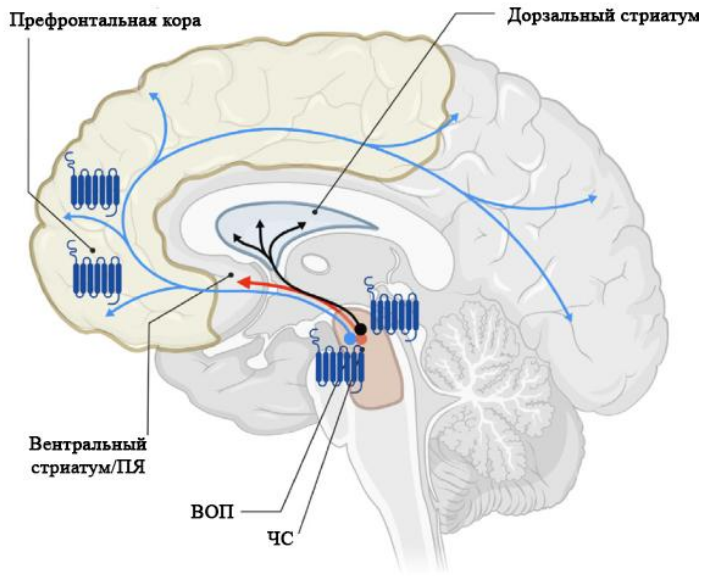

Рисунок 4. *Схема экспрессии TAAR1 в головном мозге* [166]. *ЧС – черная субстанция, ВОП – вентральная область покрышки среднего мозга, ПЯ – прилежащее ядро перегородки.*

1.3. Внутриклеточная передача сигнала при активации TAAR1

В случае мембранного расположения TAAR1 относят к типичным представителям рецепторов, сопряженных с G белком (GPCR) [13, 176]. Считается, что активация расположенных на цитолемме TAAR1 приводит к

связыванию с $G_{\alpha s}$ белком и последующей активации аденилатциклазы, которая в свою очередь вызывает увеличение внутриклеточного содержания циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) [13, 67, 154, 176]. Повышение уровня цАМФ запускает сигнальные пути, связанные с протеинкиназой А, протеинкиназой С, которые в конечном счёте влияют на активность других внутриклеточных белков [70, 96].

Важно отметить, что TAAR1 также способен появляться на поверхности клетки в составе гетеродимера с D2-подобными дофаминовыми рецепторами (D2R) [167]. Внутриклеточная передача сигнала при активации рецептора, входящего в состав такого комплекса, может отличаться от обычной.

Так, считается, что активация TAAR1 в составе гетеродимера усиливает ингибирующее действие D2R на тирозингидроксилазу и, соответственно, синтез дофамина de novo [153]. Кроме того, предполагают, что при образовании такого комплекса усиливается сродство TAAR1 к β аррестину 2 [167], важному звену механизма, регулирующего десенситизацию рецепторов, а кроме того являющегося начальным звеном собственного пути внутриклеточной передачи сигнала. В основе данного сигнального пути лежит формирование белкового комплекса из β аррестина 2, протеинкиназы B и внутриклеточной фосфолипазы A2 [16]. Такой комплекс способен активировать фермент киназу гликогенсинтетазы 3, который в свою очередь катализирует фосфорилирование белков-мишеней и благодаря этому регулирует степень их активности [23]. Стоит отметить, однако, что в in vitro экспериментах Harmeier и коллег активация рецептора TAAR1 в составе гетеродимера способствовала незначительному угнетению β аррестинового пути [167]. Кроме того, в недавних работах установлено, что TAAR1 способны образовывать гетеродимеры с серотониновыми 5-HT1 и с α2A-адренорецепторами [2, 161], впрочем данные сигнальные пути таких гетеродимеров на сегодняшний день практически не изучены.

Активация расположенных на цитолеме TAAR1 также может приводить к открытию калиевых каналов внутреннего выпрямления (GIRK), через G-белок обеспечивающих входящий стабилизирующий мембранный потенциал калиевый ток в клетки [160]. Предполагают, что открытие таких каналов после активации TAAR1 ведет к снижению частоты спонтанной электрической активности МА-ядер, в том числе дофаминергических нейронов ВОП и серотонинергических нейронов ЯШ [160].

В случае внутриклеточного расположения активация TAAR1 сопровождается изменением конформации G_{13} белка, что приводит к активации небольшой ГТФ-азы RhoA (Ras homolog family member A) [15]. Underhill с коллегами в своей работе указывают, что увеличение активности RhoA приводит к ремоделированию цитоскелета и в конечном счёте интернализации DAT [15].

В исследованиях Shi обнаружены различия в уровне регулятора апоптоза Bcl-2 у мышей TAAR1-КО и животных дикого типа. У животных без TAAR1 уровень Bcl-2 был в 3 раза выше в ЧС и ВОП. При этом метамфетамин усиливал экспрессию Bcl-2 у мышей TAAR-WT и снижал у TAAR1-КО. Также экспрессия Bcl-2 усиливалась при введении агониста TAAR1 RO5166017 в клетках экспрессирующих TAAR1. установлено, что усиление экспрессии Bcl-2 при активации TAAR1 происходит через активацию ERK1/2. Представляется, что активация TAAR1 препятствует развитию апоптоза, и возможно играет важную роль в процессах клеточной смерти и патогенезе нейродегенеративных заболеваний [10].

Схематичное изображение внутриклеточной передачи сигнала при активации TAAR1 представлено на Рисунке 5.

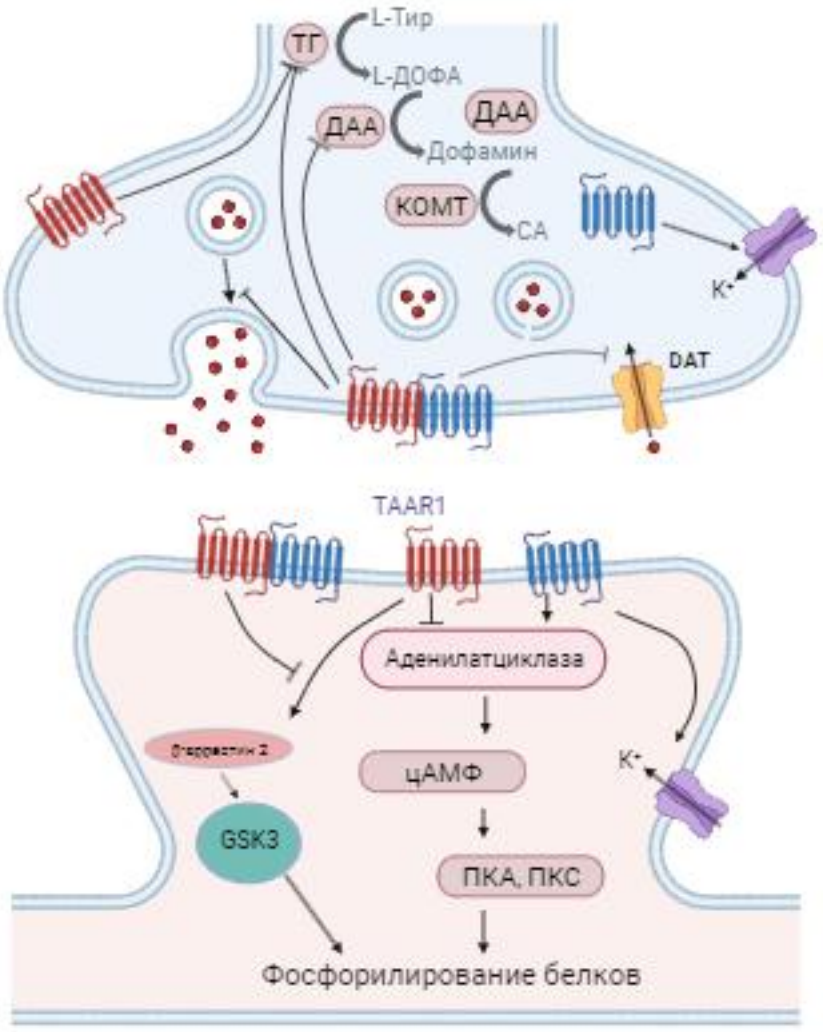

Рисунок 5. *Схема передача сигнала от TAAR1 внутрь клетки.*

1.4. Экспериментальные исследование значения TAAR1

Помимо самих СА, эндогенными лигандами TAAR1 также являются трийодтиронамин, тиронамин и их аналоги [44, 65]. МА также способны связываться с TAAR1, но с меньшей чем у СА внутренней агонистической активностью [174]. Некоторые синтетические агонисты рецепторов МА могут связываться и с TAAR1, например, неселективный дофаминомиметик апоморфин [151], центральный α2-адреномиметик клонидин [75], β2-адреномиметик рактопамин [101]. Как частично упоминалось выше, психостимуляторы амфетаминового ряда и агонисты 5HT2A серотониновых рецепторов являются структурными аналогами СА и, как было показано, также способны связываться и активировать TAAR1 [78].

Важнейшим этапом изучения TAAR1 стало появление селективных лигандов. Первым таким веществом стал N-(3-этокси-фенил)-4-пирролид-1-ил-3-трифлуорометил-бензамид (EPPTB, RO5212773), синтезированный в 2009 году в компании Hoffmann-La Roche (Швейцария, Цюрих) [160]. Данный агент является антагонистом или обратным агонистом TAAR1. В 2011-13 гг. был синтезирован и описан ряд высокоселективные полные (RO5256390, RO5166017) и частичные (RO5203648, RO5256397, RO5073012) агонисты TAAR1 [3, 31, 154, 171]. Химически вещества данной группы принадлежат либо к производным 2-бензилимидазола (RO5073012), либо 2-аминооксазолина (все остальные). Информация о фармакодинамических показателях селективных TAAR1 агонистов компании Hoffmann-La Roche представлена в Таблице 2. Наконец в 2018 фармацевтическая компания Sunovion (США) представила соединение SEP-363856 (впоследствии улотаронт), который также обладает агонистической активностью в отношении TAAR1. Формулы агонистов TAAR1 собраны на Рисунке 6.

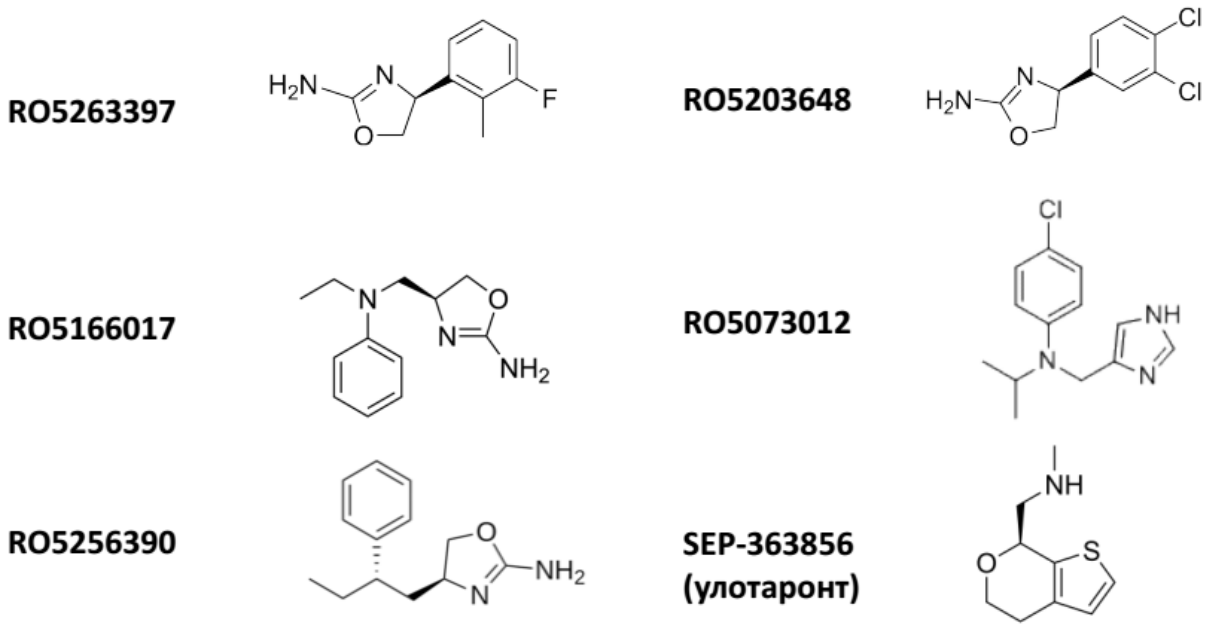

Рисунок 6. *Структурные формулы селективных лигандов TAAR1* [68].

Таблица 2. Фармакодинамические показатели селективных TAAR1 агонистов.

Показатель	K_i (нМ/л)	EC_{50}	BAA^1	EC_{50}	BAA^2
		цАМФ, HEK293		GIRK, ооциты Xenopus	
Mus musculus					
RO5166017	1,9 ± 1,2	3,3 ± 1,7	65 ± 15	8,0 ± 1,2	72 ± 2
RO5256390	4,4 ± 1,6	2 ± 0,9	79 ± 9	18 ± 6	68 ± 7
RO5203648	0,5 ± 0,3	4,0 ± 0,5	48 ± 11	2,1 ± 0,5	71 ± 2
RO5256397	0,9 ± 0,5	1,3 ± 0,4	59 ± 4	7,5 ± 1,1	64 ± 2
RO5073012	3,2 ± 1,1	23 ± 21	26 ± 5	-	-
Rattus norvegicus					
RO5166017	2,7 ± 1,3	14 ± 10	90 ± 17	-	-
RO5256390	2,9 ± 0,8	5.1 ± 1.7	107 ± 13	-	-
RO5203648	1,0 ± 0,3	6.8 ± 4.4	59 ± 9	-	-
RO5256397	9,1 ± 3	47 ± 20	76 ± 7	-	-
RO5073012	1,1 ± 0,2	25 ± 24	24 ± 8	-	-
Homo sapiens					
RO5166017	31 ± 4	55 ± 27	95 ± 8	-	-
RO5256390	24 ± 1	16 ± 12	98 ± 13	-	-
RO5203648	6,8 ± 3	30 ± 20	73 ± 10	-	-
RO5256397	4,1 ± 0,2	17 ± 13	81 ± 9	-	-
RO5073012	5,8 ± 1,9	25 ± 18	34 ± 4	-	-
Macaca fascicularis					
RO5166017	24 ± 5	97 ± 53	81 ± 1	-	-
RO5256390	16 ± 6	16 ± 13	100 ± 3	-	-
RO5203648	2,6 ± 0,9	31 ± 33	69 ± 9	-	-
RO5256397	24 ± 5	251 ± 96	85 ± 8	-	-
RO5073012	0,5 ± 0,3	8,8 ± 0,1	43 ± 1	-	-

Все значения представлены как среднее ± средняя ошибка среднего. Все результаты были получены, как минимум, в трёх сериях опытов. BAA представлена как % от максимальной активности (1) β-фенилэтиламина или (2) р-тирамина.

Ещё одним важным подходом для изучения функций белковых молекул является использование генетически модифицированных животных. В 2007-08 гг. параллельно в двух лабораториях созданы и фенотипированы линии мышей с выключенным геном TAAR1 (TAAR1-KO) [164, 169]. Их появление позволило исследователям подробно изучить физиологическое значение TAAR1 у лабораторных животных.

В экспериментах на животных повышенная активность мезолимбических дофаминергических структур, индуцированная введением ряда ПАВ, как правило, проявляется повышением двигательной активности (ДА) животных на поведенческом уровне [84, 87]. Соответственно, оценку угнетающего действия фармакологических агентов на такую стимулированную ДА используют для скрининга потенциальных антипсихотических препаратов [71, 76]. Для TAAR1-KO животных характерна повышенная чувствительность к стимулирующему действию психостимуляторов на ДА [79, 164, 169]. У мышей с повышенной экспрессией TAAR1 напротив наблюдали меньшую чувствительность к стимулирующему действию психостимуляторов по сравнению с животными «дикого типа» [31].

Результаты электрофизиологических экспериментов свидетельствуют о том, что у животных с избыточной экспрессией TAAR1 (TAAR1-OE) частота генерируемых нейронами спайков дофаминергических нейронов ВОП была ниже, чем у животных «дикого типа» [31]. Выключение гена TAAR1 напротив, приводило к повышению этой частоты [169]. В экспериментах было установлено, что для мышей TAAR1-KO характерно более выраженное повышение уровня МА в полосатом теле при введении амфетамина по сравнению с мышами «дикого типа» [169]. Обусловленность наблюдаемых различий функциями TAAR1 подтверждает снижение спонтанной активности после введения р-тирамина у мышей TAAR1-WT, но не у TAAR1-KO [31, 169]. Интересно отметить, что генетически обусловленная избыточная экспрессия TAAR1 у мышей не влияла на повышение

высвобождения дофамина, серотонина и норадреналина под действием амфетамина (2,5 мг/кг, внутрибрюшинно, в/б). При этом она приводила к повышению внеклеточных уровней катехоламинов в прилежащем ядре перегородки per se [31].

Основываясь на результатах этих экспериментов, выдвинуто предположение, что выключение TAAR1 может приводить к повышению, а чрезмерная экспрессия, наоборот, к снижению активности дофаминергической системы и, как следствие, уменьшению ДА. Косвенным подтверждение этой гипотезу являются данные, полученные на генетически модифицированной линии мышей, у которой выключены как ген TAAR1, так и ген DAT. Базальная ДА таких животных была значимо выше, чем у мышей, у которых не было только функционального DAT [175].

В то время как активация ДА при введении амфетамина, метамфетамина и кокаина более выражена у TAAR1-KO животных, чем у мышей «дикого типа» [15, 22, 57, 78], в случае с введением модафинила и кофеина повышение ДА было более выражено у мышей «дикого типа» [43], а локомоторные эффекты никотина не различались у животных с разным уровнем экспрессии TAAR1 [170]. Дополнительные свидетельства, подтверждающие гипотезу, что активация TAAR1 способна препятствовать поведенческим проявлениям, обусловленным мезолимбической гипердофаминергией, получены благодаря исследованиям на животных без функционального дофаминового транспортера (DAT-KO). При введении агонистов TAAR1 RO5203648 и RO5166017 наблюдалось снижение ДА у DAT-KO крыс и мышей [61, 117, 122]. Данный эффект является свидетельством того, что активация TAAR1 может препятствовать поведенческим проявлением мезолимбической гипердофаминергии. В ряде исследований утверждается, что протестированные соединения не оказывают влияния на спонтанную активность животных [117, 154]. Однако, стоит отметить, что существуют отдельные свидетельства такого влияния [79, 181]. Соответственно, при дальнейшем обсуждении эффектов агонистов TAAR1

следует учитывать их возможные неспецифические эффекты, проявляющиеся на поведенческом уровне снижением ДА.

1.5. Перспективы клинического применения агонистов TAAR1

По современным представлениям дисрегуляция активности дофаминергических структур мезолимбического пути являются одним из ключевых звеньев в патогенезе основных психических расстройств, включая расстройства шизофренического спектра, аффективные расстройства, заболевания с нарушениями импульсивно-компульсивного контроля, а также патологическое пристрастие к ПАВ [23]. Так, например, при шизофрении развитие продуктивной симптоматики связывают с мезолимбической гипердофаминергией, а недостаточная дофаминергическая передача в мезокортикальных структурах, отражается в появлении негативной симптоматики и когнитивных нарушений [136]. Как уже отмечено выше, TAAR1 участвуют в регуляции дофаминергической нейропередачи. Образуясь в ходе синтеза МА, СА снижают синтез и высвобождение МА по принципу отрицательной обратной связи, но в то же время могут способствовать активации постсинаптического нейрона. В этом контексте TAAR1 кажется чрезвычайно перспективной фармакологической мишенью, воздействие на которую позволит разнонаправленно влиять на разные аспекты дофаминергической дисрегуляции.

Исторически лиганды TAAR1 в первую очередь рассматривали как потенциальные антипсихотические препараты с комплексным пресинаптическим принципом действия. В экспериментальном исследовании Liang агонист 5HT1A/TAAR1 улотаронт (SEP-363856) показал однонаправленные эффекты с «традиционным» антипсихотиком оланзапаином в моделях шизофрении и при этом препятствовал набору массы тела у животных, повторно получающих оланзапин [54]. Агонисты TAAR1 также снижали выраженность нарушений когнитивных функций, которые могут сопровождать большинство психических расстройств. Например, RO5203648, RO5256390 и RO5263397 улучшали выполнение

обезьянами теста «поиск объектов», направленного на оценку памяти [3, 171]. Также можно отметить, что введение RO5256390 сопровождалось уменьшением выраженности нарушений, вызванных введением фенциклидина, при оценке «поведенческой гибкости к изменению правила получения подкрепления» у крыс мышей [3]. Интересно также отметить экспериментальную работу, в которой улотаронт оказывал собственное «антидепрессивно-подобное» действие, а также усиливал эффекты дулоксетина в тестах форсированного плавания и тесте подвешивания за хвост [158]. Агонисты RO5203648, RO5263397 и RO5166017 проявляли «анксиолитическое» действие в тесте «стресс-вызванная гипертермия» на мышах [29, 154, 171].

Первые результаты клинических исследований казались многообещающими. В соответствие с опубликованными результатами 2-й фазы клинических исследований, проводимых Sunovion Pharmaceuticals, SEP-363856 (улотарон) продемонстрировал способность снижать выраженность как позитивных, так и негативных симптомов у пациентов, страдающих шизофренией [1, 150]. Однако впоследствии разработка данного препарата была приостановлено в 3-й фазе из-за недостижения первичных конечных точек. В настоящее время продолжаются исследования по оценке терапевтического действия улотаронта у пациентов с генерализованным тревожным расстройством и психозами, вызванными терапией болезни Паркинсона. Представляется, что агонисты TAAR1 смогут использоваться как легкие антипсихотики/анксиолитики в терапии относительно легких расстройств или в комбинации с «традиционными» препаратами для усиления их терапевтического эффекта или «коррекции» побочных эффектов.

Соединение, использованное в настоящей работе, RO5263397 также рассматривали как потенциальный антипсихотик. Однако его разработка была остановлена из-за выявления группы людей со сниженным клиренсом препарата в 1-й фазе клинических испытаний [5].

1.7. Перспективы использования агонистов TAAR1 в терапии патологического пристрастия к ПАВ

Считается, что длительное введение ПАВ вызывает определенные нейроадаптации в дофаминергических структурах мезолимбического пути и изменения их активности [26]. Известно, что ПАВ, способные вызывать пристрастие, увеличивают фазическое высвобождение дофамина в этих структурах [180]. Быстрое и значительное высвобождение дофамина ведет к активации низкоафинных дофаминовых рецепторов D1, что опосредует эффекты «вознаграждения» и обусловленных им поведенческих реакций. Стимуляция рецепторов D2 напротив недостаточна и может даже ограничивать развитие «вознаграждения» [41]. Согласно теории понятия желание/влечение («craiving») и наслаждение или «вознаграждение» это разные процессы и их следует разделять [26] Активация соответствующих дофаминергических нейронов, наблюдаемая в ответ на новое вознаграждение снижается при определенном числе повторений, но сохраняется активность нейронов, предсказывающих получение «вознаграждения» [137]. Фазовое высвобождение дофамина в вентральном стриатуме, индуцированное ПАВ, ведет к тому, что стимулы, ассоциированные с ПАВ, также значимо увеличивают уровень дофамина. Этот процесс позволяет прежде нейтральным стимулам обретать особую значимость и контроль над поведением. Условные стимулы, вызывая высвобождение дофамина поддерживают мотивацию употреблять ПАВ даже когда к желанным фармакологическим эффектам развивается толерантность, или употребление приводит к пагубным последствиям [149]. Со временем активность вентральной петли вознаграждения и мотивации снижается и управление поиском и потреблением ПАВ перемещается в дорсальный нейронный контур «привычек» в результате чего эти поведенческие акты обретают компульсивный характер [24]. Изменения в ЦНС на поведенческом уровне проявляются компульсивным поиском и приемом ПАВ, несмотря на неблагоприятные последствия, утратой количественного контроля, развитием

аффективных, эмоциональных нарушений при резком прекращении употребления [50].

Существующие подходы к лекарственной терапии патологического пристрастия ограничены и в основном направлены либо на облегчение синдрома отмены, либо на предотвращения рецидива, предупреждение развития прайминг-эффекта и эскалации употребления ПАВ при рецидиве. Таким образом, в области наркологии очевидна необходимость поиска новых терапевтических мишеней. Одной из таких мишеней может быть TAAR1.

В ряде работ показано, что агонисты TAAR1 в доклинических моделях аддиктивных состояний демонстрируют способность препятствовать определённым поведенческих эффектов ПАВ. Подробно результаты представлены в Таблице 3. Так, например, показано, что введение агонистов TAAR1 препятствует поддержанию и восстановлению угашенной РВС ПАВ, снижению порога электрической самостимуляции мозга под действием ПАВ, развитию УРПМ, ассоциированного с ПАВ, а также развитию и проявлению сенситизации к эффектам ПАВ, которая в экспериментах на животных проявляется повышением чувствительности к стимулирующему действию ПАВ на двигательную активность [129].

Однако при внимательном изучении экспериментальных данных данных работ возникают вопросы о специфичности показанных эффектов, прежде всего из-за недостаточной комплексности проведенных исследований. Например, снижение РВС ПАВ под действием агонистов TAAR1 может быть проявлением их неспецифического действия на двигательную или оперантную активность лабораторных животных или следствие собственных первично-подкрепляющих свойств данной фармакологической группы. Кроме того, некоторые аспекты аддиктивного поведения, например, депривационный эффект, частично отвечающий за binge-потребление ПАВ, вообще, остались вне фокуса внимания исследователей. Именно решению этих вопросов и посвящена данная работа.

Таблица 3. Влияние агонистов TAAR1 на поведенческие эффекты ПАВ в экспериментальных моделях различных аспектов зависимостей.

	Методика	**Агонист TAAR1**	**Эффект**	**Предполагаемы неспецифическ ие эффекты**
Острые эффекты ПАВ	ДА	RO5166017	↓	↓ спонтанной вертикальной активности (высокие дозы), ↑ спонтанной ДА (RO5203648 в дозе 30 мг/кг)
		RO5073012		
		RO5203648		
		RO5256390		
		RO5263397		
Сенситизация к эффектам ПАВ	ДА	RO5203648	↓	↓ спонтанной вертикальной активности (высокие дозы), ↑ спонтанной ДА (RO5203648)
		RO5263397		
	РВС ПАВ	RO5166017	↓	общее снижение активности, снижение чувствительност и к ассоциированны м стимулам
		RO5073012		
		RO5203648		
		RO5256390		
		RO5263397		
	ИПЭСС	RO5256390	↓	↓ порога эл. самостимуляции у интактных животных
		RO5263397		

Рецидив злоупотребления ПАВ	Восстановление угашенной РВС ПАВ		↓	общее снижение активности, снижение чувствительности к ассоциированным стимулам
	ПАВ-индуцированное	RO5166017		
		RO5203648		
		RO5263397		
	Стресс-индуцированное	RO5166017		
	Стимул-индуцированное	RO5166017		
		RO5203648		
		RO5256390		
		RO5263397		
Вторично-подкрепляющие свойства ПАВ	УРПМ	RO5166017	↓экспрессии	Общее снижение активности, собственные вторично-подкрепляющие свойства
		RO5256390		
		RO5263397		

ДА – оценка двигательной активности; ИРВС – инициация реакции внутривенного самовведения, РВС – поддержание реакции самовведения, РППП – реакция поддерживаемая пищевым подкреплением (методика может использоваться как контрольный эксперимент к РВС), ИПЭСС – изменение порога электрической самостимуляции мозга, УРПМ – условнорефлекторная реакция предпочтения места; ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в 2018–22 гг. в Институте фармакологии им. А.В. Вальдмана ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (директор: д.м.н., профессор Звартау Э.Э.). Все эксперименты соответствовали требованиям «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» [182].

2.1. Животные

Животных (информация представлена в Таблице 4) содержали в конвенциональных условиях в помещениях с контролируемыми условиями. Мыши в эксперименте инициации внутривенного самовведения у мышей содержались по 8–10 особей в клетке в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде. Крысы в экспериментах СДЭ, РВС, РППП содержались в одиночных клетках, в эксперименте УРПМ по 4–6 особей в клетке. В методиках с пищевым подкреплением суточное потребление корма крысами было ограничено (14–16 г). В остальных экспериментах животные получали пищу без ограничений.

Таблица 4. Животные, использованные в работе.

Вид	**Эксперимент**	**N**
Мыши (Swiss)	ИРВС	n=47
Крысы (Wistar)	СДЭ	n=10
	РВС (однократное введение)	n=7
	РВС (повторное введение)	n=16
	РППП	n=8
	УРПМ	n=110
	Нейрохимия	n=16

2.2. Вещества

В фармакологических тестах использовали частичный высокоселективный агонист TAAR1 RO5263397 (F. Hoffmann-La Roche, Швейцария), сахарин (Нева Реактив, Санкт-Петербург, Россия). никотина дигидротартрат (Sigma-Aldrich, Миссури, США). RO5263397 растворяли в 0,2% водном растворе Tween 80 и вводили в/б за 15 минут до начала тестов. Порядок тестирования доз в случае внутригруппового дизайна определяли по схеме «Латинский квадрат». Никотина дигидротартрат растворяли в фосфатном буфере.

2.3. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Обратно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с электрохимической детекцией для измерения содержания моноаминов, а также их метаболитов проводили, как описано ранее [123].

В опыте использовали независимую группу крыс (N=16), разделённую на две подгруппы. Крысы первой получали RO5263397 в дозе 3 мг/кг, а животные второй контрольной растворитель. После инъекции крыс возвращали в домашние клетки на 1 час. Животных подвергали эвтаназии (дислокация шейных позвонков) и с помощью гильотины голову отделяли от туловища. Диссекцию стриатума осуществляли на холоде. Подготовка проб к ВЭЖХ анализу включала взвешивание, разморозку и гомогенизацию в необходимом объеме 0,1 М HClO4, содержащей 2,3-дигидроксибензойную кислоту заданной концентрации. Следующий этап - центрифугирование (14000 g, 10 минут, +4^{o}C). Супернатант переносили в пробирки с фильтром 20 μM (PVDF, Millipore) для второго этапа центрифугирования (12000 g, 2 минуты, +4 ^{o}C). Далее полученный в ходе фильтрации супернатант разделяли методом ВЭЖХ для количественного анализа содержания норадреналина, дофамина, диоксифенилуксусной кислоты, гомованилиновой кислоты, серотонина и 5-гидроксииндолуксусной кислоты.

Для анализа использовали прибор Eicom HTEC-500 (Japan). Разделение производили на колонке CA-50DS (150*2.1 мм, Eicom, Japan). Детектирование осуществляли на аналитической ячейке с графитовым электродом WE-3G (Eicom, Japan), при потенциале +650 мВ. В состав подвижной фазы входили следующие компоненты: 100 мМ натрий-фосфатный буфер, 0,17 мМ этилендиаминацетат натрия, 1,8 мМ октилсульфонат, 18% метанол, pH 4.5. Расход элюента – 0,2 мл/мин. Содержание определяемых веществ рассчитывали в нг/мг ткани. Сбор фракций после разделения и анализа не производился. Работа с хроматограммами производилась с помощью программы PowerChrom. Содержания моноаминов и их метаболитов в стриатуме производили с использованием внутреннего стандарта DHBA. Для расчета содержания МА и их метаболитов применяли фактор отклика (RF), который рассчитывали по формуле:

$$RF \text{ стандарта } = \frac{\text{Площадь пика внутреннего стандарта}}{\text{Площадь пика стандарта}} * \text{концентрация стандарта}$$

Концентрации МА и их метаболитов в пробе рассчитывали по формуле:

$$\text{Концентрация вещества в пробе} = \frac{\text{площадь пика вещества в пробе}}{\text{площадь пика внутреннего стандарта в пробе}} * RF \text{ стандрата}$$

2.4. Поведенческие методы

2.4.1. Сахариновый депривационный эффект (СДЭ)

Исследование сахаринового депривационного эффекта проводили, как описано ранее [66]. Через неделю после рассаживания животных по одиночным клеткам крысам предоставляли для питья две бутылки, одна из которых была наполнена водой, а другая – 0,1% водным раствором сахарина. Сахарин (ООО «НеваРеактив», С.-Петербург) растворяли в фильтрованной

питьевой воде комнатной температуры. В течение 4 недель крысы имели неограниченный свободный доступ к бутылкам с водой и раствором сахарином, а ежедневное потребление жидкости фиксировалось посредством взвешивания бутылей (в промежуток с 14 до 16 часов). При этом сахариновые и водные бутылки ежедневно меняли местами.

По окончании 4-недельного периода проводили серию депривaций посредством изъятия бутылей с сахариновым раствором на одну неделю (период депривации). Интервал между последовательными депривациями составлял 3 недели. Сахариновый депривационный эффект регистрировали как избирательное (по отношению к потреблению воды) повышение потребления раствора сахарина после его возвращения в клетки (последепривационный период). Фармакологические тесты проводили в момент возвращения раствора сахарина с началом последепривационного периода.

Анализировали потребление раствора сахарина и воды в течение 1-го, 2-го и 3-го часа, а также за сутки после возвращения раствора сахарина в клетки. Потребление рассчитывали, как средний вес потребляемой жидкости (воды или раствора сахарина), отнесённый к весу животного.

2.4.2. Инициация реакции внутривенного самовведения (ИРВС) у мышей

2.4.2.1. Экспериментальная установка

Влияние агониста TAAR1 на первично-подкрепляющие свойств никотина изучали с помощью методики инициации ИРВС у мышей. Установка для проведения исследования состояла из сдвоенных экспериментальных боксов 8x8x8 см, изготовленных из непрозрачного белого пластика. Каждый бокс включал в себя 4 отсека для 2 пар мышей. В передней стенке бокса имелось специальное отверстие с инфракрасной оптопарой, регистрирующее выглядывание мыши в отверстие. Отверстие было расположено на высоте 0.5 см от пола, его диаметр составляет 1.2 см. Отверстие остается закрытым до начала экспериментальной сессии и открывается непосредственно перед

началом эксперимента. В задней стенке бокса имеется прорезь для хвоста животного. Хвост проводится в прорезь за пределы отсека и фиксируется липкой лентой к горизонтальной поверхности установки. Информация с регистрирующего датчика обрабатывалась и сохранялась с помощью компьютерной программы, которая также управляла работой микроинъектора, осуществлявшего инъекцию заданного объема раствора никотина (1,6 мкл/инфузия, продолжительностью 0,2 сек) в ответ на двигательный акт выглядывания.

2.4.2.2. Экспериментальная процедура

Животных тестировали попарно в сдвоенных экспериментальных боксах. Размещение животных в боксе производили таким образом, что мышь могла свободно выглядывать в отверстие на передней стенке, а хвост через отверстие был выведен за пределы бокса и фиксирован к горизонтальной поверхности экспериментальной установки для пункции латеральных хвостовых вен.

Эксперимент начинался с тестирования исходного уровня активности животного (претест 10 мин) по количеству выглядываний и подбору пар с равнозначной активностью. Затем животные располагаются в установке попарно, производится венопункция хвостовой вены катетером. Во время теста продолжительностью 30 минут одна из мышей является «активной» (АМ) и получает инфузию ПАВ в ответ на собственное выглядывание в отверстие. «Пассивная» мышь (ПМ) получает инфузию в соответствии с выглядываниями АМ и служит контролем. Собственные выглядывания ПМ регистрируются, но не имеют последствий для животного. За 15 минут до тестовой сессии экспериментальным животным вводили RO5263397в дозах 3, 6, 8, 10 мг/кг, в/б.

Поскольку оба животных в паре находились в идентичных экспериментальных условиях и имели сходный начальный уровень оперантной активности, различия в выполнении оперантных реакций во время сессии выработки внутривенного самовведения между АМ и ПМ

обусловлены мотивационными свойствами никотина и ассоциативной связью между инструментальной реакцией выглядывания и внутривенной инфузией раствора никотина.

2.4.2.3. Регистрируемые параметры

Регистрировалось количество выглядываний АМ и ПМ, на основе которых в дальнейшем вычисляли анализируемые критерии. Для оценки развития реакции и подкрепляющего эффекта никотина рассчитывали R критерий по формуле для каждой пары животных:

$$R = \lg A2/П2 – \lg A1/П1,$$

где А1 и А2 - количество выглядываний у АМ в периоде исходного тестирования и периоде в выработки в/в самовведения, соответственно, а П1 и П2 - те же показатели для ПМ. Эффект никотина расценивали как подкрепляющий в случае, если R-критерий больше 0, и статистически значимо отличается от значений, полученных в контрольной группе. Десятичные логарифмы использовали с целью нормализации распределения данных и уравновешивания вклада отдельных положительных и отрицательных значений R критерия в группе в итоговое среднее значение. Использовали также N+ критерий, отражающий количество (процент) пар животных в группе с показателем R, превышающим верхнюю доверительную границу этого показателя в контрольной группе (РВС фосфатного буфера). Также был производен подсчет кумулятивной дозы фармакологического средства, потребленной АМ за сессию самовведения. В данном исследовании никотин был использован в предпочитаемой дозе 0,06 мг/кг/на инфузию, рассчитанной на свободное основание (*free base*). Никотин растворяли в фосфатном буфере перед каждой сессией самовведения.

2.4.3. Реакция внутривенного самовведения у крыс (РВС)

2.4.3.1. Экспериментальная установка

Исследования выполняли в десяти экспериментальных установках, состоящих из оперантной камеры (30,5×24,1×29,2 см; ENV-007, MED Associates Inc., East Fairfeld, VT, США), помещенной в звукоизолирующую

оболочку. Оболочка оснащена вентилятором, который обеспечивает циркуляцию воздуха и «белый» шум. На центральной панели боковой стенки камеры на высоте 2 см от пола помещен лоток для пищевых гранул, снабженный парой инфракрасных датчиков (ENV254-CB) для фиксации заглядываний в него животных. Лоток соединен с автоматически управляемым устройством (ENV-203-45), поставляющим пищевые гранулы 45 мг (P. J. Noyes Inc., Lancaster, NH, США). Над лотком находился источник звука (ENV-223AM) и лампа (ENV-215M, 2,5 Вт) внутреннего (общего) освещения камеры. Справа или слева от лотка находились выдвигающиеся педали, нажатия на которые фиксировались системой. Для сбора и записи данных использовали компьютер IBM, оборудованный интерфейсом MED-PC (MED Associates, США).

2.4.3.2. Обучение животных оперантному навыку выглядывания в отверстие

Экспериментальные сессии каждого животного проходили в одной и той же камере. Перед началом эксперимента животных обучали оперантному навыку выглядывания в специальные отверстия. Для этого группу крыс ограничивали в доступе к пище в течение недели перед началом обучения. Крыс помещали в оперантные камеры с доступом к двум отверстиям. Выглядывание в одно из отверстий («активное»), вызывало предоставление пищевой пеллеты. Выглядывание в другое («неактивное») отверстие не имело последствий, но также регистрировалось и сохранялось. В течение обучения вначале подкрепляли каждое выглядывание в «активное» отверстие (оперантный режим подкрепления «фиксированное соотношение» 1, ФС 1), затем каждое второе (ФС 2), а затем каждое пятое (ФС 5). Критерием перехода от режима к режиму было получение 75 подкреплений за 900 секунд. Продолжительность тренировочных сессий была ограничена 60 минутами. Каждый день проводилась только 1 экспериментальная сессия. Эксперимент проводили 6 дней в неделю (понедельник-суббота). После

обучения крысам была проведена хирургическая имплантация катетеров в яремную вену.

2.4.3.3. Изготовление катетеров

На заготовке для катетера (Plastics One Inc., C313G-5UP GUIDE 22GA 38172 5-UP 11 MM LENGTH) металлическую трубочку сгибали посередине круглогубцами под углом 90°. На изогнутую часть металлической трубочки надевали до основания заранее отрезанную и вымоченную в уайт-спирите силиконовую трубочку малого диаметра (SILASTIC LABORATORY TUBING 508–003, 0.012 IN ID/0.025 IN OD) длиной 13 см. Заготовки были просушены в течение 24 часов. Поверх силиконовой трубочки малого диаметра надевали трубочку большого диаметра (SILASTIC LABORATORY TUBING 508–003, 0.025 IN ID/0.047 IN OD) длиной 4 см, заранее отрезанную и вымоченную в уайт-спирите. Заготовки также были просушены в течение суток. Проходимость и прочность заготовок проверяли дистиллированной водой. С помощью паяльника вырезали из пластиковой сетки круги подложки диаметром 2,5 см. Форму для отливки обезжиривали аэрозолем для чистки и смазывания поверхностей, вставляли заготовки, зажимали струбциной и заливали протакрилом. Сразу же на жидкий протакрил клали ранее заготовленную подложку из пластиковой сетки. Через 24 часа снимали струбцину и, разделив половинки доставали заготовки. Трубочки катетера прикрепляли силиконовым клеем к подложке и обрабатывали по кругу основание из протакрила и давали просохнуть в течение 24 часов. Наносили 2 капли силиконового клея в 3,5 см от свободного конца силиконовой трубочки и давали просохнуть в течение 24 часов. На металлическую часть катетера надевали трубочку TYGON TUBING (0.06 IN OD/0.02 IN ID), отступив 1–2 мм от края металлической части, отрезали трубочку. Леску яркого цвета вставляли на 1–2 мм в глубину трубки (до металлической части) и обрезали по краю трубочки.

2.4.3.4. Хирургическая имплантация катетеров

Перед наркотизацией животных взвешивали. Масса крыс на момент проведения хирургических операций составлял в среднем 250 г. Общая анестезия при хирургических манипуляциях была обеспечена сочетанным введением ксилазина (10 мг/кг; Interchemie, Castenray, Нидерланды) и кетамина (80 мг/кг; ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия). Препараты вводили в/б в разных шприцах. Для проверки глубины наркоза оценивали подошвенный и роговичный рефлекс. В случае необходимости проводили дополнительное введение кетамина в дозе 45 мг/кг. Во время операции температуру тела крысы контролировали с помощью ректального термометра. После того как животное достигало состояния глубокого наркоза сбривали шерсть на шее, на правом боку и между лопаток. Операционное поле обрабатывалось спиртом. Ножницами производили продольный разрез на правом боку не более 2 см. Через разрез кожу на спине отсепарировали от прилежащих тканей с помощью ножниц. Через разрез на боку вводили катетер и протыкали им отверстие в коже таким образом, чтобы наружу вышла металлическая трубка и пластиковый столбик катетера. Животное закрепляли на операционном столе с подогревом. Далее обрабатывали спиртом операционное поле на шее, выполнялся разрез на шее ножницами на левой части шеи от уровня чуть выше ключицы (до 1 см в длину). С помощью двух пинцетов раздвигали мышц шеи, выделение и отсепарирование наружной левой яремной вены (примерно 5 мм длины вены). Через отверстие под кожей с помощью проводника, конец катетера выводили на шею. После, подводили две стерильные лигатуры под вены, одна из них проксимально перевязывала вену, конец закрепляли на операционном поле. Специальной иглой крюком производили продольное отверстие в вене, в это отверстие вводится специальная игла с желобом и по ней вводится катетер. Далее вторая лигатура завязывали между двумя уплотнениями катетера, концы лигатур подшивались к прилежащим тканям. Разрезы на шее зашивались по 2–4 лигатуры на каждый шов, для бокового

разреза возможно использование кожных скобок. В катетер сразу же вводили растворы метамизола (ФГУП «Армавирская биофабрика», Россия,), антибиотика гентамицина сульфата (ФГУП «Мосхимфармпрепараты», Россия) и гепарина (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия). Наложенные швы обрабатывали йодинолом и левомеколем. После выхода из наркоза животное осматривали дважды в день. В течение пяти дней после операции для предотвращения послеоперационных болей вводили раствор анальгина (50 мг/кг); для профилактики послеоперационных осложнений – вводили раствор гентамицина (6 мг/кг). На протяжении всего эксперимента для предотвращения непроходимости ежедневно промывали катетер раствором гепарина (20 Ед/мл).

2.4.3.5. Выработка РВС никотина

Для выработки РВС никотина через неделю после имплантации внутривенных катетеров крыс вновь помещали в оперантные камеры, однако теперь выглядывание в «активное» отверстие оперантных камер приводило к получению инъекции никотина (0,03 мг/кг на инфузию, по свободному основанию). После каждого подкреплённого выглядывания следовало выключение общего света в камере на 60 с (период «*time-out*», в течение которого последующие выглядывания не подкрепляли), а также включение трех разноцветных лампочек над «активным» отверстием на 3 с. В течение первых четырех дней внутривенными инфузиями подкрепляли каждое выглядывание в «активное» отверстие (ФС 1), далее следовало 7 сессий под режимом ФС 3 и 7 сессий под ФС 5. Продолжительность экспериментальной сессии составляла 60 минут.

Рисунок 7. *Крыса с имплантированным катетером в оперантной камере*

Фармакологические опыты проводили на режиме ФС 5. Тесты с однократным введением RO5263397 (1, 3 и 10 мг/кг) выполняли по схеме «Латинский квадрат», 2 раза в неделю, так чтобы они были разделены, как минимум, 72 часами.

На основании результатов эксперимента с однократным введением была выбрана доза 10 мг/кг. Именно под действием фармакологического агента в такой дозе у крыс снижались показатели РВС. Животных на основании результатов 2 последних сессий перед началом опыта с RO5263397 разделили на 2 подгруппы: «экспериментальную» и «контрольную». Крысы из первой группы получали агонист TAAR1 в течение 14 дней, а крысы из второй его растворитель по такой же схеме.

2.4.4. Оперантная реакция, поддерживаемая пищевым подкреплением, у крыс (РППП)

Группу крыс ограничивали в доступе к пище в течение недели перед началом обучения. В начале каждой экспериментальной сессии крысу помещали в оперантную камеру (описанные выше в главе 2.4.3.1). Выглядывание в одно отверстие приводило к получению одной пищевой пеллеты. Это отверстие в дальнейшем обозначали как «активное». Выглядывание в другое отверстие («неактивное») не имело никаких последствий, но также регистрировалось. В течение обучения вначале подкрепляли каждое выглядывание в «активное» отверстие (ФС 1), затем каждое третье (ФС 3), а затем каждое пятое (ФС 5). После каждого подкреплённого выглядывания следовало выключение общего света в камере на 120 с (перерыв, в течение которого выглядывания не подкрепляли), а также включение трех разноцветных лампочек над «активным» отверстием на 3 с.

В течение первых четырех дней подкрепляли каждое выглядывание в «активное» отверстие (ФС 1), далее следовало 7 сессий под режимом ФС 3 и 7 сессий под ФС 5. Животные были разделены на две группы. У одной группы пищевые подкрепления следовали сразу же после выглядывания в «активное» отверстие, у другой доставка пеллет происходила с задержкой, которая варьировала от 10 до 30 с. Фармакологические опыты проводили на режиме ФС 5. Введение RO5263397 (1, 3 и 10 мг/кг) выполняли по схеме «Латинский квадрат», 2 раза в неделю, так чтобы они были разделены, как минимум, 72 часами.

2.4.5. Условнорефлекторная реакция предпочтения места (УРПМ)

Эксперимент проводили в челночной камере, разделенной перегородкой на два отсека равного размера с равной степенью освещенности. Отсеки отличались обстановочными стимулами: цветом и рисунком стен, а также текстурой пола. В одном отсеке стенки камеры были голубого цвета с белыми вертикальными линиями, дно отсека было

выполнено из матового стекла. Во втором отсеке стенки камеры были розовые с белыми точками, дном камеры являлось гладкое прозрачное стекло. Перемещения животного регистрировались видеокамерой и время пребывания в каждом из отсеков анализировались программой Ethovision 11.5. Метод основан на ассоциации обстановочных стимулов с эффектами ПАВ. Предполагается, что повторное введение ПАВ в соответствующем отсеке камеры приводит к тому, что нейтральные обстановочные стимулы при сочетании с эффектами ПАВ могут приобретать собственные «аттрактивные» свойства. Если эффект ПАВ испытывается животным в одной из камер установки имеющей специфические дискриминативные стимульные свойства (в случае настоящего эксперимента цвет и рисунок стенок и текстура дна камер), то животное предпочитает находиться в этом отсеке, если ему предоставляется выбор.

Методика выработки УРПМ у крыс существует в двух модификациях: а) с исходным предпочтением животными одного из экспериментальных отсеков (*biased procedure*) и б) с исходно сбалансированным выбором отсеков экспериментальной камеры (*unbiased procedure*). В первом случае легче получить четкую кривую зависимости «доза-эффект», однако при этом трудно исключить вклад антиаверсивных свойств исследуемого вещества в окончательный эффект обусловливания. При использовании второй модификации уверенность в определении «награждающих» эффектов препаратов выше. В настоящем исследовании была выбрана методика выработки УРПМ при исходно сбалансированном выборе отсеков экспериментальной камеры (*unbiased procedure*).

Каждый день проводилась одна экспериментальная сессия длительностью 30 мин. На время выработки реакции отсеки камеры были разделены перегородкой. Перед помещением в один из отсеков на 30 мин животным вводили растворитель. На следующий день во время второй сессии вводили ПАВ или исследуемое соединение (в контрольной группе - растворитель) перед помещением животного в противоположный отсек.

Размещение животных после инъекции в том или ином отсеке производили таким образом, что половину группы размещали в данном отсеке после инъекции препарата, а другую половину - после введения растворителя. После каждой экспериментальной сессией камеры обрабатывали 3% раствором перекиси водорода. Выработку реакции проводили в течение 7 дней. На 8 день следовало заключительное тестирование выработки условного рефлекса. Из камеры вынимали перегородку между отсеками и в течение 30 минут крысы свободно исследовали оба отсека экспериментальной камеры. Время, проводимое в отсеке, ассоциированном с действием препарата, сравнивали со временем нахождения в отсеке, ассоциированном с растворителем. За критерий предпочтения условно принимается время нахождения в отсеке, ассоциированном с действием препарата более 2/3 от общего времени теста (1800 с). Предпочтение отсека, ассоциированного с фармакологическим эффектом, оценивается как косвенное свидетельство положительных мотивационных свойств изучаемого соединения.

В настоящем исследовании использовали 5 групп животных. Первая группа являлась активным контролем и получала морфин, являющийся эталонным ПАВ, другая группа получала растворитель и оставшиеся группы получали RO5263397 в дозах 1, 3 и 6 мг/кг.

2.5. Статистическая обработка

Полученные результаты обрабатывали в статистических программах SigmaPlot (версия 12,5, Systat Software, Inc, Калифорния, США) и IBM SPSS Statistics (версия 21, IBM, Нью-Йорк, США). Статистическую значимость фармакологических эффектов и их дозозависимость оценивали с помощью либо попарных сравнений (тест Стьюдента, тест Манн-Уитни, тест Вилкоксона), либо различных вариантов дисперсионного анализа. В случае дисперсионного анализа при получении статистически значимого влияния фактора или их сочетания в дальнейшем проводили межгрупповые сравнения (тесты Даннетта и Бонферрони). Различия считали значимыми при $P<0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Оценка влияния фармакологической активации TAAR1 на содержание МА и их метаболитов в стриатуме

3.1.1. Результаты

Образец одной из крыс из группы, получивших RO5263397, был утерян вследствие технической ошибки.

Результаты эксперимента представлены на Рисунке 8.

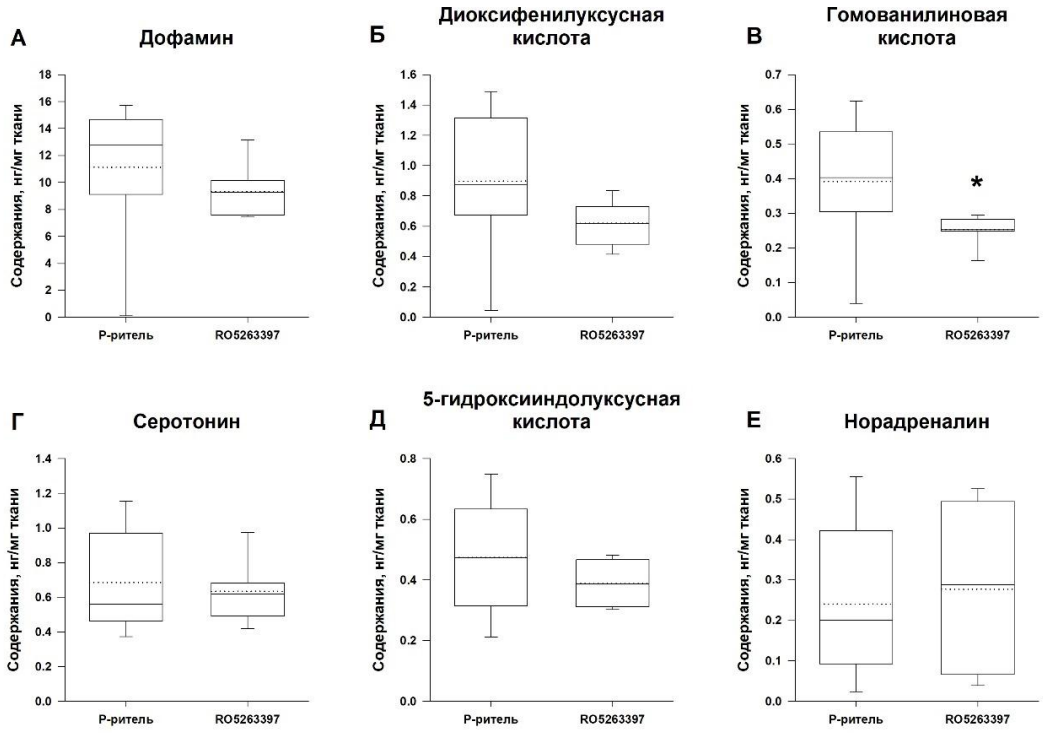

Рисунок 8. *Изменение содержания уровня содержания нейромедиаторов-моноаминов в стриатуме после введения RO5263397 (3 мг/кг, в/б). Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящика представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентили. * - P<0,05 (тест Манна-Уитни).*

Как можно видеть, однократное введение RO5263397 в дозе 3 мг/кг сопровождалось более низким содержанием дофамина и его метаболитов в образцах стриатуме у крыс. Однако при проведении статистического анализа (тест Манна-Уитни) только в случае гомованилиновой кислоты, её содержание было значимо ниже в группе, получившей RO5263397, чем у контрольных животных. В случае дофамина и диоксифенилуксусной кислоты результаты статистического анализа позволили выявить только тренд к их снижению (P=0,05 и P=0,09, соответственно). Различий в содержании норадреналина, серотонина и 5-гидроксииндолуксусной кислоты не наблюдалось (тест Манна-Уитни, n.s.).

3.1.2. Обсуждение

Как упоминалось выше, действие большинства ПАВ, способных вызывать развитие аддикций, сопровождается повышением высвобождения дофамина в стриатуме. Данные проведённого нейрохимического анализа указывают, что фармакологическая активация TAAR1 способна снижать уровень метаболизма дофамина в стриатуме, таким образом можно предположить, что данный механизм действия селективных агонистов TAAR1 может лежать в основе как потенциального антипсихотического действия, так и влияния на поведение, направленное на поиск и прием ПАВ.

До настоящего времени такого рода исследования высокоселективных агонистов TAAR1 не проводились, тем не менее в литературе существует некоторые свидетельства о роли активации данных рецепторов на уровень моноаминов в стриатуме. Например, с помощью метода микродиализа показано, что повышение внеклеточного уровня моноаминов (дофамина, серотонина, норадреналина) в полосатом теле через 30 минут после введения амфетамина (2,5 мг/кг, в/б) было примерно в 2,3 раза выше у TAAR1-KO мышей по сравнению с животными «дикого типа» [169]. А в 2014 установлено, что выключение TAAR1 может вызывать повышение уровня метаболизма дофамина в этой структуре ЦНС [152]. При этом любопытно, что чрезмерная экспрессия TAAR1 у мышей приводила к повышению

внеклеточных уровней катехоламинов в прилежащем ядре перегородки *per se*, но не влияла на повышение высвобождения дофамина, серотонина и норадреналина под действием амфетамина (2,5 мг/кг, в/б) [31].

Мезолимбическая гипердофаминергия у животных на поведенческом уровне проявляется двигательной гиперактивностью. В Таблице 6 представлены результаты экспериментов, в которых агонисты TAAR1 препятствуют развитию двигательной гиперактивности, вызванной введением ПАВ.

Таблица 5. Влияние агонистов TAAR1 на развитие и экспрессию сенситизации к действию ПАВ.

Агонист TAAR1	**Доза агониста TAAR1 / путь введения**	**Вид животных**	**ПАВ / длительность введения**	**Доза ПАВ (развитие / экспрессия сенситизации)**	**Эффекты агониста TAAR1**	**Ссылки**
RO5203648	1,67; 5 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Метамфетамин / 14 дней	0,75 мг/кг / 0,25 мг/кг	↓ развитию и экспрессии сенситизации в дозах 1,67 и 5 мг/кг	[163]
RO5263397	3,2-10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Метамфетамин / 5 дней	1,5мг/кг/0,32-3,2мг/кг	↓экспрессии сенситизациив дозе 10 мг/кг	[86]
	3,2-10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Кокаин / 7 дней	15 мг/кг / 3,2-32 мг/кг	↓ развитию сенситизации в дозе 3,2 и 10 мг/кг	[165]
	3,2; 10мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Кокаин / 8 дней	15 мг/кг / 3,2-32 мг/кг	↓экспрессии сенситизации в дозе 10мг/кг	[58]

	3,2-10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Никотин / 7 дней	1 мг/кг / 0,1-1мг/кг	↓ развитию и экспрессии сенситизации в дозе 10мг/кг	[133]
	1-10 мг/кг; в/б	Крысы Wistar	Никотин / 8 дней	0,4 мг/кг	↓ развитию в дозах 1, 3 и 10 мг/кг, а также экспрессии сенситизации в дозе 10мг/кг	[170]

↓ - препятствует

Таблица 6. Влияние агонистов TAAR1 на вызванную ПАВ двигательную гиперактивность.

Агонист TAAR1	**Доза агониста TAAR1/путь введения**	**Вид животных**	**ПАВ**	**Доза ПАВ/путь введения**	**Эффекты агонистаTAAR1**	**Ссылки**
RO5166017	0,03–0,3 мг/кг; п/о	Мыши C57BL/6	Кокаин	15 мг/кг; в/б	↓ вызванной ПАВ активации горизонтальной ДА в дозе 0,3 мг/кг / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 0,3 мг/кг	[154]
	0,01–0,1 мг/кг; п/о	Мыши NMRI	L-687,414[1]	50 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозе 0,1 мг/кг / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 0,1 мг/кг	
RO5073012	3–30 мг/кг; п/о	Крысы Wistar	Кокаин	20 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА[2]	[22]
RO5203648	1–10 мг/кг; п/о	Крысы	Кокаин	20 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию	[171]

		Wistar			горизонтальной ДА / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 10 мг/кг	
	0,3–10 мг/кг; п/о	Мыши C57BL/6J	Кокаин	20 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозах 1-3 мг/кг / ↓ спонтанную ДА в дозах 0,3-3 мг/кг	
	0,01–0,1 мг/кг, п/о	Мыши C57BL/6J	L-687,414[1]	50 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозах 0,03-0,1 мг/кг / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 0,1 мг/кг	
	3–30 мг/кг, п/о	Крысы Wistar	D-амфетамин	1,8 мг/кг, п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозе 30 мг/кг / ↑ спонтанную ДА в дозе 30 мг/кг	
	1–10 мг/кг, п/о	Мыши C57BL/6J	D-амфетамин	2 мг/кг, в/б	Нет эффекта	

	1,67–5 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Метамфетамин	0,75 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозах 1,67-5 мг/кг / нет эффекта на спонтанную ДА[2]	[163]
RO5256390	0,3–3 мг/кг; п/о	Мыши C57BL/6	Кокаин	20 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 3 мг/кг	[3]
	0,03–3 мг/кг; п/о	Мыши C57BL/6	Фенциклидин	3,2 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 1 мг/кг	
	0,01–1 мг/кг; п/о	Мыши NMRI	L-687,414[1]	50 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА / ↓ спонтанную ДА в дозе 1 мг/кг	
RO5263397	0,3–3 мг/кг; п/о	Мыши C57BL/6	Кокаин	20 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозе 3 мг/кг / ↓ спонтанную ДА в дозе 3 мг/кг	[3]

	0,003–1 мг/кг; п/о	Мыши C57BL/6	Фенциклидин	3,2 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозах 0,01–1мг/кг / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 1 мг/кг	
	0,00003–1 мг/кг; п/о	Мыши NMRI	L-687,414[1]	50 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозах 0,003–1 мг/кг / ↓ спонтанную ДА в дозе 1 мг/кг	
	3,2–10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Метамфетамин	0,32–3,2 мг/кг; в/б	Нет эффекта на вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА	[86]
	3,2–10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Кокаин	15 мг/кг; в/б	Нет эффекта на вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА / нет эффекта на спонтанную ДА в дозе 1-10 мг/кг	[165]
	10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–	Кокаин	3,2–32 мг/кг; в/б	Нет эффекта на вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА	

		Dawley				
	3,2–10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Никотин	0,1–1 мг/кг; в/б	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА в дозе 10 мг/кг	[133]
	1–10 мг/кг; в/б	Крысы Wistar	Никотин	0,4 мг/кг; п/к	↓ вызванную ПАВ активацию горизонтальной ДА / ↓ только вертикальный компонент спонтанной ДА в дозах 6–10 мг/кг	[53;54]

[1] – (3R,4R)-3-amino-1-hydroxy-4-methyl-2-pyrrolidinone (L-687,414), селективный антагонист глицинового сайта глутаматного рецептора NMDA-подтипа; [2] – в статье не приведены результаты статистической обработки результатов; ↓ – снижает, ↑ – увеличивает.

3.2. Влияние активации TAAR1 на ИРВС мышей

3.2.1. Результаты

В Таблице 6 и на Рисунке 9 представлены результаты исследования оценки влияния в/б введения RO5263397 на выработку РВС никотина у мышей.

Таблица 6. Влияние введения вещества RO5263397 на инициацию РВС никотина в предпочитаемой дозе 0,06 мг/кг/инфузию у мышей

Доза RO, мг/кг	**R-критерий**	**N+**	**Дельта-критерий**	**Суммарная доза никотина за сессию**
0	0,24±0,07	4/8	31,29±10,09	3,43±0,78
3	0,22±0,09	3/7	21,14±10,94	1,58±0,33
6	0,30±0,09	6/11	40,36±12,03	2,23±0,28
8	0,19±0,09*	1/10	-27,30±10,48*	1,17±0,17*
10	0,11±0,10	1/11	-9,09±15,15	1,28±0,30*

*R - логарифм соотношения, а дельта – разница количества выглядываний АМ и ПМ. N+ - количество мышей с R-критерием, величина которого превышает (числитель) доверительные границы этого показателя в контрольной группе с РВС растворителя по отношению к общему количеству мышей в группе. Все статистически достоверные (P<0,05) отличия представлены по отношению к контрольной группе с внутривенным самовведением в предпочитаемой дозе 0,06 мг/кг/инфузию. * - тест Даннетта.*

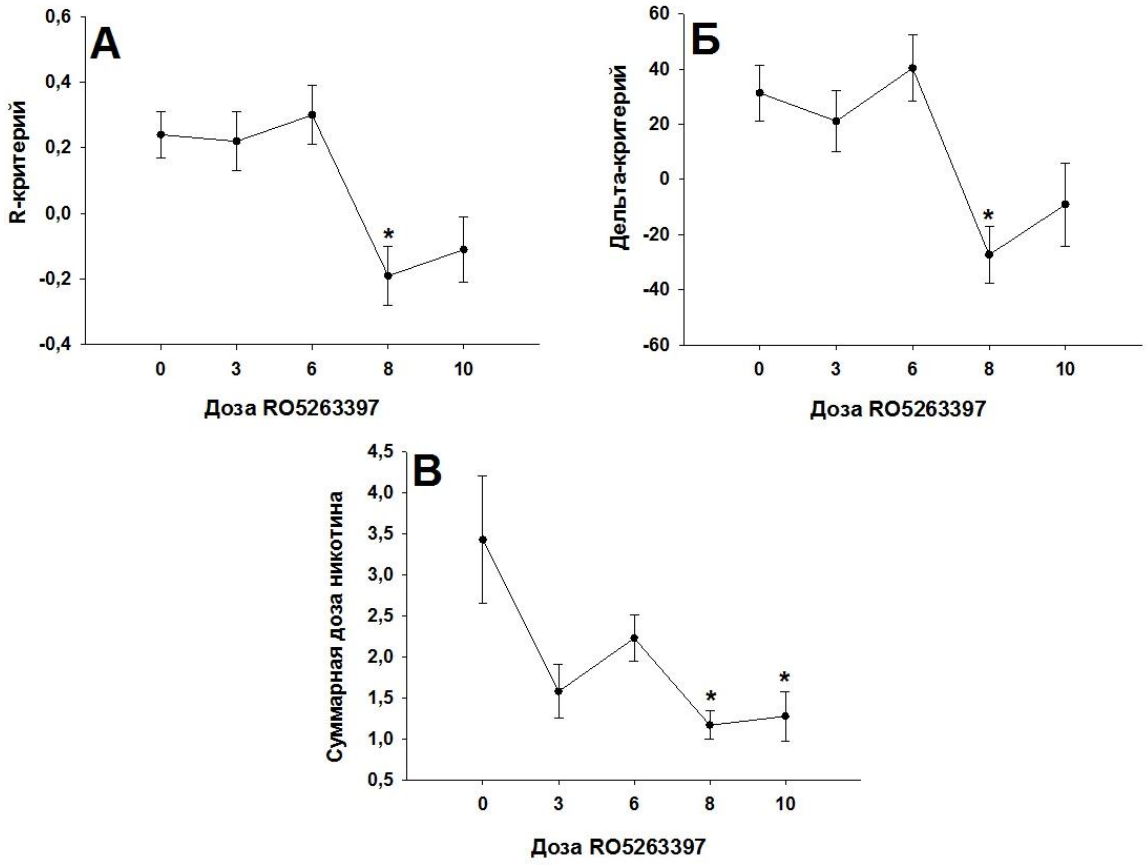

Рисунок 9. *Влияние RO5263397 на показатели РВС никотина у мышей. А - R критерий; Б – дельта критерий; В – Кумулятивная доза никотина. Данные представлены в виде линейных диаграмм разброса, отражающих точками среднее значение и стандартное отклонение (нижняя и верхняя засечки усов). * - P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

При проведении экспериментов с «классической» РВС на крысах животные проходят обучение оперантным навыкам, многократно помещаются в одни и те же оперантные камеры и достаточно адаптируются к экспериментальным условиям. Также важны обстановочные стимулы и специфические сигналы, ассоциированные с введением ПАВ, играющие очень важную роль в поддержании реакции. При инициации РВС у мышей животных без экспериментального опыта сразу помещают в незнакомые для них условия, фиксируют в относительно тесных отсеках установки и пунктируют хвостовую вену. Методика является менее затратной и простой

чем поддержание РВС, и может рассматриваться как «экспресс-метод». Обратной стороной такого подхода является сильное стрессирующее воздействие экспериментальной процедуры. Влияние стресса на потребление ПАВ в экспериментальных условиях изучалось рядом исследователей, например [119]. Известно, что при ограничении подвижности животных они с большей вероятностью начинают самовведение ПАВ [140]. Учитывая это эффекты как ПАВ, так и исследуемых соединений могут ослаблять или усиливать стрессирующее влияния процедуры тестирования и изменять число выглядываний.

При проведении параметрического однофакторного дисперсионного анализа показано, что введение субстанции RO5263397 изменяет R-критерий РВС у мышей ($F(4,42)=5,94$, $P=0,0007$). Последующие межгрупповые сравнения подтвердили угнетение инициации РВС никотина в группе, получившей субстанцию RO5263397 в дозе 8 мг/кг ($P<0,05$, критерий Даннетта, Таблица 7 и Рисунок 9А).

Результаты дисперсионного анализа также демонстрируют статистически значимое влияние фактора «доза RO5263397» на дельта-критерий ($F(4,42)=5,37$, $P=0,0014$) и кумулятивную дозу никотина, полученную за 30-минутную сессии ($F(4,42)=4,00$, $P=0,0078$). Последующие межгрупповые сравнения подтвердили снижение дельта критерия в группе, получившей субстанцию RO5263397 в дозе 8 мг/кг ($P<0,05$, критерий Даннетта, Таблица 3.3 и Рисунок 3.2Б), а также уменьшение кумулятивной дозы никотина, полученного за 30-минутную сессию в группах, получивших тестируемую субстанцию в дозах 8 и 10 мг/кг ($P<0,05$, критерий Даннетта, Таблица 7 и Рисунок 9В).

3.2.2. Обсуждение

В ходе проведенного эксперимента установлено, что в/б введение RO5263397 сопровождалось снижением показателей R и дельта критериев, а также кумулятивной дозы никотина. Однако, следует учитывать, что

подобные данные могут отражать неспецифические эффекты агониста TAAR1.

Снижение числа выглядываний в отверстия может являться проявлением возможного анксиолитического действия RO5263397 или снижения общей ДА у мышей, а не уменьшение подкрепляющих свойств никотина при фармакологической активации TAAR1. То есть можно предположить, что исследуемое соединение «облегчает» состояние животных во время эксперимента и влияет скорее на уровень стресса, чем на подкрепляющие свойства ПАВ. Интересно отметить, что снижение числа выглядываний происходило при введении доз, сопоставимых со снижающими вертикальную локомоторную активность [8, 79, 170].

Полученные данные сложно сравнивать с работами других авторов, где использовалась методика поддержания РВС у крыс, но полученные результаты могут быть использованы как дополнительное приложение к экспериментам с РВС, проведенных на крысах (подробнее см. глава 3.3).

Тем не менее, результаты не противоречат данным других исследователей. Например, Liu с коллегами также оценивали влияние RO5263397 на РВС никотина, где активация TAAR1 препятствовала поддержанию РВС [122]. Исследователи провели и аналогичный эксперимент с кокаином, где RO5263397 препятствовал поддержанию РВС при повторном, 10-дневном введении кокаина. Интересно отметить другую их работу, где в качестве эталонного ПАВ был выбран морфин и активация TAAR1 препятствовала поддержанию и восстановлению угашенной РВС данного ПАВ РВС [7]. У ряда других авторов RO5263397 оказывал аналогичное влияние на поддержание РВС психостимуляторов. В исследованиях Pei и Jing RO5263397 препятствовал как поддержанию РВС метамфетамина, так и его восстановлению, вызванному предъявлением ассоциированных стимулов или *priming*-введением ПАВ [86, 138].

3.3. Влияние фармакологической активации TAAR1 на поддержание реакции внутривенного самовведения никотина (РВС) у крыс

3.3.1. Результаты однократного введения RO5263397 на поддержание реакции внутривенного самовведения никотина (РВС) у крыс

Исследования влияния фармакологической активации TAAR1 на РВС проводятся с 2012 года, когда впервые было обнаружено, что введение агониста TAAR1 RO5203628 перед экспериментальной сессией снижает показатели РВС кокаина у крыс [171]. На сегодняшний день накоплено множество данных о том, что введение селективных агонистов TAAR1 способно препятствовать поддержанию РВС различных ПАВ. Результаты исследований представлены выше в Таблице 3.

Реакция самовведения никотина была успешно выработана на группе из 7 крыс. Во время последних двух сессий до начала тестов в среднем (± S.E.M) эти животные получали 13,9±2,0 инфузий никотина за сессию и совершали 80,8±11,3 выглядываний в «активное» и 3,6±1,5 выглядываний в «неактивное» отверстие.

Введение RO5263397 сопровождалось снижением потребления никотина (Рисунок 10). Для статистической обработки данных использовали дисперсионный анализ с внутригрупповым фактором «доза». В ходе анализа установлено, что число инфузий ($F(3,15)=7,313$, $P<0,01$) и число выглядываний в «активное» отверстие ($F(3,15)=6,170$, $P<0,01$) достоверно снижалось под действием агониста TAAR1. При этом введение RO5263397 не приводило к достоверным изменениям в числе выглядываний в «неактивное» отверстие ($F(3,15)=1,786$, n.s.). Эффекты агониста TAAR1 имели дозозависимый характер и достигали уровня статистической значимости (тест Даннетта) только после введения самый высокой (10 мг/кг) из протестированных доз фармакологического агента.

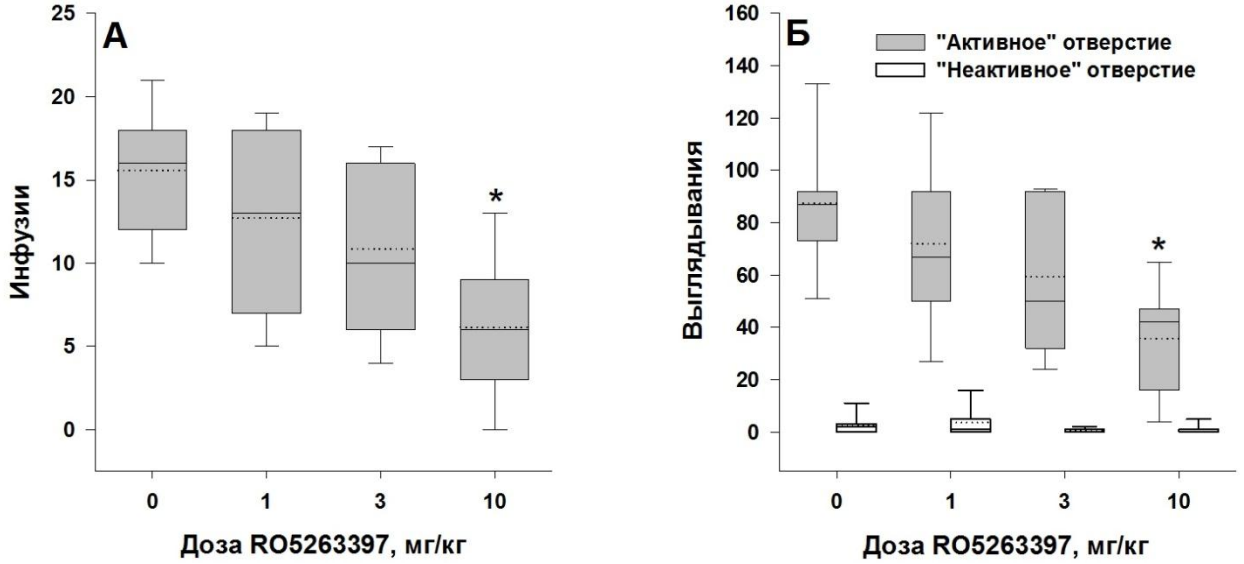

Рисунок 10. *Изменение РВС никотина у крыс под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). А – число инфузий, полученных за сессию, Б – количество выглядываний в «активное» и «неактивное» отверстие. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящика представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентили. n=7 для каждой группы. * - P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

3.3.2. Результаты повторного введения RO5263397 на РВС никотина у крыс

В большинстве экспериментальных работ оценивают эффекты однократного введения агонистов TAAR1. Однако при исследованиях потенциальных лекарственных средств, следует помнить о том, что введение препаратов может сопровождаться развитием толерантности - феномена снижения реакции на введение фармакологического агента после его повторного введения. Клиническое применение лекарственных средств подразумевает их регулярный прием пациентами и развитие толерантности к фармакологическим эффектам может создавать некоторые трудности и

снижать эффективность такого лечения. Несмотря на практическую значимость оценки эффектов хронического введения лекарств, развитие толерантности редко оценивают на уровне доклинических исследований [51]. В настоящем исследовании впервые оценили эффект повторного введения RO5263397 на РВС никотина.

Реакция самовведения никотина была успешно выработана на независимой группе крыс. Данных животных на основании результатов 2 последних сессий перед началом опыта с RO5263397 разделили на 2 подгруппы: «экспериментальную» и «контрольную». Во время последних двух сессий до начала тестов в среднем (± S.E.M) животные разных подгрупп не отличались по числу инфузий («контрольные»: 14,5± ,3; «экспериментальные»: 15,0±1,6) и количеству выглядываний в «активное» («контрольные»: 82,4±7,3; «экспериментальные»: 78,1±9,2) и «неактивное» («контрольные»: 2,2± 0,6; «экспериментальные»: 4,8±1,2) отверстие. Отсутствие различий между подгруппами подтверждено при статистической обработке данных (тест Стьюдента или тест Манн-Уитни).

Введение RO5263397 сопровождалось снижением числа инфузий, которые крысы «экспериментальной» группы получали за сессию, и числа их выглядываний в «активное» отверстие (Рисунок 11).

Для статистической обработки полученных результатов использовали двухфакторный дисперсионный анализ с межгрупповым фактором «вещество/растворитель» и внутригрупповым фактором «день».

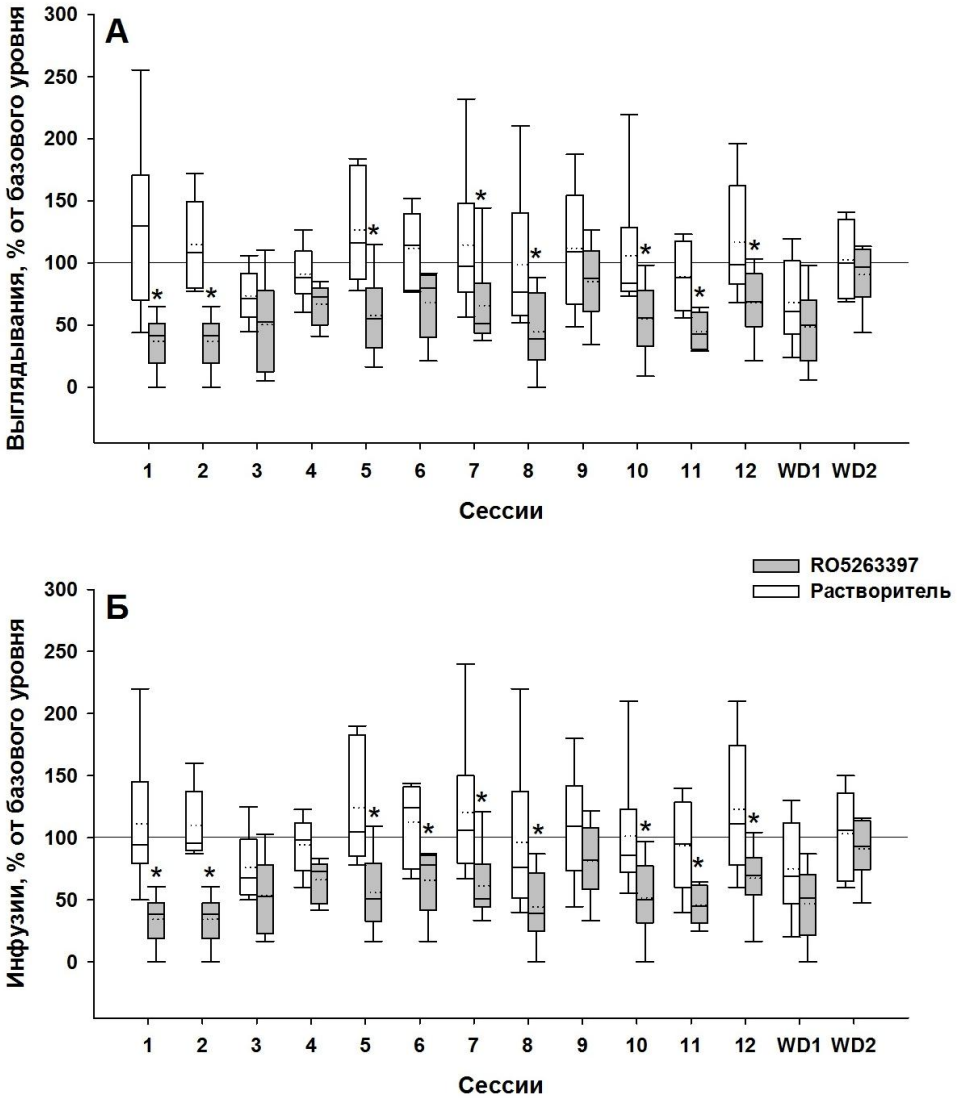

Рисунок 11. *Изменение РВС никотина у крыс под действием RO5263397 (10 мг/кг, 12 дней). Число выглядываний в «активное» отверстие, % от базового уровня (А) и число инфузий, полученных за экспериментальную сессию, % от базового уровня (Б) у крыс. WD (withdrawal day) – дни в которые раствор никотина был заменен на растворитель. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящика представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентили. n=8 для каждой группы. * - P<0,05 (тест Бонферрони) при сравнении с соответствующим значением контрольной группы.*

При анализе подтверждено достоверное влияние межгруппового фактора «вещество» на эти параметры, характеризующие потребление никотина животными (число инфузий: $F(1,154)=13,161$, $P<0,01$; выглядывания в «активное» отверстие: $F(1,154)=12,137$, $P<0,01$). Хотя влияние внутригруппового фактора «номер сессии» на эти показатели также было достоверным (число инфузий: $F(11,154)=2,081$, $P<0,05$; число выглядываний в «активное» отверстие: $F(11,154)=2,080$, $P<0,05$), нам не удалось установить влияние взаимодействия факторов «вещество» и «номер сессии» на число инфузий ($F(11,154)=1,264$, n.s.) и число выглядываний в «активное» отверстие ($F(11,154)=1,519$, n.s.), что свидетельствует о том, что фармакологическое действие RO5263397 на потребление никотина не изменялось при хроническом введении вещества. При этом нам не удалось обнаружить изменений в числе выглядываний в «неактивное» отверстие под действием агониста TAAR1.

Важно отметить, что прекращение введения RO5263397 сопровождалось увеличением числа инфузий и выглядываний в «активное» отверстие у крыс «экспериментальной» подгруппы. Статистическая обработка проводилась также, как описано выше. Влияние внутригруппового фактора «номер сессии»: $F(1,14)=23,321$, $P<0,001$, и $F(1,14)=27,842$, $P<0,001$, соответственно. Влияние фактора «вещество»: $F(1,14)=2,572$, n.s., и $F(1,14)=1,786$, n.s., соответственно. Влияние взаимодействия факторов: $F(1,14)=1,949$, n.s., и $F(1,14)=0,504$, n.s., соответственно.

3.3.3. Результаты однократного введения RO5263397 на оперантную реакцию, поддерживаемую пищевым подкреплением, у крыс

Известно, что дофамин является универсальным проводником подкрепляющих свойств не только ПАВ, но и других безусловно-подкрепляющих стимулов, таких как пища, вода, половой партнер и так далее. Исходя из данных эксперимента 1 и результатов других

исследователей представляется, что эффекты агонистов TAAR1 обусловлены снижением высвобождения дофамина, можно предположить, что лиганды TAAR1 будут влиять на подкрепляющие свойства как ПАВ, так и нефармакологических стимулов.

Для статистической обработки данных использовали дисперсионный анализ с внутригрупповым фактором «доза». В ходе анализа установлено, что в группе, получавшей подкрепление сразу после выглядывания в отверстия, RO5263397 не вызывал статистически значимого снижения количества выглядываний и количества подкреплений, полученных за сессию (Рисунок 12).

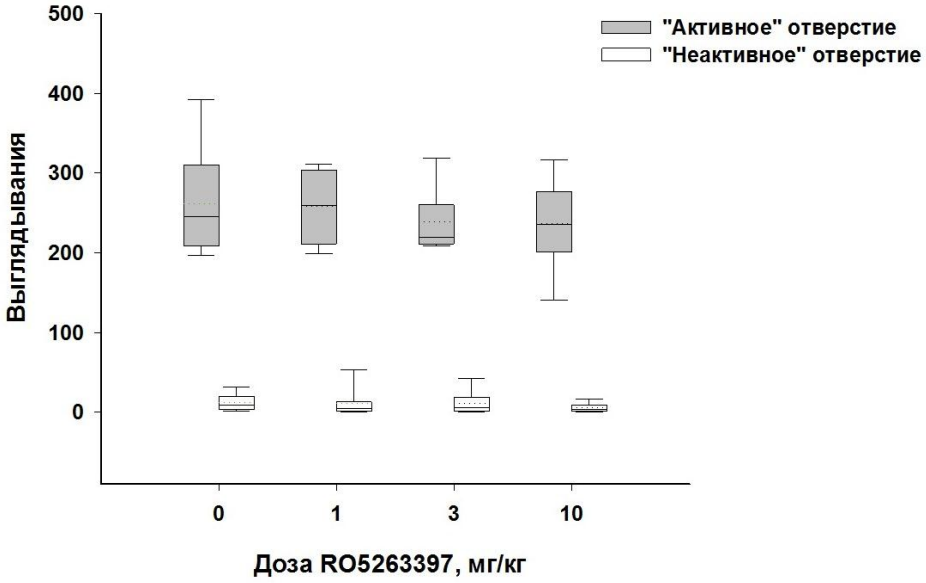

Рисунок 12. *Изменение количества выглядываний в отверстия у группы крыс, получавших подкрепление без задержки под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящика представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентили. n=8 для каждой группы. * - P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

В другой группе, получавшей пищевое подкрепление с задержкой, число выглядываний в «активное» отверстие (F=4,563, P=0,013), а также число пищевых подкреплений, полученных за сессию (F = 8,137, P<0,001), достоверно снижалось под действием агониста TAAR1. При апостериорных сравнениях (тест Даннетта) установлено, что эффекты агониста TAAR1 достигали уровня статистической значимости только после введения самый высокой (10 мг/кг) из протестированных доз фармакологического агента. Количество выглядываний в «неактивное» отверстие также снижалось при введении дозы 10 мг/кг, но только у группы с задержкой подкрепления. Результаты представлены на Рисунках 13 и 14.

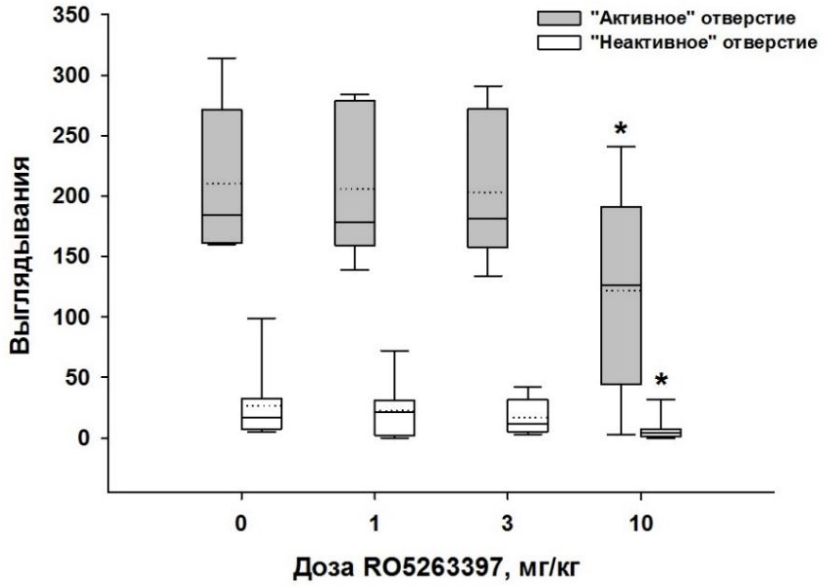

Рисунок 13. *Изменение количества выглядываний в отверстия у группы крыс, получавших подкрепление с задержкой, под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящика представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентили. n=8 для каждой группы. * - P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

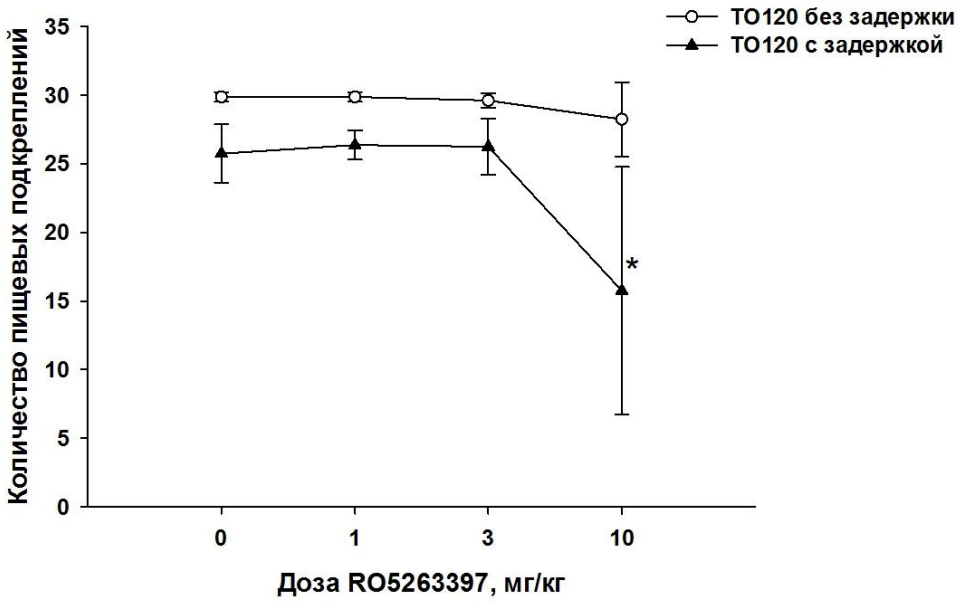

Рисунок 14. *Изменение количества полученных подкреплений за сессию у обеих групп крыс под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). Данные представлены в виде линейных диаграмм разброса, отражающих точками среднее значение и стандартное отклонение (нижняя и верхняя засечки усов). n=8 для каждой группы. * P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

Важно отметить, что статистически значимое снижение потребления никотина и пищевых пеллет происходило только в первой половине экспериментальной сессии (Рисунок 15).

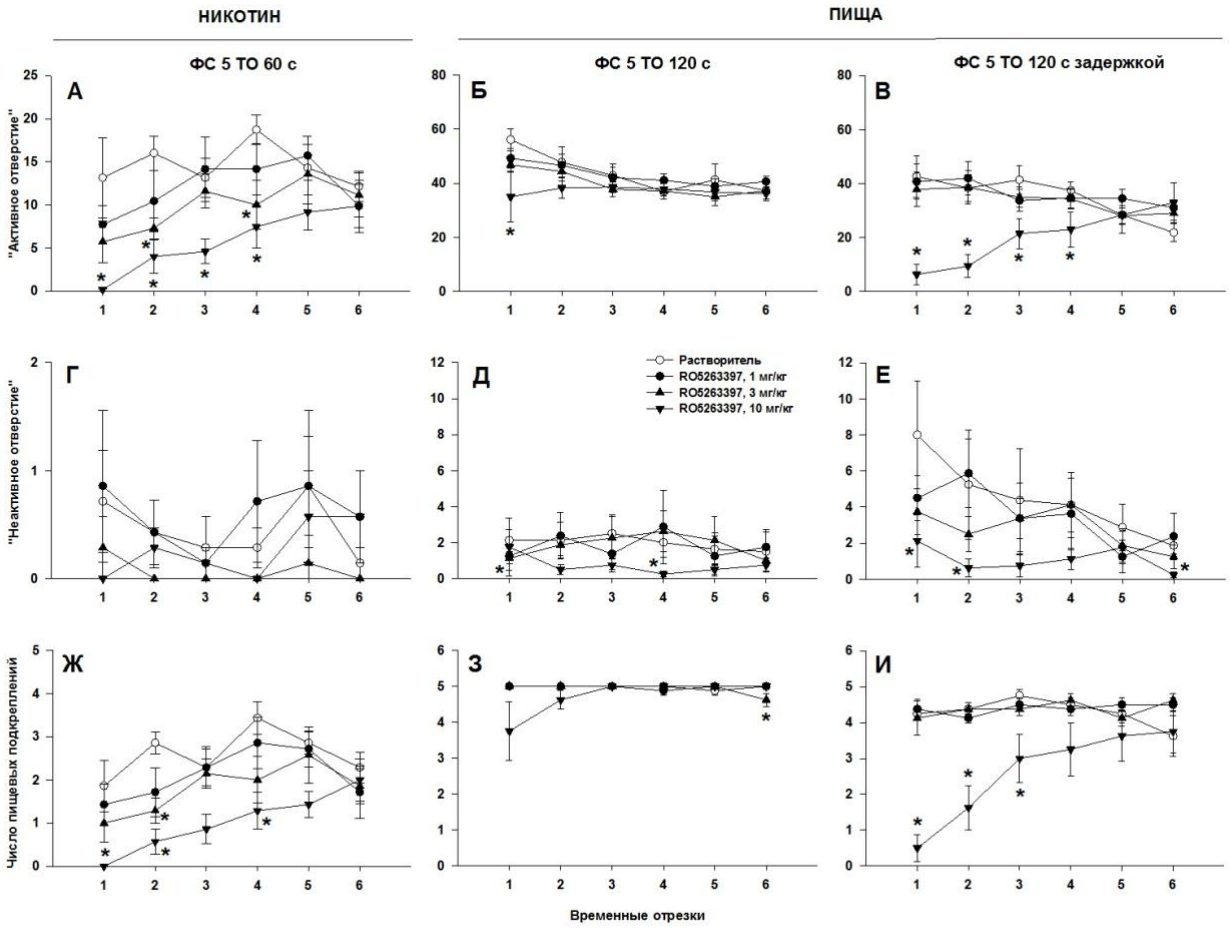

Рисунок 15. *Влияние RO5263397 на временную динамику изменений числа выглядываний в «активное» отверстие, «неактивное» отверстие и число полученных подкреплений в сессиях с РВС никотина (А, Г, Ж), сессиях с пищевым подкреплением в режиме без задержки (Г, Д, З) и с задержкой предоставления подкрепления (В, Е, И). По оси абсцисс временные отрезки по 10 минут. Данные представлены в виде линейных диаграмм разброса, отражающих точками среднее значение и стандартное отклонение (нижняя и верхняя засечки усов).* n=8 *для каждой группы.* * - *P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

3.3.4. Обсуждение

Пристрастие и злоупотребление ПАВ связывают с их «награждающими» свойствами. Термин «награда» обычно используется для описания процессов в ЦНС, которые увеличивают вероятность поведенческой реакции благодаря последующим за ней событиям (например, поиск ПАВ). Более точный термин для этого процесса – «подкрепление», а стимул (включая фармакологическое вещество), увеличивающий вероятность предшествующего ему поведения, называется подкрепляющим. В свою очередь, «награда» представляет собой сложный, гипотетический процесс, который сложно однозначно определить или локализовать в конкретных структурах мозга [63]. Использование термина «награда» оправдано для охвата субъективных реакций, связанных с подкреплением или его последствиями, которые могут ассоциироваться со стимулом при помощи обусловливания. Некоторые нейробиологические теории мотивации [25, 26] акцентируют внимание на гедонистических свойствах подкрепления, особенно в отсутствие состояния потребности, например, при потреблении сахара, встрече с новыми объектами или приеме ПАВ. Экспериментальные модели самовведения, в которых получение ПАВ практически незамедлительно следует за определенной поведенческой реакцией (например, нажатие на педаль), примерно соответствуют поведению поиска ПАВ человеком в «естественных» условиях и позволяют применять принципы положительного подкрепления при анализе аддиктивного поведения [157, 186].

Выработка РВС ПАВ подразумевает использование определенного диапазона «разовых» доз. Восходящая часть куполообразной кривой зависимости «доза-эффект» для этих доз выражает прогрессивное увеличение, а вершина кривой - достижение пороговой дозы вещества, необходимой для активации зон «награды» в ЦНС и подкрепления оперантной реакции. Нисходящая часть кривой отражает дозы, превышающие оптимальную, поддерживающую РВС, способные вызывать

неспецифические эффекты и нарушения оперантного поведения. Известно, что при введении агонистов TAAR1 перед экспериментальной сессией РВС наблюдается сдвиг кривой «доза-эффект» для ПАВ вниз (кокаин: [6]; метамфетамин: [4, 86]; морфин: [9]; никотин: [115, 133]). Сдвиг кривой вниз может наблюдаться при функциональном антагонизме действию ПАВ, а также при наличии общей фармакологической мишени у ПАВ и исследуемого соединения. Так, при введении никотина перед экспериментальной сессией происходит снижение самовведения никотина [40, 122], а введение частичного агониста N-холинорецепторов варенеклина после угашения реакции РВС никотина может оказать *priming*-эффект и способствовать восстановлению РВС. Это явление очень важно учитывать при оценке влияния активации TAAR1 на самовведение ряда ПАВ, которые также являются агонистами TAAR1, например метамфетамина [13, 176].

В настоящем исследовании RO5263397 дозозависимо снижал число выглядываний в «активное» отверстие и число подкреплений, что хорошо согласуется с результатами других работ. Например, исследователи из группы профессора Цзюнь-Сюй Ли из Буффало установили, что введение агониста TAAR1 в дозах 3,2 и 5,6 мг/кг сопровождается снижением показателей РВС никотина [133]. RO5263397 препятствовал восстановлению РВС кокаина в работе Thorn и коллег [58], поддержанию РВС кокаина в работе Liu [155]. В других исследованиях RO5263397 препятствовал поддержанию РВС метамфетамина в работе Jing и коллег и восстановлению угашенной РВС в работе Jing и Pei. Также интересно отметить работу Liu [7], где исследователи оценивали влияние RO5263397 на РВС морфина поскольку в большинстве исследований на сегодняшний день оценивают влияние активации TAAR1 на эффекты психостимуляторов. Большой интерес представляет влияние агонистов TAAR1 на эффекты эталонных ПАВ других групп.

Таблица 8. Влияние агонистов TAAR1 на выработку и поддержание реакции внутривенного самовведения (РВС), а также восстановление угашенной РВС ПАВ.

Агонист TAAR1	**Доза агониста TAAR1 / путь введения**	**Вид животных**	**РВС**				**Контрольные эксперименты**		**Ссылки**
			ПАВ	**Доза ПАВ**	**Режим подкрепления / длительность сессии**	**Эффекты агониста TAAR1**	**Режим / тип подкрепления**	**Эффекты агониста TAAR1**	
RO5166017	5,6–10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague Dawley	Никотин	0,003–0,1 мг/кг/инф	FR[1]ЗТО[2]30с	↓ поддержанию РВС в дозах 5,6–10 мг/кг и восстановлению угашенной РВС, вызванному предъявлением стимулов, ассоциированных с ПАВ, или «запускающим» (*priming*)	-	-	[133]

						введением ПАВ, в дозе 10 мг/кг			
	10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague – Dawley	Кокаин	0,5 мг/кг/инф	FR5 TO30 с	↓ восстановлению угашенной РВС, вызванному введением йохимбина	-	-	[155]
RO5203648	3–10 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Кокаин	0,5 мг/кг/инф	FR1 TO 30 с	↓ поддержанию РВС	-	-	[46]
	3–10 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Кокаин	0,5 мг/кг/инф	FR3	↓ восстановлению угашенной РВС, вызванному предъявлением обстановочных стимулов, ассоциированных с ПАВ, или «запускающим» (*priming*) введением ПАВ	FR1 / пищевые пеллеты со вкусом шоколада	Нет эффекта	[41]
	3–10	Крысы	Кокаин	0,5	PR[3]	↓ оперантное поведение,	PR /	↑	

	мг/кг; в/б	Long–Evans		мг/кг/инф		замедляя получение каждого последующего подкрепления	пищевые пеллеты со вкусом шоколада	мотивационных свойств пищи	
	3–6 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Кокаин	0,03–1 мг/кг/инф	FR1	↓ поддержанию РВС	-	-	[138]
	3–10 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Мет-амфе-тамин	0,05 мг/кг/инф	FR1 ТО20 с	↓ поддержанию РВС	FR1 / 0,1% раствор сахарина	Нет эффекта	[163]
RO5256390	3–10 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Кокаин	0,5 мг/кг/инф	FR3	↓ восстановлению угашенной РВС, вызванному предъявлением обстановочных стимулов,	FR1 / пищевые пеллеты со	↓оперантное поведение в дозе	[6]

						ассоциированных с ПАВ	вкусом шоколада	10 мг/кг	
	3–6 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Кокаин	0,03–1 мг/кг/инф	FR1	↓ поддержанию РВС	-	-	[138]
RO5263397	3,2–5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Мет-амфе-тамин	0,01–0,1 мг/кг/инф	FR2 ТО 30 с	↓ поддержанию РВС в дозе 3,2 мг/кг и восстановлению угашенной РВС, вызванному предъявлением стимулов, ассоциированных с ПАВ, или «запускающим» (*priming*) введением ПАВ, в дозах 3,2–5,6 мг/кг	FR2 ТО30 с / пеллеты со сладким вкусом	Нет эффекта	[86]
	1–5,6 мг/кг;	Крысы Sprague–	Кокаин	0,75мг/кг/и	FR5 ТО30 с	↓ восстановлению угашенной РВС, вызванному обстановочными стимулами,	-	-	[58]

	в/б	Dawley		нф		ассоциированными с ПАВ, или «запускающим» (*priming*) введением ПАВ, в дозах в дозах 1–5,6 мг/кг и 3,2–5,6 мг/кг соответственно			
	5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague – Dawley	Кокаин	0,75 мг/кг/ инф	FR3, 10, 18, 32, 56, 100, 178, 320, 560	↑ эластичности кривой спроса[4] кокаина	-	-	
	5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague – Dawley	Кокаин	0,75 мг/кг/ инф	FR5 TO30 с	Введение вещества во время угашения не влияло на восстановление угашенной РВС, вызванное обстановочными стимулами, ассоциированными с ПАВ, или «запускающим» (*priming*) введением ПАВ	-	-	[59]

	3-10 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Мет-амфе-тамин	0,05 мг/кг/инф	FR3	↓ восстановлению угашенной РВС, вызванному «запускающим» (*priming*) введением ПАВ, в дозах 3-10 мг/кг	-	-	[4]
	3-10 мг/кг; в/б	Крысы Long–Evans	Мет-амфе-тамин	0,05 мг/кг/инф	PR	↓ мотивационным свойствам ПАВ в дозе 10 мг/кг	PR / пища	↑ мотивационных свойств пищи в дозе 10 мг/кг	
	3,2–5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague – Dawley	Нико-тин	0,003 –0,1 мг/кг/инф	FR3 ТО30 с	↓ поддержание РВС	-	-	[133]
	5,6 мг/кг;	Крысы Sprague	Нико-	0,03 мг/кг/	FR1, 2, 4, 6, 9,	↑ эластичности кривой	-	-	

	в/б	– Dawley	тин	инф	12, 15, 20, 25	спроса* никотина			
	5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague Dawley	Кокаин	0,3–0,5 мг/кг/инф	FR5 ТО30 с/ 2 ч *vs* 6 ч	↓ поддержанию РВС при повторном 10-дневном введении, “запойному потреблению” (*binge drinking*)и восстановлению угашенной РВС, вызванному предъявлением стимулов, ассоциированных с ПАВ, или введением йохимбина	-	-	[155]
	3,2–5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague – Dawley	Мор-фин	0,03–0,3 мг/кг/инф	FR5 ТО 30 с	↓ поддержанию РВС в дозах 3,2–5,6 мг/кг и восстановлению угашенной РВС, вызванному предъявлением стимулов, ассоциированных с ПАВ, или «запускающим» (*priming*)	FR5 / пищевые пеллеты на зерновой основе	Нет эффекта	[32]

						введением ПАВ, в дозе 5,6 мг/кг			
	5,6 мг/кг; в/б	Крысы Sprague – Dawley	Мор-фин	0,3 мг/кг/ инф	PR	↓ мотивационным свойствам ПАВ	-	-	
	1–10 мг/кг; в/б	Крысы Wistar	Нико-тин	0,03 мг/кг/ инф	FR5 TO 60c	↓ поддержанию РВС при однократном и повторном 14-дневном введении в дозе 10 мг/кг	-	-	[115]
	3–10 мг/кг; в/б	Мыши Swiss	Нико-тин	0,06 мг/кг/ инф	FR1	↓ выработке РВС	-	-	

[1] - FR (*fixed ratio*) – фиксированное соотношение. Количество оперантных реакций, необходимое для получения одного подкрепления. Например, FR3 означает, что для получения одного подкрепления животному необходимо нажать на выдвигающуюся педаль 3 раза; [2] - TO – "*time out*" – время (секунды) после предоставления подкрепления, в течение которого оперантные действия регистрируются, но не имеют запрограммированных последствий для животного; [3] - PR

(*progressive ratio*) – возрастающее соотношение. Количество оперантных реакций, необходимое для получения подкрепления, постепенно увеличивается в течение экспериментальной сессии; [4] – эластичность кривой спроса – кривая спроса отображает зависимость потребления ПАВ (абсолютное количество полученного вещества в миллиграммах) от единичной цены (количество реакций, необходимых для получения подкрепления). Если значение наклона кривой потребления больше единицы, то потребность эластична, то есть изменение потребления превосходит пропорциональное изменение цены. При связанных с употреблением ПАВ расстройствах спрос неэластичный; «-» - эксперименты не проводили; ↓ - препятствует/ухудшает; ↑ - способствует увеличению/усилении

Исследователи часто интерпретируют ослабление самовведения ПАВ при введении агонистов TAAR1 как модулирование «награждающих» и/или подкрепляющих свойств ПАВ. Однако ослабление самовведения может отражать «неспецифические» эффекты вроде снижения общей активности, нарушения моторных функций и выполнения оперантных навыков. Для выявления неспецифических эффектов исследуемых соединений или ПАВ служит дополнительное устройство - педаль или отверстие, ответы на/в которое не подкрепляются, но регистрируются. Однако, частота ответов на/в дополнительное устройство в данном случае с РВС никотина слишком низка для обнаружения неспецифических эффектов исследуемых веществ (например, [115]). Доказать, что ослабление самовведения, наблюдаемое при введении агонистов TAAR1 не связано с нарушением оперантного поведения, может быть проблематично. Методика РВС на протяжении десятилетий использовалась для поиска новых соединений для лечения зависимостей [105, 115], однако РВС контролируется сложными механизмами, и неспецифические эффекты тестируемых лекарств могут приводить к ложноположительным результатам. Haney и Spealman (2007) отмечают, что параллельно экспериментам с РВС следует проводить эксперименты с нефармакологическим подкреплением [72]. В Таблице 7 также представлены результаты исследований, которые включали эксперименты по оценке влияния активации TAAR1 на поведение, поддерживаемое различными типами подкрепления, отличными от ПАВ.

Действительно, в экспериментальных работах показано, что активация TAAR1 помимо самовведения разных ПАВ способна снижать число пищевых подкреплений [162]. Эксперименты проводят аналогично экспериментам с РВС, за исключением имплантации катетеров. Вместо инфузий в экспериментах с РППП животные получают только пищевые пеллеты в ответ на выглядывания в активное отверстие/нажатия на педаль. Стоит подчеркнуть необходимость использования совпадающих режимов подкрепления в соответствующих экспериментах, поскольку известно, что

частота инструментальных реакций может существенно влиять на фармакологические эффекты [126]. Также важно использовать аналогичные экспериментальные условия и поведенческий опыт животных (длительность обучения) как в эксперименте РВС. Однако, данные требования соблюдаются не всегда. В ряде экспериментальных работ по агонистам TAAR1 можно заметить некоторые различия в экспериментальных условиях в РВС и контрольных экспериментах, что может поставить под сомнение корректность выводов из этих работ.

Можно заметить, что, несмотря на хорошо задокументированную способность агонистов TAAR1 препятствовать поддержанию РВС у крыс, только в 2 работах не было продемонстрировано влияния агонистов TAAR1 на поведение, подкрепляемое пищей. В первом из исследований Liu и его коллеги сравнивали влияние введения RO5263397 на РВС морфина, используя режим FR5TO30 и режим FR5, в экспериментах с пищей [100]. Наблюдалось явное несоответствие между режимами подкрепления и числе полученных подкреплений после введения растворителя: крысы получали около 25 инъекций морфина и более 100 пищевых пеллет в течение 2 часов (соотношение подкреплений 1:4). Аналогично, в исследовании Cotter и соавторы животные после введения растворителя получили менее 25 инъекций метамфетамина (FR1TO20) и более 100 подкреплений (0,1% раствор сахарина) в контрольном эксперименте в течение 60 мин (соотношение подкреплений 1:4) [163]. Формат представления данных в этих статьях не позволяет проанализировать частоту инструментальных реакций, но мы можем косвенно оценить ее, используя количество подкреплений.

В настоящем исследовании в последний день перед началом фармакологических тестов крысы получали 13,9±2,0 инфузий («активное» отверстие: 80,8±11,3; «неактивное» отверстие: 3,6±1,5) в течение 60 минут. Соответственно, животные получили 29,8±0,2 ("активное" отверстие: 237,8±22,7; «неактивное» отверстие: 9,8±2,9) на режиме FR5 TO120c без задержки подкрепления и 26,0±0,5 пеллет ("активные" ответы: 208,8±23,2;

«неактивные» ответы: 23,6±9,5) при FR5TO 120с с отсроченным предоставлением подкрепления за 60 мин. Таким образом, частота реакций в случае лекарственного и нефармакологического подкрепления в наших экспериментах, представляется, более соответствующими, чем в предыдущих работах. Это может объяснить противоречие между нашими результатами, демонстрирующими некоторые изменения в показателях реакции после предварительного введения RO5263397, и выводами предыдущих работ [8, 55, 163].

Известно, что обстановочные и дискретные стимулы, ассоциированные с получением подкрепления играют огромную роль в поддержании/восстановлении РВС/РППП. Такими стимулами могут являться звуковые и зрительные сигналы, выключение общего света в оперантной камере и так далее. Со временем, после достаточно длительного обучения ассоциированные стимулы способны приобретать собственные подкрепляющие свойства и поддерживать оперантное поведение даже в отсутствии реального подкрепления. Ассоциированные стимулы в случае слабых подкрепляющих свойств таких ПАВ как никотин могут играть ключевое значение в поддержании и восстановлении РВС/РППП.

Оперантная активность животных, направленная на получение подкрепления может быть обусловлена двумя разными процессами: связью «реакция-подкрепление» и связью «стимул-реакция» (реакцией в ответ на предъявление стимула). Связь «реакция-подкрепление» — когнитивный и целенаправленный процесс, предполагающий, что животное «желает» получить подкрепление и совершает определенные действия для этого, а также то, что в основе связи «реакция-подкрепление» лежит «мотивация» [108]. Реакция в ответ на предъявление стимула после многократного подкрепления способствует образованию связи «стимул-реакция» и может рассматриваться как «автоматизированное» или «компульсивное» действие, при этом поведение животного является «непроизвольным». Связь «стимул-реакция» может сохраняться длительное время и не зависит от наличия

подкрепления, что в экспериментальных условиях проявляется в виде устойчивости оперантной деятельности животных к угашению и девальвации подкрепления. Животные могут продолжать совершение оперантных действий даже когда подкрепление стало недоступно или сочетается с аверсивными стимулами [39]. Считается, что при множественных повторениях, вследствие множества нейроадаптационных и нейропластических процессов, управление некоторыми из таких поведенческих актов перемещается из вентральных (вентральная часть полосатого тела, вентромедиальная часть префронтальной коры) в дорсальные нейронные контуры, представленные петлей с проекциями, идущими от дорсальной части полосатого тела к таламусу, затем от таламуса к орбитофронтальной коре, и от орбитофронтальной коры обратно к дорсальной части полосатого тела. Пристрастия, в том числе к ПАВ являются известным примером такой «вентро-дорсальной миграции».

Для дифференцирования типа ассоциативной связи может быть использовано угашение реакции РВС. При угашении реакции ответы на/в «активное» устройство сопровождаются предъявлением ассоциированных с подкреплением стимулов, но само подкрепление не предъявляется. Другим способом может служить сочетание подкрепления с аверсивными стимулами. Аверсивным стимулом может быть, например, хлорид лития, вызывающий тошноту, или можно сочетать подкрепления с ударами электрическим током. В качестве примера можно привести эксперименты [89], выполненных на беличьих обезьянах. Обезьян обучали оперантной реакции в режиме пищевого подкрепления «переменный интервал» (ПИ), на который впоследствии накладывали предъявления ударов электрического тока в оперантной режиме «фиксированный интервал» (ФИ) [89]. В этих условиях формировался паттерн оперантной реакции, характерный для режима ФИ, который сохранялся даже при прекращении предоставления пищевого подкрепления. Обезьяны выполняли оперантные действия несмотря на то, что в качестве подкрепления получали только электроболевую стимуляцию.

Ценность пищевого подкрепления утрачивается, но при этом не нарушается способность выполнять оперантную реакцию. Снижение частоты реакций можно рассматривать как свидетельство того, что выработанное поведение было целенаправленным, и в его основе лежала связь «реакция - подкрепление». Устойчивость к обесцениванию напротив свидетельствует о том, что поведение «автоматизированное», и в основе лежит связь «стимул - реакция», в которой наличие подкрепления не играет решающей роли.

Учитывая, что ПАВ имеют более выраженный чем пища эффект на систему вознаграждения [34, 73], стимулы, ассоциированные с ПАВ способны приобретать больший контроль над поведением. Введение дофаминергических ПАВ облегчает переход от целенаправленного поведения к «автоматизированному» или «компульсивному» и способствует закреплению такого поведения. Например, Nelson и Killcross в 2006 обнаружили, что выработка сенситизации к стимулирующему действию амфетамина перед началом обучения препятствует обесцениванию вознаграждения во время угашения реакции [112]. В другом исследовании, выработанная инструментальная реакция, ранее поддерживаемая инъекциями никотина может сохраняться на протяжении 13 дней после замены никотина на растворитель [37]. Для фармакологического подкрепления характерна большая устойчивость к девальвации.

Можно предположить, что при предоставлении пищевой пеллеты «вознаграждение» происходит сразу же в момент предоставления подкрепления, а не после поедания корма. В случае с ПАВ «вознаграждение» происходит, начиная с момента распознавания животным интероцептивных стимулов, субъективных эффектов ПАВ, что происходит с некоторой временной задержкой, обусловленной срабатыванием инфузора, системным распределением ПАВ в организме животного, достижением ПАВ своих фармакологических мишеней в ЦНС и взаимодействие с ними. Для того, чтобы приблизить условия эксперимента с пищевым подкреплением к ситуации с самовведением никотина, в настоящем исследовании был введен

второй режим подкрепления с задержкой предоставления пищевой пеллеты. Известно, что введение временной задержки в предоставлении подкрепления может существенно изменять паттерн ответов. Кроме того, различная длительность задержки делает появление подкрепления более «неожиданным», что возможно увеличивает его «ценность». Известно, например, что дофаминергические нейроны ЧС возбуждаются в ответ на неожиданные стимулы и не отвечают на ожидаемое вознаграждение. Эти паттерны возбуждения могут играть роль специфических сигналов в стриатуме при обучении и играть ключевую роль как в аддиктивном поведении, так и в обучении с подкреплением [46, 95]. Следует добавить, что дофаминергические сигналы, ассоциированные с «вознаграждением», усиливают «значимость» стимула или «желание» «награды», но не эмоциональное наслаждение при ее получении [26].

В настоящем исследовании активация TAAR1 сопровождалась статистически значимым снижением числа ответов именно в группе, получавшей подкрепление с задержкой, влияния на число выглядываний и число подкреплений в другой группе выявлено не было. Можно предположить, что, в группе, получавшей подкрепление с задержкой, поведение в большей степени характеризовалось «целенаправленностью» и было обусловлено «мотивацией» животных получить «награду», а для другой группы было более характерно «автоматизированное» поведение, контролируемое ассоциированными стимулами.

Однако, следует обратить внимание на то, что число выглядываний в неактивное отверстие также снижалось как с задержкой, так и без задержки в предоставлении подкрепления. Снижение числа выглядываний в неактивное отверстие в обеих группах напротив, указывает на неспецифичность эффекта RO5263397. Также, можно отметить, что в отличие от эксперимента с РВС никотина, где наблюдалась дозозависимость эффекта RO5263397, в эксперименте с пищей число выглядываний и подкреплений практически не изменялось при введении RO5263397 в дозах 1 и 3 мг/кг, при этом введение

RO5263397 в дозе 10 мг/кг сопровождалось снижением числа выглядываний в неактивное отверстие в обеих группах.

Полученные данные показывают, что введение RO5263397 в одной и той же дозе 10 мг/кг сопровождается снижением потребления как никотина, так и пищи. Представляется, что при введении этой дозы все же развиваются неспецифические эффекты. В пользу этого свидетельствуют работы, где RO5263397 в дозах 6-10 мг/кг снижает спонтанную вертикальную двигательную активность, например: [8, 170]. Поскольку на сегодняшний день агонист TAAR1 улотаронт исследуют как потенциальный антипсихотик можно провести параллели с экспериментами, где наблюдали эффекты «традиционных» антипсихотиков на РВС разных ПАВ. Например, в эксперименте [42] введение галоперидола препятствовало поддержанию РВС амфетамина. В пользу того, что эффект обусловлен влиянием на дофаминергическую передачу свидетельствует отсутствие влияния галоперидола на РВС морфина в исследовании Smith и Davis (1973) [146]. В клинической практике антипсихотики не являются базовыми средствами терапии синдрома зависимости. Их использование рекомендовано при развитии сопутствующей психопатологической симптоматики, наблюдающейся при актуализации патологического влечения, такой как: «психотическая» заряженность, напряженность и стойкость аффекта, психомоторное возбуждение и другие [184]. Имеются отдельные исследования предполагающие, что антипсихотические/анксиолитические препараты могут использоваться, в том числе для снижения влечения к употреблению ПАВ или препятствовать развитию рецидива. Из экспериментальных работ, например, можно отметить работу Ingman [56] в которой повторное введение арипипразола снижало потребление крысами алкоголя, но не влияло на потребление раствора сахарина. Однако, отмечалось снижение двигательной активности. В клинических рандомизированных, двойных слепых исследованиях, где арипипразол (5-15 мг) сравнивали с налтрексоном (50 мг) в течение 16 недель, снижение

патологического влечения было более выраженным в случае налтрексона, однако длительность абстиненции была дольше при приеме арипипразола. Интересно отметить, что к концу исследования не наблюдалось значительной разницы в частоте рецидива в обеих группах [19]. Можно предположить, что агонисты TAAR1, благодаря другому, пресинаптическому принципу влияния на дофаминергическую передачу сигнала будут оказывать более «мягкий» эффект и смогут использоваться в области лечения зависимостей для снижения патологического влечения, «сенситизации» к эффектам ПАВ, предотвращение рецидива и так далее.

Обращает на себя внимания, что после введения RO5263397 снижение числа инфузий и выглядываний в «активное» отверстие наблюдалось только в первой половине экспериментальной сессии, что на сегодняшний день нельзя объяснить известными фармакодинамическими или фармакокинетическими особенностями RO5263397 у крыс (T1/2=2,6 ч для в/в и 4,2 ч для перорального введения [3]). Максимально выраженный эффект наблюдался в течение первых 10 минут и исчезал после 40 минут 1-часовой экспериментальной сессии. Подобную особенность временной динамики эффекта RO5263397 наблюдали ранее Pei и коллеги. В их исследованиях введение других агонистов TAAR1 с аналогичным T1/2 RO5263090 и RO5203648 сопровождалось снижением числа реакций, поддерживаемых пищевым подкреплением только в первые 15 минут 45-минутной экспериментальной сессии [6]. Аналогичным образом, предварительное введение RO5263090 сопровождалось снижением числа реакций, поддерживаемых стимулами второго порядка в первом, но не в других интервалах [162]. Однако особенности экспериментального метода в последнем случае не дают возможности точно оценить временную динамику эффекта. Складывается ощущение, что в ряде случаев длительность экспериментальных сессий является одним из факторов, способствующих выраженности наблюдаемых эффектов [159, 162].

Поскольку агонисты TAAR1 рассматриваются прежде всего как потенциальные антипсихотики можно предположить, что они будут вызывать у животных реакции, характерные для «классичесих» антипсихотических препаратов. Хорошо известно, что такой чертой у «традиционных» антипсихотиков является способность нарушать реакцию на условные стимулы в тесте реакция активного избегания (например, [20]). Можно предположить, что исследуемое соединение влияет не на подкрепляющие и «вознаграждающие» свойства ПАВ/пищевых пеллет, а скорее на чувствительность животных к стимулам, ассоциированным с подкреплением, играющим очень важную роль в инициации и поддержании РВС. В случае 2 режимов в реакции РППП возможно, при придоставлении подкрепления без задержки ассоциативная связь сильнее и обладает большим контролем над поведением и менее подвержена обсуждаемому эффекту антипсихотиков, а другой режим с задержкой более подвержен нарушению.

Следует упомянуть эффекты RO5256390 и RO5263397 в экспериментах с электрической самостимуляцией мозга. Известно, что активация мезокортиколимбических дофаминергических структур под действием ПАВ сопровождается снижением порогов электрической самостимуляции мозга [133, 186]. Исследования показали, что введение селективных агонистов TAAR1 RO5256390 и RO5263397 препятствует снижению порогов электрической самостимуляции мозга под влиянием кокаина [163]. Однако RO5263397 уменьшал чувствительность к электрической стимуляции у интактных животных при использовании максимальной из исследованных доз (10 мг/кг), тогда как RO5256390 не оказывал влияния на пороги электрической стимуляции.

Также в настоящем исследовании впервые оценили эффект повторного введения RO5263397 на РВС никотина. Введение RO5263397 (10 мг/кг) сопровождалось статистически значимым снижением числа инфузий и выглядываний в «активное» отверстие, на протяжении всех 14 дней введения. Полученные результаты говорят об отсутствии развития

толерантности к этому эффекту RO5263397 на поддержание РВС никотина. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [155], и данными, полученными в нашей лаборатории, показывающими отсутствие развития толерантности к эффектам RO5263397 [170]. Кроме того, в ходе клинических испытаний нового антипсихотического средства SEP-363856, активирующего как рецепторы TAAR1, так и рецепторы 5HT1A не было выявлено никаких признаков толерантности к терапевтическим эффектам, после 4- и 26-недельного введения [135].

3.4. Влияние активации TAAR1 на выраженность СДЭ у крыс

3.4.1. Результаты

На сегодняшний день для моделирования рецидива поведения, направленного на поиск и прием ПАВ, часто используются оперантные методики РВС, где предоставление ПАВ зависит от мотивации и контролируется самим животным (*contingent*). Восстановление угашенной РВС рассматривается как поведение, напоминающее рецидив злоупотребления ПАВ у человека. Однако, как было отмечено выше, эксперименты с РВС имеют свои особенности и ограничения, связанные с хирургическим вмешательством, а также важной ролью ассоциированных стимулов в развитии и поддержании реакции.

Другой экспериментальной, неоперантной моделью рецидива при СЗ от ПАВ может быть рассмотрено явление ДЭ. Феномен ДЭ был впервые описан у крыс как увеличение потребления алкоголя после периода депривации по сравнению с додепривационным периодом [104, 144]. ДЭ чаще всего рассматривается именно в контексте алкогольной зависимости, однако данный феномен может наблюдаться не только с пьтьем этанола. Предполагается, что одним из ключевых субстратов для развития феномена ДЭ является дофаминергическая система, и что дофамин является универсальным проводником подкрепляющих свойств не только ПАВ, но и любых других включая пищу или сладкий раствор. В дальнейших

экспериментах Sinclair и других авторов было показано, что феномен ДЭ наблюдается также с раствором сахарина [66, 113]. Эксперименты проводились аналогично экспериментам с алкогольным ДЭ в домашних клетках с двумя бутылочками, за исключением того, что вместо алкоголя в одной из бутылочек был раствор сахарина. Скорее всего для развития феномена ДЭ природа подкрепляющего аттрактивного стимула не играет решающей роли, и при использовании сахарина поведение отражает те же процессы в ЦНС, что и использовании раствора ПАВ. Использование такого нефармакологического стимула как сахарин позволяет избежать трудностей сопровождающих пероральное потребление ПАВ животными в эксперименте, таких как неприятный вкус раствора с ПАВ, временная задержка в развитии центральных эффектов ПАВ, потребление небольших объемов раствора с ПАВ [106]. Исходя из локализации и функции TAAR1, кажется логичным, что агонисты этих рецепторов могут влиять на развитие и экспрессию ДЭ и возможно способствовать более длительной ремиссии в клинической практике.

После 4-х недель свободного доступа к воде и раствору сахарина ежедневное потребление жидкостей становилось стабильным и в среднем составляло 14,81 ± 4,17 г/кг для воды и 73,3 ± 8,2 г/кг - для 0,1% раствора сахарина. Для проверки депривационного эффекта проводили одну семидневную сахариновую депривацию.

Как можно видеть на Рисунке 16, после завершения первой депривации и возвращения бутыли с сахариновым раствором, потребление сахарина за первые 24 часа статистически значимо увеличилось до 154,38 ± 13,3 г/кг веса крыс ($Z=2,8$; $P<0,01$), в то время как потребление воды снижалось до 8,99 ± 1,76 г/кг, однако результаты теста Вилкоксона не показали статистическую значимость этого снижения ($Z=1,38$; $P=0,19$).

На Рисунке 17 можно видеть, что под действием RO5263397 потребление раствора сахарина в течение первого часа после депривации дозозависимо снижалось ($\chi2=13,67$; $df=3$; $P<0,01$), тест Даннетта показал

статистически значимый эффект введения RO5263397 в дозе 6 мг/кг. Введение RO5263397 аналогичным образом влияло на потребление раствора сахарина за 2-й и 3-й часы ($\chi2$=8,8; df=3; P<0,05; $\chi2$=8,3; df=3; P<0,05), а, также, за первые сутки (данные не показаны) последепривационного периода ($\chi2$=1,65; df=3; P=0,65). При этом введение RO5263397 не влияло на потребление воды за 1-й ($\chi2$=2,4; df=3; P=0,49), 2-й ($\chi2$=0,07; df=3; P=1,0), 3-й часы ($\chi2$=0,48; df=3; P=0,92), а также первые сутки ($\chi2$=6,07; df=3; P=0,11) после возвращения бутылок с раствором сахарина в домашние клетки.

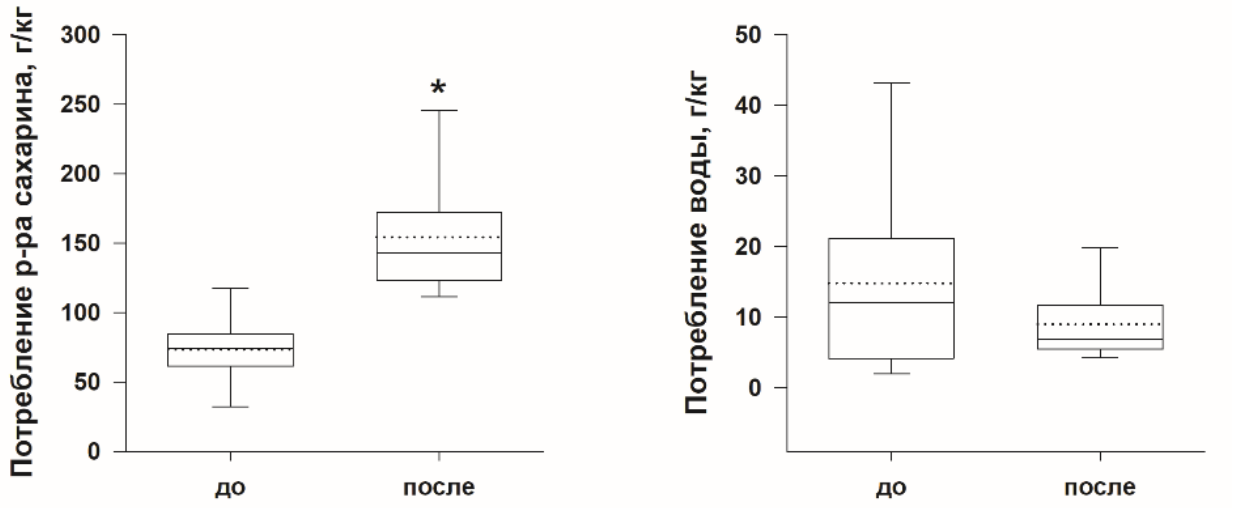

Рисунок 16. *Сахариновый депривационный эффект у крыс. Потребление раствора сахарина и воды за последние сутки до удаления сахариновой бутылки и за первые сутки после возвращения бутылки в клетку. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». n=10. * обозначено статистически значимое снижение потребления раствора сахарина (P<0,05, тест Вилкоксона).*

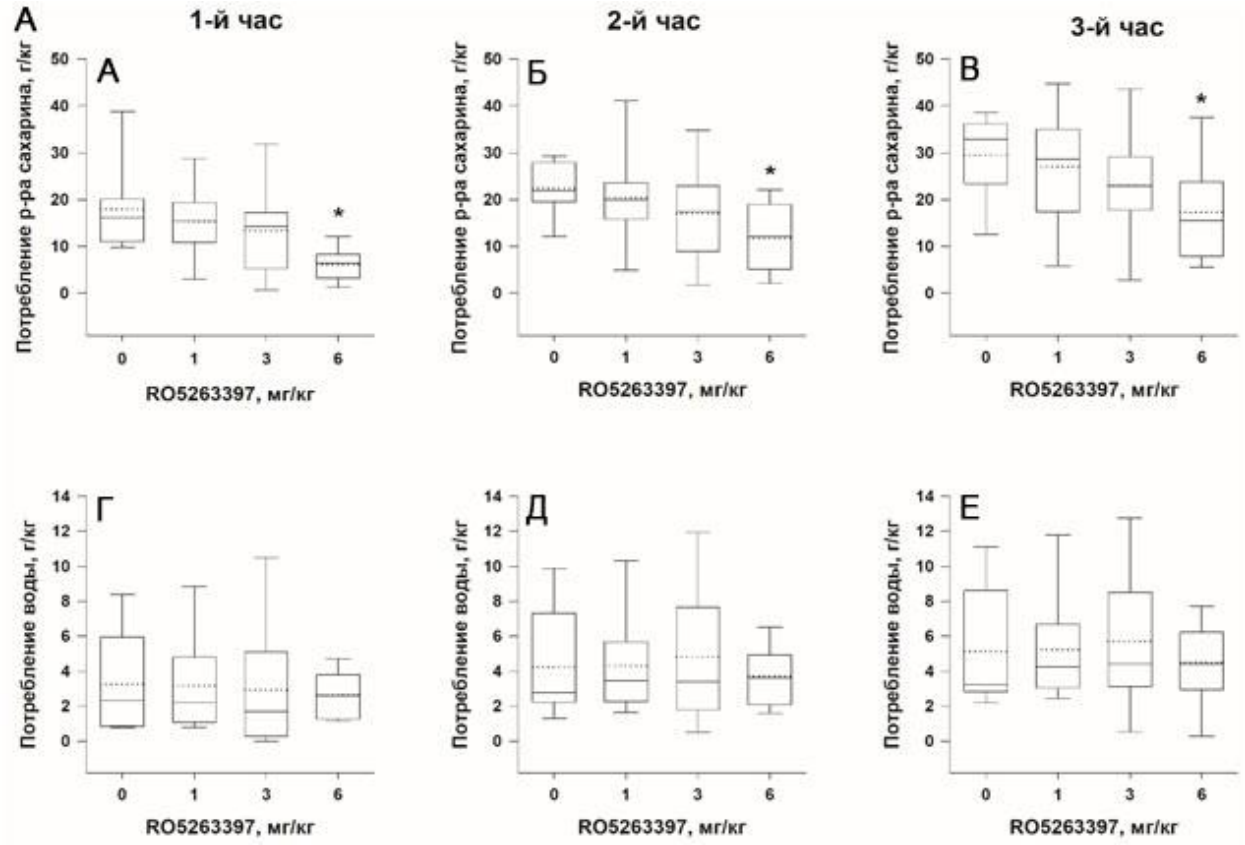

Рисунок 17. *Влияние фармакологической активации TAAR1 на потребление раствора сахарина (А, Б, В) и воды (Г, Д, Е) за первые три часа после введения исследуемого вещества и возвращения раствора сахарина в клетку. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». n=10. * - P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

3.4.2. Обсуждение

Алкоголизм является хроническим рецидивирующим заболеванием, в зависимости от определения и критериев, рецидив могут переносить от 50 до 90% лиц, проходивших лечение, что определяет высокую актуальность поиска средств «противорецидивной» терапии [53]. Из клинической практики известно, что у лиц, страдающих алкогольной зависимостью, после периода воздержания часто следует период массированной алкоголизации [97]. Феномен ДЭ отражает такое поведение в эксперименте и может быть использован при разработке новых лекарственных препаратов [124, 148].

После открытии алкогольного ДЭ в 1960-х у крыс было показано, что этот феномен наблюдается также и у других млекопитающих, включая человека [60]. Известно, что налтрексон и акампросат, обладающие способностью ослаблять влечение к алкоголю [28, 88, 143] и снижать частоту рецидивов у больных алкоголизмом [145], также снижают выраженность алкогольного ДЭ [93, 148].

В некоторых работах были попытки найти дополнительные параллели с отменой алкоголя у людей регистрируя тревожно-подобное поведение у крыс при алкогольном ДЭ. Считается, что тревога вносит значительный вклад в развитие зависимости и рецидива употребления у людей, страдающих алкоголизмом и часто тревожные расстройства могут сопровождать СЗ от алкоголя [12]. Ho¨lter с коллегами обнаружили, что у крыс длительно потребляющих алкоголь депривация обладает «анксиогенными» свойствами, усиливающимся при повторных депривациях. Возможно, тревога, сопровождающая депривацию, способствует развитию поведения, напоминающему рецидив, т.е. ДЭ [102].

Также в ряде работ показано, что на выраженность ДЭ оказывает влияние длительность и число депривaций, в чем так же можно провести параллели с поведением пациентов. В экспериментах Kornet, выполненных на обезьянах, показано, что увеличение потребления алкоголя более выражено в случае, когда период депривации длился дольше [94]. Karot с коллегами продемонстрировали, что выраженность ДЭ также может усиливать большее число периодов депривации [45]. ДЭ рассматривают лавным образом в контексте алкогольной зависимости, огромный интерес представляют данные, полученные с другими ПАВ. Известно, что никотиновый ДЭ может развиваться у мышей в аналогичном тесте с двумя бутылочками, а также депривация способствует рецидиву у курильщиков [21, 139].

Исследования агонистов TAAR1 показали, что выключение гена TAAR1 у крыс приводит к усилению чувствительности к стимулам,

ассоциированным с ПАВ. С другой стороны, фармакологическая активация TAAR1 препятствует восстановлению поведения поиска ПАВ, вызванного стимулами, ассоциированными с эффектами никотина, метамфетамина, кокаина и морфина, стрессовыми факторами, а также при введении «запускающей» (*priming*) дозы ПАВ (Таблица 8). Интересно отметить работы Liu в которых микроинъекции RO5166017 в ВОП, ПЯ и прелимбическую кору препятствовали восстановлению угашенной реакции РВС кокаина [131], что свидетельствует о важной роли рецепторов TAAR1 в модуляции работы мезолимбических структур. В исследованиях Morgan с коллегами использовалась методика РВС с неограниченном по времени доступом к кокаину. После 10 дней свободного доступа в режиме фиксированное соотношение (ФС) (число инструментальных реакций, необходимых для получения инфузии не меняется на протяжении экспериментальной сессии) следовал период депривации длительностью 7 дней. После чего оценивалось развитие сенситизации к подкрепляющим эффектам кокаина в режиме подкрепления «возрастающее соотношение» (ВС) (число инструментальных реакций, необходимых для получения инфузии увеличивается после каждой инфузии). После периода депривации наблюдалось увеличение частоты инфузий в режиме ФС 1, повышение «точки перелома» (числа инструментальных реакций, при котором оперантная активность прекращается) [81, 109]. Данные экспериментов, основанных на оценке неоперантного поведения, также подтверждают потенциальное «противорецидивное» действие агонистов TAAR1 [43, 66].

В настоящем исследовании впервые установлено, что введение высокоселективного частичного TAAR1 агониста RO5263397 снижает выраженность сахаринового ДЭ у крыс, не оказывая влияния на потребление воды. Можно провести параллели с данными предшествующих работ, в которых оценивалось влияние агонистов TAAR1 на восстановление угашенной РВС разных ПАВ. В экспериментах Jing и Liu системное введение исследуемого RO5263397 блокировало восстановление угашенной РВС

метамфетамина, вызванное *priming*-инъекцией этого вещества, а также метамфетамина и никотина, вызванное предъявлением визуальных стимулов, ассоциированных с действием этих препаратов [86, 133]. Похожие данные были получены и в экспериментах с другими высокоселективными TAAR1 агонистами. Введение RO5203648 и RO5256390 крысам препятствовали восстановлению РВС кокаина, вызванное предъявлением обстановочных стимулов, ассоциированных с инъекциями кокаина, и *priming*-введением этого психостимулятора [6].

Как было отмечено выше в случае с РВС ПАВ наблюдаемые изменения числа выглядываний в «активное» отверстие и числа полученных подкреплений могут отражать неспецифические эффекты, и может быть затруднительно отчетливо их дифференцировать, используя лишь методику РВС/РППП. Представляется, что, несмотря на нефармакологическую природу подкрепляющего стимула, результаты данного эксперимента в большей степени свидетельствуют о влиянии селективных лигандов TAAR1 на поведение, напоминающее рецидив и эскалацию употребления ПАВ после периода воздержания.

Учитывая такие экспериментальные данные, можно предположить, что агонисты TAAR1 могли бы использованы как налтрексон при противорецедивной терапии алкоголизме. Не оказывая прямого антагонизма действию ПАВ, агонисты TAAR1 будут снижать выраженность поведенческих нарушений, наблюдаемых при рецидивах зависимости после периода абстиненции.

3.5. Оценка вторично-подкрепляющих свойств RO5263397 с помощью УРПМ у крыс

3.5.1. Результаты

Согласно теории развития зависимости продолжительное воздействие ПАВ способствует повышению чувствительности (сенситизации) дофаминергических структур мезолимбического пути к эффектам этих веществ. Развитие сенситизации, которая может сохраняться в течение

длительного времени после прекращения употребления ПАВ, связывают с хроническим течением и отдаленными рецидивами злоупотребления ПАВ [26, 129]. Обстановочные стимулы, обретающие вторично-подкрепляющие свойства в результате ассоциации с эффектом ПАВ, способны инициировать поведение, направленное на поиск и прием данных веществ. Даже при продолжительном воздержании от употребления, обстановочные стимулы сохраняют эту способность, несмотря на отсутствие самих ПАВ. Оценить роль вторично-подкрепляющих стимулов, связанных с ПАВ, позволяет метод УРПМ. После формирования УРПМ животные предпочитают находиться в той области, где ранее испытывали эффекты ПАВ [11].

Известны экспериментальные работы, где введение некоторых СА сопровождалось поведенческими реакциями, характерными для эффектов ПАВ [61]. Можно предположить, что в определенном диапазоне доз селективные агонисты TAAR1 смогут вызывать эффекты, схожие с действием высоких доз фенилэтиламина. Выявление таких эффектов при разработке психотропных препаратов может существенно осложнить дальнейшее продвижение исследуемого соединения, однако экспериментальных данных, исключающих такие свойства недостаточно.

Как можно видеть на Рисунке 18, крысы, получавшие растворитель, проводили примерно одинаковое время в обоих отсеках. При в контрольной группе из животных, получавших морфин, наблюдался статистически значимый ($F=3,021$; $df=4$; $P<0,05$) сдвиг: такие крысы проводили больше времени в отсеке, ассоциированном с действием этого аддиктивного ПАВ, чем животные, получавшие растворитель ($P<0,05$, тест Даннетта).

Важно отметить, что в группах, крысы которой получали любую из протестированных доз RO5263397, не наблюдалось увеличение или уменьшение времени, проведённого в отсеке, ассоциированном с действием этого вещества (n.s., тест Даннетта). Также по результатам дисперсионного анализа не выявлено статистически значимых различий между группами, получавшие разные дозы RO5263397.

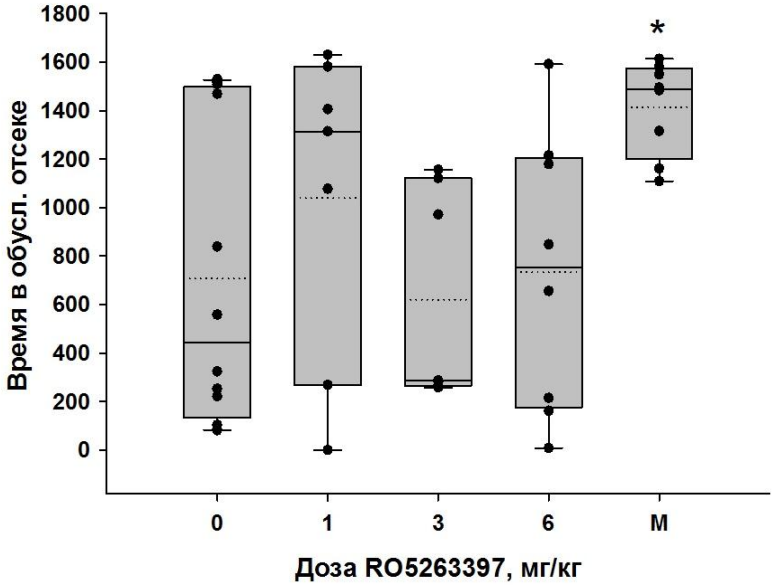

Рисунок 18. *Время, проведенное животными в отсеке, ассоциированном с введением RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг), морфина или растворителя. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящика представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентили. Точками обозначено время проведенное каждым животными в отсеке, ассоциированном с введением RO5263397, морфина или растворителя. * P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.*

3.5.2. Обсуждение

По имеющимся данным фармакологическая активация TAAR1 сопровождается снижением экспрессии и отсутствием влияния на выработку УРПМ у животных (Таблица 9). Интересно, что выключение TAAR1 приводило к более выраженному развитию двигательной сенситизации к действию метамфетамина и амфетамина, но не влияло на выработку УРПМ у мышей [3; 52]. Не было обнаружено влияния как выключения TAAR1, так и их фармакологической активации на выработку и/или экспрессию УРПМ, ассоциированного с морфином [3, 31].

Интересно, что некоторые серотонинергические галлюциногены и психостимуляторы амфетаминового ряда являются агонистами TAAR1 [13, 176]. Взаимодействием с TAAR1 можно объяснить развитие перекрестной сенситизация между агонистами TAAR1 и метамфетамином в экспериментах [163]. Однако, исследования, в которых изучали бы возможные подкрепляющие эффекты как самих СА, так и селективных лигандов TAAR1, немногочисленны. Например, в исследовании Pei оценивали влияние агонистов TAAR1 на порог электрической самостимуляции. Исследуемые соединения не только не снижали этот порог, но даже могли незначительно повышать его [138]. В другом эксперименте Pei было показано, что РВС метамфетамина не поддерживалась при замене ПАВ на RO5263397 [117]. Ryu с коллегами показали, что введение фенилэтиламина вызывает значимое развитие УРПМ [61]. Только в одном исследовании Thorn с коллегами проверили возможность селективного агониста TAAR1 RO5263397 вызывать УРПМ. Однако они использовали высокую дозу 10 мг/кг. В соответствие с результатами данной работы RO5263397 не вызывал УРПМ, однако

Практически все животные, получавшие инъекции морфина, проводили более 1200 сек в соответствующем отсеке, на основании чего можно сказать, об успешном развитии УРПМ. У животных в контрольной группе наблюдался сбалансированный выбор отсеков, и значения времени

равномерно распределены на графике. Можно заметить, что пять из семи животных, получавших RO5263397, проводили более 1000 с в отсеке, ассоциированном с исследуемым соединением, однако сравнение с контрольной группой, а также всех групп между собой не выявило статистически значимых различий. Таким образом, введение выбранных доз RO5263397 не сопровождалось выработкой УРПМ, в то время как выработка реакции была явной при введении эталонного ПАВ, а в контрольной группе наблюдался сбалансированный выбор отсеков. Результаты настоящего исследования не противоречат данным [58], согласно которым введение RO5263397 в дозе 10 мг/кг не сопровождается развитием УРПМ. Как было отмечено ранее, нельзя исключить наличие неспецифических свойств исследуемого соединения вроде моторных нарушений, седативного или анксиолитического эффектов, которые могли бы привести к ложноположительным или ложноотрицательным результатам. Например, в нашей лаборатории было отмечено, что введение дозы 10 мг/кг может сопровождаться снижением вертикальной двигательной активности [170].

Таблица 9. Влияние агонистов TAAR1 на выработку и экспрессию УРПМ, обусловленного действием ПАВ или предоставлением пищевого подкрепления.

Агонист TAAR1	**Доза агониста TAAR1 / путь введения**	**Вид животных**	**Тип подкрепления**	**Длительность обусловливания**	**Эффекты агониста TAAR1**	**Ссылки**
RO5166017	10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Кокаин (10 мг/кг)	8 дней	↓ экспрессии УРМП / ↓ угашению УРПМ	[59]
RO5256390	10 мг/кг; в/б	Крысы Wistar	Пища	16 дней	↓ экспрессии УРПМ	[162]
RO5263397	3,2-10 мг/кг; в/б	Крысы Sprague–Dawley	Кокаин (10 мг/кг)	8 дней	Нет эффекта на выработку /↓ экспрессии УРПМ в дозе 10 мг/кг	[58]
	0,32-1	Мыши	Морфин (10	8 дней	Нет эффекта	[32]

	мг/кг; в/б	C57BL/6	мг/кг)		на экспрессию	
	3,2 мг/кг; в/б	КрысыSprague–Dawley	Морфин (10 мг/кг)	8 дней	Нет эффекта на экспрессию	

↓ - препятствует; ↑ - увеличивает

ОБСУЖДЕНИЕ

Дисрегуляция активности дофаминергических структур характерна для многих психических расстройств, включая расстройства шизофренического спектра, аффективные расстройства, заболевания с нарушениями импульсивно-компульсивного контроля, а также патологическое пристрастие к ПАВ и психические расстройства, ассоциированные с их приемом. Существующие терапевтические подходы к медикаментозной терапии патологического пристрастия к ПАВ остаются ограниченными и в основном направлены либо на облегчение синдрома отмены, либо на предупреждение развития прайминг-эффекта и эскалации употребления ПАВ при рецидиве. Большой интерес представляют соединения, которые могли бы влиять на само патологическое влечение к употреблению и сенситизацию к стимулам, ассоциированным с ПАВ. Одной из перспективных фармакологических мишеней, в разработке средств терапии дофаминергической дисрегуляции является TAAR1. Эти рецепторы экспрессируются преимущественно в нейронах МА-ядер головного мозга, областях аксональных проекций этих нейронов, и некоторых областях глутаматергических проекций МА-структур. Интересными особенностями этих рецепторов являются внутриклеточная и трансмембранная локализация, гетеродимеризация с пресинаптическими дофаминовыми рецепторами D2, пост и пресинаптическая экспрессия. При этом в зависимости от расположения TAAR1 могут активировать разные сигнальные пути. Обобщая имеющуюся информацию по сигналингу, активация пресинаптических TAAR1 может способствовать снижению синтеза и высвобождения дофамина, и в то же время постсинаптические TAAR1 могут способствовать активации постсинаптического нейрона. Таким образом лиганды этих рецепторов могут снижать дофаминергическую нейропередачу там, где она избыточна и

способствовать ее усилению там, где передача сигнала снижена. Сегодня агонисты TAAR1 в первую очередь рассматриваются как потенциальные антипсихотические/анксиолитические препараты. Однако исследователи предполагают, что благодаря особенностям принципа действия лиганды TAAR1 будут обладать более мягким и специфичным действием по сравнению с «традиционными» антипсихотиками и смогут использоваться не только при психозах, но и в терапии СЗ.

С помощью ряда доклинических моделей аддиктивных состояний показано, что агонисты TAAR1 могут препятствовать развитию поведенческих эффектов ПАВ. Так, например, лиганды TAAR1 препятствует поддержанию и восстановлению угашенной РВС ПАВ, снижению порога электрической самостимуляции мозга под действием ПАВ, развитию УРПМ, а также развитию и проявлению сенситизации к эффектам ПАВ, которая в экспериментах на животных проявляется повышением чувствительности к стимулирующему действию ПАВ на двигательную активность [129].

Однако эти экспериментальные подходы имеют свои ограничения и при более детальном рассмотрении данных возникает ряд вопросов о специфичности показанных эффектов. Например, снижение РВС ПАВ под действием агонистов TAAR1 может быть проявлением общего снижения двигательной или оперантной активности лабораторных животных, а не следствием влияния на первично-подкрепляющие свойства ПАВ. Можно найти свидетельства того, что «традиционные» антипсихотики обладают схожими эффектами в этих экспериментальных моделях. Некоторые аспекты поведенческих нарушений, например, депривационный эффект, вообще, остались вне фокуса внимания исследователей. Данная работа посвящена решению этих вопросов и критической оценке эффектов высокоселективного частичного агониста TAAR1 RO5263397 в моделях различных поведенческих аспектов СЗ.

Одной из ключевых структур, вовлечённых в действие ПАВ и патогенез ассоциированных расстройств, считается мезолимбический путь, который

образован аксонами дофаминергических нейронов ВОП, идущими в прилежащее ядро перегородки. Предполагается, что образуясь в ходе синтеза МА, СА через внутриклеточный пул TAAR1 могут способствовать снижению синтеза и высвобождение дофамина. Первый фрагмент настоящей работы посвящён **изучению изменений стриатного уровня нейромедиаторов-МА и их метаболитов после введения** агониста TAAR1. Установлено, что введение RO5263397 (3 мг/кг, в/б) сопровождается снижением уровня дофамина и его метаболитов в стриатуме, что является значимой частью молекулярной основы поведенческих эффектов RO5263397, продемонстрированных в настоящей работе.

Важной задачей исследования была оценка влияния фармакологической активации TAAR1 на первично-подкрепляющие свойства ПАВ. Для моделирования использовали РВС такого распространенного аддиктивного ПАВ как никотин. В экспериментах на мышах исследовали **влияние RO5263397 на ИРВС никотина у мышей**. Данный тест является «экспресс» методом, где РВС формируется в течение 30 минут при наличиидостаточно выраженных первично-подкрепляющих свойств ПАВ. Установлено, что введение RO5263397 в дозах 8 и 10 мг/кг сопровождается снижением ИРВС никотина. Следует, однако, принимать во внимание сильное стрессирующее влияние данного метода: неадаптированные к условиям животные фиксируются в тесных боксах экспериментальной установки, проводится болезненная пункция вены. Можно предположить, что полученные результаты являются проявлением не «модулирующего» эффекта TAAR1 агониста на подкрепляющие свойства никотина, а иного фармакодинамического, например, анксиолитического действия вещества.

Следующий фрагмент работы посвящён изучению **влияния однократного и повторного введения RO5263397 на подкрепляющие эффекты никотина на модели РВС никотина у крыс**. Подтверждены результаты, полученные другими исследовательскими группами в экспериментах с РВС [133]: однократное введение RO5263397 (1-10 мг/кг, в/б)

сопровождалось дозозависимым снижением числа полученных крысами инъекций никотина, а также количества выглядываний в «активное» отверстие [115].

Поскольку лечение психических расстройств подразумевает длительный, нередко пожизненный прием препаратов, развитие толерантности к терапевтически значимым эффектам важно исключать еще на этапе доклинических исследований. Тем не менее, этот вопрос редко освещается в экспериментальных исследованиях. В настоящей работе показано, что при повторном введении в течение 12 дней RO5263397 (10 мг/кг, в/б, ежедневно) препятствует поддержанию РВС никотина, то есть, по-видимому, толерантность к угнетающему действию на РВС в условиях данного эксперимента не развивается [115]. В связи с этим большой интерес представляет показанное ранее в нашей лаборатории развитие толерантности к «побочным», неспецифическим эффектам RO5263397 [8].

Ослабление самовведения ПАВ под действием фармакологических агентов традиционно объясняют их влиянием на подкрепляющие свойства ПАВ. Стоит, однако, заметить, что влияние на оперантную реакцию самовведения может быть связано и с другими причинами, например действием вводимых веществ на ДА животного. Для того, чтобы проверить предположение, что продемонстрированные нами эффекты RO5263397 не связаны с неспецифическим действием фармакологической активации TAAR1 на экспериментальных животных было протестировано **действие этого вещества на РППП у крыс**. Известно, что оперантное поведение, подкрепляемое физиологически релевантными стимулами, например пищей, более устойчиво к фармакологической активации TAAR1, чем РВС [9]. Однако существует много методических проблем с разработкой методов РППП максимально схожих по своим условиям с РВС: эффект веществ зависит от режима оперантного подкрепления, частоты оперантной реакции и получения подкрепления [105]. В нашем исследовании действие RO5263397 (1-10 мг/кг, в/б) оценено на РППП в режиме ФС 5 ТО 120 без и с «задержкой».

Установлено, что фармакологическая активация TAAR1 может снижать РППП только в случае введения переменной задержки в предоставлении подкрепления. Эффект достигал статистической значимости только в самой высокой (10 мг/кг) из протестированных доз [116]. При этом обращает на себя внимание снижение числа выглядываний в «неактивное» отверстие. Из предшествующих работ известно, что в сравнимом диапазоне доз может регистрироваться угнетающее действие на ДА [8, 170]. Другой особенностью, наводящей на вывод о неспецифическом действии RO5263397, может быть ясно выраженная временная динамика выявленного угнетающего действия. Как в настоящей работе, так и по данным других исследовательских групп [162], выраженность дейстия только в первой половине экспериментальной сессии не может быть объяснена известными фармакокинетическими и фармакодинамическими особенностями RO5263397. Можно попытаться объяснить это явление, проводя параллели с «традиционными» антипсихотиками, и предположить, что агонисты TAAR1 также могут нарушать реакцию животных на условные стимулы и вызывать задержку в инициации РВС/РППП. Представляется логичным вывод, что исследуемое соединение в дозе 10 мг/кг может обладать неспецифическим действием, влияющим на показатели оценки РВС, однако это не исключает и желаемого влияния на подкрепляющие свойства ПАВ. Безусловно в дальнейших исследованиях агонистов TAAR1 следует обращать более пристальное внимание на этот вопрос.

СЗ является рецидивирующим патологическим состоянием и вероятность возврата к потреблению ПАВ после периода абстиненции, подчас длительного, я является основной клинической проблемой. ПАВ [38, 50]. Потенциальное «противорецидивное» действие TAAR1 агонистов до этого оценивали только в условиях восстановления угашенной РВС. Однако необходимо учитывать, что РВС как поведенческий метод имеет ряд особенностей. Например, поддержание реакции может зависеть от ассоциированных стимулов, длительность доступа к ПАВ ограничена длительностью экспериментальной

сессии, животные находятся в специальных камерах, а не в домашних клетках. Также при использовании РВС необходимо исключать неспецифическое действие агониста TAAR1. Представлялось важным подтвердить или исключить такие данные с помощью иных методов. В настоящем исследовании **было оценено влияние активации TAAR1 высокоселективным агонистом TAAR1 RO5263397 на СДЭ**, который был выбран как неоперантная модель «рецидива» употребления ПАВ. Феномен ДЭ был впервые описан у крыс, приученных пить алкоголь. Поскольку восприятие подкрепляющих стимулов разной природы опосредуется активностью одних и тех же структур в ЦНС, раствор сахарина может использоваться как альтернатива ПАВ. Кроме того, сахарин не вызывает некоторых нежелательных явлений, присущих фармакологическому подкреплению, например развития толерантности или неспецифических эффектов (ажитация/седация) или моторных нарушений. Предполагалось, что использовавние этой модели позволит избежать трудностей, характерных для РВС, и дифференцировать неспецифические и «терапевтические» эффекты исследуемого соединения. Важной особенностью данного метода является постоянный доступ животных к модельному ПАВ, в данном случае сахарину.

В настоящем эксперименте введение RO5263397 крысам сопровождалось снижением выраженности СДЭ, при этом показано отсутствии влияния активации TAAR1 на потребление воды, что позволяет предположить, что обнаруженный эффект не связан с влиянием фармакологического агента на питьевое поведение, а скорее отражает влияние именно на аттрактивные свойства сахарина. Выявленный эффект на СДЭ носил дозозависимый характер и достигал уровня статистической значимости только при введении самой высокой из протестированных доз TAAR1 агониста (10 мг/кг, в/б) [185].

Поскольку некоторые СА, например фенилэтиламин, в высоких дозах, по-видимому, обладают первичными и вторичными подкрепляющими свойствами [141], было необходимо исключить такое действие у синтетических агонистов TAAR1 для предупреждения проблем при разработке исследуемой

группы соединений для клинического использования. Имеющихся свидетельств отсутствия у лигандов TAAR1 эффектов, сходных с эффектами ПАВ, недостаточно. Например, существует всего одна работа, в которой оценили способность RO5263397 вызывать развитие УРПМ, однако работа Thorn и коллег имеет серьёзные недочёты, так была проверена только единственная доза 10 мг/кг [58]. В целом вопрос о подкрепляющих свойствах TAAR1 агонистов остается малоизученным. В настоящей работе **оценили способность широкого диапазона доз (1-6 мг/кг, в/б) RO5263397 вызывать УРПМ**. Полученные нами результаты свидетельствуют об отсутствии развития УРПМ при введении доз 1, 3 и 6 мг/кг и дополняют данные других исследований по этому вопросу, демонстрирующих отсутствие способности TAAR1 агонистов поддерживать выработанную РВС [4, 178].

Безусловно, требуются дальнейшие эксперименты, чтобы лучше понять, как активация TAAR1 способна предотвращать развитие или снижать выраженность поведенческих реакций, ассоциированных с эффектами ПАВ. Тем менее, с практической точки зрения массив накопленных знаний позволяет сделать вывод, что TAAR1 агонисты кажутся перспективной фармакологической группой для дальнейшей разработки в качестве новых психотропных препаратов для лечения как химических, так и нехимических зависимостей.

ВЫВОДЫ

1. Введение RO5263397 (3 мг/кг) приводит к снижению метаболизма дофамина в стриатуме, что подтверждается статистически значимым снижением уровня гомованилиновой кислоты примерно на 50 % ($p<0,05$) и трендом к снижению ($P=0,05$ и $P=0,09$, соответственно) дофамина и диоксифенилуксусной кислоты в стриатуме;

2. Однократное введение RO5263397 препятствует инициации поведения, направленного на поиск и прием никотина. В методике инициации внутривенного самовведения у мышей введение RO5263397 (8–10 мг/кг) сопровождалось статистически значимым ($P<0,05$) снижением R- и дельта критериев самовведения, а также потребления никотина (1,17±0,17 и 1,28±0,30, соответственно), в то время как в контрольной группе животных, получавших растворитель, этот показатель составлял 3,43±0,78.

3. Однократное введение RO5263397 препятствует поддержанию реакции внутривенного самовведения никотина у крыс. Под действием RO5263397 (10 мг/кг) происходило статистически значимое ($P<0,05$) снижение числа инфузий и выглядываний в «активное» отверстие примерно на 66%.

4. Повторное введение RO5263397 в дозе 10 мг/кг не сопровождалось развитием толерантности к угнетающему действию вещества на поддержание реакции внутривенного самовведения никотина у крыс, что подтверждается сохранением статистически значимого ($P<0,05$) снижения числа полученных подкреплений и выглядываний в «активное» отверстие на 30–50% на протяжении 14-дневного периода введения агониста TAAR1;

5. Введение RO5263397 в дозе 10 мг/кг препятствует поддержанию реакции, поддерживаемой пищевым подкреплением, только в случае введения переменной задержки (10-30с) перед предоставлением пищевого подкрепления,

что подтверждается статистически значимым (P<0,05) снижением почти на 50% числа полученных пищевых пеллет и выглядываний в «активное» отверстие;

6. Введение RO5263397 снижает выраженность сахаринового депривационного эффекта у крыс, что выражается в дозозависимом снижении потребления раствора сахарина в постдепривационном периоде, и отсутствием влияния на потребление воды. При введении дозы 6 мг/кг наблюдается статистически значимое (P<0,05) снижение потребления раствора сахарина примерно на 30–50%;

7. При проверке с помощью условнорефлекторной реакции предпочтения места у крыс не выявлено собственных вторично-подкрепляющих свойств RO5263397, что доказывается отсутствием статистически значимых различий во времени, проводимом животными в отсеках, ассоциированных с действием RO5263397 (дозы 1, 3 и 6 мг/кг) и с растворителем.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В настоящее время два вещества, обладающих агонистической активностью по отношению к TAAR1, проходят клинические исследования как потенциальные антипсихотические препараты [110, 111]. Предполагают, что еще одной областью практического применения агонистов TAAR1 могут стать расстройства употребления ПАВ. Новые фармакологические мишени всегда вызывает огромный интерес, как с точки зрения фундаментальных нейрофизиологических исследований, так и введения новых подходов в клиническую практику. Результаты данной работы могут быть использованы для доклинической оценки новых соединений в ряду агонистов TAAR1.

В большинстве опубликованных экспериментальных работ внимание исследователей сфокусировано на модулирующих дофаминергическую передачу эффектах активации TAAR1. Отчасти это объясняет, что в качестве ПАВ в таких исследованиях используют психостимуляторы. Исходя из того, что в последнее время ключевая роль дофаминергической системы в патогенезе связанных с употреблением ПАВ расстройств активно дискутируется [114, 157], рекомендуется продолжить анализ потенциальной эффективности лигандов TAAR1 в отношении поведения, обусловленного действием ПАВ других групп, таких как опиоиды, алкоголь и другие.

Остается открытым вопрос о специфичности эффектов агонистов TAAR1 на подкрепляющие и/или «награждающие» эффекты ПАВ. Возможно, наблюдаемые поведенческие изменения в ряде тестов являются следствием общеугнетающего действия лигандов TAAR1, а не наличия у них потенциальных «антиаддиктивных» свойств. Для ответа на эти вопросы рекомендуются дополнительные исследования с альтернативным подкреплением, таким как пища.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

D2R — D2-подобный рецептор к дофамину

DAT — дофаминовый транспортёр

DAT-KO — животные, нокаутные по гену, кодирующему DAT

GPCR — рецептор, ассоциированный с G белком

NET — норадреналиновый транспортёр

SERT — серотониновый транспортёр

TAAR1 — рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, 1-го типа

TAAR1-KO — генетически модифицированные животных, нокаутные по гену TAAR1

TAAR1-OE — генетически модифицированные животных с чрезмерной экспрессией TAAR1

АМ — «активная» мышь

ВОП — вентральная область покрышки среднего мозга (

ВС — оперантный режим подкрепления «возрастающее соотношение»

ВЭЖХ — обратно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

ДА — двигательная активность

ПАВ — психоактивные вещества

ПИ — оперантный режим подкрепления «переменный интервал»

ПКА — протеинкиназа А

ПМ — «пассивная» мышь

РВС — реакция внутривенного самовведения

РППП — реакция, поддерживаемая пищевым подкреплением

СА — следовые амины

СЗ — синдромом зависимости

УРПМ — условная реакция предпочтения места

ФИ — оперантный режим подкрепления «фиксированный интервал»

ФС — оперантный режим подкрепления «фиксированное соотношение»

цАМФ — циклический аденозинмонофосфат

ЦНС — центральная нервная система

ЧС — черная субстанция

ЯШ — ядра шва

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Efficacy and safety of SEP-363856, a novel psychotropic agent with a non-D2 mechanism of action, in the treatment of schizophrenia / K. S. Koblan, S. Hopkins, J. Kent [et al.] // CNS Spectrums. – 2020. – Vol. 25. – № 2. – P. 287-288.

2. 3-iodothyronamine differentially modulates α-2A-adrenergic receptor-mediated signaling / J. Dinter, J. Mühlhaus, S. F. Jacobi [et al.] // Journal of Molecular Endocrinology. – 2015. – Vol. 54. – № 3. – P. 205–216.

3. A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic- and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight / F. G. Revel, J. L. Moreau, B. Pouzet [et al.] // Molecular Psychiatry. – 2013. – Vol. 18. – № 5. – P. 543-556.

4. A partial trace amine-associated receptor 1 agonist exhibits properties consistent with a methamphetamine substitution treatment / Y. Pei, A. Asif-Malik, M. Hoener, J. J. Canales // Addiction Biology. – 2017. – Vol. 22. – № 5. – P. 1246-1256.

5. A UGT2B10 splicing polymorphism common in African populations may greatly increase drug exposure / S. Fowler, H. Kletzl, M. Finel [et al.] // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2015. – Vol. 352. – № 2. – P. 358–367.

6. Activation of the trace amine-associated receptor 1 prevents relapse to cocaine seeking / Y. Pei, J. Lee, D. Leo [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2014. – Vol. 39. – № 10. – P. 2299-2308.

7. Activation of trace amine-associated receptor 1 attenuates nicotine withdrawal-related effects / R. Wu, J. Liu, B. Johnson [et al.] // Addiction Biology. – 2022. – Vol. 27. – № 1 – A. e13075.

8. Activation of trace amine-associated receptor 1 attenuates schedule-induced polydipsia in rats / I. Sukhanov, A. Dorotenko, A. Dolgorukova [et al.] //

Neuropharmacology. – 2019. – Vol. 144. – P. 184-192.

9. Activation of trace amine-associated receptor 1 selectively attenuates the reinforcing effects of morphine / J. Liu, R. Seaman, B. Johnson [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2021. – Vol. 178. – № 4. – P. 933-945.

10. Activation of trace amine-associated receptor 1 stimulates an antiapoptotic signal cascade via extracellular signal-regulated kinase 1/2 / X. Shi, T. L. Swanson, N. B. Miner [et al.] // Molecular Pharmacology. – 2019. – Vol. 96. – № 4. – P. 493–504.

11. Akins, C. K. conditioned place preference / C. K. Akins, S. E. Eaton, B. L. Bolin // Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior. – 2017. – P. 1-8.

12. Allan, C. A. Alcohol problems and anxiety disorders-a critical review / C. A. Allan // Alcohol and Alcoholism. – 1995. – Vol. 30. – № 2. – P. 145-151.

13. Amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diethylamide, and metabolites of the catecholamine neurotransmitters are agonists of a rat trace amine receptor / J. R. Bunzow, M. S. Sonders, S. Arttamangkul [et al.] // Molecular Pharmacology. – 2001. – Vol. 60. – № 6. – P. 1181-1188.

14. Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport / D. Sulzer, T. K. Chen, Y. Y. Lau [et al.] // Journal of Neuroscience. – 1995. – Vol. 15. – № 5 II. – P. 4102-4108.

15. Amphetamines signal through intracellular TAAR1 receptors coupled to Gα13 and GαS in discrete subcellular domains / S. M. Underhill, P. D. Hullihen, J. Chen [et al.] // Molecular Psychiatry. – 2021. – Vol. 26. – № 4. – P. 1208-1223.

16. An Akt/β-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior / J. M. Beaulieu, T. D. Sotnikova, S. Marion [et al.] // Cell. – 2005. – Vol. 122. – № 2. – P. 261-273.

17. Anatomical and functional evidence for trace amines as unique modulators of locomotor function in the mammalian spinal cord / E. A. Gozal, B. E. O'Neill, M. A. Sawchuk [et al.] // Frontiers in Neural Circuits. – 2014. – Vol. 8. – A. 134.

18. Anatomical and histological profiling of orphan G-protein-coupled

receptor expression in gastrointestinal tract of C57BL/6J mice / J. Ito, M. Ito, H. Nambu [et al.] // Cell and Tissue Research. – 2009. – Vol. 338. – № 2. – P. 257–269.

19. Aripiprazole in the treatment of patients with alcohol dependence: A double-blind, comparison trial vs. Naltrexone / G. Martinotti, M. Di Nicola, M. Di Giannantonio, L. Janiri // Journal of Psychopharmacology. – 2009. – Vol. 23. – № 2. – P. 123–129.

20. Arnt, J. Pharmacological specificity of conditioned avoidance response inhibition in Rats: inhibition by neuroleptics and correlation to dopamine receptor blockade / J. Arnt // Acta Pharmacologica et Toxicologica. – 1982. – Vol. 51. – № 4. – P. 321-329.

21. Assessing nicotine dependence using an oral nicotine free-choice paradigm in mice / D. Bagdas, C. M. Diester, J. Riley [et al.] // Neuropharmacology. – 2019. – Vol. 157. – A. 107669.

22. Augmentation of methamphetamine-induced behaviors in transgenic mice lacking the trace amine-associated receptor 1 / C. Achat-Mendes, L. J. Lynch, K. A. Sullivan [et al.] // Pharmacology Biochemistry and Behavior. – 2012. – Vol. 101. – № 2. – P. 201-207.

23. Beaulieu, J. M. Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs / J. M. Beaulieu, R. R. Gainetdinov, M. G. Caron // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. – 2009. – Vol. 49. – № 1. – P. 327-347.

24. Belin, D. Cocaine seeking habits depend upon dopamine-dependent serial connectivity linking the ventral with the dorsal striatum / D. Belin, B. J. Everitt // Neuron. – 2008. – Vol. 57. – № 3. – P. 432-441.

25. Berridge, K. C. Affective neuroscience of pleasure: Reward in humans and animals / K. C. Berridge, M. L. Kringelbach // Psychopharmacology. – 2008. – Vol. 199. – № 3. – P. 457–480.

26. Berridge, K. C. What is the role of dopamine in reward: Hedonic impact, reward learning, or incentive salience? / K. C. Berridge, T. E. Robinson // Brain Research Reviews. – 1998. – Vol. 28. – № 3. – P. 309-369.

27. Berry, M. D. Mammalian central nervous system trace amines.

Pharmacologic amphetamines, physiologic neuromodulators / M. D. Berry // Journal of Neurochemistry. – 2004. – Vol. 90. – № 2. – P. 257-271.

28. Bienkowski, P. Ethanol-reinforced behaviour in the rat: Effects of naltrexone / P. Bienkowski, W. Kostowski, E. Koros // European Journal of Pharmacology. – 1999. – Vol. 374. – № 3. – P. 321–327.

29. Biochemical and functional characterization of the trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) agonist RO5263397 / S. Espinoza, D. Leo, T. D. Sotnikova [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2018. – Vol. 9. – A. 645.

30. Boulton, A. A. Biosynthesis of cerebral phenolic amines. II. In vivo regional formation of p-tyramine and octopamine from tyrosine and dopamine. / A. A. Boulton, P. H. Wu // Canadian journal of biochemistry. – 1973. – Vol. 51. – № 4. – P. 428–435.

31. Brain-specific overexpression of trace amine-associated receptor 1 alters monoaminergic neurotransmission and decreases sensitivity to amphetamine / F. G. Revel, C. A. Meyer, A. Bradaia [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2012. – Vol. 37. – № 12. – P. 2580-2592.

32. Branchek, T. A. Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: Legend, myth and fact / T. A. Branchek, T. P. Blackburn // Current Opinion in Pharmacology. – 2003. – Vol. 3. – № 1. – P. 90-97.

33. Cashin, C. H. Effect of sympathomimetic drugs in eliciting hypertensive responses to reserpine in the rat, after pretreatment with monoamineoxidase inhibitors / C. H. Cashin // British Journal of Pharmacology. – 1972. – Vol. 44. – № 2. – P. 203-209.

34. Chiara, G. Di. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats / G. Di Chiara, A. Imperato // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1988. – Vol. 85. – № 14. – P. 5274–5278.

35. Cichero, E. Targeting species-specific trace amine-associated receptor 1 ligands: To date perspective of the rational drug design process / E. Cichero, M. Tonelli // Future Medicinal Chemistry. – 2017. – Vol. 9. – № 13. – P. 1507–1527.

36. Cisneros, I. E. Methamphetamine and HIV-1-induced neurotoxicity: Role of trace amine associated receptor 1 cAMP signaling in astrocytes / I. E. Cisneros, A. Ghorpade // Neuropharmacology. – 2014. – Vol. 85. – P. 499–507.

37. Clemens, K. J. An extended history of drug self-administration results in multiple sources of control over drug seeking behavior / K. J. Clemens, N. M. Holmes // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2018. – Vol. 87. – P. 48–55.

38. Conklin, C. A. Applying extinction research and theory to cue-exposure addiction treatments / C. A. Conklin, S. T. Tiffany // Addiction. – 2002. – Vol. 97. – № 2. – P. 155–167.

39. Corbit, L. H. Ethanol-associated cues produce general pavlovian-instrumental transfer / L. H. Corbit, P. H. Janak // Alcoholism: Clinical and Experimental Research. – 2007. – Vol. 31. – № 5. – P. 766–774.

40. Corrigall, W. A. Nicotine maintains robust self-administration in rats on a limited-access schedule / W. A. Corrigall, K. M. Coen // Psychopharmacology. – 1989. – Vol. 99. – № 4. – P. 473–478.

41. D"2R striatopallidal neurons inhibit both locomotor and drug reward processes / P. F. Durieux, B. Bearzatto, S. Guiducci [et al.] // Nature Neuroscience. – 2009. – Vol. 12. – № 4. – P. 393-395.

42. Davis, W. M. Effect of haloperidol on (+)- amphetamine self- administration / W. M. Davis, S. G. Smith // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 1975. – Vol. 27. – № 7. – P. 540-542.

43. Deletion of Trace Amine-Associated Receptor 1 attenuates behavioral responses to caffeine / M. D. Schwartz, J. B. Palmerston, D. L. Lee [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2018. – Vol. 9. – A 35.

44. Design, synthesis, and evaluation of thyronamine analogues as novel potent mouse Trace Amine Associated Receptor 1 (m TAAR1) agonists / G. Chiellini, G. Nesi, M. Digiacomo [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 2015. – Vol. 58. – № 12. – P. 5096–5107.

45. Development of alcohol deprivation effect in rats: Lack of correlation

with saccharin drinking and locomotor activity / E. Koros, J. Piasecki, W. Kostowski, P. Bienkowski // Alcohol and Alcoholism. – 1999. – Vol. 34. – № 4. – P. 542–550.

46. Dissociation of dopamine release in the nucleus accumbens from intracranial self-stimulation / P. A. Garris, M. Kilpatrick, M. A. Bunin [et al.] // Nature. – 1999. – Vol. 398. – № 6722. – P. 67–69.

47. Distribution of exogenous [125I]-3-iodothyronamine in mouse in vivo: Relationship with trace amine-associated receptors / G. Chiellini, P. Erba, V. Carnicelli [et al.] // Journal of Endocrinology. – 2012. – Vol. 213. – № 3. – P. 223–230.

48. Dopamine transporter-dependent and -independent actions of trace amine β-phenylethylamine / T. D. Sotnikova, E. A. Budygin, S. R. Jones [et al.] // Journal of Neurochemistry. – 2004. – Vol. 91. – № 2. – P. 362-373.

49. Dourish, C. T. A pharmacological analysis of the hyperactivity syndrome induced by β- phenyletylamine in the mouse / C. T. Dourish // British Journal of Pharmacology. – 1982. – Vol. 77. – № 1. – P. 129–139.

50. Drug dependence, a chronic medical illness implications for treatment, insurance, and outcomes evaluation / A. T. McLellan, D. C. Lewis, C. P. O'Brien, H. D. Kleber // Jama. – 2000. – Vol. 284. – № 13. – P. 1689-1695.

51. Drug tolerance: A known unknown in translational neuroscience / A. Bespalov, R. Müller, A. L. Relo, T. Hudzik // Trends in Pharmacological Sciences. – 2016. – Vol. 37. – № 5. – P. 364-378.

52. Eds, F. de. Antagonism of the pressor action of ephedrine by cocaine / F. de Eds // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. – 1927. – Vol. 24. – № 6. – P. 551-552.

53. Edwards, G. Management of alcoholism / G. Edwards, J. Orford // The Lancet. – 1977. – Vol. 310. – № 8050. – P. 1233-1234.

54. Effect of co-treatment of olanzapine with SEP-363856 in mice models of schizophrenia. / L. Liang, X. Ren, J. Xu [et al.] // Molecules (Basel, Switzerland). – 2022. – Vol. 27. – № 8. – A. 2550.

55. Effects of a trace amine-associated receptor 1 agonist RO 5263397 on

ethanol-induced behavioral sensitization / R. Wu, J. Liu, K. Wang [et al.] // Behavioural Brain Research. – 2020. – Vol. 390. – A. 112641.

56. Effects of aripiprazole on alcohol intake in an animal model of high-alcohol drinking / K. Iingman, J. Kupila, P. Hyttiä, E. R. Korpi // Alcohol and Alcoholism. – 2006. – Vol. 41. – № 4. – P. 391–398.

57. Effects of continuous nicotine infusion on nicotine self-administration in rats: Relationship between continuously infused and self-administered nicotine doses and serum concentrations / M. G. LeSage, D. E. Keyler, G. Collins, P. R. Pentel // Psychopharmacology. – 2003. – Vol. 170. – № 3. – P. 278-286.

58. Effects of the trace amine-associated receptor 1 agonist RO5263397 on abuse-related effects of cocaine in rats / D. A. Thorn, L. Jing, Y. Qiu [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2014. – Vol. 39. – № 10. – P. 2309-2316.

59. Effects of Trace Amine-Associated Receptor 1 Agonists on the expression, reconsolidation, and extinction of cocaine reward memory / J. F. Liu, D. A. Thorn, Y. Zhang, J. X. Li // The international journal of neuropsychopharmacology. – 2016. – Vol. 19. – № 7. – A. pyw009.

60. Effects of voluntary short-term abstinence from alcohol on subsequent drinking patterns of college students / T. G. Burish, S. A. Maisto, A. M. Cooper, M. B. Sobell // Journal of Studies on Alcohol. – 1981. – Vol. 42. – № 11. – P. 1013–1020.

61. Effects of β-phenylethylamine on psychomotor, rewarding, and reinforcing behaviors and affective state: the role of dopamine D1 receptors / I. S. Ryu, O.-H. Kim, J. S. Kim [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 17. – A. 9485.

62. Elsworth, J. D. Selective MAO inhibition: a new strategy in the treatment of Parkinson’s disease / J. D. Elsworth, V. Glover, M. Sandler // Catecholamines: Basic and Clinical Frontiers. – 1979. – P. 1575-1577.

63. Everitt, B. J. Neural systems of reinforcement for drug addiction: From actions to habits to compulsion / B. J. Everitt, T. W. Robbins // Nature Neuroscience. – 2005. – Vol. 8. – № 11. – P. 1481-1489.

64. Evidence for a false neurochemical transmitter as a mechanism for the hypotensive effect of monoamine oxidase inhibitors. / I. J. Kopin, J. E. Fischer, J. Musacchio, W. D. Horst // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1964. – Vol. 52. – № 3. – P. 716-721.

65. Evolutionary Conservation of 3-Iodothyronamine as an Agonist at the Trace Amine-Associated Receptor 1 / M. Cöster, H. Biebermann, T. Schöneberg, C. Stäubert // European Thyroid Journal. – 2015. – Vol. 4. – № Suppl. 1. – P. 9–20.

66. Facilitation of aggressive and sexual behaviors by saccharin deprivation in rats / I. V. Belozertseva, I. A. Sukhotina, J. M. H. Vossen, A. Y. Bespalov // Physiology and Behavior. – 2004. – Vol. 80. – № 4. – P. 531-539.

67. Functional interaction between trace amine-associated receptor 1 and dopamine D2 receptor / S. Espinoza, A. Salahpour, B. Masri [et al.] // Molecular Pharmacology. – 2011. – Vol. 80. – № 3. – P. 416-425.

68. Gainetdinov, R. R. Trace amines and their receptors / R. R. Gainetdinov, M. C. Hoener, M. D. Berry // Pharmacological Reviews. – 2018. – Vol. 70. – № 3. – P. 549-620.

69. Gilbert, D. β-phenylethylamine-, D-amphetamine- and L-amphetamine-induced place preference conditioning in rats / D. Gilbert, S. J. Cooper // European Journal of Pharmacology. – 1983. – Vol. 95. – № 3-4. – P. 311-314.

70. Graves, J. D. Protein phosphorylation and signal transduction / J. D. Graves, E. G. Krebs // Pharmacology and Therapeutics. – 1999. – Vol. 82. – № 2-3. – P. 111-121.

71. Groves, P. M. Biochemistry and behavior: some central actions of amphetamine and antipsychotic drugs. / P. M. Groves, G. V. Rebec // Annual review of psychology. – 1976. – Vol. 27. – P. 91–127.

72. Haney, M. Controversies in translational research: Drug self-administration / M. Haney, R. Spealman // Psychopharmacology. – 2008. – Vol. 199. – № 3. – P. 403-419.

73. Hernandez, L. Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis / L. Hernandez, B. G. Hoebel

// Life Sciences. – 1988. – Vol. 42. – № 18. – P. 1705–1712.

74. HPLC electrochemical detection of trace amines in human plasma and platelets and expression of mRNA transcripts of trace amine receptors in circulating leukocytes / G. D'Andrea, S. Terrazzino, D. Fortin [et al.] // Neuroscience Letters. – 2003. – Vol. 346. – № 1-2. – P. 89-92.

75. Human and mouse trace amine-associated receptor 1 have distinct pharmacology towards endogenous monoamines and imidazoline receptor ligands / L. A. Hu, T. Zhou, J. Ahn [et al.] // Biochemical Journal. – 2009. – Vol. 424. – № 1. – P. 39–45.

76. Hyperactivity and impaired response habituation in hyperdopaminergic mice / X. Zhuang, R. S. Oosting, S. R. Jones [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – Vol. 98. – № 4. – P. 1982-1987.

77. Hypertensive interactions between monoamine oxidase inhibitors and foodstuffs. / B. Blackwell, E. Marley, J. Price, D. Taylor // The British journal of psychiatry : the journal of mental science. – 1967. – Vol. 113. – № 497. – P. 349–365.

78. In vitro characterization of psychoactive substances at rat, mouse, and human trace amine-associated receptor 1s / L. D. Simmler, D. Buchy, S. Chaboz [et al.] // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2016. – Vol. 357. – № 1. – P. 134–144.

79. Increased context-dependent conditioning to amphetamine in mice lacking TAAR1 / I. Sukhanov, L. Caffino, E. V. E. V. Efimova [et al.] // Pharmacological Research. – 2016. – Vol. 103. – P. 206-214.

80. Increased dopamine transmission and adult neurogenesis in trace amine-associated receptor 5 (TAAR5) knockout mice / E. V. Efimova, A. A. Kozlova, V. Razenkova [et al.] // Neuropharmacology. – 2021. – Vol. 182. – A. 108373

81. Increases in the reinforcing efficacy of cocaine after particular histories of reinforcement / D. Morgan, K. Brebner, W. J. Lynch, D. C. S. Roberts // Behavioural Pharmacology. – 2002. – Vol. 13. – № 5-6. – P. 389–396.

82. Incretin-like effects of small molecule trace amine-associated receptor 1

agonists / S. Raab, H. Wang, S. Uhles [et al.] // Molecular Metabolism. – 2016. – Vol. 5. – № 1. – P. 47-56.

83. Inverse agonistic action of 3-iodothyronamine at the human trace amine-associated receptor 5 / J. Dinter, J. Mühlhaus, C. L. Wienchol [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 2.

84. Jackson, H. C. A single preexposure produces sensitization to the locomotor effects of cocaine in mice / H. C. Jackson, D. J. Nutt // Pharmacology, Biochemistry and Behavior. – 1993. – Vol. 45. – № 3. – P. 733-735.

85. Jacob, M. S. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: An anxiolytic role for dimethyltryptamine / M. S. Jacob, D. E. Presti // Medical Hypotheses. – 2005. – Vol. 64. – № 5. – P. 930–937.

86. Jing, L. Effects of the trace amine associated receptor 1 agonist RO5263397 on abuse-related behavioral indices of methamphetamine in rats / L. Jing, Y. Zhang, J. X. Li // International Journal of Neuropsychopharmacology. – 2014. – Vol. 18. – № 4. – P. 1-7.

87. Jones, C. Animal models of schizophrenia / C. Jones, D. Watson, K. Fone // British Journal of Pharmacology. – 2011. – Vol. 164. – № 4. – P. 1162-1194.

88. Katner, S. N. Reinstatement of alcohol-seeking behavior by drug-associated discriminative stimuli after prolonged extinction in the rat / S. N. Katner, J. G. Magalong, F. Weiss // Neuropsychopharmacology. – 1999. – Vol. 20. – № 5. – P. 471–479.

89. Kelleher, R. T. Schedules using noxious stimuli. III. responding maintained with response-produced electric shocks 1 / R. T. Kelleher, W. H. Morse // Journal of the Experimental Analysis of Behavior. – 1968. – Vol. 11. – № 6. – P. 819–838.

90. khan, M. zahid. The emerging roles of human trace amines and human trace amine-associated receptors (hTAARs) in central nervous system / M. zahid khan, W. nawaz // Biomedicine and Pharmacotherapy. – 2016. – Vol. 83. – P. 439-449.

91. Kopin, I. J. Biosynthesis and metabolism of catecholamines. / I. J. Kopin

// Anesthesiology. – 1968. – Vol. 29. – № 4. – P. 654-660.

92. Kopin, I. J. False adrenergic transmitters. / I. J. Kopin // Annual review of pharmacology. – 1968. – Vol. 8. – № 1. – P. 377-394.

93. Kornet, M. Effect of naltrexone on alcohol consumption during chronic alcohol drinking and after a period of imposed abstinence in free-choice drinking rhesus monkeys / M. Kornet, C. Goosen, J. M. Van Ree // Psychopharmacology. – 1991. – Vol. 104. – № 3. – P. 367–376.

94. Kornet, M. The effect of interrupted alcohol supply on spontaneous alcohol consumption by rhesus monkeys / M. Kornet, C. Goosen, J. M. Van Ree // Alcohol and Alcoholism. – 1990. – Vol. 25. – № 4. – P. 407–412.

95. Kötter, R. Interactions of glutamate and dopamine in a computational model of the striatum / R. Kötter, J. Wickens // Journal of Computational Neuroscience. – 1995. – Vol. 2. – № 3. – P. 195–214.

96. Krebs, E. G. Role of the cyclic AMP—dependent protein kinase in signal transduction / E. G. Krebs // JAMA: The Journal of the American Medical Association. – 1989. – Vol. 262. – № 13. – P. 1815-1818.

97. Larimer, M. E. Relapse prevention: An overview of Marlatt's cognitive-behavioral model / M. E. Larimer, R. S. Palmer, G. A. Marlatt // Alcohol Research and Health. – 1999. – Vol. 23. – № 2. – P. 151–160.

98. Liberles, S. D. Trace amine-associated receptors are olfactory receptors in vertebrates / S. D. Liberles // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2009. – Vol. 1170. – P. 168–172.

99. Liberles, S. D. A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium / S. D. Liberles, L. B. Buck // Nature. – 2006. – Vol. 442. – № 7103. – P. 645–650.

100. Liu, J. TAAR1 and psychostimulant addiction / J. Liu, R. Wu, J. X. Li // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2020. – Vol. 40. – № 2. – P. 229-238.

101. Liu, X. Ractopamine, a livestock feed additive, is a full agonist at trace amine-associated receptor 1 / X. Liu, D. K. Grandy, A. Janowsky // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2014. – Vol. 350. – № 1. – P. 124–

129.

102. Long-term ethanol self-administration with repeated ethanol deprivation episodes changes ethanol drinking pattern and increases anxiety-related behaviour during ethanol deprivation in rats / S. M. Hölter, M. Engelmann, C. Kirschke [et al.] // Behavioural Pharmacology. – 1998. – Vol. 9. – № 1. – P. 41–48.

103. Luminal regulation of normal and neoplastic human EC cell serotonin release is mediated by bile salts, amines, tastants, and olfactants / M. Kidd, I. M. Modlin, B. I. Gustafsson [et al.] // American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2008. – Vol. 295. – № 2. – P. G260–G272.

104. Magnen, J. LE. Study of some factors associated with modifications of spontaneous ingestion of ethyl alcohol by the rat / J. LE Magnen // Journal de physiologie. – 1960. – Vol. 52. – P. 873–884.

105. McMillan, D. E. Continuing implications of the early evidence against the drive-reduction hypothesis of the behavioral effects of drugs / D. E. McMillan, J. L. Katz // Psychopharmacology. – 2002. – Vol. 163. – № 3-4. – P. 251-264.

106. Meisch, R. A. Oral drug self-administration: An overview of laboratory animal studies / R. A. Meisch // Alcohol. – 2001. – Vol. 24. – P. 117–128.

107. Membrane permeability of trace amines: Evidence for a regulated, activity-dependent, nonexocytotic, synaptic release / M. D. Berry, M. R. Shitut, A. Almousa [et al.] // Synapse. – 2013. – Vol. 67. – № 10. – P. 656–667.

108. Miles, F. J. Oral cocaine seeking by rats: Action or habit? / F. J. Miles, B. J. Everitt, A. Dickinson // Behavioral Neuroscience. – 2003. – Vol. 117. – № 5. – P. 927–938.

109. Morgan, D. Sensitization to the reinforcing effects of cocaine following binge-abstinent self-administration / D. Morgan, D. C. S. Roberts // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. – 2004. – Vol. 27. – P. 803-812.

110. NCT01972711. Study assessing SEP-363856 in male and female volunteers with high or low schizotype characteristics / Текст : электронный / clinicaltrials.gov: [сайт]. – URL: https://clinicaltrials.gov/study/NCT01994473 (дата обращения: 01.08.2024).

111. NCT03669640. A study to assess the effects of RO6889450 (Ralmitaront) in participants with schizophrenia or schizoaffective disorder and negative symptoms / Текст : электронный / clinicaltrials.gov: [сайт]. – URL: https://clinicaltrials.gov/study/NCT03669640 (дата обращения: 01.08.2024).

112. Nelson, A. Amphetamine exposure enhances habit formation / A. Nelson, S. Killcross // Journal of Neuroscience. – 2006. – Vol. 26. – № 14. – P. 3805–3812.

113. Neznanova, O. N. Behavioral analysis of the saccharin deprivation effect in rats / O. N. Neznanova, E. E. Zvartau, A. Y. Bespalov // Behavioral Neuroscience. – 2002. – Vol. 116. – № 5. – P. 747–756.

114. Opiate versus psychostimulant addiction: The differences do matter / A. Badiani, D. Belin, D. Epstein [et al.] // Nature Reviews Neuroscience. – 2011. – Vol. 12. – № 11. – P. 685-700.

115. P.004 Pharmacological activation of trace amine-associated receptor 1 decreases nicotine self-administration in rodents without development of tolerance / I. Sukhanov, M. Semina G., V. Kashkin A. [et al.] // European Neuropsychopharmacology. – 2020. – Vol. 40. – P. S2-S3.

116. P.0235 Selectivity of taar1 partial agonist ro5263397 effects on drug- versus non-drug-related behaviors / N. Bortnikov, M. Semina, I. Sukhanov [et al.] // European Neuropsychopharmacology. – 2021. – Vol. 53. – A. S170.

117. Pei, Y. Trace amines and the trace amine-associated receptor 1: Pharmacology, neurochemistry, and clinical implications / Y. Pei, A. Asif-Malik, J. J. Canales // Frontiers in Neuroscience. – 2016. – Vol. 10. – A. 148

118. Pharmacology of human trace amine-associated receptors: Therapeutic opportunities and challenges / M. D. Berry, R. R. Gainetdinov, M. C. Hoener, M. Shahid // Pharmacology and Therapeutics. – 2017. – Vol. 180. – P. 161-180.

119. Piazza, P. V. Glucocorticoids as a biological substrate of reward: Physiological and pathophysiological implications / P. V. Piazza, M. Le Moal // Brain Research Reviews. – 1997. – Vol. 25. – № 3. – P. 359-372.

120. Postsynaptic D2 dopamine receptor supersensitivity in the striatum of

mice lacking TAAR1 / S. Espinoza, V. Ghisi, M. Emanuele [et al.] // Neuropharmacology. – 2015. – Vol. 93. – P. 308-313.

121. Premont, R. T. Following the trace of elusive amines / R. T. Premont, R. R. Gainetdinov, M. G. Caron // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2001. – Vol. 98. – № 17. – P. 9474-9475.

122. Pronounced hyperactivity, cognitive dysfunctions, and BDNF dysregulation in dopamine transporter knock-out rats / D. Leo, I. Sukhanov, F. Zoratto [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2018. – Vol. 38. – № 8. – P. 1959-1972.

123. Putative Trace-Amine Associated Receptor 5 (TAAR5) agonist α-NETA increases electrocorticogram gamma-rhythm in freely moving rats / D. R. Belov, E. V. Efimova, Z. S. Fesenko [et al.] // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2020. – Vol. 40. – № 2. – P. 203–213.

124. Rat animal models for screening medications to treat alcohol use disorders / R. L. Bell, S. R. Hauser, T. Liang [et al.] // Neuropharmacology. – 2017. – Vol. 122. – P. 201-243.

125. Rat brain-uptake index for phenylethylamine and various monomethylated derivatives / A. D. Mosnaim, O. H. Callaghan, T. Hudzik, M. E. Wolf // Neurochemical Research. – 2013. – Vol. 38. – № 4. – P. 842–846.

126. Rate-dependent effects of monoamine releasers on intracranial self-stimulation in rats: Implications for abuse liability assessment / C. T. Bauer, M. L. Banks, B. E. Blough, S. S. Negus // Behavioural Pharmacology. – 2013. – Vol. 24. – № 5-6. – P. 448–458.

127. Risner, M. E. Characteristics of β-phenethylamine self-administration by dog / M. E. Risner, B. E. Jones // Pharmacology, Biochemistry and Behavior. – 1977. – Vol. 6. – № 6. – P. 689-696.

128. Robertson, H. A. Octopamine and some related noncatecholic amines in invertebrate nervous systems / H. A. Robertson, A. V. Juorio // International Review of Neurobiology. – 1976. – Vol. 19. – P. 173-224.

129. Robinson, T. E. Addiction / T. E. Robinson, K. C. Berridge // Annual Review of Psychology. – 2003. – Vol. 54. – № 1. – P. 25-53.

130. Roeder, T. Octopamine in invertebrates / T. Roeder // Progress in Neurobiology. – 1999. – Vol. 59. – № 5. – P. 533–561.

131. Role of TAAR1 within the subregions of the mesocorticolimbic dopaminergic system in cocaine-seeking behavior / J. F. Liu, J. N. Siemian, R. Seaman [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2017. – Vol. 37. – № 4. – P. 882-892.

132. Role of the trace amine associated receptor 5 (TAAR5) in the sensorimotor functions / D. S. Kalinina, M. A. Ptukha, A. V. Goriainova [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – A. 23092.

133. Role of trace amine-associated receptor 1 in nicotine's behavioral and neurochemical effects / J. F. Liu, R. Seaman, J. N. Siemian [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2018. – Vol. 43. – № 12. – P. 2435-2444.

134. Rutigliano, G. The case for TAAR1 as a modulator of central nervous system function / G. Rutigliano, A. Accorroni, R. Zucchi // Frontiers in Pharmacology. – 2018. – Vol. 8. – A. 987.

135. Safety and effectiveness of ulotaront (SEP-363856) in schizophrenia: results of a 6-month, open-label extension study / C. U. Correll, K. S. Koblan, S. C. Hopkins [et al.] // npj Schizophrenia. – 2021. – Vol. 7. – № 1. – P. 63.

136. Schizophrenia: A Systematic Review of the Disease State, Current Therapeutics and their Molecular Mechanisms of Action / J. K. Shin, D. T. Malone, I. T. Crosby, B. Capuano // Current Medicinal Chemistry. – 2011. – Vol. 18. – № 9. – P. 1380-1404.

137. Schultz, W. A neural substrate of prediction and reward / W. Schultz, P. Dayan, P. R. Montague // Science. – 1997. – Vol. 275. – № 5306. – P. 1593-1599.

138. Selective activation of the trace amine-associated receptor 1 decreases cocaine's reinforcing efficacy and prevents cocaine-induced changes in brain reward thresholds / Y. Pei, P. Mortas, M. C. Hoener, J. J. Canales // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2015. – Vol. 63. – P. 70-75.

139. Self-control depletion and nicotine deprivation as precipitants of smoking cessation failure: A human laboratory model / B. W. Heckman, D. A. MacQueen, N. S. Marquinez [et al.] // Journal of Consulting and Clinical Psychology.

– 2017. – Vol. 85. – № 4. – P. 381–396.

140. Shaham, Y. Immobilization stress-induced oral opioid self-administration and withdrawal in rats: role of conditioning factors and the effect of stress on “relapse” to opioid drugs / Y. Shaham // Psychopharmacology. – 1993. – Vol. 111. – № 4. – P. 477–485.

141. Shannon, H. E. Self-adminstration of the endogenous trace amines β-phenylethylamine, N-methyl phenylethylamine and phenylethanolamine in dogs / H. E. Shannon, C. M. DeGregorio // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1982. – Vol. 222. – № 1. – P. 52-60.

142. Shannon, H. E. Behavior maintained under fixed-interval and second-order schedules by intravenous injections of endogenous noncatecholic phenylethylamines in dogs / H. E. Shannon, W. A. Thompson. – 1984. – Vol. 228. – № 3. – P. 691-695.

143. Sinclair, J. D. Drugs to decrease alcohol drinking / J. D. Sinclair // Annals of Medicine. – 1990. – Vol. 22. – № 5. – P. 357–362.

144. Sinclair, J. D. Development of an alcohol-deprivation effect in rats. / J. D. Sinclair, R. J. Senter // Quarterly journal of studies on alcohol. – 1968. – Vol. 29. – № 4. – P. 863-867.

145. Sinha, R. Craving for alcohol: Findings from the clinic and the laboratory / R. Sinha, S. S. O’Malley // Alcohol and Alcoholism. – 1999. – Vol. 34. – P. 223–230.

146. Smith, S. G. Behavioral control by stimuli associated with acquisition of morphine self-administration / S. G. Smith, W. M. Davis // Behavioral Biology. – 1973. – Vol. 9. – № 6. – P. 777–780.

147. Sotnikova, T. D. Trace amine-associated receptors as emerging therapeutic targets / T. D. Sotnikova, M. G. Caron, R. R. Gainetdinov // Molecular Pharmacology. – 2009. – Vol. 76. – № 2. – P. 229-235.

148. Spanagel, R. Long-term alcohol self-administration with repeated alcohol deprivation phases: An animal model of alcoholism? / R. Spanagel, S. M. Hölter // Alcohol and Alcoholism. – 1999. – Vol. 34. – № 2. – P. 231-243.

149. Stimulant-induced dopamine increases are markedly blunted in active cocaine abusers / N. D. Volkow, D. Tomasi, G. J. Wang [et al.] // Molecular Psychiatry. – 2014. – Vol. 19. – № 9. – P. 1037-1043.

150. T109. Modulatory activity of the novel drug SEP-363856 on potential application for the treatment of schizophrenia / V. Begni, A. Sanson, B. Grayson [et al.] // Schizophrenia Bulletin. – 2019. – Vol. 45. – № Supplement_2. – P. S246-S246.

151. TAAR1-dependent effects of apomorphine in mice / I. Sukhanov, S. Espinoza, D. S. Yakovlev [et al.] // International Journal of Neuropsychopharmacology. – 2014. – Vol. 17. – № 10. – P. 1683-1693.

152. Taar1-mediated modulation of presynaptic dopaminergic neurotransmission: Role of D2 dopamine autoreceptors / D. Leo, L. Mus, S. Espinoza [et al.] // Neuropharmacology. – 2014. – Vol. 81. – P. 283-291.

153. Taar1-mediated modulation of presynaptic dopaminergic neurotransmission: Role of D2 dopamine autoreceptors / D. Leo, L. Mus, S. Espinoza [et al.] // Neuropharmacology. – 2014. – Vol. 81. – P. 283-291.

154. TAAR1 activation modulates monoaminergic neurotransmission, preventing hyperdopaminergic and hypoglutamatergic activity / F. G. Revel, J. L. Moreau, R. R. Gainetdinov [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2011. – Vol. 108. – № 20. – P. 8485-8490.

155. TAAR1 agonists attenuate extended-access cocaine self-administration and yohimbine-induced reinstatement of cocaine-seeking / J. Liu, B. Johnson, R. Wu [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2020. – Vol. 177. – № 15. – P. 3403-3414.

156. Tella, S. R. Cariovascular effects of cocaine in conscious rats: Relative significance of central sympathetic stimulation and peripheral amine uptake and release mechanisms / S. R. Tella, C. W. Schindler, S. R. Goldberg // NIDA Research Monograph Series. – 1993. – Vol. 262. – № 132. – A. 144.

157. The dopamine theory of addiction: 40 years of highs and lows / D. J. Nutt, A. Lingford-Hughes, D. Erritzoe, P. R. A. Stokes // Nature Reviews

Neuroscience. – 2015. – Vol. 16. – № 5. – P. 305-312.

158. The Potential Antidepressant Action of Duloxetine Co-Administered with the TAAR1 Receptor Agonist SEP-363856 in Mice / X. Ren, J. Xiong, L. Liang [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27. – № 9. – A. 2755.

159. The predictive validity of the rat self-administration model for abuse liability / E. C. O'Connor, K. Chapman, P. Butler, A. N. Mead // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. – 2011. – Vol. 35. – № 3. – P. 912-938.

160. The selective antagonist EPPTB reveals TAAR1-mediated regulatory mechanisms in dopaminergic neurons of the mesolimbic system / A. Bradaia, G. Trube, H. Stalder [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2009. – Vol. 106. – P. 20081-20086.

161. The trace amine-associated receptor 1 agonist 3-iodothyronamine induces biased signaling at the serotonin 1b receptor / J. Bräunig, J. Dinter, C. S. Höfig [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2018. – Vol. 9. – № mar. – P. 90-97.

162. The Trace Amine-Associated Receptor 1 Agonist RO5256390 Blocks Compulsive, Binge-like Eating in Rats / A. Ferragud, A. D. Howell, C. F. Moore [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2017. – Vol. 42. – № 7. – P. 1458-1470.

163. The trace amine-associated receptor 1 modulates methamphetamine's neurochemical and behavioral effects / R. Cotter, Y. Pei, L. Mus [et al.] // Frontiers in Neuroscience. – 2015. – Vol. 9. – № 39.

164. The Trace Amine 1 receptor knockout mouse: an animal model with relevance to schizophrenia / T. D. Wolinsky, C. J. Swanson, K. E. Smith [et al.] // Genes, Brain and Behavior. – 2007. – Vol. 6. – № 7. – P. 628-639.

165. The trace amine associated receptor 1 agonist RO5263397 attenuates the induction of cocaine behavioral sensitization in rats / D. A. Thorn, C. Zhang, Y. Zhang, J. X. Li // Neuroscience Letters. – 2014. – Vol. 566. – P. 67-71.

166. Trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) agonism as a new treatment strategy for schizophrenia and related disorders / E. F. Halff, G. Rutigliano, A. Garcia-Hidalgo, O. D. Howes // Trends in Neurosciences. – 2023. – Vol. 46. – № 1. – P. 60-74.

167. Trace amine-associated receptor 1 activation silences GSK3β signaling of TAAR1 and D2R heteromers / A. Harmeier, S. Obermueller, C. A. Meyer [et al.] // European Neuropsychopharmacology. – 2015. – Vol. 25. – № 11. – P. 2049-2061.

168. Trace Amine-Associated Receptor 1 Localization at the Apical Plasma Membrane Domain of Fisher Rat Thyroid Epithelial Cells Is Confined to Cilia / J. Szumska, M. Qatato, M. Rehders [et al.] // European Thyroid Journal. – 2015. – Vol. 4. – № 1. – P. 30–41.

169. Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity / L. Lindemann, C. A. Meyer, K. Jeanneau [et al.] // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2008. – Vol. 324. – № 3. – P. 948-956.

170. Trace amine-associated receptor 1 modulates the locomotor and sensitization effects of nicotine / I. Sukhanov, M. Dorofeikova, A. Dolgorukova [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2018. – Vol. 9. – A. 329.

171. Trace amine-associated receptor 1 partial agonism reveals novel paradigm for neuropsychiatric therapeutics / F. G. Revel, J. L. Moreau, R. R. Gainetdinov [et al.] // Biological Psychiatry. – 2012. – Vol. 72. – № 11. – P. 934-942.

172. Trace mine-Associated Receptor 2 is expressed in the limbic brain areas and is involved in dopamine regulation and adult neurogenesis / E. V. Efimova, S. R. Kuvarzin, M. S. Mor [et al.] // Frontiers in Behavioral Neuroscience. – 2022. – Vol. 16. – A. 847410.

173. Trace amine-associated receptors and their ligands / R. Zucchi, G. Chiellini, T. S. Scanlan, D. K. Grandy // British Journal of Pharmacology. – 2006. – Vol. 149. – № 8. – P. 967-978.

174. Trace amine-associated receptors form structurally and functionally distinct subfamilies of novel G protein-coupled receptors / L. Lindemann, M. Ebeling, N. A. Kratochwil [et al.] // Genomics. – 2005. – Vol. 85. – № 3. – P. 372-385.

175. Trace amine associated receptor 1 and movement control / T. D. Sotnikova, O. I. Zorina, V. Ghisi [et al.] // Parkinsonism and Related Disorders. – 2008. – Vol. 14. – № Suppl.2. – P. S99–S102.

176. Trace amines: Identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors / B. Borowsky, N. Adham, K. A. Jones [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2001. – Vol. 98. – № 16. – P. 8966-8971.

177. Tyramine-binding by synaptosomes from rat brain: effect of centrally active drugs / F. Ungar, A. D. Mosnaim, B. Ungar, M. E. Wolf. – 1977. – Vol. 12. – № 5. – P. 661-668.

178. Ulotaront, a novel TAAR1 agonist with 5-HT1A agonist activity, lacks abuse liability and attenuates cocaine cue-induced relapse in rats / C. Synan, C. Bowen, D. J. Heal [et al.] // Drug and Alcohol Dependence. – 2022. – Vol. 231. – A. 109261.

179. Vaccari, A. High affinity binding of [3H]-tyramine in the central nervous system / A. Vaccari // British Journal of Pharmacology. – 1986. – Vol. 89. – № 1. – P. 15-25.

180. Volkow, N. D. The addicted human brain: Insights from imaging studies / N. D. Volkow, J. S. Fowler, G. J. Wang // Journal of Clinical Investigation. – 2003. – Vol. 111. – № 10. – P. 1444-1451.

181. Wolf, M. E. Behavioral sensitization to MK-801 (dizocilpine) neurochemical and electrophysiological correlates in the mesoaccumbens dopamine system / M. E. Wolf, F. J. White, X. T. Hu // Behavioural Pharmacology. – 1993. – Vol. 4. – P. 429–442.

182. Белозерцева И.В., Драволина О.А., Т. М. А. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова / Т. М. А. Белозерцева И.В., Драволина О.А. – Изд-во СПб. – 2014. – 79 р.

183. Киржанова В.В., Григорова Н.И., Бобков Е.Н., Киржанов В.Н., С. О. В. Состояние И Деятельность Наркологической Службы В Российской Федерации В 2021 Году: Аналитический Обзор / С. О. В. Киржанова В.В., Григорова Н.И., Бобков Е.Н., Киржанов В.Н.; ed. ННЦ наркологии – филиал ФГБУ «НМИЦ ПН им. В.П. Сербского» Минздрава

России. – 2022. – 202 p.

184. Психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением психоактивных веществ. Синдром зависимости от психоактивных веществ Клинические рекомендации / Министерство Здравоохранения Российской Федерации, Российское общество психиатров (РОП) – 2024. – Текст : электронный / Рубрикатор клинических рекомендаций МЗ РФ : [сайт]. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/161_2 (дата обращения: 01.08.2024).

185. Бортников Н.С., Дорофейкова М.В., Гайнетдинов Р.Р., Звартау Э.Э., Суханов И. М. Действие RO5263397, высокоселективного агониста TAAR1-рецепторов, на сахариновый депривационный эффект у крыс / С. И. М. Бортников Н.С., Дорофейкова М.В., Гайнетдинов Р.Р., Звартау Э.Э. // Вопросы Наркологии. – 2018. – Vols. 10-11. – P. 5-13.

186. Звартау Э.Э., Беспалов А.Ю., Драволина О.А., Паткина Н.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению аддиктивного потенциала лекарственных средств / Паткина Н. А. Звартау Э.Э., Беспалов А.Ю., Драволина О.А. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – 2012. – P. 297-309.