

ВЛИЯНИЕ ПИРАЦЕТАМА И НООПЕПТА НА NMDA- И 5-HT_{2A}-РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА МЫШЕЙ С ВРОЖДЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ β-АРРЕСТИНА

© 2023 г. Ю. Ю. Фирстова¹ *, Г. И. Ковалёв¹

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

Поступила в редакцию 08.11.2022 г.

После доработки 22.12.2022 г.

Принята к публикации 28.12.2022 г.

Основываясь на особой роли сигнального белка β-аррестина в процессах нейрональной пластичности и активации рецепторов, были изучены эффекты ноотропных препаратов Пирацетама (2-оксо-1-пирролидинацетамид, UCB 6215) (200 мг/кг, в/б) и Ноопепта (ГВС-111 – этиловый эфир *N*-фенил-ацетил-*L*-пролилглицина) (0.5 мг/кг, в/б) на мышях с врожденным дефицитом β-аррестина-2 (мыши BARR2-KO) и у мышей линии C57Bl/6 (дикий тип для линии BARR2KO, WT). В качестве объекта исследования были выбраны серотониновые (5-HT_{2A}) и NMDA-рецепторы мозга, играющие важную роль в когнитивных процессах, но различающиеся по типу строения и механизму активации. С помощью радиолигандного анализа было установлено, что линия мышей BARR2-KO отличается от мышей C57Bl/6 значительно более высокой плотностью (B_{max}) как NMDA-рецепторов в гиппокампе (на 85%), так и 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга (на 54%). Интересно, что оба препарата после хронического введения увеличивали количество NMDA-рецепторов в гиппокампе как у линии BARR2-KO (Пирацетам – на 76%, Ноопепт – на 78%), так и у линии C57Bl/6 (Пирацетам – на 112%, Ноопепт – на 49%). При этом влияние обоих препаратов на плотность серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов у мышей BARR2-KO и C57Bl/6 оказалось не одинаковым. В частности, Пирацетам вызывал возрастание плотности 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга мышей BARR2-KO на 31%, тогда как на линию сравнения C57Bl/6 ни Пирацетам, ни Ноопепт влияния не оказывали. Таким образом, отсутствие сигнального белка β-аррестина у мышей линии BARR2-KO сопровождается увеличением плотности NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторов в мозге. Вместе с тем, однонаправленность воздействия Пирацетама и Ноопепта на NMDA-рецепторы как у линии с врожденным дефицитом β-аррестина, так и у линии с нормальной экспрессией может указывать, что этот тип рецепторов является общей функциональной мишенью для действия ноотропов различной структуры.

Ключевые слова: Пирацетам, Ноопепт, NMDA-рецепторы, 5-HT_{2A}-рецепторы, β-аррестин-2, мыши BARR2-KO, мыши C57Bl/6

DOI: 10.31857/S102781332302005X, **EDN:** UCLJRS

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с концепцией об индивидуальной чувствительности к психотропным препаратам [1] в предыдущих исследованиях мы использовали различные типологические отличия как между, так и внутри мышей инбредных линий BALB/c и C57Bl/6, проводя сравнение действия ноотропных препаратов на их поведенческие и биохимические характеристики [2–4]. Кроме того, нами были задействованы модели с фенотипическими отличиями внутри аутбредной линии 1CR [5–7]. В результате удалось обозначить общие и специфические нейрорецепторные мишени для дей-

ствия различных по химической структуре ноотропов [8]. Так, после субхронического и хронического режимов введения большинство изученных препаратов (Пирацетам, Нооплютил, Пантогам, Семакс, Ацефен) оказывали в экспериментах *ex vivo* воздействие на плотность мест связывания NMDA-рецепторов и 5-HT₂-рецепторов в мозге мышей, различающихся по фенотипу, не конкурируя за места связывания обоих радиолигандов в условиях *in vitro* [5, 9]. Для углубления представления о характере влияния ноотропов различного строения на данные типы рецепторов, участвующие в когнитивных процессах, представлялось актуальным перенести подобные исследования на линии мышей с генетическими модификациями. Для этого была выбрана линия мышей с “нокаутом”

* Адресат для корреспонденции: 125315 Москва, ул. Балтийская, 8, тел. 495 601 2051; e-mail: kovalev@academpharm.ru, firstovaj@mail.ru.

гена сигнального белка β -аррестина-2 (BARR2-KO), сравниваемая с диким типом (линия C57Bl/6). Было выдвинуто предположение, что отсутствие этого сигнального белка может отразиться на функциональном состоянии как серотониновых (метаботропных), так и глутаматных NMDA (ионотропных) рецепторов. Действительно, аррестины демонстрируют удивительную универсальность, взаимодействуя с сотнями различных подтипов рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR), многочисленными нерепепторными сигнальными белками и компонентами механизмов интернализации, а также элементами цитоскелета, включая микротрубочки и центросомы [10]. Существует два основных типа внутриклеточных сигнальных механизмов, которые могут быть вызваны активацией рецепторов GPCR: G-белок-зависимый и β -аррестин-опосредованный G-белок-независимый. β -аррестин участвует как в независимой от G-белка внутриклеточной передаче сигналов, так и в прекращении передачи сигналов GPCR [11, 12]. Аррестины прекращают рецепторные взаимодействия с G-белками, перенаправляют передачу сигналов на различные альтернативные пути и организуют интернализацию (транспорт) рецептора и последующий внутриклеточный трафик [13].

Дефицит β -аррестина-2 сильно изменяет эффекты дофаминергических препаратов. При исследовании активации Akt в ответ на дофаминергические препараты у мышей C57Bl/6 и BARR2-KO обнаружено значительное снижение фосфорилирования Akt в стриатуме мышей WT после инъекции амфетамина или апоморфина. Напротив, введение этих двух препаратов не оказывало влияния на фосфорилирование Akt у мышей BARR2-KO [14].

Отсутствие β -аррестина-2 отражается также на эффектах серотонин-ергических препаратов, опосредуемых GPCR. В экспериментах по сравнению действия серотонина и синтетического галлюциногенного 5-HT_{2A}-агониста DOI (R-2,5-диметокси-4-йодамфетамина) на мышей, лишенных β -аррестина-2, показано, что как серотонин, так и DOI индуцируют фосфорилирование ERK1/2 в клетках нокаутной линии, тогда, как в клетках мозга мышей дикого типа фосфорилирование ERK1/2 наблюдалось только под действием серотонина [15].

Поскольку серотонин модулирует быструю ионотропную глутаматергическую нейротрансмиссию, можно ожидать, что изменение в уровне β -аррестина-2 отразится и на эффектах NMDA-рецепторов. На данный момент информация о состоянии глутаматергической системы у мышей BARR2-KO отсутствует [16, 17], поэтому в данной работе в качестве объекта исследования выбраны серотониновые 5-HT_{2A} (метаботропные) и глутаматные NMDA (ионотропные) рецепторы, вовлеченные в когнитивные процессы и взаимодействующие друг с другом.

Кроме того, функциональное состояние именно этих двух нейромедиаторных систем является маркером дефицита когнитивного поведения [5, 8], в связи с чем представилось актуальным изучить влияние ноотропных препаратов на эти типы рецепторов у мышей с врожденным дефицитом β -аррестина-2.

Таким образом, задачами настоящего исследования стали: (а) изучение плотности NMDA-рецепторов в гиппокампе и 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга мышей с нокаутным геном β -аррестина-2 (BARR2-KO) и у мышей C57Bl/6 (WT) с перспективой дальнейшего использования данной генетической патологии в исследованиях механизмов действия психотропных препаратов, и (б) сравнение специфичности действия ноотропного препарата Пирацетама и его топологического дипептидного аналога Ноопепта на NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторы мозга мышей с врожденным дефицитом β -аррестина-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Исследования по радиолигандному связыванию проводили в структурах мозга мышей с нокаутным геном β -аррестина-2 (мыши BARR2-KO) [18]. В качестве контрольной группы использовали животных генетически родственного штамма C57Bl/6 с полной экспрессией β -аррестина-2 (дикий тип, WT). Животных разделяли на группы: 1 группа – BARR2-KO – контроль (физиологический раствор), 2 группа – BARR2-KO – Пирацетам (200 мкг/мг/сутки), 3 группа – BARR2-KO – Ноопепт (0.5 мг/кг/сутки), 4 группа – C57Bl/6 – контроль (физиологический раствор), 5 группа – C57Bl/6 – Пирацетам (200 мкг/мг/сутки), 6 группа – C57Bl/6 – Ноопепт (0.5 мг/кг/сутки). В каждой группе было по 10 мышей самцов с массой 30–35 г. При проведении экспериментов *ex vivo* физиологический раствор (контрольная группа – NaCl, 0.9%), либо препараты (опытные группы) вводили животным посредством внутрибрюшинных инъекций в течение 14 дней, один раз в сутки. Эвтаназию животных проводили через 24 часа после последней инъекции с помощью цервикальной дислокации с последующей декапитацией. Головной мозг извлекали при температуре тающего льда и выделяли гиппокамп и кору мозга у каждого животного по схеме (Glowinski and Iversen, 1966) [19].

Вещества. Пирацетам (USB), Ноопепт (синтезирован в ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В.Закусова”), (+)МК–801, 8-OH-DPAT, Tris-HCl, HEPES, Na₄EDTA, NaCl, CaCl₂, KCl, MgSO₄ (все – Sigma), реактив Фолина (Merck), жидкостно-сцинтилляционный раствор на основе толуола (ХимМед).

Радиоактивные лиганды рецепторов. При изучении рецепторного связывания использовали следующие лиганды: для глутаматных рецепторов NMDA-подтипа в гиппокампе – $[G-^3H](+)$ МК-801 (210 кюри/ммоль) [20]; для серотониновых рецепторов 2 типа в коре – $[G-^3H]-(+)$ Кетансерин (40 кюри/ммоль) [21].

Радиолигандный анализ. Выделение плазматических мембран гиппокампа проводили по модифицированному методу Zhou (1997) [20]. После декапитации ткань немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературном холодильнике при -85°C . В день эксперимента гиппокампы размельчали в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло” в 10 объемах буфера № 1 (5 мМ HEPES, 4.5 мМ Tris, 0.32 М сахароза, pH 7.6). Гомогенат разбавляли 50 объемами буфера № 2 (5 мМ HEPES, 4.5 мМ Tris, pH 7.6) и центрифугировали при 1000 g 10 мин на ультрацентрифуге “Optima L-70K” (Beckman Coulter). Супернатант сливали и вновь центрифугировали при 25000 g 20 мин. Для увеличения выхода белка эту операцию проводили дважды. Полученный осадок ресуспендировали в 50 объемах буфера № 2 и центрифугировали при 8000 g 20 мин. Супернатант и верхний коричневый осадочный слой сливали и центрифугировали при 25000 g 20 мин. Осадок ресуспендировали в 50 объемах буфера № 3 (5 мМ HEPES, 4.5 мМ Tris, 1 мМ Na_4EDTA , pH 7.6) и троекратно центрифугировали при 25000 g 20 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 50 объемах буфера № 2 и однократно центрифугировали при 25000 g 20 мин. Конечный осадок сохраняли в 5 объемах буфера № 2 и замораживали в криопробирках в жидком азоте. В день анализа ткань размораживали, разбавляли в 10 объемах буфера № 2, центрифугировали при 25000 g 20 мин. Осадок ресуспендировали в необходимом количестве буфера № 2. Концентрация белка в суспензии мембран составляла 2–3 мг/мл.

Радиорецепторное связывание с 5-НТ_{2A}-рецепторами серотонина проводили по методу Leysen (1982) [21] с модификациями. Для этого кору мозга гомогенизировали в 10 мл ледяного ($0-4^{\circ}\text{C}$) 50 мМ Tris (pH 7.4) в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло”. Полученную суспензию центрифугировали при 40000 g в течении 20 мин в “Optima L-70K” (Beckman Coulter). После этого супернатант сливали, осадок ресуспендировали повторной гомогенизацией в том же объеме буфера, затем повторно центрифугировали. Процедуру отмывки проводили трижды, полученный осадок ресуспендировали в 10 мл инкубационного буфера и использовали по 250 мкл в процедуре связывания с меченым лигандом серотонинового рецептора.

Реакционная смесь (конечный объем 0.5 мл) содержала 200 мкл буфера, 50 мкл меченого лиганда $[G-^3H](+)$ МК-801 для NMDA рецепторов и

$[G-^3H]$ -Кетансерина для серотониновых рецепторов 2А подтипа (в диапазоне концентраций от 0.1 до 30 нМ) и 250 мкл суспензии мембран. Реакционную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч. По окончании инкубации пробы фильтровали через стекловолоконистые фильтры GF/B (Whatman), предварительно смоченные в 0.3% полиэтиленимине в течение 2 ч при 40°C . Каждую пробирку промывали один раз холодным буфером № 2, затем фильтры промывали три 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 PPO, 0.2 г POPOP на 1 л толуола).

Радиоактивность определяли на счетчике Tri-Carb 2900TR (Perkin Elmer) с эффективностью счета 42–46%. Концентрацию белка измеряли по стандартной методике Лоури (1951).

Для анализа кривой насыщения и получения характеристик связывания B_{max} и K_d измеряли специфическое связывание в диапазоне концентраций от 0.01 до 20 нМ. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 50 мкл немеченого лиганда (20 мкМ). Специфическое связывание рассчитывали, как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Все эксперименты по связыванию выполняли в трех повторностях.

Для определения параметров специфического связывания $[G-^3H](+)$ МК-801 и $[G-^3H]$ -Кетансерин с мембранами (равновесной константы диссоциации K_d и плотности рецепторов B_{max} – максимальной связывающей способности в расчете на 1 мг белка) строили график зависимости отношения молярных концентраций связанного (B) и свободного (F) меченого лиганда от молярной концентрации связанного меченого лиганда (B) (график Скэтчарда) с помощью программы GraphPad Prism 4 Demo.

Статистический анализ. Для обработки результатов радиолигандного связывания использовали программу GraphPad Prism 4 Demo. Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0 (“Stat Soft”, Tulsa, OK, USA). При обработке полученных результатов использовали метод параметрической статистики (F-критерий Фишера). Представлены средние значения с учетом стандартной ошибки среднего ($\text{mean} \pm \text{SEM}$)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментах по связыванию радиолигандов значения K_d для связывания как с NMDA-, так и с 5-НТ_{2A}-рецепторами были одинаковыми у мутантных и контрольных мышей. Однако величина B_{max} , характеризующая плотность рецепто-

Таблица 1. Характеристики связывания $[G-^3H](+)$ МК-801 с NMDA-рецепторами гиппокампа после субхронического введения Пирацетама и Ноопепта ($m \pm SEM$)

Группа животных	B_{max} , фмоль/мг	K_d , нМ
BARR2-КО–Контроль	3262 \pm 399	16 \pm 3.4
BARR2-КО–Пирацетам	5761 \pm 921*	19 \pm 5.1
BARR2-КО–Ноопепт	5798 \pm 818*	11 \pm 3.2
C57Bl/6–Контроль	1762 \pm 232 [#]	17 \pm 3.8
C57Bl/6–Пирацетам	3739 \pm 235*	12 \pm 1.5
C57Bl/6–Ноопепт	2606 \pm 104*	11 \pm 0.9

Достоверное отличие между контрольными группами, $p < 0.0001$. * Достоверное отличие между опытной и контрольной группой, $p < 0.0001$ (F-критерий Фишера).

Таблица 2. Характеристики связывания $[G-^3H](+)$ Кетансерина с 5-НТ_{2А}-рецепторами после субхронического введения Пирацетама и Ноопепта ($m \pm SEM$)

Группа животных	B_{max} , фмоль/мг	K_d , нМ
BARR2-КО–Контроль	488 \pm 79	7 \pm 2.7
BARR2-КО–Пирацетам	640 \pm 78*	4 \pm 1.5
BARR2-КО–Ноопепт	429 \pm 43	7 \pm 1.7
C57Bl/6–Контроль	315 \pm 30 [#]	5 \pm 1.2
C57Bl/6–Пирацетам	338 \pm 29	5 \pm 1.2
C57Bl/6–Ноопепт	268 \pm 27	4 \pm 1.3

Достоверное отличие между контрольными группами, $p < 0.003$. * Достоверное отличие между контрольной и опытной группой, $p < 0.0003$ (F-критерий Фишера).

ров для NMDA-рецепторов, у мышей BARR2-КО была 3262 \pm 399 фмоль/мг, а у линии сравнения C57Bl/6 эта величина составила 1762 \pm 232 фмоль/мг (табл. 1). B_{max} для 5-НТ_{2А}-рецепторов у линии BARR2-КО составил 488 \pm 79 фмоль/мг и у линии C57Bl/6 – 315 \pm 30 фмоль/мг (табл. 2). Таким образом, мозгу нокаутной линии мышей присуща более высокая плотность обоих типов рецепторов.

В результате 2-недельного введения исследуемых ноотропов происходит значительное увеличение числа мест связывания NMDA-рецепторов в гиппокампах мышей линии BARR2-КО и C57Bl/6. У линии BARR2-КО Пирацетам повышал значения B_{max} с 3262 \pm 399 до 5761 \pm 921 фмоль/мг, а Ноопепт с 3262 \pm 399 до 5798 \pm 818 фмоль/мг по сравнению с контрольной группой (рис. 1), (табл. 1). При этом и Пирацетам, и Ноопепт также увеличивали количество мест связывания NMDA-рецепторов и у линии C57Bl/6. Пирацетам повышал значения B_{max} с 1762 \pm 232 до 3739 \pm 235 фмоль/мг, а Ноопепт, соответственно с 1762 \pm 232 до 2606 \pm 104 фмоль/мг (рис. 1, табл. 1).

В предыдущих наших исследованиях после субхронического введения Пирацетама и Ноопепта также обнаруживалось увеличение B_{max} для NMDA-рецепторов в гиппокампах инбредных мышей C57Bl/6 и BALB/c [22, 23]. Можно допустить, что стимуляция NMDA-рецепторов гиппо-

кампа может являться общим признаком в механизме действия ноотропных препаратов в независимости от специфических различий нейрохимического статуса линий мышей.

Напротив, в отношении количества 5-НТ_{2А} рецепторов эффекты хронического введения Пирацетама и Ноопепта проявились по-разному: после введения Пирацетама в мозге мышей нокаутной линии BARR2-КО наблюдалось повышение величины B_{max} для 5-НТ_{2А} рецепторов с 488 \pm 79 до 640 \pm 78 фмоль/мг, тогда как пептидный препарат Ноопепт не изменял значения B_{max} (429 \pm 43). Кроме того, хроническое введение обоих ноотропов мышам линии C57Bl/6 не влияло на количества 5-НТ_{2А}-рецепторов в коре мозга (рис. 2, табл. 2).

Увеличение плотности NMDA-рецепторов в гиппокампе и 5-НТ_{2А}-рецепторов в коре у нокаутных по аррестину мышей, по-видимому, может зависеть от разных механизмов. Увеличение количества мест связывания для 5-НТ_{2А}-рецепторов у линии BARR2-КО некоторые авторы связывают с нарушением их интернализации вследствие недостатка аррестина [16]. Однако, существуют данные о возможности прямого влияния активации 5-НТ-рецепторов на характеристики NMDA-рецепторов. Исследования Eunice и соавторов показали [24], что активация 5-НТ_{1А}-рецепторов

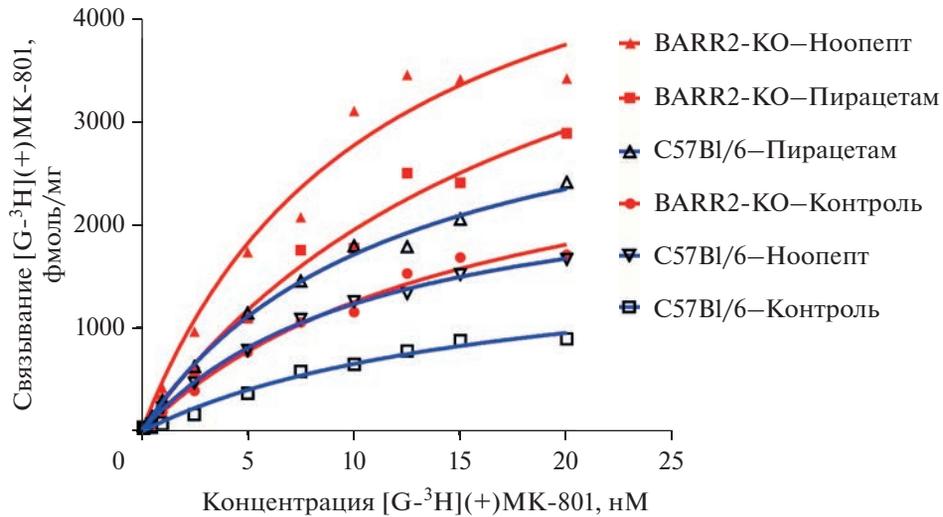


Рис. 1. Влияние Пирацетама и Ноопепта на связывание $[G-^3H](+)$ МК-801 с NMDA рецепторами гиппокампа мозга мышей линии BARR2-KO и C57Bl/6 ($m \pm SEM$).

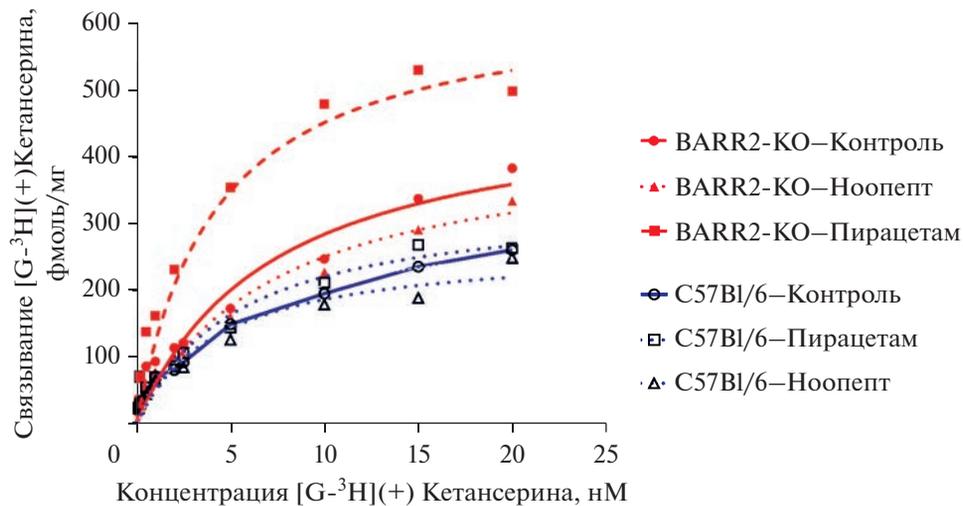


Рис. 2. Влияние Пирацетама и Ноопепта на связывание $[G-^3H](+)$ Кетансерина с $5-HT_{2A}$ рецепторами коры мозга мышей линии BARR2-KO и C57Bl/6 ($m \pm SEM$).

приводит к деполаризации микротрубочек, из-за чего происходит нарушение транспорта NMDA-рецепторов и ослабление ионных токов. В свою очередь, активация $5-HT_{2A}$ -рецепторов значительно ослабляет ингибирующее влияние $5-HT_{1A}$ -рецепторов на микротрубочки, что обеспечивает увеличение транспорта NMDA-рецепторов к поверхностной мембране. Нокдаун гена β -аррестина-2 в клеточной культуре предотвращает блокирующий эффект $5-HT_{2A}$ -рецепторов на ингибирующее действие $5-HT_{1A}$ -рецепторов на микротрубочки, что приводило к увеличению NMDA-рецепторных токов [24].

Следовательно, полученные нами данные о значительном увеличении числа мест связывания

лигандов NMDA-рецепторов у линии BARR2-KO можно связать с нехваткой этого сигнального белка, отсутствие которого приводит к разнонаправленному действию на активацию различных типов серотониновых рецепторов. Таким образом, дефицит β -аррестина-2 может значительно отражаться на экспрессии рецепторов и их внутриклеточных перемещениях, а также на количестве активных центров как метаботропного, так и ионотропного типов рецепторов.

Наличие серотонин-позитивного эффекта у классического ноотропа Пирацетама на животных с пониженным содержанием сигнального белка β -аррестина-2 согласуется с ранее полученными нами данными о модулирующем характере

действия веществ с ноотропным эффектом (пирацетама, семакса, пантокальцина и нооглютила) на плотность 5-HT_{2A}-рецепторов в мозге мышей с фенотипом сниженного исследовательского поведения [9]. Выявленная же в настоящей работе разнонаправленность эффектов Пирацетама и Ноопепта на серотониновые рецепторы может быть обусловлена тем, что дефицит β-аррестина-2 сильно изменяет эффекты дофаминергических [14] и серотонинергических препаратов [15]. Обнаруженное в эксперименте увеличение количества 5-HT_{2A}-рецепторов серотонина у нокаутных мышей предположительно связано с их большим присутствием на внешней мембране нейрона, что согласуется с данными о важной роли аррестина в интернализации серотониновых рецепторов. У мышей с дефицитом β-аррестина-2 в кортикальных нейронах 5-HT₂-рецепторы присутствуют только на внешней мембране, тогда как у интактных мышей они почти полностью внутриклеточной локализации, что позволяет допустить роль аррестина в транспортировке рецепторов 5-HT₂ [16].

ВЫВОДЫ

Таким образом, нами получены сведения о количественных характеристиках NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторов в мозге мышей с врожденным дефицитом аррестина. В данной работе обнаружено увеличение плотности специфических мест связывания NMDA-рецепторов в гиппокампе и 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга линии мышей BARR2-KO по сравнению с линией C57Bl/6. Описанные отличия в нейрорецепторном статусе линий BARR2-KO и C57Bl/6 делают данную модель генетической патологии актуальной для изучения механизмов действия ноотропных препаратов.

При сравнении специфичности действия ноотропного препарата Пирацетама и его топологического дипептидного аналога Ноопепта на линии мышей BARR2-KO было установлено, что их влияние на плотность 5-HT_{2A}-рецепторов различна, тогда как влияние на плотность NMDA-рецепторов оказалось схожим. Специфическое действие Пирацетама проявилось в увеличении числа 5-HT_{2A}-рецепторов только у нокаутной линии BARR2-KO, тогда как хроническое введение Ноопепта не изменяло плотность этих рецепторов в мозге у обеих линий. Однонаправленность действия Пирацетама и Ноопепта проявилась в увеличении плотности NMDA-рецепторов в мозге обеих линий. Эти результаты позволяют предполагать, что именно NMDA-рецепторы могут являться общей частью в механизмах действия ноотропных препаратов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Государственного задания FGFG-2022-0006 “Фармакологическая коррекция церебро-васкулярных и сопряженных когнитивных расстройств с их нейрорецепторным анализом”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии 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. Середенин С.Б., Вальдман Е.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2003. Т. 66. № 2. С. 57–59.
2. Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 12. С. 3–9.
3. Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М. // Нейрохимия. 2013. Т. 30. № 2. С. 128–134.
4. Кондрахин Е.А., Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Психиатрия. 2010. № 3. С. 50–54.
5. Фирстова Ю.Ю. Изучение путей модуляции синоптической пластичности в нейрохимическом действии ноотропных препаратов. Дисс. ... канд. биол. наук. М. 2008. 139 с.
6. Ковалев Г.И., Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2007. Т. 71. № 1. С. 12–17.
7. Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Психофармакология и биологическая наркология. 2007. № 7. С. 2–6.
8. Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78. № 3. С. 31–32.
9. Фирстова Ю.Ю., Васильева Е.В., Ковалёв Г.И. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2018. № 3. С. 42–47.
10. Gurevich V., Gurevich E. // Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2013. V. 118. P. 57–92.
11. Attramadal H., Arriza J.L., Aoki C., Dawson T.M., Codina J., Kwatra M.M., Snyder S.H., Caron M.G., Lefkowitz R.J. // Journal of Biological Chemistry. 1992. V. 267. P. 17882–17890.
12. Ferguson S.S., Downey W.E., Colapietro A.M., Barak L.S., Menard L., Caron M.G. // Science. 1996. V. 271. № 5247. P. 363–366.

13. Gurevich V., Gurevich E. // Arrestins Structure and Function in Vision and Beyond. Academic Press, 2022. Ch. 7. P. 105–124.
14. Beaulieu J.M., Sotnikova T.D., Marion S., Lefkowitz R.J., Gainetdinov R.R., Caron M.G. // Cell. 2005. V. 122. P. 261–273.
15. Schmid C.L., Raehal K.M., Bohn L.M. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 2008. V. 105. № 3. P. 1079–1084.
16. Latapy C., Beaulieu J. // Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2013. V. 118. P. 276–295.
17. Lefkowitz R.J., Shenoy S.K. // Science. 2005. V. 308. № 5721. P. 512–517.
18. Bohn L.M., Lefkowitz R.J., Gainetdinov R.R., Peppel K., Caron M.G., Lin F.-T. // Science. 1999. V. 286. № 5449. P. 2495–2498.
19. Glowinski J., Iversen L.L. // Journal Neurochemistry. 1966. V. 13. № 8. P. 655–669.
20. Zhou L.M., Gu Z.Q., Costa A.M., Yamada K.A., Mansson P.E. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1997. V. 280. № 1. P. 422–427.
21. Leysen J.E., Niemegeers C.J., Van Nueten J.M. // Molecular Pharmacology. 1982. V. 21. № 2. P. 301–314.
22. Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76. № 9. С. 3–10.
23. Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. № 50. С. 119–121.
24. Eunice Y. Yuen, Qian Jiang, Paul Chen, Jian Feng, Zhen Y. // Journal of Biological Chemistry. 2008. V. 283. № 25. P. 17194–17204.

The Effect of Piracetam and Noopept on NMDA and 5-HT_{2A} Receptors in the Brain of Mice with Congenital β -Arrestin Deficiency

Yu. Yu. Firstova^a and G. I. Kovalev^a

^a Federal State Budgetary Scientific Institution “V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology”, Moscow, Russia

Based on the special role of the signal protein β -arrestin in the processes of neuronal plasticity and receptor activation, the effects of the nootropic drugs Piracetam (2-oxo-1-pyrroindinyl-acetamide, UCB 6215, 200 mg/kg, I.P.) and Noopept (ethyl ether *N*-phenyl-acetyl-L-prolyl-glycine, GVS-111, 0.5 mg/kg, I.P.) in mice with congenital deficiency of β -arrestin-2 (BARR2-KO mice) and in mice of the C57Bl/6 line (wild type for the BARR2-KO, WT line). Serotonin (5-HT_{2A}) and NMDA-receptors of the brain, which play an important role in cognitive processes, but differ in the type of structure and activation mechanism, were chosen as the object of the study. Using radioligand analysis, it was found that the BARR2-KO mouse line differs from the C57Bl/6 mice by a significantly higher density (B_{max}) of both NMDA-receptors in the hippocampus (by 85%) and 5-HT_{2A}-receptors in the cerebral cortex (by 54%). Interestingly, both drugs after chronic administration increased the number of NMDA-receptors in the hippocampus both in the BARR2-KO strain (Piracetam – by 76%, Noopept – by 78%) and in the C57Bl/6 strain (Piracetam – by 112%, Noopept – by 49%). At the same time, the effect of both drugs on the density of serotonin 5-HT_{2A}-receptors in BARR2-KO and C57Bl/6 mice was not the same. In particular, Piracetam caused an increase in the density of 5-HT_{2A}-receptors in the cerebral cortex of BARR2-KO mice by 31%, whereas on the comparison line C57Bl/6 neither Piracetam nor Noopept had any effect. Thus, the absence of the β -arrestin signaling protein in BARR2-KO mice is accompanied by an increase in the density of NMDA- and 5-HT_{2A}-receptors in the brain. At the same time, the different effects of Piracetam and Noopept on NMDA receptors both in the line with congenital β -arrestin deficiency and in the line with normal expression may indicate that this type of receptor is a common primary target for the action of nootropics of various structures.

Keywords: Piracetam, Noopept, NMDA-receptors, 5-HT_{2A}-receptors, β -arrestin-2, BARR2-KO mice, C57Bl/6 mice