

УДК 616-092

## Механизмы контроля потребления алкоголя: экспрессия генов ноцицептин/каппа-опиоидной системы в мозге крыс

Шагиахметов Ф.Ш.<sup>1</sup>, Шамакина И.Ю.<sup>2</sup>, Давыдова Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> Национальный научный центр наркологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П.Сербского» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

119002, Москва, Малый Могильцевский пер., д. 3

*Каппа-опиоидная и ноцицептиновая системы играют важную роль в модуляции функций дофаминергической системы «наград», однако их роль в механизмах формирования аддиктивного поведения до конца не ясна. Цель исследования: сравнить уровни мРНК каппа-опиоидного (OPRK1) и ноцицептинового (OPRL1) рецепторов, а также их эндогенных лигандов – препродинарфина (PDYN) и препроноцицептина (PNOC) в мозге животных с различным уровнем предпочтения алкоголя.*

**Методы:** потребление алкоголя у половозрелых крыс-самцов Wistar регистрировали с 60-го по 85-й дни жизни в модели «свободный выбор» между водой и 10% раствором этанола. Относительный уровень мРНК в структурах мозга определяли на 86-й день жизни методом ПЦР в реальном времени. **Результаты:** Экспрессия мРНК PDYN и PNOC в стриатуме, и OPRK1 и OPRL1 в миндалине была достоверно выше у «отвергающих», т.е. контролирующих потребление алкоголя на постоянно низком уровне животных, по сравнению с «предпочитающими», увеличившими потребление алкоголя в течение эксперимента. **Заключение:** более высокий уровень экспрессии генов эндогенных опиоидов PDYN и PNOC и их рецепторов в исследованных областях мозга может обуславливать меньшую гедоническую привлекательность алкоголя, играя превентивную роль и снижая риск злоупотребления алкоголем.

**Ключевые слова:** алкоголь; зависимость; каппа-опиоидный рецептор; ноцицептиновый рецептор; динарфин; ноцицептин; дофамин; экспрессия генов; мРНК; ПЦР.

**Для цитирования:** Шагиахметов Ф.Ш., Шамакина И.Ю., Давыдова Т.В. Механизмы контроля потребления алкоголя: экспрессия генов ноцицептин/каппа-опиоидной системы в мозге крыс. Патогенез. 2018; 16(4): 112-114

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2018.04.112-114

**Для корреспонденции:** Шагиахметов Фарид Шамилевич, e-mail: f.shagiakhmetov@gmail.com

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 26.09.2018

## Mechanisms underlying controlled alcohol consumption: nociceptin/kappa-opioid related gene expression in the rat brain

Shagiakhmetov F.S.<sup>1</sup>, Shamakina I.Y.<sup>2</sup>, Davydova T.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology,

Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>2</sup> National Center of Narcology, Branch of the V.P. Serbsky Research Centre for Psychiatry and Narcology,

Malyj Mogiltsevskiy Pereulok 3, Moscow 119002, Russian Federation

*Kappa-opioidergic and nociceptinergic systems both inhibit the mesolimbic reward circuitry but their role in mechanisms of addictive behavior still is not well understood. Objective of the study was to compare expression of kappa opioid and nociceptin receptor genes (OPRK1 and OPRL1, respectively) and their endogenous ligands, preprodynorphin (PDYN) and prepronociceptin (PNOC), in the mesolimbic areas of rats with high and low voluntary alcohol consumption. Methods. Individually housed male Wistar rats were given a 25-day-long two-bottle (10% ethanol/water) free choice trial. mRNA levels were measured using the real-time polymerase chain reaction (qPCR).*

**Results.** Alcohol preferring rats progressively increased their ethanol consumption over the course of experiment while non-preferring, low-drinking animals controlled their alcohol intake near the baseline level. Alcohol non-preferring rats were identified to have significantly higher levels of PDYN and PNOC mRNA in the striatum and OPRK1 and OPRL1 mRNA in the amygdala compared to ethanol preferring animals. **Conclusion.** We suggested that higher levels of the “anti-reward opioid system” gene expression in mesolimbic structures may blunt the hedonic response to alcohol and thus preclude the increase in alcohol preference and uncontrolled excessive alcohol intake.

**Key words:** alcohol; addiction; dynorphin; kappa opioid receptor; nociceptin; dopamine; gene expression; mRNA; PCR.

**For citation:** Shagiakhmetov F.S., Shamakina I.Y., Davydova T.V. [Mechanisms underlying controlled alcohol consumption: nociceptin/kappa-opioid related gene expression in the rat brain]. Patogenez [Pathogenesis]. 2018; 16(4): 112-114 (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2018.04.112-114

**For correspondence:** Shagiakhmetov Farid Shamilevich, e-mail: f.shagiakhmetov@gmail.com

**Funding.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

**Received:** 26.09.2018

## Введение

Роль каппа-опиоидной и ноцицептиновой систем мозга в патогенезе алкогольной зависимости на сегодняшний день остается недостаточно изученной [1]. Целью настоящей работы был анализ уровня экспрессии генов, кодирующих каппа-опиоидные и ноцицептиновые рецепторы, а также их эндогенные лиганды, в мезолимбических структурах мозга крыс с различным уровнем предпочтения этанола.

## Материалы и методы исследования

В работе использовались половозрелые крысы-самцы Wistar. Протокол эксперимента удовлетворял этическим принципам проведения биомедицинских исследований с участием животных. С 60-го и по 85-й дни жизни животные находились в условиях «свободного выбора» между поилками, содержащими 10% алкоголь и воду. Уровень предпочтения алкоголя рассчитывали как отношение массы потребляемого раствора этанола к массе всей потребляемой жидкости (в %). На 25-й день тестирования животные были декапитуированы, структуры мозга хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Экспрессию мРНК OPRK1, OPRL1, PDYN и PNOC исследовали в структурах мезолимбической системы – миндалине, стриатуме и среднем мозге. Уровень мРНК определяли методом ПЦР после обратной транскрипции в режиме реального времени (RT-PCR) на амплификаторе iQ5 (BioRad, Германия) по отношению к экспрессии мРНК  $\beta$ -актина. Уровень экспрессии мРНК в группах сравнивали методом « $\Delta\Delta C_T$ » [2]. Статистическая обработка данных проведена при помощи пакета программ Statistica 6.0. Для проверки нормальности распределения количественных данных использовали критерий Колмогорова-Смирнова. Результаты представлены в виде значений среднего  $\pm$  ошибка среднего. Для проверки достоверности различий в потреблении этанола был использован дисперсионный анализ (two-way ANOVA) для повторных измерений с последующим апостериорным (*post-hoc*) анализом. Для оценки межгрупповых различий уровня мРНК использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты исследования и обсуждение

Показатели начального среднесуточного (дни 1-7) и конечного среднесуточного (дни 18-25) предпочтения алкоголя составили:  $23,4 \pm 4,0\%$  и  $37,0 \pm 2,0\%$  – в группе «предпочитающих» ( $n = 10$ ), и  $19,0 \pm 2,0\%$  и  $21,0 \pm 3,0\%$  – в группе «отвергающих» ( $n = 10$ ) алкоголь животных.

Уровень экспрессии изучаемых генов в среднем мозге не различался в группах животных. В стриатуме «отвергающих» и «предпочитающих» алкоголь крыс уровень мРНК PDYN составил соответственно  $1,03 \pm 0,11$  и  $0,38 \pm 0,07$  ( $p < 0,05$ ), а гена PNOC –  $1,09 \pm 0,24$  и  $0,69 \pm 0,11$  ( $p < 0,05$ ). Уровень мРНК OPRK1 составил  $1,03 \pm 0,13$  и  $0,82 \pm 0,1$ , а OPRL1 –  $1,13 \pm 0,31$  и  $0,9 \pm 0,37$  соответственно. В миндалине «отвергающих» по сравне-

нию с «предпочитающими» алкоголь животными, уровень мРНК OPRK1, OPRL1 был достоверно выше и составил соответственно OPRK1:  $1,04 \pm 0,14$  vs  $0,30 \pm 0,07$  ( $p < 0,05$ ); OPRL1:  $1,05 \pm 0,17$  vs  $0,56 \pm 0,17$  ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в настоящем исследовании были обнаружены однонаправленные изменения экспрессии генов каппа-опиоидной и ноцицептиновой систем мозга у животных с различными типами аддиктивного поведения. А именно: животные, имеющие свободный доступ к алкоголю, но контролирующее потребление на постоянно низком уровне, имели более высокий уровень мРНК эндогенных лигандов каппа- и ноцицептинового рецепторов PDYN и PNOC в стриатуме, и самих рецепторов OPRK1 и OPRL1 в миндалине – по сравнению с животными, увеличившими потребление алкоголя в течение эксперимента.

Как известно, каппа-опиоидный и ноцицептиновый рецепторы имеют тесное эволюционное родство и образовались из единого гена предшественника [3]. Эти рецепторы схожи в функциональном плане – их активация снижает тонус мезолимбической дофаминергической системы [4]. Полученные данные согласуются с результатами исследований, показавших снижение потребления алкоголя под действием селективного агонистов каппа опиоидных [5] и ноцицептиновых [6] рецепторов.

## Заключение

Полученные данные о более высоком уровне экспрессии генов OPRK1, OPRL1, PDYN и PNOC в стриатуме и миндалине мозга животных с постоянно низким уровнем предпочтения алкоголя могут свидетельствовать о более высокой эффективности отрицательной обратной связи в мезостриарном и мезоамигдаларном путях и, как следствие, о менее выраженном положительном подкреплении, возникающем в ответ на потребление алкоголя.

## References

1. Shagiakhmetov F., Proskuryakova T., Shamakina I. The dynorphin/kappa-opioid system of the brain as a promising target for therapy for dependence on psychoactive substances. *Neurochem. J.* 2015; 32(4): 285-294. DOI: 10.1134/S1819712415040157
2. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001; 25(4): 402-408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
3. Larhammar D., Dreborg S., Larsson T.A., Sundström G. Early duplications of opioid receptor and Peptide genes in vertebrate evolution. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009; 1163: 451-453. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2008.03672.x
4. Heinricher M.M. Orphanin FQ/nociceptin: from neural circuitry to behavior. *Life Sci.* 2003; 73(6): 813-822.
5. Logrip M.L., Janak P.H., Ron D. Blockade of ethanol reward by the kappa opioid receptor agonist U50,488H. *Alcohol.* 2009; 43(5): 359-365. DOI: 10.1016/j.alcohol.2009.05.001
6. Aziz A.M., Brothers S., Sartor G., Holm L., Heilig M., Wahlestedt C., Thorsell A. The nociceptin/orphanin FQ receptor agonist SR-8993 as a candidate therapeutic for alcohol use disorders: validation in rat models. *Psychopharmacology (Berl).* 2016; 233(19-20): 3553-3563. DOI: 10.1007/s00213-016-4385-8

---

**Сведения об авторах:**

*Шагиахметов Фарид Шамилович – соискатель группы общей нейроиммунопатологии лаборатории общей и перинатальной нейроиммунопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»*

*Шамакина Инна Юрьевна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией психофармакологии Национального научного центра наркологии – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П.Сербского» Министерства здравоохранения Российской Федерации*

*Давыдова Татьяна Викторовна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник группы общей нейроиммунопатологии лаборатории общей и перинатальной нейроиммунопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»*