

Эффекты пантогама актив на поведение и нейрорецепторный спектр при моделировании синдрома дефицита внимания у мышей

Сухорукова Н. А., Васильева Е. В., Кондрахин Е. А., Салимов Р. М., Ковалёв Г. И.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Аннотация. Исследовано влияние субхронического введения пантогама актив (200 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) на поведение аутбредных мышей CD-1 в экспериментальной модели синдрома дефицита внимания на основе теста «закрытый обогащённый крестообразный лабиринт» (ЗОКЛ). Пантогам актив корректировал исходный дефицит внимания у грызунов субпопуляции ED-low, не изменяя иные показатели их поведения в испытываемом тесте. При анализе результатов радиолигандного связывания установлены статистически значимые различия в распределении D₂- и ГАМК_B-рецепторов в структурах мозга субпопуляций аутбредных грызунов CD-1. В префронтальной коре (ПФК) контрольной группы животных ED-low со сниженным уровнем внимания в сравнении с контролем ED-high плотность D₂-рецепторов была выше на 18 %, тогда как плотность ГАМК_B-рецепторов ниже на 35 %. Введение пантогама актив приводило к снижению в ПФК грызунов ED-low плотности D₂-рецепторов на 23 % и увеличению данного показателя на 42 % для ГАМК_B-рецепторов, соответственно. Таким образом, изучаемый препарат обладает потенциальной эффективностью при дефиците внимания у экспериментальных животных, нормализует поведение и возможные молекулярные маркеры данной патологии.

Ключевые слова: синдром дефицита внимания; пантогам актив; закрытый обогащённый крестообразный лабиринт; радиолигандное связывание; D₂-рецептор; ГАМК_B-рецептор; NMDA-рецептор; исследовательское поведение; префронтальная кора

Для цитирования:

Сухорукова Н. А., Васильева Е. В., Кондрахин Е. А., Салимов Р. М., Ковалёв Г. И. Эффекты пантогама актив на поведение и нейрорецепторный спектр при моделировании синдрома дефицита внимания у мышей. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2022;(2):23–30. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-2-23-30>

Поступила: 02 июня 2022 г. **Принята:** 08 июня 2022 г. **Опубликована:** 30 июня 2022 г.

Effects of pantogam active on behavior and neuroreceptor spectrum in mouse model of attention deficit disorder

Sukhorukova NA, Vasil'eva EV, Kondrakhin EA, Salimov RM, Kovalev GI

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia

Abstract. Effect of Pantogam active subchronic administration (200 mg/kg/day, i.p.) on the behavior of outbred CD-1 mice in the experimental model of attention deficit disorder was studied in the "closed enriched cross maze" test. Pantogam active corrected the initial attention deficit of ED-low rodents subpopulation without changing other parameters of their behavior. Analysis of the results of radioligand binding revealed statistically significant differences in the distribution of D₂ and GABA_B-receptors in the brain structures of outbred CD-1 mice subpopulations. In the prefrontal cortex (PFC) of ED-low control group with reduced attention level, compared with ED-high control, density of D₂ receptors was higher by 18 %, while density of GABA_B receptors was lower by 35 %. Administration of pantogam active resulted in decreasing of D₂ receptors density by 23 % and increasing of this indicator by 42 % for GABA_B-receptors in the PFC of ED-low animals, respectively. Thus, this studied drug has potential efficacy in treating attention deficit in experimental animals, normalizes behavior and possible molecular markers of this pathology.

Keywords: attention deficit disorder; pantogam active; closed enriched cross maze; radioligand binding; D₂ receptor; GABA_B-receptor; NMDA receptor; exploratory behavior; prefrontal cortex.

For citations:

Sukhorukova NA, Vasil'eva EV, Kondrakhin EA, Salimov RM, Kovalev GI. Effects of pantogam active on behavior and neuroreceptor spectrum in mouse model of attention deficit disorder. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2022;(2):23–30. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-2-23-30>

Received: June 02, 2022. **Accepted:** June 08, 2022. **Published:** June 30, 2022

Введение / Introduction

Ноотропные препараты получили широкое применение в отечественной клинической практике как при лечении различных неврологических заболеваний, так и сопутствующих симптомов при иных патологиях. Подобное обоснованное использование данной группы лекарственных средств связано с их адаптогенным и нейропротективным действием, способностью оптимизировать процессы метаболизма в нервной ткани в условиях стресса и гипоксии. Спектр фармакологической активности ноотропов включает в себя мнемотропное, антиастеническое, психостимулирующее и антидепрессивное действие. Благодаря малой токсичности, широкому диапазону дозирования

и хорошей переносимости ноотропные препараты применимы у пациентов разных возрастных групп.

Положительное влияние ноотропов на когнитивные функции выражается в консолидации процессов запоминания, обучения, речи. При их приёме отмечается восстановление нарушенных корковых функций и регуляции активности субкортикальных структур мозга. Указанные клинические эффекты делают перспективным изучение механизмов действия и применения ноотропных препаратов при коррекции синдрома дефицита внимания (СДВ-Г). Проведённое ранее в Лаборатории радиоизотопных методов исследований изучение поведенческих эффектов ноотропных препаратов показало, что субхроническое введение фенибута, пираретама и семакса нормализует

исходный дефицит внимания у аутбредных мышей CD-1 [1–3]. Кроме того, с использованием методов радиолигандного связывания были получены данные о значимых отличиях в распределении подтипов дофаминовых и ГАМК-рецепторов в префронтальной коре мозга грызунов с различной устойчивостью внимания и о способности ноотропов нормализовать это распределение. В частности, известный препарат пантогам® (Са-соль D-гомопантотеновой кислоты), зарегистрированный в СССР в 1979 году [4], в дозе 100 мг/кг оказывает влияние на показатели поведения экспериментальных животных, сопоставимое с препаратом сравнения атомоксетином, рекомендуемым для фармакотерапии СДВ-Г [5, 6], сопровождающееся специфическими сдвигами D₂-дофаминовых и ГАМК_B-рецепторов мозга мышей [7]. В 2008 году на российский рынок вышел препарат пантогам актив®, являющийся рацемической модификацией пантогама (D,L-гомопантотенат кальция), ранее не описанный и не изученный фармакологически и нейрхимически. Выдвигалась гипотеза, что два стереоизомера смогут по-разному взаимодействовать с рецепторами, следовательно, оказывать различное фармакологическое действие [4].

Таким образом, целью данной работы стал анализ эффекта субхронического введения пантогама актив (200 мг/кг, внутривентриально) на поведение аутбредных мышей CD-1 с различной устойчивостью внимания, а также его нейрорецепторное действие.

Материалы и методы исследования/ Materials and methods

Эксперимент проводили на самцах аутбредных мышей CD-1, полученных из НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ, массой 23–30 г ($n = 66$), которых содержали в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в стандартных условиях при свободном доступе к воде и корму. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351.000.3-96 и 51000.4-96), Приказу МЗ и СР РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». Эксперименты проводили с 10 до 16 ч. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Экспериментальная установка была поставлена ООО «НПК Открытая Наука» (Россия). Пантогам актив ((R,S)-4-[(2,4-Дигидрокси-3,3-диметил-бутирил)амино]бутират кальция (2:1)) был предоставлен ГК «ПИК-ФАРМА». При изучении рецепторного связывания использовали следующие лиганды: для ГАМК_B-рецепторов – [G-3H](-)баклофен с удельной активностью 49,7 Кюри/ммоль (Perkin Elmer, США), для D₂-подтипа дофаминовых рецепторов — [G-3H](-)сульпирид с удельной активностью более 40 Кюри/ммоль,

синтезированные профессором, д. х. н. Ю.А. Золотарёвым в ОХФВБ ИМГ РАН (зав. отделом — академик РАН Н.Ф. Мясоедов). Остальные реактивы были приобретены в коммерческих источниках.

Поведенческие методы исследования (тест «Закрытый обогащённый крестообразный лабиринт»/ Behavioral research methods («Indoor enriched cruciform maze» test, Enrichment Discrimination test)

Грызунов подвергали поведенческому тестированию в закрытом обогащённом крестообразном лабиринте (ЗОКЛ) с помощью программы Enrisset. Тест заканчивался, когда животное совершало 12 визитов в отсеки [8]. Критерием разделения животных на субпопуляции служили значения индекса распознавания новых объектов, определяющегося по формуле:

$$ED\text{-ratio} = 100 \times \text{Tenriched} / \text{Tempty}$$

где: Tenriched является временем, проведённым животным в рукавах установки с объектами, а Tempty — временем в пустых рукавах, соответственно.

При отсутствии предпочтения рукавов с новыми объектами индекс распознавания составлял около 100 и менее. В популяции мышей CD-1 присутствовало 2 типа особей, которые проявляли (индекс внимания > 120, 60–70 % мышей) или не проявляли (индекс внимания < 100, 30–40 % мышей) внимание к объектам, имеющимся в лабиринте.

Во время 1-го теста производили отбор особей с поведенческими фенотипами **ED-high** (ED-ratio > 120) и **ED-low** (ED-ratio < 100). После отбора грызунов обеих субпопуляций разделяли на контрольную и опытную подгруппы. Изучаемое вещество, растворённое в физрастворе, вводили внутривентриально один раз в сутки (всего 6 инъекций), контрольной группе вводили физраствор в эквивалентном объёме. Выбор дозы и продолжительности введения основывался на данных, полученных ранее в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Во время 2-го теста, выполнявшегося в той же обстановке через час после заключительной инъекции, оценивали влияние изучаемого вещества на внимание к обстановке у мышей с известным типом исследовательской реакции на объекты, имеющиеся в лабиринте.

Помимо указанного выше индекса распознавания новых объектов, анализ данных позволил выделить следующие показатели поведения:

1. Длина первого цикла патрулирования **F_PtrN** и число циклов патрулирования **PatrlN**, совершенных за время эксперимента, исчисляются числом заходов животного в отсеки лабиринта, совершенных им для обследования обстановки. Данные показатели отражают эффективность исследования лабиринта животным и могут быть использованы для оценки ноотропного действия веществ.

2. Общее время пребывания животного в центральном отсеке лабиринта **T_ChTm** и общее время,

проведённое в боковых отсеках **T_GITm**. Данные показатели отражают уровень двигательной активности животного, а также характеризуют интенсивность обследования им новой среды и могут быть использованы для оценки стимулирующего/тимолептического или, наоборот, седативного эффекта вещества.

3. Латентный период **F_ChTm** и продолжительность первого визита в боковой отсек **F_GITm**. Данные показатели отражают уровень тревожности животного в новой обстановке и могут быть использованы для оценки транквилизирующего (анксиолитического) эффекта.

Нейрохимические методы исследования (Радиолигандное связывание) / Neurochemical research methods (Radioligand binding assay)

После поведенческой сессии в закрытом обогащённом крестообразном лабиринте у мышей извлекали структуры головного мозга [9] и замораживали в жидком азоте для последующего радиолигандного анализа с дофаминовыми D_2 -рецепторами, ГАМК_B- и NMDA-рецепторами.

Радиолигандный анализ D_2 -рецепторов / Radioligand analysis of D_2 -receptors

Для приготовления суспензии плазматических мембран префронтальной коры в экспериментах использовали метод, описанный в литературе [10]. Для радиолигандного анализа D_2 -рецепторов использовали метод [11]. Процесс инкубации протекал в инкубационной смеси при температуре 25 °С в течение 1 часа при постоянном встряхивании. Инкубационная смесь состояла из инкубационного буфера, специфического радиоактивного лиганда D_2 -подтипа дофаминового рецептора [$G-^3H$](–)сульпирида, немеченого сульпирида и мембран префронтальной коры. Порядок внесения компонентов был следующим: буфер, радиоактивный лиганд, нерадиоактивный лиганд. Мембраны вносили непосредственно перед началом инкубации.

Процесс связывания в инкубационной смеси оставляли путём добавления инкубационного буфера при температуре 4 °С с последующим быстрым фильтрованием через стекловолокнистые фильтры GF/V (Whatman). Общий объём инкубационного буфера для фильтрования одной пробы составлял 10 мл. Фильтры предварительно смачивали перед экспериментом в ледяном отмывочном буфере в течение 3 часов. После фильтрации пробы высушивали в течение 12 часов при комнатной температуре.

Радиолигандный анализ ГАМК_B-рецепторов / Radioligand analysis of GABA_B-receptors

Приготовление мембранных препаратов, содержащих ГАМК_B-рецепторы коры мышей, проводили по модифицированному методу [12, 13]. В день эксперимента мембраны размораживали при комнатной температуре и ресуспендировали в 20 объёмах буфера

(50 мМ Tris-HCl, 2,5 мМ CaCl₂, pH=7,4), затем центрифугировали при 8000 g 20 мин. Полученный осадок суспендировали в 20 объёмах буфера (50 мМ Tris-HCl, 2,5 мМ CaCl₂, pH = 7,4) и центрифугировали при 20000 g 20 мин, последнюю процедуру повторяли ещё один раз. Конечный осадок ресуспендировали в свежем буфере. В экспериментах по радиолигандному анализу ГАМК_B-рецепторов использовали меченый тритием (–) баклофен с удельной активностью 49,7 Кюри/ммоль. Инкубационная смесь (конечный объём 0,5 мл) содержала 50 мкл [$G-^3H$](–)баклофена, 250 мкл буфера и 200 мкл суспензии мембран, для неспецифического связывания добавляли 50 мкл немеченого лиганда ((–) баклофен, 1 мМ). Реакционную смесь инкубировали при 4 °С в течение 20 мин. По окончании инкубации пробы фильтровали с использованием охлаждённого буфера через стекловолокнистые фильтры GF/C (Whatman), предварительно смоченные в 0,3 % полиэтиленимине в течение 2 часов при 4 °С. Общий объём буфера для фильтрования одной пробы составлял 8 мл. Фильтры просушивали при комнатной температуре.

Радиолигандный анализ NMDA-рецепторов / Radioligand analysis of NMDA-receptors

Выделение плазматических мембран префронтальной коры и гиппокампа для экспериментов по радиолигандному анализу NMDA-рецепторов проводили по модифицированным методам [14, 15]. После декапитации ткань немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературном холодильнике при –75 °С. Префронтальную кору размельчали в гомогенизаторе Поттера «тефлон–стекло» в 10 объёмах буфера № 1 (5 мМ HEPES, 4,5 мМ Tris, 0,32 М Сахароза, pH 7,6). Гомогенат разбавляли 50 объёмами 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 объёмах 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 объёмах буфера № 3 (5 мМ HEPES, 4,5 мМ Tris, 1 мМ Na₄EDTA, pH 7,6) и троекратно центрифугировали при 25000 g 20 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 50 объёмах буфера № 2 и однократно центрифугировали при 25000 g 20 мин. Конечный осадок сохраняли в 5 объёмах буфера № 2 и замораживали в криобирках в жидком азоте. В день анализа ткань размораживали, разбавляли в 10 объёмах буфера № 2, центрифугировали при 25000 g 20 мин. Осадок ресуспендировали в необходимом количестве буфера № 2. Концентрация белка в образцах мембран составляла 2–3 мг/мл. Для радиолигандного анализа NMDA рецепторов использовали меченый

трием МК-801(+), с удельной активностью 210 Кюри/ммоль. Реакционная смесь содержала 200 мкл буфера № 2, 50 мкл меченного лиганда (в диапазоне концентраций от 0,1 до 30 нМ) и 250 мкл белкового раствора. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 50 мкл немеченого лиганда (+)МК-801 (1 μM), которое составляло 12–14 % от общего. Реакционную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч.

Процесс связывания в инкубационной смеси останавливали путём добавления буфера № 2 при температуре 4 °С с последующим фильтрованием через стекловолнистые фильтры GF/B (Whatman). Общий объём отмывочного буфера для фильтрования одной пробы составлял 10 мл. Фильтры предварительно смачивали перед экспериментом в охлаждённом отмывочном буфере в течение 3 часов. После фильтрации пробы высушивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Затем фильтры заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости на основе толуола (4 г РРО и 0,2 г РОРОП на 1 л толуола) и переносили во флаконы для сцинтилляционного счёта. Радиоактивность каждой пробы измеряли в течение 2 мин на сцинтилляционном счётчике Tri-Carb 2900TR (PerkinElmer).

Для анализа насыщения и получения характеристик связывания K_d и V_{\max} измеряли специфическое связывание для D_2 -рецепторов — от 1,25 до 40 нМ, для ГАМК_B- и NMDA-рецепторов — от 1,25 до 20 нМ. Специфическое связывание рассчитывали, как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Для построения кривых насыщения радиоактивных лигандов каждая концентрация исследуемого вещества была взята в 2 повторностях.

Жидкостно-сцинтилляционная спектрометрия / Liquid scintillation spectrometry

Предварительно просушенные фильтры GF/B и GF/C (Whatman) заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости (4 г РРО и 0,2 г РОРОП на 1 л толуола) и переносили во флаконы для сцинтилляционного счёта. Радиоактивность проб определяли на счётчике Tri-Carb 2900TR (Perkin Elmer) с эффективностью счёта 42–46 %. Концентрацию белка измеряли по стандартной методике Лоури.

Определение концентрации белка методом Лоури / Lowry method of protein quantification

Концентрацию белка в образцах определяли по стандартной методике Лоури [16]. К аликвоте образца, содержащей белок (5–50 μl объёмом), прибавляли 0,8 мл 0,1N р-ра NaOH. Смесь выдерживали при комнатной температуре не менее 12 часов или нагревали до 50–60 °С в течение 10 минут. Прибавляли 2 мл свежеприготовленного р-ра Лоури (к 250 мл 0,1 N р-ра NaOH при помешивании добавляли 5 г карбоната натрия. После растворения отнимали 5 мл. Навеску K^+ , Na^+ -тарtrate в 60 мг растворяли в 3 мл

дистиллированной воды. Навеску $CuSO_4$ в 30 мг растворяли в 3 мл дистиллированной воды. К раствору карбоната натрия в 0,1N NaOH добавляли по 2,5 мл растворов $CuSO_4$ и K^+ , Na^+ -тарtrate, инкубировали 10 минут. Добавляли 0,2 мл 1N реактива Фолина и немедленно встряхивали, инкубировали 30 минут. Измеряли адсорбцию при 750 нм.

Обработка и представление результатов / Statistical analysis

Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с помощью программы Statistica 6.0. Различия между субпопуляциями мышей по изучаемым показателям оценивали по критерию Манна–Уитни. Полученные результаты представлены в виде средних значений с учётом стандартной ошибки среднего ($\text{mean} \pm S.E.M$). Для обработки результатов радиолигандного связывания использовали программу GraphPad Prism 7 Demo, результаты представлены в виде « $\text{mean} \pm S.E.M$ ».

Результаты / Results

В предложенной авторами трансляционной модели синдрома дефицита внимания при первичном поведенческом тестировании самцов аутбредных мышей CD-1 в исходной гетерогенной популяции были выделены подтипы грызунов с различной устойчивостью внимания к объектам в рукавах лабиринта. Субпопуляция **ED-low** (индекс ED-ratio < 100) характеризовалась пониженной устойчивостью внимания в условиях теста ЗОКЛ, животные субпопуляции **ED-high** (индекс ED-ratio > 120) были приняты в качестве нормы по данному показателю. В проведённых экспериментах как при первичном поведенческом тестировании, так и в завершающем тесте обе субпопуляции в контрольных группах не демонстрировали значимых отличий в иных показателях теста ЗОКЛ. При этом индекс ED-ratio у животных ED-low был снижен в 5,2 раза в сравнении с подтипом **ED-high** (табл. 1).

Субхроническое введение пантогама актив оказывало положительное корректирующее действие на исходный дефицит внимания, повышая индекс **ED-ratio** в опытной группе до 2,9 раз по сравнению с соответствующим контролем. У грызунов подтипа **ED-high** под воздействием препарата показатель внимания снижался в 1,9 раза относительно контрольной группы. Обнаруженное снижение нативного уровня внимания у данной субпопуляции сочеталось с изменением двигательной активности — общее время пребывания в боковых отсеках лабиринта (**T_GITm**) возрастало в 1,3 раза (см. табл. 1):

Таким образом, пантогам актив в выбранном режиме введения и дозе оказывает разнонаправленное действие на поведение грызунов CD-1 разных фенотипов преимущественно в отношении внимания как когнитивной функции. Вместе с тем, сопоставление его эф-

Таблица 1

Влияние субхронического введения пантогама актив (200 мг/кг, в/б) на показатели поведения субпопуляций мышей аутбредной линии CD-1 в тесте ЗОКЛ ($m \pm S.E.M.$)

Table 1

The effect of subchronical administration of pantogam-aktive (200 mg/kg/day, i.p.) on the behavior of subpopulations of outbred CD-1 mice in «closed enriched cross maze test» ($m \pm S.E.M.$)

Экспериментальная группа/ Показатель	Контроль ED-high (n = 19)	Пантогам актив ED-high (n = 19)	Контроль ED-low (n = 13)	Пантогам актив ED-low (n = 15)
Ноотропная активность				
F_PtrN	6,1±0,5	7,9±0,7	7,3±0,6	7,5±0,7
PatrlN	1,4±0,1	1,1 ±0,2	1,3±0,2	1,2±0,2
Тревожность				
F_ChTm	10,9±0,9	12,2±2,1	10±0,7	10,7±0,8
F_GlTm	8,9±1,3	11,6±1,9	12±4	11,1±1,4
Двигательная активность				
T_ChTm	51,6±4,3	65,7±10,1	61,2±5,3	55,7±6,6
T_GlTm	63,1±5,9	82,0±8,2#	65,4±4,3	55,7±4,7
Индекс различения объектов				
Obj_tR	384,2±44,5	197,6±46,7#	74,4±15,9*	216,8±35,9#
<p>Примечания: * — статистически значимое отличие между субпопуляциями, F-критерий Фишера, $p < 0,05$; # — статистически значимое отличие между опытной и контрольными группами, F-критерий Фишера, $p < 0,05$. Notes: * — statistically significant difference between subpopulations, Mann–Whitney U-test, $p < 0,05$; # — statistically significant difference between control and experimental groups, Mann–Whitney U-test, $p < 0,05$.</p>				

фекта с действием пантогама (D-гомпантотената Ca^{2+}) обнаруживает следующие различия [7]: во-первых, пантогам в ежесуточной дозе 100 мг/кг избирательно изменяет сниженный индекс внимания **Obj_tR** лишь в субпопуляции **ED-low**, тогда как рацемат в дозе 200 мг/кг/день не только повышает в субпопуляции **ED-low**, но и снижает этот показатель в субпопуляции **ED-high**. Во-вторых, под воздействием пантогама актив возрастает и общее время обследования лабиринта (**T_ChTm** + **T_GlTm**), что можно интерпретировать как проявление седации (см. Методы).

Данные экспериментов по радиолигандному связыванию *ex vivo* свидетельствуют о различном распределении изучаемых типов рецепторов в структурах мозга аутбредных грызунов CD-1 (табл. 2). В префронтальной коре (ПФК) контрольной группы животных **ED-low** со сниженным исходным уровнем внимания в сравнении с контролем **ED-high** плотность D_2 -рецепторов оказывается выше на 18 %, тогда как плотность ГАМК_B-рецепторов, напротив, ниже на 35 %. Для NMDA-рецепторов данный параметр радиолигандного связывания не различается статистически достоверно как между контрольными, так и между опытными группами обеих субпопуляций.

Значимые различия в эффектах пантогама актив были обнаружены для дофаминовых и ГАМК_B-рецепторов и имеют избирательный характер (рис. 1). Так, под субхроническим воздействием препарата в ПФК животных **ED-low** уменьшается количество мест

связывания для $[G-^3H](-)$ сульпирида на 23 % и возрастает на 42 % для $[G-^3H](-)$ баклофена (см. табл. 2). Любопытно отметить, что под влиянием аналогичного введения пантогама количество D_2 -рецепторов в ПФК субпопуляции **ED-low** снижалось на 22 %, а плотность ГАМК_B-рецепторов увеличивалась на 43 % [7].

Следовательно, можно предположить, что в основе отличий наблюдаемых поведенческих и, возможно, клинических эффектов пантогама и пантогама актив лежат иные мишени — функциональные и/или молекулярные. Например, ранее нами было показано, что в рецепторном анализе *in vitro* D-гопантенат (пантогам) связывается с ГАМК_A-рецепторами коры мозга крыс с величиной $IC_{50} = 63 + 7$ мкМ, а рац-гопантенат — с $IC_{50} = 37 + 5$ мкМ ($p < 0,004$). С ГАМК_B-рецепторами первый взаимодействовал с $IC_{50} = 10 + 1$ мкМ, а второй с $IC_{50} = 5,0 + 0,1$ мкМ ($p < 0,004$). Следовательно, с учётом вдвое меньшего содержания D(R)-изомера в составе рац-пантогама участие ГАМК-рецепторов в эффектах обоих препаратов равносильно. Разница проявляется по отношению к D_2 -рецепторам в стриатуме — первый с ними не взаимодействует, а второй связывается с $IC_{50} = 229 + 16$ мкМ ($p < 0,004$). На этом основании мы предположили, что особенности эффективности рацемической формы обусловлены присутствием в ней L(S)-изомера, который в 2–2,5 раза превосходит рецепторные эффекты рацемата [17]. Кроме того, в действии S- и R-энантиомеров на фермент пантотенаткиназу в митохондриях мышей

Таблица 2

Показатели радиолигандного связывания с рецепторами в структурах мозга субпопуляций мышей CD-1 при субхроническом введении пантогама актив (200 мг/кг, внутривенно) ($m \pm S.E.M.$)

Table 2

Parameters of radioligand binding with different types of receptors in brain structures of outbred CD-1 mice subpopulations after subchronical administration of pantogam-aktive (200 mg/kg/day, i.p.) ($m \pm S.E.M.$).

Радиолиганд	Структура мозга	Субпопуляции мышей CD-1							
		Контроль ED-high		Пантогам актив ED-high		Контроль ED-low		Пантогам актив ED-low	
		B_{max} (фмоль/мг белка)	K_d (нМ)						
[G- ³ H]-(+)-МК-801	Префронтальная кора	1887±167	7,1±1,2	1972±44	8,6±1,4	1892±222	8,1±0,7	2653±163	8,5±0,9
	Гиппокамп	2598±153	8,2±1	2551±236	6,9±0,3	2676±131	7,7±1,6	2036±118	7,3±0,8
[G- ³ H]-(-)-сульпирид	Префронтальная кора	737±24	56±4,6	741±40	57,2±2,7	869±29*	61±2,9	671±18#	57,4±2,3
[G- ³ H]-(-)-баклофен	Префронтальная кора	148±4	24,8±0,9	144±4	25,9±1,1	96±2*	25,9±1,1	136±4#	25,4±1,2

Примечания: * – статистически значимое отличие между субпопуляциями, F-критерий Фишера, $p < 0,05$; # – статистически значимое отличие между опытной и контрольными группами, F-критерий Фишера, $p < 0,05$.

Notes: * – statistically significant difference between subpopulations, Fischer's F-test, $p < 0,05$; # – statistically significant difference between control and experimental groups, Fischer's F-test, $p < 0,05$.

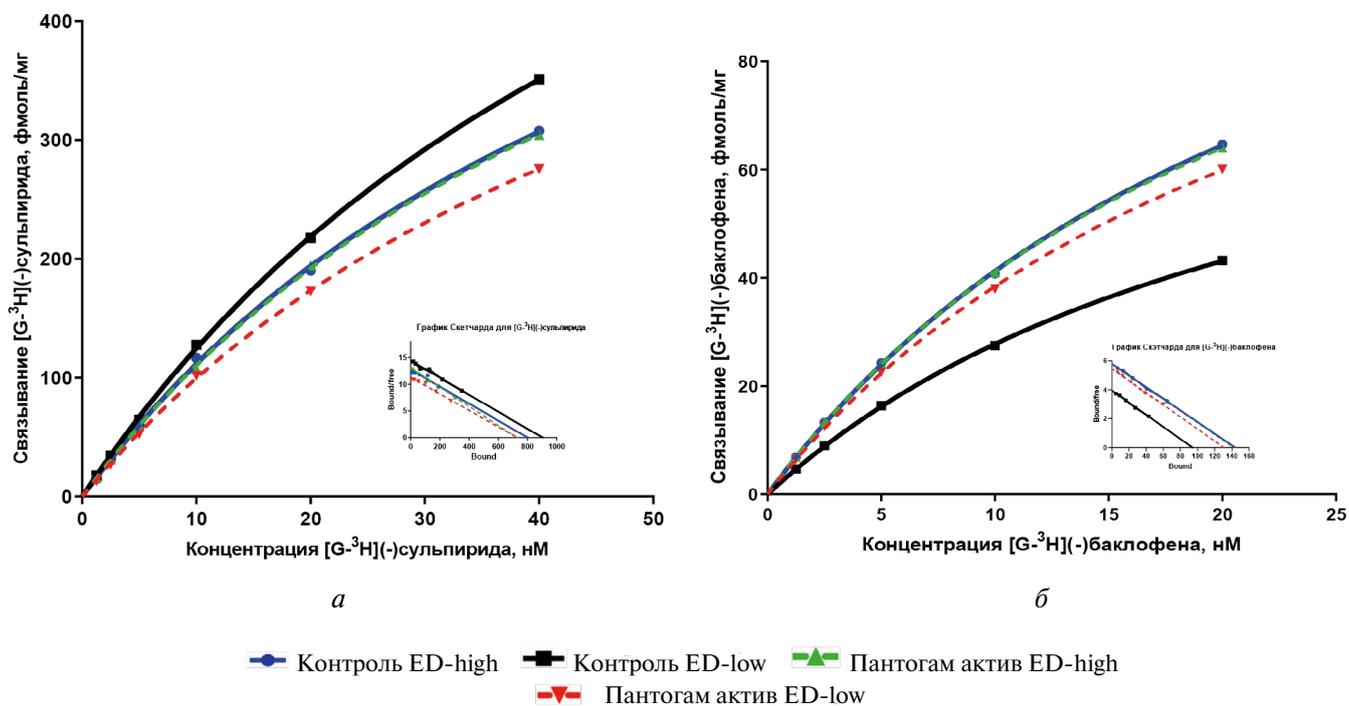


Рис. 1. Специфическое связывание [G-3H](-)-сульпирида (а) и [G-3H](-)-баклофена (б) мембранами ПФК мышей после субхронического введения пантогама актив (200 мг/кг/сутки, внутривенно).

Fig. 1. Specific binding of G-3H(-)Sulpiride (a) and [G-3H](-)Baclofen (b) with prefrontal cortex membranes after subchronical administration of pantogam-aktive (200 mg/kg/day, i.p.).

первая форма оставалась неактивной, а второй демонстрировал конкурентный ингибирующий эффект с IC_{50} в интервале 50–150 мкМ, обнаруживая свойства антиметаболита пантотеновой кислоты [18].

Заключение / Conclusion

Таким образом, пантогам актив, являющийся рацематом D- и L-форм гомопантотеновой кислоты, при использовании фенотипической модели дефицита внимания нормализует этот показатель и его рецепторные маркеры (плотность дофаминовых D_2 - и ГАМК_B-рецепторов префронтальной коры мозга). Однако, в отличие от эффекта пантогама (D-гомопантотената кальция), пантогам актив проявляет и качественные особенности — изменяет величину индекса внимания и увеличивает общее время изучения лабиринта в группе сравнения. Допускается, что это может быть

связано с присутствием в составе пантогам актива L(S)-изомера, конкурирующего за D_2 -рецепторы стриатума и в условиях *in vitro* [17].

Финансирование. 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».

Financing. The work was carried out within the framework of State task No. 0521-2019-0009 «Analysis of receptor mechanisms and search for pharmacological protection of the central nervous system in disturbances of cerebral circulation and cognitive disorders».

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

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Сухорукова Наталия Альбертовна
Автор, ответственный за переписку

e-mail: natalipharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6412-4833>

SPIN-код: 2656-4174

м. н. с. лаборатории радиоизотопных методов исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Sukhorukova Nataliya A.

Corresponding author

e-mail: natalipharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6412-4833>

SPIN code: 2656-4174

Junior researcher, Laboratory of radioisotope research metho FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Васильева Екатерина Валерьевна

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9178-2823>

SPIN-код: 1054-4872

с. н. с. лаборатории радиоизотопных методов исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Vasileva Ekaterina V.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9178-2823>

SPIN code: 1054-4872

Senior researcher, Laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Кондрахин Евгений Анатольевич

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7849-5267>

SPIN-код: 3006-3485

с. н. с. лаборатории радиоизотопных методов исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Kondrakhin Evgenii A.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7849-5267>

SPIN code: 3006-3485

Senior researcher, Laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Салимов Рамиз МеджидовичORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9297-9847>

д. б. н., в. с. лаборатории радиоизотопных методов исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Salimov Ramiz M.ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9297-9847>

Dr. Sci. Biological, Lead specialist of the Laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Ковалёв Георгий ИвановичORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8597-7018>

SPIN-код: 8461-8814

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией радиоизотопных методов исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Kovalev Georgy I.ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8597-7018>

SPIN code: 8461-8814

Dr. Sci. (Med.), professor, Head of the Laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Список литературы / References

1. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Васильева Е.В. и др. Анализ поведенческих и нейрорецепторных эффектов атомоксетина и фенибутта у мышей CD-1 с различной устойчивостью внимания. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021; 84(4):3–11. [Kovalev GI, Sukhorukova NA, Vasil'eva EV et al. Analysis of behavioral and neuroreceptor effects of atomoxetine and phenibut in CD-1 subpopulations diverging in sustained attention. *Ekspierimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija*. 2021;84(4):3–11. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-4-3-11.
2. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Кондрахин Е.А. и др. Влияние пирacetama на рецепторные системы мозга мышей CD-1 с разным фенотипом устойчивости внимания. *Химико-фармацевтический журнал*. 2021;55(8):10–14. [Kovalev GI, Sukhorukova NA, Kondrakhin EA et al. Influence of piracetam on the brain receptor systems in CD-1 mice with different attention stability phenotype. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(8):10–14 (In Russ).] DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-10-14.
3. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Кондрахин Е.А. и др., Субхроническое введение семакса повышает устойчивость внимания у мышей CD-1 через модуляцию D₂-дофаминовых рецепторов префронтальной коры мозга. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(6):3–10. [Kovalev GI, Sukhorukova NA, Kondrakhin EA et al., Subchronic administration of semax increases attention stability in CD-1 mice via modulation D₂-dopamine receptors in the prefrontal cortex. *Ekspierimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija*. 2021;84(6):3–10. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-6-3-10.
4. Пантогам и Пантогам актив. Клиническое применение и фундаментальные исследования / под ред. Копелевича В.М. М.: Триада-фарм; 2009 [Pantogam i Pantogam active. Klinicheskoe primenenie i fundamental'niye issledovaniya. Ed by Kopelevich VM. Moscow: Triada-farm; 2009. (In Russ).].
5. Таранушенко Т.Е., Кустова Т.В., Салмина А.Б. Синдром дефицита внимания и гиперактивности у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2013;4:41–47 [Taranushenko TE, Kustova TV, Salmina AV. Syndrome of deficiency of attention and hyperactivity in children:(review). *Rossijskij pediatricheskij zhurnal*. 2013;4:41–47 (In Russ).].
6. Christman AK, Fermo JD, Markowitz JS. Atomoxetine, a novel treatment for attention-deficit–hyperactivity disorder. *Pharmacotherapy*. 2004;24(8):1020–1036. DOI: 10.1592/phco.24.11.1020.36146.
7. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Васильева Е.В. и др. Влияние пантогама и атомоксетина на устойчивость внимания и распределение дофаминовых D₂ и ГАМК_B-рецепторов у мышей с моделью дефицита внимания. *Биомедицинская химия*. 2021; 67(5):402–410. [Kovalev GI, Sukhorukova NA, Vasil'eva EV et al. Influence of pantogam and atomoxetine on attention stability and distribution of dopamine D₂ and GABA_B receptors in the attention deficit mouse model. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2021;67(5):402–410. (In Russ).] DOI: 10.18097/PBMC20216705402.
8. Ковалёв Г.И., Салимов Р.М., Сухорукова Н.А. и др. Нейрорецепторный профиль и поведение субпопуляций мышей CD-1, различающихся устойчивостью внимания. *Нейрохимия*. 2020;37(1):15–23. [Kovalev GI, Salimov RM, Sukhorukova NA et al. Neuroreceptor profile and behavior of CD-1 mice subpopulations with different attention stability. *Neurochemical Journal*. 2020;37(1):15–23. (In Russ).] DOI: 10.1134/S1819712420010146.
9. Glowinski J, Iversen LL. Regional studies of catecholamines in the rat brain. I. The disposition of [³H]norepinephrine, [³H]dopamine and [³H]DOPA in various regions of the brain. *J Neurochem*. 1966;13(8):655–669. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1966.tb09873.x.
10. Breese CR, Marks MJ, Logel J et al. Effect of smoking history on [³H]nicotine binding in human postmortem brain. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997;282(1):7–13.
11. Sun W. *In vivo* evidence for dopamine-mediated internalization of D₂-receptors after amphetamine: differential findings with [³H]Raclopride versus [³H]Spiperone. *Mol Pharmacol*. 2003;63(2):456–462. DOI: 10.1124/mol.63.2.456.
12. Bowery NG. [³H](-)Baclofen: an improved ligand for GABAB sites. *Neuropharmacology*. 1985;24(3):207–210. DOI: 10.1016/0028-3908(85)90075-9.
13. Szekely AM, Barbaccia ML, Costa E. Effect of a protracted antidepressant treatment on signal transduction and [³H](-)-baclofen binding at GABA_B receptors. *J Pharmacol Exp Ther*. 1987;243(1):155–159.
14. Zhou LM, Gu ZQ, Costa AM, et al. (2S,4R)-4-Methylglutamic Acid (SYM 2081)- a selective, high-affinity ligand for kainite receptors. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997;280(1):422–427.
15. LePage KT, Ishmael JE, Low CM et al. Differential binding properties of [G3H] dextorfan and [G-³H]MK801 in heterologously expressed NMDA receptors. *Neuropharmacology*. 2005;49(1):1–16. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2005.01.029.
16. Waterborg JH, Matthews HR. The Lowry method for protein quantitation. *Methods Mol Biol*. 1984;1:1–3. DOI: 10.1385/0-89603-062-8:1.
17. Ковалёв Г.И., Фирстова Ю.Ю., Абаимов Д.А. и др. Качественные и количественные особенности взаимодействия с рецепторами нейромедиаторов *in vitro*: пантогам и пантогам актив. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(3): 44–48. [Kovalev GI, Firstova Yu Yu, Abaimov DA et al. Pantogam and pantogam active: qualitative and quantitative features of the interaction with neurotransmitter receptors *in vitro*. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S.S.Korsakova*. 2012;112(3):44–48 (In Russ).].
18. Zhang Y-M, Chohnan Sh, Virga KG et al. Chemical knockout of pantothenate kinase reveals the metabolic and genetic programs responsible for hepatic coenzyme A homeostasis. *Cell Chemical Biology*. 2007;14(3): 291–302. DOI: 10.1016/j.chembiol.2007.01.013.