

АФОБАЗОЛ СНИЖАЕТ ВЫРАЖЕННОСТЬ СИНДРОМА ОТМЕНЫ МОРФИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М. А. Константинопольский, И. В. Чернякова¹

Изучали влияние анксиолитика афобазола на развитие физической зависимости от морфина, вводимого крысам в возрастающих дозах (10 – 20 мг/кг внутривентриально) в течение 5 дней. Состояние зависимости оценивали по наличию специфических поведенческих признаков “спонтанного” (через 24 ч после последнего введения) или провоцируемого налоксоном синдрома отмены. Действие афобазола (5 мг/кг), вводимого однократно перед тестированием или субхронически в течение 5 дней, определяли по его влиянию на суммарный индекс синдрома отмены морфина, рассчитанный на основании регистрации 16 поведенческих альтернативных признаков. Установили, что афобазол при однократном или субхроническом введении существенно снижает выраженность “спонтанного” синдрома отмены морфина. Подобный эффект статистически значим, но менее выражен в случае регистрации синдрома отмены, провоцируемого введением налоксона. Полученные экспериментальные данные позволяют рассматривать афобазол как возможное эффективное средство коррекции клинических проявлений синдрома отмены морфина.

Ключевые слова: афобазол, морфин, налоксон, поведенческие признаки синдрома отмены

ВВЕДЕНИЕ

Для купирования разнообразных проявлений физической и психологической зависимости от опиатов необходим значительный арсенал фармакологических средств, позволяющий использовать определенные препараты с учетом индивидуальных конституциональных черт данного больного, спектра регистрируемых у него патологических проявлений синдрома отмены. Используемые с указанной целью лекарственные средства, относящиеся к разным фармакологическим группам, нередко малоэффективны и обладают значительными побочными эффектами, ограничивающими их применение [8, 12]. В частности, бензодиазепиновые анксиолитики сами способны вызывать психологическую и физическую зависимость [17, 18], а применяемые в последнее время агонист-антагонист опиоидных рецепторов бупренорфин и антагонист этих рецепторов налтрексон, соответственно, провоцировать угнетение дыхания и синдром отмены у зависимых от опиатных больных [19]. Разрабатываемые препараты последнего поколения должны быть лишены указанных недостатков. Учитывая это, целью настоящего исследования было изучение влияния анксиолитика афобазола, разработанного в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН и разрешенного к медицинскому применению с 2005 г. [4], на процесс развития физической зависимости и поведенческие признаки синдрома отмены (СО) морфина у крыс. Литературные данные относительно влияния афобазола на экспериментальный синдром отмены опиатов в настоящее время отсутствуют.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 95 беспородных крысах-самцах (питомник РАМН “Столбовая”) со средней массой 260 г (240 – 280 г) в активной фазе эксперимента. Животные были разделены на опытные и контрольные группы и содержались в стандартных условиях вивария в клетках по 10 особей в течение 7 дней до начала эксперимента. Потребление пищи и воды не ограничивали. Ежедневно в течение 10 мин для каждой группы животных проводили “хэндлинг” для снижения уровня стресса при последующем тестировании. Изменения массы тела крыс регистрировали на 1-й, 3-й, 5-й и 15-й день эксперимента. У животных опытных групп вырабатывали зависимость от морфина и оценивали поведение в “открытом поле” (ОП) в соответствии со стандартной, ранее разработанной схемой [2, 3]. Исследуемые вещества и растворитель (дистиллированная вода) вводили внутривентриально. Крысам из опытных групп морфина гидрохлорид вводили в течение 5 дней в возрастающих дозах, 10 – 20 мг/кг, 2 раза в день, с интервалом 8 ч. Контрольные животные получали равный объем растворителя по той же схеме. В 1-й серии экспериментов тестирование животных на наличие специфических признаков СО морфина проводили на 5-й день опыта в течение 5 мин в ОП, в интервале с 17 до 20 ч, через 15 мин после введения антагониста опиоидных рецепторов налоксона (“Du Pont De Nemours Int. S. A., Swiss”) в дозе 1 мг/кг для провокации СО или растворителя (дистиллированная вода), замещая ими второе введение морфина. Афобазол (1 % раствор, 5 мг/кг) вводили однократно на 5-й день опыта, за 15 мин до налоксона (за 30 мин до тестирования) или субхронически, ежедневно в течение 5 дней однократно, за 30 мин до 1-го введения морфина

¹ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

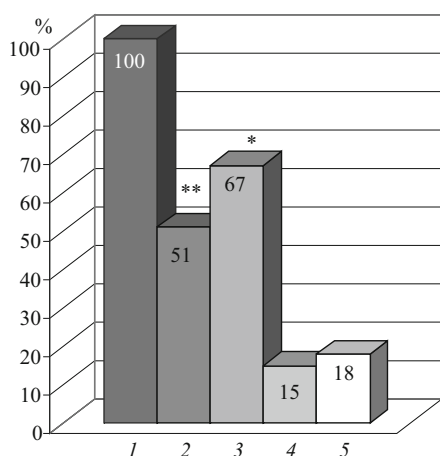


Рис. 1. Влияние афобазола на синдром отмены морфина у крыс, вызванный введением налоксона.

По оси абсцисс — группы животных: 1 — “морфин (5 дней) + налоксон”, 2 — “морфин (5 дней) + афобазол однократно + налоксон”, 3 — “морфин (5 дней) + афобазол (5 дней) + налоксон”, 4 — “Н₂О (5 дней) + афобазол (5 дней) + налоксон”, 5 — “Н₂О (5 дней) + налоксон”; по оси ординат — за 100 % принята величина суммарного индекса синдрома отмены у животных 1-й группы (подробнее см. “Методы исследования”). Здесь и на рис. 2 и 3 статистически значимые различия в сравнении с группой 1 (* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$, непараметрический критерий Mann-Whitney-U-test).

на. В 1-й серии были сформированы следующие экспериментальные группы: 1 — активный контроль “морфин хр (5 дней) + налоксон”, 2 — “морфин хр (5 дней) + афобазол 1-кратно + налоксон”, 3 — “морфин хр (5 дней) + афобазол (5 дней) + налоксон”, 4 — контроль “Н₂О хр (5 дней) + афобазол (5 дней) + налоксон”, 5 — контроль “Н₂О хр (5 дней) + налоксон”. Во 2-й серии экспериментов животных тестировали на 6-й день, через 24 ч после окончания инъекций морфина без введения налоксона. Афобазол вводили по той же схеме, что и в 1-й серии, однократно или субхронически в течение 5 дней. В эксперименте участвовали следующие группы: 1 — активный контроль “морфин хр (5 дней) + Н₂О”, 2 — “морфин хр (5 дней) + афобазол 1-кратно”, 3 — “морфин хр (5 дней) + афобазол (5 дней)”, 4 — контроль “Н₂О хр (5 дней) + афобазол (5 дней)”, 5 — контроль “Н₂О хр (5 дней) + Н₂О хр (5 дней)”. Для всех групп регистрировали общеповеденческие реакции животных (двигательную активность — ДА, стойки, груминг, дефекации) и специфические признаки СО морфина (16 показателей — диарею, скрежет зубами, отряхивания, нарушения позы, пилоэрекцию, птоз, попытки бегства, корчи, судороги, вокализацию, встряхивания лапами, встряхивания головой, ринорею, диспноэ, носовое кровотечение, жевание). Дискретные признаки абстиненции (диарею — в баллах, отряхивания и скрежет зубами — по числу актов) оценивали количественно и альтернативно, остальные — в альтернативной форме по принципу “да” — “нет”. Суммарный индекс (СИ) выраженности СО для каждого животного и средние значения для опытных и контрольных групп рассчиты-

вали на основании альтернативных признаков при максимально возможной величине СИ, равной 16 баллам. Среднее значение выраженности СО в группе “морфин хр + налоксон” (активный контроль) принимали за 100 %. Полученные данные обрабатывали статистически (непараметрический критерий Mann-Whitney U test, программа Statistica 6,0).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние афобазола на синдром отмены морфина, провоцируемый налоксоном

В ходе настоящего исследования показано, что используемая схема введения морфина позволяет получить животных с сравнительно высоким показателем СИ синдрома отмены — 9,4 балла на фоне действия налоксона (гр. 1, активный контроль, “морфин хр (5 дней) + налоксон”), что согласуется с данными литературы, показывающими возможность формирования зависимости от морфина при его введении крысам 2–3 раза в день, в возрастающих дозах, в течение 3–20 суток [9].

Однократное введение животным афобазола в дозе 5 мг/кг до тестирования в ОП заметно снижает СИ СО (до уровня 4,8 балла или на 49 %, $p < 0,01$, рис. 1), а также существенно уменьшает выраженность отдельных наиболее важных признаков зависимости, таких как нарушения позы, корчи, отряхивания, диарея, птоз, вокализация и ряда других (таблица). Ежедневное введение афобазола в той же дозе (5 мг/кг) оказывало сходное, но менее выраженное влияние на СИ СО, не вызывая дальнейшего усиления эффекта, отмеченного при его однократном введении (снижении СИ СО на 33 %, $p < 0,01$; рис. 1). Вместе с тем в последнем случае афобазол в значительной степени восстанавливал динамику двигательной активности (ДА) животных в ОП к 3-ей минуте наблюдения, при этом активность крыс приближалась к показателям контрольной группы 5 — “Н₂О (5 дней) + налоксон” (рис. 3, а).

В процессе выработки физической зависимости от опиатов, как правило, регистрируется относительная потеря массы животных [3]. В наших опытах показано, что у животных, зависимых от морфина (гр. 1 — “морфин хр (5 дней) + налоксон”), отмечается существенная потеря массы к 15-му дню эксперимента (на 23 %, $p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой (“Н₂О + налоксон”). В группе крыс, которым наряду с морфином ежедневно вводили афобазол (гр.3 — “морфин хр (5 дней) + афобазол (5 дней) + налоксон”), динамика изменения массы тела к концу эксперимента практически соответствовала контрольным значениям (рис. 3, б).

Влияние афобазола на “спонтанный” синдром отмены морфина у крыс

В группе животных 1 — “морфин хр (5 дней) + Н₂О” (активный контроль) СО был менее

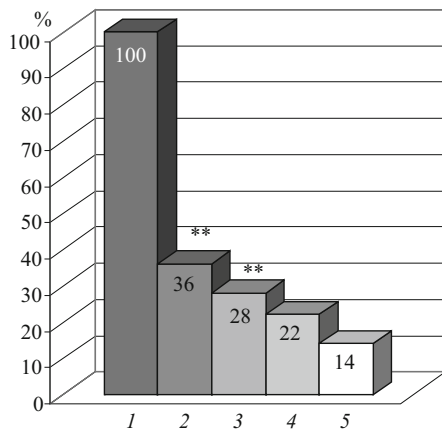


Рис. 2. Влияние афобазола на синдром отмены морфина у крыс при тестировании через сутки после введения анальгетика.

По оси абсцисс — группы животных: 1 — морфин (5 дней) + H₂O, 2 — морфин (5 дней) + афобазол однократно, 3 — морфин (5 дней) + афобазол (5 дней), 4 — H₂O (5 дней) + афобазол (5 дней), 5 — H₂O (5 дней) + H₂O (5 дней). Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

выражен (6,4 балла), чем в соответствующей группе с налоксоном (9,4 балла). В группах животных 2 — “морфин хр (5 дней) + афобазол однократно” и 3 — “морфин хр (5 дней) + афобазол 5 дней”, в которых регистрировали “спонтанный” СО (через 24 ч после отмены морфина), афобазол, вводимый однократно или субхронически, практически в равной степени снижал выраженность суммарного индекса СО, соответственно, на 64 и 72 %, $p < 0,01$ (рис. 2), а также заметно уменьшал выраженность отдельных признаков СО морфина, таких как корчи, птоз, нарушения позы, отряхивания, скрежет зубами, вокализация, попытки бегства (таблица). Результаты, полученные в этой серии экспериментов, по направленности эффектов сопоставимы с данными для серии 1 (см. выше), однако, влияние афобазола на отдельные показатели и суммар-

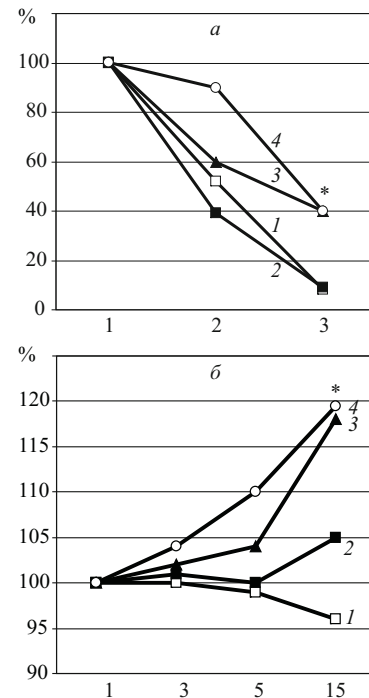


Рис. 3. Влияние афобазола при однократном или субхроническом введении на динамику двигательной активности в “открытом поле” (а) и массы тела (б) у крыс, зависимых от морфина, на фоне налоксона.

Ось абсцисс: а — время пребывания животных в “открытом поле”, мин, б — дни взвешивания; по оси ординат: за 100 % приняты уровень двигательной активности животных в ОП на 1-й минуте (а) и масса тела крыс в 1-й день эксперимента (б). Группы животных: 1 — “морфин (5 дней) + налоксон”, 2 — “морфин (5 дней) + афобазол 1-кратно + налоксон”, 3 — “морфин (5 дней) + афобазол (5 дней) + налоксон”, 4 — “H₂O (5 дней) + налоксон” (* — $p < 0,05$ — значимые различия между группами 1 и 3, 4). Остальные обозначения те же, что на рис. 1

ный индекс СО было выражено заметно сильнее (группы 2, 3, рис. 1 и 2, различия между соответствующими группами значимы при $p < 0,01$). В частности,

Влияние афобазола на основные поведенческие признаки синдрома отмены морфина у крыс

Поведенческие признаки синдрома отмены	Группы животных, вводимые вещества							
	(1) H ₂ O + афоб · 5 + нал	(2) морф + нал	(3) морф + нал + афоб · 1	(4) морф + нал + афоб · 5	(5) морф + 24 ч + H ₂ O	(6) морф + 24 ч + афоб · 1	(7) морф + 24 ч + афоб · 5	(8) H ₂ O + 24 ч + афоб · 5
Судороги	0,0	0,4	0,1	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0
Корчи	0,0	0,6	0,2*	0,8	0,4	0,0	0,0*	0,0*
Нарушения позы	0,0	1,0	0,3**	0,7	0,6	0,0**	0,1*	0,0**
Птоз	0,0	0,9	0,44*	0,11***	0,5	0,1*	0,1*	0,0**
Диспноэ	0,1	1,0	0,9	0,8	0,7	0,5	0,4	0,2*
Диарея #	0,4	2,77	1,55*	1,66*	0,0	0,3	0,0	0,6
Отряхивания	0,0	1,66	0,11**	0,77	0,80	0,0**	0,1*	0,0**
Скрежет зубами #	0,0	1,66	0,55	0,0**	3,80	0,6*	0,1**	1,1*
Вокализация	0,2	0,90	0,22**	0,44*	0,80	0,1**	0,2**	0,1**
Попытки бегства	0,0	0,3	0,0	0,0	0,5	0,1**	0,0**	0,0**

Примечание. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — отмечены значимые отличия в сравнении с группами активного контроля (гр. 2 и 5); # — эти показатели оценивали количественно, остальные в альтернативной форме. В группах 1 – 4 синдром отмены регистрировали после провокации налоксоном, в группах 5 – 8 — “спонтанный” синдром отмены (через 24 ч после отмены морфина). Афобазол вводили 1-кратно или в течение 5 дней, морфин — в течение 5 дней по схеме; обозначения: морф — морфин, нал — налоксон, афоб — афобазол, подробнее см. “Методы исследования”.

отдельные проявления физической зависимости, такие как корчи, отряхивания, нарушения позы, попытки бегства, практически полностью устранялись после однократного или субхронического введения афобазола, (таблица).

Таким образом, афобазол существенно уменьшал величину суммарного индекса СО, провоцируемого налоксоном, а также “спонтанного” СО. Афобазол восстанавливал динамику двигательной активности в ОП и устранял падение массы тела у морфин-зависимых крыс на модели с налоксоном.

Согласно литературным данным, механизм действия афобазола в значительной степени может быть обусловлен его лигандным связыванием с σ_1 -рецепторами [6]. Последние, в свою очередь, полифункциональны, способны модулировать ряд патологических состояний, таких как депрессия, амнезия, болезнь Альцгеймера, гипо- и гиперальгезия, зависимость от некоторых наркотиков (амфетамин, кокаин) [11, 15]. Показано, что антагонист σ_1 -рецепторов галоперидол усиливает, а агонист этих рецепторов пентазоцин ослабляет анальгетический эффект морфина, вводимого в чувствительные к нему зоны мозга [16]. Кроме того, галоперидол, как σ_1 -антагонист, блокирует снижение болевых порогов, вызванное капсаицином у мышей, что не было связано с активностью опиоидной или дофаминергической систем [10]. Афобазол, как и пентазоцин, ослаблял действие галоперидола в отношении анальгезии, вызванной морфином, т.е. демонстрировал активность σ_1 -агониста [1]. Учитывая эти факты, способность афобазола устранять нарушения поведения у зависимых от морфина животных в наших экспериментах может отражать отмеченный выше характер его рецепторной активности. Выраженность обнаруженных поведенческих эффектов афобазола заметно зависела от наличия в схеме опыта антагониста опиоидных рецепторов налоксона. Влияние анксиолитика на проявления зависимости было более рельефным при отсутствии в схеме опыта налоксона, то есть в случае “спонтанного” синдрома отмены (рис. 1 и 2, группы 2 и 3). Эти различия можно объяснить тем, что на фоне действия налоксона СО сильнее выражен, протекал более остро, при этом афобазол не был способен блокировать действие антагониста опиоидов, в результате этого признаки зависимости устранялись в меньшей степени. Приведенные выше факты позволяют предполагать доминирующую роль σ_1 -рецепторов в реализации влияния афобазола на разнообразные поведенческие проявления СО морфина у крыс. В данном исследовании показано, что афобазол существенно снижал выраженность ряда признаков СО, имеющих неврогенное происхождение, таких как нарушения позы, птоз, попытки бегства, отряхивания, корчи, скрежет зубами. Эти факты сопоставимы с данными литературы, демонстрирующими нейропротекторное действие афобазола на модели фокальной ишемии го-

ловного мозга [5] и его способностью устранять неврологические нарушения на модели геморрагического инсульта [7].

В отдельных работах показано возможное участие опиоидных дельта-рецепторов в реализации состояний тревоги и страха у зависимых от опиатов животных [14] и глутаматных рецепторов ряда областей мозга (префронтальная кора, прилежащее ядро) в механизмах формирования влечения и зависимости от опиатов [13]. Можно допустить, что афобазол способен устранять отмеченные нарушения поведения у зависимых животных, оказывая опосредованное σ_1 -рецепторами влияние на указанные рецепторные структуры.

Таким образом, представленные экспериментальные данные позволяют рассматривать афобазол как возможное эффективное средство коррекции различных клинических проявлений СО морфина.

ВЫВОДЫ

1. Афобазол (5 мг/кг) при однократном введении за 30 мин до тестирования существенно снижает выраженность отдельных проявлений и величину суммарного индекса синдрома отмены морфина у крыс — на модели провокации отмены налоксоном на 49 %, на модели “спонтанного” синдрома отмены на 64 %.

2. Субхроническое введение афобазола крысам в дозе 5 мг/кг в течение 5 дней вызывает значительное уменьшение суммарного индекса синдрома отмены морфина — на 33 % в случае провокации отмены налоксоном и на 72 % на модели “спонтанного” синдрома отмены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. Г. Колик, В. Н. Жуков, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(1), 22 – 23 (2009).
2. М. А. Константинопольский, И. В. Тюрина, Л. А. Суркова, *Медико-биологические проблемы алкоголизма*, Москва (1988), сс. 56 – 60.
3. М. А. Константинопольский, С. В. Пирожков, А. Г. Соловьева и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **55**(1), 21 – 24 (1992).
4. Регистрационное удостоверение № ЛС-000861 (2005).
5. С. Б. Середенин, О. В. Поварова, О. С. Медведев и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(4), 3 – 5 (2006).
6. С. Б. Середенин, М. В. Воронин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(1), 3 – 11 (2009).
7. С. Б. Середенин, В. А. Крайнева, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**, 24 – 28 (2009).
8. Ю. П. Сиволап, *Журн. неврол. и психиат.*, **1**, 31 – 36 (2004).
9. N. Dafny, M. Brown, T. F. Burks, B. M. Rigor, *Exper. Neurology*, **64**, 216 – 224 (1979).
10. J. M. Entrena, E. J. Cobos, F. R. Nieto, et al., *Psychopharmacology (Berl.)*, **205**(1), 21 – 33 (2009).
11. T. Furuse, K. Hashimoto, *Annals Gen. Psychiatry*, **8**, 26 (2009).
12. D. Hermann, E. Klages, H. Welzel, et al., *Addict. Biol.*, **10**(2), 165 – 169 (2005).
13. P. W. Kalivas, *Nature Reviews Neuroscience*, **10**(8), 561 – 572 (2009).
14. N. R. Lenard, D. J. Daniels, P. S. Portoghese, et al., *Europ. Journal of Pharmacol.*, **566**(1 – 3), 75 – 82 (2007).

15. T. Maurice, T. P. Su, *Pharmacol. Ther.*, **124**(2), 195 – 206 (2009).
16. J. Mei, G. W. Pasternak, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **322**(3), 1278 – 1285 (2007).
17. C. P. O'Brien, *J. Clin. Psychiatry*, **66**, (suppl.2): 28 – 33 (2005).
18. S. Uzun, O. Kozumplik, M. Jakovljevic, B. Sedic, *Psychiatr. Danub.*, **22**(1), 90 – 93 (2010).
19. E. Van Dorp, A. Yassen, E. Sarton, et al., *Anesthesiology*, **105**(1), 51 – 57 (2006).

Поступила 10.03.11

AFOBAZOLE DECREASES SEVERITY OF MORPHINE WITHDRAWAL SYNDROME: EXPERIMENTAL EVIDENCE

M. A. Konstantinopol'skii and I. V. Chernyakova

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaja 8, Moscow, 125315, Russia

Effect of afobazole upon morphine dependency has been studied in rats upon the administration of incremental doses of morphine (10 – 20 mg/kg, i.p.) for 5 days. The state of dependency was evaluated by monitoring sixteen specific behavioral indices of "spontaneous" (24 h after the last morphine injection) or naloxone-induced withdrawal syndrome. The effect of afobazole (a single dose of 5 mg/kg injected before the test or subchronically for 5 days) was estimated through its influence upon the total index of withdrawal syndrome, which was calculated using the set of behavioural signs. It is established that afobazole upon either single or subchronic injections significantly decreased the expression of spontaneous morphine withdrawal syndrome. The effect was also statistically significant but less pronounced in the case of naloxone-induced withdrawal syndrome. The obtained data suggest that afobazole can be considered as potential effective drug for the correction of various clinical symptoms of morphine withdrawal syndrome.

Key words: Afobazole, morphine dependency, withdrawal syndrome, naloxone, behavioral signs