

Бортников Никита Сергеевич

**ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АГОНИСТА TAAR1 RO5263397 В
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ХИМИЧЕСКИХ ЗАВИСИМОСТЕЙ**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: Суханов Илья Михайлович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией поведения отдела психофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Ковалев Георгий Иванович — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник группы фармакологии когнитивных расстройств лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейропсихофармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Яковлев Дмитрий Сергеевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2025 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.02, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России по адресу: 400066, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, зд. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «_____» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Шаталова Ольга Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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. Заболеваемость наркоманией, связанной с употреблением психостимуляторов, увеличилась с 19 476 в 2020 году до 21 530 в 2021 (Киржанова В.В. и др., 2022). 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 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, 1-го типа (TAAR1), который были открыты в 2001 году (Vorowsky V. et al., 2001). Эндогенными лигандами TAAR1 являются такие следовые амины (СА), как β -фенилэтиламин, триптамин, тирамин, и октопамин (Vorowsky V. et al., 2001). Данные соединения имеют структурное сходство с «классическими» моноаминами, но присутствуют в организме позвоночных в очень низких, «следовых», концентрациях (<10 нг/г). Экспрессия TAAR1 показана в ряде лимбических структур, включая структуры дофаминергического мезолимбического пути (Berry M.D. et al., 2017). Считается, что эти рецепторы к СА способны оказывать модулирующее влияние на моноамин- и глутамат-ергическую нейротрансдукцию в ЦНС (Espinoza S. et al., 2011).

В настоящее время в клинических исследованиях находятся уже два вещества, обладающих агонистической активностью по отношению к TAAR1: улотаронт (NCT01972711) и ралмитаронт (NCT03669640). 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 получено множество свидетельств, подтверждающих гипотезу, что активация TAAR1 способна снижать поведенческие проявления усиления мезолимбической дофаминергической нейротрансмиссии. Введение селективных агонистов TAAR1 препятствует развитию эффектов ПАВ в различных экспериментальных моделях, таких как реакция внутривенного самовведения (PBC), реакция электрической самостимуляции мозга, условная реакция предпочтения места и другие (Pei Y. et al., 2017; Thorn D.A. et al., 2014). Несмотря на многообещающие результаты экспериментальных работ, в целом потенциальное «антиаддиктивное» действие TAAR1-агонистов требует дальнейшего изучения.

В настоящем исследовании проанализированы эффекты агониста TAAR1 RO5263397 на поведение животных с использованием различных методических подходов и моделей СЗ. Полученные данные вносят вклад в изучение и понимание роли TAAR1 в патогенезе СЗ. Результаты исследования могут послужить оптимизации фармакологических стратегий терапии СЗ в клинической практике и разработке нового поколения средств терапии СЗ, а также улучшают наше понимание механизмов нейроадаптаций и поведенческих изменений, вызываемых хроническим употреблением ПАВ

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 (PBC) никотина у крыс;
4. Оценить действие RO5263397 при повторном введении на поддержание PBC никотина у крыс;

5. Оценить действие RO5263397 при однократном введении на реакцию, поддерживаемую пищевым подкреплением (РПП), 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 (Звартау Э.Э. и др., 2012); достаточным (n=198) числом

животных и проб в экспериментальных группах, а также применением адекватных методов анализа для статистической обработки.

Основные положения диссертационной работы представлялись и обсуждались на различных российских и международных конференциях:

- 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);
- конференция «Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных средств и клинических испытаний медицинских изделий» (г. Санкт-Петербург, 2022);
- 32-й Конгресс Европейского Колледжа Нейропсихофармакологии (г. Копенгаген, Дания, 2019).

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.

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 8 печатных работ, из них 3 в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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., проф. Звартау Э.Э.). Все эксперименты соответствовали требованиям «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» (Белозерцева И.В. и др., 2014).

Животных (информация представлена в Таблице 1) содержали в конвенциональных условиях в помещениях с контролируемыми условиями. В методиках с пищевым подкреплением суточное потребление корма крысами было ограничено (14–16 г). В остальных экспериментах животные получали пищу без ограничений.

Таблица 1. Животные, использованные в работе.

Вид	Эксперимент	N
Мыши (Swiss)	Инициация внутривенного самовведения у мышей	n=47
Крысы (Wistar)	СДЭ	n=10
	РВС (однократное введение)	n=7
	РВС (повторное введение)	n=16
	РППП	n=8
	УРПМ	n=110

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 внутрибрюшинно (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.

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

дисперсионного анализа. В случае получения достоверного результата проводили межгрупповые сравнения (тесты Даннетта и Бонферрони). Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

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

Считается, что поведенческие эффекты TAAR1 опосредованы снижением высвобождения и синтеза дофамина, и в литературе существуют некоторые свидетельства о различиях в уровне моноаминов и их метаболитов в стриатуме животных дикого типа и нокаутных по гену TAAR1 (D. Leo et al. TAAR1-mediated modulation of presynaptic dopaminergic neurotransmission: Role of D2 dopamine autoreceptors // *Neuropharmacology*. 2014. Vol. 81. P. 283-291). Однако до настоящего времени такого рода исследования высокоселективных агонистов TAAR1 не проводились. Поскольку известно, что подкрепляющее, «награждающее» действие большинства ПАВ, способных вызывать развитие зависимости, сопровождается повышением высвобождения дофамина в стриатуме, 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. В настоящей работе с использованием обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимической детекцией впервые были проведены измерения содержания моноаминов, а также их метаболитов в стриатуме после введения однократного введения RO5263397. Как можно видеть на рисунке 1, 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.). Данные проведённого нейрохимического анализа указывают, что фармакологическая активация TAAR1 способна снижать уровень метаболизма дофамина в стриатуме.

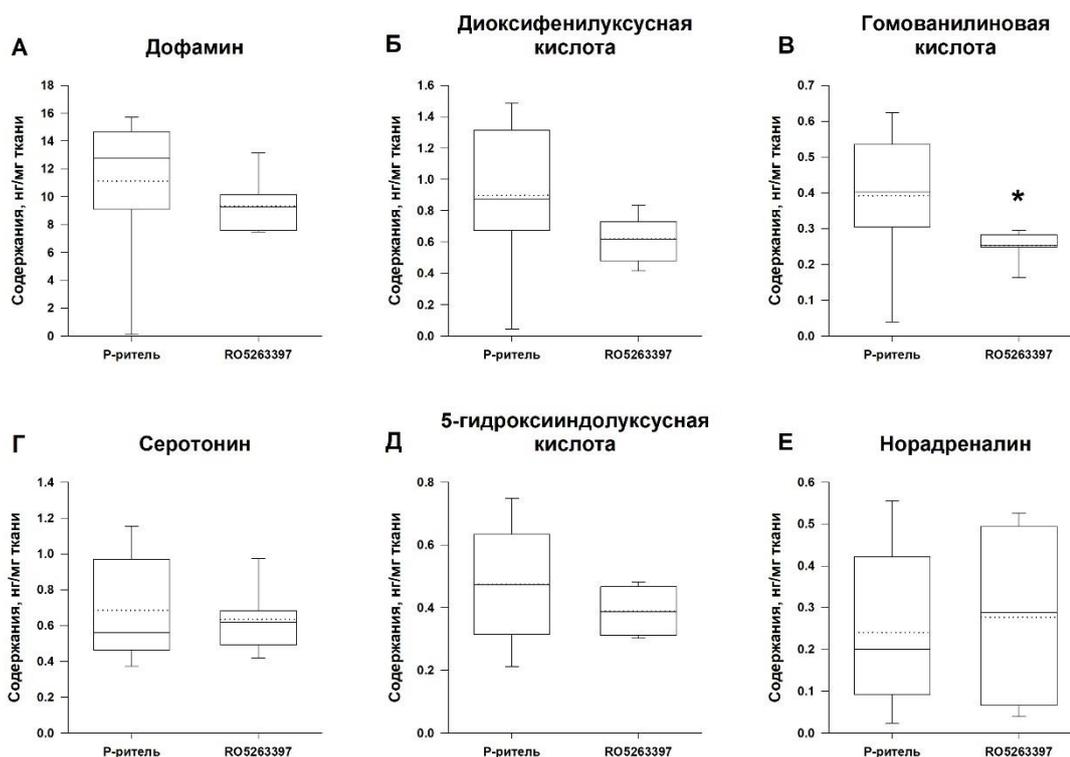


Рисунок 1 Изменение содержания уровня содержания нейромедиаторов-моноаминов в стриатуме после введения RO5263397 (3 мг/кг, в/б). Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящичков с усами». В центре ящичков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящичка представляют 25%/75% квантили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентиля. * - $P < 0,05$ (тест Манна-Уитни).

Однократное введение RO5263397 препятствует инициации РВС никотина у мышей

Большинство эталонных ПАВ в экспериментах выступают в качестве положительных первично-подкрепляющих стимулов, увеличивающие вероятность повторения поведенческой реакции, предшествовавшей их предъявлению. На этом принципе основаны экспериментальные модели самовведения аддиктивных соединений, в которых получение ПАВ путем инфузии, следует практически сразу же за выполнением определенной поведенческой реакции (например, нажатия на педаль в экспериментах на крысах). Считается, что выработка такой поведенческой реакции схожа с потреблением ПАВ человеком в «естественных» условиях и модели самовведения обладают максимальной валидностью типа «внешнее соответствие».

Методика инициации РВС у мышей может быть отнесена к категории экспресс-методов, характеризующихся достаточно высокой чувствительностью и специфичностью. Исследование проводят за 1 экспериментальную сессию. Животных тестируют попарно в специальной установке, где животные фиксируются в специальных отсеках. «Активное» животное в паре получает инфузию в ответ на свое выглядывание, «пассивное» в ответ на выглядывание «активного» и является контролем общей активности мышей. На основании числа выглядываний обоих рассчитывают показатели самовведения: R- и Δ-критерии, кумулятивную дозу никотина.

В настоящем исследовании показано, что введение RO5263397 перед экспериментальной сессией препятствовало инициации РВС никотина (Рисунок 2). Выраженность R- и Δ-критериев статистически значимо снижалась в группе, получившей RO5263397 в дозе 8 мг/кг, а также уменьшение кумулятивной дозы никотина за сессию после введения RO5263397 в дозе 8 и 10 мг/кг.

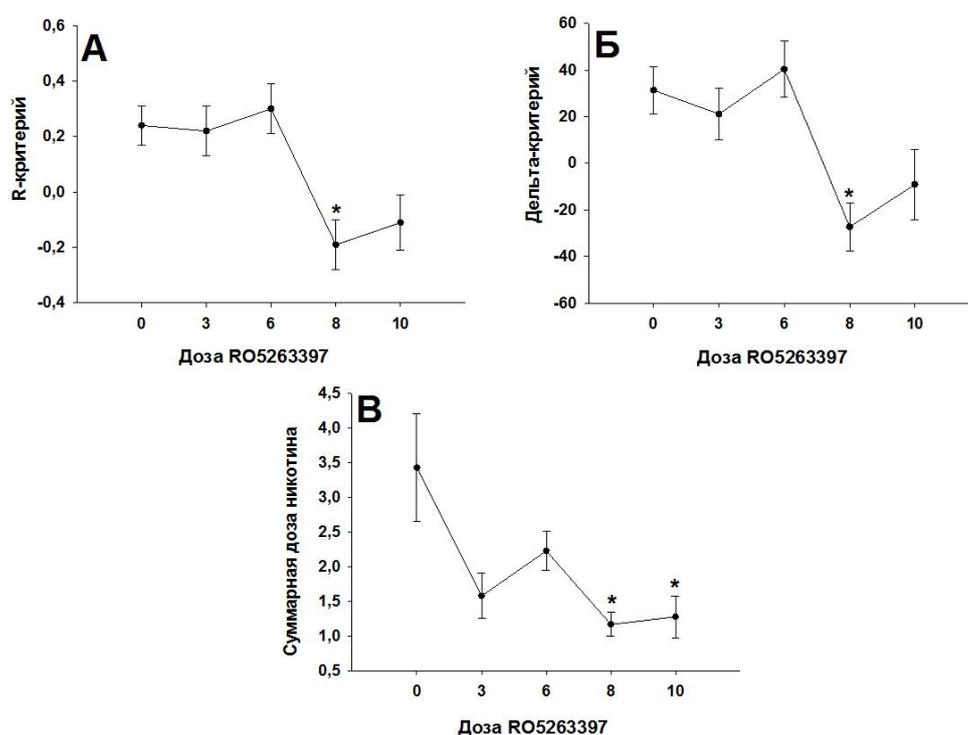


Рисунок 2 – Влияние RO5263397 на показатели РВС никотина у мышей. А - R критерий; Б – Δ-критерий; В – Кумулятивная доза никотина. Данные представлены в виде линейных диаграмм разброса, отражающих точками среднее значение и стандартное отклонение (нижняя и верхняя засечки усов). * - $P < 0,05$ (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.

Однократное введение RO5263397 препятствует поддержанию РВС никотина у крыс

Известно множество исследований, в которых введение агонистов TAAR1 препятствовало поддержанию самовведения различных ПАВ. В настоящем исследовании оценивали влияние однократного и повторного введения RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг) на поддержание РВС никотина.

После обучения крыс оперантному навыку выглядывания в отверстия, животным хирургически имплантировали катетеры в яремную вену. Животных вновь помещали в оперантные камеры, но теперь выглядывание в «активное» отверстие приводило к получению инфузии никотина. Выглядывание в «неактивное» отверстие регистрировали для контроля общей активности животного, но не подкрепляли.

Как можно видеть на Рисунке 3, однократное введение RO5263397 сопровождалось дозозависимым снижением числа инфузий и числа выглядываний в «активное» отверстие. При апостериорных сравнениях установлено, что эффекты агониста TAAR1 достигали уровня статистической значимости только после введения самой высокой (10 мг/кг) из протестированных доз вещества.

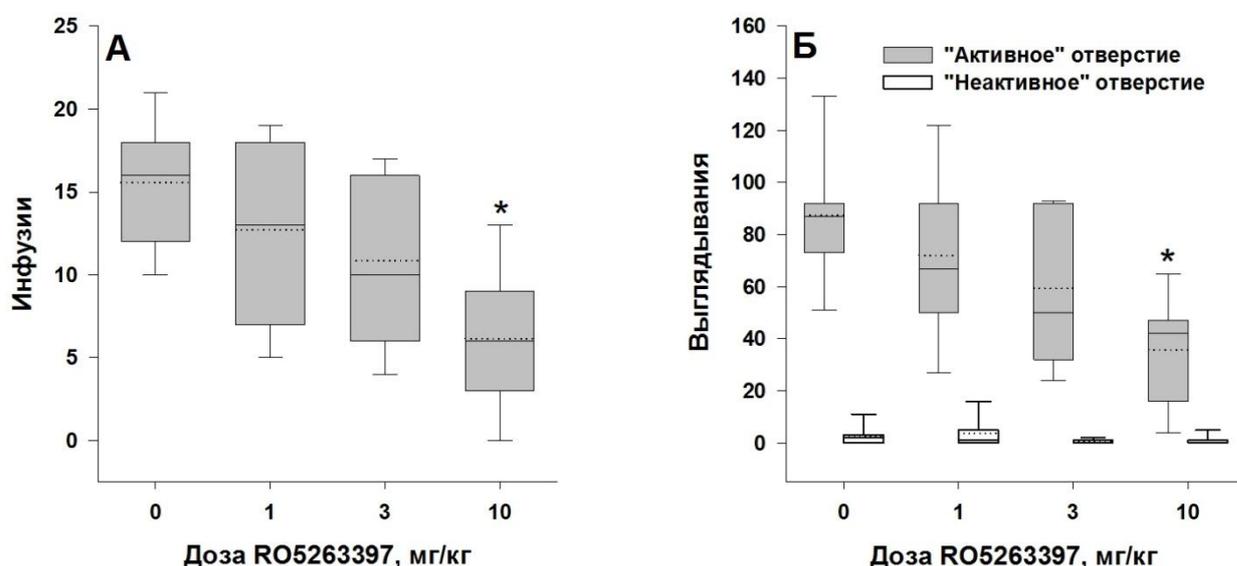


Рисунок 3 – Изменение РВС никотина у крыс под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). А – число инфузий, полученных за сессию, Б – количество выглядываний в «активное» и «неактивное» отверстие. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». В центре ящиков отражено среднее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

Повторное введение RO5263397 не сопровождается развитием толерантности к действию вещества на РВС никотина у крыс

Клиническое применение лекарственных средств подразумевает их регулярный прием пациентами, и развитие толерантности к фармакологическим эффектам может создавать значительные трудности для применения этих препаратов. Несмотря на практическую значимость оценки эффектов хронического введения лекарств, развитие толерантности редко оценивают на уровне доклинических исследований (Bespalov et al. Drug tolerance: A known unknown in translational neuroscience // Trends in Pharmacological Sciences. 2016. Vol. 37, № 5. P. 364–378). В большинстве экспериментальных работ оценивали эффекты однократного введения агонистов TAAR1. В настоящем исследовании показано, что введение RO5263397 (10 мг/кг) на протяжении 12 дней сопровождалось статистически значимым снижением числа инфузий и числа выглядываний в «активное» отверстие (Рисунок 3).

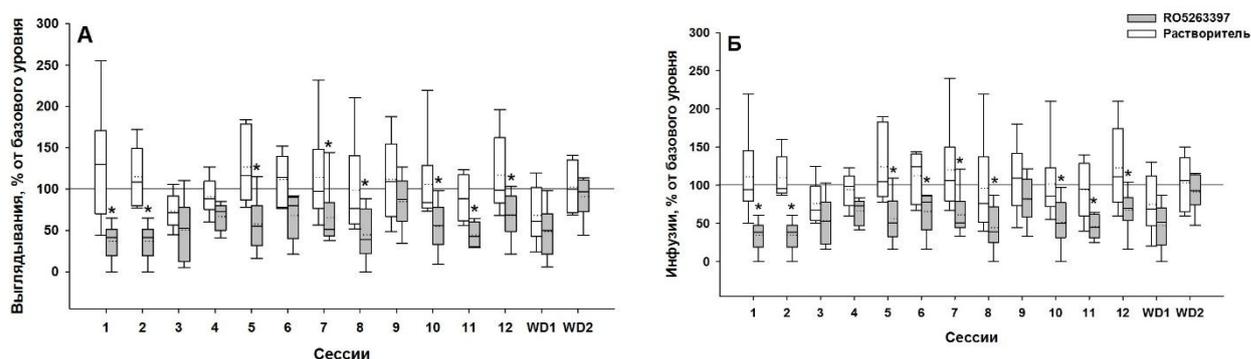


Рисунок 4 – Изменение РВС никотина у крыс под действием RO5263397 (10 мг/кг, 12 дней). Число выглядываний в «активное» отверстие, % от базового уровня (А) и число инфузий, полученных за экспериментальную сессию, % от базового уровня (Б) у крыс. WD (withdrawal day) – дни в которые раствор никотина был заменен на растворитель. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящичков с усами». В центре ящичков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящичка представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентиля. n=8 для каждой группы. * - P<0,05 (тест Бонферрони) при сравнении с соответствующим значением контрольной группы.

Полученные результаты свидетельствуют, что фармакологическое действие RO5263397 на потребление никотина не изменялось при повторном введении вещества. При этом также 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.

Однократное введение RO5263397 снижает реакцию, поддерживаемую пищевым подкреплением, у крыс

Известно, что ослабление самовведения может быть обусловлены неспецифическим общеугнетающим действием исследуемого соединения. Для оценки специфичности эффектов RO5263397 могут быть использованы эксперименты с альтернативным (пищевым) подкреплением. Известно, что дофамин является универсальным проводником различных первично-подкрепляющих стимулов, как фармакологических, так и пищи, воды, полового партнера и так далее. Исходя из гипотезы, что эффекты агонистов TAAR1 обусловлены модулирующим действием на высвобождение дофамина, можно предположить, что лиганды TAAR1 способны влиять на подкрепляющие свойства не только ПАВ, но и пищи. Более того, в одной из экспериментальных работах установлено, что фармакологическая активация TAAR1 способна снижать подкрепляющие свойства сладкого корма (Ferragud A. et al., 2017).

В случае с ПАВ «вознаграждение» происходит, при распознавание животным субъективных эффектов ПАВ, что происходит с некоторой временной задержкой. В то время как при предоставлении пищевой пеллеты «вознаграждение» происходит уже в момент предоставления подкрепления, а не после поедания корма. В связи с этим, чтобы приблизить условия эксперимента с пищевым подкреплением к ситуации с самовведением никотина, действие RO5263397 было протестировано на независимой группе крыс с использованием режима подкрепления с задержкой предоставления пищевой пеллеты.

Установлено, что в группе, получавшей пищевое подкрепление с задержкой, как число выглядываний в «активное» и в «неактивное» отверстие (Рисунок 5А), так и число полученных подкреплений (Рисунок 6) статистически значимо снижалось после введения RO5263397 (10 мг/кг). У группы, получавшей подкрепление сразу после выглядывания в отверстия, введение RO5263397 не вызывало статистически значимого снижения числа выглядываний в «активное» отверстие (Рисунок 5Б) и подкреплений, полученных за сессию (Рисунок 6).

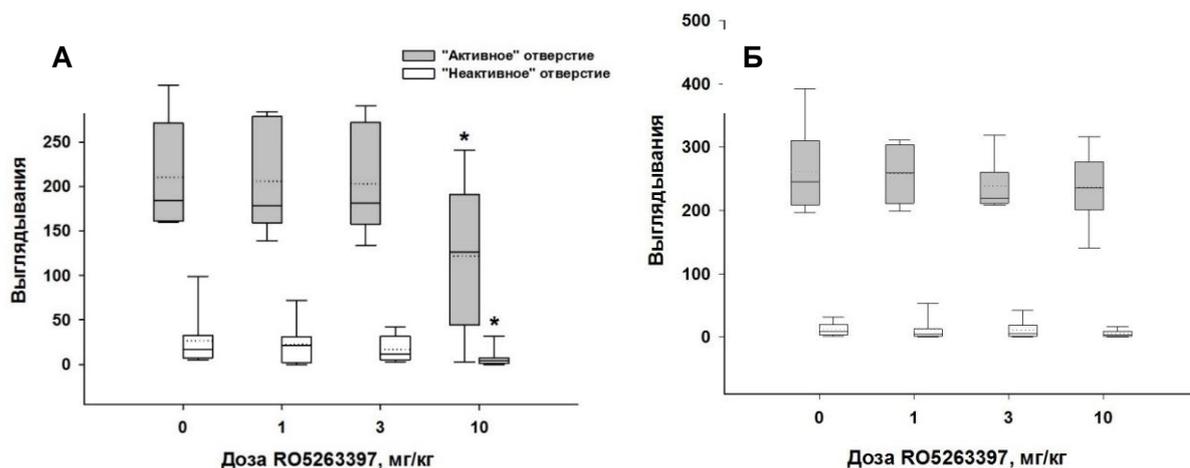


Рисунок 5 – Изменение количества выглядываний в отверстия у группы крыс, получавших подкрепление с задержкой (А) и без задержки (Б) под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящичков с усами». В центре ящичков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящичка представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентиля. $n=8$ для каждой группы. * - $P<0,05$ (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.

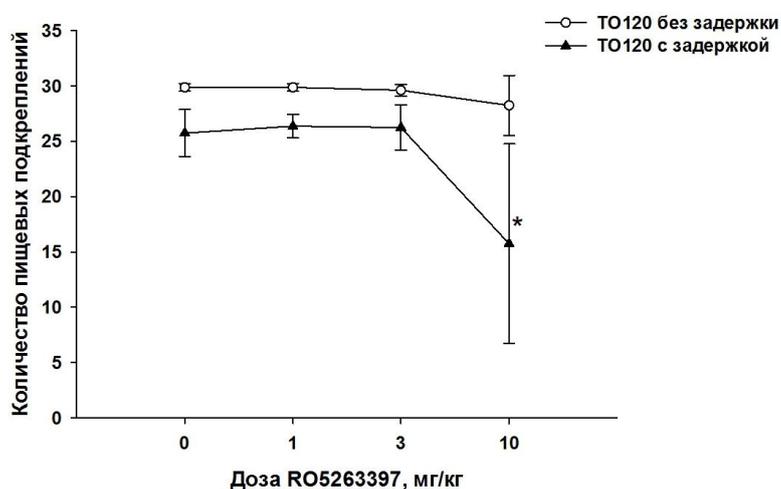


Рисунок 6 – Изменение количества полученных подкреплений за сессию у обеих групп крыс под действием RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг). Данные представлены в виде линейных диаграмм разброса, отражающих точками среднее значение и стандартное отклонение (нижняя и верхняя засечки усов). $n=8$ для каждой группы. * $P<0,05$ (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.

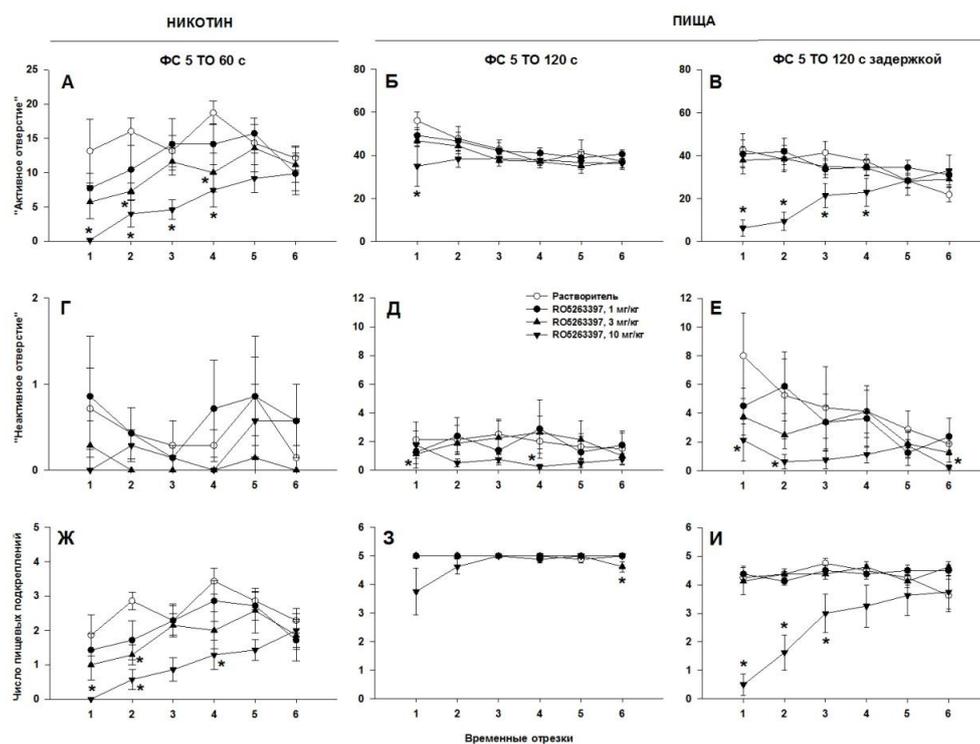


Рисунок 7 – Влияние RO5263397 на временную динамику изменений числа выглядываний в «активное» отверстие, «неактивное» отверстие и число полученных подкреплений в сессиях с РВС никотина (А, Г, Ж), сессиях с пищевым подкреплением в режиме без задержки (Г, Д, З) и с задержкой предоставления подкрепления (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.

Также можно отметить интересную особенность временной динамики эффекта агониста TAAR1 (Рисунок 7). Как в случае фармакологического, так и пищевого подкрепления снижение числа подкреплений и выглядываний в «активное» отверстие происходило только в первой половине экспериментальной сессии, что на сегодняшний день нельзя объяснить известными особенностями фармакодинамики и фармакокинетики RO5263397.

Введение RO5263397 снижает выраженность СДЭ у крыс

В 1960-х годах у крыс, приученных пить алкоголь, был описан феномен депривационного эффекта (ДЭ), который определяют как увеличение потребления алкоголя после периода депривации по сравнению с додепривационным периодом (Sinclair J.D. and Senter R.J., 1968). Из клинической практики известно, что у лиц, страдающих алкогольной зависимостью, после периода воздержания часто следует период массивной алкоголизации. Явление ДЭ может быть рассмотрено как

экспериментальная, неоперантная модель рецидива при СЗ, в частности при алкоголизме (Spanagel R. and Höller S.M., 1999). В дальнейших экспериментах Sinclair и других авторов показано, что феномен ДЭ наблюдается также у животных, потреблявших раствор сахарина (Sinclair J.D. and Senter R.J., 1989). Использование такого нефармакологического стимула как сахарин позволяет избежать некоторых эффектов длительного введения ПАВ, например развития толерантности и физической зависимости, которые могут существенно повлиять на результаты.

В настоящей работе провели анализ влияния трёх доз RO5263397 (1; 3; 6 мг/кг) на выраженность СДЭ у крыс, приученных пить 0,1% водный раствор сахарина (Рисунок 8). Введение агониста TAAR1 сопровождалось дозозависимым снижением потребления раствора сахарина в течение первого часа после депривации.

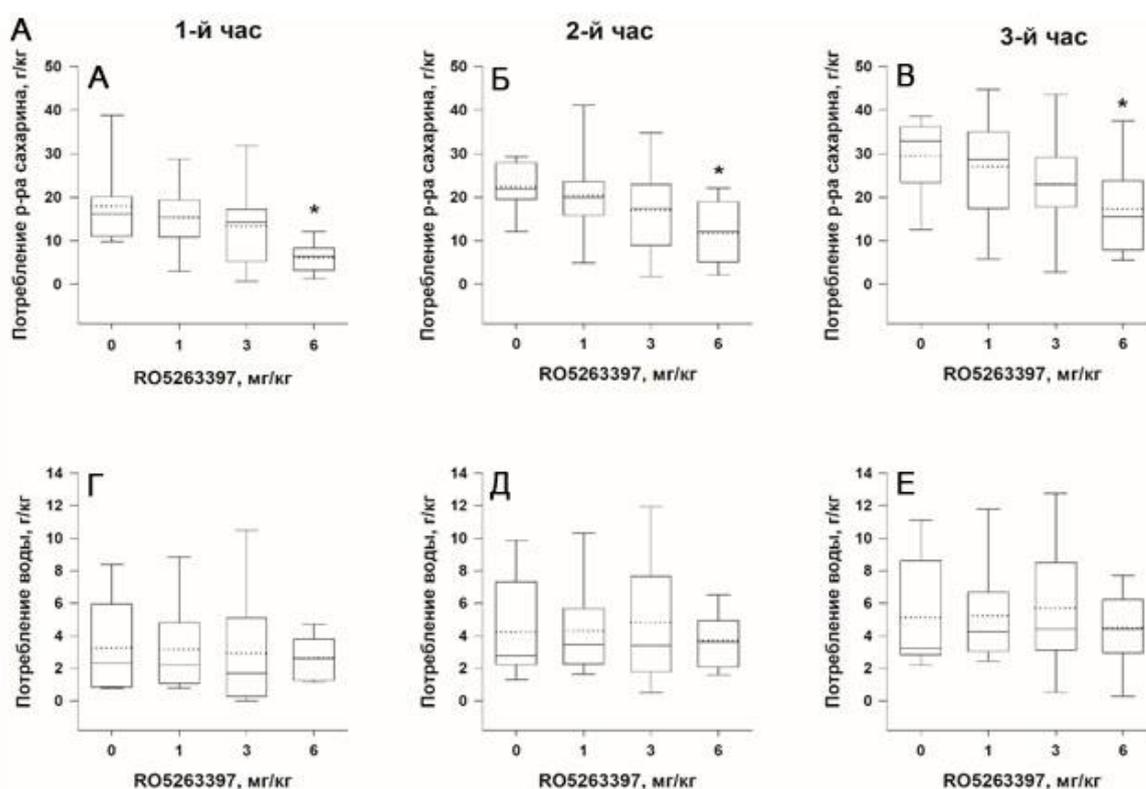


Рисунок 8 – Влияние фармакологической активации TAAR1 на потребление раствора сахарина (А, Б, В) и воды (Г, Д, Е) за первые три часа после введения исследуемого вещества и возвращения раствора сахарина в клетку. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящиков с усами». n=10. * - P<0,05 (тест Даннетта) при сравнении с дозой 0 мг/кг.

Эффект достигал статистической значимости после дозы 6 мг/кг. Аналогичным образом агонист TAAR1 влиял на потребление раствора сахарина за

2-й и 3-й часы, а также за первые сутки последепривационного периода. При этом введение RO5263397 не влияло на потребление воды за 1-й, 2-й, 3-й часы, а также первые сутки после возвращения бутылок с раствором сахарина в домашние клетки.

Введение RO5263397 не сопровождается развитием УРПМ у крыс

Известно, что ослабление самовведения ПАВ может быть обусловлено не только функциональным антагонизмом с исследуемым веществом, но также и однонаправленным действием изучаемого соединения и самовводимого ПАВ. Например, при введении никотина непосредственно перед экспериментальной сессией РВС никотина наблюдается ослабление самовведения (Corrigall W.A. and Coen K.M., 1989).

Результаты ряда экспериментов указывают на отсутствие подкрепляющего действия агонистов TAAR1 (Pei Y. et al., 2017; Thorn D.A. et al., 2014), однако в то же время TAAR1 является одной из фармакологических мишеней метамфетамина, а также у агониста TAAR1 RO5203648 в высоких дозах отмечена способность вызывать перекрестную сенситизацию с метамфетином в поведенческих тестах (Cotter R. et al., 2015). Возможно, агонисты TAAR1 все же обладают некоторыми подкрепляющими свойствами. Имеющихся на сегодняшний день данных недостаточно, чтобы исключить такие эффекты.

Считается, что методика УРПМ отражает вторично-подкрепляющие свойства фармакологических агентов (Beach H.D., 1957). В исследованиях, где оценивали потенциальную способность RO5263397 вызывать развитие УРПМ, протестировали только одну дозу вещества, 10 мг/кг (Thorn D.A. et al., 2014).

В нашей лаборатории проведен эксперимент для проверки возможной способности RO5263397 вызывать УРПМ в меньших дозах: 1, 3 и 6 мг/кг. Можно предположить, что поскольку RO5263397 является частичным агонистом TAAR1, он мог бы конкурировать с эндогенными следовыми аминами и таким образом ослаблять передачу сигнала через TAAR1 и в то же время в меньшей степени, чем высокие дозы снижать высвобождение дофамина.

Было выделено 5 групп животных: одна из групп получала морфин, другая растворитель и 3 группы получали разные дозы RO5263397, 1, 3 и 6 мг/кг (Рисунок 9). Морфин вызывал отчетливую реакцию УРПМ, в то время как в группах,

получавших растворитель и RO5263397, не наблюдалось развития предпочтения какого-либо отсека экспериментальной установки. Также разные дозы RO5263397 статистически не отличались как между собой, так и от растворителя.

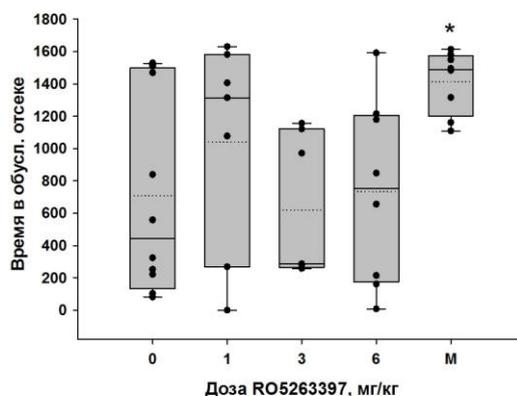


Рисунок 9 – Время, проведенное животными в отсеке, ассоциированном с введением RO5263397 (1; 3; 10 мг/кг), морфина или растворителя. Результаты исследования представлены в виде блочных диаграмм - «ящичков с усами». В центре ящичков отражено среднее значение и медиана (пунктирная и сплошная линия соответственно), нижняя и верхняя кромки ящичка представляют 25%/75% квартили, нижняя и верхняя засечки усов - 10-й и 90-й процентиля. 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время вещества, обладающих агонистической активностью по отношению к TAAR1, уже проходят клинические исследования как потенциальные атипсихотические/анксиолитические препараты (NCT01972711 и NCT03669640). В отличие от традиционных антипсихотиков, блокирующих постсинаптические рецепторы, агонисты TAAR1 могут модулировать высвобождение моноаминов и глутамата (Espinoza S. et al., 2011). Подытоживая данные предшествующих работ и результаты экспериментов, представленных в настоящем исследовании, можно сделать вывод, что активация TAAR1 способна препятствовать развитию и поддержания поведенческих эффектов ПАВ, а также влиять на мотивационные свойства подкрепления разной природы в различных методиках. Предполагают, что благодаря пресинаптическому принципу действия агонисты TAAR1 не будут обладать побочными эффектами, свойственными «традиционным» антипсихотикам, и еще одной областью их практического применения может стать патологическое пристрастие к ПАВ. При этом сами агонисты TAAR1 не обладают подкрепляющими свойствами в экспериментах и скорее всего не имеют потенциала злоупотребления.

Для того, чтобы глубже понять как физиологическую роль рецепторов TAAR1, так и механизмы регуляции высвобождения других нейромедиаторов, требуются дальнейшие эксперименты. Тем не менее, с практической точки зрения массив накопленных знаний позволяет оценить перспективность данной группы соединений в области наркологических расстройств. Безусловно, система данных рецепторов является перспективной мишенью для разработки новых нейропсихотропных средств.

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 ($1,17\pm 0,17$ и $1,28\pm 0,30$, соответственно), в то время как в контрольной группе животных, получавших растворитель, этот показатель составлял $3,43\pm 0,78$.

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 NCT01972711 и NCT03669640. 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 (Badiani A. et al., 2011; Nutt D.J. et al., 2015), 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 работ, опубликованных по теме диссертации.

Статьи в рецензируемых научных изданиях:

1. **Бортников Н.С.**, Дорофейкова М.В., Гайнетдинов Р.Р., Звартау Э.Э. Суханов И.М. Действие RO5263397, высокоселективного агониста TAAR1-рецепторов, на сахаринный депривационный эффект у крыс // Вопросы Наркологии. 2018. №10-11 (170). С. 5–13.
2. **Бортников Н.С.**, Драволина О.А., Суханов И.М., Куварзин С.Р.,

Гайнетдинов Р.Р., Звартау Э.Э. Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами: новая мишень для разработки антиаддиктивных средств? // Вопросы Наркологии. 2021. №8 (203). С. 52–72.

3. Dorotenko A.R., Tur M., Dolgorukova A.N., **Bortnikov N.S.**, Belozertseva I. V., Zvartau E.E., Gainetdinov R.R. Sukhanov I.M. The Action of TAAR1 Agonist RO5263397 on Executive Functions in Rats // Cellular and molecular neurobiology. 2020 №2(40), P. 215–228.

Тезисы:

4. Sukhanov I.M., Semina M.G., Kashkin V.A., **Bortnikov N.S.**, Dravolina O.A. Pharmacological activation of trace amine-associated receptor 1 decreases nicotine self-administration in rodents without development of tolerance // European Neuropsychopharmacology. 2020. №6 (40). P. S2-S3.

5. **Бортников Н.С.** Однократное и повторное введение селективного TAAR1 агониста RO5263397 снижает реакцию внутривенного самовведения никотина у крыс. Сборник тезисов LXXXI научно-практической Конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины 2020» 2020. С. 320.

6. **Bortnikov N.S.**, Semina M.G., Sukhanov I.M., Zvartau E.E., Dravolina O.A. Selectivity of TAAR1 partial agonist RO5263397 effects on drug- versus non-drug-related behaviors // European Neuropsychopharmacology. 2021. (53). P. S170.

7. **Bortnikov N.S.**, Sukhanov I.M., Semina M.G., Vaido A.I. Dyuzhikova A.N. Belozertseva I.V. The contribution of nerve excitability speed on rats' behavior // European Neuropsychopharmacology. 2019. (29). P. S480–S481.

8. Tur M., Savchenko A.A, **Bortnikov N.S.**, Arefjeva A., Belozertseva I.V., Sukhanov I.M. Analysis of cognitive control in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats // European Neuropsychopharmacology. 2019. (29). P. S304–S305.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ПАВ — психоактивные вещества

РВС — реакция в/в самовведения

РППП — реакция, поддерживаемая пищевым подкреплением

СДЭ — сахаринный депривационный эффект

СЗ — синдром зависимости

УРПМ — условнорефлекторная реакция предпочтения места

ТААР — рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами

БОРТНИКОВ НИКИТА СЕРГЕЕВИЧ

**ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АГОНИСТА ТААР1 RO5263397 В
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ХИМИЧЕСКИХ ЗАВИСИМОСТЕЙ**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук