

## АНАЛИЗ УЧАСТИЯ ГАМК-БЕНЗОДИАЗЕПИНОВОГО РЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСА В МЕХАНИЗМЕ АНКСИОЛИТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПИРАЦЕТАМА

Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов, О. К. Мелетова, Н. В. Елиава<sup>1</sup>

Установлено, что бикикуллин, пикротоксин и флумазенил, блокирующие различные участки ГАМК-ергического рецепторного комплекса, уменьшают анксиолитический эффект пирацетама в тесте конфликтной ситуации. Наиболее выраженное влияние в отношении пирацетама оказывает флумазенил. Пирацетам при введении на фоне развившегося действия антагонистов устраняет эффекты флумазенила, но не бикикуллина и пикротоксина. Можно предположить, что противотревожное действие пирацетама в определенной степени опосредовано бензодиазепиновым участком ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса.

**Ключевые слова:** пирацетам, анксиолитическое действие, ГАМК-бензодиазепиновый рецепторный комплекс

### ВВЕДЕНИЕ

Ноотропные средства, в частности, пирацетам широко применяют при лечении когнитивных нарушений, обусловленных сосудистой патологией, черепно-мозговыми травмами, нейроинфекциями, задержкой развития в детском возрасте, дегенеративными процессами при старении и др. Кроме того, пирацетам обладает противотревожными, анксиолитическими свойствами, имеющими важное значение в реализации терапевтической эффективности препарата при сочетании когнитивных и невротоподобных расстройств [5]. Механизм действия пирацетама неясен. Показано, что он оказывает действие на холин- и адренергическую системы, изменяет функции митохондрий, влияет на синтез белка [1, 10].

Целью данного исследования является изучение участия ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса в механизме анксиолитического действия пирацетама.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу проводили на беспородных крысах-самцах массой 200–250 г. Для изучения анксиолитического эффекта применяли метод конфликтной ситуации [8]. Суть метода состоит в создании у животного сшибки (конфликта) между попыткой удовлетворения положительной (питьевой) мотивации и страхом получения наказания при попытках ее удовлетворения. Основным показателем по этому тесту является число наказуемых взятий воды, осуществляемых животным, несмотря на наказание. Кроме того, оценивали двигательную активность по показателю квадратов, пересеченных крысой на полу клетки. Сравнение показателей поведения проводили с уровнем, достигнутым во время тренировки, когда животные свободно получали воду (без наказания). В работе использовали многоканальную установку, разработанную в лаборатории психофармакологии ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН [3]. Сила наказуемого тока, подаваемого на поилку и пол камеры, состав-

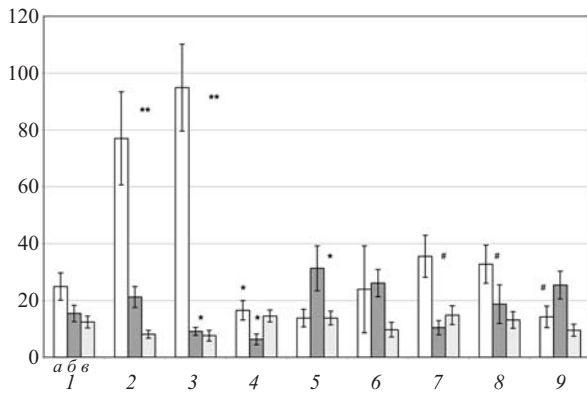
ляла 0,5 мА. Подробности метода описаны ранее [4, 7]. Непосредственно перед экспериментом регистрировали общее поведение животных: реакция на захват рукой, реакция на посто-ронний предмет, реакция на соседей в группе [11]. Каждую из этих реакций оценивали визуально по 5-балльной системе. Затем оценки суммировали для каждого животного и вычисляли средние оценки по группе. Пассивных животных выделяли по слабой исследовательской активности, они при взаимодействии с партнерами являлись подчиненными и не проявляли агрессивности. Активные крысы проявляли противоположный характер поведения и получали более высокие оценки в баллах.

В работе использовали пирацетам (ноотропил, ампулы по 5 мл 20% раствора фирмы “Олайнфарм”). Возможное участие в реализации анксиолитического эффекта пирацетама различных структур ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса оценивали с помощью фармакологических анализаторов: пикротоксина-блокатора ионного канала ГАМК<sub>A</sub>-рецептора (субстанция производства фирмы “MP Biochemicals”, США), антагониста ГАМК<sub>A</sub>-рецептора бикикуллина производства той же фирмы, антагониста бензодиазепинового рецептора флумазенила (Anexate<sup>®</sup> производства фирмы “F. Hoffmann- La Roche Ltd”, Швейцария, ампулы по 10 мл, содержащие 1 мг вещества). В качестве препарата сравнения использовали диазепам (субстанция производства фирмы “Polfa”, Польша).

Крыс случайным образом разделяли на группы по 10 животных. Крысам первой группы, служившей контролем, вводили изотонический раствор хлорида натрия. Животные второй группы получали пирацетам в дозе 400 мг/кг. В третьей группе животным вводили диазепам в дозе 5 мг/кг. Крысам четвертой, пятой и шестой групп вводили пикротоксин (1,5 мг/кг), бикикуллин (3 мг/кг) и флумазенил (5 мг/кг) соответственно [13]. В седьмой, восьмой и девятой группах крысам вводили последние три вещества-анализатора вместе с пирацетамом. Для более полной характеристики взаимодействия препаратов в специальных группах животных проводили повторные введения пирацетама на фоне развившегося эффекта антагонистов, то есть, вводили сначала пирацетам, затем антагонист, затем вновь пирацетам. Все вещества вводили так, чтобы пик их действия приходился на момент проведения эксперимента. Всего было использовано 124 крысы.

При статистической обработке вычисляли средние значения и доверительные интервалы при  $p < 0,05$ . Для определения достоверности между эффектами веществ и их комбинаций использовали однофакторный и двухфакторный дисперсионный анализ с использованием программы Statgraphics for Windows (v. 5.5) [2].

<sup>1</sup> Лаборатория психофармакологии (руководитель — проф. Т. А. Воронина) и лаборатория клинической психофармакологии (руководитель — проф. Г. Г. Незнамов) ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.



Влияние пирacetама и антагонистов ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса на поведение крыс в конфликтной ситуации.

1 — контроль; 2 — пирacetам, 400 мг/кг; 3 — диазепам, 5 мг/кг; 4 — пикротоксин, 1,5 мг/кг; 5 — бикуккуллин, 3 мг/кг; 6 — флумазенил, 5 мг/кг; 7 — пирacetам, 400 мг/кг + пикротоксин, 1,5 мг/кг; 8 — пирacetам, 400 мг/кг + бикуккуллин, 3 мг/кг; 9 — пирacetам, 400 мг/кг + флумазенил, 5 мг/кг.

*a* — число наказуемых взятий воды; *b* — двигательная активность (пересечений квадратов); *в* — общее поведение (баллы). По оси ординат — число регистрируемых событий. Различия достоверны при сравнении с контрольной группой: \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; # — с эффектом пирacetама,  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Животные контрольной группы с выработанным питьевым рефлексом при помещении в экспериментальную камеру пытаются утолить жажду, возникающую в результате двухсуточной депривации, но, получив наказание, оставляют эти попытки. Двигательная активность в контрольной группе снижается незначительно по сравнению с тренировкой, а общее поведение крыс характеризуется агрессивными реакциями (рисунок). Пирacetам достоверно повышает число наказуемых взятий воды, устраняя страх перед наказанием и проявляя анксиолитическое действие. Следует отметить, что анксиолитический эффект пирacetама не сопровождается снижением двигательной активности. Общее поведение крыс характеризуется спокойными реакциями (рисунок). По выраженности противотревожного действия пирacetам в исследованной дозе лишь незначительно уступает диазепаму в дозе 5 мг/кг. Двигательная активность после введения диазепамы существенно снижается, что соответствует данным о наличии у него седативного действия. Об-

щее поведение животных активно и неагрессивно, но более заторможено по сравнению с пирacetамом (рисунок). Пикротоксин значительно уменьшает число наказуемых взятий воды. Уменьшение этого показателя сопровождается значительным снижением двигательной активности, что, казалось бы, отражает седативное действие препарата, однако анализ общего поведения показывает высокую степень агрессивности животных (рисунок). Такой характер поведения отражает очень высокую степень тревожности. Бикуккуллин также уменьшает число наказуемых реакций, повышает двигательную активность и агрессивность (рисунок). Флумазенил не вызывает снижения числа наказуемых реакций, наоборот, у некоторых животных он повышает этот показатель. Однако это практически не отражается на среднем числе наказуемых реакций, хотя и увеличивает разброс данных. Флумазенил не влиял также на двигательную активность и не изменял общее поведение животных: оно оставалось активным и неагрессивным (рисунок). Полученные данные подтверждают имеющиеся сведения о наличии у флумазенила собственной анксиолитической активности [12].

Бикуккуллин проявляет антагонизм в отношении антиконфликтного эффекта пирacetама: число наказуемых взятий воды при комбинации снижается и становится меньше величин контрольной группы. В общем поведении проявляется агрессивность, однако двигательная активность остается повышенной (рисунок). Пирacetам при повторном введении не изменяет эффекты бикуккуллина (табл. 1). При совместном введении пирacetама и пикротоксина установлено, что этот антагонист также уменьшает антиконфликтное действие ноотропного средства, уменьшая число наказуемых реакций. При этом двигательная активность снижается еще сильнее по сравнению с эффектом одного пикротоксина, а в общем поведении проявляется крайняя агрессивность (рисунок). При повторном введении пирacetама на фоне развившегося эффекта пикротоксина устраняются некоторые эффекты антагониста: пирacetам незначительно повышает число наказуемых реакций и снижает агрессивность, измененные антагонистом. Флумазенил также ослаблял активность пирacetама в конфликтной ситуации, уменьшая число наказуемых реакций до уровня контрольной группы. Однако двигательная активность остается высокой, а в общем поведении отсутствует агрессивность или за-

Таблица 1. Влияние повторного введения пирacetама на антагонистический эффект бикуккуллина в конфликтной ситуации

Показатель	Контроль	Пирacetам, 400 мг/кг	Пирacetам + бикуккуллин, (400 + 1) мг/кг	Повторно пирacetам на фоне бикуккуллина, (400 + 1 + 400) мг/кг
Число наказуемых взятий воды	24,9 ± 4,8	77 ± 16,4*	15,75 ± 6,7*#	16,6 ± 5,4*#
Двигательная активность	15,4 ± 2,9	21,2 ± 3,7*	28,8 ± 6,8*	27,4 ± 4,8*
Общее поведение	12,4 ± 2,1	8,1 ± 1,4*	14,3 ± 2,9	14,5 ± 2,2

**Примечание.** Здесь и в табл. 2 различия достоверны ( $p < 0,05$ ): \* — в сравнении с контрольной группой, # — с эффектом пирacetама.

Таблица 2. Влияние повторного введения пирацетама на антагонистический эффект флумазенила в конфликтной ситуации

Показатель	Контроль	Пирацетам, 400 мг/кг	Пирацетам + флумазенил, (400 + 5) мг/кг	Повторно пирацетам на фоне флумазенила, (400 + 5 + 400) мг/кг
Число наказуемых взятий воды	24,9 ± 4,8	77 ± 16,4*	14,2 ± 3,8*#	59,4 ± 15,8*
Двигательная активность	15,4 ± 2,9	21,2 ± 3,7*	25,4 ± 4,9*	23,6 ± 3,9*
Общее поведение	12,4 ± 2,1	8,1 ± 1,4*	9,5 ± 2,1	7,8 ± 2,4

торможенность (рисунок). Пирацетам при повторном введении легко преодолевает проконфликтное действие флумазенила (табл. 2).

Ранее было установлено, что пирацетам при аппликации на кору большого мозга усиливает ГАМК-ергическое торможение в этой структуре. Бикукуллин, при аппликации на поверхность коры, устраняет эффект пирацетама [6], что прямо указывает на участие ГАМК в осуществлении некоторых эффектов последнего. В нашем исследовании наиболее отчетливый антагонизм в отношении поведенческих эффектов пирацетама проявил антагонист бензодиазепиновых рецепторов флумазенил, что дает основание предположить, что анксиолитическое действие пирацетама в определенной степени опосредовано бензодиазепиновыми рецепторами. Однако в радиолигандных исследованиях не был установлен факт прямого взаимодействия пирацетама с бензодиазепиновыми рецепторами [9], поэтому можно предположить, что это взаимодействие осуществляется каким-то другим способом. В настоящем исследовании установлено, что пирацетам и флумазенил могут легко изменять эффекты друг друга при повторных введениях, что сходно с эффектами веществ, действующих по механизму конкурентного антагонизма при взаимодействии на одном рецепторе.

Таким образом, все изученные антагонисты ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса купируют противотревожный эффект пирацетама, однако степень выраженности антагонизма различна, что отражает разное участие отдельных участков комплекса в осуществлении действия пирацетама.

## ВЫВОДЫ

1. Бикукуллин (3 мг/кг) — блокатор ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов — ослабляет антиконфликтное действие пира-

цетама. Пикротоксин (1,5 мг/кг) — блокатор ионного канала рецептора, также ослабляет анксиолитический эффект пирацетама. Пирацетам, введенный на фоне развившегося эффекта антагонистов, не изменяет их действие.

2. Флумазенил (5 мг/кг), блокатор бензодиазепинового рецептора ГАМК-бензодиазепин-хлорионофорного комплекса, ослабляет действие пирацетама, однако его эффект устраняется при повторном введении пирацетама.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, *Вестн. РАМН*, № 11, 16 – 21 (1998).
2. В. Дюк, *Обработка данных на ПК в примерах*, Питер, Санкт–Петербург (1997).
3. Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, *Экспер. и клин фармакол.*, **58**(2), 54 – 56 (1995).
4. Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, Е. Я. Рамхин, Ж. Алдармаа, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(4), 3 – 6 (2002).
5. Г. Г. Незнамов, С. А. Сюняков, И. А. Давыдова, В. С. Телешова, *Ж. невропатол. и психиатрии*, **200**(6), 33 – 37 (2000).
6. Р. У. Островская, Г. М. Молодавкин, Г. И. Ковалев, *Бюл. экпер. биол.*, № 4, 62 – 64 (1982).
7. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Е. Б. Бурлакова и соавт., *Ж. высш. нервн. деят.*, **44**(4 – 5), 834 – 839 (1994).
8. J. E. Barrett, *Advances in Pharmacological Sciences*, Basel, 37 – 52 (1991).
9. В. Berling and W. E. Muller, *Arzneimittelforschung*, **35**(9), 1350 – 1352 (1985).
10. A. N. Gouliayev and A. Senning, *Brain Res.*, Rev. 19, 180 – 222 (1994).
11. J. A. Ihalaainen, P. Riekkinen, Jr., and M. G. Feenstra, *Neurosci. Lett.*, **277**, 71 – 74 (1999).
12. F. Kapczinski, H. V. Curran, J. Gray, and M. Lader, *Psychopharmacology*, **114**, 187 – 189 (1994).
13. E. I. Tietz, X. J. Zeng, S. Chen, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **291**, 932 – 942 (1999).

Поступила 02.11.05

## PARTICIPATION OF GABA – BENZODIAZEPINE RECEPTOR COMPLEX IN THE ANXIOLYTIC EFFECT OF PIRACETAM

G. M. Molodavkin, T. A. Voronina, G. G. Neznamov, O. K. Meletova, and N. V. Eliava

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

It is established that bicuculline, picrotoxin, and flumazenil (agents blocking different sites of GABA receptor) decrease the anxiolytic effect of piracetam as manifested in the conflict situation test. The most pronounced interaction was observed between piracetam and flumazenil. On the background of antagonist action, piracetam inhibited the effects of flumazenil (but not those of bicuculline and picrotoxin). Based on these data, it is assumed that the anxiolytic effect of piracetam is mediated to some extent by benzodiazepine site of the GABA-benzodiazepine receptor complex.