

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

О КОМПЕНСАТОРНЫХ СВОЙСТВАХ СЕЛАНКА ПРИ МНЕСТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ ФУНКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ НА НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ МОЗГА КРЫС

И. И. Козловский¹, Ю. Ф. Белозерцев², Т. П. Семенова³, А. В. Зуйков³, М. М. Козловская¹

В опытах на крысах Вистар с деструкцией норадренергической (НА) системы мозга, вызванной дисульфирамом, 6-гидроксиаминамином (6-ОНДА) и воздействием гипоксической гипоксии с гиперкапнией, установлены НА-протекторные свойства пептидного анксиолитика селанка. Показана его способность компенсировать нарушения обучения и памяти, обусловленные воздействием этих нейротоксических факторов. Ускорение процессов консолидации и воспроизведения (до 30 сут) свидетельствуют о стимуляции селанком мотивационных механизмов мозга при их снижении вследствие деструкции НА-ергических систем мозга.

Ключевые слова: селанк, дисульфирам, 6-ОНДА, гипоксия, норадренергическая система мозга, условно-рефлекторное поведение

ВВЕДЕНИЕ

Экспериментально установлено, что гипоксические и нейротоксические поражения мозга вызывают повреждения нейронов эмоциогенных структур, сопровождаются нарушением обмена моноаминов и могут являться патогенетическим фактором глубоких нарушений физиологических функций, когнитивных и мнестических процессов [1, 3–5]. Распространенность такого рода нарушений обуславливает актуальность поиска их фармакологической коррекции и предупреждения. Большое значение в адекватной регуляции разных форм патологии поведения и мнестических функций в настоящее время придается биологически активным пептидам [2, 8, 9, 11, 12]. Ранее нами было установлено, что гептапептид семейства тафтсина селанк и созданный на его основе анксиолитик селанк улучшает мнестические процессы у крыс с исходно сниженной способностью к обучению и у интактных животных [6–8, 10]. Селанк нормализует поведение и обмен моноаминов мозга у крыс, которые перенесли антенатальную гипоксию [12, 13, 15].

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение компенсаторных свойств пептидного препарата селанка на обучение и память крыс при остром и хроническом повреждении норадренергической

(НА) системы мозга, вызванном блокатором синтеза НА дисульфирамом, нейротоксическим воздействием острой гипоксической гипоксии с гиперкапнией и хроническим нарушением метаболизма НА при постнатальном введении 6-ОНДА.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 82 крысах-самцах линии Вистар массой 200–220 г. Изучение свойств селанка на мнестические функции при их экспериментально вызванном остром и хроническом нарушении изучали в опытах с выработкой условной реакции активного избегания (УРАИ) и обучением крыс условно-рефлекторной пищевой двигательной реакции (УПДР).

Обучение крыс УРАИ проводили в Т-образном лабиринте при негативном подкреплении (электрокожное раздражение, 1,5 мА, 10 с), подаваемом после 10 с условного светового сигнала. Длительность всего сеанса обучения включала 100 проб с интервалом 90 с. Регистрировали: критерий становления временной связи УРАИ — число проб (сеансов) с безусловным подкреплением, необходимых для выполнения УРАИ дважды подряд; критерий обученности — число проб (сеансов) с безусловным подкреплением, необходимых для выполнения 6 безошибочных реакций УРАИ подряд; время выхода в безопасный (правый) рукав Т-образного лабиринта (с); общее время выполнения УРАИ (с) и время, потраченное на исправление ошибок (с).

Обучение крыс УПДР проводили в камере размером 150 × 16 × 23 см, разделенной на 3 отсека: стартовый, центральный, целевой. Условным сигналом служило открывание дверцы стартового отсека для побе-

¹ Лаборатория фармакогенетики (зав. — акад. РАМН С. Б. Середенин) ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

² Кафедра фармакологии (зав. — проф. Ю. А. Белозерцев) ЧГМА, Чита, 672090, ул. Горького, 39 а.

³ Лаборатория механизмов природных гипометаболических систем (зав. — Н. М. Захарова) ИБК РАН, Московская обл., Пушкино, 142290, ул. Институтская, 3.

га животного через центральный отсек в целевой, где после нажатия педали крыса получала положительное подкрепление (хлебную таблетку массой 50 мг). Проводили 30 тренировок в течение 1 дня при максимальной длительности сеанса обучения 90 с. Невыполнение реакции считали ошибкой. Выработку УПДР проводили на фоне пищевой мотивации, которая создавалась ограничением диеты в течение 7 суток. Регистрировали: число условно-рефлекторных реакций, число ошибочных реакций и среднее время выполнения УПДР (с). Через 7 и 30 суток регистрировали также среднее время сохранения навыка: выполнение 10 пробежек длительностью не более 30 с.

Острое или хроническое нарушение процессов обучения и памяти у взрослых крыс вызывали блокаторм синтеза НА дисульфирамом, нейротоксическим воздействием на крыс гиперкапнической гиперкапнии, введением нейротоксина 6-ОНДА в ранний постнатальный период.

Острое нарушение синтеза НА вызывали дисульфирамом в дозах 150 и 300 мкг/кг, внутривентриально, за 4 ч до проведения опыта. Содержание НА и дофамина (ДА) в мозге крыс определяли по ранее опубликованному методу Ю. А. Белозерцева с использованием спектрофлуориметра фирмы “Хитачи” и стандартов НА и ДА фирмы “Серва”. Острое нейротоксическое повреждение НА-системы у крыс вызывали воздействием гипоксической гипоксии с гиперкапнией. Для этого крыс помещали в гермокамеру объемом 1000 мл на 40 мин. Избирательную хроническую деструкцию норадренергических нейронов и терминалей вызывали нейротоксином 6-гидроксидофамином (6-ОНДА, “Сигма”, США) в дозе 100 мг/кг, подкожно, в первые трое суток после рождения животных по ранее опубликованному методу [12].

При изучении действия препарата селанка использовали субстанцию гептапептид селанк, которая является его действующим началом (субстанция предоставлена Институтом молекулярной генетики РАН). Водный раствор гептапептида селанка вводили в дозах 300 и 500 мкг/кг, внутривентриально, в объеме 0,4 мл. Крысам, предварительно получавшим дисульфирам и подвергнутым нейротоксическому воздействию гипоксической гипоксии с гиперкапнией, селанк вводили за 20 мин до тестирования выработки УРАИ. Крысам, получавшим 6-ОНДА, вводили селанк после проведения первых 10 тренировок. Через 15 мин обучение УРАИ было продолжено. Две контрольные группы составляли крысы с интактной НА-системой, которым вводили гептапептид либо физраствор в эквивалентных объемах. Тестирование проводили по описанным выше схемам.

Статистическую достоверность различий между группами контроля и опыта оценивали с использова-

нием *t*-критерия Стьюдента и пакета стандартных программ Статистика.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дисульфирам в дозе 150 мкг/кг вызывал снижение уровня НА на 35–40 %, в дозе 300 мкг/кг — на 65–70 % ($p < 0,05$) в ряде эмоциогенных структур мозга, что согласуется с результатами других исследователей [12, 17]. При снижении функциональных возможностей НА-ергической системы мозга выработка УРАИ достоверно нарушалась (табл. 1). Крысы, не способные к выработке УРАИ, составляли около 1/3 группы. У остальных крыс наблюдали значительное замедление процесса формирования и упрочения УРАИ. Для достижения критерия обученности у этих крыс требовалось в 2 раза больше тренировок. Время для достижения этого критерия возрастало на 70 % по сравнению с контролем. Время, необходимое для исправления ошибок, возрастало почти в 4 раза (табл. 1). Селанк оказывал стимулирующее действие в отношении процессов обучения УРАИ у животных, получавших дисульфирам. Число тренировок (проб, необходимых для достижения критерия обученности), время, затраченное на обучение, время для исправления ошибок значительно сокращались, частота выполнения УРАИ возрастала ($p < 0,005$ для всех показателей, табл. 1). При сопоставлении показателей формирования УРАИ можно констатировать, что ведущим фактором улучшения обучаемости животных, нарушенной введением дисульфирама, является стимулирующее действие селанка на поиск адекватного приспособительного ответа уже в первых пробах (сеансах) обучения, а также ускоренное достижение критерия обученности вырабатываемому навыку. Повышение скорости выполнения двигательной части реакции свидетельствует о стимуляции мотивационных механизмов мозга [14], направленных на достижение полезного результата, активация которых на фоне селанка была показана нами в ранее выполненных исследованиях [6, 12, 13].

Комплексное воздействие на крыс среды с высоким уровнем гипоксии и гиперкапнии приводит к деструктивным нарушениям процесса обучения (табл. 2). Число проб (тренировок) для достижения критерия обученности УРАИ возрастало в 2,4 раза, число тренировок, необходимых для получения первых двух правильных ответов, возрастало в 3,16 раза, время поиска выхода в безопасный коридор лабиринта увеличивалось в 1,8 раза ($p < 0,005$ для всех показателей). Селанк в дозе 300 мкг/кг практически не влиял, а в дозе 500 мкг/кг ослаблял выраженность деструктивного воздействия гипоксии на формирование процесса обучения УРАИ (табл. 2). Однако показатели, характеризующие динамику становления УРАИ и достижения

Таблица 1. Влияние селанка на дефекты формирования условной реакции активного избегания (УРАИ), вызванные дисульфирамом

| Вещество, доза, число крыс в группе (n) | Показатели выработки УРАИ | | | | |
|---|---|--|-------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| | Критерий становления УРАИ (число проб) ¹ | Критерий обученности (число проб) ² | Время поиска правильного решения, с | Время выполнения реакции, с | Время исправления ошибок, с |
| Физиологический раствор (n = 7) | 6,0 ± 0,7 | 13,7 ± 1,6 | 18,9 ± 2,2 | 3,7 ± 0,4 | 1,3 ± 0,2 |
| Селанк, 500 мкг/кг (n = 7) | 4,7 ± 0,5 | 7,1 ± 1,3 ⁺⁺ | 7,1 ± 1,1 | 3,1 ± 0,4 | 0,76 ± 0,3 ⁺ |
| Дисульфирам, 300 мкг/кг (n = 12) | 4,5 ± 0,5 (- 25) | 36,8 ± 2,4 ⁺⁺ (+ 191) | 32,2 ± 4,1 ⁺ (+ 70) | 3,7 ± 0,5 (0) | 6,2 ± 0,9 ⁺ (378) |
| Дисульфирам, 300 мкг/кг + селанк 500 мкг/кг (n = 9) | 4,7 ± 0,5 [+ 4] | 7,1 ± 1,3* [- 81] | 7,1 ± 1,1 ^{**} [- 71] | 3,1 ± 0,4 [- 20] | 0,76 ± 0,3 ^{***} [- 87] |

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 отличия достоверны между: контрольными крысами, получавшими селанк, и опытной группой: ⁺ — $p < 0,01$, ⁺⁺ — $p < 0,001$; крысами, получавшими дисульфирам и селанк: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$. В круглых скобках — изменения показателей по отношению к контролю, %, в квадратных скобках — по отношению к животным другой опытной группы, %. n — число реакций. ¹ — критерий становления УРАИ — число проб для выполнения УРАИ впервые дважды подряд, ² — критерий обученности — число проб для выполнения 6 безошибочных реакций подряд.

Таблица 2. Влияние селанка на дефекты формирования условной реакции активного избегания (УРАИ), нарушенной нейротоксическим действием гипоксии с гиперкапнией

| Вещество, доза, число крыс в группе (n) | Показатели выработки УРАИ | | | | |
|--|---|--|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| | Критерий становления УРАИ (число проб) ¹ | Критерий обученности (число проб) ² | Время поиска правильного решения, с | Время выполнения реакции, с | Время исправления ошибок, с |
| Физиологический раствор (n = 7) | 6,0 ± 0,7 | 13,7 ± 1,6 | 18,9 ± 2,2 | 3,7 ± 0,4 | 1,3 ± 0,2 |
| Селанк, 500 мкг/кг (n = 9) | 6,1 ± 0,7 (+ 1,67) | 7,8 ± 1,1* (- 43,07) | 16,5 ± 1,6 (- 12,7) | 3,2 ± 0,3 (- 13,51) | 0,82 ± 0,3* (- 36,93) |
| Гипоксия с гиперкапнией + физраствор (n = 12) | 19,0 ± 4,4* (+ 216,67) | 32,6 ± 4,1* (+ 139,96) | 34,6 ± 4,2* (+ 83,07) | 0,4 ± 0,3 (+ 89,2) | 1,2 ± 0,2 (- 7,69) |
| Гипоксия с гиперкапнией + селанк, 500 мкг/кг (n = 9) | 16,3 ± 2,2* [- 14, 21] (+ 171,67) | 31,2 ± 4,0* [- 4, 29] (+ 127,74) | 21,2 ± 3,2 [- 38, 73] (+ 12,17) | 3,8 ± 0,4 [+ 850] (+ 2,7) | 1,4 ± 0,2 [+ 16, 67] (+ 7,69) |

критерия обученности, оставались ниже по сравнению с группой контрольных интактных крыс. Селанк не оказывал протекторного действия на процесс обучения УРАИ при его введении до нейротоксического воздействия гипоксии, что, по-видимому, характеризует особенность формирования ноотропного действия селанка [9, 12, 17].

У взрослых крыс (возраст 90 дней), неонатально получавших 6-ОНДА, выявлено значительное и достоверное снижение уровня НА на 84, 78 и 69 % ($p < 0,005$) в области неокортекса, гиппокампа и гипоталамуса, соответственно. Это согласуется с результатами наших предыдущих исследований, в которых было показано ослабление флюоресценции в области супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса [16]. Поведение этих животных характеризовалось нарушением процессов формирования УПДР [15]. Число правильно выполненных условно-рефлек-

торных реакций значительно и достоверно снижалось, а число ошибок и время выполнения реакций возрастало более чем в 2 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. При тестировании сохранения реакции через 7 и 30 сут все показатели ее выполнения также оставались достоверно сниженными в 1,5 – 2 раза по сравнению с контролем (табл. 3). На фоне введения селанка у животных с хроническим повреждением НА-системы происходило восстановление показателей обучения и памяти. При формировании УПДР число правильных реакций значительно возрастало, а число ошибок и время выполнения реакции сокращались ($p < 0,01$ соответственно) по сравнению с группой, получавшей 6-ОНДА. При тестировании сохранности УПДР через 7 и 30 сут число правильных ответов у крыс, получавших селанк, было значительно выше, чем у животных, получавших 6-ОНДА ($p < 0,01$), число ошибочных реакций и время выполнения УПДР также сокращалось.

Таблица 3. Влияние селанка на дефекты формирования и сохранения условно-рефлекторной реакции (УПДР), вызванные неонатальным введением 6-гидроксидофамина (6-ОНДА)

| Вещество, доза и число крыс в группе | Критерии обучения | | | Критерии сохранения реакции | | | | | |
|--|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| | | | | 7 суток | | | 30 суток | | |
| | Число правильных ответов | Число ошибок | Время реакции, с | Число правильных ответов | Число ошибок | Время реакции, сек | Число правильных ответов | Число ошибок | Время реакции, с |
| Физиологический раствор (n = 9) | 74 ± 8 | 26 ± 4 | 13 ± 2 | 65 ± 6 | 41 ± 7 | 23 ± 2 | 59 ± 5 | 41 ± 7 | 25 ± 3 |
| 6-ОНДА, 100 мкг/кг (n = 9) | 42 ± 6 ⁺⁺ (- 43) | 58 ± 7 ⁺⁺⁺ (+ 123) | 55 ± 8 ⁺⁺⁺ (+ 123) | 31 ± 5 ⁺⁺ (- 52) | 69 ± 8 ⁺ (+ 84) | 39 ± 5 ⁺⁺ (+ 66) | 23 ± 4 ⁺⁺ (- 61) | 77 ± 8 ⁺⁺⁺ (+ 89) | 33 ± 4 ⁺ (+ 32) |
| 6-ОНДА, 100 мкг/кг + селанк 300 мкг/кг (n = 8) | 66 ± 8 ^{**} [+ 60] | 34 ± 4 ^{**} [- 41] | 35 ± 6 ^{**} [- 36] | 57 ± 8 ^{**} [84] | 43 ± 4 ^{**} [- 38] | 29 ± 4 [*] [- 25] | 55 ± 5 ^{**} [+ 139] | 45 ± 8 ^{***} [- 42] | 26 ± 3 [*] [- 31] |

Результаты подтверждают ранее полученные нами данные о наличии ноотропного компонента в спектре активности селанка и, как показало настоящее исследование, он сохраняется в условиях повреждения НА-системы мозга.

Результаты исследования свидетельствуют о способности селанка оказывать позитивное влияние на дефекты обучения и памяти, вызванные острым и хроническим повреждением НА-ергической системы мозга. Полученные данные представляются перспективными для коррекции нарушений мнестических функций, обусловленных воздействием повреждающих факторов экзо- и эндогенной природы, и расширяют сведения о спектре и механизме действия пептидного анксиолитика селанка, завершившего III фазу клинических испытаний.

ВЫВОДЫ

1. Селанк в дозе 300 мкг/кг компенсирует дефекты обучения и памяти, вызванные острым и хроническим повреждением НА-ергической системы мозга крыс.

2. Наиболее выраженным компонентом в действии селанка на процессы обучения и памяти в условиях блокады синтеза НА, вызванного дисульфидом и 6-ОНДА, является стимуляция поведенческого ответа в первых пробах сеанса обучения и повышение скорости выполнения выработанного навыка.

3. Особенностью действия селанка на показатели обучения и памяти у взрослых крыс с хроническим повреждением НА-системы, вызванном введением 6-ОНДА в неонатальный период, является стимуляция воспроизведения навыка через длительные интервалы времени (до 30 сут).

4. При нарушении выработки УРАИ в условиях гипоксии с гиперкапнией селанк проявляет стимулирую-

щее действие в больших дозах (500 мкг/кг) при его введении после, но не до нейротоксического воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. П. Ашмарин, *Нейрохимия*, **18**(4), 243 – 250 (2001).
2. А. С. Базян, Г. А. Григоряе, *Усп. физиол. наук.*, **37**(1), 68 – 83 (2006).
3. Д. А. Бевзюк, Т. М. Воробьева, О. Г. Бреченко, *Нейрофизиол.*, **32**(1), 36 – 43 (2000).
4. А. В. Граф, М. В. Маслова, Л. К. Трофимова и др., *Бюл. exper. биол.*, **144**(8), 155 – 158 (2007).
5. К. Г. Гуревич, *Нейрохимия*, **19**(2), 93 – 97 (2002).
6. И. И. Козловский, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Москва (2000).
7. И. И. Козловский, Н. А. Данчев, *Ж. высш. нервн. деят.*, **52**(5), 579 – 584 (2002).
8. М. М. Козловская, И. И. Козловский, Е. А. Вальдман, С. Б. Середенин, *Физиол. журн. им. Сеченова*, **88**(6), 264 – 268 (2002).
9. М. М. Козловская, Т. П. Семенова, Н. И. Медвинская и др., *Бюл. exper. биол.*, **125**(3), 284 – 294 (1998).
10. М. М. Козловская, С. Б. Середенин, И. И. Козловский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **35**(3), 3 – 5 (2001).
11. Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(5), 66 – 72 (2002).
12. Т. П. Семенова, М. М. Козловская, А. В. Зуйков и др., *Физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **92**(11), 1332 – 1338 (2006).
13. С. Б. Середенин, М. М. Козловская, Т. П. Семенова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **58**(6), 3 – 6 (1995).
14. К. В. Судаков, *Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу*, Изд. НИИ норм. физиол. им. П. К. Анохина, Москва (1998).
15. В. Budalova, C. Nyakas, H. J. Vasserman, and P. G. M. Lueten, *Behav. brain res.*, **67**(1), 85 – 90 (1995).
16. L. P. Dolgacheva and T. P. Semenova, *Biophysics*, **50**(1), S8 – S11 (2006).
17. M. M. Kozlovskaya, S. B. Seredenin, I. I. Kozlovskiy, et al., *J. of European Neuropsychopharmacol.*, **10**(2), 70 – 71 (2000).

COMPENSATORY EFFECT OF THE SELANK ON THE MNESTIC FUNCTIONS DISTURBED BY NEUROTOXIC DAMAGE OF THE NORADRENERGIC SYSTEM OF RAT BRAIN

I. I. Kozlovskii¹, Yu. F. Belozertsev², T. P. Semenova³, A. V. Zuikov³, and M. M. Kozlovskaya¹

¹ Laboratory of Pharmacogenetics, Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia;

² Department of Pharmacology, Chita State Medical Academy, ul. Gor'kogo 39a, Chita, 672090 Russia;

³ Laboratory of Mechanisms of Native Hypometabolic Systems, Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushshino, Russia

It has been shown that the peptide anxiolytic drug Selank recovers learning and memory impaired by damage of the noradrenergic (NA) brain system in Wistar rats after injection of the NA-synthesis inhibitor disulfiram, administration of neurotoxic compound 6-OHDA, or a combined induction of hypoxic hypoxia and hypercapnia. The main component of the Selank action is the stimulation of the search reflex aimed to distinguish an adequate adaptive response in the first trials of the learning session. The enhancement of memory consolidation and retrieval shows evidence for stimulation of the brain motivation mechanisms impaired by the NA system damage.