

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 616.858:615.214

ОБЩИЕ И СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СЕЛАНКА, НООПЕПТА И СЕМАКСА НА ГЛИЦИНОВЫЙ САЙТ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ МОЗГА МЫШЕЙ BALB/c И C57Bl/6

© 2023 г. Е. В. Васильева¹, А. А. Абдуллина¹, Г. И. Ковалёв¹, *

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 18.11.2022 г.

После доработки 08.12.2022 г.

Принята к публикации 09.12.2022 г.

Проведено сравнение эффектов ноотропных препаратов пептидной природы селанка (300 мкг/кг/день), ноопепта (1 мг/кг/день) и семакса (0.6 мг/кг/день) на связывание лиганда ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов [³H]-MDL105.51 после субхронического в/б и и/н введений мышам инбредных линий BALB/c и C57Bl/6. Установлено, что у мышей C57Bl/6 исходное содержание глициновых мест связывания ($B_{\max}$) в коре мозга на 15% выше, а в гиппокампе на 47% меньше, чем у мышей BALB/c. В коре мозга применение и/н пути введения селанка, ноопепта и семакса приводило к уменьшению мест связывания глицина у мышей BALB/c на 18, 19 и 66%, а у мышей C57Bl/6 — на 53, 49 и 66% соответственно. В гиппокампе в результате и/н введения селанка, ноопепта и семакса изменения отмечались лишь у линии BALB/c — плотность мест связывания [³H]-MDL105.51 увеличивалась на 15, 63 и 95% соответственно. После в/б введения снижение наблюдалось только под влиянием селанка и семакса: в коре мышей BALB/c на 24 и 40%, в гиппокампе — на 11 и 19%, тогда как у мышей C57Bl/6 — на 15 и 47% в коре и на 45 и 24% в гиппокампе. Ноопепт в этих условиях был неэффективен. Однонаправленное влияние пептидов при в/б и и/н введениях в коре мозга у обеих линий может говорить об участии ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов коры в проявлении общих фармакологических эффектов на мышах BALB/c и C57Bl/6. Напротив, специфичность влияния селанка, ноопепта и семакса при и/н введении в гиппокампе у линии мышей BALB/c может быть связана с механизмом проявления ноотропной и анксиолитической активностей изучаемых пептидов именно у этой линии мышей.

Ключевые слова: селанк, ноопепт, семакс, BALB/c, C57Bl/6, префронтальная кора, гиппокамп, NMDA-рецепторы, глициновый сайт, [³H]-MDL105,519

DOI: 10.31857/S1027813323020176, **EDN:** UDCZGN

ВВЕДЕНИЕ

Селанк, семакс, ноопепт относятся к ноотропным препаратам пептидной природы, при этом они оказывают также нейропротективные и анксиолитические свойства. Проявляя общие фармакологические эффекты, эти пептиды обладают различиями в фармакокинетике и фармакодинамике, что указывает на наличие специфических для каждого свойств [1–3]. Несмотря на то, что селанк, семакс и ноопепт уже доступны на фармацевтическом рынке, причем первые два в виде назальных капель, а последний — в виде таблеток, нейрорецепторный механизм их действия до сих пор не полностью известен.

Ранее нами было показано, что ноопепт, селанк и семакс избирательно проявляют на мышах

линии BALB/c, обладающих исходным дефицитом когнитивной функции и повышенным уровнем тревожности в неинвазивном тесте “закрытый крестообразный лабиринт”, как ноотропный, так и анксиолитический эффект [4, 5], причем первый компонент преобладает при интраназальном введении, тогда как второй — при внутрибрюшинном [6]. Следует отметить, что данные эффекты развиваются лишь в результате неоднократного введения ноотропов [7, 8].

Далее для изучения механизмов полученных эффектов нами было исследовано влияние селанка, ноопепта и семакса при в/б и и/н введениях на глутаматные (NMDA- и mGluII) и ГАМК_A-рецепторы, участвующие в формировании ноотропной и анксиолитической активностей у мышей линий BALB/c и C57Bl/6 [9–11]. Было обнаружено, что при обоих путях поступления веществ в мозг происходит их воздействие на ГАМК_A-рецепторы моз-

* Адресат для корреспонденции: 125315 Москва, ул. Балтийская, 8; e-mail: kovalev@academpharm.ru, msvb2006@yandex.ru.

га, более выраженное в результате в/б у мышей BALB/c. В этой связи было предположено, что эти рецепторы участвуют в проявлении анксиолитической активности пептидов.

Напротив, в отношении глутаматных рецепторов были получены разнонаправленные эффекты пептидов, что не позволило прийти к однозначным выводам о роли этих рецепторов в проявлении фармакологической активности селанка, ноопепта и семакса, в связи с чем потребовались дальнейшие исследования в данном направлении [6, 12, 13].

В настоящей работе для расширения изучения механизма действия исследуемых пептидных препаратов в качестве потенциальной мишени был выбран глициновый сайт NMDA-рецепторов. Глицинсвязывающие модули локализованы на GluN1 и GluN3 субъединицах NMDA-рецепторов. Глицин связывается с сайтом и увеличивает проницаемость мембраны для ионов Na^+ . Активация глицинового сайта необходима для нормального функционирования глутаматного рецептора: без небольшого количества глицина глутамат не сможет вызвать деполяризацию клеточной мембраны и соответственно вызвать стимулирующий эффект на клетку [14, 15]. Известно, что нарушения в функционировании GluN1 субъединицы NMDA-рецепторов в медиальной префронтальной коре и гиппокампе играют важную роль в развитии когнитивных и социальных дефицитов, связанных с рядом психических заболеваний таких как аутизм, аффективное расстройство и шизофрения [16]. Помимо этого, имеются данные по участию вышеупомянутой субъединицы в регуляции тревожного поведения [17].

В связи с вышесказанным целью работы стало сопоставление эффектов внутрибрюшинного и интраназального введений селанка, ноопепта и семакса на специфическое связывание лиганда ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов [^3H]-MDL105,519 мембранами префронтальной коры и гиппокампа мышей BALB/c и C57BL/6.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Исследования проводили на самцах мышей линий BALB/c и C57BL/6 массой 25–30 г (питомник “Столбовая”), которых содержали в виварии ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова” 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-ти часовом световом режиме. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351.000.3-96 и 51000.4-96), приказу Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 года

“Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

Животным посредством в/б и и/н (10 мкл, с использованием микропипетки фирмы Eppendorf) инъекций в течение 5 дней (субхроническое введение) ежедневно один раз в сутки вводили физиологический раствор (контрольная группа – NaCl, 0.9%), либо препараты, растворенные в физрастворе (опытные группы). Мышей декапитировали сразу после испытания в тесте “закрытый крестообразный лабиринт”, подробно описанный ранее [6], головной мозг извлекали на льду, выделяли префронтальную кору и гиппокамп по общепринятой схеме [18] и сохраняли при -80°C для последующего проведения радиолигандного анализа.

Вещества. В экспериментах использовали дозу селанка (ЗАО ИНПЦ “Пептоген”, ИМГ РАН) 300 мкг/кг/день, ноопепта (синтезирован в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”) 1 мг/кг/день, семакса (ЗАО ИНПЦ “Пептоген”, ИМГ РАН) 0.6 мг/кг/день, которые проявляют как ноотропный, так и анксиолитический эффекты [12, 19]. Для изучения рецепторного связывания применяли [^3H]-MDL105,519 (PerkinElmer) – селективный антагонист глицинового сайта NMDA-рецепторов. Остальные реактивы приобретены в коммерческих источниках.

Выделение плазматических мембран с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга. Приготовление мембранных препаратов, содержащих NMDA-рецепторы коры и гиппокампа мозга проводили по модифицированной методике [20]. После декапитации ткань немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературном холодильнике при -80°C . В день эксперимента префронтальную кору размельчали в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло” в 20 объемах ледяного буфера (0.32 М сахараза; pH 8.0). Гомогенат центрифугировали в ультрацентрифуге “Optima L-70K” (Beckman Coulter) в течение 10 мин при 1000 g. Супернатант повторно центрифугировали при 20000 g в течение 20 мин. Образовавшийся осадок ресуспендировали в 20 мл холодной дистиллированной воды и оставляли во льду на 7–10 мин, после чего центрифугировали при 8000 g 20 мин. Полученный супернатант вместе с поверхностным мягким слоем осадка переносили в чистую пробирку и повторно центрифугировали при 48000 g 20 мин. Осадок суспендировали в 0.05 М Tris-citrate буфере (pH 8.0) и центрифугировали 48000 g 20 мин, последнюю процедуру повторяли еще раз. В ходе получения мембран все этапы центрифугирования проводились при 4°C . Полученную мембранную фракцию заморажива-

ли и хранили при -80°C . В день эксперимента мембраны суспендировали в 40 объемах 0.05 М Tris-citrate буфера (pH 8.0) и центрифугировали при 48000 g 20 мин. Полученный осадок суспендировали в необходимом объеме буфера и использовали в эксперименте.

Радиолигандный анализ NMDA-рецепторов (глициновый сайт). Инкубационная смесь (конечный объем 0.5 мл) содержала 50 мкл $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 (удельная активность 72 Кюри/ммоль), 250 мкл буфера и 200 мкл белковой суспензии мембран, для неспецифического связывания добавляли 50 мкл немеченного лиганда. Реакционную смесь инкубировали при 4°C в течение 45 мин.

Жидкостно-сцинтилляционная спектрометрия. По окончании инкубации пробы фильтровали через стекловолкнистые фильтры GF/C (Whatman), предварительно смоченные в 0.3% полиэтиленимине в течение 2 ч при комнатной температуре. Каждую пробирку промывали два раза холодным буфером, затем фильтры промывали два раза тем же объемом буфера. Фильтры просушивали на воздухе и переносили в сцинтилляционные флаконы. Фильтры заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости на основе толуола (4 г РРО, 0.2 г РОРОР на 1 л толуола). Радиоактивность проб определяли на счетчике Tri-Carb 2900TR (Perkin Elmer) с эффективностью счета 42–46%. Концентрацию белка измеряли по стандартной методике Лоури (1951).

Для обработки результатов радиолигандного связывания использовали программу GraphPad Prism 8 и Statistica 6.0. Результаты представлены в виде “mean $\pm$ SEM”.

Обработка и представление результатов. В экспериментах *in vitro* величину IC_{50} по отношению к связыванию меченых лигандов определяли при добавлении в инкубационную среду 50 мкл исследуемого соединения в конечных концентрациях в диапазоне 10^{-9} – 10^{-4} М. Объем инкубационной смеси составлял 500 мкл. Результаты экспериментов по радиорецепторному связыванию *ex vivo* оценивали с помощью рассчитанных величин K_d и B_{max} , которые отражают степень сродства рецептора к лиганду (нМ) и количество мест связывания лиганда (фмоль/мг белка), соответственно. Для анализа насыщения и получения характеристик связывания B_{max} и K_d измеряли специфическое связывание для NMDA-рецепторов — от 5 до 40 нМ. Специфическое связывание рассчитывали, как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Для построения кривых вытеснения и насыщения радиоактивных лигандов каждая концентрация исследуемого вещества была взята в 3-х повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты по радиорецепторному связыванию представлены на рис. 1–3 и в табл. 1. На начальной стадии экспериментов было изучено влияние трех пептидов на рецепторное связывание методом вытеснения специфического лиганда глицинового сайта NMDA-рецепторов $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 в условиях *in vitro*. Ни один из пептидов не конкурировал за места связывания лиганда в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-9} М, что свидетельствует об отсутствии у них структурного сродства к местам связывания глицинового сайта NMDA-рецептора коры и гиппокампа мышей линий BALB/c и C57Bl/6, величины IC_{50} составили >100 мкмоль/л.

По результатам радиолигандного анализа *ex vivo* изначально у intactных мышей C57Bl/6 уровень мест связывания глицина в NMDA-рецепторах коры мозга оказался выше на 15%, чем у intactных мышей BALB/c. В гиппокампе обнаружилось обратное: плотность глициновых рецепторов мышей BALB/c была на 47% больше, чем у мышей C57Bl/6. Субхроническое введение пептидов во всех экспериментальных группах не изменяло константы диссоциации (K_d) в связывании $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 с ГЛИ-сайтом NMDA-рецепторов, но привело к значимым изменениям параметра B_{max} практически во всех опытных группах.

Селанк в коре при в/б введении у мышей линии BALB/c снижал величину B_{max} на 24%, у мышей линии C57Bl/6 — на 25%, при и/н введении у BALB/c — на 18%, у C57Bl/6 — на 53%. В гиппокампе при в/б введении у BALB/c селанк уменьшал B_{max} на 11%, у C57Bl/6 — на 45%, а при и/н — у BALB/c увеличивал на 15% (*t*-тест, $p < 0.05$), не имея эффекта у C57Bl/6. Ноопепт как в коре, так и в гиппокампе при в/б введении не оказывал влияния на рецепторные характеристики у обеих линий мышей; при и/н введении в коре — понижал плотность рецепторов у линии BALB/c — на 19%, у C57Bl/6 — на 49%, а в гиппокампах мышей BALB/c увеличивал плотность рецепторов на 63% (*t*-тест, $p < 0.05$) без воздействия на параметры связывания $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 у C57Bl/6.

Семакс в коре при в/б введении у мышей линии BALB/c снижал количество мест связывания глицина на 40%, у мышей линии C57Bl/6 — на 47%, а при и/н введении у BALB/c — на 66%, у C57Bl/6 — на 66%. В ткани гиппокампа после в/б введения величина B_{max} у BALB/c уменьшалась на 19%, у C57Bl/6 — на 24%, а после и/н у BALB/c происходило увеличение рецепторного связывания на 95% (*t*-тест, $p < 0.05$), тогда как у C57Bl/6 изменений не наблюдалось.

В ранее проведенных исследованиях нами было показано, что у мышей линии BALB/c, исходно имеющих меньшую исследовательскую активность и больший уровень тревожности по сравнению с

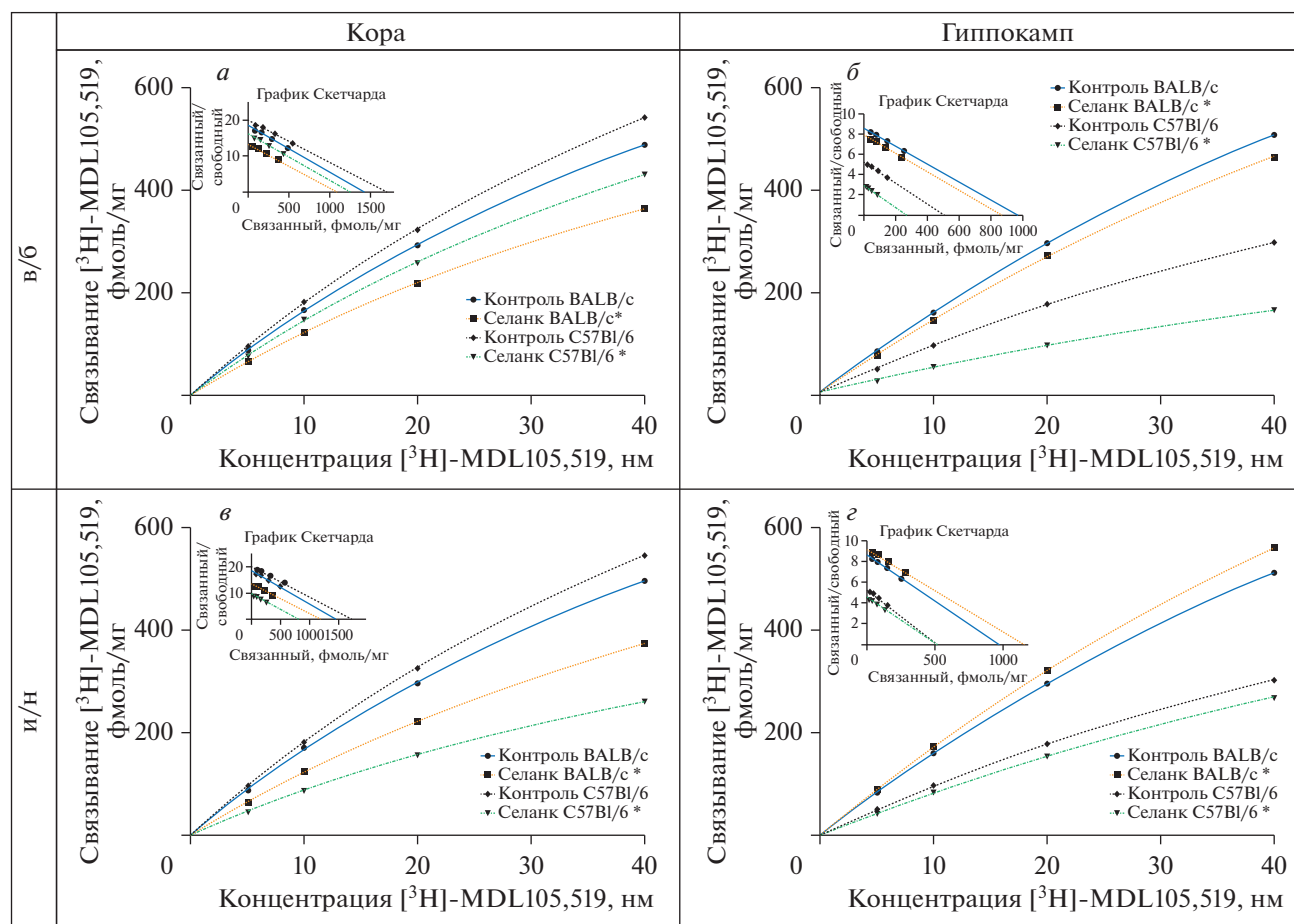


Рис. 1. Влияние внутрибрюшинного (а, б) и интраназального (в, г) введения селанка на специфическое связывание $[^3\text{H}]\text{-MDL105,519}$ с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6, кривая насыщения и график Скэтчарда. Примечание: * статистически значимые отличия от контроля по *t*-тесту Стьюдента, $p < 0.05$.

мышью C57Bl/6, после в/б введения в спектре психофармакологического действия селанка, ноопепта и семакса преобладают анксиолитические свойства, тогда как при назальном — ноотропные [5, 6].

Избирательность действия селанка, ноопепта и семакса в отношении инбредной линии мышей BALB/c отмечалась в наших предыдущих экспериментах, в которых все три пептида увеличивали плотность ГАМК_A-рецепторов в коре мозга этих мышей при обоих путях введения [12, 13].

Вместе с тем, различные пути введения этих пептидов не сопровождалась одинаковой направленностью действия на уровне глутаматных NMDA-рецепторов, в частности, в отношении глутаматных NMDA-рецепторов (сайт связывания МК-801) мышей линий BALB/c и C57Bl/6 [6].

В настоящем исследовании нам удалось охарактеризовать стороны действия, общие для изученных пептидов. Во-первых, это уменьшение плотности ГЛИ-сайтов NMDA-рецепторов в коре мозга вне зависимости от способа введения и

линии мышей (исключение составил лишь ноопепт при в/б введении), причем, при сравнении влияния в количественном отношении результат интраназального введения выглядит убедительнее (табл. 1). Вероятно, всем изученным пептидам более присущ экстранейрональный транспорт вдоль обонятельного нерва, посредством которого короткие пептидные молекулы могут попадать напрямую в нервную ткань по межклеточному пространству через щелевые контакты между поддерживающими клетками и обонятельными нейронами. При этом нет участия пресистемного метаболизма в желудочно-кишечном тракте и печени, в связи с чем терапевтический эффект достигается быстрее [21, 22].

Во-вторых, к общим можно отнести рецепторные эффекты селанка и семакса в гиппокампе мышей обеих линий в результате в/б введения (вновь за исключением ноопепта). В отношении последнего можно предположить, что причиной отсутствия эффекта в коре и гиппокампе мозга мышей обеих линий после в/б введения может

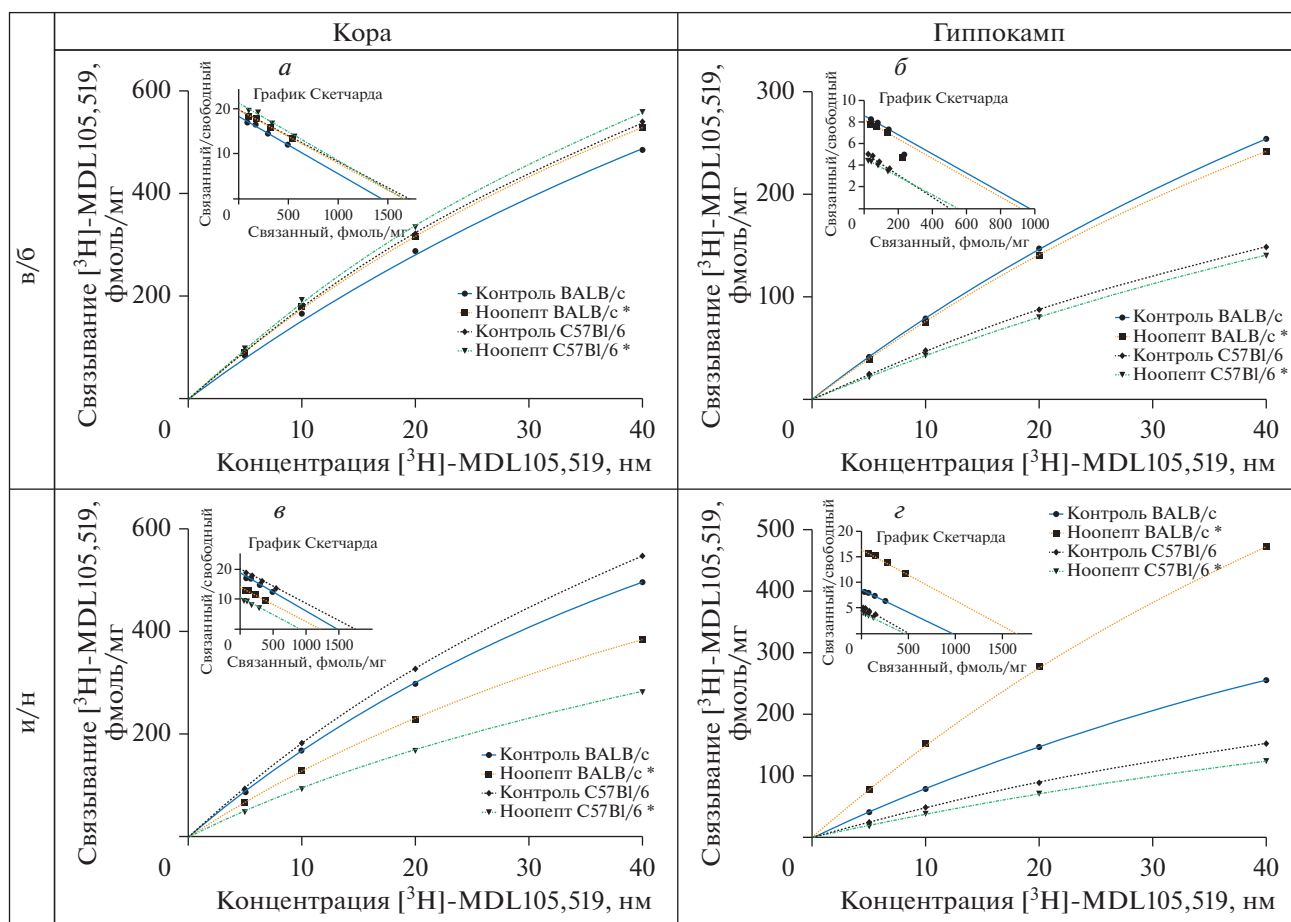


Рис. 2. Влияние внутрибрюшинного (а, б) и интраназального (в, з) введения ноопепта на специфическое связывание $[^3\text{H}]\text{-MDL105,519}$ с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6, кривая насыщения и график Скетчарда. Примечание: — * статистически значимые отличия от контроля по t -тесту Стьюдента, $p < 0.05$.

служить его химическая структура: будучи дипептидом, ноопепт является самым коротким из представленных пептидов, что предполагает меньшее количество образующихся метаболитов. Поступая в системный кровоток, ноопепт проникает через гематоэнцефалический барьер, определяется в мозге в больших концентрациях, чем в крови, пептид частично сохраняется в неизменном виде, частично метаболизируется с образованием фенилуксусной кислоты, фенилацетилпролина и циклопролилглицина. Неизмененный ноопепт обнаруживается в сыворотке крови в малых количествах, поскольку быстро метаболизируется в течение 25 мин [23].

Кроме того, к числу особенностей действия ноопепта можно отнести увеличение плотности мест связывания $[\text{G-}^3\text{H}]\text{MK-801}$ на NMDA-рецепторах мозга мышей генотипа BALB/c после в/б введения, тогда как ни у селанка, ни у семакса подобного эффекта не наблюдалось [6].

Наиболее высокая степень специфичности эффектов пептидов наблюдается при и/н введе-

нии пептидов: (а) все три пептида приводят к возрастанию плотности глициновых мест связывания NMDA-рецепторов, (б) этот эффект проявляется только у мышей BALB/c и (в) специфичен для гиппокампа мозга. Причиной такого эффекта может быть первичное поступление в разные области мозга при разных путях введения. В частности, именно при и/н пути введения вещества, попадающие в мозг по обонятельному нерву, достигают преимущественно ростральные отделы мозга, включая обонятельные луковицы, гиппокамп, миндалину [24–26]. В данном случае наибольшее количество пептидов, минуя системный кровоток, доходят в неизменном виде до гиппокампа мышей BALB/c.

Обращает на себя внимание, что при обоих способах введения пептидов у этих линий мышей в разных структурах мозга семакс оказывает наибольшее по сравнению с ноопептом и селанком влияние на рецепторные характеристики. Возможным объяснением служат сведения о способности семакса конкурировать за ортостерические места связывания лиганда метаболитных глута-

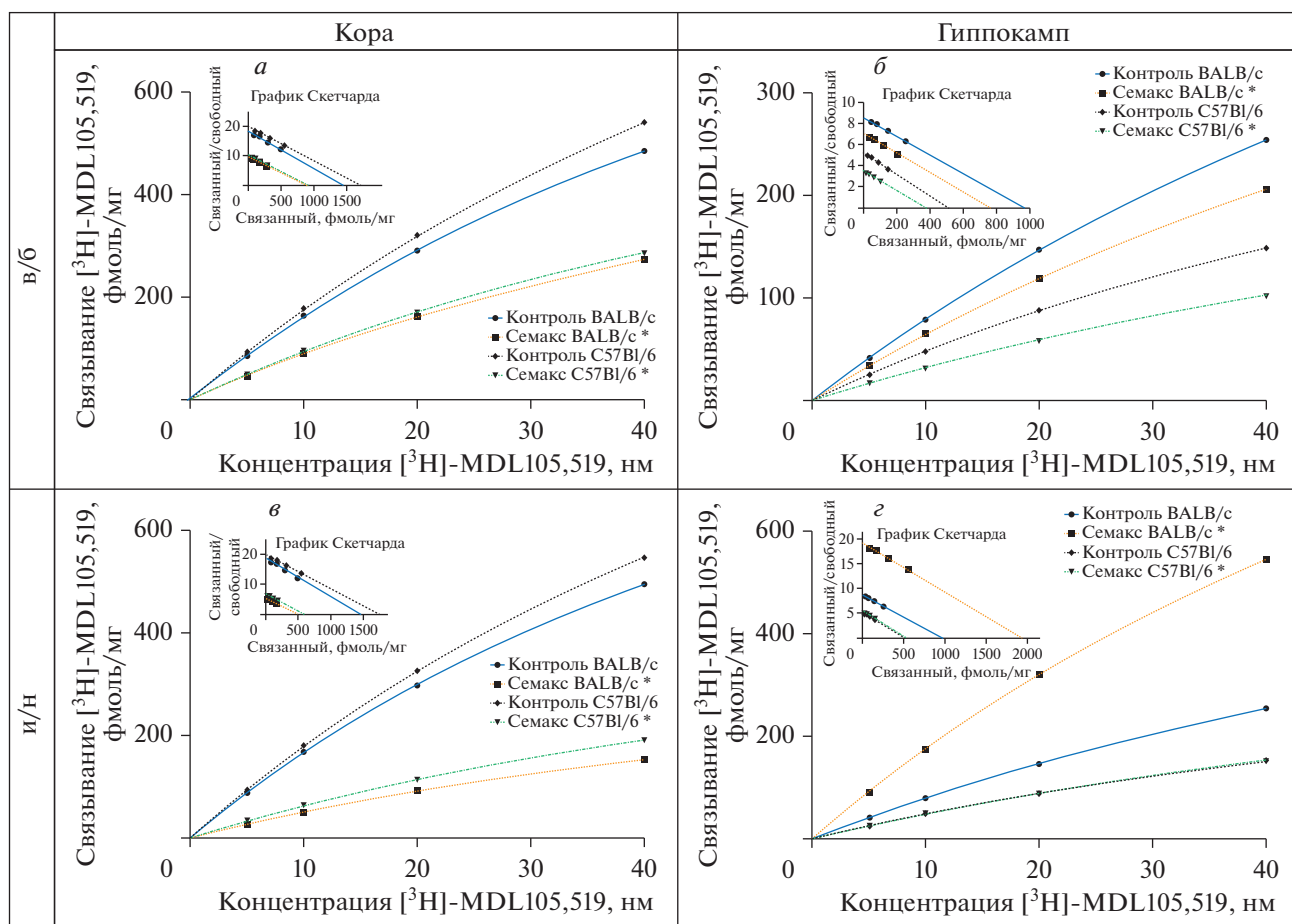


Рис. 3. Влияние внутрибрюшинного (а, б) и интраназального (в, г) введения семакса на специфическое связывание $[^3\text{H}]\text{-MDL105,519}$ с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6, кривая насыщения и график Скетчарда. Примечание: * статистически значимые отличия от контроля по t -тесту Стьюдента, $p < 0.05$.

матных рецепторов — $[G\text{-}^3\text{H}]\text{LY354740}$ [27], что в свою очередь, косвенно влияет на активность NMDA-рецепторов.

В качестве причины уменьшения количества глициновых сайтов под влиянием пептидов можно привести существование специфического взаимодействия разных субъединиц NMDA-рецепторов. Так, сайт связывания глутамата на субъединице GluN2 и сайт глицина на субъединице GluN1 демонстрируют отрицательную обратную связь: связывание одного агониста уменьшает видимое сродство другого почти в 5 раз [28]. Об этом взаимодействии свидетельствует форма десенсибилизации, когда NMDA-рецепторы активируются глутаматом на фоне ненасыщенных мест связывания глицина [28–30]. В нашем случае, возможно, имеет место феномен увеличения мест связывания глутамата, впоследствии приводящее к снижению сродства глицина и его мест связывания, подтверждение чего требует проведения дополнительных экспериментов.

Конечно, необходимо отметить, что использованный нами метод радиолигандного анализа имеет объективные ограничения, не позволяющие определить конкретные субъединицы, на которых происходит уменьшение числа ГЛИ-сайтов. По этой причине более детальная интерпретация полученных данных затруднена. В частности, специфическое взаимодействие глицина с разными субъединицами вызывает разные эффекты: связывание глицина с субъединицами GluN3 запускает открытие канала, а с GluN1 оказывает противоположный эффект, приводя к автоингибированию путем быстрого перехода в непроницаемое, десенсибилизированное состояние [31–34].

Анализ полученных в настоящей работе данных свидетельствует о возможности участия ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов коры мозга (а также гиппокампа при в/б введении), в формировании эффектов селанка, ноопепта и семакса, общих для мышей обеих линий BALB/c и C57Bl/6. Следовательно, роль этого сайта в коре, а также гиппокампе при в/б введении не является опре-

Таблица 1. Влияние селанка, ноопепта и семакса на характеристики связывания с ГЛИ-сайтом NMDA-рецепторов коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6 *ex vivo* после внутрибрюшинного и интраназального субхронических введений

Структура	Введение	Группы	$B_{\max}$, фмоль/мг белка	
			BALB/c	C57Bl/6
Кора	в/б	Контроль	1434 ± 50	1686 ± 37#
		Селанк	1088 ± 29*	1260 ± 47*
		Ноопепт	1609 ± 48	1628 ± 70
		Семакс	854 ± 35*	887 ± 39*
	и/н	Контроль	1458 ± 51	1704 ± 38#
		Селанк	1189 ± 46*	794 ± 27*
		Ноопепт	1181 ± 45*	870 ± 29*
		Семакс	496 ± 21*	576 ± 20*
Гиппокамп	в/б	Контроль	944 ± 13	496 ± 9#
		Селанк	838 ± 21*	274 ± 14*
		Ноопепт	871 ± 23	528 ± 12
		Семакс	767 ± 12*	375 ± 6*
	и/н	Контроль	954 ± 13	507 ± 9#
		Селанк	1096 ± 31*	512 ± 12
		Ноопепт	1561 ± 40*	473 ± 7
		Семакс	1862 ± 45*	527 ± 12

Примечание: */# статистически значимые отличия от контроля/между контролями (*t*-тест Стьюдента, $p < 0.05$); данные представлены в виде средних арифметических величин и их стандартных ошибок, $m \pm SEM$.

деляющей в проявлении ноотропного и/или анксиолитического эффектов ввиду отсутствия избирательности этих действий в отношении мышей линии BALB/c [6].

Напротив, специфическое сочетание (а) одинаковой направленности полученных эффектов по увеличению плотности (б) ГЛИ-сайтов NMDA-рецепторов (в) гиппокампа у (г) мышей BALB/c после (д) назального введения всех трех пептидов дает основание предположить, что этот сайт может рассматриваться в качестве функциональной мишени в комплексном механизме формирования ноотропного эффекта. Действительно, в предыдущих исследованиях нами было обнаружено, что ноотропный компонент фармакологического эффекта изучаемых пептидов при и/н введении мышам линии BALB/c в количественном отношении преобладает над анксиолитическим [6].

ВЫВОДЫ

1. Обладающие ноотропным эффектом пептидные препараты селанк, ноопепт и семакс не конкурируют с [³H]-MDL105,519 за специфические места связывания глицина в NMDA-рецепторах в условиях *in vitro*.

2. Гексапептид селанк снижает плотность глициновых сайтов: в коре при в/б и и/н введениях — у мышей BALB/c на 24 и 18%, у C57Bl/6 — на 25 и 53% соответственно, в гиппокампе при в/б введении — у мышей BALB/c на 11%, у C57Bl/6 — на 45%; повышает количество мест связывания глицина в гиппокампе при и/н введении у мышей линии BALB/c на 15%.

3. Дипептид ноопепт уменьшает количество глициновых сайтов NMDA-рецепторов в коре при и/н введении у мышей линии BALB/c на 19%, у C57Bl/6 — на 49%; повышает количество мест связывания глицина в гиппокампе при и/н введении у мышей линии BALB/c на 63%.

4. Гептапептид семакс снижает плотность глициновых рецепторов: в коре при в/б и и/н введениях — у мышей BALB/c на 40 и 66%, у C57Bl/6 — на 47 и 66% соответственно, в гиппокампе при в/б введении — у мышей BALB/c на 19%, у C57Bl/6 — на 24%; повышает количество мест связывания глицина в гиппокампе при и/н введении у мышей линии BALB/c на 95%.

5. Однонаправленность эффектов семакса, ноопепта и селанка в отношении плотности ГЛИ-сайтов NMDA-рецепторов в гиппокампе после

интраназального введения, избирательных к линии мышей BALB/c, предполагает в совокупности их специфичность в комплексном механизме формирования ноотропного эффекта.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0521-2019-0009 “Анализ рецепторных механизмов и поиск средств фармакологической протекции ЦНС при нарушениях мозгового кровообращения и когнитивных расстройствах”, а также FGFG-2022-0006 “Фармакологическая коррекция цереброваскулярных и сопряженных когнитивных расстройств с их нейрорецепторным анализом”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Организация экспериментов соответствовала этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург; Правила надлежащей лабораторной практики”, утвержденные приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Телешова Е.С., Бочкарев В.К., Сюняков Т.С., Бугаева Т.П., Незнамов Г.Г. // Психиатрия. 2010. № 4. С. 26–35.
2. Ashmarin I.P., Nezavibatko V.N., Myasoedov N.F., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Ponomareva-Stepnaya M.A., Andreeva L.A., Kaplan A.Y., Koshelev V.B., Rysina T.V. // Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 1997. V. 47. № 7. P. 429–430.
3. Gudasheva T.A., Voronina T.A., Ostrovskaya R.U., Rozantsev G.G., Vasilevich N.I., Trofimov S.S., Kravchenko E.V., Skoldinov A.P., Seredenin S.B. // Eur. J. Med. Chem. 1996. V. 31. P. 151–157.
4. Ковалев Г.И., Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М., Кондрахин Е.А. // Психиатрия. 2010. Т. 45. № 3. 23–27.
5. Васильева Е.В., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75. № 7. С. 32–37.
6. Vasileva E.V., Kondrakhin E.A., Abdullina A.A., Salimov R.M., Kovalev G.I. // Neurochem. J. 2020. V. 14. № 3. P. 268–278.
7. Ковалев Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76. № 9. С. 3–10.
8. Ковалев Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 12. С. 49–55.
9. Dauvermann M.R., Lee G., Dawson N. // Br. J. Pharmacol. 2017. V. 174. № 19. P. 3136–3160.
10. Haefely W., Kulcsár A., Möhler H. // Psychopharmacol. Bull. 1975. V. 11. P. 58–59.
11. Smith K.S., Engin E., Meloni E.G., Rudolph U. // Neuropharmacology. 2012. T. 63. P. 250–258.
12. Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. Т. 79. № 9. С. 3–11.
13. Vasil'eva E.V., Abdullina A.A., Kovalev G.I. // Neurochem. J. 2021. V. 15. № 3. P. 260–265.
14. Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., Menniti F.S., Vance K.M., Ogden K.K., Hansen K.B., Yuan H., Myers S.J., Dingledine R. // Pharmacol. Rev. 2010. V. 62. P. 405–496.
15. Stroebel D., Mony L., Paoletti P. // Neuropharmacology. 2021. V. 193. P. 1–12.
16. Finlay J.M., Dunham G.A., Isherwood A.M. // Brain Res. 2015. V. 1600. P. 70–83.
17. Grova N., Schroeder H., Farinelle S., Prodhomme E., Valley A., Claude P., Muller C.P. // Chemosphere. 2008. V. 73. P. S295–S302.
18. Glowinski L.L., Iversen J. // J. Neurochem. 1966. V. 13. № 8. P. 655–669.
19. Васильева Е.В., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2016. № 2. С. 31–36.
20. Parsons C.G., Danysz W., Quack G., Hartmann S., Lorenz B., Wollenburg C., Baran L., Przegalinski E., Kostowski W., Krzascik P., Chizh B., Headley P.M. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1997. V. 283. № 3. P. 1264–1275.
21. Hanson L.R., Frey H.F. // BMC Neuroscience. 2008. № 9. P. S3–S5.
22. Illum L. // Eur. J. Pharm. Sci. 2000. № 11. P. 1–18.
23. Бойко С.С., Жердев В.П., Дворянинов А.А., Гудаева Т.А., Островская Р.У., Воронина Т.А., Розанцев Г.Г., Середин С.Б. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1997. № 60. С. 101–104.
24. Potaman V.N., Antonova L.V., Dubynin V.A., Zaitzev D.A., Kamensky A.A., Myasoedov N.F., Nezavibatko V.N. // Neurosci. Lett. 1991. V. 127. № 1. P. 133–136.
25. Манченко Д.М., Глазова Н.Ю., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2010. Т. 96. № 10. С. 1014–1023.
26. Chen X.Q., Fawcett J.R., Rahman Y.E., Ala T.A. and Frey W.H. 2nd // J. Alzheimers Dis. 1998. V. 1. № 1. P. 35–44.
27. Фирстова Ю.Ю., Васильева Е.В., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2010. Т. 74. № 1. С. 6–10.
28. Mayer M.L., Vyklicky L., Clements J. // Nature. 1989. V. 338. P. 425–427.
29. Lerma J., Zukin R.S., Bennett M.V. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1990. V. 87. P. 2354–2358.
30. Vyklický L., Benveniste M., Mayer M.L. // J. Physiol. 1990. V. 428. P. 313–331.
31. Awobuluyi M., Yang J., Ye Y., Chatterton J.E., Godzik A., Lipton S.A., Zhang D. // Mol. Pharmacol. 2007. V. 71. P. 112–122.
32. Grand T., Abi Gerges S., David M., Diana M.A., Paoletti P. // Nat. Commun. 2018. V. 9. № 4769.

33. Madry C., Mesic I., Bartholomaeus I., Nicke A., Betz H., Laube B. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007. V. 354. P. 102–108.
34. Skrenkova K., Hemelikova K., Kolcheva M., Kortus S., Kaniakova M., Krausova B., Horak M. // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 12303.

Common and Specific Effects of Selank, Noopept, and Semax to Glycine Site of the NMDA Receptor in BALB/c and C57Bl/6 Mice Brain

E. V. Vasileva^a, A. A. Abdullina^a, and G. I. Kovalev^a

^a Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

The effects of the nootropic peptides selank (300 mg/kg), noopept (1 mg/kg), and semax (0.6 mg/kg) after subchronic intraperitoneal (i.p.) and intranasal (i.n.) administration on the binding of [³H]-MDL105,51 to NMDA glycine site in BALB/c and C57Bl/6 mice brain were examined. It was found that in C57Bl/6 mice in comparison with BALB/c the number of glycine binding sites ($B_{\max}$) at baseline was 15% higher in the cortex and 47% lower in the hippocampus. In the cortex i.n. administration of selank, noopept, and semax resulted in 18, 19, and 66% decrease in the number of glycine binding sites in BALB/c mice, and in 53, 49, and 66% in C57Bl/6 mice, respectively. In the hippocampus i.n. administration of selank, noopept, and semax resulted in 15, 63, and 95% increase in the number of glycine binding sites in BALB/c mice, respectively, while in C57Bl/6 mice all three peptides were not effective. In the cortex i.p. administration of selank and semax decreased glycine binding sites by 24 and 40% in the cortex and by 11 and 19% in the hippocampus in BALB/c mice, while in C57Bl/6 mice the reduction was 15% and 47% in the cortex and 45 and 24% in the hippocampus, respectively. Noopept did not affect the binding. These patterns observed in the cortex after i.n. and i.p. administration appear to be common to the both mice strains suggesting an engagement of the cortical NMDA glycine site in action(s) that underlie some common pharmacological effects of the selected peptides. Whereas the specific effect of selank, noopept, and semax after i.n. administration in the BALB/c hippocampi may be associated with the mechanisms of nootropic and anxiolytic activities of these peptides manifested in that mice strain.

Keywords: selank, noopept, semax, mice, BALB/c, C57Bl/6, prefrontal cortex, hippocampus, NMDA-receptor, glycine site, [³H]-MDL105,519