

ПСИХОСТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ФЕНИЛЬНОГО ПРОИЗВОДНОГО ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ (РГПУ-135, ГЛУТАРОН) В ОПЫТАХ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

И. Н. Тюренков¹, В. В. Багметова¹, Ю. В. Чернышева¹, М. А. Яркова²

Гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135, глутарон, нейроглутамин) при повторных форсированных динамических нагрузках, в отличие от психостимулятора β-фенилэтиламина (20 мг/кг), в дозах 13 и 26 мг/кг повышает физическую работоспособность аутбредных мышей, а также уменьшает выраженность утомления и ускоряет адаптацию к нагрузкам. Фенилэтиламин (20 мг/кг) в данных условиях снижает работоспособность и адаптационные возможности, ускоряет развитие утомления. Соединение РГПУ-135, подобно типичным психостимуляторам, в дозе 26 мг/кг повышает спонтанную двигательную активность инбредных мышей C57BL/6 с активным фенотипом стрессового ответа, но не у BALB/c — с пассивным. Соединение РГПУ-135 проявляет психостимулирующую активность без характерного для психостимуляторов “истощающего” эффекта.

Ключевые слова: гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты; психостимуляторы; физическая работоспособность; двигательная активность; мыши BALB/c и C57BL/6

ВВЕДЕНИЕ

Новое производное глутаминовой кислоты с лабораторным шифром РГПУ-135 — гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты (глутарон, нейроглутамин) — обладает низкой токсичностью [2] и широким спектром психотропного действия, одной из составляющих которого является психостимулирующая активность [9, 12, 14]. Установлено также, что соединение РГПУ-135 повышает физическую работоспособность животных при однократных форсированных физических нагрузках динамического и статического характера [9]. Все известные психостимуляторы, заставляя работать организм на пределе возможного, вызывают истощение резервов, что проявляется в развитии феномена последствия с выраженным снижением работоспособности. Такого рода “истощающее” действие существенно сужает возможности клинического использования психостимуляторов [7]. Для сопоставления эффектов РГПУ-135 и типичных психостимуляторов представлялось целесообразным изучение его влияния на физическую работоспособность животных при повторных форсированных динамических нагрузках. Известно, что типичные моноаминергические психостимуляторы — амфетамин, сиднокарб — оказывают селективное влияние на спонтанную локомоторную активность инбредных мышей: в большей степени стимулируют локомоторное поведение у мышей C57BL/6 с активным фенотипом эмоционально-стресс-

совой реакции (ЭСР), чем у мышей BALB/c — с пассивным [8, 10, 15]. Этот феномен прямо коррелирует со стимулирующим влиянием психостимуляторов на экспрессию ранних генов c-Fos — показателя активации нейронов — преимущественно в дофаминергических структурах мозга, тесно связанных с регуляцией психомоторных функций. Под действием психостимуляторов экспрессия генов c-Fos возрастает в большей степени у мышей C57BL/6, чем у мышей BALB/c [10]. Поскольку такое специфичное для моноаминергических психостимуляторов влияние на спонтанную локомоторную активность мышей BALB/c и C57BL/6 не характерно для веществ с иным типом психотропной активности [8], выполнение подобного исследования с соединением РГПУ-135 может внести существенный вклад в понимание механизмов его психотропного действия. Цель настоящей работы: изучение влияния в разных дозах гидрохлорида бета-фенилглутаминовой кислоты на физическую работоспособность животных при повторяющихся форсированных динамических нагрузках и спонтанную двигательную активность инбредных мышей с активным (C57BL/6) и пассивным (BALB/c) фенотипами эмоционально-стрессовой реакции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики” и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (1986), одобрено Региональным Независимым Этическим Комитетом (ГУ Волгоградский Медицинский Научный Центр): протокол № 140 – 2011 от 11.06.2011 г. Экспе-

¹ Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ Волгоградский государственный медицинский университет, 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, 3.

² ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.
E-mail: zakusovpharm@mail.ru

рименты проводили на 40 аутбредных мышах-самцах (22 – 24 г) (ФГУП “Питомник лабораторных животных “Рапполово” РАМН), а также инбредных мышах-самцах (20 – 22 г) линий BALB/c ($n = 40$) и C57BL/6 ($n = 40$) (НПП “Питомник лабораторных животных ФИБХ РАН”), содержащихся в стандартных условиях вивария с 12-часовым свето-темновым циклом, при температуре воздуха 20 ± 2 °С, влажности 60 %, свободном доступе к воде и полнорационному гранулированному корму (ГОСТ Р 50258-92).

Оценку влияния соединения РГПУ-135 на физическую работоспособность животных при повторных форсированных динамических нагрузках выполняли на аутбредных мышах в тесте “неизбегаемого принудительного плавания с грузом” [11]. Для моделирования дополнительной нагрузки использовали пластилиновый груз, вес которого составлял 18 % от массы тела животного. Вес груза подбирали эмпирическим путем, таким образом, чтобы животные плавали не менее 15 и не более 30 мин. Регистрировали длительность плавания мышей с грузом “до предела” или “полного утомления” — то есть до тех пор, пока животное, погрузившееся под воду, не может самостоятельно выплыть на поверхность в течение 5 с. Форсированные физические нагрузки предъявляли животным 6 сут (ежедневно однократно). Плавание осуществляли в цилиндрической емкости с предварительно отстоянной (для уменьшения содержания растворенного газа) водой ($24 - 26$ °С), в которую добавляли небольшое количество детергента с целью предотвращения образования пузырьков воздуха в шерсти и ее полного смачивания. Груз фиксировали к основанию хвоста животного. Предварительно, за 7 суток до начала эксперимента, по результатам однократного выполнения теста формировали однородные группы животных так, чтобы различия в средних показателях времени плавания до предела между группами составляли не более 5 %. Поскольку в литературе отсутствуют сведения об изучении эффектов типичных психостимуляторов в данном тесте по идентичной схеме, в качестве препарата сравнения использовали психостимулятор структурно близкий с изучаемым соединением — β-фенилэтиламин (ФЭА) (“Sigma-Aldrich”, Германия).

Изучение влияния соединения РГПУ-135 на спонтанную двигательную активность (СДА) проводили на инбредных мышах линий BALB/c и C57BL/6. Для регистрации СДА использовали инфракрасный актиметр фирмы “Panlab” (Испания) с программным обеспечением ActiTrack. Наблюдение за животными осуществляли в течение 10 мин, после предварительной 20-минутной адаптации к экспериментальной камере для исключения ориентировочной компоненты двигательной активности. Регистрировали: общую двигательную активность (суммарный показатель горизонтальной активности и стереотипии), горизонтальную активность, стереотипию (т.е. движения при отсутствии перемещения), количество вертикальных стоек, сред-

нюю скорость перемещения (см/с), пройденную дистанцию (см) [10, 11]. Так как, селективное влияние моноаминергических психостимуляторов на двигательную активность мышей BALB/c и C57BL/6 известно [8, 10, 15], в данном тесте препараты сравнения не использовали.

Вещество РГПУ-135 вводили животным внутрижелудочно в дистиллированной воде в дозах 13,0; 26,0 и 52,0 мг/кг [9] за 60 мин до начала экспериментов. ФЭА растворяли в дистиллированной воде и вводили животным внутрибрюшинно за 5 мин до тестирования в дозе 20 мг/кг, в которой он оказывает выраженное психостимулирующее действие и не вызывает у мышей судорог и стереотипии (вертикализация) [4 – 6], которые могли бы существенным образом исказить результаты настоящего эксперимента. Контрольные животные получали дистиллированную воду в эквивалентном объеме.

Статистический анализ результатов исследования: пакеты статистического анализа Statistica 6.0, BioStat 2008; анализ Краскела-Уоллиса, критерий Ньюмена-Кейлса; U-критерий Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы физическая работоспособность при ежедневном предъявлении форсированной динамической работы претерпевала существенные изменения в динамике 6-суточного эксперимента (рис. 1). Так, на 2-е сутки тестирования длительность плавания до утомления у животных контрольной группы возросла по отношению к показателю исходного плавания на 88,6 %, на 3-и сутки сократилась (на 28,2 % по сравнению с показателем 2-х суток), но оставалась выше исходных значений, что, вероятно, обусловлено мобилизацией ресурсов организма. Начиная с 4-х суток, у мышей контрольной группы отмечали прогрессирующее уменьшение времени плавания (ниже исходного значения показателя), свидетельствующее о нарастании утомления и истощении. Наибольшее сокращение времени плавания на 60,7 % по сравнению с предыдущим днем отмечалось на 5-е сутки эксперимента.

Начиная с 2 – 3 мин после введения ФЭА, у мышей отмечали двигательное возбуждение — они хаотично перемещались по клетке, часто совершали вертикальные стойки и прыжки. Кроме того, у них была повышена реакция на звуковое (постукивание по клетке) и тактильное (прикосновение карандашом) раздражение, что выражалось вокализацией, подпрыгиванием, а в некоторых случаях агрессией в отношении тактильного раздражителя и друг друга. Введение ФЭА вызывало у животных статистически значимое уменьшение времени плавания до “предела” по сравнению с исходным значением и с показателем контрольных животных при тестировании в 1 – 3-и сутки эксперимента (рис. 1). К 4-м суткам у мышей данной группы наблюдалось увеличение времени плавания на 61,1 %

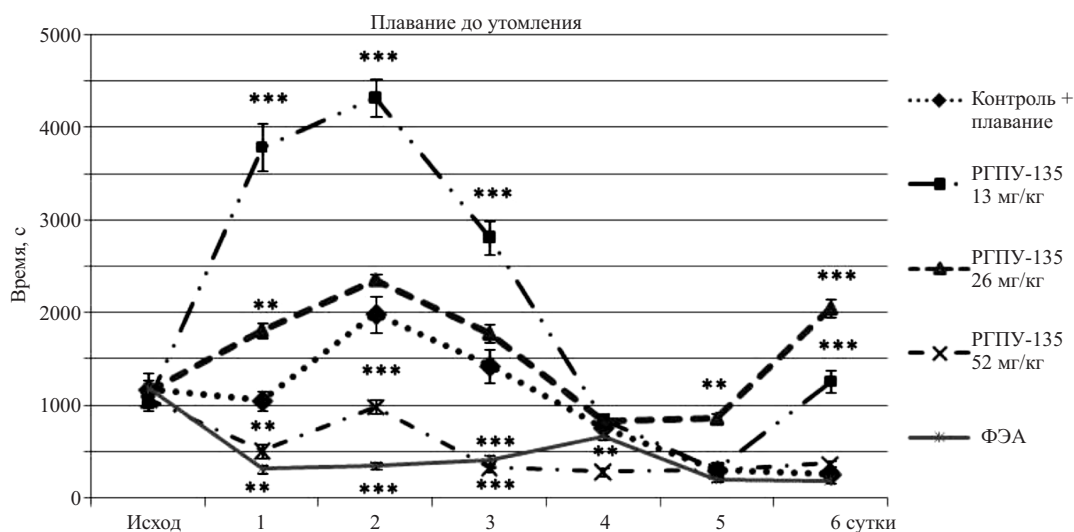


Рис. 1. Влияние соединения РГПУ-135 в различных дозах и фенилэтиламина на физическую работоспособность аутбредных мышей при повторяющихся форсированных динамических нагрузках в тесте неизбежного принудительного плавания с грузом ($n = 8$).

** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — по сравнению с контрольной группой животных (контроль + плавание) (ранговый однофакторный анализ Краскела-Уоллиса, критерий Ньюмена-Кейлса).

по сравнению с предыдущим тестированием, возможно связанное с адаптацией к повторяющимся нагрузкам. Затем в 5-е и 6-е сутки длительность плавания уменьшалась и не отличалась от показателей контроля, что может свидетельствовать о быстром снижении адаптационных возможностей у животных (истощении). Необходимо отметить, что при погружении мышей, получавших ФЭА, в резервуар с водой, они демонстрировали большую двигательную активность, чем животные из других групп: часто совершали прыжки, подныривания, вращение вокруг своей оси, непрерывно активно плавали, выполняя интенсивные гребки всеми четырьмя конечностями. В остальных же группах у животных периоды активного плавания сменялись пассивным плаванием, во время которого они пассивно дрейфовали, перебирая одной-двумя лапами, периодически застывали в состоянии иммобилизации. Вероятно, столь высокая двигательная активность у мышей, получавших ФЭА, приводила к быстрому истощению сил и развитию утомления, что привело к сокращению времени плавания.

РГПУ-135 в дозе 13 мг/кг через 1 ч после введения повышал локомоторную активность животных в домашней клетке, не влияя на реакцию на тактильные и звуковые раздражители оставалась без изменений: в отличие от животных, получавших ФЭА, они не отвечали вокализацией и агрессией. В этой дозе вещество РГПУ-135 статистически значимо увеличивало время плавания животных в 1–3-и сутки эксперимента по сравнению с исходными данными и показателем группы контрольных животных (рис. 1), что свидетельствует о выраженном повышении физической выносливости. При тестировании в 4-е и 5-е сутки длительность плавания у мышей, получавших соединение

РГПУ-135 в дозе 13 мг/кг, существенно уменьшилась и не имела статистически значимых различий с показателем контрольных мышей. На 6-е сутки вновь отмечалось увеличение времени плавания по сравнению с предыдущим днем тестирования, что может быть следствием адаптации и указывает на то, что повышение физической работоспособности у животных этой группы в первые сутки эксперимента происходило за счет мобилизации резервных возможностей без их истощения.

Поведение животных, получавших соединение РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг, визуально не отличалось от поведения контрольных мышей. В первые сутки эксперимента у них отмечалось статистически значимое повышение времени плавания по сравнению с исходным уровнем и с показателем контрольных животных (рис. 1). На 2-е сутки эксперимента время плавания у мышей этой группы увеличивалось на 30,36 % по сравнению с предыдущим тестированием, но не имело статистически значимых различий с показателем контрольной группы. При тестировании в 3-и и 4-е сутки эксперимента длительность плавания у животных, которым вводили соединение РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг, сокращалась, но оставалась большей, чем у контрольных мышей, хотя различия не были статистически значимы. Дальнейшего снижения физической работоспособности у животных этой группы не отмечали, на 5-е и 6-е сутки тестирования время плавания у них было статистически значимо больше, чем у контрольных. Таким образом, соединение РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг увеличивает физическую работоспособность животных, но в меньшей степени, чем в дозе 13 мг/кг, а также уменьшает выраженность утомления и ускоряет адаптацию животных к предъявляемым нагрузкам.

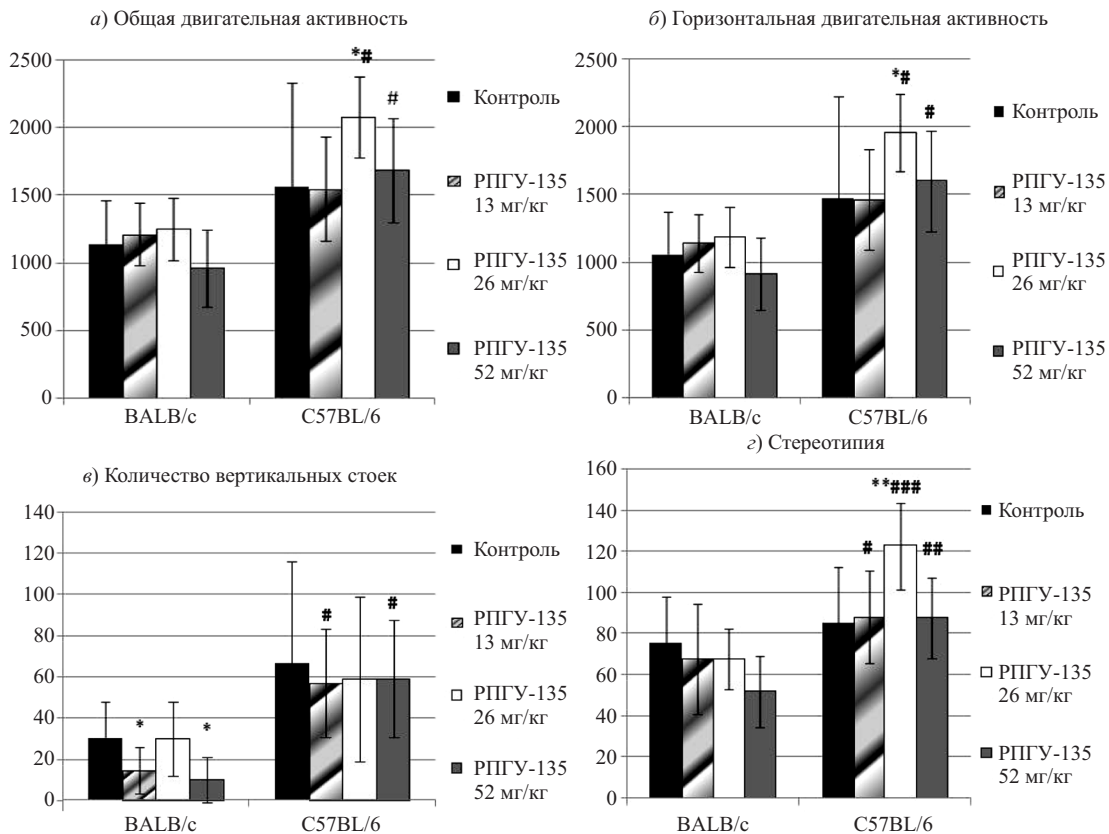


Рис. 2. Влияние соединения РППУ-135 в различных дозах на параметры спонтанной двигательной активности инбредных мышей линий BALB/c и C57BL/6 ($n = 10$).

Здесь и на рис. 3: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — по сравнению с показателем контроля соответствующей линии мышей; # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ — межлинейные различия (непараметрический U-критерий Манна-Уитни).

В дозе 52 мг/кг соединение РППУ-135 у животных укорачивает время плавания до утомления (рис. 1), статистически значимое по сравнению с показателями группы контроля в 1 – 4-е сутки тестирования.

Таким образом, изучаемое соединение оказало дозозависимое влияние на физическую работоспособность животных в условиях повторяющихся предельных физических нагрузок: в дозе 13 мг/кг и, в меньшей степени, 26 мг/кг – повышало физическую работоспособность, в дозе 26 мг/кг также уменьшало выраженность утомления и ускоряло адаптацию к предъявляемым нагрузкам.

В дозе 52 мг/кг соединение РППУ-135 снижало физическую работоспособность животных, что может быть следствием проявления седативного эффекта при использовании вещества в высоких дозах [9]. Фенилэтиламин в условиях многократного предъявления животным предельных физических нагрузок не только не повышал физическую работоспособность животных, а, напротив, уменьшал ее, ускорял развитие утомления, снижал адаптационные возможности. Сходные данные получены для сиднокарба [7].

Анализ спонтанной двигательной активности проведен с использованием фармакогенетического подхода на инбредных мышах линий BALB/c и C57BL/6 с

различным фенотипом эмоционально-стрессового ответа. Статистически значимые изменения практически всех показателей СДА мышей линии C57BL/6 в сравнении с контрольной группой оказались наиболее выражены у соединения РППУ-135 в дозе 26 мг/кг (рис. 2, 3). РППУ-135 в дозе 26 мг/кг повышало уровень общей двигательной активности, горизонтальной активности (рис. 2, а, б), увеличивало пройденную дистанцию и среднюю скорость перемещений (рис. 3, а, б). Зарегистрировано значимое увеличение стереотипических движений (стойки и прыжки) (рис. 2, в, г). В остальных дозах соединение не оказывало влияния на СДА мышей данной линии.

Параметры СДА мышей линии BALB/c на фоне введения РППУ-135 во всем изученном диапазоне доз практически не изменялись в сравнении с группой контроля. Установлено статистически значимое снижение количества вертикальных стоек после введения соединения РППУ-135 в дозах 13 и 52 мг/кг (рис. 2, в). Эти данные для дозы 52 мг/кг соединения РППУ-135 согласуются с результатами эксперимента по изучению физической работоспособности и, вероятно являются следствием проявления седативных свойств вещества в указанной дозе. Во всем изученном диапазоне доз соединение РППУ-135 усиливало межлинейные

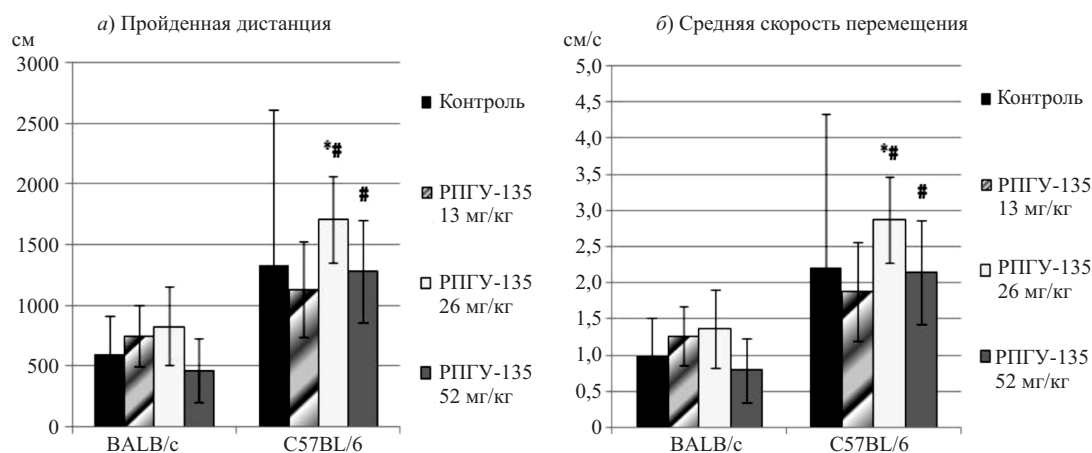


Рис. 3. Влияние соединения РГГУ-135 в различных дозах на пройденную дистанцию и среднюю скорость перемещения инбредных мышей линий BALB/c и C57BL/6 ($n = 10$).

Обозначения те же, что на рис. 2.

различия параметров спонтанной двигательной активности инбредных мышей (рис. 2, 3).

Активация спонтанной двигательной активности под влиянием соединения РГГУ-135 у мышей линии C57BL/6, но не у BALB/c характерна для психостимуляторов [8, 10, 15]. Так, эффект амфетамина и сиднокарба наиболее выражен при активном ответе на стресс и в меньшей степени — при пассивно-оборонительном [8]. Усиление моторики, оживление и облегчение инициации движений — специфический признак действия психостимуляторов. Эффект может быть реализован через ряд механизмов, однако, учитывая усиление стереотипии под влиянием соединения РГГУ-135, указывает на решающую роль в этом процессе дофаминергической системы. Подтверждением этому предположению служит и то, что в проведенных ранее исследованиях, у соединения РГГУ-135 выявлены косвенные признаки стимуляции дофаминергической нейротрансмиссии: а) потенцирование стереотипии, вызванной агонистом постсинаптических дофаминовых рецепторов апоморфином [9], б) антагонизм с галоперидолом — блокатором постсинаптических дофаминовых рецепторов в тесте галоперидоловой каталепсии [9], в) стимуляция обмена дофамина в мезолимбических структурах, фронтальной коре и стриатуме [9]. Перечисленное типично для большинства классических психостимуляторов, таких как амфетамины, сиднонимины, метилксантины.

На наличие у данного соединения психостимулирующего действия указывает ряд его эффектов: активирующее влияние на спонтанную локомоторную и исследовательскую активность в “открытом поле” [14]; улучшение эмоционального фона на моделях тревожности и депрессии [1, 12, 13]; ноотропные свойства на моделях ассоциативного обучения [9, 14].

Таким образом, совокупность данных, полученных в настоящей работе и предшествующих ей исследованиях, позволяет предполагать наличие у соединения

РГГУ-135 психостимулирующего эффекта. В качестве подтверждения этому можно рассматривать выявленное ранее активирующее влияние РГГУ-135 на ионные каналы нейронов моллюсков — увеличение амплитуды трансмембранных кальциевых, натриевых и калиевых ионных токов в концентрациях 1 – 100 мкМ, которое может приводить к повышению функциональной активности нейронов, включая активацию генетического аппарата и усиленный выброс медиаторов, что характерно для психостимуляторов [3].

ВЫВОДЫ

1. Гидрохлорид бета-фенилглутаминовой кислоты (соединение РГГУ-135) оказывает дозозависимое влияние на физическую работоспособность аутбредных мышей при повторяющихся форсированных динамических нагрузках: в дозе 13 мг/кг и, в меньшей степени, в дозе 26 мг/кг повышает физическую работоспособность, в дозе 26 мг/кг также уменьшает выраженность утомления и ускоряет адаптацию к предъявляемым нагрузкам. Фенилэтиламин в условиях многократного предъявления животным предельных физических нагрузок снижает работоспособность и адаптационные возможности, ускоряет развитие утомления.

2. Соединения РГГУ-135, подобно типичным психостимуляторам, в дозе 26 мг/кг повышает спонтанную двигательную активность у мышей линии C57BL/6, но не у BALB/c; в диапазоне доз 13 – 52 мг/кг усиливает межлинейные различия двигательной активности, что указывает на наличие у него психостимулирующего действия.

3. В дозе 52 мг/кг соединение РГГУ-135 снижает физическую работоспособность аутбредных мышей, уменьшает спонтанную двигательную активность у мышей с пассивным типом эмоционально-стрессовой реакции BALB/c, что может быть следствием седативного эффекта при использовании вещества в данной дозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Багметова, Ю. В. Чернышева, О. В. Меркушенкова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **76**(3), 7–9 (2013).
2. Л. И. Бугаева, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова и др., *Вестн. Волгогр. гос. мед. университета*, № 3, 30–33 (2012).
3. Ю. Д. Игнатов, А. И. Вислобоков, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(12), 3–6 (2012).
4. И. П. Лапин, *Механизм действия и клиника производных гамма-аминомасляной кислоты / Ученые записки Тартуского государственного университета*, Тарту (1984), сс. 36–45.
5. И. П. Лапин, *Рос. психиатр. журн.*, № 3, 18–21 (2001).
6. И. П. Лапин, *Психофармакол. и биол. наркол.*, **7**(3–4), 1762 (2007).
7. М. Н. Левина, Б. А. Бадыштов, М. А. Яркова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(3), 68–70 (2006).
8. М. Д. Машковский, С. Б. Середенин, Р. Альтшулер и др., *Хим.-фарм. журн.*, № 5, 7–9 (1980).
9. О. В. Меркушенкова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Волгоград (2009).
10. И. А. Новоселов, А. Б. Черепов, К. С. Раевский, К. В. Анохин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(5), 18–21 (2002).
11. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабрнев (ред.), Москва (2005).
12. В. И. Петров, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова и др., Патент Российской Федерации 2429834, Бюл. 27 (2011) Открыт 23.07.2010.
13. И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, Ю. В. Чернышева и др., *Вестн. Волгогр. гос. мед. университета*, № 3, 21–24 (2012).
14. И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, Ю. В. Чернышева и др., *Фундамент. исследования*, № 3, 167–172 (2013).
15. R. C. Alexander, R. Wright, W. Freed, *Neuropsychopharmacology*, **15**(5), 484–490 (1996).

Поступила 18.09.13

SOME ASPECTS OF THE PSYCHOSTIMULANT EFFECT OF A PHENYL DERIVATIVE OF GLUTAMIC ACID (RGPU-135, GLUTARONE) IN EXPERIMENTAL ANIMALS

I. N. Tyurenkov¹, V. V. Bagmetova¹, Yu. V. Chernysheva¹, and M. A. Yarkova²

¹ Department of Pharmacology and Biopharmacy, Faculty of Advanced Training, Volgograd State Medical University, ul. Pugachevskaya 3, Volgograd, 400131, Russia

² Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315, Russia

Hydrochloride of β-phenylglutamic acid (RGPU-135, glutarone, neuroglutamine) administered in doses 13 mg/kg and 26 mg/kg increases exercise performance of outbred mice in repeated forced dynamic load test, reduces the intensity of fatigue, and accelerates adaptation to loading. In contrast, β-phenylethylamine (20 mg/kg) under the same conditions decreases the exercise performance and adaptation capacity and accelerates the development of fatigue. The RGPU-135 compound, similar to typical psychostimulants, in a dose of 26 mg/kg increases the spontaneous motion activity of inbred C57BL/6 mice with the active phenotype of stress response, but not in the BALB/c line mice with the passive phenotype. The RGPU-135 exhibits a psychostimulant activity without an “exhaustive” effect characteristic of psychostimulants.

Keywords: hydrochloride of beta-phenylglutamic acid; psychostimulants; exercise performance; motion activity; BALB/c and C57BL/6 mice