

# НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## МЕТОД ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ АМНЕЗИИ У МЫШЕЙ С ПОМОЩЬЮ КОМПЛЕКСНОГО ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Вик. В. Яснецов, Н. А. Проворнова<sup>1</sup>

Предложен метод воспроизведения ретроградной амнезии у мышей с помощью комплексного экстремального воздействия — плавание животных в холодной воде с одновременным вращением колеса до изнеможения. Показано, что вещества с ноотропной активностью (пирацетам, мексидол, семакс, нооглютил, ацефен, ноопепт и др.) полностью или частично предупреждают развитие амнезии у мышей.

**Ключевые слова:** комплексное экстремальное воздействие, амнезия, ноотропы

### ВВЕДЕНИЕ

В реальных условиях экстремальные факторы действуют обычно не изолированно, а в различных сочетаниях. Установлено, что воздействие некоторых сочетаний экстремальных факторов (например, радиационного и нерадиационного) способно нарушать процессы обучения и памяти у человека и животных [8 – 10]. Вместе с тем в эксперименте проблема фармакологической коррекции мнестических расстройств, обусловленных действием комбинаций экстремальных факторов, практически не изучена, что отчасти объясняется отсутствием простых экспериментальных моделей. В литературе встречаются лишь единичные работы, посвященные указанной проблеме. Например, В. М. Виноградов и соавт. [2] показали, что пирацетам “защищает” высшую нервную деятельность крыс от такого комплекса экстремального воздействия (КЭВ), как двухсуточная депривация сна, пищи и воды в медленно вращающемся барабане.

В настоящей работе предложен простой метод воспроизведения амнезии у мышей с помощью КЭВ (плавание животных в холодной воде с одновременным вращением колеса до изнеможения).

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 20 – 24 г. В качестве КЭВ использовали плавание мышей в холодной воде с одновременным вращением колеса до изнеможения. Животных (поодиночке) помещали в заполненный водой пластиковый ящик размером 17 × 9 × 19 см с вращающимся ребристым колесом. КЭВ применяли сразу после обучения условной реакции пассивного избегания (УРПИ; [12] с учетом рекомендаций [14]). Сохранность УРПИ проверяли через 24 ч после окончания КЭВ. Оценивали способность животных покидать (“есть амнезия”) или не покидать (“нет амнезии”) платформу в течение 60 с.

В исследовании использованы следующие вещества с ноотропной активностью: пирацетам (Латвбиофарм), ацефен (мек-

лофеноксат; Германия), оригинальные отечественные ноотропы нооглютил, Р-55 (беглимин), ноопепт (НИИ фармакологии РАМН и Одесский госуниверситет; авторы благодарят Т. А. Воронину за предоставленные вещества), мексидол, амиридин, ХТОС-404 (ВНЦ БАН), оригинальный отечественный аналог АКТГ(4–10) – АКТГ(4–7)-Pro-Gly(Pro (семакс, Институт молекулярной генетики РАН); а также производные 3-оксипиридина (3-ОП) под шифром СК, синтезированные Л. Д. Смирновым и В. И. Кузьминым в НИИ фармакологии РАМН (авторы благодарят Л. Д. Смирнова за предоставленные соединения). Исследуемые вещества и изотонический раствор натрия хлорида (NaCl; контроль) вводили внутривенно за 10 – 60 мин до обучения животных.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Необходимо было подобрать оптимальные условия проведения опытов (температуру воды, воздуха и т.д.). Обнаружено (табл. 1), что наиболее выраженные мнестические нарушения отмечаются у мышей, когда они плавали в воде (в среднем 10, 6 мин), имеющей температуру 12 – 14 °С. При этом температура воздуха в помещении была 16 – 20 °С. Так, в указанных условиях у 33 (60 %) животных из 55 через 24 ч после КЭВ статистически достоверно ( $p < 0,001$ ) наблюдалась амнезия УРПИ. В других условиях амнестический эффект у мышей был незначителен или совсем отсутствовал.

Была предпринята попытка оценить активность мышей (по числу оборотов водяного колеса) на описанной выше модели и исследовать влияние на эту активность пирацетама. Установлено, что пирацетам в дозе 300 мг/кг, в которой он обладает выраженными анти-

Таблица 1. Зависимость амнестического эффекта у мышей от условий проведения опытов

Температура воды, °С	Количество животных	Количество животных с амнезией УРПИ через 24 ч после вынужденного плавания, %
3 – 4	12	0
12 – 14	55	33 (60)
16 – 18	36	7 (19)
23 – 25	23	0

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии стоматологического факультета (зав. — проф. В. В. Яснецов) МГМСУ, Москва, 103473, ул. Делегатская, 20/1.

Таблица 2. Влияние веществ на амнестический эффект, вызванный у мышей комплексным экстремальным воздействием (КЭВ)

Условия опытов, вещество, доза, мг/кг	Общее количество животных	Количество животных, обучившихся УРПИ, %	Количество животных с амнезией УРПИ через 24 ч после КЭВ, %
Изотонический раствор NaCl + ложное КЭВ (контроль 1)	52	48 (92)	8 (17)
Изотонический раствор NaCl + КЭВ (контроль 2)	55	52 (94)	32 (62) <sup>ooo</sup>
Пирацетам (800) + КЭВ	24	21 (88)	3 (14) <sup>***</sup>
Пирацетам (200) + КЭВ	19	18 (95)	10 (55) <sup>o</sup>
Мексидол (100) + КЭВ	21	20 (95)	2 (10) <sup>o</sup>
Мексидол (30) + КЭВ	24	22 (92)	6 (27) <sup>**</sup>
Мексидол (10) + КЭВ	18	15 (83)	6 (40)
Семакс (0,2) + КЭВ	22	22 (100)	2 (10) <sup>***</sup>
Семакс (0,1) + КЭВ	18	18 (100)	9 (50) <sup>o</sup>
Семакс (0,05) + КЭВ	17	16 (94)	2 (13) <sup>***</sup>
Семакс (0,025) + КЭВ	22	20 (91)	8 (40) <sup>*</sup>
Нооглютил (50) + КЭВ	24	22 (92)	4 (18) <sup>***</sup>
Нооглютил (5,0) + КЭВ	17	16 (94)	5 (31) <sup>*</sup>
Нооглютил (0,5) + КЭВ	21	19 (91)	2 (11) <sup>***</sup>
Ацефен (50) + КЭВ	25	22 (88)	8 (36) <sup>*</sup>
Амиридин (1) + КЭВ	18	17 (94)	6 (35) <sup>*</sup>
Ноопепт (2,5) + КЭВ	22	20 (91)	8 (40) <sup>*</sup>
Ноопепт (0,5) + КЭВ	20	20 (100)	8 (40) <sup>*</sup>
Ноопепт (0,1) + КЭВ	22	20 (91)	4 (20) <sup>**</sup>
P-55 (50) + КЭВ	24	23 (96)	5 (22) <sup>**</sup>
P-55 (5,0) + КЭВ	18	16 (89)	8 (50) <sup>o</sup>
P-55 (0,5) + КЭВ	21	20 (95)	10 (50) <sup>o</sup>
ХТОС-404 (0,5) + КЭВ	23	20 (87)	4 (20) <sup>**</sup>
СК-76 (100) + КЭВ	20	18 (90)	5 (28) <sup>*</sup>
СК-100 (100) + КЭВ	10	9 (90)	6 (67) <sup>o</sup>
СК-101 (100) + КЭВ	20	19 (95)	3 (16) <sup>***</sup>
СК-104 (100) + КЭВ	11	10 (91)	6 (60) <sup>o</sup>
СК-107 (100) + КЭВ	11	9 (82)	7 (78) <sup>o</sup>
СК-112 (100) + КЭВ	10	9 (90)	6 (67) <sup>o</sup>
СК-113 (100) + КЭВ	10	9 (90)	7 (78) <sup>o</sup>
СК-118 (100) + КЭВ	10	10 (100)	5 (50) <sup>o</sup>
СК-119 (100) + КЭВ	15	14 (93)	4 (28) <sup>*</sup>
СК-120 (100) + КЭВ	11	10 (91)	6 (60) <sup>o</sup>
СК-130 (100) + КЭВ	10	9 (90)	5 (56) <sup>o</sup>
СК-131 (100) + КЭВ	10	10 (100)	5 (50) <sup>o</sup>
СК-133 (100) + КЭВ	18	17 (94)	6 (35) <sup>*</sup>
СК-135 (100) + КЭВ	11	10 (91)	6 (60) <sup>o</sup>
СК-142 (100) + КЭВ	12	11 (92)	6 (55) <sup>o</sup>
СК-148 (100) + КЭВ	11	10 (91)	6 (60) <sup>o</sup>
СК-160 (100) + КЭВ	11	10 (91)	5 (50) <sup>o</sup>
СК-170 (100) + КЭВ	20	20 (100)	3 (15) <sup>***</sup>
СК-171 (100) + КЭВ	19	18 (95)	4 (22) <sup>**</sup>
СК-174 (100) + КЭВ	10	9 (90)	5 (56) <sup>o</sup>
СК-183 (100) + КЭВ	10	9 (90)	6 (67) <sup>o</sup>
СК-184 (100) + КЭВ	11	10 (91)	5 (50) <sup>o</sup>
СК-190 (100) + КЭВ	10	9 (90)	5 (56) <sup>o</sup>

**Примечание.** Различия статически значимы по сравнению с контролем 1 и контролем 2 соответственно (точный метод Фишера): <sup>o</sup> или \* —  $p < 0,05$ , <sup>oo</sup> или \*\* —  $p < 0,01$ , <sup>ooo</sup> или \*\*\* —  $p < 0,001$ .

амнестическими свойствами у мышей [5], существенно не изменяет число оборотов колеса (контроль —  $36 \pm 3$  оборотов, пирацетам —  $42 \pm 3$  оборота).

Условия проведения наших экспериментов схожи с условиями плавательного теста “отчаяния” (как результат вынужденного плавания мышей или крыс в сосу-

де с водяным колесом, заполненным водой при температуре 25 °С), который используется в фармакологических исследованиях, в частности, при изучении антидепрессантов [6, 7]. Однако в литературе нет сведений об использовании этого теста для исследования нарушений памяти. Между тем имеются данные о том, что после погружения мышей в холодную воду или охлаждения крыс в холодной воде у них развивается ретроградная амнезия навыка пассивного избегания [13, 15]. Также установлено, что у крыс под влиянием максимальной физической нагрузки (бег в тредбане до “отказа” сразу после сеанса обучения) нарушается сохранение УРПИ через 1 и 24 ч после выработки [1]. Естественно, что вынужденное плавание мышей в холодной воде с одновременным вращением водяного колеса до изнеможения вызывает у животных амнезию УРПИ.

В отдельной серии экспериментов оценивали антиамнестическую активность ноотропов и новых соединений с использованием теста УРПИ. Из табл. 2 видно, что КЭВ вызывало у большей части мышей ретроградную амнезию навыка пассивного избегания: у 62 % животных ( $p < 0,001$ ) через 24 ч наблюдалась амнезия УРПИ. Пирацетам (800 мг/кг), нооглютил (0,5 и 50 мг/кг), семакс (0,05 и 0,2 мг/кг), мексидол и другие производные 3-ОП (СК-101, СК-170) в дозе 100 мг/кг полностью предупреждали развитие амнезии УРПИ. Менее эффективны были ноопепт (0,1 мг/кг), ХТОС-404 (0,5 мг/кг), Р-55 (50 мг/кг), амиридин (1 мг/кг), ацефен (50 мг/кг), некоторые производные 3-ОП (СК-76, СК-119, СК-133, СК-171) в дозе 100 мг/кг, которые уменьшали выраженность амнезии в 1,7–3,1 раза ( $p < 0,05$ ). У остальных производных 3-ОП (СК-100, СК-104, СК-107, СК-112, СК-113, СК-118, СК-120, СК-130, СК-131, СК-135, СК-142, СК-148, СК-174, СК-183, СК-184, СК-190) выявленные изменения были недостоверны.

Обнаружено, что для большинства ноотропных веществ зависимость антиамнестического эффекта от дозы имеет в основном довольно сложный характер. Так, например, для семакса, ноопепта, Р-55 и нооглютила характерна U-образная или близкая к ней форма кривых доза-эффект. В то же время у мексидола в исследованном диапазоне доз выявлена линейная зависимость эффекта от дозы.

Полученные нами данные об антиамнестической активности испытанных ноотропов, а также о зависимости их эффекта от дозы находят подтверждение в

литературе. В частности, сходные результаты получены при исследовании амнезии УРПИ, вызванной электросудорожным шоком и другими экстремальными факторами [3–5, 11].

## ВЫВОДЫ

1. Плавание мышей в холодной воде с одновременным вращением колеса до изнеможения вызывает у большей части животных ретроградную амнезию навыка пассивного избегания.

2. Вещества с ноотропной активностью (пирацетам, мексидол, семакс, нооглютил, ацефен, амиридин, ноопепт, Р-55 и ХТОС-404), а также новые производные 3-оксипиридина (СК-76, СК-101, СК-119, СК-133, СК-170, СК-171) полностью или частично предупреждают развитие ретроградной амнезии у мышей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Боев, Р. И. Кругликов, С. И. Красиков, Ф. З. Меерсон, *Бюл. exper. биол.*, № 9, 3–5 (1982).
2. В. М. Виноградов, А. А. Клишов, В. Ф. Катков и др., *Фармакол. и токсикол.*, № 6, 14–16 (1987).
3. Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **61**(4), 3–9 (1998).
4. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, В. П. Фисенко (ред.), Москва (2000), сс. 153–158.
5. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологии ЦНС*, Институт биомедицинской химии РАН, Москва (1995).
6. М. Д. Машковский, Н. И. Андреева, А. И. Полежаева, *Фармакология антидепрессантов*, Медицина, Москва (1983).
7. Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, А. Л. Мдзинаришвили, *Экспер. и клин. фармакол.*, **57**(1), 3–5 (1994).
8. А. С. Штемберг, *Авиакосм. и экол. мед.*, **31**(2), 38–43 (1997).
9. А. С. Штемберг, *Авиакосм. и экол. мед.*, **31**(3), 34–39 (1997).
10. А. С. Штемберг, *Авиакосм. и экол. мед.*, **31**(5), 70–75 (1997).
11. В. В. Яснецов, И. Н. Крылова, *Усп. физиол. наук*, **28**(1), 97–116 (1997).
12. R. Cummin, E. F. Bandle, E. Gamzu and W. E. Haefely, *Psychopharmacol.*, **78**, 104–111 (1982).
13. F. T. McAndrew, *J. Gen. Psychol.*, **99**(1), 151–152 (1978).
14. C. Mondadori and P. Etienne, *Psychopharmacol.*, **100**(3), 301–307 (1990).
15. A. C. Santucci, D. C. Riccio and F. R. Treichler, *Behav. Neurosci.*, **103**(6), 1267–1275 (1989).

Поступила 20.09.02

## EFFECTIVE METHOD FOR REPRODUCING AMNESIA IN MICE BY MEANS OF A COMPLEX EXTREMAL ACTION

Vic. V. Yasnetsov and N. A. Provornova

Pharmacology Department, Moscow State Medical Stomatology University, ul. Delegatskaya 20/1, Moscow, Russia

It is suggested to reproduce a retrograde amnesia in mice by means of a complex extremal action: emaciating swim in cold water with simultaneous wheel rotation. It was found that nootropes such as piracetam, mекsидол, semax, nooglutit, acephen, and noopept fully or completely prevent from the amnesia development.