

Статья принята в печать в журнал «Обзоры клинической фармакологии и лекарственной терапии» 20 ноября 2021 года, главным редактором, профессором, д.м.н. П.Д. Шабановым.

Моделирование синдрома отмены у зебраданио

2021 г. К.Н. Забегалов^{1,2,3}, Д.С. Галстян^{1,2}, Т.О. Колесникова³,

Ю.М. Косицын¹, М.А. Губайдуллина³, Г.О. Маслов^{3,5}

К.А. Демин^{1,3,4}, С.Л. Хацко⁵, А.В. Калуев^{1,3,4,5,6,7,8*}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия

⁴Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Россия

⁵Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

⁶Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁷Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

⁸Московский физико-технический институт, Москва, Россия

* avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию хх.хх.2021 г.

После доработки хх.хх.2021 г.

Принята к публикации хх.хх.2021 г.

Аннотация.

Центральным патологическим звеном аддиктивных состояний принято считать синдром отмены приёма препарата. Обычно тяжёлые проявления синдрома отмены связаны с такими явлениями, как снижение чувствительности рецепторов постсинаптической мембраны к нейромедиаторам (десенсibilизация), снижение плотности рецепторов и нарушение транспорта нейромедиаторов, ребаунд-эффект (rebound effect), который представляет собой комплекс симптомов, обратных действию принимаемого препарата и др. Зебраданио представляет собой эффективный инструмент в исследованиях классического синдрома отмены и частных случаев отмены лекарств определённого класса.

Abstract.

The central pathological link in addictive states is the drug withdrawal syndrome. Usually, severe manifestations of the withdrawal syndrome are associated with reduced sensitivity of postsynaptic receptors (desensitization), lower density of receptors and impaired transport of

neurotransmitters, and the rebound effect. Zebrafish is an effective tool in the study of classic withdrawal symptoms and special cases of withdrawal of other selected psychoactive drugs.

Ключевые слова: зебраданио, синдром отмены, аддикция, морфин, этанол.

Keywords: zebrafish, withdrawal syndrome, addiction, morphine, ethanol.

Введение: Моделирование синдрома отмены у зебраданио

Центральным патологическим звеном аддиктивных состояний принято считать синдром отмены (withdrawal) приёма препарата (1). Отмена – одна из самых насущных социальных проблем во всём мире, а соответственно один из наиболее изученных феноменов с точки зрения физиологии и медицины, обусловленный такими симптомами, как тремор, раздражительность, тревога, нервозность, нарушение походки и равновесия, возможное развитие делирия, галлюцинаций и судорог (2, 3). Одними из самых частых по статистике являются расстройства, связанные с зависимостью от употребления алкоголь- (2) и никотин-содержащих веществ (1). Другими веществами, отмена которых вызывает набор характерных симптомов, могут быть опиаты, успокоительные средства, снотворные, противотревожные препараты (анксиолитики), стимуляторы, каннабиноиды и алкалоиды (кофеин, кокаин) (4).

Поскольку симптомы отмены являются неотъемлемой частью общего патогенеза аддиктивных расстройств, то им отведено собственное место в морфофункциональном субстрате, лежащем в основе аддикций. Учитывая высокую вовлеченность системы подкрепления, стресса и негативного аффекта в развитие синдрома отмены, нейробиологический компонент включает центральную миндалину, ядро ложа конечной полоски, раковину прилежащего ядра, ветральную область покрышки (мезолимбический компонент), гиппокамп, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, структуры ствола мозга (голубое пятно), функционирующие между собой, главным образом, посредством норадреналина, дофамина, кортикотропин-релизинг фактора, динорфина и вспомогательных мессенджеров, таких как субстанция P, вазопрессин, нейропептид Y, эндоканнабиноиды и ноцицептин (5). Выделяют несколько классических типов синдрома отмены, в т.ч. таких соединений, как алкоголь (6), опиодные наркотики (героин) (7), никотин (табак и продукты его переработки) (8), кофеин (9), каннабиноиды (10).

Обычно тяжёлые проявления синдрома отмены связаны с такими синаптическими явлениями, как снижение чувствительности рецепторов постсинаптической мембраны к нейромедиаторам (десенсбилизация), снижение плотности рецепторов и нарушение транспорта нейромедиаторов в пресинаптические везикулы с дальнейшими отклонениями экзоцитоза везикул, приводящие к общей синаптической депрессии и

снижению синаптической пластичности (4, 11, 12). Важным итогом не только синаптических изменений, но и других функциональных изменений в ЦНС, связанных с синдромом отмены, является так называемый ребаунд-эффект (rebound effect), который представляет собой комплекс симптомов, обратных действию принимаемого препарата (13).

Симптомы отмены могут проявляться не обязательно в результате резкой отмены приёма препарата после однократного (single withdrawal) или хронического употребления. Существует также феномен киндлинга (kindling), представленный серией кратковременных предъявлений подпорогового (не вызывающего изменений) химического стимула (или его отмены), в результате которой развиваются долговременные изменения, как на нейробиологическом, так и на поведенческом уровнях (14, 15). В клинической практике киндлинг может быть вызван регулярными пропусками приёма лекарственного препарата (повторяющейся отменой, repeated withdrawal) или же хроническим приёмом лекарства с аддиктивным потенциалом в малых подпороговых дозах. К примеру, при повторной отмене алкоголя происходят стойкие изменения, такие как снижение ГАМК-сигналинга через ГАМК_A-рецепторы, повышение функции NMDA-рецептора, увеличение сигналинга через потенциал-зависимые кальциевые каналы, стимулирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, снижение дофаминовой функции и изменение субъективного восприятия эффектов алкоголя (14).

В моделях опиатного синдрома отмены на грызунах хорошо прослеживаются такие клинические симптомы, как усиление отчаяния, снижение социального поведения, повышение груминга, ангедония, повышенное предпочтение к исследуемому веществу, чем к пищевому стимулу, снижение пространственной памяти (16). Особое место в патогенезе синдрома отмены занимают такие симптомы, как поведение поиска препарата (drug-seeking behavior) (17-20) и тревожности, являющейся универсальным маркером для любого классического синдрома отмены (21, 22). Поведение поиска препарата было наглядно продемонстрировано в моделях подкрепления и оперантного научения на основе опиоидов, кокаина, никотина, алкоголя и других веществ на грызунах (17-20). Среди множества тестов, с помощью которых можно оценить поведенческие маркеры тревожности в моделях синдрома отмены на грызунах, особым образом выделяются тест открытого поля (ТОП), чёрно-белая камера (ЧБК), приподнятый крестообразный лабиринт, закапывание шариков, конфликтный тест Фогеля, обусловленное неприятие/предпочтение места, обусловленное

неприятие/предпочтение вкусового стимула, вынужденное плавание и ряд социальных тестов (23).

Учитывая весьма высокую филогенетическую разницу между грызунами и человеком (а также остальными приматами), экспериментальные модели синдрома отмены на мышах, крысах и прочих представителях отряда доказывают некоторую степень биологической консервативности патогенеза данного состояния ЦНС. Таким образом, немало экспериментов в этой области также было проведено и проводится по сей день на представителях ещё более древнего таксона, костистых рыбах, особенно зебраданио (24).

Моделирование синдрома отмена на зебраданио достаточно простая задача, поскольку способ введения препарата зачастую представляет собой простое растворение его в воде для дальнейшего системного проникновения в организм рыбы через жабры (25). Таким образом, на зебраданио предпринимаются попытки смоделировать синдром отмены этанола, морфина, кофеина и диазепама (Табл. 1) на основе поведенческих маркеров, оцениваемых в классической парадигме, тесте незнакомого аквариума (ТНА), и анализа содержания кортизола во всём организме зебраданио. В этой связи единичная отмена диазепама вызывает умеренный анксиогенез и небольшое повышение общего уровня кортизола у экспериментальных животных, отмена этанола и морфина стимулирует лишь значительное увеличение уровня кортизола без видимых поведенческих изменений, тогда как кофеин не показывает потенциала к возникновению синдрома отмены на зебраданио, в отличие от человека и грызунов. Однако повторяющаяся отмена (киндлинг) двух классических аддиктивных препаратов (морфина и этанола) вызывает значительные поведенческие изменения в ТНА (26).

Таблица 1. Потенциал препаратов к формированию синдрома отмены у зебраданио

Table 1. Ability of selected drugs to induce withdrawal syndrome in zebrafish

Вещество	Наличие синдрома отмены	Ссылка
Этанол	+	(26)
Морфин	+	(26)
Митрагинин	Купирует синдром отмены, ингибирует экспрессию ключевых генов, вызванной отменой	(27)
Кофеин	-	(26)
Кокаин	+	(28)
Никотин	+	(29)
Диазепам	+	(26)

Также тревожное поведение также наблюдается в экспериментах с никотином и кокаином на зебраданио (28, 29). Важно также отметить, что модели синдрома отмены на зебраданио в совокупности с легко осуществляемыми поведенческими тестами служат отличной платформой для разработки лекарственных препаратов, купирующих синдром отмены. Так, в экспериментах по морфиновой отмене на зебраданио, высокий терапевтический потенциал показывает индольный алкалоид, митрагинин, также относящийся к наркотическим средствам. Однако, помимо снижения тревожных маркеров, таких как число эрратических (хаотичных) движений, слабая исследовательская активность, также нормализуется общий уровень кортизола и снижается экспрессия кортикотропин релизинг-фактора и продинорфина (27).

Кроме классического синдрома отмены, существует отдельный комплекс симптомов, который связан с отменой антидепрессантов, особенно из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС) (30). Характерными проявлениями СОА (синдрома отмены антидепрессантов) являются гриппоподобные симптомы, нарушение цикла сна-бодрствования, тошнота, вестибулярные нарушения, расстройство восприятия и общее с классическим синдромом отмены перевозбуждение, связанное с повышенной тревогой (31). Общим между двумя разновидностями отмены также является вышеупомянутый ребаунд-эффект, однако существенным отличием СОА от классического аналога следует считать характерное отсутствие поведения поиска препарата, поскольку отмена лечения антидепрессантами (особенно СИОЗС), как правило, не затрагивает дофаминовую систему вознаграждения (30, 31). И хотя на данный момент очень мало накоплено экспериментальных данных по СОА на зебраданио, широко используемые антидепрессанты вызывают на рыбах схожие эффекты с человеком (32). Поэтому зебраданио определённо является перспективным организмом для моделирования СОА.

В целом, зебраданио представляет собой эффективный инструмент в исследованиях классического синдрома отмены и частных случаев отмены лекарств определённого класса (например, СОА). Тем не менее, сравнивая с нейробиологическим субстратом синдрома отмены у млекопитающих, у рыб отсутствует ряд важных структур, таких как неокортекс, миндалина, гиппокамп, прилежащее ядро, стриатум, бледный шар и т.д. Однако, гомологичные нейрохимические и эндокринные маркеры, а также схожие синаптические явления и базовая нейроанатомия (мезолимбическая система (33)) аддиктивных расстройств во многом перекрывают ряд недостатков зебраданио.

Благодарности: Работа поддержана Госзаданием (проект 73026081) Санкт-Петербургскому Государственному Университету.

Литература

1. Piper ME. Withdrawal: Expanding a Key Addiction Construct. *Nicotine Tob Res.* 2015;17(12):1405-15.
2. Jesse S, Bråthen G, Ferrara M, Keindl M, Ben-Menachem E, Tanasescu R, et al. Alcohol withdrawal syndrome: mechanisms, manifestations, and management. *Acta Neurologica Scandinavica.* 2017;135(1):4-16.
3. Sachdeva A, Choudhary M, Chandra M. Alcohol Withdrawal Syndrome: Benzodiazepines and Beyond. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(9):VE01-VE7.
4. Lerner A, Klein M. Dependence, withdrawal and rebound of CNS drugs: an update and regulatory considerations for new drugs development. *Brain Communications.* 2019;1(1).
5. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35(1):217-38.
6. Littleton J. Neurochemical mechanisms underlying alcohol withdrawal. *Alcohol Health Res World.* 1998;22(1):13-24.
7. Pergolizzi Jr JV, Raffa RB, Rosenblatt MH. Opioid withdrawal symptoms, a consequence of chronic opioid use and opioid use disorder: Current understanding and approaches to management. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics.* 2020;45(5):892-903.
8. Wills L, Kenny PJ. Addiction-related neuroadaptations following chronic nicotine exposure. *Journal of Neurochemistry.* 2021;157(5):1652-73.
9. Meredith SE, Juliano LM, Hughes JR, Griffiths RR. Caffeine Use Disorder: A Comprehensive Review and Research Agenda. *J Caffeine Res.* 2013;3(3):114-30.
10. Bonnet U, Preuss UW. The cannabis withdrawal syndrome: current insights. *Subst Abuse Rehabil.* 2017;8:9-37.
11. Russo SJ, Dietz DM, Dumitriu D, Morrison JH, Malenka RC, Nestler EJ. The addicted synapse: mechanisms of synaptic and structural plasticity in nucleus accumbens. *Trends Neurosci.* 2010;33(6):267-76.
12. Sulzer D. How Addictive Drugs Disrupt Presynaptic Dopamine Neurotransmission. *Neuron.* 2011;69(4):628-49.
13. Teixeira MZ. Rebound effect of modern drugs: serious adverse event unknown by health professionals. *Revista da Associacao Medica Brasileira (1992).* 2013;59(6):629-38.
14. Becker HC. Kindling in alcohol withdrawal. *Alcohol Health Res World.* 1998;22(1):25-33.
15. Schubert M, Siegmund H, Pape H-C, Albrecht D. Kindling-induced changes in plasticity of the rat amygdala and hippocampus. *Learn Mem.* 2005;12(5):520-6.
16. Welsch L, Bailly J, Darcq E, Kieffer BL. The Negative Affect of Protracted Opioid Abstinence: Progress and Perspectives From Rodent Models. *Biological Psychiatry.* 2020;87(1):54-63.
17. Buccafusco JJ, Shuster L. *Frontiers in Neuroscience* Contextually Induced Drug Seeking During Protracted Abstinence in Rats. In: Buccafusco JJ, editor. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience.* Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis
Copyright © 2009, Taylor & Francis Group, LLC.; 2009.

18. Kuhn BN, Kalivas PW, Bobadilla A-C. Understanding Addiction Using Animal Models. *Front Behav Neurosci.* 2019;13(262).
19. Markou A, Li J, Tse K, Li X. Cue-induced nicotine-seeking behavior after withdrawal with or without extinction in rats. *Addict Biol.* 2018;23(1):111-9.
20. Shaham Y, Rajabi H, Stewart J. Relapse to heroin-seeking in rats under opioid maintenance: the effects of stress, heroin priming, and withdrawal. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 1996;16(5):1957-63.
21. Perez EE, De Biasi M. Assessment of affective and somatic signs of ethanol withdrawal in C57BL/6J mice using a short-term ethanol treatment. *Alcohol.* 2015;49(3):237-43.
22. Valverde O, Mantamadiotis T, Torrecilla M, Ugedo L, Pineda J, Bleckmann S, et al. Modulation of anxiety-like behavior and morphine dependence in CREB-deficient mice. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29(6):1122-33.
23. Sartori SB, Landgraf R, Singewald N. The clinical implications of mouse models of enhanced anxiety. *Future Neurol.* 2011;6(4):531-71.
24. Stewart AM, Braubach O, Spitsbergen J, Gerlai R, Kalueff AV. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. *Trends Neurosci.* 2014;37(5):264-78.
25. Cassar S, Adatto I, Freeman JL, Gamse JT, Iturria I, Lawrence C, et al. Use of Zebrafish in Drug Discovery Toxicology. *Chemical Research in Toxicology.* 2020;33(1):95-118.
26. Cachat J, Canavello P, Elegante M, Bartels B, Hart P, Bergner C, et al. Modeling withdrawal syndrome in zebrafish. *Behavioural brain research.* 2010;208(2):371-6.
27. Khor B-S, Jamil MFA, Adenan MI, Shu-Chien AC. Mitragynine attenuates withdrawal syndrome in morphine-withdrawn zebrafish. *PloS one.* 2011;6(12):e28340-e.
28. López-Patiño MA, Yu L, Cabral H, Zhdanova IV. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish. *Physiology & behavior.* 2008;93(1-2):160-71.
29. Ponzoni L, Melzi G, Marabini L, Martini A, Petrillo G, Teh M-T, et al. Conservation of mechanisms regulating emotional-like responses on spontaneous nicotine withdrawal in zebrafish and mammals. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 2021;111:110334.
30. Renoir T. Selective serotonin reuptake inhibitor antidepressant treatment discontinuation syndrome: a review of the clinical evidence and the possible mechanisms involved. *Front Pharmacol.* 2013;4:45-.
31. Bhat V, Kennedy SH. Recognition and management of antidepressant discontinuation syndrome. *J Psychiatry Neurosci.* 2017;42(4):E7-E8.
32. Demin KA, Kolesnikova TO, Khatsko SL, Meshalkina DA, Efimova EV, Morzherin YY, et al. Acute effects of amitriptyline on adult zebrafish: Potential relevance to antidepressant drug screening and modeling human toxidromes. *Neurotoxicology and Teratology.* 2017;62:27-33.
33. Serpa BJ. Modeling and Mapping Addiction in the Zebrafish, *Danio rerio* (Master of Science Thesis) [Master Thesis]. Kennesaw, Georgia, United States: Kennesaw State University; 2018.