

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОГЛУТАМА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ САМЦАМ И САМКАМ КРЫС НА ПОВЕДЕНИЕ В «ОТКРЫТОМ ПОЛЕ»

*Л.И. Бугаева, В.В. Багметова, Ю.В. Маркина, А.А. Колмаков,
С.А. Лебедева, Ю.В. Горбунова*

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,*

Научно-исследовательский институт фармакологии, кафедра фармакологии и биофармации ФУВ

В экспериментах на половозрелых крысах обнаружено, что в действии нейроглутама (потенциальный психотропный препарат с анксиолитическим и антидепрессивным действиями) в дозах 26 мг/кг (терапевтическая доза) и 130 мг/кг (5-кратное увеличение терапевтической дозы), как при однократном, так и при длительном, 6-месячном интрагастральном введении, в тесте «открытое поле» преобладают эффекты активации двигательного поведения и снижения тревожности: повышение локомоторной, исследовательской активности, увеличение количества заходов в центр, уменьшение количества актов abortивного груминга. В поведенческой активности крыс, получавших нейроглутам в дозе 650 мг/кг (25-кратное увеличение терапевтической дозы), как при однократном, так и при длительном 6-месячном введении, преобладают эффекты седации: снижение локомоторной, исследовательской активности и количества заходов в центр, уменьшение количества актов abortивного груминга. Выявленные дозозависимые психотропные эффекты нейроглутама в дозах 26, 130 и 650 мг/кг регистрировались в одинаковой степени выраженности как при однократном, так и длительном введении животным, что позволяет сделать заключение об отсутствии развития толерантности к нему.

Ключевые слова: производные глутаминовой кислоты, нейроглутам, анксиолитики, антидепрессанты, толерантность, доклинические исследования.

DOI 10.19163/1994-9480-2019-2(70)-130-133

EFFECTS OF NEURALTICATE DURING LONG-TERM INTRODUCTION ON BEHAVIOUR OF MALE AND FEMALE RATS IN THE «OPEN FIELD»

L.I. Bugaeva, V.V. Bagmetova, Yu.V. Markina, A.A. Kolmakov, S.A. Lebedeva, Yu.V. Gorbunova

*FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation,
Research Institute of Pharmacology, Department of Pharmacology and Biopharmacy
of the faculty of physicians' improvement*

In experiments on mature rats, it was found that in the action of neuroglutamate (a potential psychotropic drug with anxiolytic and antidepressant effects) in doses of 26 mg/kg (therapeutic dose) and 130 mg/kg (5-fold increase in therapeutic dose) at both a single and a long-term 6-month course of intragastric administration, in the «open field» test the effects of activation of motor behavior and decrease in anxiety prevail: an increase in locomotor, exploratory activity, an increase in the number of visits in the centre, reduction in the number of abortive acts of grooming. In the behavioral activity of rats treated with neuroglutamate at a dose of 650 mg/kg (25-fold increase in the therapeutic dose), both at a single and a long 6-month course of administration, the effects of sedation prevailed: decrease of locomotor, exploratory activity and of visits to the centre, reduction in the number of acts of abortive grooming. The revealed dose-dependent effects of neuroglutamate – anxiolytic one at doses of 26 and 130 mg/kg and sedative at a dose of 650 mg/kg were registered during single and long-term administration to animals, which allows to conclude that there is no development of tolerance to it in animals.

Key words: derivatives of glutamic acid, neuroglutamate, anxiolytics, antidepressants, tolerance, preclinical studies.

Большинство имеющихся на сегодняшний день анксиолитиков обладает низкой широтой терапевтического действия, неудовлетворительной лекарственной безопасностью, широким спектром побочных эффектов, высоким риском развития толерантности и зависимости, что существенно ограничивает их клиническое применение [2]. Фармакологами Волгоградского государственного медицинского университета в сотрудничестве с химиками Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена на основе производного глутаминовой кислоты разработано новое средство с анксиолитическим и антидепрессантным действием – нейроглутам. В экспериментальных исследованиях показано, что нейроглутам проявляет выраженную анксиолитическую и антидепрессантную активность [6].

В отличие от большинства анксиолитиков и антидепрессантов нейроглутам не только не вызывает вялости и заторможенности, не нарушает памяти, внимания, а напротив, оказывает умеренное активирующее действие и повышает физическую работоспособность [6], проявляет ноотропные и нейропротекторные свойства [3]. Важно отметить, что нейроглутам обладает низкой токсичностью [1], что указывает на его потенциально высокую лекарственную безопасность. Поскольку одной из существенных проблем клинического применения анксиолитиков является развитие толерантности к ним при продолжительном приеме, важным представлялось изучение анксиолитического действия нейроглутама при длительном введении животным. На доклиническом этапе исследований нового средства с анксиолитическим действием

актуальным было также изучение возможных половых особенностей его фармакологической активности, поскольку известно, что как у животных, так и людей женского пола отмечается повышенная склонность к развитию тревожных и депрессивных состояний и большая чувствительность к действию анксиолитиков и антидепрессантов, по сравнению с мужским полом [4]. Поскольку нейроглутам проявляет активирующие свойства [6], целесообразным сочли использовать тест «открытое поле», позволяющий одновременно оценивать уровень тревожности, а также локомоторной и исследовательской активности у животных [5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния нейроглутама при длительном введении самцам и самкам крыс на поведение в «открытом поле».

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

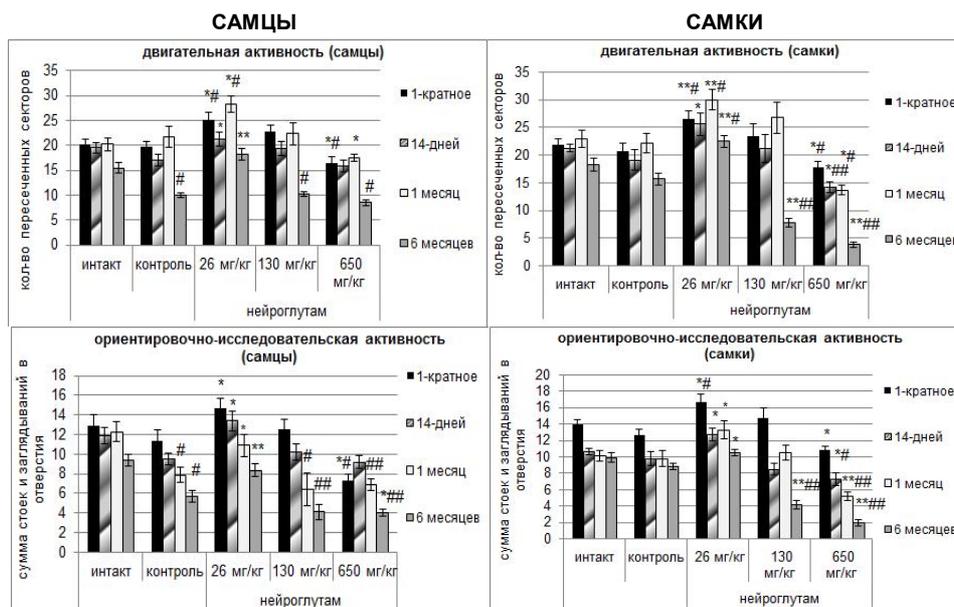
Исследование выполнено в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и требованиями Директивы 2010/63/еу Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, одобрены Региональным Исследовательским Этическим Комитетом Волгоградской области: протокол № 2033-2017 от 15.09.2017 г. Эксперименты проводили на белых нелинейных половозрелых крысах массой 180–220 г, 3,5–4-месячного возраста, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАМН. Нейроглутам использовали в экспериментально доказанной терапевтической дозе 26 мг/кг ($\approx 1/272$ от LD_{50}), 130 мг/кг (5-кратное увеличение экспериментально доказанной терапевтической дозы $\approx 1/55$ от LD_{50}), а также субтоксической 650 мг/кг (25-кратное увеличение экспериментально доказанной терапевтической дозы, приближается к $1/10$ от LD_{50}) дозах. Выбор доз основывался на результатах токсикологического исследования, а также данных изучения зависимости доза-эффект в психофармакологических тестах [6]. Субстанцию нейроглутама растворяли в дистиллированной воде и вводили животным внутрижелудочно (через зонд) ежедневно однократно в течение 14 дней, 1 месяца и 6 месяцев. Для каждого пола животных и курса введения были сформированы интактная группа крыс и контрольная группа, которой вводили внутрижелудочно дистиллированную воду в эквивалентном объеме соответствующим курсом. Анксиолитические и активирующие свойства нейроглутама изучали в стандартном психофармакологическом тесте: «открытое поле» (ООО «НПК Открытая Наука», Москва, Россия) [5]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007, (Microsoft, USA), Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., USA). Для проверки распределения на нормальность

использовали критерий Шапиро–Уилка. Статистический анализ данных выполняли с использованием рангового однофакторного анализа Краскела–Уоллиса, критерия Ньюмена–Кейлса. Статистически значимыми расценивались эффекты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

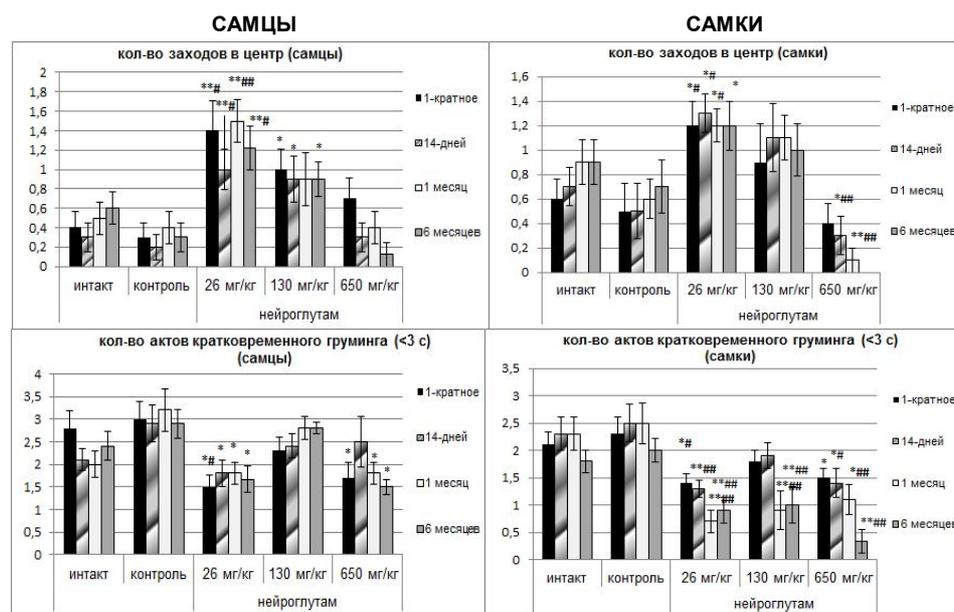
В тесте «ОП» нейроглутам в дозе 26 мг/кг как при однократном, так и при длительном введении в интервале от 14 дней до 6 месяцев проявлял активирующий эффект (повышал локомоторную и исследовательскую активность у животных), в большей степени выраженный у самок крыс. В дозе 130 мг/кг изучаемое соединение не вызывало изменений двигательной и исследовательской активности у самок и самцов крыс по сравнению с показателем контрольных животных, получавших дистиллированную воду, при 1-кратном, 14-дневном, 1-месячном введении, а после 6-месячного введения вызывало статистически значимое снижение данных видов поведенческой активности, в большей степени у самок. У животных, получавших нейроглутам в дозе 650 мг/кг как при однократном, так и при курсовом 14-дневном – 6-месячном введении, отмечалось снижение локомоторной и исследовательской активности, статистически значимо в большей степени выраженное у самок крыс, что указывает на наличие седативных свойств в этой дозе (рис. 1).

Как при однократном, так и при хроническом (14-дневном – 6-месячном) введении в дозе 26 мг/кг у нейроглутама регистрировался анксиолитический эффект, проявлявшийся в увеличении количества заходов в центр поля (в большей степени у самцов) и уменьшении вегетативных признаков тревожности – количества актов кратковременного абортивного груминга (в большей степени у самок крыс) (рис. 2). Нейроглутам в дозе 130 мг/кг статистически значимо увеличивал количество заходов в центр у самцов крыс, не влияя при этом на количество актов абортивного груминга, а у самок крыс не оказывал влияния на количество заходов в центр, но при длительном 1- и 6-месячном введении статистически значимо уменьшал количество актов кратковременного груминга, проявляя, таким образом, умеренные анксиолитические свойства в данной дозе. У самцов и, в большей степени, у самок крыс однократное и длительное введение нейроглутама в дозе 650 мг/кг сопровождалось статистически значимым снижением количества актов абортивного груминга, что говорит о снижении у них тревожности. Кроме того, у самок крыс, получавших нейроглутам в дозе 650 мг/кг длительно, начиная с 14-дневного введения, статистически значимо уменьшалось количество заходов в центр поля на фоне снижения локомоторной активности, что подтверждает наличие у нейроглутама седативных свойств в этой дозе.



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – по сравнению с контрольной группой животных, получавших дистиллированную воду; # $p < 0,05$; ### $p < 0,01$ – по сравнению с интактной группой животных (ранговый однофакторный анализ Краскела–Уоллиса, критерий Ньюмена–Кейлса).

Рис. 1. Влияние нейроглутамата при 1-кратном и хроническом введении самцам и самкам крыс на локомоторную и исследовательскую активность животных в «открытом поле» ($n = 8$)



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – по сравнению с контрольной группой животных, получавших дистиллированную воду; # $p < 0,05$; ### $p < 0,01$ – по сравнению с интактной группой животных (ранговый однофакторный анализ Краскела–Уоллиса, критерий Ньюмена–Кейлса).

Рис. 2. Влияние нейроглутамата при 1-кратном и хроническом введении самцам и самкам крыс на тревожность у животных в «открытом поле» ($n = 8$)

Таким образом, в «открытом поле» в терапевтических дозах 26 и 130 мг/кг нейроглутамат оказывал как при 1-кратном, так и при хроническом (до 6 месяцев) введении анксиолитическое действие, которое у самцов выражалось преимущественно в подавлении поведенческих признаков тревожности (увеличение заходов в центр), а у самок в подавлении вегетативных коррелятов тревоги (уменьшение количества актов abortивного груминга). Как показали настоящие исследования, при увеличении дозы от 26 до 130 мг/кг уменьшается выраженность анксиолитического эффекта нейроглутамата

и происходит инверсия его активирующего действия на седативное. В субтоксической дозе 650 мг/кг, превышающей в 25 раз терапевтическую дозу, сохраняются проявления анксиолитического действия и превалирует седативный эффект, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований [6]. В дозе 650 мг/кг нейроглутамат проявлял анксиолитическое, а также седативное действие как при однократном, так и длительном – до 6 месяцев введении, более выраженное у самок крыс. Самки крыс оказались более чувствительны, чем самцы как к активирующему действию нейроглутамата в дозе

26 мг/кг, так и к его седативному действию в дозе 650 мг/кг. Сохранение у нейроглутама в терапевтических и субтоксической дозах анксиолитического эффекта, а также активирующих свойств в дозе 26 мг/кг и седативных в дозе 650 мг/кг одинаковой выраженности как при однократном, так и при длительном введении свидетельствует об отсутствии развития толерантности к данному соединению у животных.

Механизм психотропного действия нейроглутама связан с его активирующим влиянием на ГАМК-ергическую нейротрансмиссию: он препятствует действию антагонистов ГАМК-рецепторов, усиливает эффекты агонистов; при субхроническом введении крысам способствует увеличению плотности ГАМК-А-рецепторов в префронтальной коре [7]. Нейроглютам, в отличие от большинства анксиолитиков, не связывается прямым образом с ГАМК-А-рецепторами, но вызывает увеличение их плотности, что способствует улучшению рецепторного связывания ГАМК, то есть активации естественной физиологической системы тормозной нейромедиации. Таким образом, нейроглютам обладает более физиологическим механизмом действия по сравнению с бензодиазепинами, что, вероятно, обеспечивает отсутствие у него бензодиазепино-подобных побочных эффектов, в том числе развитие толерантности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обнаружено, что в действии нейроглутама в дозах 26 мг/кг (терапевтическая доза) и 130 мг/кг (5-кратное увеличение терапевтической дозы), как при однократном, так и при длительном, 6-месячном интрагастральном введении, превалируют эффекты активации двигательного поведения и снижения тревожности в тесте «открытое поле»: повышение локомоторной, исследовательской активности, увеличение количества заходов в центр, уменьшение количества актов abortивного груминга. В поведенческой активности крыс, получавших нейроглютам в дозе 650 мг/кг (25-кратное увеличение терапевтической дозы), как при однократном, так и при длительном 6-месячном введении – превалируют эффекты седации: снижение локомоторной, исследовательской активности и количества заходов в центр, уменьшение количества актов abortивного груминга. Выявленные дозозависимые психотропные эффекты нейроглутама в дозах 26, 130 и 650 мг/кг регистрировались в одинаковой степени выраженности как при однократном, так и длительном его введении животным, что указывает на отсутствие развития толерантности к нему.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бугаева Л.И., Тюренок И.Н., Багметова В.В., Чернышева Ю.В., Кузубова Е.А. Острая токсичность субстанции гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2012. – № 4 (44). – С. 34–37.

2. Бурчинский С.Г. Синдром тревоги в неврологической практике: возможности и стратегии фармакотерапии // Семейная медицина. – 2016. – № 4 (66). – С. 107–110.

3. Волотова Е.В., Мазина Н.В., Куркин Д.В., Тюренок И.Н. Нейропротективное действие гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135) при недостаточности мозгового кровообращения у крыс // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2013. – № 1 (45). – С. 40–42.

4. Манвелян Э.А. Половая диссимилиация эффектов психотропных средств. – Ставрополь: Изд-во СГУ, 2008. – 106 с.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

6. Тюренок И.Н., Багметова В.В., Чернышева Ю.В., Меркушенкова О.В. Дозозависимое влияние гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты (нейроглутама) на поведение животных // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 8. – С. 196–201.

7. Тюренок И.Н., Багметова В.В., Робертус А.И., Васильева Е.В., Ковалев Г.И. Изучение ГАМК-ергических механизмов нейропсихотропного действия нейроглутама // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32, № 2. – С. 140–152.

REFERENCES

1. Bugaeva L.I., Tyurenkov I.N., Bagmetova V.V., Chernysheva YU.V., Kuzubova E.A. Ostraya toksichnost' substancii gidrohlorida β-fenilglutaminovoj kisloty pri odnokratnom vnutrizheludochnom vvedenii mysham i kryсам [Acute toxicity of β-phenylglutamic acid hydrochloride substance after a single intragastric administration to mice and rats]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2012, no. 4 (44), pp. 34–37. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Burchinskij S.G. Sindrom trevogi v nevrologicheskoj praktike: vozmozhnosti i strategii farmakoterapii [Anxiety syndrome in neurological practice: the possibilities and strategies of pharmacotherapy]. *Semejnaya medicina* [Family medicine], 2016, no. 4 (66), pp. 107–110. (In Russ.; abstr. in Engl.).

3. Volotova E.V., Mazina N.V., Kurkin D.V., Tyurenkov I.N. Neiroprotektivnoe dejstvie gidrohlorida β-fenilglutaminovoj kisloty (RGPU-135) pri nedostatochnosti mozgovogo krovoobrashcheniya u kryс [Neuroprotective effect of β-phenylglutamic acid hydrochloride (RGPU-135) with cerebral insufficiency in rats]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2013, no. 1 (45), pp. 40–42. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Manvelyan E.A. Polovaya dissimilyaciya effektov psihotropnyh sredstv [Sexual dissimilation of the effects of psychotropic drugs]. *Stavropol': Izd-vo SGU*, 2008. 106 p.

5. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv [Sexual dissimilation of the effects of psychotropic drugs]. *CHast' 1. Moscow: Grif i K*, 2012. 944 p.

6. Tyurenkov I.N., Bagmetova V.V., Chernysheva YU.V., Merkushenkova O.V. Dozozavisimoe vliyanie gidrohlorida beta-fenilglutaminovoj kisloty (nejroglutama) na povedenie zhivotnyh [Dose-dependent effect of beta-phenylglutamic acid (neuroglutam) hydrochloride on animal behavior]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny* [Bulletin of experimental biology and medicine], 2014, Vol. 158, no. 8, pp. 196–201. (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. Tyurenkov I.N., Bagmetova V.V., Robertus A.I., Vasil'eva E.V., Kovalev G.I. Izuchenie GAMK-ergicheskikh mekhanizmov nejropsihotropnogo dejstviya nejroglutama [Study of the GABA-ergic mechanisms of the neuropsychotropic action of neuroglutam]. *Nejrohimiya* [Neurochemistry], 2015, Vol. 32, no. 2, pp. 140–152. (In Russ.; abstr. in Engl.).

Контактная информация

Багметова Виктория Владимировна – д. м. н., с. н. с. лаборатории синтеза противовирусных средств НИИ фармакологии ВолгГМУ, e-mail: vvbagmetova@gmail.com