НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИДЕПРЕССИВНЫХ СВОЙСТВ ГБ-115

Л. Г. Колик[1]

Ранее показано, что ГБ-115, дипептидый аналог эндогенного холецистокинина, обладает анксиолитическими свойствами, проявляющимися преимущественно у животных с “пассивным” фенотипом эмоционально-стрессовой реакции. Целью настоящей работы явилось изучение возможных антидепрессивных свойств соединения ГБ-115 в тесте “вынужденного плавания” на беспородных и инбредных мышах линий BALB/c и C57BL/6 с различным уровнем тревожности. Установлено, что ГБ-115 (0,025 мг/кг внутрибрюшинно) значительно сокращает время иммобилизации у всех животных, уступая амитриптилину (10 мг/кг). Отсутствие влияния ГБ-115 на спонтанную двигательную активность мышей вне стрессовой ситуации позволяет предположить наличие антидепрессивного компонента в спектре фармакологической активности ГБ-115, проявление которого не зависит от фенотипа эмоционально-стрессовой реакции.

Ключевые слова: мыши BALB/c и C57BL/6, антидепрессивное действие, антагонист ХЦК$_2$-рецепторов

ВВЕДЕНИЕ

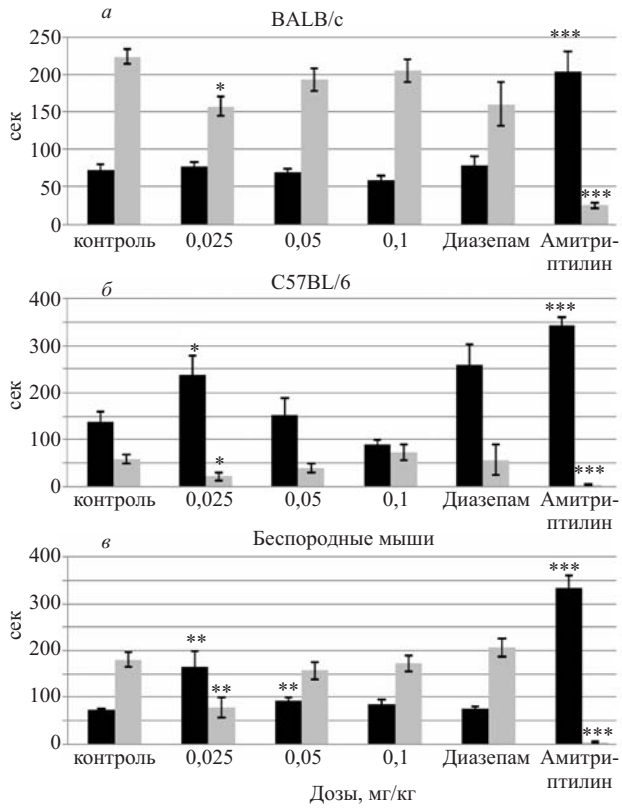
Согласно эпидемиологическим оценкам ВОЗ, депрессия является одним из распространенных психических заболеваний и охватывает около 21 % населения [12]. Несмотря на популярность моноаминергической гипотезы, в соответствии с которой симптомы депрессии, такие как агедония, потеря аппетита, необоснованное чувство вины, психомоторное возбуждение, являются результатом нарушения серотонинергических, адренергических и дофаминергических процессов в ЦНС, в последние годы вырос интерес к центральным пептидергическим системам как мишеням для создания новых антидепрессантов [7 – 9, 11]. Сегодня имеются основания полагать, что активность холецистокининовой (ХЦК) системы сопряжена с рядом нейрохимических процессов, вовлеченных в формирование эмоциональных состояний, обусловленных опиоидергическими и дофаминергическими механизмами, и в этом смысле ХЦК-система может рассматриваться в качестве мишени для терапии депрессивных состояний. Ранее показано, что соединение ГБ-115, дипептидный аналог эндогенного холецистокинина, синтезированный в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН [1], обладает выраженными анксиолитическими свойствами преимущественно у животных с “пассивной” реакцией на эмоциональный стресс [2]. Целью настоящей работы явилось изучение антидепрессивных свойств соединения ГБ-115 в тесте “вынужденное плавание” на животных с различным фенотипом эмоционально-стрессовой реакции.

[1] НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, 12531, Москва, ул. Балтийская, 8.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на беспородных мышах-самцах массой 18 – 22 г и инбредных мышах-самцах линии BALB/c и C57BL/6 массой 20 – 22 г (питомник Столбовая РАМН). Животных содержали по 15 особей в клетке в стандартных условиях вивария НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН со свободным доступом к воде и брикетированному корму в течение 10 дней до начала тестирования при естественном освещении. В работе использовали тест “вынужденного плавания”, выполненный в соответствии с методом Порсолта [15]. Вертикальный стеклянный цилиндр (высота 25 см, 14 см в диаметре) наполняли водой (25 °C) на глубину 20 см. Для тестирования каждое животное помещали в цилиндр на 6 мин. Регистрировали латентный период первого зависания и продолжительность иммобилизации. Влияние ГБ-115 на спонтанную двигательную активность (СДА) мышей изучали на приборе Optovarimex (“Columbus Instruments”, США). СДА фиксировали в течение 10 мин с помощью инфракрасных датчиков. Полученная величина двигательной активности была суммарной для трех испытуемых животных. Соединение ГБ-115 вводили животным в виде суспензии с Твин-80 за 20 мин до тестирования. В качестве контроля использовали водно-твиновый раствор. Все наблюдения проводили с 10:00 до 15:00 в осенне-зимний период. ГБ-115 ($Ph(CH_2)_5CO$-Gly-D-Trp-NH_2) в дозах 0,025; 0,05 и 0,1 мг/кг, амитриптилин (“Sigma”) в дозе 10 мг/кг, диазепам (“Sigma”) в дозе 1 мг/кг вводили. Трициклический антидепрессант амитриптилин использовали в качестве позитивного контроля, а анксиолитик диазепам — в качестве отрицательного кон-

© 2011 Коллектив авторов



Влияние ГБ-115 на поведение мышей в тесте “вынужденное плавание”.

По оси абсцисс — изучаемые соединения и их дозы; по оси ординат — латентный период реакции зависания животных и время иммобилизации (в сек). Темные столбики — латентный период зависания, светлые — время иммобилизации.
* — $p < 0{,}05$, ** — $p < 0{,}01$, *** — $p < 0{,}001$ по сравнению с контрольной группой согласно непараметрическому критерию Mann-Whitney U Test для независимых групп; данные представлены в виде M ± SEM; в каждой группе от 8 до 10 животных.

троля. Субстанции ГБ-115 и диазепама растворяли в воде с добавлением Твин-80, амитриптилин — в дистиллированной воде. Все препараты вводили внутрибрюшинно из расчета 0,1 мл/10 г. Статистическую обработку данных проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим использованием непараметрического критерия Mann-Whitney U Test для независимых групп. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием стандартного набора программ пакета Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлены различия в поведении инбредных животных в тесте Порсолта. По времени иммобилизации и латентному периоду зависания были зафиксированы межлинейные различия у BALB/c и C57BL/6 ($p < 0{,}001$), что согласуется с данными литературы [14]. Мыши из беспородной популяции по своим поведенческим характеристикам имели сходство с животными с “пассивным” фенотипом ЭСР — BALB/c. Впервые показано, что ГБ-115 в дозе 0,025 мг/кг статистически значимо ($p < 0{,}05$) уменьшает время иммобилизации у мышей BALB/c, не влияя на латентный период реакции зависания ни в одной из изученных доз (рисунок, *а*). У мышей линии C57BL/6, отличающихся активной реакцией на стресс, ГБ-115 в дозе 0,025 мг/кг уменьшает время иммобилизации ($p < 0{,}05$) и увеличивает латентный период реакции зависания ($p < 0{,}05$), уступая в этом отношении амитриптилину (рисунок, *б*). У беспородных мышей ГБ-115 уменьшает время иммобилизации ($p < 0{,}05$) в дозе 0,025 мг/кг и увеличивает латентный период реакции зависания в дозах 0,025 мг/кг и 0,05 мг/кг ($p < 0{,}05$), также уступая по эффективности амитриптилину (рисунок, *в*). Диазепам не влияет на регистрируемые показатели ни у инбредных, ни у беспородных животных (рисунок, *а – в*). Учитывая, что анксиолитик диазепам не изменяет поведение животных в тесте “вынужденного плавания”, можно предположить, что действие ГБ-115 не связано с анксиолитическими свойствами, а определяется наличием антидепрессивного компонента в спектре его фармакологической активности.

Установлено, что ГБ-115 (0,025 мг/кг) не изменяет уровень СДА у мышей (таблица). Отсутствие влияния ГБ-115 на СДА вне стрессовой ситуации (“Optovarimex”) наряду с активацией поведения животных в условиях “вынужденного плавания” свидетельствует о его антидепрессивноподобных, а не психостимулирующих свойствах.

Как известно, ХЦК вовлечен в нейрофизиологию тревожных состояний, депрессии, психозов, когнитив-

Влияние соединения ГБ-115 на спонтанную двигательную активность инбредных мышей линий BALB/c и C57BL/6

Линия мышей	Группы животных	Доза, мг/кг	Число животных	Общее кол-во перемещений
BALB/c	Контроль	–	7	2387,3 ± 232,5
	ГБ-115	0,025	7	2261,4 ± 193,2 $p = 0{,}6698$
C57BL/6	Контроль	–	8	1178,5 ± 237,0*
	ГБ-115	0,025	8	1097,0 ± 177,3 $p = 0{,}7697$
Беспородные	Контроль	–	7	2379,0 ± 122,8
	ГБ-115	0,025	7	1956,2 ± 209,5 $p = 0{,}5606$

Примечание. Данные представлены в виде M ± SEM; в состав каждой группы входят 3 животных; статистически достоверных отличий по сравнению с контрольной группой не установлено; * — $p < 0{,}001$ статистически достоверные отличия между группами BALB/c (контроль) и C57BL/6 (контроль), непараметрический критерий Mann-Whitney U Test.

ных способностей, ноцицепции и пищевого поведения [13]. Октапептид ХЦК, одна из наиболее распространенных форм нейропептида в мозге млекопитающих, взаимодействует с двумя типами рецепторов — $ХЦК_1$ и $ХЦК_2$ и участвует в реализации многочисленных физиологических функций.

Однако роль ХЦК в развитии депрессивно-подобных состояний на сегодняшний день изучена недостаточно полно. Согласно [6], блокада центральных холецистокининовых рецепторов ($ХЦК_2$) у мышей способствует ослаблению экспериментальной депрессии. Данный эффект купируется налтриндолом, свидетельствуя об участии опиоидных дельта-рецепторов в реализации антидепрессивной активности антагонистов $ХЦК_2$ рецепторов [6]. Селективный антагонист $ХЦК_2$ рецепторов L-365,260 вызывает антидепрессивный ответ у мышей в тесте “вынужденного плавания”, который не проявляется при предварительном введении как октапептида ХЦК, BC-264 (селективный агонист $ХЦК_2$ рецепторов), так и SCH-23,390 (антагонист D_1-рецепторов) и сульпирида (антагонист D_2-рецепторов). Предполагается, что блокада $ХЦК_2$ рецепторов вызывает увеличение содержания внеклеточного дофамина в ряде областей мозга, ответственных за развитие депрессии [10]. Иммунизация белых крыс к $ХЦК_4$ приводит к длительному (более двух месяцев) подавлению депрессивных и тревожных состояний у животных [4]. Установлено [5], что продолжительный (в течение 4 недель) социальный конфликт у крыс увеличивает время иммобилизации в тесте Порсолта, снижает массу тела и уменьшает потребление сладкой воды, то есть вызывает изменения, которые рассматриваются как поведенческие и биологические корреляты депрессивных симптомов у человека. Однако при хроническом введении (25 дней) антагонист $ХЦК_2$ рецепторов CI-988, подобно имипрамину, нормализует время иммобилизации в тесте “неизбегаемого плавания” и предотвращает гиперактивацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, индуцируемую многократным социальным поражением [5]. Учитывая изложенное, а также выявленный функциональный антагонизм ГБ-115 с $ХЦК_4$, агонистом $ХЦК_2$-рецепторов, в опытах *in vivo* [3], полученные в настоящей работе данные позволяют предположить наличие антидепрессивных свойств у соединения ГБ-115, которые реализуются за счет взаимодействия с ХЦК-системой.

ВЫВОДЫ

1. Соединение ГБ-115 (0,025 мг/кг внутрибрюшинно) сокращает время иммобилизации в тесте “вынужденного плавания” у беспородных и инбредных мышей линий C57BL/6 и BALB/c.

2. Отсутствие влияния ГБ-115 на спонтанную двигательную активность мышей вне стрессовой ситуации позволяет сделать вывод о наличии антидепрессивного компонента в спектре фармакологической активности ГБ-115, проявление которого не зависит от фенотипа эмоционально-стрессовой реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Гудашева, Е. П. Кирьянова, Л. Г. Колик и др., *Биоорган. химия*, **33**(4), 413 – 20 (2007).
2. Л. Г. Колик, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Бюлл. экспер. биол.*, **5**, 519 – 23 (2003).
3. С. Б. Середенин, Т. А. Гудашева, Л. Г. Колик и др., Патент на изобретение № 2227144, М:, 2004.
4. I. P. Ashmarin, R. A. Danilova, O. L. Rud’ko, et al., *Span J. Psychol.*, **9**(2), 219 – 27 (2006).
5. C. Becker, B. Zeau, C. Rivat, et al., *Mol. Psychiatry*, **13**(12), 1070 – 92 (2008).
6. M. Derrien, C. Durieux, B. P. Roques, *Br. J. Pharmacol.*, **111**(3), 956 – 60 (1994).
7. C. Ducottet, G. Gribel, C. Belzung, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **27**, 625 – 631 (2003).
8. D. Georgescu, R. M. Sears, J. D. Hommel, et al., **25**, 2933 – 2940 (2005).
9. G. Griebel, J. Stemmelin, C. S. Gal, et al., *Curr. Pharm. Des.*, **11**, 1549 – 59 (2005).
10. F. Hernando, J. A. Fuentes, B. P. Roques, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **22**, **261**(3), 257 – 63(1994).
11. I. Herpfer and K. Lieb, *CNS Drugs*, **19**, 275 – 93 (2005).
12. Lee E. Schechter, R. H. Ring, C. E. Beyer, et al., *NeuroRx*, **2**, 590 – 611 (2005).
13. F. Noble, *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**(12), 1173 – 9 (2007).
14. M. Norcross, M. Poonam, A. J. Enoch, et al., *Psychopharmacology (Berl)*, **200**(3), 413 – 24 (2008).
15. R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **229**, 327 – 36 (1977).

Поступила 09.09.10

EXPERIMENTAL STUDY OF ANTIDEPRESSANT-LIKE EFFECTS OF GB-115 DIPEPTIDE

L. G. Kolik

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

It was previously reported that GB-115 [$Ph(CH_2)_5CO$-Gly-D-Trp-NH_2], a tryptophan-containing dipeptide analog of endogenous CCK4, exhibited pronounced anxiolytic effects in behavioral models of anxiety targeted on the “passive” phenotype of the emotional stress reaction. The aim of the present work was to study the modulator action of GB-115 (0.0125 – 0.1 mg/kg, i.p.) on emotional processes in both mongrel and inbred (BALB/c and C57Bl/6) mice with opposite emotionality in Porsolt’s test. GB-115 injected at a dose of 0.025 mg/kg led to a decrease in the immobilization time in all animals tested. The effect observed was less potent than that of amitriptyline(10 mg/kg). In contrast to the case of BALB/c mice, GB-115 increased the latent period in both C57Bl/6 mice with active type of behavior and in mongrel mice. There were no changes in spontaneous locomotor activity after the acute administration of GB-115 in inbred and mongrel mice. It was found that GB-115 at an anxiolytic dose produced antidepressant-like effects independently of the genetically controlled emotional stress reaction phenotype. These results indicate that the novel dipeptide analog of CCK4 may have potential in the clinical management of concurrent anxiety and depression.

Key words: GB-115, antidepressant effect, CCK2 antagonist, BALB/c mice, C57BL/6 mice