



ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Методы поиска и изучения молекулярных механизмов действия веществ с обезболивающей активностью

Биологическая сущность боли

Боль - это неприятное сенсорное и эмоциональное состояние, обусловленное действительным или возможным повреждающим воздействием на ткани (Mersky et al., 1979)

Двойственный характер биологической сущности боли:

- **Физиологическая боль не является патологическим процессом до тех пор, пока выполняет сигнальную функцию и запускает рефлекторные реакции, направленные на ограничение повреждения тканей**
- **Длительно существующая боль, после того как физиологическая функция исчерпывается, превращается в повреждающий фактор, становится патологической и по существу - самостоятельной болезнью**

Классификация болевых синдромов

- **Ноцицептивные (соматогенные)**
- **Нейрогенные**
- **Психогенные**

Ноцицептивные болевые синдромы возникают вследствие активации ноцицепторов при травме, воспалении, ишемии, растяжении тканей

В зависимости от локализации повреждения **ноцицептивная боль** разделяется на:

- соматическую поверхностную (повреждение кожных покровов)
- соматическую глубокую (повреждение костно-мышечной системы)
- висцеральную (повреждение внутренних органов)

Нейрогенные болевые синдромы развиваются при повреждении центральных (центральная боль) или периферических (нейропатическая боль) структур, связанных с проведением ноцицептивного сигнала (каузалгия, фантомные, таламические боли, инфаркт миокарда, множественный склероз, невралгия, механическое повреждение нервов, спондилоартрит, диабетическая нейропатия, злокачественная опухоль, herpes zoster и др.)

Психогенные боли возникают в отсутствие какого-либо органического поражения, которое позволило бы объяснить выраженность боли и связанные с ней функциональные нарушения

Классификация болевых синдромов



НОЦИЦЕПТИВНАЯ БОЛЬ

- Очаг повреждения или патологический процесс в тканях или органах, сопровождается нарушением клеточных мембран и выделением периферических медиаторов боли и воспаления (простагландины, кининоподобные пептиды и другие БАВ).
- Терапия соматогенной боли включает:
- устранение источника боли и восстановление поврежденных тканей
- ограничение поступления ноцицептивной импульсации из зоны повреждения (*местные анестетики, бензодиазепины, антиконвульсанты - карбамазепин, ламотриджин, вальпроаты, антагонисты NMDA-рецепторов*) и вышележащих структур ЦНС (*мидокалм*)
- подавление синтеза и секреции альгогенов (*НПВС*)
- снижение чувствительности ноцицепторов (*агонисты α_2 АР*)
- активацию структур антиноцицепции (*опиоиды, антидепрессанты*)
- устранение локусов болезненного мышечного напряжения (*миорелаксанты, бензодиазепины, ботулинический токсин типа А*)
- воздействие на психологические (и одновременно на нейрохимические) компоненты боли с применением психотропных фармакологических препаратов (*антидепрессанты, транквилизаторы, нейролептики*).

НЕЙРОПАТИЧЕСКАЯ БОЛЬ

Патогенез:

- **формирование участков пейсмеккерной активности** (*нарушение функционирования нейрональных ионных каналов, избыточного поступления ионов Ca, повышенная секреция болевых нейротрансмиттеров (глутамат, оксид азота, нейрокинин, др.)*)
- **растормаживание нейронов**
- **возникновение перекрестного возбуждения в нервных волокнах и в нейронах дорсальных ганглиев**
- **изменение нейрохимического фенотипа ноцицепторов** (*сенситизация ноцицепторов, снижение порога их активации или сенсibilизация первично нечувствительных, так называемых «немых» ноцицепторов*)
- **разрастание периферических нервов и появление в них механочувствительности**
- *экспрессия чувствительными нейронами α -адренорецепторов, повышение их чувствительности к адреналину (симпатико-опосредованная боль)*
- **Терапия нейрогенных болевых синдромов включает:**
- *трициклические антидепрессанты (активация антиноцицептивных систем, снижение пейсмеккерной активности)*
- *антиконвульсанты (блокаторы потенциал-зависимых Na^+ -каналов и возбуждающих АК)*
- *анксиолитики (препараты усиливающие ГАМК-ергическое торможение)*
- *местные анестетики (блокаторы Na^+ -каналов)*

Классификация боли по продолжительности

Острая боль (симптом)

связана с болевыми раздражениями поверхностных или глубоких тканей и внутренних органов или нарушением функции гладкой мускулатуры внутренних органов без повреждения тканей.

Неврологические причины:

- травматические
- инфекционные
- дисметаболические
- воспалительные

Хроническая боль (самостоятельная болезнь)

«...боль, которая продолжается сверх нормального периода заживления» (несколько недель или больше шести месяцев) как результат дисфункции нормального ноцицептивного канала, в частности нарушения работы SG (желатинозной субстанции)

- **гипералгезия** - боль, возникающая под воздействием мягких повреждающих стимулов
- **аллодиния** - боль, возникающая под воздействием стимулов не повреждающей интенсивности
- **спонтанные болевые спазмы** - боли, возникающие при отсутствии инициирующих стимулов

Неврологические причины:

- патологический процесс в соматической сфере
- первичная или вторичная дисфункция периферической или центральной нервной системы
- психогенные факторы

Ноцицептивная (болевая) система

- Боль представляет собой достаточно сложную комбинацию сенсорной, моторной и эмоциональной систем, и не существует какого-то, единственного поведенческого теста, позволяющего в достаточной мере интерпретировать боль.
- **Общепринятые доклинические модели для изучения боли и поведенческих реакций при использовании:**
 - механических
 - тепловых
 - электрических
 - химических стимулов

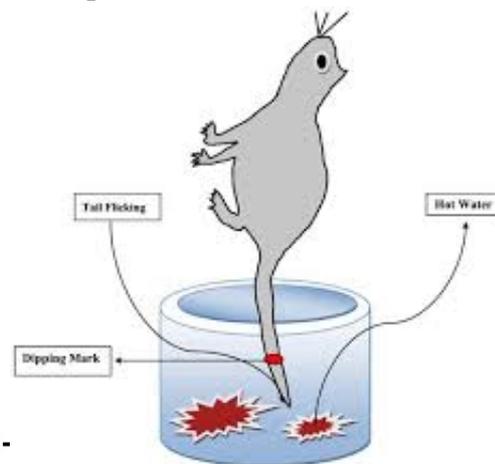
Методы оценки термической соматической боли

- **Тест отдергивания хвоста (tail-flick)**
- **Метод основан на спинальном флексорном рефлексе в ответ на прогрессивно увеличивающееся воздействие теплового излучения на кожную поверхность.**
- **Последовательно активируются терморецепторы, С-волокна полимодальных ноцицепторов, А δ -волокна полимодальных ноцицепторов, полимодальные ноцицепторы, высокопороговые механорецепторы**



- **Иммерсионный тест (tail immersion)**

Этот метод отличается от теста отдергивания хвоста при тепловом излучении тем, что площадь раздражения больше и нагревание кожной поверхности происходит быстрее.



Ugo Basile Tail-

Автоматизированная тест-система для изучения температурной чувствительности (крысы, мыши)

Методы оценки термической соматической боли

- **Тест горячая пластина (hot plate)**
Тест горячей пластины основан на поведенческих реакциях, контролируемых супраспинальными структурами, в ответ на болевое воздействие. Регистрируется время с момента помещения на горячую поверхность до появления поведенческого ответа на ноцицептивную стимуляцию (облизывания задних лапы, прыжки, отдергивание задней лапы)

Ugo Basile Hot/Cold Plate

Автоматизированная тест-система для изучения температурной чувствительности у мышей и крыс



Методы оценки термической соматической боли

■ Тест термического раздражения лап Подошвенный тест (Hargreaves test)

Модификация теста тепловой иммерсии, в которой повреждающее воздействие наносят на лапу с помощью сфокусированного луча инфракрасного света на подошву лапы. Луч света сфокусирован на лапе животного, находящегося в условиях свободного поведения.

Dynamic Plantar Aesthesiometer,
(Ugo Basile)



Оценка анальгетического действия веществ

- Об уровне анальгетического действия судят по увеличению показателя ЛП реакции по сравнению с таковым в контрольной группе животных
- ЭД₅₀ анальгетической активности веществ определяются на основе кривой зависимости доза-эффект
- МВЭ % (максимально возможный эффект)
= $100 \times [(\text{ЛП ноцицептивной реакции в опытной группе} - \text{ЛП в контрольной группе}) / (\text{max время экспозиции} 20 \text{ сек} - \text{ЛП в контрольной группе})]$

Методы оценки механической соматической боли

- При оценке соматической механической боли наиболее часто сдавливающее раздражение наносят на хвост или лапу.
- Используют тесты с постоянным давлением и постепенным увеличением давления
- Тест механического раздражения основания хвоста (Haffner's tail clip test)

Тест зажима основания хвоста (дозированное механическое сдавливание основания хвоста) основан на раздражении низкочувствительных механорецепторов и ноцицепторов рецептивного поля врожденного рефлекса скручивания.

В реализацию ноцицептивного ответа вовлекаются спинальные структуры, ствол мозга.

Методы оценки механической соматической боли

■ Тест механического раздражения лапы/хвоста (Randall-Selitto)

Лапу, реже хвост животного помещают между плоской поверхностью и тупым предметом, который соединен с системой, постепенно увеличивающей давление. При увеличении давления на конечность последовательно возникают:

- спинальный рефлекс отдергивания конечности
 - комплекс супраспинальных двигательных реакций животного, направленных на освобождение конечности
 - вокализация
- Регистрируется порог возникновения вокализации (вес в граммах).

Анальгезиметр
Randall-Selitto, Ugo
Basile, Italy)



Слабая чувствительность метода требует использования воздействия высокой интенсивности. С целью повышения чувствительности при механическом раздражении используют методики механического раздражения воспаленной конечности и механической гипералгезии.

Методы химического раздражения

Химические тесты основаны на изменении чувствительности С-полимодалных ноцицепторов в присутствии медиаторов воспаления или при изменении pH

- Методы оценки соматической боли, вызванной альгогенами (раздражающие вещества вводятся):
 - в суставную сумку (модель артрита)
 - внутримышечно (модель миалгии)
 - в вибриссы (модель орофасциальной тригеминальной боли)

- Методы оценки висцеральной боли, вызванной альгогенами (раздражающие вещества вводятся):
 - внутрибрюшинно (модель перитовисцеральной боли)
 - в мочевой пузырь, матку, прямую кишку (модели висцеральной боли)

Методы оценки соматической боли, вызванной альгогенами

- Воспаление производят субплантарным введением раствора формалина (2-5%), каррагинина (1%), капсаицина (0,1–0,2%), серотонина (0,1%), глутамата (0,5 М), пивных дрожжей (10% суспензия), адьюванта Фрейнда (5 мг/мл БЦЖ в вазелиновом масле вводится за 24 часа)
 - формалин имеет относительно короткую продолжительность действия, приблизительно около 1 часа, эффекты ограничиваются вовлеченной областью (методы оценки острой боли)
 - адьювант Фрейнда, каррагинин вызывают постоянную персистирующую боль и гипералгезию, что характерно для постоперативной боли (методы оценки хронической боли)

■ **Формалиновый тест**

Острую воспалительную реакцию вызывают субплантарным (под подошвенный апоневроз) или подкожным введением 2–5% раствора формалина с регистрацией числа болевых реакций (постукивание лапой об пол, грызение лапы и т.д.) в первые 5–10 мин - I фаза и с 30 по 50 минуту - II фаза.

- **Тест имитирует реакции, развивающиеся при операционных кожных разрезах и позволяет оценить влияние новых веществ на**
 - **острую боль (I фаза), опосредованную прямой стимуляцией афферентных С/Аδ-волокон**
 - **персистирующую, тоническую боль (II фаза), являющуюся результатом развития воспаления в периферических тканях, изменений функции нейронов задних рогов спинного мозга, где осуществляется первое переключение сенсорных волокон на вставочные нейроны и продукция первичной афферентной ноцицептивной информации**
- **Опиоидные анальгетики блокируют обе фазы, НПВС подавляют только вторую фазу, а местные анестетики — только первую. Формалиновый тест имеет достаточно высокую прогностическую значимость.**
- **Сходные поведенческие реакции можно регистрировать при введении в качестве раздражающего агента капсаицина (0,1%), серотонина (0,1%) или глутамата (0,5 М).**

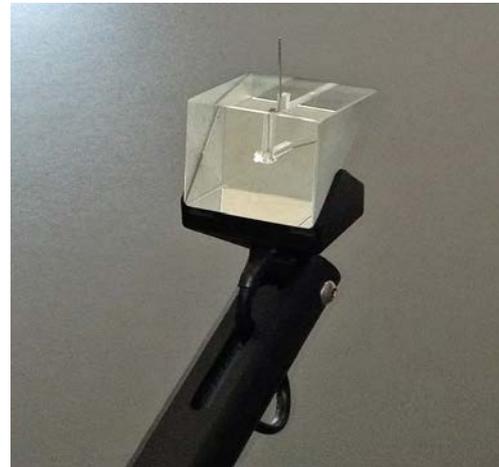
Методы оценки соматической боли, вызванной альгогенами

- **Тест механической гиперальгезии при воспалении**
 - Болевую чувствительность, вызванную механическим раздражением, оценивают с помощью анальгезиметра, обеспечивает плавное увеличение нагрузки на воспаленную лапу до появления болевой реакции (писка животного) (Randall-Selitto)
- **Тест термической гиперальгезии при воспалении**
 - Болевую чувствительность, вызванную термическим раздражением, оценивают с помощью сфокусированного луча инфракрасного света на подошву лапы (Plantar test, Hargreaves)



Методы оценки соматической боли, вызванной альгогенами

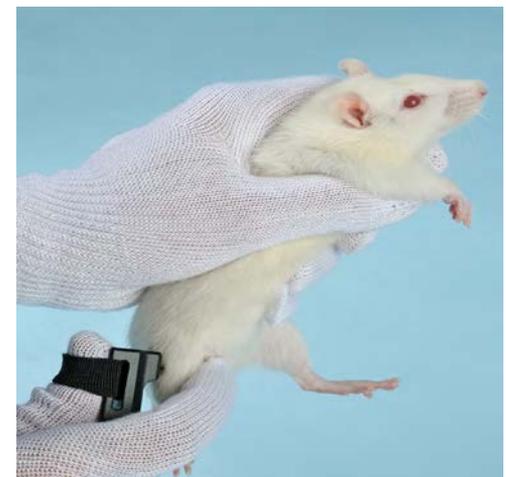
- **Тест тактильной аллодинии**
 - **Болевую чувствительность, вызванную механическим раздражением, оценивают с помощью волосков Фрея (весом от 0,06 до 23,96 г), обеспечивающих увеличение нагрузки на воспаленную лапу до появления болевой реакции (отдергивания лапы крысы)**



Методы оценки соматической боли, вызванной альгогенами

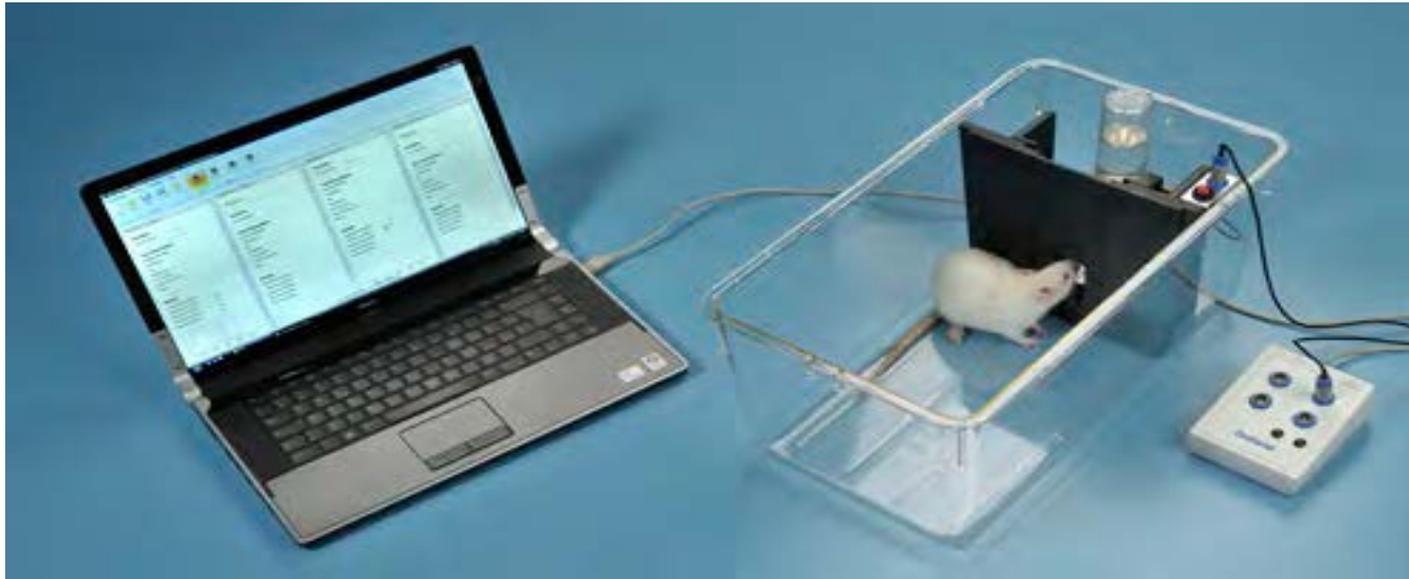
■ Тест адьювантного артрита

- Хроническое воспаление моделируют субплантарным введением в заднюю лапу адьюванта Фрейнда (0,1 мл взвеси БЦЖ 2,5 мг/мл в вазелиновом масле)
- Оцениваются:
 - интенсивность воспалительных изменений в суставах пораженной конечности (индекс отека, Plethysmometer, Ugo Basil)
 - изменение порогов болевой чувствительности
 - симптомы генерализованной реакции организма на введение адьюванта (отек ушей, хвоста, полиартрит, ухудшение общего состояния, снижение массы тела, гибель)
- Метод позволяет оценить эффективность ЛС, применяемых при артралгиях, миалгиях и других соматогенных болевых синдромах.



Методы оценки соматической боли

- **Тест орофасциальной тригеминальной боли**
 - **Вызванной альгогенами**
Воспаление моделируют введением формалина (5%) или капсаицина (5 мкл) в область вибрисс у крыс.
Регистрируют:
 - интенсивность груминга
 - чесательных движений
 - **Вызванной термальными и механическими стимулами**



Методы оценки висцеральной боли, вызванной альгогенами

■ Тест «корчей»

является общепринятой моделью висцеральной боли, который был впервые описан Vander Wende и др., 1956; Siegmund и др., 1957.

- Внутрибрюшинное введения веществ, раздражающих серозные оболочки, вызывает у мышей и крыс сокращение абдоминальной мускулатуры, так называемые «корчи».
- Данный метод можно использовать как модель перитонита.
- В качестве раздражающих агентов используются уксусная кислота (0,5–1% раствор), фенибензохинон (0,1–0,2% раствор в 4% этаноле) и др..
- На представленной модели анальгетическая ED₅₀ доза у крыс очень близко коррелирует с таковой для человека.

Методы оценки нейрогенной боли

- **Моделирование нейропатического болевого синдрома**
на моделях нейропатической боли у крыс и мышей развиваются симптомы, сходные с таковыми у людей
 - модель перерезки (перевязки) седалищного нерва
 - модель перевязки спинномозговых нервов
 - модель диабетического нейропатического болевого синдрома

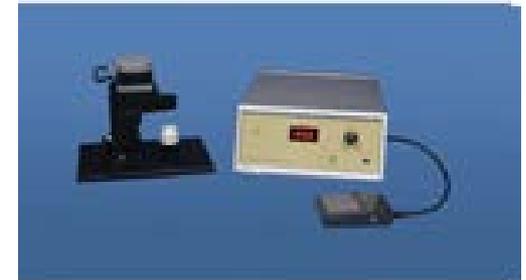
 - **Моделирование центрального болевого синдрома**
-

Моделирование нейропатической боли

- **Модель перерезки (перевязки) седалищного нерва**
- Нейропатический болевой синдром создают перерезкой (лигированием) седалищного нерва, оценка осуществляется по появлению признаков аутономий: 1 балл — повреждение 1-го когтя; 2, 3, 4, 5 баллов — 2-х, 3-х, 4-х, 5-ти когтей; 6 баллов — фаланги одного пальца; 7, 8, 9, 10 баллов — фаланги на 2-х, 3-х, 4-х, 5-ти пальцах; 11 баллов — повреждение плюсневых костей.
- Динамику развития болевого синдрома наблюдают 25 дней.
- **Модель перевязки спинномозговых нервов**
- Хроническую нейропатическую боль у самцов беспородных крыс создают перевязкой L5 и L6 спинномозговых нервов, тестирование через 2 недели.
- **Модель диабетического нейропатического болевого синдрома**
- Моделирование стрептозоцин-/аллоксан-индуцированной диабетической нейропатии с тестированием через 3–8 недель.
- **Интенсивность развития нейропатического болевого синдрома оценивают на 12-13 день**

Методы оценки интенсивности развития нейропатического болевого синдрома

- **механическая аллодиния**
 - Интенсивность развития механической аллодинии оценивают с использованием волосков Фрея (Frey hairs, aesthesiometer)
- **механическая гиперальгезия**
 - Интенсивность развития механической гиперальгезии исследуют посредством анальгезиметра, который обеспечивает плавное увеличение нагрузки до появления болевой реакции (писка) (анальгезиметр Randall-Selitto, Ugo Basil)
- **термическая гиперальгезия**
 - Интенсивность развития термической гиперальгезии изучают с помощью сфокусированного луча инфракрасного света на подошву лапы (Plantar test Hargreaves)



Моделирование центрального болевого синдрома

- **Модель воспроизводится путем создания в дорсальных рогах люмбального отдела спинного мозга популяции гиперактивных ноцицептивных нейронов с помощью аппликации агаровой пластинки, содержащей какой-либо конвульсант:**
 - **КС₁ и убаин (прямая деполяризация нейронов)**
 - **стрихнин (нарушение глицинергического торможения)**
 - **пенициллин (нарушение ГАМК-ергического торможения),**

- **Регистрируют следующие показатели:**
 - **вокализация**
 - **общая двигательную активность в период приступа**
 - **локальная реакция (вылизывание, выкусывание тканей в зоне боли)**
 - **аллодиния (болевого ответ на тактильный стимул)**
 - **частота и длительность приступов**

- **Данная модель используется при оценке эффективности препаратов для лечения центральных болевых синдромов (таламические боли, боли у пациентов с рассеянным склерозом, боли при демиелинизирующих заболеваниях и др.).**

Изучение механизма действия нового анальгетика

- **Использование селективных агонистов и антагонистов опиоидных рецепторов**
- **Использование препаратов изолированных органов**
 - подвздошной кишки морской свинки (μ -опиоидные рецепторы)
 - семявыносящего протока мыши (δ -опиоидные рецепторы)
 - семявыносящего протока кролика (κ -опиоидные рецепторы)
- **Методика радиолигандного связывания**
- **Регистрация биоактивности мозга на фоне вещества**
 - регистрация ЭЭГ в различных структурах мозга (сенсомоторная кора, гиппокамп, гипоталамус, миндалина, ретикулярная формация ствола мозга)
 - оценка характера изменений спектра мощности биоэлектрической активности мозга крыс на фоне действия исследуемого вещества
- **Метод оценки взаимодействия вещества с анализаторами нейромедиаторных систем**
 - влияние на моноаминергические структуры мозга (тесты с галоперидолом, апоморфином, клофелином, резерпином, 5-гидрокситриптамином, L-ДОФА)
 - холинергическое действие (ареколином, никотином)
 - ГАМК-эргическое влияние (пикротоксином, биккукулином)

Понятие лекарственная зависимость

- **Лекарственная зависимость – непреодолимое стремление к приему лекарственных веществ с целью улучшения самочувствия, повышения настроения, а также устранения неприятных переживаний или ощущений, обусловленных прекращением приема этих средств**
- **Определение ВОЗ**
«психическое, а иногда также физическое состояние..., характеризующееся определенными поведенческими реакциями, которые всегда включают настоятельную потребность в постоянном или периодически возобновляемом приеме определенного средства для того, чтобы избежать неприятных симптомов, обусловленных прекращением приема этого средства»

Лекарственная зависимость к наркотическим анальгетикам

■ Толерантность

- **компенсаторная адаптация в нейрональных сетях , направленная на нивелирование фармакодинамических эффектов опиоидных анальгетиков**
- **приспособление к новому уровню гомеостаза**

■ Физическая зависимость

- **компенсаторная адаптация в нейрональных сетях**
- **новый уровень гомеостаза**

■ Синдром отмены

- **внезапное прекращение приема наркотического анальгетика перестает маскировать компенсаторную адаптацию**
- **попытка организма восстановить новый уровень гомеостаза, сформированный в условиях хронического употребления опиоидов**
- **физическая зависимость проявляется абстинентным синдромом**

■ Аддикция

- **Развивается чрезвычайно редко при лечении боли**

Физическая зависимость

- **Физическая зависимость - адаптивное состояние, проявляющееся выраженными соматическими расстройствами при прекращении введения опиоидного анальгетика, вызывающего это состояние**
 - **Абстиненция – комплекс расстройств, возникающих через определенное время после прекращения действия опиоидов, вызывающих зависимость (психические и физические расстройства)**
-

Методы оценки развития физической зависимости

- **Метод оценки развития толерантности к обезболивающему эффекту**
- **Метод оценки развития толерантности к обезболивающему действию**
- **Метод оценки развития перекрестной толерантности к анальгетическому эффекту**

- **Метод оценки синдрома отмены**
- **Метод оценки синдрома отмены без провокации налоксоном**
- **Метод оценки синдрома отмены с провокацией налоксоном**

Оценка толерантности к анальгетическому действию веществ

- Исследуемые вещества вводят 14 или 28 дней.
- Оценивают изменение анальгетической активности в тестах оценки болевой чувствительности.
- Для проведения исследования кросс-толерантности в день тестирования изучаемое вещество заменяют инъекцией морфина (5 мг/кг).
- Критерий развития толерантности - снижение (отсутствие) анальгетического действия в группе, хронически получавшей вещество, относительно контрольной группы, хронически получавшей растворитель и в день тестирования получившей вещество.
- Дополнительно оценивают влияние хронического введения на общее состояние по нарушению ушного, корнеального рефлексов, наличию судорог, тремора, птоза, прыжков, встряхиваний, стука зубами, синдрома Штрауба, чесания, чихания, бокового положения.

Методы оценки синдрома отмены

- **Метод оценки синдрома отмены без провокации налоксоном**
- **Исследуемое соединение вводят 28 дней, признаки синдрома отмены регистрируют на 2 день после отмены**
- **Метод оценки синдрома отмены с провокацией налоксоном**

Протокол исследования:

1 день в 10 часов — вещество (морфин) 50 мг/кг, в 16 часов — 50 мг/кг,
2 день в 10 часов — вещество (морфин) 50 мг/кг, в 16 часов — 75 мг/кг,
3 день в 10 часов — вещество (морфин) 75 мг/кг, в 16 часов — 75 мг/кг,
4 день в 10 часов — вещество (морфин) 100 мг/кг, в 16 часов — 100 мг/кг,
5 день в 10 часов — вещество (морфин) 100 мг/кг, в 15 часов — налоксон 10 мг/кг

Регистрируют развитие признаков синдрома отмены:

- **Доминантные (свидетельствуют о тяжести абстинентного синдрома)**
- **Прыжковая активность**
- **Рецессивные (соответствуют легкому течению синдрома отмены)**
- **Тремор («барабанный бой»), встряхивания, корчи, стук зубами, ПТОЗ**

Критерий выраженности синдрома отмены - уменьшение числа прыжковых реакций относительно группы, получавшей морфин

Методы оценки аддиктивного потенциала

- **Аддиктивный потенциал фармакологических средств – это способность веществ вызывать патологическое пристрастие. Анализ возможного аддиктивного потенциала является одним из неотъемлемых элементов оценки безопасности новых фармакотерапевтических средств.**
- **Физиологической основой аддиктивного потенциала фармакологического агента является наличие у него подкрепляющих свойств.**
- **Подкрепление - процесс, при котором вероятность той или иной поведенческой реакции (например, поведение поиска наркотика) увеличивается благодаря следующим за ней событиям.**
- **Подкрепляющий стимул - стимул (в том числе фармакологическое вещество), который увеличивает вероятность поведения, после которого он следует.**
- **Предъявление положительно-подкрепляющих стимулов увеличивает вероятность поведения, за которым они следуют. Выраженность аддиктивного потенциала определяется, прежде всего, положительно-подкрепляющими свойствами.**

Методы оценки аддиктивного потенциала

■ Методы оценки первично-подкрепляющих свойств

- Реакция внутривенного самовведения (РВС)
- Лекарственная дифференцировка
- Реакция электрической самостимуляции (РСС) мозга

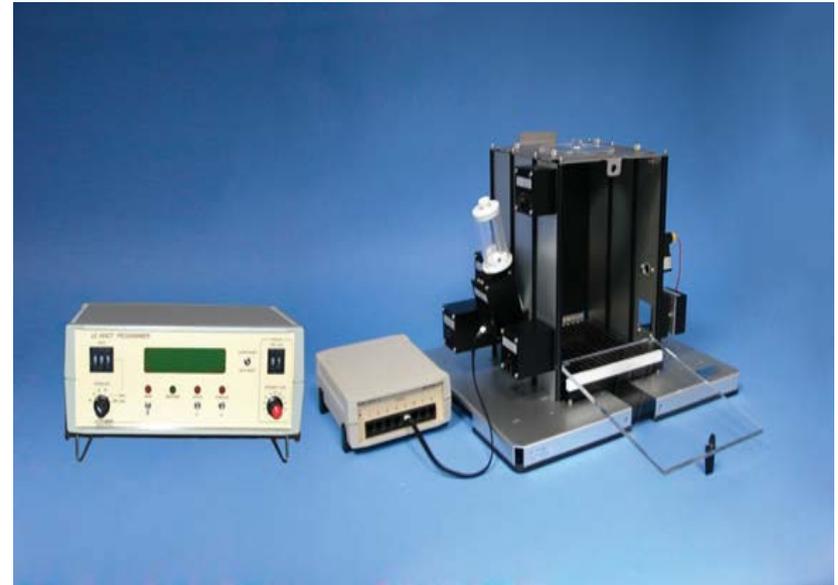
■ Метод оценки вторично-подкрепляющих свойств

- Условно-рефлекторная реакция предпочтения места
-

Реакция внутривенного самовведения (РВС)

- Претест (10 мин, A_1 и P_1)
- определяет активность животных по количеству выгладываний для подбора равнозначных пар
- Тестирование (30 мин, A_2 и P_2)
- «активная» мышь (АМ) получает в/в инфузии исследуемого вещества в ответ на собственные выгладывания
- «пассивная» (ПМ) - в ритме выгладывания АМ без связи с собственными выгладываниями

Регистрируется количество выгладываний АМ и ПМ, вычисляется критерий самовведения (R-критерий):
 $R = \lg A_2 / P_2 - \lg A_1 / P_1$



A_1 и A_2 - количество выгладываний у АМ в претесте и тесте
 P_1 и P_2 - те же показатели у ПМ

Действие тестируемого вещества расценивают положительно-подкрепляющим когда значение R значимо больше такового при самовведении растворителя (значения \sim равные нулю)

Лекарственная дифференцировка

- **Методика позволяет оценить фармакологическую природу субъективных состояний, вызываемых психоактивными веществами**
- **Сравнивают интероцептивные (субъективные) эффекты эталона с наркогенными свойствами (например, морфин) с таковыми исследуемого вещества.**

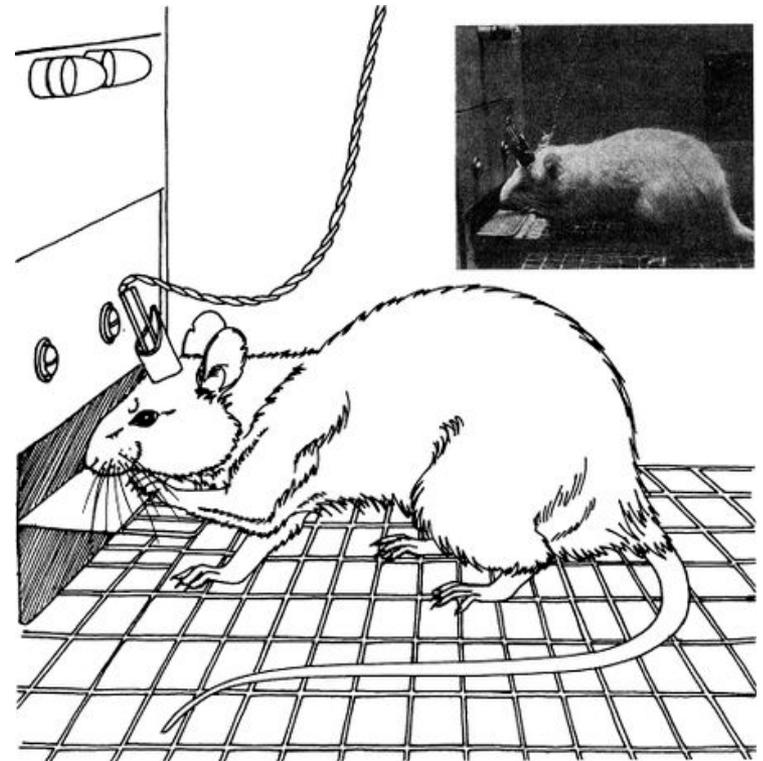
Животных обучают выполнению инструментальной реакции альтернативного выбора (нажатию на одну из двух педалей - на левый рычаг после введения морфина, правый - растворителя).
- **После выработки у животного устойчивого навыка различения эталона и растворителя (80% правильных реакций) на основе заместительного тестирования сравнивают интероцептивные эффекты референтного препарата и исследуемого вещества.**
- **Если при замене эталона на тестируемое соединение наблюдается 80% и более реакций, адекватных морфину, то полагают, что интероцептивные эффекты сравниваемых веществ идентичны и наркогенный потенциал изучаемого вещества сопоставим с таковым эталона.**

Электрическая самостимуляция мозга

Крысам имплантируют биполярные электроды в вентральную тегментальную область и через 10 дней обучают нажимать на педаль для получения электрического раздражения мозга.

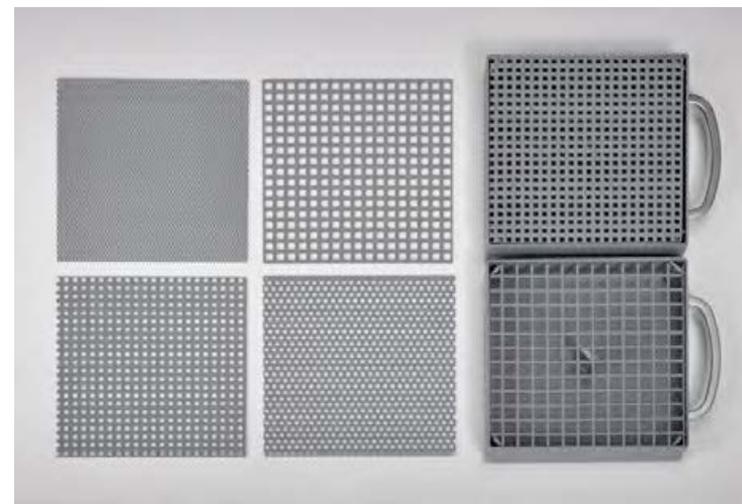
□ Каждое нажатие на одну из педалей («награждающая» педаль) запускает электрическую стимуляцию, интенсивность которой постепенно снижается. Для того чтобы вернуть интенсивность стимуляции к исходному уровню, животное должно нажать на другую педаль (педаль «перезапуска»).

□ После введения различных аддиктивных средств наблюдается снижение пороговой интенсивности реакции РСС, что отражает повышение возбудимости нейронального субстрата.



Условно-рефлекторная реакция предпочтения места (УРПМ)

- При выработке УРПМ после инъекции изучаемого вещества животных помещают в определенную обстановку
- Две одинаковых по размеру камеры с разным цветом и текстурой пола (белый и черный) отделены друг от друга раздвижными дверцами с фотоэлементами.
- Обуславливание
- Мышам вводят вещество или растворитель и помещают в соответствующую камеру (после введения вещества - в отсек с черным полом, а после введения растворителя - в отсек с белым полом)
- Тестирование
- После введения вещества открывают двери и регистрируют время проведения в каждой камере.
- Критерий наличия у вещества подкрепляющих свойств статистически значимо большее проведение времени в камере, ассоциированной с введением вещества



Предикторы потенциала пристрастия

- **Выявление предикторов потенциала пристрастия во всех тестах позволяет сделать вывод только о подкрепляющем эффекте соединения и его влиянии на мозговую субстрат системы «награды», но не о его непосредственной способности вызывать наркоманию, токсикоманию или психологическую зависимость.**
- **Вместе с тем, подкрепляющее действие является «общим знаменателем» аддиктивных соединений, и его выявление в эксперименте на животных является *предиктором* и позволяет предсказать, что на основе этого подкрепляющего эффекта может сформироваться патологическое влечение к данному веществу.**