

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ НООТРОПНЫХ СРЕДСТВ НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ BALB/C И C57BL/6 В КРЕСТООБРАЗНОМ ЛАБИРИНТЕ

Е. В. Васильева, Р. М. Салимов, Г. И. Ковалёв<sup>1</sup>

В тесте “закрытый крестообразный лабиринт” изучены в сравнительном плане локомоторная и исследовательская активность, уровень тревожности мышей инбредных линий C57BL/6 и BALB/c, а также влияние на эти показатели ноотропных средств разной структуры — пирacetам, фенотропил, ноопепт, семакс, пантогама и нооглютила — при субхроническом введении. Установлено, что мыши BALB/c характеризуются большей тревожностью и меньшей эффективностью исследовательской активности в условиях незнакомой среды, чем мыши C57BL/6. После субхронического введения всех препаратов лишь у мышей BALB/c происходило улучшение исследовательского поведения. Кроме того, первые 4 ноотропа уменьшали у них уровень тревожности, а фенотропил дополнительно увеличивал и двигательную активность. Таким образом, ноотропные препараты оказывают выраженный положительный модулирующий эффект на спонтанное ориентировочное поведение линий мышей с исходно низкой эффективностью исследовательской активности (BALB/c). При этом одни из них (пантогам, нооглютил) проявляют только ноотропные свойства, а другие оказывают влияние на уровень тревожности (пирacetам, фенотропил, ноопепт, семакс) и двигательную активность (фенотропил).

**Ключевые слова:** BALB/c, C57BL/6, пирacetам, фенотропил, ноопепт, семакс, пантогам, нооглютил, ноотропное действие, тревожность, крестообразный лабиринт

### ВВЕДЕНИЕ

Отличительная особенность ноотропных препаратов — их своеобразная амфотропность, они не оказывают влияния на высшую нервную деятельность и психику человека при его нормальном (здоровом) состоянии и улучшают течение этих процессов при имеющихся функциональных или морфологических нарушениях [2]. У здоровых людей и животных с помощью аналитических методов, применяемых сегодня в фармакологии, очень трудно установить значительные изменения в поведении, биохимических процессах в нервных тканях под действием ноотропных препаратов [1]. Кроме того, ноотропы способны оказывать лечебное действие как стимуляторы процесса познания после длительной курсовой терапии.

В последнее время всё чаще исследователи привлекают в анализе психофармакологических эффектов неинвазивные модели когнитивного дефицита, существенно дополняющие методы, в основе которых лежит выработка условных рефлексов. В связи с этим возникает необходимость использования новых экспериментальных моделей когнитивной недостаточности, среди которых подходящим критерием является реакция особи на новизну обстановки (исследовательское поведение), представляющая часть высших интегративных процессов и обуславливающая различные типы поведения [4, 11, 13, 15, 20].

Ранее в нашей лаборатории на мышах аутбредной линии ICR было показано, что субхроническое введение

ноотропных препаратов приводит к повышению показателей эффективности исследовательского поведения только у животных субпопуляции с низким уровнем ориентирования в закрытом крестообразном лабиринте [5, 6, 10]. Была установлена зависимость действия ноотропов от когнитивного статуса, выявлены фенотипические различия эффективности исследовательского поведения в крестообразном лабиринте, которые можно использовать в качестве неинвазивной модели когнитивного дефицита.

С целью продолжения исследований в данном направлении в настоящей работе проведено сравнение поведенческих характеристик мышей двух инбредных линий BALB/c и C57BL/6 в тесте “закрытый крестообразный лабиринт”, а также изучение влияния на них ноотропных препаратов различной химической структуры.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на самцах мышей линий BALB/c и C57BL/6 массой 25 – 30 г, которых содержали в виварии ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН в стандартных условиях со свободным доступом к воде и корму *ad libitum*, по 15 особей в клетке в течение 1-й недели до начала эксперимента, на стандартной диете при 12-часовом световом режиме. Животным посредством внутрибрюшинных инъекций в течение 5 дней (субхроническое введение) один раз в сутки вводили физиологический раствор (контрольная группа — NaCl, 0,9%) либо препараты, растворенные в физрастворе (опытные группы).

В эксперименте использовали следующие дозы препаратов: пирacetам — 200 мг/кг/день (UCB); фено-

<sup>1</sup> Лаборатория радиоизотопных методов исследований (зав. — проф. Г. И. Ковалёв) ФГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

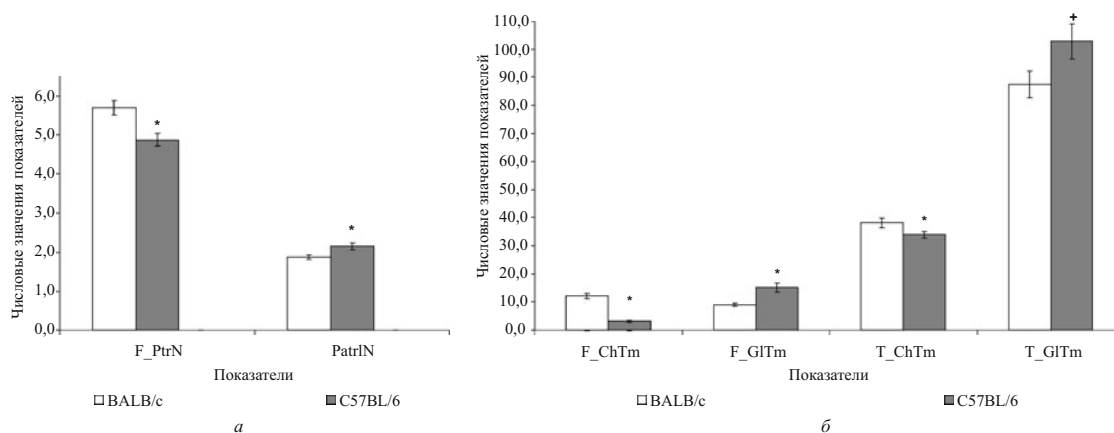


Рис. 1. Сравнение поведения мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “закрытый крестообразный лабиринт”.

\*, + — статистически значимые отличия от контроля по t-критерию Стьюдента и непараметрическим критериям соответственно.

тропил — 100 мг/кг/день (“Валента Фарм”) и пантогам — 200 мг/кг/день (ПИК-ФАРМА), семакс — 0,6 мг/кг/день (ОХФВ ИМГ РАН), нооглютил — 50 мг/кг/день и ноопепт — 1 мг/кг/день (синтезированы в ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН). Препараты применяли в дозах, эквивалентных по антиамнестическому эффекту в тесте УРПИ и в экспериментах по микродиализу [3].

Для оценки характера влияния исследуемых ноотропных веществ на спонтанную ориентацию, тревожность, двигательную активность — реакцию на новизну обстановки, как часть высших интегративных процессов, использовали тест закрытого крестообразного лабиринта. Данный метод не является инвазивным и основан на врожденной способности каждого животного к различной степени эффективности исследовательского поведения в новой обстановке. Закрытый крестообразный лабиринт состоял из 4-х пластмассовых закрытых пустых отсеков, соединенных с центральным отсеком с помощью входных отверстий. Мышь помещали в центральный отсек лабиринта и в полуавтоматическом режиме с помощью программы Behaviour регистрировали последовательность и продолжительность ее переходов из одного рукава в другой. Последующий анализ данных позволял выделить ряд показателей эффективности исследовательского поведения, тревожности и двигательной активности [18].

Показатели величины 1-го цикла патрулирования (F\_PtrN) и числа циклов патрулирования (PatrN) используются для оценки ноотропного действия веществ [8, 14]: чем больше число заходов требуется мыши, чтобы посетить все 4 боковых рукава (совершить один цикл патрулирования), тем менее “систематично” и менее эффективно исследование лабиринта. Число циклов патрулирования, совершенных за время эксперимента, еще один показатель эффективности исследовательского поведения. Чем больше циклов патрулирования, тем более “систематично” и более эффективно исследование лабиринта животным.

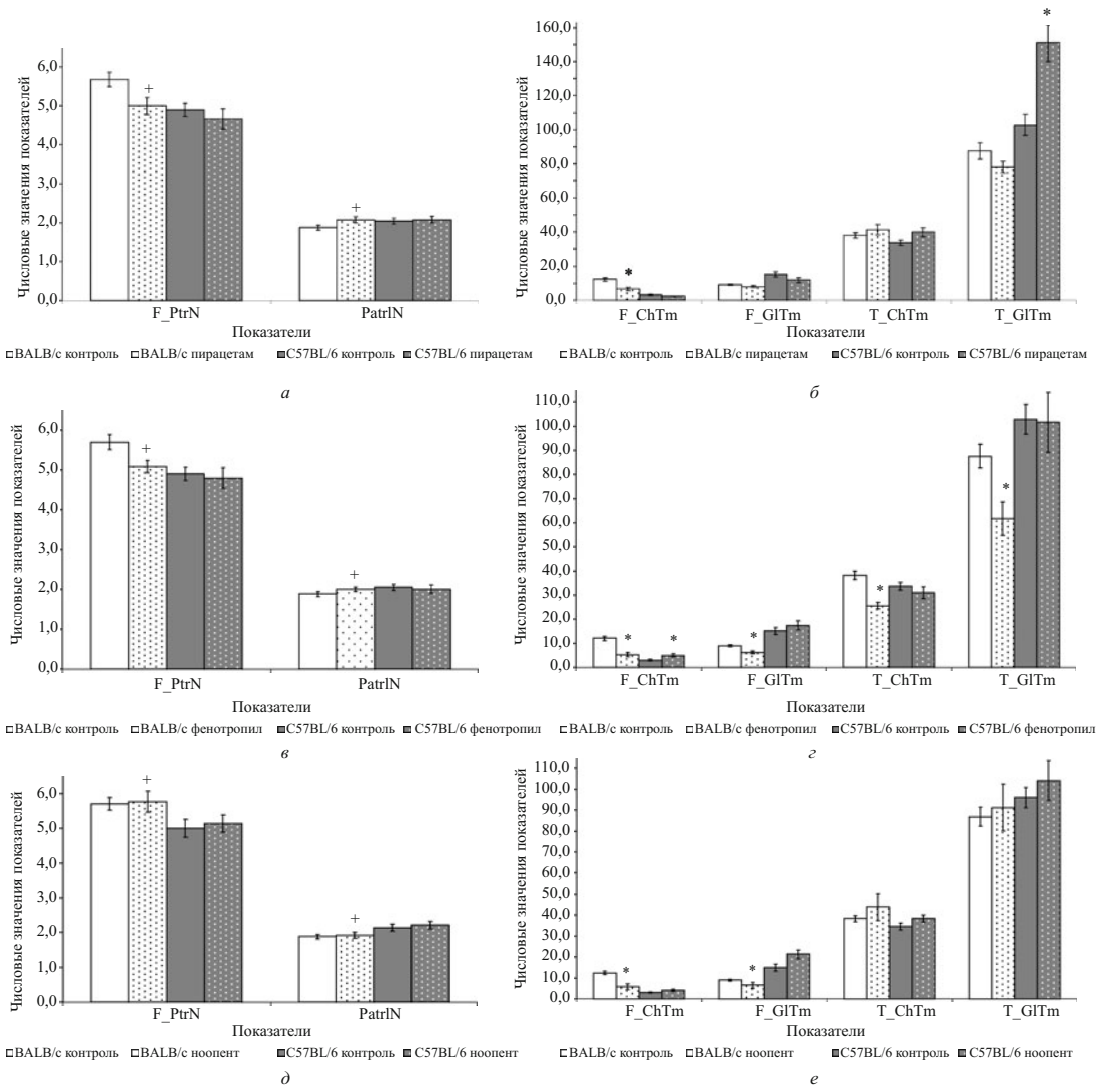
Латентный период (F\_ChTm) и продолжительность 1-го визита в боковой отсек (F\_GITm) — показатели, которые отражают уровень тревожности животного в новой обстановке и могут рассматриваться как показатель баланса между любопытством и тревогой животного в новой обстановке [12, 17, 18], могут быть использованы для оценки транквилизирующего (анксиолитического) эффекта веществ [9]. Эти показатели отрицательно коррелируют с продолжительностью пребывания животного в открытых рукавах в тесте открытого приподнятого лабиринта, что позволяет использовать избирательное изменение этих показателей в качестве индикатора тревожности [7, 16].

Общее время, проведенное животным в центральном и боковых отсеках лабиринта (T\_ChTm и T\_GITm) — показатели, которые отражают уровень двигатель-

#### Сопоставление фармакологических эффектов ноотропов в закрытом крестообразном лабиринте

Препарат	Исследовательская активность		Тревожность		Двигательная активность	
	C57BL/6	BALB/c	C57BL/6	BALB/c	C57BL/6	BALB/c
Пирацетам	+	+	-	-	0	0
Фенотропил	0	+	+	-	0	+
Ноопепт	0	+	0	-	0	0
Семакс	0	+	+	-	0	0
Пантогам	0	+	0	0	0	0
Нооглютил	0	+	0	0	0	0

Примечание. +, - и 0 — усиление, ослабление и отсутствие эффекта в сравнении с контролем.



**Рис. 2 (а – е).** Влияние субхронического введения ноотропных препаратов на поведение мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “закрытый крестообразный лабиринт”.

\*, + — статистически значимые отличия от контроля по t-критерию Стьюдента и непараметрическим критериям соответственно.

ной активности, а также характеризуют интенсивность обследования новой среды и могут быть использованы для оценки стимулирующего (тимолептического) или, наоборот седативного эффекта веществ [17, 19].

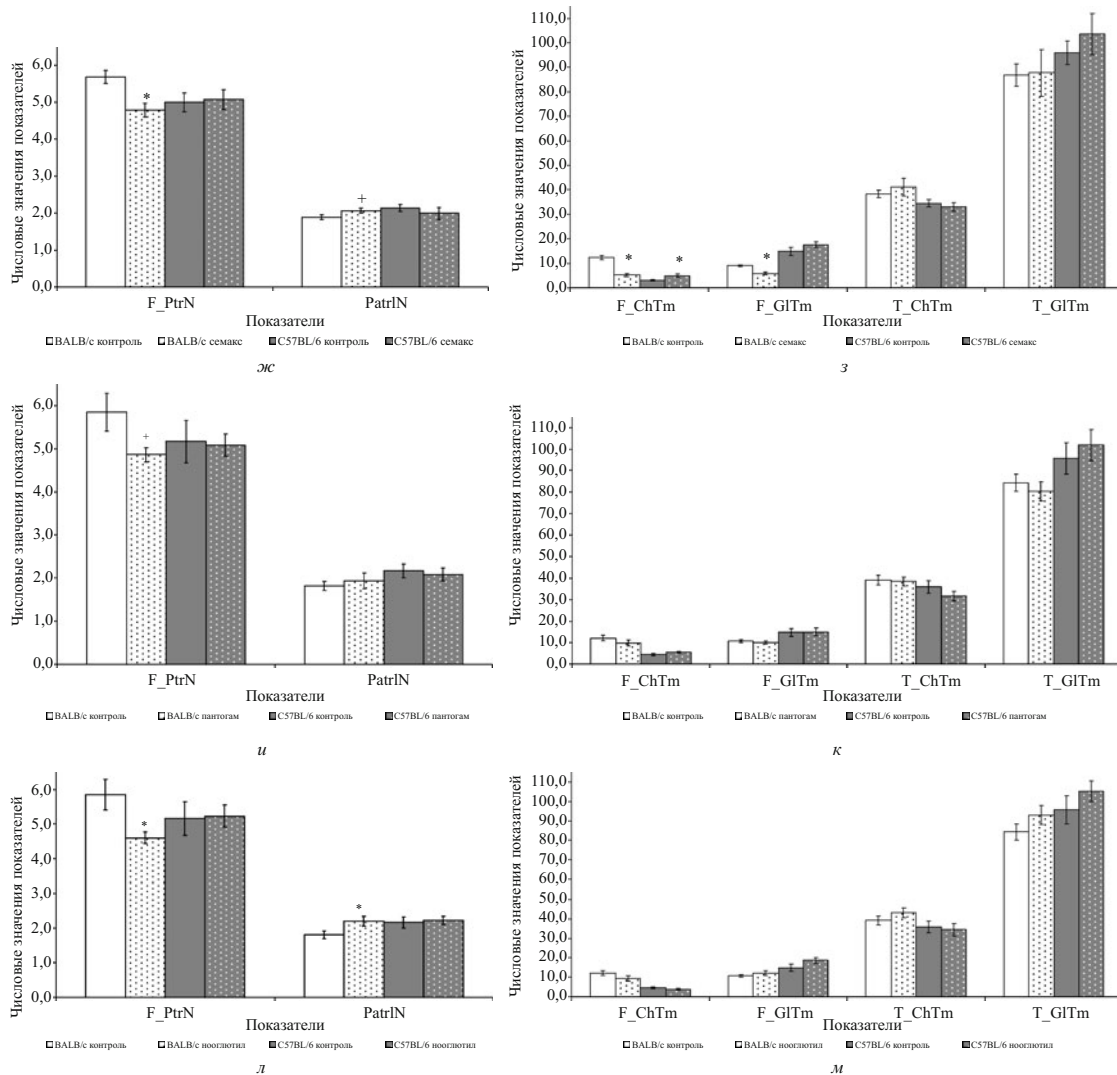
Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Statistika 6.0. При обработке полученных результатов использовали методы параметрической и непараметрической статистики (t-тест Стьюдента,  $\chi$ -квадрат, F-критерий Фишера, U-критерий Манна-Уитни, критерий Колмогорова-Смирнова, критерий Вальда-Вольфовица) согласно “Методическим рекомендациям по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ”. На графиках представлены средние значения с учетом стандартной ошибки среднего ( $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении поведения между двумя линиями наблюдалось значимое отличие по обоим этим параметрам: мыши BALB/c отличались исходно более низкой эффективностью исследовательского поведения (больше число заходов и меньше циклов патрулирования) по сравнению с мышами C57BL/6 (рис. 1, а).

В результате субхронического введения всех исследуемых ноотропных препаратов у мышей BALB/c наблюдалось статистически значимое снижение числа заходов в отсеки лабиринта, в среднем на 15 % по сравнению с контрольной группой (рис. 2а, в, д, ж, и, л). Общее число патрулирований отсеков в группах мышей BALB/c, получавших препараты, в среднем, увеличилось на 10 % по сравнению с контрольной группой.

В этих же условиях в группах мышей C57BL/6 значимых изменений указанных показателей не наблюда-



**Рис. 2 (ж – м).** Влияние субхронического введения ноотропных препаратов на поведение мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте “закрытый крестообразный лабиринт”.

\*, + — статистически значимые отличия от контроля по t-критерию Стьюдента и непараметрическим критериям соответственно.

лось, за исключением избирательного увеличения времени исследования ими тупиков лабиринта, наблюдавшегося после введения пирацетама, что, по-видимому, свидетельствует о некотором усилении исследовательского поведения, которое, тем не менее, не сопровождается изменением его эффективности.

Таким образом, для мышей линии BALB/c препараты по убыванию ноотропной активности можно условно расположить в следующей последовательности:

$$\begin{aligned} & \text{нооглютил} > \text{семакс} = \text{пантогам} = \\ & = \text{пирацетам} \sim \text{фенотропил} \gg \text{ноопепт} \end{aligned}$$

По показателям латентного периода первого захода в тупик (F\_ChTm) и продолжительности 1-го визита в боковой отсек (F\_GITm), были выявлены отличия между исследуемыми линиями мышей: BALB/c, которые демонстрировали большую степень их тревожности (в среднем, в 2,5 – 4 раза) и двигательной активности по сравнению с C57BL/6 (рис. 1, б).

После субхронического введения почти всех изучаемых ноотропов у мышей BALB/c отмечалось снижение тревожности под действием пирацетама, фенотропила, ноопепта, семакса, а также увеличение двигательной активности под влиянием фенотропила в сравнении с контрольной группой (рис. 2, б, г, е, з, к, м). По убыванию выраженности анксиолитического компонента изученные ноотропы формируют следующую последовательность:

$$\begin{aligned} & \text{семакс} = \text{фенотропил} \sim \text{ноопепт} > \text{пирацетам} \gg \\ & \text{пантогам} = \text{нооглютил} \end{aligned}$$

В отношении мышей C57BL/6 со стороны некоторых препаратов были отмечены фармакологические эффекты, наблюдавшиеся лишь у некоторых из изучавшихся веществ, а именно, анксиогенный эффект после введения фенотропила и семакса (рис. 2 б, г, е, з, к, м).

Таким образом, использование теста закрытого крестообразного лабиринта способствует выявлению и

количественной оценке выраженности исследовательской, тревожной и двигательной активности мышей в одной сессии. Благодаря этому установлено, что инбредные мыши линии BALB/c характеризуются в сравнении с особями инбредной линии C57BL/6 меньшей эффективностью исследовательского поведения, большей тревожностью и двигательной активностью в условиях незнакомой обстановки, что позволяет рекомендовать их для моделирования когнитивного дефицита и/или состояния повышенной тревожности и двигательной активности.

Результаты изучения на этих линиях фармакологических эффектов хорошо известных препаратов обобщены в таблице, анализ которой указывает, что для всех исследованных веществ общим является выраженный положительный модулирующий эффект на спонтанное ориентировочное поведение мышей с исходно низкой эффективностью исследовательского поведения (BALB/c).

Кроме того, для некоторых из них характерен анксиолитический компонент (пирacetам, фенотропил, ноопепт, семакс), а также усиление двигательной исследовательской активности (фенотропил). Ряд препаратов демонстрировал эффекты в отношении линии сравнения (C57BL/6): пирacetам увеличивал исследовательскую активность в тупиках, а фенотропил и семакс вызывали у этих мышей анксиогенный эффект (таблица).

## ВЫВОДЫ

1. В условиях теста закрытого крестообразного лабиринта мыши инбредной линии BALB/c проявляют меньшую эффективность исследовательского поведения в новой обстановке и более высокий уровень тревожности, чем мыши инбредной линии C57BL/6.

2. Субхроническое введение эквивалентных доз антиамнестического эффекта доз нооглутила, пантогама, семакса, пирacetам, фенотропила и ноопепта положительно влияет на спонтанное исследовательское поведение мышей BALB/c, не изменяя его у мышей C57BL/6.

3. У мышей BALB/c семакс, фенотропил, пирacetам и ноопепт снижают уровень тревожности. Фено-

тропил усиливает двигательную активность у мышей данной линии.

4. У мышей C57BL/6 пирacetам увеличивает исследовательское поведение в тупиках, а фенотропил и семакс проявляют анксиогенный эффект.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, *Лекарственное улучшение познавательной деятельности мозга (ноотропные средства)*, Ставрополь (2004).
2. Г. В. Ковалев, *Ноотропные средства*, Волгоград (1990).
3. Г. И. Ковалев, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Москва (1993).
4. Г. И. Ковалев, Ю. Ю. Фирстова, Р. М. Салимов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(1), 12 – 17 (2007).
5. Г. И. Ковалёв, Р. М. Салимов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(3), 3 – 5 (2008).
6. Г. И. Ковалёв, Ю. Ю. Фирстова, *Клин. фармакол. и тер.*, **19**(6), 72 – 73 (2010).
7. Н. В. Маркина, Н. В. Попова, Р. М. Салимов и др., *Журн. ВНД*, № 4(5), 789 – 798 (1999).
8. Р. М. Салимов, *Журн. ВНД*, № 38(3), 569 – 571 (1988).
9. Р. М. Салимов, Н. В. Маркина, О. В. Перепелкина и др., *Журн. ВНД*, № 53(1), 100 – 106 (2003).
10. Ю. Ю. Фирстова, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Москва (2008).
11. K. Antoniou, G. Papathanasiou, E. Papalex, et al., *Behav. Brain Res.*, № 187, 462 – 472 (2008).
12. C. Belzung, G. Le Pape, *Physiol. Behav.*, № 56, 623 – 628 (1994).
13. J. Gorisch, R. K. Schwarting, *Neurobiol. Learn. Mem.*, № 86(2), 175 – 187 (2006).
14. N. V. Markina, R. M. Salimov, I. I. Poletaeva, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat.*, **28**(3), 583 – 589 (2004).
15. C. R. Pawlak, R. K. Schwarting, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **73**(3), 679 – 687 (2002).
16. R. Salimov, N. Salimova, L. Shvets, et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **52**, 637 – 640 (1995).
17. R. M. Salimov, W. J. McBride, D. L. McKenzie, et al., *Alcohol.*, **13**, 297 – 300 (1996).
18. R. M. Salimov, *Alcohol*, **17**, 157 – 162 (1999).
19. R. M. Salimov, N. B. Salimova, L. N. Shvets, et al., *Alcohol.*, **20**, 61 – 68 (2000).
20. C. M. Thiel, C. P. Muller, J. P. Huston, et al., *Neuroscience*, **93**(1), 243 – 251 (1999).

Поступила 17.04.12

## EFFECTS OF NOOTROPIC DRUGS ON BEHAVIOR OF BALB/C AND C57BL/6 MICE IN THE EXPLORATORY CROSS-MAZE TEST

E. V. Vasil'eva, R. M. Salimov, and G. I. Kovalev

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

Exploratory behavior, locomotor activity, and anxiety in inbred mice of C57BL/6 and BALB/c strains subchronically treated with placebo or various types of nootropic (cognition enhancing) drugs (piracetam, phenotropil, noopept, semax, pantogam, nooglutil) have been evaluated using the exploratory cross-maze test. It was found that BALB/c mice in comparison to C57BL/6 mice are characterized by greater anxiety and lower efficiency of exploratory behavior in the previously unfamiliar environment. All tested drugs clearly improved the exploratory behavior in BALB/c mice only. In BALB/c mice, piracetam, phenotropil, noopept, and semax also reduced anxiety, while phenotropil additionally increased locomotor activity. Thus, the nootropic drugs displayed clear positive modulation of spontaneous orientation in the mice strain with initially low exploratory efficiency (BALB/c) in the cross-maze test. Some drugs (pantogam, nooglutil) exhibited only nootropic properties, while the other drugs exhibited both nootropic effects on the exploratory activity and produced modulation of the anxiety level (piracetam, phenotropil, noopept, semax) and locomotor activity (fenotropil).

**Key words:** BALB/c, C57BL/6, piracetam, fenotropil, noopept, semax, pantogam, nooglutil, nootropic effect, anxiety, cross-maze