

Рекомендована д. мед. н., професором Н. В. Бездітко

УДК 57.084.1:615.015.6:615.212.7

<https://doi.org/10.24959/cphj.17.1435>

С. Ю. Штрыголь, І. М. Подольський, Д. П. Каврайський

Національний фармацевтичний університет

ПОВЕДІНКОВІ ТА НЕЙРОТРОПНІ ЕФЕКТИ НАЛОКСОНУ У МИШЕЙ

Методичні рекомендації описують різноманітні методики дослідження можливості розвитку фізичної залежності, більшість яких рекомендує провокацію налоксоном у широкому діапазоні доз як спосіб індукції абстинентного синдрому та подальше дослідження поведінки тварин. Але чинні методичні рекомендації не дають жодних коментарів щодо власних ефектів налоксона при провокації синдрому відміни, які можуть бути помилково трактовані як прояви абстиненції.

Мета дослідження. Дослідити власні ефекти налоксона у тесті відкритого поля, ротарод-тесті та його здатність викликати специфічні ознаки, характерні для абстинентного синдрому.

Матеріали та методи. Дослідження проведене на рандомбредних мишах у два етапи. На першому етапі досліджували вихідні показники поведінки тварин у тесті відкритого поля, а також координацію рухів та м'язовий тонус у ротарод-тесті. На другому етапі проводили аналогічні дослідження на тлі введення доз налоксона 5 мг/кг та 10 мг/кг. Додатково вивчали стан мишей на предмет розвитку специфічних ознак абстиненції.

Результати. На тлі введення налоксона у тварин розвивались певні зміни стану (здригання голови, блефароптоз) та спостерігалось зменшення всіх субтестів тесту відкритого поля під час повторного досліду.

Висновки. Проведене дослідження виявило здатність налоксона викликати у мишей певні зміни стану, що можуть бути помилково трактовані як «рецесивні» ознаки абстинентного синдрому. Доведено дозозалежний седативний вплив налоксона у тесті відкритого поля, що також варто брати до уваги у психофармакологічних дослідженнях.

Ключові слова: налоксон; абстиненція; блефароптоз; тест відкритого поля; ротарод-тест; дозозалежність

S. Yu. Shtrygol', I. M. Podolsky, D. P. Kavraiskiy

National University of Pharmacy

The behavioral and neurotropic effects of naloxone in mice

The methodological recommendations describe various methods for research of the physical dependence development. Most of them recommend provocation using a naloxone injection as the way to induce the withdrawal symptoms and the following evaluation of the animals' behavior. However, the current methodological recommendations do not give any comments about the effects of naloxone in provoking the withdrawal syndrome that can be mistakenly interpreted as signs of abstinence.

Aim. To study the effects of naloxone in the open field test, the rotarod-test and its ability to cause specific signs of the withdrawal syndrome in mice.

Materials and methods. The study was carried out on random bred mice in two stages. At the first stage, the initial indicators of the animals' behavior in the open field test, as well as coordination of movements and the muscle tone in the rotarod-test, were examined. At the second stage, the similar studies were performed after injection of naloxone in the doses of 5 mg/kg and 10 mg/kg. Additionally, the state of mice was studied for the purpose of revealing the specific signs of withdrawal.

Results. It has been found that the administration of naloxone caused certain changes in the state of mice (development of blepharoptosis and head shakes) and a decrease in all open field test subtests at the second stage of the experiment.

Conclusions. The study has shown the ability of naloxone to cause certain changes of the state in mice that can be mistakenly interpreted as "recessive" signs of abstinence. The dose-dependent sedative effect of naloxone in the open field test has been proven; therefore, it should also be taken into account in psychopharmacological studies.

Key words: naloxone; abstinence; blepharoptosis; the open field test; the rotarod-test; dose-dependency

С. Ю. Штрыголь, И. Н. Подольский, Д. П. Каврайский

Национальный фармацевтический университет

Поведенческие и нейротропные эффекты налоксона у мышей

Методические рекомендации описывают различные методики исследования возможности развития физической зависимости, большинство из которых рекомендует провокацию налоксоном в широком диапазоне доз как способ индукции абстинентного синдрома и дальнейшее исследование поведения животных. Однако действующие методические рекомендации не дают никаких комментариев относительно собственных эффектов налоксона при провокации синдрома отмены, которые могут ошибочно трактоваться как проявления абстиненции.

Цель исследования. Изучить собственные эффекты налоксона в тесте открытого поля, ротарод-тесте и его способность вызывать специфические признаки, характерные для абстинентного синдрома.

Матеріали і методи. Исследование проведено на рандомбредних мышах в два етапа. На первом этапе исследовали исходные показатели поведения животных в тесте открытого поля, а также координацию движений и мышечный тонус в ротарод-тесте. На втором этапе проводили аналогичные исследования на фоне введения доз налоксона 5 мг/кг и 10 мг/кг. Дополнительно изучали состояние мышей на предмет развития специфических признаков абстиненции.

Результаты. На фоне введения налоксона у животных развивались определенные изменения состояния (вздрагивания головы, блефароптоз) и наблюдалось уменьшение всех субтестов теста открытого поля в повторном эксперименте.

Выводы. Проведенное исследование показало способность налоксона вызывать у мышей определенные изменения состояния, которые могут ошибочно трактоваться как «рецессивные» признаки абстинентного синдрома. Доказано дозозависимое седативное влияние налоксона в тесте открытого поля, что также следует принимать во внимание в психофармакологических исследованиях.

Ключевые слова: налоксон; абстиненция; блефароптоз; тест открытого поля; ротарод-тест; дозозависимость

Дослідження участі опіоїдергічних механізмів у реалізації анальгетичної дії лікарських препаратів і хімічних сполук є важливим етапом їх експериментального вивчення. По-перше, ці дослідження дозволяють деталізувати механізм розвитку знеболювальної дії, а по-друге, що не менш важливо, припустити наявність адиктивного потенціалу досліджуваної сполуки у разі підтвердження участі опіоїдергічної ланки антиноцицептивної системи у реалізації анальгетичного ефекту при усуненні останнього антагоністом опіоїдних рецепторів налоксоном.

У методичних рекомендаціях [1, 2] описуються різноманітні методики дослідження можливості розвитку фізичної залежності, які принципово можна поділити на дві групи з огляду на спосіб індукції абстинентного синдрому (такі дослідження виконують здебільшого на мишах).

Перша група методик базується на довготривалому введенні сполуки (не менше 28 днів) та дослідженні стану ноцицептивної системи, рухової активності та загального стану тварин на другий день після відміни сполуки. Критеріями розвитку абстинентного синдрому вважають розвиток гіперальгезії, підвищення рухової активності та наявність таких ознак: стрибки, струшування «мокрого собаки», здригання, скрегіт зубами, порушення пози, спроба втечі, пілоерекція, диспное, діарея, птоз, писк, «корчі» [3]. При цьому стрибки вважають «домінантним» симптомом, що свідчить на користь тяжкого перебігу абстинентного синдрому. Тремор за типом «барабанного бою», струшування «мокрого собаки», скрегіт зубами, діарея, птоз та інші прояви відносять до «рецесивних» ознак, що відповідають легкому перебігу синдрому відміни [4].

Друга група методів рекомендує провокацію налоксоном (у широкому діапазоні доз від 1 до 10 мг/кг, найчастіше 10 мг/кг внутрішньоочеревинно) як спосіб індукції абстинентного синдрому. Одна з груп тварин одночасно з введенням останньої дози речовини одержує ін'єкцію антагоніста опіоїдних рецепторів, після чого оцінюють поведінку тварин за загальноприйнятими поведінковими тестами [1, 2] та перевіряють загальний стан тварин на наявність

специфічних ознак абстиненції, що їх наведено вище. Також важливим симптомом опіоїдної залежності за цих умов є швидке зниження маси тіла [4].

Оригінальним варіантом експерименту є комбінація обох підходів [5] – тварин після довготривалого курсу тестують безпосередньо перед передостаннім введенням сполуки (через 24 години після попереднього) задля виявлення синдрому відміни внаслідок неотримання чергової дози речовини, а наступного дня (після останнього введення сполуки) провокують абстинентний синдром ін'єкцією налоксону і досліджують поведінку та стан тварин. Але у цьому випадку при проведенні поведінкових тестів необхідно враховувати вплив габітуації (звикання) на досліджувані показники.

Визнаною методикою оцінки поведінки тварин в усіх зазначених випадках є тест відкритого поля, що дозволяє диференціювати зміни рухової активності, орієнтовно-дослідницьких та емоційних реакцій [6]. Порушення координації рухів та м'язового тону, як правило, виявляють за допомогою тесту стрижня, що обертається (ротарод-тест) [7].

Налоксон застосовується як повний антагоніст опіоїдних рецепторів усіх підтипів з добре відомими фармакологічними властивостями. Але чинні методичні рекомендації [1, 2] не дають жодних коментарів щодо власних ефектів налоксону при провокації синдрому відміни, які можуть бути помилково трактовані як прояви абстиненції. У літературі зустрічаються поодинокі публікації щодо впливу введення налоксону на поведінку тварин [8-12], але ці дані носять суперечливий характер і не дають системного бачення цього питання.

Мета роботи – дослідити власні ефекти налоксону у тесті відкритого поля, ротарод-тесті та його здатність викликати характерні для абстинентного синдрому специфічні ознаки при ізольованому введенні мишам.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на рандомбредних мишах-самцях масою 20-24 г відповідно до ди-

Таблиця 1

Дозозалежні ефекти налоксону у тесті відкритого поля у мишей, $M \pm m$ (n=21)

Показник	Етап	Група, кількість тварин		
		інтактний контроль, n=8	налоксон, 5 мг/кг, n=8	налоксон, 10 мг/кг, n=5
I. Локомоторна активність				
перетнуто квадратів	1	54,0±5,4	44,9±6,0	24,8±3,3
	2	35,1±3,5*(-35,0 %)	26,0±3,6*(-42,1 %)	9,4±3,5**(-62,1 %)
II. Орієнтовно-дослідницька активність				
кількість стійок	1	13,1±1,9	3,5±0,8	5,6±1,6
	2	8,3±1,4(-36,6 %)	3,1±1,0(-11,4 %)	1,0±0,6*(-82,1 %)
обстежено отворів	1	44,5±3,8	44,0±4,7	42,6±6,0
	2	28,4±4,9*(-36,2 %)	22,2±3,7**(-49,5 %)	11,2±3,5**(-73,7 %)
сума	1	57,7±4,7	47,5±4,8	48,2±7,0
	2	36,6±4,5*(-36,6 %)	25,4±3,9**(-46,5 %)	12,2±4,0**(-74,7 %)
III. Вегетативний супровід емоційних реакцій				
болюси	1	0,6±0,4	0,1±0,1	0,4±0,4
	2	0,3±0,3	0,8±0,4	1,2±0,4
уринації	1	0,1±0,1	0,3±0,2	0
	2	0	0	0
грумінг	1	1,1±0,5	0,9±0,7	0,6±0,2
	2	1,0±0,5	0	0,6±0,4
сума	1	1,9±0,7	1,3±0,8	1,0±0,6
	2	1,3±0,5	0,8±0,4	1,8±0,6
Сума всіх видів активності				
I + II + III	1	113,5±9,2	93,6±8,1	74,0±9,5
	2	73,0±6,8**(-35,7 %)	52,1±7,2**(-44,3 %)	23,4±7,8**(-68,4 %)

Примітка: *, ** – $p < 0,05$ та $p < 0,01$ відносно показників цієї ж групи на попередньому етапі дослідження за t-критерієм Стьюдента.

рективи Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [2]. Під час експерименту тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ за природнього світлового режиму «день-ніч» з вільним доступом до води та їжі [13].

Експеримент проводили у два етапи:

1) у перший день усі тварини внутрішньошлунково одержували відповідний об'єм дистильованої води із розрахунку 0,1 мл/ 10 г маси тіла, після чого їх досліджували у тесті відкритого поля [6] та ротарод-тесті [7];

2) наступного дня у той же час мишей зважували та вводили їм внутрішньошлунково аналогічну кількість дистильованої води, а через 20 хв тваринам обох піддослідних груп внутрішньоочеревинно вводили налоксон у дозах 5 мг/кг або 10 мг/кг. Протягом 30 хв після ін'єкції налоксону спостерігали за мишами, які перебували в окремих прозорих контейнерах, з метою виявлення змін загального стану, після чого досліджували у тесті відкритого поля та ротарод-

тесті. Наприкінці експерименту кожную тварину повторно зважували.

Мишей випадковим чином розподілили на три групи:

I – група інтактного контролю, в якій тварини одержували дистильовану воду і на першому, і на другому етапі, n=8;

II – група, де тварини на другому етапі одержували налоксон у дозі 5 мг/кг, n=8;

III – група, де тварини на другому етапі одержували налоксон у дозі 10 мг/кг, n=5.

Конкурентний блокатор опіоїдних рецепторів налоксон (Налоксон-3Н, серія 04661016, ТОВ «Здоров'я народу», Україна) вводили внутрішньоочеревинно у вигляді 0,04 % розчину для ін'єкцій.

Одержані результати наведені у формі середньої арифметичної та стандартної похибки ($M \pm m$). Результати обробляли статистично з використанням програмного забезпечення «STATISTICA® 10.0». Достовірність міжгрупових відмінностей встановлювали за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента при нормальному розподілі та непараметричного U-критерію

Таблиця 2

Вплив налоксону на координацію рухів та м'язовий тонус мишей у ротарод-тесті (n=21)

Час падіння	Кількість мишей, які впали зі стрижня, абс./ %					
	інтактний контроль, n=8		налоксон, 5 мг/кг, n=8		налоксон, 10 мг/кг, n=5	
	1 етап	2 етап	1 етап	2 етап	1 етап	2 етап
до 1 хв	0/0 %	1/12,5 %	1/12,5 %	2/25,0 %	1/20 %	2/40 %
до 2 хв	1/12,5 %	3/37,5 %	2/25,0 %	3/37,5 %	3/60 %	2/40 %
до 3 хв	3/37,5 %	5/62,5 %	4/50,0 %	5/62,5 %	2/40 %	3/60 %
до 5 хв	5/62,5 %	6/75,0 %	5/62,5 %	7/87,5 %	4/80 %	4/80 %

Манна-Уїтні при його відсутності [14] або за кутовим перетворенням Фішера при обліку результатів в альтернативній формі. Статистично значущими вважали результати за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

На першому етапі дослідження після введення усім трьом групам мишей дистильованої води поведінкові показники тварин вивчалися у тесті відкритого поля (табл. 1) та ротарод-тесті (табл. 2).

На другому етапі одразу після ін'єкції налоксону тварин дослідних груп поодиноці вміщували у прозорі контейнери та спостерігали протягом 30 хв за їх станом (табл. 3).

Стрибків («домінантних» ознак опіюдної абстиненції, у якій беруть участь μ -рецептори [15]) не було в жодній тварини ані в групі інтактного контролю, ані під впливом налоксону в обох досліджуваних дозах. Але у тварин піддослідних груп спостерігались інші («рецесивні») ознаки опіюдної абстиненції. Так, на тлі введення налоксону в дозі 5 мг/кг у 2 мишей з 8 (25 %) спостерігали поодинокі здригання голови. У групі, де тварини одержували 10 мг/кг налоксону, цей симптом зустрічався у 2 мишей з 5 (40 %). Виразнішим був розвиток блефароптозу або напівптозу у тварин піддослідних груп. Якщо під впливом дози налоксону 5 мг/кг цю ознаку спостерігали у 50 % мишей, то на тлі дози 10 мг/кг – у 100 % тварин. Цей феномен, можливо, обумовлений дією налоксону на μ_2 -рецептори [15]. Інші ознаки опіюдної абстиненції були відсутні у тварин піддослідних груп протягом терміну спостереження. Це дозволяє зробити висновок, що налоксон не індукує їх розвиток.

Результати другого етапу дослідження тварин у тесті відкритого поля наведені у табл. 1.

Оскільки дослідження проводили наступного дня після визначення початкових показників, цілком закономірним є вплив габітуації на результати мишей групи інтактного контролю. Спостерігали зниження кількості перетнутих квадратів на 35,0 % ($p < 0,05$); недостовірне, але суттєве (на 36,6 %) зменшення кількості вертикальних стійок, достовірне зменшення кілько-

сті обстежених отворів на 36,2 % ($p < 0,05$), суми показників орієнтовно-дослідницької активності на 36,6 % ($p < 0,05$), а також суми всіх показників на 35,7 % ($p < 0,05$). При цьому показники вегетативного супроводу емоційних реакцій залишились на рівні першого етапу дослідження.

На тлі дії налоксону в дозі 5 мг/кг зміни мали той же напрям, але носили виразніший характер (табл. 1): локомоторна активність знизилась на 42,1 % ($p < 0,05$), кількість обстежених отворів – на 49,5 % ($p < 0,01$), сума показників орієнтовно-дослідницької активності – на 46,5 % ($p < 0,01$), сума всіх показників – на 44,3 % ($p < 0,01$). Вищий рівень статистичної значущості зменшення показників порівняно з інтактним контролем свідчить, що його неможливо пояснити виключно феноменом габітуації, тобто налоксон у дозі 5 мг/кг чинить певний седативний вплив.

У дозі 10 мг/кг налоксон чинив ще виразніший седативний вплив (табл. 1): кількість перетнутих квадратів знизилась на 62,1 % ($p < 0,01$), кількість вертикальних стійок – на 82,1 % ($p < 0,05$), кількість обстежених отворів – на 73,7 % ($p < 0,01$), сума показників орієнтовно-дослідницької активності – на 74,7 % ($p < 0,01$), а сума всіх показників – на 68,4 % ($p < 0,01$).

Таким чином, однакове зменшення всіх субтестів тесту відкритого поля під час наступного досліду з налоксоном частково може пояснюватися габітуацією, частково – наявністю в налоксону відомого седативного ефекту [16], який носить виражений дозозалежний характер.

У тесті стрижня, що обертається (табл. 2), порушень координації рухів і тону м'язів не виявлено ані у тварин групи інтактного контролю, ані у тварин на тлі введення налоксону в обох досліджених дозах.

При повторному зважуванні тварин наприкінці експерименту жодного випадку зменшення маси тіла не виявлено (табл. 3).

Загалом аналіз літературних джерел свідчить на користь неоднорідних та інколи навіть суперечливих фармакологічних властивостей налоксону. Але одержані результати добре узгоджуються з даними про зниження реакції на стрес на тлі налоксону [8], а також його седативні [16] та анк-

Таблиця 3

Дозозалежний вплив налоксону на розвиток специфічних ознак, характерних для абстинентного синдрому у мишей (n=21)

Ознака	Кількість тварин у групі, які мали ознаку, абс./ %		
	інтактний контроль, n=8	налоксон, 5 мг/кг, n=8	налоксон, 10 мг/кг, n=5
Стрибки	0/0 %	0/0 %	0/0 %
Зменшення маси тіла	0/0 %	0/0 %	0/0 %
Здригання голови	0/0 %	2/25 %*	2/40 %**
Блефароптоз або напівптоз	0/0 %	4/50 %**	5/100 %**

Примітка: *, ** – $p < 0,05$ та $p < 0,01$ відносно показників групи інтактного контролю за кутовим перетворенням Фішера.

сіолітичні властивості [9, 12], що пов'язують з модулювальним впливом на ГАМК-ергічну систему.

Таким чином, проведено дослідження виявило здатність налоксону викликати у мишей певні зміни стану (блефароптоз, здригання голови), що можуть бути помилково трактовані як «рецептивні» ознаки абстинентного синдрому. «Домінантних» ознак абстиненції (стрибків) налоксон per se не викликає. Ці властивості антагоніста опіоїдних рецепторів доцільно враховувати при подальших дослідженнях адиктивного потенціалу аналгетиків з доведеним опіоїдергічним механізмом знеболювальної дії. Доведено дозозалежний седативний вплив налоксону у тесті відкритого поля, що також варто брати до уваги у психофармакологічних дослідженнях. Отже, з метою диференціації проявів абстинентного синдрому від власних поведінкових та нейротропних ефектів налоксону у мишей доцільно використовувати додаткову групу тварин, яка одержує лише налоксон у відповідній дозі.

Перелік використаних джерел інформації

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов и др. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Morgan, M. M. Analysis of opioid efficacy, tolerance, addiction and dependence from cell culture to human / M. M. Morgan, M. J. Christie // *British J. of Pharmacol.* – 2011. – Vol. 164, Issue 4. – P. 1322–1334. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01335.x
4. Спасов, А. А. Сравнительное изучение наркотического потенциала опиоидных агонистов / А. А. Спасов, О. Ю. Гречко, Н. В. Елисеєва // *Бюл. Волгоградского научного центра РАМН.* – 2009. – № 3 (23). – С. 22–25.
5. Перспективний антиконвульсант 1-(4-метоксифеніл)-5-{2-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он має протизапальну та знеболювальну активність та позбавлений адиктивного потенціалу / Д. П. Каврайський, С. Ю. Штриголь, В. В. Цивунін та ін. // *Укр. журн. клінічної та лабораторної медицини.* – 2016. – Т. 11, № 3. – С. 52–62.
6. *Drug Discovery and Evaluation : Pharmacological Assays* / H. G. Vogel (ed.). – 3-rd ed. – Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2008. – 2068 p.
7. The Behavioral Assessment of Sensorimotor Processes in the Mouse : Acoustic Startle, Sensory Gating, Locomotor Activity, Rotarod, and Beam Walking / P. Curzon, M. Zhang, R. J. Radek et al. // In : Buccafusco JJ, editor. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience.* – 2-nd ed. Boca Raton (FL) : CRC Press / Taylor & Francis; 2009. Chapter 8. Available at : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5236/>
8. Nadorova, A. V. Naloxone Effects on Behavior of Inbred Mice with Different Response to Emotional Stress in Open Field Test / A. V. Nadorova, M. M. Kozlovskaja, S. B. Seredenin // *Bul. of Experimental Biol. and Medicine.* – 2009. – Vol. 148, Issue 4. – P. 609–611. doi: 10.1007/s10517-010-0776-8
9. Effects of phenazepam on the behavior of C57BL/6 and BALB/c mice in the open field test after naloxone pretreatment / S. B. Seredenin, A. V. Nadorova, L. G. Koliik, M. A. Yarkova // *Bul. of Experimental Biol. and Medicine.* – 2013. – Vol. 155, Issue 3. – P. 346–349. doi: 10.1007/s10517-013-2150-0
10. Increased elevated plus maze open-arm time in mice during naloxone-precipitated morphine withdrawal / S. R. Hodgson, R. S. Hofford, C. J. Norris, S. Eitan // *Behavioural Pharmacol.* – 2008. – Vol. 19, Issue 8. – P. 805–811. doi: 10.1097/fbp.0b013e32831c3b57

ВИСНОВКИ

1. Досліджені власні ефекти налоксону у дозах 5 мг/кг та 10 мг/кг у тесті відкритого поля та ротарод-тесті, які широко застосовуються для оцінки адиктивного потенціалу перспективних сполук аналгетичної дії.

2. Доведено здатність налоксону викликати зміни стану тварин, а саме поодинокі здригання голови, блефароптоз і напівптоз, що можуть помилково трактуватись як прояви абстиненції.

3. Показано, що в тесті відкритого поля на тлі налоксону відбувається дозозалежне зниження показників локомоторної активності та орієнтовно-дослідницьких реакцій при незмінних показниках емоційного стану тварин.

4. На м'язовий тонус мишей і координацію рухів у ротарод-тесті налоксон не впливає.

5. Одержані результати спонукають диференціювати власні ефекти налоксону та прояви синдрому відміни лікарських препаратів та хімічних сполук.

Конфлікт інтересів: відсутній.

11. Belzung, C. Naloxone blocks anxiolytic-like effects of benzodiazepines in Swiss but not in Balb/c mice / C. Belzung, A. Agmo // *Psychopharmacol.* – 1997. – Vol. 132, Issue 2. – P. 195–201. doi: 10.1007/s002130050336
12. Belzung, C. Naloxone potentiates the effects of subeffective doses of anxiolytic agents in mice / C. Belzung, A. Agmo // *European J. of Pharmacol.* – 1997. – Vol. 323, Issue 2–3. – P. 133–136. doi: 10.1016/s0014-2999(97)00142-8
13. Deacon, R. M. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // *Nature Protocols.* – 2006. – Vol. 1, Issue 2. – P. 936–946. doi: 10.1038/nprot.2006.120
14. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. – М.: Медиасфера, 2006. – 312 с.
15. Suzuki, T. The role of mu1 receptor in physical dependence on morphine using the mu receptor deficient CXBK mouse / T. Suzuki, Y. Hayashi, M. Misawa // *Life Sci.* – 1992. – Vol. 50, Issue 12. – P. 849–856. doi: 10.1016/0024-3205(92)90203-2
16. Sadeghi, M. The effect of an intravenous bolus of ultra-low-dose naloxone on intraoperative sedation, post-operative pain intensity and morphine consumption in cesarean section patients under spinal anesthesia / M. Sadeghi, A. Movafegh, B. Nouralishahi // *Res. J. of Biol. Sci.* – 2008. – Vol. 3, Issue 10. – P. 1223–1226.

References

1. Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhenia likarskykh zasobiv*. Kyiv: Avitsena, 528.
2. Mironov, A. N. et al. (2012). *Rukovotstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovaniu lekarstvennykh sredstv*. Moscow: Grif i K, 944.
3. Morgan, M. M., Christie M. J. (2011). Analysis of opioid efficacy, tolerance, addiction and dependence from cell culture to human. *British Journal of Pharmacology*, 164 (4), 1322–1334. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01335.x
4. Spasov, A. A., Grechko, O. Yu., Eliseeva, N. V. (2009). *Biulleten Volgogradskogo nauchnogo centra RAMN*, 3 (23), 22–25.
5. Kavraiskiy, D. P., Shtrygol, S. Yu., Tsyvunin, V. V. et al. (2016). *Ukrainskyi zhurnal klinichnoi ta laboratornoi medytsyny*, 11 (3), 52–62.
6. Vogel, H. (2008). *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Springer, Berlin, Heidelberg: New York, 2068.
7. Curzon, P., Zhang, M., Radek, R. J., et al. (2009). The Behavioral Assessment of Sensorimotor Processes in the Mouse: Acoustic Startle, Sensory Gating, Locomotor Activity, Rotarod, and Beam Walking. In: *Buccafusco JJ, editor. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press / Taylor & Francis; 2009. Chapter 8*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5236/>
8. Nadorova, A. V., Kozlovskaja, M. M., Seredenin, S. B. (2009). Naloxone Effects on Behavior of Inbred Mice with Different Response to Emotional Stress in Open Field Test. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 148 (4), 609–611. doi: 10.1007/s10517-010-0776-8
9. Seredenin, S. B., Nadorova, A. V., Kolik, L. G., Yarkova, M. A. (2013). Effects of Phenazepam on the Behavior of C57Bl/6 and BALB/c Mice in the Open Field Test after Naloxone Pretreatment. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 155 (3), 346–349. doi: 10.1007/s10517-013-2150-0
10. Hodgson, S. R., Hofford, R. S., Norris, C. J., Eitan, S. (2008). Increased elevated plus maze open-arm time in mice during naloxone-precipitated morphine withdrawal. *Behavioural Pharmacology*, 19 (8), 805–811. doi: 10.1097/fbp.0b013e32831c3b57
11. Belzung, C., Agmo, A. (1997). Naloxone blocks anxiolytic-like effects of benzodiazepines in Swiss but not in Balb/c mice. *Psychopharmacology*, 132 (2), 195–201. doi: 10.1007/s002130050336
12. Belzung, C., Ågmo, A. (1997). Naloxone potentiates the effects of subeffective doses of anxiolytic agents in mice. *European Journal of Pharmacology*, 323 (2–3), 133–136. doi: 10.1016/s0014-2999(97)00142-8
13. Deacon, R. M. J. (2006). Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments. *Nature Protocols*, 1 (2), 936–946. doi: 10.1038/nprot.2006.120
14. Rebrova, O. Yu. (2006). *Statisticheskii analiz meditsinskikh dannyykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA, 3 izd.* Moscow: Media Sfera, 312.
15. Suzuki, T., Hayashi, Y., Misawa, M. (1992). The role of mu1 receptor in physical dependence on morphine using the mu receptor deficient CXBK mouse. *Life Sciences*, 50 (12), 849–856. doi: 10.1016/0024-3205(92)90203-2
16. Sadeghi, M., Movafegh, A., Nouralishahi, B. (2008). The effect of an intravenous bolus of ultra-low-dose naloxone on intraoperative sedation, post-operative pain intensity and morphine consumption in cesarean section patients under spinal anesthesia. *Research Journal of Biological Sciences*, 3 (10), 1223–1226.

Відомості про авторів / Information about authors / Информация об авторах

Штрыголь С. Ю., доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет

Shtrygol' S. Yu., Doctor of Medicine (Dr. habil.), professor, head of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy

Штрыголь С. Ю., доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет

Подольський І. М., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри медичної хімії, Національний фармацевтичний університет

Podolsky I. M., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Medicinal Chemistry Department, National University of Pharmacy

Подольський І. М., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри медичної хімії, Національний фармацевтичний університет

Каврайський Д. П., аспірант кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет

Kavraiskiy D. P., postgraduate student of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy

Каврайський Д. П., аспірант кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет

Адреса для листування: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4, кафедра медичної хімії НФаУ. Тел. (0572) 67-92-04.

E-mail: ilya.podolsky@nuph.edu.ua

Mailing address: 4, Valentynivska str., Kharkiv, 61168, Medicinal Chemistry Department, National University of Pharmacy.

Tel. (0572) 67-92-04. E-mail: ilya.podolsky@nuph.edu.ua

Адрес для переписки: 61168, г. Харьков, ул. Валентиновская, 4, кафедра медицинской химии НФаУ. Тел. (0572) 67-92-04.

E-mail: ilya.podolsky@nuph.edu.ua